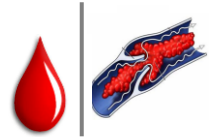




ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

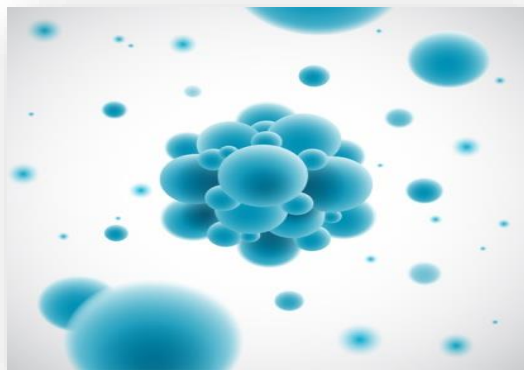


Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών

ΘΡΟΜΒΩΣΗ – ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΑ – ΙΑΤΡΙΚΗ ΤΩΝ ΜΕΤΑΤΤΙΣΕΩΝ

## Διπλωματική Εργασία

« Οι Διαταραχές της Αιμόστασης στη Χρόνια Νεφρική Νόσο και ο ρόλος των Εξωκυτταρίων Μικροκυστιδίων »



Ακαδημαϊκό Έτος 2018-2019

**ΟΝΟΜΑ** : ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΣΑΜΠΙΑΝΗΣ, ΝΕΦΡΟΛΟΓΟΣ

**Αριθμός Μητρώου**: 20161290

**ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ** : ΜΑΡΙΑΝΝΑ ΠΟΛΙΤΟΥ, ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΡΙΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΕΚΠΑ

## **Τριμελής Επιτροπή**

1. Μαριάννα Πολίτου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Αιματολογίας ΕΚΠΑ – Διευθύντρια Αιμοδοσίας Αρεταίειου Νοσοκομείου
2. Αναστάσιος Κριεμπάρδης, Επίκουρος Καθηγητής Εργαστηριακής Αιματολογίας – Αιμοδοσίας, Τομέας Ιατρικών Εργαστηρίων, Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής
3. Ειρήνη Γράψα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Νεφρολογίας ΕΚΠΑ – Διευθύντρια Νεφρολογικής Κλινικής Αρεταίειου Νοσοκομείου

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η Χρόνια Νεφρική Νόσος (XNN) αποτελεί ένα παγκόσμιο πρόβλημα δημόσιας υγείας και επηρεάζει το 7% του πληθυσμού ενηλίκων άνω των 30 ετών και το 25-35% των ανθρώπων ηλικίας μεγαλύτερης των 65 ετών. Οι ασθενείς με XNN χαρακτηρίζονται όχι μόνο από σημαντική ελάττωση του ρυθμού σπειραματικής διήθησης αλλά και από τη συνύπαρξη αρτηριακής υπέρτασης, σακχαρώδη διαβήτη, ενεργοποίησης του συμπαθητικού νευρικού συστήματος και του άξονα ρενίνης-αγγειοτενσίνης-αλδοστερόνης καθώς και αξιοσημείωτη αύξηση του κινδύνου εξέλιξης σε τελικού σταδίου χρόνια νεφρική ανεπάρκεια. Η μεγάλη συχνότητα ανεύρεσης XNN στο γενικό πληθυσμό, η ακόμη μεγαλύτερη συχνότητά της σε ασθενείς με καρδιαγγειακή νόσο όπως και η συσχέτιση καθαρής της XNN με τον καρδιαγγειακό κίνδυνο αποτέλεσε αντικείμενο μεγάλων κλινικών μελετών. Στη βάση αυτών των μελετών, η XNN έχει πλέον αναδειχθεί σε παράγοντα υψηλής ολικής αλλά και καρδιαγγειακής νοσηρότητας και θνητότητας. Υπολογίζεται ότι σε ασθενείς με XNN τα καρδιαγγειακά συμβάντα εμφανίζονται έως και 30 φορές συχνότερα σε σχέση με το γενικό πληθυσμό.

Επιπλέον, είναι ευρέως γνωστό, ότι η προοδευτική εξέλιξη της χρόνιας νεφρικής βλάβης συμπορεύεται με σημαντικές μεταβολές των επιμέρους παραμέτρων του μηχανισμού της αιμόστασης, με τελικό αποτέλεσμα τη διαμόρφωση μιας νέας εύθραυστης ισορροπίας μεταξύ προθρομβωτικών παραγόντων και παραγόντων που ευνοούν την αιμορραγία. Στα πρώιμα στάδια της XNN εκφράζεται ένας ισχυρός προθρομβωτικός φαινότυπος ενώ σε προχωρημένα στάδια χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας η προθρομβωτική διάθεση συνυπάρχει με αυξημένο αιμορραγικό κίνδυνο. Το παράδοξο της συνύπαρξης αυτών των δύο αντικρουόμενων αιμοστατικών διαταραχών οφείλεται σε μεταβολές του αιμοστατικού ομοιοστατικού μηχανισμού που αφορούν στην ισορροπία μεταξύ των παραγόντων πήξης και των φυσικών τους αναστολέων, στην ισορροπία του ινωδολυτικού συστήματος, στα έμμορφα στοιχεία του αίματος και στην ακεραιότητα του αγγειακού τοιχώματος.

Είναι αξιοσημείωτο ότι η προοδευτικά συντελούμενη αναρρύθμιση του αιμοστατικού μηχανισμού λαμβάνει χώρα εντός ενός εξαιρετικά τοξικού μικροπεριβάλλοντος. Το περιβάλλον αυτό χαρακτηρίζεται από τη συσσώρευση πληθώρας ουραιμικών τοξινών, την παρουσία μεταβολικών διαταραχών καθώς και την εκτροπή της οξεοβασικής ισορροπίας και της υδρικής κατάστασης του οργανισμού. Ο αναδυόμενος ρόλος των ουραιμικών τοξινών στην αιμόσταση αποτυπώνεται στην πρόσφατη εισαγωγή του όρου «metabolome» (θρομβομεταβολισμός), ο οποίος υποδηλώνει τον προθρομβωτικό ρόλο των ενδιάμεσων προϊόντων του μεταβολισμού στο μηχανισμό της πήξης, κατά αναλογία με τον όρο θρομβοφλεγμονή που χαρακτηρίζει τις διαδικασίες αθηροσκλήρωσης.

Η εγκατάσταση αυτής της νέας επισφαλούς ισορροπίας μπορεί εύκολα να εκτραπεί είτε προς την εμφάνιση ενός θρομβωτικού επεισοδίου, είτε ενός σοβαρού και δυνητικά θανατηφόρου αιμορραγικού επεισοδίου, με τελικό αποτέλεσμα τη σημαντική

αύξηση της νοσηρότητας και θνητότητας των ασθενών. Η εμφάνιση ενός θρομβωτικού ή αιμορραγικού επεισοδίου σε έναν ασθενή στην πορεία του χρόνου είναι απρόβλεπτη. Αντίστοιχα απρόβλεπτες είναι και οι εκδηλώσεις των επεισοδίων αυτών μεταξύ διαφορετικών ασθενών ίδιου σταδίου ΧΝΝ. Η αιτιολογία αυτής της μεγάλης ετερογένειας δεν έχει διευκρινισθεί με ακρίβεια αλλά συσχετίζεται με την πολυπαραγοντική παθογένεια και τις πολύπλοκες αλληλεπιδράσεις των σηματοδοτικών μονοπατιών που εμπλέκονται στη λειτουργία του ενδοθηλίου, των παραγόντων πήξης, του ινωδολυτικού συστήματος και των έμμορφων στοιχείων του αίματος.

Η εισαγωγή στην καθημερινή κλινική πράξη νέων αντιπηκτικών και αντιαιμοπεταλιακών παραγόντων έχει επικαιροποιήσει τον αυξημένο αιμορραγικό κίνδυνο των ασθενών με έκπτωση της νεφρικής λειτουργίας. Τα αιμορραγικά συμβάντα αναφέρονται σε ποσοστά που κυμαίνονται από 40-50% επί του συνόλου των ασθενών με ΧΝΝ και στο 24% των ασθενών υπό αιμοκάθαρση. Η έκφραση ενός αιμορραγικού φαινοτύπου παθογενετικά θεωρείται αποτέλεσμα της συνεργιστικής δράσης πολλών παραγόντων και περιλαμβάνει εκτός της διαταραγμένης φαρμακοκινητικής των αντιπηκτικών και αντιαιμοπεταλιακών φαρμάκων, διαταραχές της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων, αλλαγές των πολύπλοκων αλληλεπιδράσεών τους με το αγγειακό τοίχωμα και πρωτίστως τη συνυπάρχουσα χρόνια νεφρογενή αναιμία.

Όσον αφορά στην εκδήλωση ενός ισχυρού προθρομβωτικού φαινοτύπου είναι γεγονός ότι η γένεση θρομβίνης αποτελεί το επίκεντρο των δυσμενών καρδιαγγειακών συμβάντων που αποτελούν την κύρια αιτία νοσηρότητας και θνητότητας αυτών των ασθενών. Ως εκ τούτου, η θρόμβωση αντιπροσωπεύει το καταληκτικό σημείο και όχι ένα απλό επιφανόμενο στην πορεία της ΧΝΝ και αφορά είτε στο φλεβικό είτε στο αρτηριακό σκέλος της κυκλοφορίας. Οι υποκείμενοι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί θρόμβωσης στο ουραιμικό μικροπεριβάλλον είναι πολύπλοκοι και έχουν αποτελέσει επίκεντρο της επιστημονικής έρευνας τις τελευταίες δεκαετίες. Η αναγνώριση νέων σηματοδοτικών μονοπατιών ενεργοποίησης του μηχανισμού της πήξης και η μελέτη του ρόλου των εξωκυτταρίων μικροκυστιδίων ως εναλλακτικής πλατφόρμας γένεσης θρομβίνης αλλά και διακυτταρικής επικοινωνίας αναδύονται πλέον μοναδικοί και αξιόπιστοι προγνωστικοί βιοδείκτες καρδιαγγειακής νόσου καθώς και ελπιδοφόροι θεραπευτικοί στόχοι.

Σκοπός της παρούσας πτυχιακής εργασίας είναι η συστηματική ανασκόπηση της διεθνούς βιβλιογραφίας σχετικά με τις αιμοστατικές διαταραχές που επισυμβαίνουν κατά την πορεία της ΧΝΝ και οδηγούν στην εγκατάσταση μιας νέας επισφαλούς ισορροπίας καθώς και του ρόλου των εξωκυτταρίων μικροκυστιδίων ως προθρομβωτικών παραγόντων σε αυτή τη διαδικασία. Επιπρόσθετα, θα περιγραφούν αναλυτικά οι συσχετίσεις των εξωκυτταρίων μικροκυστιδίων με τις διαδικασίες αθηροσκλήρωσης και ειδικότερα την ουραιμική αθηροθρόμβωση, η οποία αποτελεί την κύρια υποκείμενη αιτία των καρδιαγγειακών νοσημάτων σε ασθενείς με ΧΝΝ.

## ABSTRACT

Chronic kidney disease (CKD) represents an increasing public health issue and its prevalence is estimated at 8-16% worldwide. A part of this increase is considered to be due to the rising prevalence of diabetes mellitus and hypertension, the two most common causes of CKD. Since CKD frequently results from the above underlying diseases, the increased cardiovascular disease (CVD) risk of this population has been assumed to be the inevitable sequel of these conditions. However, it has been recently clarified that CKD *per se* constitutes a robust CVD risk factor irrespective of other traditional risk factors. In addition, CVD is the most common complication of CKD and the first cause of death among patients with end-stage renal disease on hemodialysis. In this subpopulation of CKD patients, CVD mortality has been estimated to be 20 times higher than in the general population.

As CVD is the major cause of morbidity and mortality in CKD patients, the pathogenesis of vascular dysfunction in uremia has been emerged in the epicenter of the scientific research in the field of nephrology. Vascular dysfunction induced by uremia has been correlated with the following interrelated parameters; the accelerated uremic atherosclerosis, the arterial stiffness, the vascular calcifications and the abnormalities of vascular repair. The detrimental effect of accumulated uremic toxins on these processes is now considered the missing link in the puzzle of uremic thromboinflammation and atherothrombosis.

Furthermore, under the decline of renal function, a new delicate balance of haemostasis is established gradually through different and complicated mechanisms. As a result, patients suffer from CKD are vulnerable to severe bleeding episodes and concomitantly to recurrent thrombosis. The picture of this unique haemostatic imbalance is further complicated in patients undergoing hemodialysis. The underlying mechanisms of coagulation disorders in uremia remains elusive since haemostasis should be viewed as an integrated system in which intrinsic and extrinsic pathways of coagulation cascade, natural anticoagulants, fibrinolysis, antiphospholipid antibodies interact with endothelial cells, platelets, monocytes and erythrocytes in the setting of a harmful microenvironment (uremic milieu).

Therefore, uremic patients should be acknowledged as a group at high risk of cardiovascular diseases as they live in a state of chronic endothelial dysfunction, subclinical inflammation and oxidative stress, factors that promote a potent prothrombotic phenotype. The emerging role of microparticles in these processes has recently evaluated in uremic patients, especially those on haemodialysis. The current studies have found higher levels of microparticles in uremic patients compared with healthy individuals. Given the explosion of studies in this field, microparticles are now considered as a valuable prognostic factor of cardiovascular disease in uremic patients despite the fact that the pathophysiological mechanisms involved in these process need to be further investigated.

Herein, on the basis of evidence available till now, the present study aims to clarify the coagulation disorders of chronic kidney disease and the evolving role of circulating microparticles in the context of the cellular model of haemostasis. Over and above that, we conducted a systematic review of all the clinical trials regarding the correlation of any kind of microparticles with chronic kidney disease and cardiovascular risk factors.

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα εργασία αποτελεί τη διπλωματική μου διατριβή στα πλαίσια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών « Θρόμβωση – Αιμορραγία - Ιατρική των Μεταγίσεων».

Πριν την παρουσίαση των αποτελεσμάτων αυτής, αισθάνομαι την ανάγκη να ευχαριστήσω ειλικρινά την επιβλέπουσα καθηγήτριά μου κα. Μαριάννα Πολίτου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Αιματολογίας Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ – Διευθύντρια Αιμοδοσίας Αρεταίειου Νοσοκομείου Αθηνών για την επιστημονική καθοδήγηση, την εμπιστοσύνη και την εκτίμηση που μου έδειξε. Ακολουθώ τα μέλη της Επιτροπής κ. Αναστάσιο Κριεμπάρδη, Επίκουρο Καθηγητή Εργαστηριακής Αιματολογίας – Αιμοδοσίας του Τομέα Ιατρικών Εργαστηρίων, Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών, Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής και την κα. Ειρήνη Γράψα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Νεφρολογίας ΕΚΠΑ – Διευθύντρια Νεφρολογικής Κλινικής Αρεταίειου Νοσοκομείου.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω θερμά την Ομότιμη Καθηγήτρια Αιματολογίας Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ κα. Ωραιάνθη Τραυλού, που με επέλεξε ώστε να φοιτήσω στο Μεταπτυχιακό αυτό Πρόγραμμα καθώς και την υπεύθυνη Γραμματείας κα. Φωτεινή Παπανάγνου για την αμέριστη συμπαράστασή της σε όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.







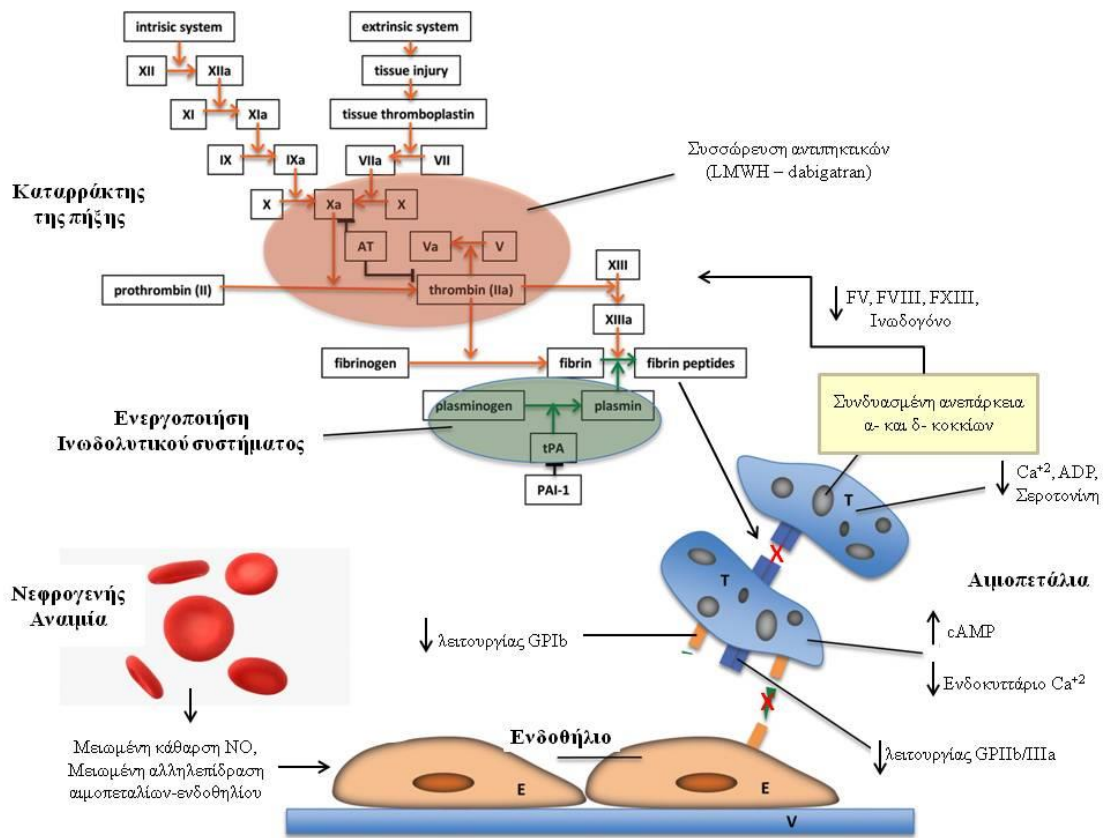
# 1. Η ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΚΗ ΔΙΑΘΕΣΗ ΣΤΟ ΟΥΡΑΙΜΙΚΟ ΜΙΚΡΟΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ

Η εμφάνιση ενός σοβαρού αιμορραγικού επεισοδίου κατά την εξέλιξη της ΧΝΝ αποτελεί μία από τις σημαντικότερες αιτίες νοσηρότητας και θνητότητας των ασθενών με ουραιμία (Remuzzi, 1989). Η συχνότητα των αιμορραγικών επεισοδίων στο σύνολο των ασθενών με ΧΝΝ κυμαίνεται από 40-50% (Pavord and Myers, 2011) ενώ σε ασθενείς υπό αιμοκάθαρση ανέρχεται περίπου στο 24% (Kaufman et al., 2003). Αιτιοπαθογενετικά, η εκτροπή του αιμοστατικού μηχανισμού προς την κατεύθυνση ενός αιμορραγικού φαινοτύπου είναι πολυπαραγοντική (Πίνακας 1) και συσχετίζεται με τις ποσοτικές και ποιοτικές διαταραχές των αιμοπεταλίων, τη λήψη αντι-αιμοπεταλιακών ή/και αντιπηκτικών φαρμάκων, τη διαταραγμένη αλληλεπίδραση των αιμοπεταλίων με το ενδοθήλιο, τη βαρύτητα της νεφρογενούς αναιμίας καθώς και την παρουσία άλλων νοσημάτων (Lutz et al., 2014) (Εικόνα 1).

## **Πίνακας 1.**

### **Αιτίες Αιμορραγικής Διάθεσης στη Χρόνια Νεφρική Νόσο**

- 1. ποσοτικές διαταραχές αιμοπεταλίων**
- 2. ποιοτικές διαταραχές αιμοπεταλίων**
- 3. διαταραχές αλληλεπιδράσεων αιμοπεταλίων – αγγειακού τοιχώματος**
- 4. νεφρογενής αναιμία**
- 5. φάρμακα**
  - β-λακταμικά αντιβιοτικά
  - Κεφαλοσπορίνες 3<sup>ης</sup> γενιάς
  - Λινεζολίδη
  - Τιγκεκυκλίνη
  - Ασπιρίνη – κλοπιδογρέλη
  - ΧΜΒΗ, danaparoid, fontaparinux
  - DOACs (dabigatran)
- 6. υποκείμενα συστηματικά νοσήματα**
  - MDS, Πολλαπλούν Μυέλωμα
  - Ουραιμικό Αιμολυτικό Σύνδρομο
  - σύνδρομο Διάχυτης Ενδαγγειακής Πήξης
  - ηπατονεφρικό σύνδρομο – κίρρωση ήπατος
  - λοιμώξεις
  - Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος



Εικόνα 1. Η πολυπαραγοντική αιτιολογία της αιμορραγικής διάθεσης στη ΧΝΝ (τροποποιημένο σχήμα: Lutz et al, NDT, 2014)

Οι πιο συχνές αιμορραγικές εκδηλώσεις της ουραιμίας αφορούν στην αυτόματη εμφάνιση πετεχειών, πορφύρας και εκχυμώσεων ή επεισοδίων βλεννογονικής αιμορραγίας, όπως ουλορραγίας, επίσταξης, αιματουρίας ή μηνορραγίας. Κάποιες φορές τα αιμορραγικά επεισόδια προκαλούνται από τον τρόπο θεραπευτικής παρέμβασης και εμφανίζονται στη θέση παρακέντησης της αρτηριο-φλεβικής αναστόμωσης ή κατά την τοποθέτηση κεντρικών φλεβικών καθετήρων. Η αιμορραγία που προκαλείται μετά από νεφρική βιοψία καθώς και η σχετιζόμενη με μείζονες χειρουργικές επεμβάσεις αιμορραγία αποτελούν επίσης συχνές εκδηλώσεις του ουραιμικού συνδρόμου. Η εμφάνιση αυτόματης οπισθοπεριτοναϊκής αιμορραγίας, αυτόματου αιματώματος θήκης ορθού κοιλιακού μυός και αιμορραγικής περικαρδίτιδας αποτελούν σπανιότερες αλλά χαρακτηριστικές εκδηλώσεις αυτής της αιμορραγικής διάθεσης. Οι κλινικές εκδηλώσεις της αιμορραγίας στα πλαίσια της ΧΝΝ περιγράφονται στον Πίνακα 2.

<b>Πίνακας 2. Αιμορραγικές Εκδηλώσεις σε Ασθενείς με Χρόνια Νεφρική Νόσο</b>	
<b>Αυτόματες</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. πετέχειες, εκχυμώσεις, πορφύρα</li> <li>2. επίσταξη, ουλορραγία</li> <li>3. αιμόπτυση</li> <li>4. αιματουρία</li> <li>5. μηνορραγία</li> <li>6. γαστρεντερική αιμορραγία</li> <li>7. αμφιβληστροειδική αιμορραγία</li> <li>8. υποσκληρίδιο αιμάτωμα</li> <li>9. οπισθοπεριτοναϊκή αιμορραγία</li> <li>10. αιμορραγική περικαρδίτιδα – επιτωματισμός</li> <li>11. αιμάτωμα θήκης ορθού κοιλιακού</li> </ol>
<b>Προκλητές</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. νεφρική βιοψία</li> <li>2. τοποθέτηση κεντρικού φλεβικού καθετήρα</li> <li>3. άμεση διεγχειρητική αιμορραγία</li> <li>4. παρακέντηση αρτηριοφλεβικής αναστόμωσης</li> </ol>

Η αιμορραγία του πεπτικού συστήματος αναφέρεται περίπου στο ένα τρίτο των ουραιμικών ασθενών αλλά η χρόνια λανθάνουσα απώλεια αίματος μπορεί να είναι ακόμη συχνότερη σε αυτόν τον πληθυσμό (Doherty, 1993). Βέβαια η γαστρεντερική αιμορραγία αποτελεί μια από τις συνηθέστερες εντοπίσεις σοβαρής αιμορραγίας σε ασθενείς υπό αιμοκάθαρση και η εμφάνισή της έχει αποδοθεί μεταξύ άλλων στη συνύπαρξη πεπτικού έλκους, διαβρωτικής γαστρίτιδας, τηλαγγειεκτασιών στο τοίχωμα του στομάχου ή εκκολπωμάτων, αγγειοδυσπλασιών και αλλοιώσεων ισχαιμικής κολίτιδας του κατώτερου πεπτικού συστήματος (Hagendorn et al., 2017). Όσον αφορά την ενδοεγκεφαλική αιμορραγία φαίνεται ότι η εμφάνισή της απαιτεί επίσης τη συνύπαρξη και άλλων εκλυτικών αιτιών όπως την παρουσία ανθεκτικής ή επιταχυνόμενης υπέρτασης ή δομικών διαταραχών, όπως είναι η παρουσία ανευρυσμάτων σε ασθενείς με πολυκυστική νόσο. Παρομοίως, ο κίνδυνος εμφάνισης ενός αιμορραγικού επεισοδίου σε νοσηλευόμενους ασθενείς με σοβαρή έκπτωση της νεφρικής λειτουργίας (eGFR < 30 ml/ min/ 1,73m<sup>2</sup>) είναι σχεδόν διπλάσιος (HR:2,30) σε σχέση με ασθενείς με φυσιολογική νεφρική λειτουργία, γεγονός που επιβεβαιώνει τη θεωρία των πολλαπλών κτυπημάτων προκειμένου να εμφανισθεί ένα μείζων αιμορραγικό επεισόδιο (Parikh et al., 2011). Από την άλλη πλευρά φαίνεται ότι η εξατομικευμένη χορήγηση ερυθροποιητίνης και η βελτίωση των τεχνικών αιμοκάθαρσης τείνουν να μειώσουν τον κίνδυνο εμφάνισης ενός μείζονος αιμορραγικού επεισοδίου (Galbusera et al., 2009).

## 1.1. Ποσοτικές Διαταραχές των Αιμοπεταλίων στην Ουραιμία

Η παρουσία θρομβοπενίας αποτελεί χαρακτηριστικό αιματολογικό γνώρισμα της ΧΝΝ αλλά δεν επαρκεί ως μεμονωμένο εύρημα για να δικαιολογήσει τον αιμορραγικό φαινότυπο της ουραιμίας. Αιτιολογικά έχει συσχετισθεί είτε με μειωμένη μυελική παραγωγή είτε με αυξημένη περιφερική καταστροφή των αιμοπεταλίων, μέσω ανοσολογικών ή μη μηχανισμών.

Είναι γνωστό εδώ και δεκαετίες, ότι η διαδικασία αιμοκάθαρσης καθαυτή επάγει την εμφάνιση θρομβοπενίας, με τη διαμεσολάβηση του καταρράκτη του συμπληρώματος, ο οποίος ενεργοποιείται κατά την εξωσωματική κυκλοφορία του αίματος και την επαφή του με τη μεμβράνη αιμοκάθαρσης (Hakim and Schafer, 1985). Επιπλέον, η περιοδική χορήγηση κλασσικής ή χαμηλού μοριακού βάρους ηπαρίνης, ως αντιπηκτικής αγωγής κατά την διάρκεια της συνεδρίας αιμοκάθαρσης, έχει συσχετισθεί με την εμφάνιση ήπιας θρομβοπενίας ανεξάρτητης από ανοσολογικούς μηχανισμούς.

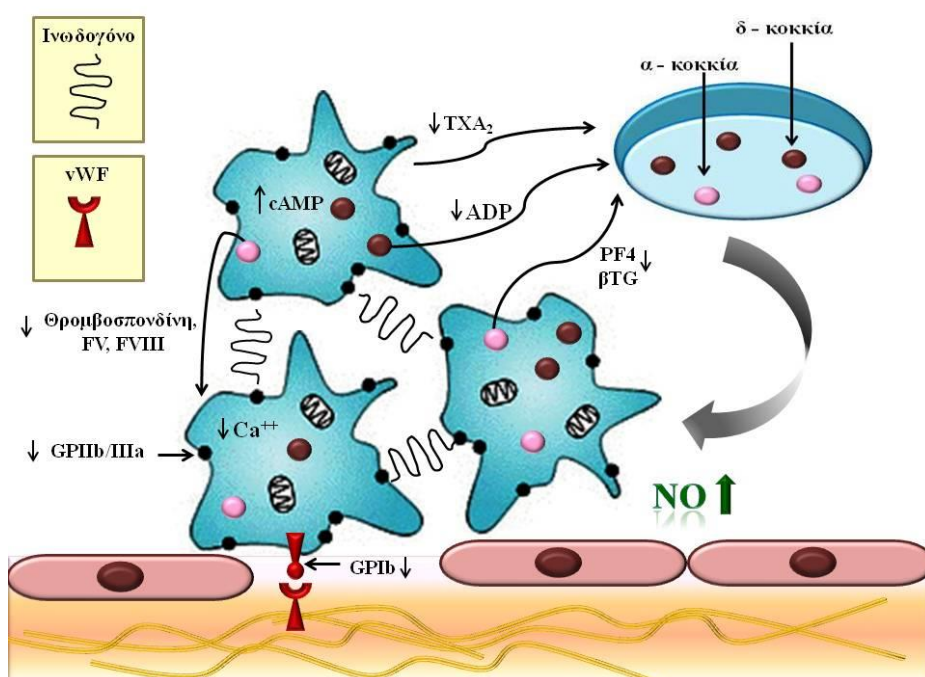
Από την άλλη πλευρά βέβαια, φαίνεται ότι η αλματώδης τεχνολογική πρόοδος των τελευταίων δεκαετιών σχετικά με την βιοσυμβατότητα των υλικών αιμοκάθαρσης έχει βελτιώσει σημαντικά το βαθμό ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων και την επαγόμενη ουραιμική θρομβοπάθεια. Σε αυτές τις περιπτώσεις, η εμμένουσα και συνήθως ήπια θρομβοπενία έχει συσχετισθεί με το σχηματισμό συσσωματωμάτων αιμοπεταλίων και αιμοπεταλίων-μονοκυττάρων, διαδικασίες που αντανakλούν την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων κατά την επαφή τους με το εξωσωματικό κύκλωμα ή την έκφραση μορίων στην επιφάνειά τους, όπως της p-σελεκτίνη (CD62p)(Daugirdas and Bernardo, 2012). Η έκφραση p-σελεκτίνης στην επιφάνεια του αιμοπεταλίου αποτελεί ιδανικό δείκτη ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων και εξηγεί το σχηματισμό συσσωματωμάτων αιμοπεταλίων-λευκοκυττάρων, δεδομένης της παρουσίας του υποδοχέα της p-σελεκτίνης σε υποπληθυσμούς λευκοκυττάρων. Η επακόλουθη ενεργοποίηση των λευκοκυττάρων και η απελευθέρωση προφλεγμονωδών κυτταροκινών αντιπροσωπεύει έναν πυροδοτικό μηχανισμό φλεγμονώδους απόκρισης στα πλαίσια της αποκαλούμενης αιμοπετάλιο-λευκοκυτταρικής αλληλεπίδρασης. Φαίνεται ότι η παραπάνω επαναλαμβανόμενη διαδικασία ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων προκαλεί λειτουργική εξάντλησή τους ή ακόμη και βράχυνση του χρόνου ζωής τους λόγω πρόωρης απομάκρυνσης τους από την κυκλοφορία. Πάντως, χωρίς αμφιβολία, οι συνθετικές μεμβράνες πολυσουλφόνης υπερτερούν σε σχέση με τις παλαιότερες μεμβράνες κουπροφάνης αναφορικά με το βαθμό ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων και του καταρράκτη του συμπληρώματος αν και νεότεροι αιτιολογικοί παράγοντες θρομβοπενίας έχουν αναδυθεί, όπως η εφαρμογή γ-ακτινοβολίας ως μεθόδου αποστείρωσης των βιοϋλικών αιμοκάθαρσης (Kiaii et al., 2011).

Τέλος, η παρουσία θρομβοπενίας έχει συσχετισθεί με υποκείμενα συστηματικά νοσήματα όπως το χρόνια ουραιμικό αιμολυτικό σύνδρομο, ο συστηματικός ερυθματώδης λύκος ή συνυπάρχοντα χρόνια αιματολογικά νοσήματα όπως τα μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα και οι πλασματοκυτταρικές δυσκρασίες (Galbusera et al., 2009). Επιπρόσθετα, η εμφάνιση θρομβοπενίας επιπλέκει συχνά την πορεία

βακτηριακών ή ιογενών λοιμώξεων σε αυτή την ομάδα ανοσοανεπαρκών ασθενών και ενδέχεται να αποτελεί μέρος του συνδρόμου διάχυτης ενδοαγγειακής πήξης ή επιπλοκή των χορηγούμενων φαρμάκων. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η περίπτωση της λινεζολίδης, η δράση της οποίας στο ουραιμικό μικροπεριβάλλον είναι απρόβλεπτη και έχει συσχετισθεί με σοβαρού βαθμού θρομβοπενία και δυνητικά θανατηφόρα αιμορραγικά επεισόδια (Wu et al., 2006).

## 1.2. Ποιοτικές Διαταραχές των Αιμοπεταλίων στην Ουραιμία

Οι επίκτητες διαταραχές της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων στη ΧΝΝ διαδραματίζουν πρωταγωνιστικό ρόλο στην εκτροπή του αιμοστατικού μηχανισμού προς την αιμορραγία (Εικόνα 2). Η ουραιμική θρομβοπάθεια έχει συσχετισθεί αιτιοπαθογενετικά με αλληλένδετους μηχανισμούς οι οποίοι εμπλέκουν μεταξύ άλλων, τη διαταραγμένη ενεργοποίηση των ιντεργκρινών και τη μειωμένη ικανότητα συσσώρευσης των αιμοπεταλίων ως απάντηση σε διάφορους αγωνιστές (Casari and Bergmeier, 2016). Σε μοριακό επίπεδο, η διαταραγμένη ικανότητα συσσώρευσης των αιμοπεταλίων έχει συσχετισθεί με τη μειωμένη ικανότητα βιοσύνθεσης και απελευθέρωσης θρομβοξανίου ( $TXA_2$ ), τη μειωμένη περιεκτικότητα των  $\alpha$ -κοκκίων σε προπηκτικούς παράγοντες (storage pool defect) και τις αυξημένες συγκεντρώσεις κυκλικού AMP και GMP στο κυτταρόπλασμα. Επιπρόσθετες μεταβολές που αφορούν την παρουσία αναστολέων των σηματοδοτικών οδών ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων, όπως της προστακυκλίνης ( $PGI_2$ ) και του νιτρικού οξειδίου (NO) από το ενδοθήλιο, θεωρείται ότι επιτείνουν τις προαναφερθείσες διαταραχές (Πίνακας 3).



Εικόνα 2. Το ουραιμικό αιμοπετάλιο – παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί (Σχήμα: Σαμπάνης Ν.)

<b>Πίνακας 3. Ποιοτικές Διαταραχές Αιμοπεταλίων στη Χρόνια Νεφρική Νόσο</b>	
1.	Συνδυασμένη ανεπάρκεια των α- και δ- κοκκίων
2.	Διαταραχές έκκρισης και σημειακής διαμεταβίβασης * διαταραχές του ενδογενούς μεταβολισμού των προσταγλανδινών και του αραχιδονικού οξέος * μειωμένη βιοσυνθετική ικανότητα θρομβοξανίου * λειτουργική ανεπάρκεια αιμοπεταλιακής κυκλοοξυγενάσης * λειτουργική διαταραχή αδενυλκυκλάσης του άξονα αδενυλκυκλάσης – c-AMP * αύξηση επιπέδων c-AMP * αδυναμία κοινητοποίησης ασβεστίου από τις ενδοκυττάρια δεξαμενές
3.	Διαταραχές κυτταροσκελετού * διαταραχή συστήματος συναρμολόγησης των πρωτεϊνών α-ακτίνης και τροπομυοσίνης * διαταραχή σηματοδοτικής οδού τυροσινικής κινάσης
4.	Διαταραχές συγκόλλησης * διαταραχή του υποδοχέα ινωδογόνου GPIIb-IIIa
5.	Διαταραχές προσκόλλησης * διαταραχή του υποδοχέα GPIb-IX-V
6.	Διαταραχές προπηκτικής αιμοπεταλιακής λειτουργίας

Πιο συγκεκριμένα, σε ουραιμικούς ασθενείς έχει παρατηρηθεί συνδυασμένη ανεπάρκεια των α- και δ-κοκκίων. Οι διαταραχές κοκκίωσης των α-κοκκίων έχουν συνδεθεί με μειωμένη περιεκτικότητα και ικανότητα απελευθέρωσης προπηκτικών παραγόντων όπως της θρομβοσπονδίνης, των παραγόντων V και VIII, του ινωδογόνου και του PF4. Όσον αφορά τις επαγόμενες από την ουραιμία διαταραχές των δ-κοκκίων έχει αναφερθεί επίσης μειωμένη συγκέντρωση και απελευθέρωση των ουσιών που επάγουν τις διαδικασίες συσσώρευσης, όπως της σεροτονίνης και του ADP.

Η διαταραγμένη λειτουργία των διαμεμβρανικών αιμοπεταλιακών υποδοχέων, όπως του υποδοχέα GPIIb-IIIa, εξηγεί εν μέρει την αποτυχία της πρώτης φάσης σχηματισμού του αιμοπεταλιακού θρόμβου στο ουραιμικό περιβάλλον, αφού η παρουσία του είναι αναγκαία συνθήκη δημιουργίας γεφυρών ινωδογόνου μεταξύ παρακειμένων ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων. Η διαταραχή της αλληλεπίδρασης μεταξύ του ινωδογόνου και του υποδοχέα του έχει συσχετισθεί με ποιοτικές και όχι ποσοτικές διαταραχές της έκφρασής του και θεωρείται αποτέλεσμα της δράσης ουραιμικών τοξινών που αίρονται με την ένταξη του ασθενούς σε αιμοκάθαρση. Επιπλέον, οι ανωτέρω διαταραχές επιτείνονται σε συνθήκες ανεπάρκειας των α-κοκκίων λόγω μειωμένης αποκοκκίωσης ουσιών, όπως της θρομβοσπονδίνης. Επομένως, η μειωμένη παρουσία θρομβοσπονδίνης, η οποία σε φυσιολογικές συνθήκες καθορίζει τη μη αναστρέψιμη σταθεροποίηση των γεφυρών ινωδογόνου με τους GPIIb-

IIIa υποδοχείς, επηρεάζει δυσμενώς και τη δεύτερη φάση αιμοπεταλιακής συγκόλλησης (Gawaz et al., 1994).

Σε άλλες μελέτες, η ενεργοποίηση του ινωδολυτικού συστήματος σε συνθήκες ουραιμίας καθώς και η επαγόμενη από την αιμοκάθαρση ινωδολύση έχουν αναγνωριστεί ως αιτίες δυσλειτουργίας του GPIIb-IIIa υποδοχέα εξαιτίας της ανταγωνιστικής δράσης των θραυσμάτων ινωδογόνου (fibrinogen fragments) με τα ακέραια μόρια του ινωδογόνου για τις ίδιες θέσεις πρόσδεσης στον αιμοπεταλιακό υποδοχέα (Thekkedath et al., 2006). Βέβαια, το κατά πόσο η άμεση ενεργοποίηση του ινωδολυτικού συστήματος κατά την διαδικασία αιμοκάθαρσης, η οποία εκφράζεται ως αύξηση των επιπέδων του ιστικού ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (tPA), συμμετέχει ουσιαστικά στη διαμόρφωση ενός αιμορραγικού φαινοτύπου παραμένει ασαφής και αδιευκρίνιστη (Sabovic et al., 2005).

Επιπρόσθετες μεταβολές που αφορούν ποσοτικά και ποιοτικά χαρακτηριστικά του υποδοχέα GPIIb-IX-V έχουν μελετηθεί σε συνθήκες ουραιμίας και έχουν θεωρηθεί ότι υπεισέρχονται στις διαταραχές των διαδικασιών συγκόλλησης και προσκόλλησης των αιμοπεταλίων (Qin et al., 2008). Η συμμετοχή του υποδοχέα GPIIb-IX-V στις παραπάνω διαδικασίες γίνεται αντιληπτή αν λάβουμε υπόψη τον κομβικό ρόλο που κατέχει στην αλληλεπίδραση των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων με το τραυματισμένο ενδοθήλιο διαμέσου του παράγοντα Von Willebrand (Andrews et al., 2003).

Σχετικά με τις διαταραχές του μεταβολισμού των προσταγλανδινών στα ουραιμικά αιμοπετάλια, οι Remuzzi και συν. παρατήρησαν μειωμένη ικανότητα παραγωγής αραχιδονικού οξέως ως απάντηση στο ομόλογο ερέθισμα της θρομβίνης, σε σχέση με τα φυσιολογικά αιμοπετάλια. Στις μελέτες που ακολούθησαν, τα ευρήματα αυτά όχι μόνο επιβεβαιώθηκαν αλλά επιπλέον συσχετίστηκαν με τη λειτουργική ανεπάρκεια της αιμοπεταλιακής κυκλο-οξυγενάσης στο ουραιμικό μικροπεριβάλλον (Remuzzi et al., 1983). Η τελική όμως έκφραση του διαταραγμένου μεταβολισμού των προσταγλανδινών και της ικανότητας παραγωγής θρομβοξανίου είναι η ελαττωμένη ικανότητα συσσώρευσης και προσκόλλησης των αιμοπεταλίων ως απάντηση σε διάφορα ενδογενή ή εξωγενή ερεθίσματα (Di Minno et al., 1986). Οι Macconi και συν. αποκάλυψαν ότι η διαταραγμένη ικανότητα αιμοπεταλιακής συσσώρευσης στο ισχυρό ερέθισμα του αιμοπεταλιακού ενεργοποιητικού παράγοντα (PAF) οφείλεται στη μειωμένη ικανότητα βιοσύνθεσης θρομβοξανίου (Macconi et al., 1992).

Στην ουραιμία έχουν αναγνωρισθεί επίσης διαταραχές έκκρισης και σημειακής διαμεταβίβασης των αιμοπεταλίων, οι οποίες μεταξύ άλλων περιλαμβάνουν μεταβολές του άξονα αδενυλ-κυκλάσης – cAMP. Η λειτουργική διαταραχή της αδενυλ-κυκλάσης έχει συσχετισθεί με τη διαταραχή συσσώρευσης των αιμοπεταλίων και την αιμορραγική διάθεση των ασθενών με προχωρημένη νεφρική νόσο (Vlachoyannis and Schoeppe, 1982). Είναι γνωστό ότι ο λειτουργικός έλεγχος της αιμοπεταλιακής αδενυλ-κυκλάσης καθορίζεται από τη συνδυασμένη δράση ενεργοποιητικών και ανασταλτικών δικτύων τα οποία αντιστοιχούν στην οδό των προσταγλανδινών και κατεχολαμινών αντίστοιχα. Σε ουραιμικές συνθήκες, η υπερενεργοποίηση της αδενυλ-κυκλάσης είναι το συνεργιστικό αποτέλεσμα ενεργοποίησης της οδού των προσταγλανδινών και



αδρανοποίησης της ανασταλτικής οδού των κατεχολαμινών, η οποία μεταφράζεται σε αύξηση των επιπέδων του cAMP και ως εκ τούτου διαταραχή της ικανότητας συσσώρευσης και προσκόλλησης (Jacobsson et al., 1985).

Η εκτροπή της σηματοδοτικής οδού του ενδοκυτταρίου ασβεστίου αποτελεί μία επιπρόσθετη έκφραση της διαταραγμένης σημειακής διαμεταβίβασης στο ουραιμικό αιμοπετάλιο. Η αδυναμία αύξησης της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης ασβεστίου μετά την επίδραση διαφόρων αγωνιστών, έχει συσχετισθεί, είτε με την ανεπαρκή εισροή του από τον εξωκυττάριο χώρο, είτε με την αδυναμία κινητοποίησής του από τις ενδοκυττάριας δεξαμενές ασβεστίου. Το τελικό αποτέλεσμα αυτής της ενδοκυττάριας μεταβολικής διαταραχής αφορά στο σύνολο των ασβέστιο-εξαρτώμενων λειτουργιών των αιμοπεταλίων και πρωτίστως στην πρώτη φάση δημιουργίας του αιμοπεταλιακού θρόμβου (Ware et al., 1989).

Εκτός των παραπάνω βιοχημικών μεταβολών, το ουραιμικό αιμοπετάλιο φαίνεται να παρουσιάζει επιπλέον διαταραχές του κυτταροσκελετού και της ενδογενούς ικανότητας συστολής. Οι μεταβολές αυτές αφορούν κυρίως στο σύστημα συναρμολόγησης των πρωτεϊνών α-ακτίνης και τροπομυοσίνης στο ενεργοποιημένο αιμοπετάλιο. Συνεπώς, υπό την επίδραση της θρομβίνης, η ικανότητα συστολής του ικρίωματος των δομικών πρωτεϊνών διαταράσσεται επηρεάζοντας δυσμενώς τόσο τις αντιδράσεις αποκοκκίωσης όσο και σε ένα μεταγενέστερο στάδιο την ικανότητα συστολής του θρόμβου (Escolar et al., 1993). Οι παραπάνω μεταβολές των συσταλών πρωτεϊνών έχουν συσχετισθεί από την ίδια ομάδα ερευνητών με την επαναλαμβανόμενη ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων κατά τη διέλευσή τους από το εξωσωματικό κύκλωμα. Ως πιθανή αιτία αυτής της διαταραχής έχει αναγνωρισθεί η απορρύθμιση της σηματοδοτικής οδού της τυροσινικής κινάσης, η οποία εμπλέκεται στη φωσφορυλίωση και ενεργοποίηση των δομικών συστατικών του κυτταροσκελετού (Diaz-Ricart et al., 2000).

Αξίζει τέλος να αναφερθεί ο ρόλος των εξωκυττάριας MVs στην αιμοπεταλιακή λειτουργία. Σε πρόσφατες μελέτες η εκτροπή της αιμοστατικής ισορροπίας στην ουραιμία έχει αδιάρρηκτα συνδεθεί με την παρουσία στο πλάσμα μικροσωματιδίων ενδοθηλιακής, αιμοπεταλιακής και μονοπυρηνικής προέλευσης, τα οποία εκφράζουν στην επιφάνειά τους ισχυρούς προπηκτικούς παράγοντες όπως η φωσφατιδυλοσερίνη και ο ιστικός παράγοντας (Freyssinet and Toti, 2010). Από την άλλη πλευρά, οι επιδράσεις των MVs στην αιμοπεταλιακή λειτουργία και την αιμορραγική διάθεση που χαρακτηρίζει το ουραιμικό σύνδρομο είναι ακόμη ασαφείς. Ένας πιθανός μηχανισμός αλληλεπίδρασης των ουραιμικών αιμοπεταλίων με τα MVs είναι αυτός της μεταφοράς microRNAs.

Τα microRNAs αποτελούν μικρού μήκους αλυσίδες RNA και ρυθμίζουν τη γονιδιακή έκφραση στα ευκαρυωτικά κύτταρα μέσω πρόσδεσης σε μια μη κωδική περιοχή των mRNA-στόχων. Με άλλα λόγια, τα microRNAs καθορίζουν την πρωτεϊνοσύνθεση είτε μέσω μετα-μεταγραφικής σίγησης γονιδίων είτε μέσω αποδόμησης συγκεκριμένων μεταγράφων RNAs. Ως παράδειγμα αναφέρεται η έκφραση του αιμοπεταλιακού υποδοχέα P2Y<sub>12</sub> του ADP, ο οποίος υπόκειται στο

ρυθμιστικό έλεγχο microRNAs που εμπεριέχονται στα MVs. Το αποτέλεσμα της μειωμένης έκφρασης του ADP υποδοχέα είναι η απορρύθμιση της διαδικασίας ενεργοποίησης του υποδοχέα GPIIb-IIIa, ο οποίος σχετίζεται με τις διαδικασίες συγκόλλησης και προσκόλλησης (Landry et al., 2009).

Τελεολογικά, αυτός ο μηχανισμός ρύθμισης της πρωτεομικής ενός απύρηνου κυττάρου φαίνεται αναγκαίος εξαιτίας της βραχείας ζωής του αιμοπεταλίου. Επιπλέον όμως, αποτελεί έναν προσαρμοστικό μηχανισμό σε ένα μεταβαλλόμενο περιβάλλον, όπως είναι το προθρομβωτικό ουραιμικό περιβάλλον ή αυτό που δημιουργείται κατά την περιοδική επαφή του αιμοπεταλίου με τη μεμβράνη αιμοκάθαρσης (Lindsay and Edelstein, 2016).

Με βάσει τα όσα αναλύθηκαν παραπάνω, γίνεται αντιληπτό ότι οι μεταβολές της πρωτεομικής δομής του ουραιμικού αιμοπεταλίου αντανακλούν μεταβολές του μεταγραφικού δυναμικού και των microRNAs που εμπεριέχει είτε κατά το σχηματισμό του στο μυελό είτε μέσω των προσλαμβανομένων μικροκυστιδίων. Επιπλέον, οι Ple και συν., ανέδειξαν πρόσφατα ότι οι μεταβολές των πρωτεϊνών και των microRNAs στα αιμοπετάλια ουραιμικών ασθενών σχετίζονται πρωτίστως με τη συσσώρευση ουραιμικών τοξινών αλλά και ότι αποκαθίστανται ικανοποιητικά με την εφαρμογή περιοδικής αιμοκάθαρσης (Ple et al., 2012).

### **1.3. Διαταραχές των Αλληλεπιδράσεων Αιμοπεταλίων - Αγγειακού Τοιχώματος**

Η διαταραγμένη αλληλεπίδραση των ουραιμικών αιμοπεταλίων με το αγγειακό τοίχωμα είναι στενά συνδεδεμένη με τις προαναφερθείσες λειτουργικές διαταραχές των αιμοπεταλίων, και πρωτίστως τη λειτουργία των αιμοπεταλιακών υποδοχέων GPIIb-IIIa και GPIb-IX-V. Ως επακόλουθο, η συνδετική ικανότητα των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων με τις δύο βασικές πρωτεΐνες του πλάσματος, το ινωδογόνο και τον παράγοντα von Willebrand, διαταράσσεται. Οι διαταραχές αυτές μπορεί να θεωρηθούν αντισταθμιστικές μεταβολές στη σημαντική αύξηση των επιπέδων του ινωδογόνου και του παράγοντα von Willebrand στην ουραιμία και τελεολογικά αποσκοπούν στην επαναρρύθμιση της αιμοστατικής ισορροπίας (Zwaginga et al., 1990).

Επιπρόσθετα, είναι γνωστό ότι το ουραιμικό περιβάλλον αντιστοιχεί σε ένα ιδιαίτερα βλαπτικό περιβάλλον για τις φυσιολογικές κυτταρικές λειτουργίες μέσω αλληλένδετων προφλεγμονωδών και προ-οξειδωτικών μηχανισμών. Υπό αυτές τις συνθήκες, η αυξημένη παρουσία μορίων όπως της προστακυκλίνης και του μονοξειδίου του αζώτου (NO), επηρεάζει καταλυτικά την ικανότητα αλληλεπίδρασης των αιμοπεταλίων με τον ενδοθηλιακό φραγμό αλλά και τις αιμοπετάλιο-αιμοπεταλιακές αλληλεπιδράσεις.

Το NO αποτελεί έναν ισχυρό ανταγωνιστή της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων πέραν των άλλων γνωστών επιδράσεων του επί του τόνου του αγγειακού τοιχώματος. Οι Noris και συν., ανέδειξαν το ρόλο των συσσωρευμένων ουραιμικών τοξινών και

ειδικότερα του γουανιδινο-σουκκινικού οξέως στον άξονα L-αργινίνη- NO συνθετάση-cGMP και επιπλέον συσχέτισαν τα αυξημένα επίπεδα του NO με την παράταση του χρόνου ροής σε ασθενείς υπό αιμοκάθαρση (Noris and Remuzzi, 1999). Επομένως, η αυξημένη παραγωγή NO ασκεί καθοριστικό ρόλο στη διαμόρφωση ενός αιμορραγικού φαινοτύπου σε αυτή την ομάδα ασθενών.

Χωρίς αμφιβολία η εφαρμογή εξωνεφρικής κάθαρσης βελτιώνει σημαντικά το αιμορραγικό προφίλ των ουραιμικών ασθενών αλλά δεν εκμηδενίζει τον αιμορραγικό κίνδυνο, αφού η ίδια η διαδικασία έχει συσχετισθεί με αυξημένη παραγωγή κυτταροκινών όπως του TNF-α και της IL-1b (Noris et al., 1993). Η δράση αυτή συντελείται μέσω ενεργοποίησης των μονοκυττάρων με τη διαμεσολάβηση του καταρράκτη του συμπληρώματος, ενώ παράλληλα οι λειτουργικές εφεδρείες των αιμοπεταλίων εξαντλούνται κατά την επαναλαμβανόμενη επαφή τους με το εξωσωματικό κύκλωμα. Επιπρόσθετα, η παρουσία ακετο-οξεικού ή βακτηριακών ενδοτοξινών στο διάλυμα αιμοκάθαρσης συντηρεί ένα επίπεδο χρόνιας υποκλινικής φλεγμονής και ως εκ τούτου τα επίπεδα NO διατηρούνται ιδιαίτερα αυξημένα σε εκείνους τους ασθενείς που θα εμφανίσουν ένα αιμορραγικό επεισόδιο (Noris et al., 1998).

#### **1.4. Ο Ρόλος της Αναιμίας**

Η αναιμία αποτελεί μία από τις συχνότερες κλινικές εκδηλώσεις της ΧΝΝ. Η παρουσία της και η βαρύτητά της έχουν συσχετισθεί άμεσα και έμμεσα με τις αιμορραγικές επιπλοκές της ουραιμίας. Φυσιολογικά, η επαφή των αιμοπεταλίων με το ενδοθήλιο διευκολύνεται από την απώθησή τους προς την περιφέρεια του αγγειακού τοιχώματος καθώς τον κεντρικό άξονα του αγγείου καταλαμβάνουν τα ερυθροκύτταρα. Αντίθετα, η νεφρογενής αναιμία αναστέλλει την ικανότητα αλληλεπίδρασης αιμοπεταλίων και ενδοθηλιακών κυττάρων επιτείνοντας την προϋπάρχουσα αιμορραγική προδιάθεση .

Επιπρόσθετα, η παρουσία ικανού αριθμού ερυθροκυττάρων επάγει την απελευθέρωση ADP ή/ και την αδρανοποίηση της προστακυκλίνης με αποτέλεσμα τη σημαντική βελτίωση της διαταραγμένης λειτουργίας του ουραιμικού αιμοπεταλίου. Εξάλλου, η αιμοσφαιρίνη αποτελεί έναν βασικό «αποικοδομητή (scavenger)» του NO, η παραγωγή του οποίου διαταράσσεται στο ουραιμικό μικροπεριβάλλον. Συνεπώς, η αδυναμία κάθαρσης του NO σε συνδυασμό με την αυξημένη παραγωγή του επιτείνουν τις λειτουργικές διαταραχές των αιμοπεταλίων και την ικανότητα αγγειοσύσπασης ως απάντησης στον τραυματισμό του αγγείου.

Οι παραπάνω επιπλοκές της αναιμίας όμως αντιστρέφονται με την μεταγγισιοθεραπεία ή/και την χορήγηση ανθρώπινης ανασυνδυασμένης ερυθροποιητίνης. Η επίτευξη αιματοκρίτη-στόχου > 30%, έχει συσχετισθεί με αποκατάσταση του παρατεταμένου χρόνου ροής αλλά και των διαταραγμένων παραμέτρων αιμοπεταλιακής συσσώρευσης μετά από διέγερση με θρομβίνη, ADP ή

επινεφρίνη (el-Shahawy et al., 1994; Livio et al., 1982). Οι Tassies και συν., παρατήρησαν βελτίωση της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων πρώιμα μετά την χορήγηση ανθρώπινης ανασυνδυασμένης ερυθροποιητίνης λόγω αυξημένης παρουσίας νεότερων και πιο ενεργών αιμοπεταλίων, τα οποία, σε αντίθεση με τα αιμοπετάλια ουραιμικών ασθενών με σοβαρή αναιμία, παρουσίαζαν ικανοποιητική κοκκίωση (Tassies et al., 1998). Επομένως, ο ρόλος της ανασυνδυασμένης ερυθροποιητίνης στην αντιμετώπιση της επαγόμενης από την ουραιμία αιμορραγικής διάθεσης είναι διττός και περιλαμβάνει αφενός μεν την αύξηση του αριθμού των ερυθροκυττάρων και αφετέρου ποσοτικές και ποιοτικές μεταβολές των αιμοπεταλίων (Vigano et al., 1991).

### **1.5. Επαγόμενες από Φάρμακα Αιμορραγικές Επιπλοκές**

Είναι ευρέως γνωστό ότι η επισφαλής αιμοστατική ισορροπία που έχει διαμορφωθεί κατά την προοδευτική εξέλιξη της ΧΝΝ, μπορεί απρόβλεπτα να διαταραχθεί από πληθώρα φαρμάκων που χρησιμοποιούνται συχνά σε ουραιμικούς ασθενείς, χωρίς προηγούμενη δοσολογική τροποποίηση.

Η χορήγηση ασπιρίνης για παράδειγμα σε ασθενείς υπό αιμοκάθαρση έχει συσχετισθεί με μεγαλύτερη παράταση του χρόνου ροής σε σχέση με υγιή άτομα και αποδίδεται στη μη αναστρέψιμη αναστολή της ήδη διαταραγμένης αιμοπεταλιακής κυκλο-οξυγενάσης (Gaspari et al., 1987). Παρομοίως, η ανασταλτική αλλά αναστρέψιμη δράση των μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών στην κυκλο-οξυγενάση του ουραιμικού αιμοπεταλίου και σε συνθήκες σχετικής υπεργαστριναιμίας έχει συσχετισθεί με αυξημένη συχνότητα αιμορραγικών επιπλοκών από το ανώτερο γαστρεντερικό. Όσον αφορά στα από του στόματος χορηγούμενα αντιπηκτικά είναι γνωστό ότι έχουν συσχετισθεί με αυξημένο αιμορραγικό κίνδυνο σε ασθενείς με ΧΝΝ ή τελικού σταδίου νεφρική ανεπάρκεια ενώ από τα νεότερα αντιπηκτικά μόνο η apixaban έχει εγκριθεί ως ασφαλές και αποτελεσματικό αντιπηκτικό στην ΧΝΝ κατόπιν δοσολογικής τροποποίησης (Jain and Reilly, 2018).

Τα β-λακταμικά αντιβιοτικά έχουν επίσης συσχετισθεί με σημαντική παράταση του χρόνου ροής και της συσσωρευτικής ικανότητας των αιμοπεταλίων λόγω αναστολής των ADP αιμοπεταλιακών υποδοχέων. Η δράση αυτή προσομοιάζει της κλοπιδογρέλης και αφορά ένα ήδη δυσλειτουργικό αιμοπετάλιο. Τέλος, η χορήγηση κεφαλοσπορινών τρίτης γενεάς έχει συσχετισθεί με παρόμοιες ανεπιθύμητες ενέργειες εξαιτίας της μειωμένης κάθαρσής τους και της επακόλουθης παρατεταμένης αλληλεπίδρασής τους με αιμοπεταλιακούς υποδοχείς.

## 2. Η ΠΡΟΘΡΩΜΒΩΤΙΚΗ ΔΙΑΘΕΣΗ ΣΤΟ ΟΥΡΑΙΜΙΚΟ ΜΙΚΡΟΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ

Η ΧΝΝ αποτελεί ένα αναδυόμενο πρόβλημα δημόσιας υγείας με συχνότητα που κυμαίνεται από 8-16% του παγκόσμιου πληθυσμού ενηλίκων (Jha et al., 2013). Στις ΗΠΑ υπολογίζεται ότι η ΧΝΝ αφορά το 10% του πληθυσμού ενηλίκων (>20 ετών) και το ποσοστό αυτό προβλέπεται να αυξηθεί δραματικά τις επόμενες δεκαετίες, γεγονός που αποδίδεται στην ηλικιο-εξαρτώμενη συννοσηρότητα, τη γήρανση του πληθυσμού και τη βελτίωση των παρεχομένων υπηρεσιών υγείας ή/και της προσβασιμότητας στις αντίστοιχες δομές (USRDS data annual report 2013).

Παρομοίως, η επίπτωση της ΧΝΝ στις αναπτυσσόμενες χώρες καθώς και τις υπό-ανάπτυξη οικονομίες, παρουσιάζει αξιοσημείωτη αύξηση τις τελευταίες δεκαετίες γεγονός που αποτυπώνεται στην εντυπωσιακή αύξηση των ασθενών που εντάσσονται σε πρόγραμμα χρόνιας περιοδικής αιμοκάθαρσης. Η αιτιολογία αυτής της παράδοξης επιδημιολογικής μετάβασης έχει συσχετισθεί με την αλληλοεπικάλυψη παραγόντων, όπως της κλιματικής αλλαγής, των μετακινήσεων πληθυσμών, της εντατικοποίησης της γεωργίας, της παγκόσμιας φτώχειας και του αστικοποιημένου τρόπου ζωής. Επομένως οι πληθυσμοί αυτοί υπόκεινται στο διπλό κίνδυνο των λοιμώξεων και των χρόνιων νοσημάτων ταυτόχρονα (Agyei-Mensah and de-Graft Aikins, 2010).

Επί της ουσίας δηλαδή, η ΧΝΝ αντιπροσωπεύει μία πανδημία ισχυρά σχετιζόμενη με υψηλή ολική και καρδιαγγειακή νοσηρότητα και θνητότητα (Couser et al., 2011; Sarnak et al., 2003). Από το 1990 έως το 2010, η ΧΝΝ ανήλθε από την 27<sup>η</sup> θέση της λίστας αιτιών θανάτου σε παγκόσμια κλίμακα στην 18<sup>η</sup> θέση και πλέον καταλαμβάνει την 3<sup>η</sup> υψηλότερη θέση μείωσης του προσδόκιμου επιβίωσης λόγω πρόωρου θανάτου (Lozano et al., 2012). Η πρόσφατα αναθεωρημένη σταδιοποίηση της ΧΝΝ με βάσει όχι μόνο τη μείωση του  $eGFR \leq 60 \text{ ml/min/1,73m}^2$  αλλά και την παρουσία αλβουμινουρίας ( $ACR \geq 1,1 \text{ mg/mmol}$ ) για διάστημα  $\geq 3$  μηνών, αποτυπώνει με τον καλύτερο τρόπο τον ανεξάρτητο και ισχυρό προγνωστικό της ρόλο στον καρδιαγγειακό κίνδυνο (Stevens and Levin, 2013) (Πίνακας 4).

**Πίνακας 4.**  
**Αναθεωρημένη Σταδιοποίηση της Χρόνιας Νεφρικής Νόσου βάσει eGFR και Αλβουμινουρίας**

Category	GFR, mL/min per 1.73 m <sup>2</sup>	AER, mg/d	ACR Equivalent, mg/g	Descriptor
<b>GFR</b>				
G1	$\geq 90$	-	-	Normal or high
G2	60–89	-	-	Mildly decreased*†
G3a	45–59	-	-	Mildly to moderately decreased
G3b	30–44	-	-	Moderately to severely decreased
G4	15–29	-	-	Severely decreased
G5	<15	-	-	Kidney failure
<b>Albuminuria</b>				
A1	-	<30	<30	Normal to mildly increased
A2	-	30–300	30–300	Moderately increased*
A3	-	>300	>300	Severely increased‡

ACR = albumin–creatinine ratio; AER = albumin excretion rate; GFR = glomerular filtration rate.

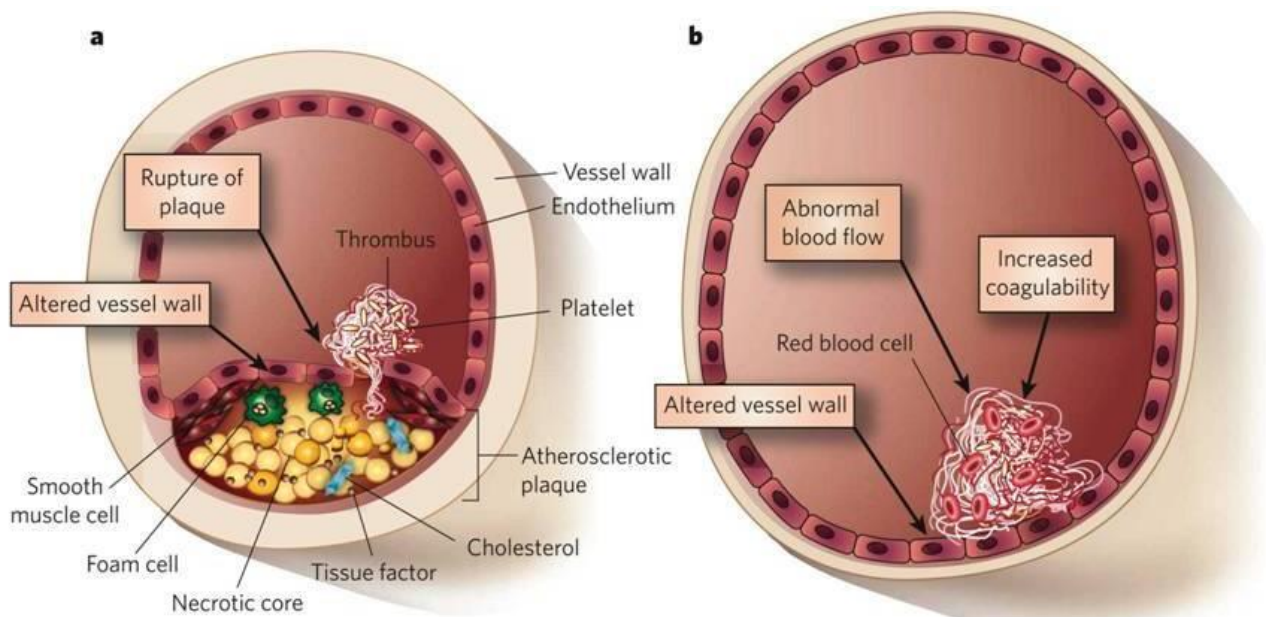
\* Relative to young adult level.

† In the absence of evidence of kidney damage, neither GFR category G1 nor G2 fulfill the criteria for chronic kidney disease.

‡ Including the nephrotic syndrome (AER usually >2200 mg/d [ACR >2220 mg/g]).

Η διαβαθμισμένη συσχέτιση (graded association) μεταξύ του eGFR και της αλβουμινουρίας με την ολική και καρδιαγγειακή νοσηρότητα και θνητότητα έχει ως επίκεντρο τη θρόμβωση (Go et al., 2004; Herzog et al., 2011). Επομένως η θρόμβωση, αιτιοπαθογενετικά, δεν είναι απλά επιφανόμενο αλλά το θεμελιώδες γεγονός των τριών κύριων καρδιαγγειακών εκδηλώσεων της ΧΝΝ, δηλαδή της ισχαιμικής νόσου της καρδιάς, του αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου και της θρομβοεμβολικής νόσου.

Ο αυξημένος κίνδυνος θρομβώσεων κατά την εξέλιξη της ΧΝΝ αφορά τόσο το φλεβικό όσο και το αρτηριακό σκέλος της κυκλοφορίας και παραδόξως έχει συσχετισθεί με αυξημένη αιμορραγική διάθεση στα πλαίσια διαμόρφωσης μιας νέας εύθραυστης αιμοστατικής ισορροπίας (Lutz et al., 2014) (Εικόνα 3).



Εικόνα 3. Παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί θρόμβωσης α. η αθηροσκλήρωση αποτελεί την κύρια υποκείμενη αιτία θρόμβωσης στο αρτηριακό σκέλος της κυκλοφορίας β. οι διαταραχές της τριάδας του Virchow στην παθογένεια της φλεβικής θρόμβωσης (Ανατύπωση από Mackman, Nature, 2008)

Οι πολύπλοκες και αλληλένδετες διαταραχές του αιμοστατικού μηχανισμού που επισυμβαίνουν εντός ενός ιδιαίτερα τοξικού μεταβολικού περιβάλλοντος εκφράζονται είτε ως αιμορραγική διάθεση είτε ως ένας ισχυρός προθρομβωτικός φαινότυπος. Οι κλινικές εκδηλώσεις αυτής της προθρομβωτικής διάθεσης περιγράφονται στον Πίνακα 5.

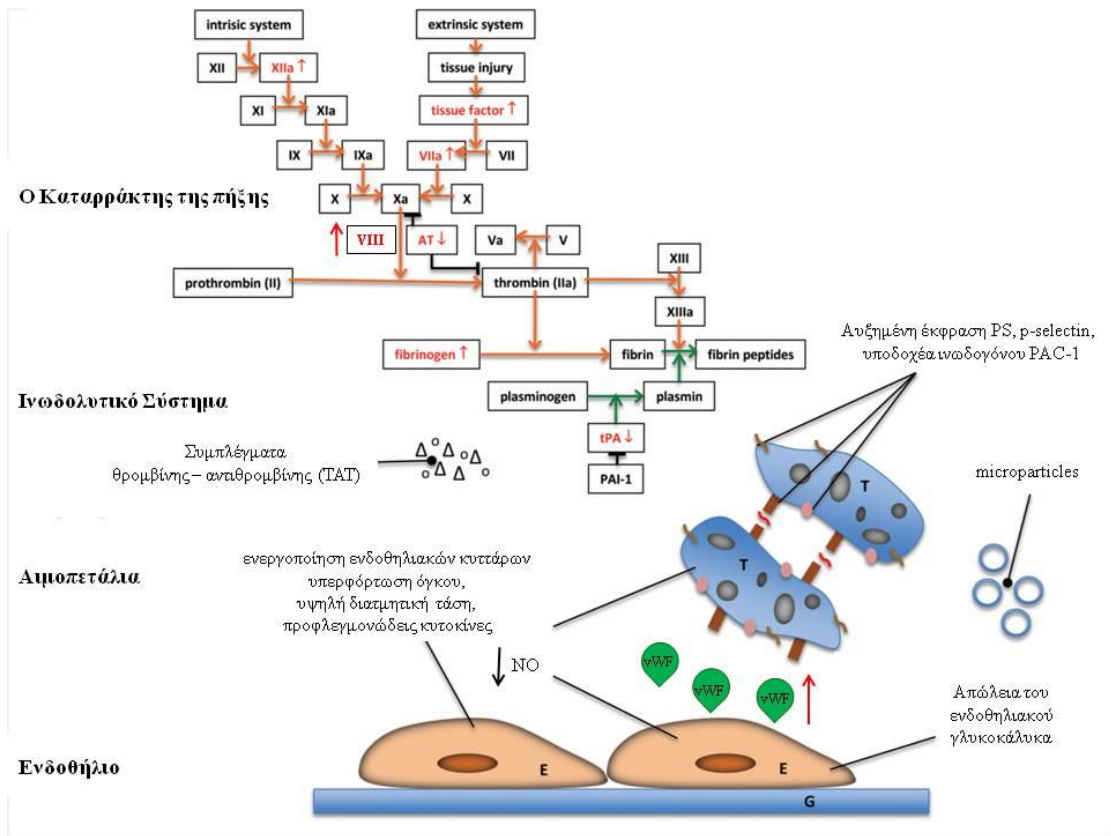
<b>Πίνακας 5. Κλινικές Εκδηλώσεις Θρόμβωσης στο Ουραιμικό Περιβάλλον</b>	
<b>Φλεβικές Θρομβώσεις</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση</li> <li>➤ πνευμονική εμβολή</li> <li>➤ θρόμβωση συνθετικού μοσχεύματος</li> <li>➤ θρόμβωση αρτηριοφλεβικής αναστόμωσης</li> <li>➤ θρόμβωση κεντρικού φλεβικού καθετήρα (ΚΦΚ)</li> <li>➤ θρομβωση κεντρικών φλεβικών στελεχών σχετιζόμενη με ΚΦΚ</li> <li>➤ θρόμβωση δεξιού κόλπου</li> <li>➤ θρόμβωση νεφρικών φλεβών επί εδάφους νεφρωσικού συνδρόμου</li> </ul>
<b>Αρτηριακές Θρομβώσεις</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ οξύ στεφανιαίο σύνδρομο</li> <li>➤ θρόμβωση stent - θρόμβωση μετά από επιτυχή αγγειοπλαστική</li> <li>➤ αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο</li> <li>➤ μικροϊσχαιμική νόσος εγκεφάλου – ταχέως εξελισσόμενη άνοια</li> <li>➤ περιφερική αρτηριακή νόσος</li> <li>➤ ασυνήθιστες θέσεις αρτηριακών θρομβώσεων επί εδάφους αντιφωσφολιπιδικού συνδρόμου</li> <li>➤ αθηροεμβολική νόσος</li> <li>➤ καλοφύλαξη</li> </ul>

## **2.1. Η Θρομβοεμβολική Νόσος στην Χρόνια Νεφρική Ανεπάρκεια**

### **2.1.1. Παθοφυσιολογικοί Μηχανισμοί**

Η προοδευτική έκπτωση της νεφρικής λειτουργίας έχει συσχετισθεί με αξιοσημείωτη αύξηση των καρδιαγγειακών συμβάντων και του κινδύνου θανάτου. Η διαβαθμισμένη αύξηση του κινδύνου θρομβοεμβολικής νόσου κατά την προοδευτική μείωση του eGFR έχει αποδοθεί σε περίπλοκους και αλληλένδετους υποκείμενους παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς.

Οι μηχανισμοί αυτοί περιλαμβάνουν μεταξύ άλλων την αύξηση των προπηκτικών παραγόντων στο πλάσμα, την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, τη μείωση της βιοδιαθεσιμότητας του NO, την εκτροπή της ισορροπίας του ινωδολυτικού συστήματος, την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία σε συνδυασμό με τη διαταραγμένη ικανότητα αποκατάστασης της βλάβης από τους ενδοθηλιακούς προγεννήτορες, τις πολύπλοκες αλληλεπιδράσεις των έμμορφων στοιχείων του αίματος με το ενδοθήλιο και τέλος την απελευθέρωση προθρομβωτικών εξωκυτταρίων μικροκυστιδίων (Addi et al., 2018). Αιτιοπαθογενετικά, οι παραπάνω μεταβολές αντιστοιχούν στις τρεις παραδοσιακές συνιστώσες της τριάδας του Virchow και εκτυλίσσονται σε ένα εξαιρετικά τοξικό μεταβολικό περιβάλλον (Εικόνα 4).



Εικόνα 4. Παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί θρομβοεμβολικής νόσου στην ουραιμία (τροποποιημένο σχήμα : Lutz et al, NDT, 2014)

Η ισορροπία μεταξύ των προπηκτικών παραγόντων και των φυσικών τους αναστολέων αποτελεί την πρώτη συνιστώσα της τριάδας του Virchow που διαταράσσεται στην ουραιμία. Οι μεταβολές αυτές περιλαμβάνουν την αύξηση των επιπέδων του ινωδογόνου, του vWF, των παραγόντων VIII, VII, XII, του διαλυτού TF, της διαλυτής θρομβομοντουλίνης, της ομοκυστεΐνης, καθώς και των επιπέδων TAT (συμπλέγματα θρομβίνης-αντιθρομβίνης) ενώ το σύστημα των φυσικών αναστολέων, όπως η αντιθρομβίνη III και το σύστημα των ενεργοποιημένων πρωτεϊνών C και S, εμφανίζει μειωμένη δραστηριότητα (Addi et al., 2018; Cheung et al., 2018a; Nunns et al., 2017; Ocak et al., 2014).

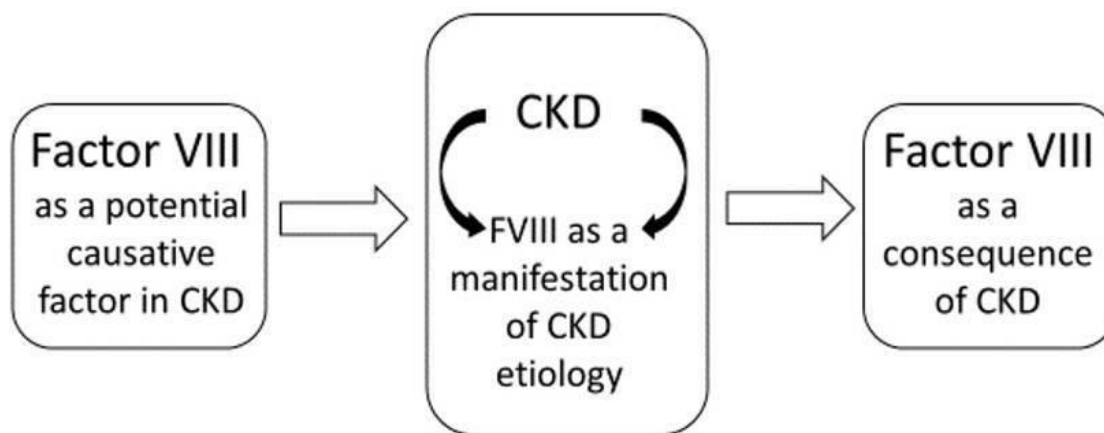
Επίσης, είναι σημαντικό να τονισθεί η αδιάρρηκτη σχέση μεταξύ των παραγόντων VIII και vW με την πρωτεΐνη C και τη μεταλλοπρωτεάση ADAMTS13. Τα επίπεδα του vWF αποτελούν μεταξύ άλλων τον κύριο ρυθμιστή των επιπέδων του FVIII και επιπλέον καθορίζουν τις αιμοπετάλιο-αιμοπετάλιο αλληλεπιδράσεις καθώς και την προσκόλλησή τους στο υπενδοθηλιακό τοίχωμα. Η σύνδεση του παράγοντα VIII με τα μικρού μεγέθους πολυμερή του vWF εξασφαλίζει την ικανοποιητική του προστασία από την πρωτεολυτική δράση της ενεργοποιημένης πρωτεΐνης C ενώ η παρουσία μεγάλων πολυμερών εξασφαλίζει την προσφορά πολλών δεσμευτικών θέσεων για τα αιμοπετάλια και το υπενδοθηλιακό κολλαγόνο. Φυσιολογικά, η ισορροπία αυτή βρίσκεται υπό τον έλεγχο της μεταλλοπρωτεάσης ADAMTS13 που διασπά τα μεγάλα πολυμερή του vWF σε μικρότερα κλάσματα.



Η εκτροπή των ομοιοστατικών μηχανισμών της αιμόστασης σε αυτό το επίπεδο περιλαμβάνει τη μείωση της δραστηριότητας της μεταλλοπρωτεάσης ADAMTS13 και της ενεργοποιημένης πρωτεΐνης C με επακόλουθη αύξηση των επιπέδων του vWF και του παράγοντα VIII (Lu et al., 2008). Οι παραπάνω συνθήκες διαμορφώνουν τελικά έναν εξαιρετικά προθρομβωτικό ουραιμικό φαινότυπο (Sedaghat et al., 2016).

Ειδικότερα ο παράγοντας VIII, αντιπροσωπεύει μια πρωτεΐνη οξείας φάσης αλλά και έναν ισχυρό και ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου θρομβοεμβολικής νόσου. Τα αυξημένα επίπεδα του VIII (FVIII > 150%) έχουν συσχετισθεί με πενταπλάσια αύξηση του κινδύνου φλεβικής θρόμβωσης στο γενικό πληθυσμό αλλά μέχρι πρόσφατα ο προθρομβωτικός του ρόλος στη ΧΝΝ ήταν αδιευκρίνιστος. Η μελέτη πασχόντων-μαρτύρων MEGA (The Multiple Environmental and Genetic Assessment of risk factors for venous thrombosis study) ανέδειξε την αιτιολογική συσχέτιση των αυξημένων επιπέδων των παραγόντων vW και VIII με τον αυξημένο κίνδυνο θρομβοεμβολικής νόσου στη ΧΝΝ (Ocak et al., 2014). Τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώθηκαν εν μέρει στη μελέτη σειράς (REGARD) αφού ο αυξημένος κίνδυνος θρομβοεμβολικής νόσου αποδόθηκε αποκλειστικά στα αυξημένα επίπεδα του παράγοντα VIII (Cheung et al., 2018b).

Αξιοσημείωτη είναι όμως και η αναφερόμενη συσχέτιση των αυξημένων επιπέδων του παράγοντα VIII με την επίπτωση της ΧΝΝ και την ταχεία μείωση του eGFR γεγονός που αναδεικνύει τη καταλυτική και αμφίδρομη σχέση του με την νεφρική λειτουργία (Εικόνα 5).



Εικόνα 5. Η καταλυτική και αμφίδρομη σχέση μεταξύ του παράγοντα VIII, της ΧΝΝ και της Θρομβοεμβολικής Νόσου: τα υψηλά επίπεδα του FVIII έχουν ενοχοποιηθεί ως αιτιολογικός παράγοντας ταχείας έκπτωσης της νεφρικής λειτουργίας αλλά και ως αποτέλεσμα της ΧΝΝ, άμεσα σχετιζόμενο με τα καρδιαγγειακά νοσήματα. (ανατύπωση από Cheung et al., 2018)

Η διαταραγμένη ισορροπία του ινωδολυτικού συστήματος στη ΧΝΝ αποτυπώνεται αφενώς μεν στην υπερिनωδογοναιμία και αφετέρου στη σημαντική αύξηση των επιπέδων του αναστολέα του ιστικού ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (PAI-1) (Mortberg et al., 2016). Η κλινική συσχέτιση των αυξημένων επιπέδων του

PAI-1 με τον ενεργοποιημένο άξονα ρενίνης-αγγειοτενσίνης-αλδοστερόνης σε ασθενείς με ΧΝΝ εξηγούν εν μέρει τη διαταραχή της ισορροπίας του ινωδολυτικού μηχανισμού σε μοριακό επίπεδο ενώ πρόσφατες μελέτες έχουν αναδείξει τον επαγωγικό ρόλο της Lp(a) στη διαταραγμένη ινωδόλυση.

Οι παραπάνω διαταραχές θεωρούνται το συνεργιστικό αποτέλεσμα της χρόνιας υποκλινικής φλεγμονής, του οξειδωτικού στρες και της συσσώρευσης ουραιμικών τοξινών και προφλεγμονωδών μεσολαβητών που επάγουν μεταξύ άλλων την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και παθολογικές διακυτταρικές αλληλεπιδράσεις.

Η εμπλοκή των ουραιμικών τοξινών στην ισορροπία του ινωδολυτικού συστήματος, όπως του ανθρανιλικού οξέος (anthranilic acid), έχει πρόσφατα αποσαφηνισθεί στα διάφορα στάδια της ΧΝΝ. Τα επίπεδα αυτής της ουραιμικής τοξίνης έχουν συσχετισθεί με την ενεργοποίηση του ινωδολυτικού μηχανισμού μέσω ενός uPA/su PAR ελεγχόμενου τρόπου στα πρώιμα στάδια της ΧΝΝ. Η ενεργοποίηση της ινωδόλυσης σε αυτή την περίπτωση συσχετίζεται εν μέρει με έναν αιμορραγικό φαινότυπο αφού η δράση της ουροκινάσης εκφράζεται πρωτίστως σε κυτταρικό και ιστικό επίπεδο. Αντίθετα σε προχωρημένα στάδια ΧΝΝ τα επίπεδα του ανθρανιλικού οξέος συσχετίζονται αρνητικά με τον άξονα tPA/PAI-1.

Επομένως κατά την προοδευτική εξέλιξη της ΧΝΝ παρατηρείται σταδιακή εκτροπή της ισορροπίας από την υπερινωδόλυση στην ενδοαγγειακή αναστολή της με τελικό αποτέλεσμα την ανεπαρκή πρωτεολυτική ενεργοποίηση του πλασμινογόνου σε πλασμίνη (Kaminski et al., 2018) και προαγωγή των διαδικασιών θρόμβωσης.

Η ακεραιότητα του ενδοθηλίου αποτελεί τη δεύτερη παράμετρο της τριάδας του Virchow που διαταράσσεται στη ΧΝΝ και επάγει τη φλεβική θρόμβωση.

Η σχετιζόμενη με την ουραιμία απώλεια των αντιθρομβωτικών ιδιοτήτων του ενδοθηλίου έχει συσχετισθεί με την απώλεια των αρνητικά φορτισμένων πρωτεογλυκανών και γλυκοζαμινογλυκανών του ενδοθηλιακού γλυκοκάλυκα, την αυξημένη έκφραση προσκολλητικών μορίων και ιστικού παράγοντα καθώς και την απελευθέρωση ενδοθηλιακών μικροσωματιδίων με προπηκτικές ιδιότητες (Addi et al., 2018; Padberg et al., 2014; Vlahu et al., 2012).

Ο ρόλος του NO στη διαμόρφωση ενός εξαιρετικά προθρομβωτικού φαινοτύπου αν και πρωταγωνιστικός στην θρόμβωση έχει συσχετισθεί κυρίως με τις επαγόμενες από την ουραιμία αρτηριακές θρομβώσεις. Από την άλλη πλευρά όμως, η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, η μικροαλβουμινουρία και η συμπτωματική αθηροσκληρυντική νόσος έχουν συσχετισθεί με αυξημένο κίνδυνο θρομβοεμβολικής νόσου (Mahmoodi et al., 2012a). Η παθογένεια αυτής της εξαιρετικά ενδιαφέρουσας κλινικής αλληλοεπικάλυψης εμπλέκει υποκείμενους παράγοντες, όπως την παχυσαρκία, το κάπνισμα, τη δυσλιπιδαιμία, το σακχαρώδη διαβήτη και το μεταβολικό σύνδρομο που έχουν ως κοινό παρανομαστή τη μειωμένη βιοδιαθεσιμότητα του NO και την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και του καταρράκτη της πήξης (Prandoni, 2009; 2017).

Η συμμετοχή των ουραιμικών τοξινών στην παραπάνω διαδικασία έχει πρόσφατα διευκρινισθεί αφού τα αυξημένα επίπεδα ανθρανιλικού οξέος έχουν άμεσα συσχετισθεί με την έκφραση προσκολλητικών μορίων στο ενδοθήλιο, τη διαλυτή θρομβομοντουλίνη, τα επίπεδα του παράγοντα  $vW$ , την πρωτεΐνη MCP-1 (monocyte chemoattraction protein-1) και τον παράγοντα ενεργοποίησης των μονοκυττάρων, νεοπτερίνη, ο οποίος προάγει τη μεταμόρφωσή τους σε μακροφάγα (Kaminski et al., 2018).

Σχετικά με την τρίτη συνιστώσα της τριάδας του Virchow, είναι γνωστό ότι σε συνθήκες ουραιμίας το ενδοθήλιο εκτίθεται σε εξαιρετικά ακραίες αιμοδυναμικές διαταραχές, οι οποίες περιλαμβάνουν την αυξημένη υδροστατική πίεση λόγω υπερφόρτωσης όγκου και την αυξημένη διατμητική τάση εξαιτίας της συνυπάρχουσας αρτηριακής υπέρτασης (Chiu et al., 2009; Prandoni, 2017). Οι διαταραχές αυτές σε συνδυασμό με την επαγόμενη από την ουραιμία καρδιακή δυσλειτουργία και την επακόλουθη φλεβική στάση θεωρητικά ευνοούν την εμφάνιση φλεβικής θρόμβωσης.

Τέλος, επιπρόσθετες διαταραχές επισυμβαίνουν στο τέλος της συνεδρίας αιμοκάθαρσης, όταν με την απομάκρυνση της περίσσειας ύδατος, παρατηρούνται σημαντικές μεταβολές της γλοιότητας του αίματος ενώ παράλληλα ενεργοποιούνται τόσο ο καταρράκτης του συμπληρώματος όσο και οι αλληλεπιδράσεις των αιμοπεταλίων και μονοκυττάρων με το ενδοθήλιο.

### **2.1.2. Κλινικές Εκδηλώσεις**

Η κλινική έκφραση των παραπάνω διεργασιών είναι η εμφάνιση θρομβοεμβολικών επεισοδίων που αφορούν πρωτίστως το εν τω βάθει φλεβικό δίκτυο και την πνευμονική κυκλοφορία. Ο κίνδυνος εμφάνισης ενός επεισοδίου εν τω βάθει φλεβικής θρόμβωσης ή πνευμονικής εμβολής αυξάνεται σημαντικά κατά την προοδευτική εξέλιξη της χρόνιας νεφρικής βλάβης.

Ως εκ τούτου, η μείωση του eGFR έχει αναδειχθεί σε ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου θρομβοεμβολικής νόσου (Parikh et al., 2011). Ασθενείς με ΧΝΝ σταδίου 3 παρουσιάζουν υψηλότερο κατά 2,5 φορές κίνδυνο θρομβοεμβολικής νόσου συγκριτικά με όσους έχουν φυσιολογική νεφρική λειτουργία ενώ ο κίνδυνος σχεδόν πενταπλασιάζεται σε ασθενείς με eGFR < 30/ml/min/1,73m<sup>2</sup> (Ocak et al., 2013).

Η διαβαθμισμένη αύξηση κινδύνου θρομβοεμβολικής νόσου έχει επιπλέον συσχετισθεί με τον αυξημένο κίνδυνο υποτροπής της νόσου, τη θνητότητα, τα αιμορραγικά επεισόδια αλλά και τη συνύπαρξη σοβαρών υποκείμενων νοσημάτων (Parikh et al., 2011). Οι Ferroni και συν., ανέδειξαν τον προγνωστικό ρόλο του υπολογισμού του eGFR στην εμφάνιση του πρώτου επεισοδίου φλεβικής θρόμβωσης σε νεοπλασματικούς ασθενείς υπό χημειοθεραπεία (Ferroni et al., 2014) ενώ οι Ocak και συν., τόνισαν την αναγκαιότητα συνύπαρξης πολλών συγγενών και επίκτητων

θρομβοφιλικών παραγόντων για την εκδήλωση ενός θρομβοεμβολικού επεισοδίου σε ασθενείς με ΧΝΝ (Ocak et al., 2013).

Επομένως αποδεικνύεται ότι η διαβαθμισμένη αύξηση κινδύνου φλεβικής θρόμβωσης στο προοδευτικά εξελισσόμενο ουραιμικό σύνδρομο είναι πολυεπίπεδη και σχετιζόμενη με σημαντική συν-νοσηρότητα, όπως τη συνύπαρξη συγγενών θρομβοφιλικών παραγόντων, αρτηριακής θρόμβωσης, νεοπλασίας, παρατεταμένης ακινητοποίησης και πρόσφατης χειρουργικής επέμβασης (θεωρία πολλαπλών χτυπημάτων).

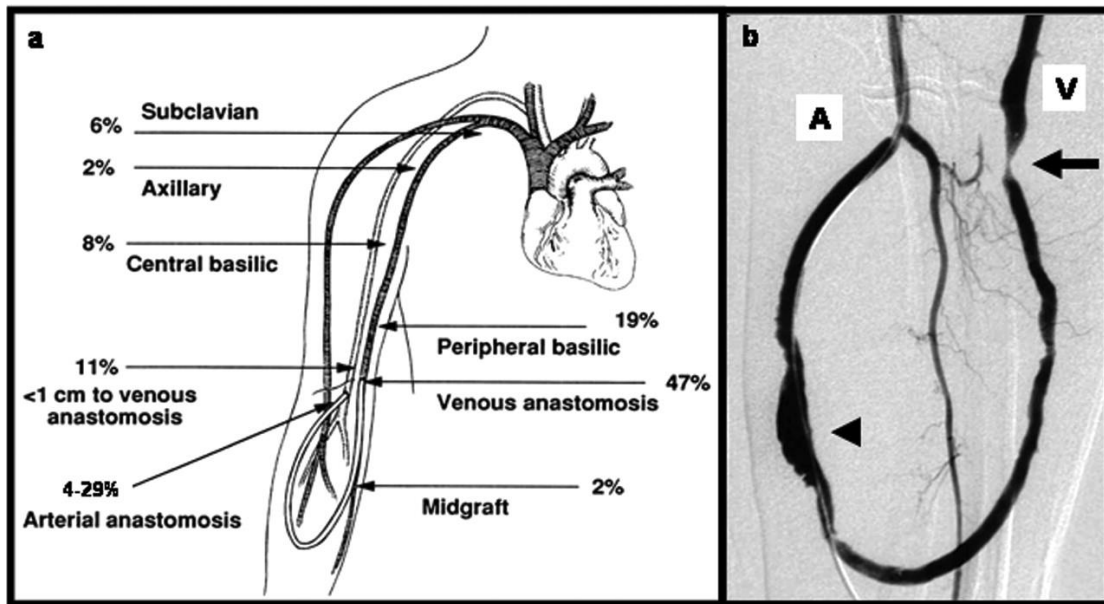
Η ΧΝΝ έχει επίσης συσχετισθεί με υψηλό κίνδυνο εμφάνισης πνευμονικής εμβολής. Η ετήσια επίπτωση της πνευμονικής εμβολής σε ασθενείς υπό αιμοκάθαρση και προτελικού σταδίου ΧΝΝ έχει υπολογισθεί σε 527 και 204 περιστατικά ανά 100 χιλιάδες πληθυσμού αντίστοιχα, ενώ σε υγιείς σε μόλις 66 περιστατικά ανά 100 χιλιάδες πληθυσμού. Δηλαδή οι ασθενείς με ΧΝΝ τελικού σταδίου εμφανίζουν 7,6 φορές υψηλότερη επίπτωση πνευμονικής εμβολής σε σχέση με την ομάδα ασθενών με φυσιολογική νεφρική λειτουργία. Η σοβαρότερη πορεία της νόσου και η δυνητικά θανατηφόρα έκβασή της σε αυτή την ομάδα ασθενών έχουν συσχετισθεί με τη συνύπαρξη σακχαρώδη διαβήτη, αρτηριακής υπέρτασης, καρδιακής ανεπάρκειας και μείωσης των καρδιοπνευμονικών εφεδρειών (Kumar et al., 2012).

Επομένως η αναγνώριση υποομάδων ασθενών με ΧΝΝ, υψηλού κινδύνου για εμφάνιση θρομβοεμβολικής νόσου είναι μέγιστης κλινικής σημασίας προκειμένου να εφαρμοσθεί μια εξατομικευμένη προφυλακτική αντιπηκτική προσέγγιση.

### ***2.1.3. Η Θρόμβωση της Αγγειακής Προσπέλασης ως εκδήλωση της Εν Τω Βάθει Φλεβικής Θρόμβωσης***

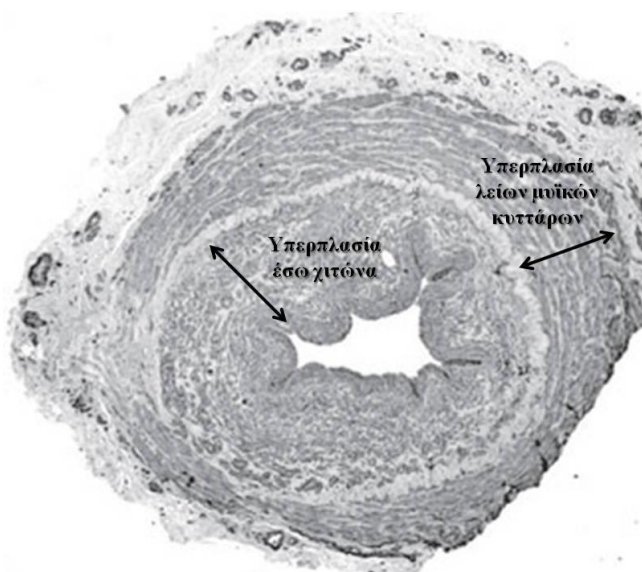
Η θρόμβωση της αγγειακής προσπέλασης αποτελεί μια ξεχωριστή κλινική οντότητα εν τω βάθει φλεβικής θρόμβωσης αλλά και τη συχνότερη θέση θρόμβωσης σε ασθενείς που υποβάλλονται σε αιμοκάθαρση. Αφορά, συνήθως, τα συνθετικά μοσχεύματα και τους κεντρικούς φλεβικούς καθετήρες αιμοκάθαρσης (ΚΦΚ) και λιγότερο συχνά τις φυσικές αρτηριοφλεβικές αναστομώσεις και έχει συσχετισθεί με σημαντική αύξηση της νοσηρότητας και θνησιμότητας των ασθενών.

Η παρουσία στένωσης πριν την εκδήλωση ενός θρομβωτικού επεισοδίου αναφέρεται σε ποσοστό που κυμαίνεται από 84-92% και αφορά το φλεβικό σκέλος του συνθετικού μοσχεύματος (Schwab et al., 1999) ενώ πρόσφατες μελέτες έχουν αναδείξει τον καθοριστικό ρόλο της προϋπάρχουσας υπερπλασίας του έσω χιτώνα στις παραπάνω μεταβολές (Roy-Chaudhury et al., 2012) (Εικόνα 6).



Εικόνα 6. Θέσεις στένωσης του φλεβικού σκέλους: η παρουσία στένωσης πριν την εκδήλωση ενός θρομβωτικού επεισοδίου αναφέρεται σε ποσοστό που κυμαίνεται από 84-92% και αφορά το φλεβικό σκέλος του συνθετικού μοσχεύματος (ανατύπωση από Prabir Roy-Chaudhury et al., JASN, 2006).

Επιπρόσθετα η στένωση του φλεβικού σκέλους έχει συσχετισθεί με τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των λείων μυϊκών κυττάρων στον έσω χιτώνα, την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και τη συσσώρευση εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας (Εικόνα 7).



Εικόνα 7. Η υπερπλασία του έσω χιτώνα και των λείων μυϊκών κυττάρων του φλεβικού αγγειακού τοιχώματος (Prabir Roy-Chaudhury et al., Seminars in Dialysis, 2012)

Οι υποκείμενοι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί της σχετιζόμενης με τη στένωση θρόμβωσης περιλαμβάνουν αλληλένδετες διαταραχές που αφορούν στους προπηκτικούς παράγοντες, στους φυσικούς ανασταλτές, στο ινωδολυτικό σύστημα (Trimarchi et al., 2008), στους φλεγμονώδεις διαμεσολαβητές, στην ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, στη χορήγηση ερυθροποιητικών παραγόντων αλλά και σε τοπικούς αιμοδυναμικούς παράγοντες, όπως στη στροβιλώδη ροή του αίματος (Hasuike et al., 2019).

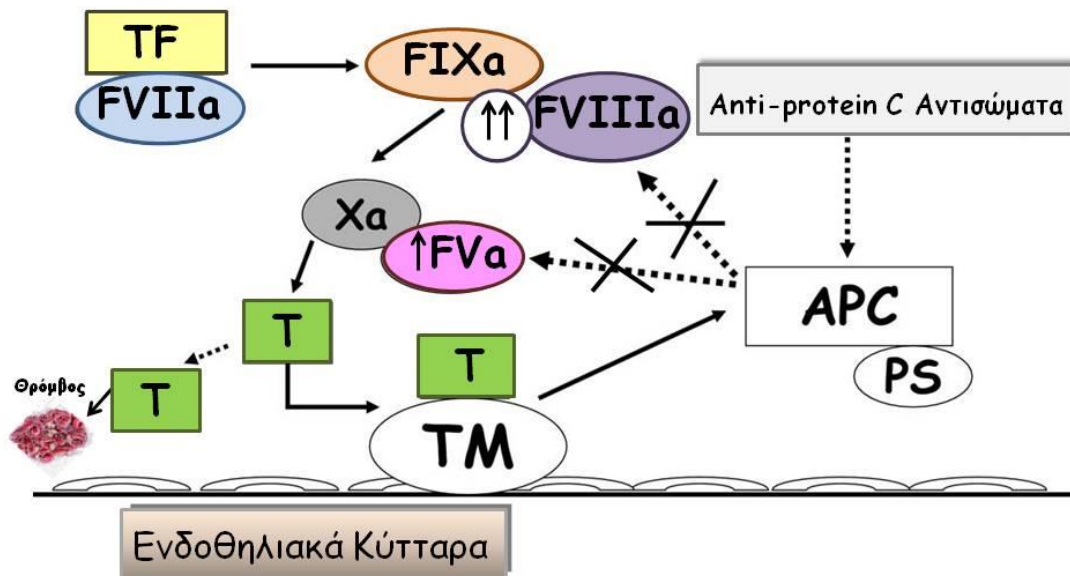
Σε κυτταρικό επίπεδο φαίνεται ότι οι διαδικασίες βλάβης των ενδοθηλιακών και λείων μυϊκών κυττάρων ενορχηστρώνονται από μια πλειάδα μεσολαβητικών μορίων (Roy-Chaudhury et al., 2003) γεγονός που εξηγεί την αποτυχία διατήρησης της βατότητας των αγγειακών προσπελάσεων τόσο με συνδυασμούς αντι-αιμοπεταλιακών φαρμάκων όσο και με κουμαρινικά αντιπηκτικά (Crowther et al., 2002; Kaufman et al., 2003).

Όσον αφορά στο συνεργιστικό ρόλο των αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων στη θρόμβωση της αρτηριοφλεβικής αναστόμωσης, οι υπάρχουσες μελέτες έχουν καταλήξει σε ασαφή και αντικρουόμενα αποτελέσματα. Η παρουσία αντιπηκτικού του λύκου και IgG αντικαρδιολιπινικών αντισωμάτων αποτελεί συχνό εύρημα μεταξύ των ασθενών που υποβάλλονται σε αιμοκάθαρση. Δεν είναι όμως απολύτως διευκρινισμένο αν αποτελούν απλά επιφαινόμενο της χορήγησης ασπιρίνης ή της ίδιας της διαδικασίας αιμοκάθαρσης ή αν αντιπροσωπεύουν έναν ακόμη συνδετικό κρίκο της αλληλουχίας γεγονότων που οδηγεί στη θρόμβωση.

Πιο συγκεκριμένα οι Prakash και συν., επιβεβαίωσαν τη θετική συσχέτιση μεταξύ των υψηλών τίτλων των IgG αντικαρδιολιπινικών αντισωμάτων και των επαναλαμβανόμενων επεισοδίων θρόμβωσης των συνθετικών μοσχευμάτων. Οι ίδιοι ερευνητές δεν ανέφεραν παρόμοιες συσχετίσεις για τις φυσικές αρτηριοφλεβικές αναστομώσεις ή τα μεμονωμένα επεισόδια θρόμβωσης συνθετικών μοσχευμάτων (Prakash et al., 1995). Άλλες ομάδες ερευνητών ανέδειξαν τη θετική συσχέτιση των IgM αντικαρδιολιπινικών αντισωμάτων με την παρουσία στένωσης του φλεβικού σκέλους της αναστόμωσης χωρίς όμως να καταφέρουν να στοιχειοθετήσουν ένα σαφή προβλεπτικό ρόλο στην επακόλουθη θρόμβωση (Adler et al., 2001).

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον όμως παρουσιάζουν τα αποτελέσματα θετικών μελετών συσχέτισης των αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων anti-protein C και anti-protein S με τη θρόμβωση της αγγειακής προσπέλασης (Molino et al., 2005). Ως πιθανός υποκείμενος παθογενετικός μηχανισμός αναφέρεται η αναστολή της δράσης του συστήματος της πρωτεΐνης C και του συμπαραγόντά της, πρωτεΐνης S. Η ανασταλτική δράση των αυτοαντισωμάτων επί αυτών των φυσικών αναστολέων συνεπάγεται την περαιτέρω αύξηση των επιπέδων των συμπαραγόντων της πήξης VIII και V. Υπό αυτές τις συνθήκες, η κατάληψη των θέσεων της θρομβομοντουλίνης από τη θρομβίνη εκτρέπει την αιμοστατική ισορροπία και διευκολύνει τη γένεση επιπλέον θρομβίνης (Molino et al., 2006) (Εικόνα 7).

## ΜΟΝΟΠΑΤΙ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ C



Εικόνα 7. Ο ρόλος των αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων στη θρόμβωση της αγγειακής προσπέλασης ( Σχήμα: Σαμπάνης Ν.)

Σε κλινικό επίπεδο, σπάνια αλλά δυνητικά θανατηφόρα επιπλοκή της θρόμβωσης της αγγειακής προσπέλασης αποτελεί η εμφάνιση πνευμονικής εμβολής. Αντιθέτως, υπάρχουν θετικές μελέτες συσχέτισης της υποκλινικής πνευμονικής εμβολής με τη θρομβολυτική αγωγή και τις διαδερμικές επεμβάσεις αποκατάστασης της βατότητας του αγγείου σε ποσοστά που κυμαίνονται από 35 έως 59% (Smits et al., 1997).

Η δυσλειτουργία των κεντρικών φλεβικών καθετήρων αποτελεί μία ακόμη έκφραση του ουραιμικού προθρομβωτικού φαινοτύπου. Η στένωση και η επακόλουθη θρόμβωση του ΚΦΚ έχουν συσχετισθεί με παράγοντες που αφορούν στον ίδιο τον καθετήρα αλλά και στα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του ασθενούς (Gunawansa et al., 2018) (Πίνακας 6).

Ο τραυματισμός του ενδοθηλίου κατά την τοποθέτηση του ΚΦΚ και η παρατεταμένη επαφή του με ένα ξένο σώμα αποτελούν τα αρχικά εκλυτικά αίτια της ενδοθηλιακής βλάβης, η οποία επιτείνεται από τη στροβιλώδη ροή αίματος που αναπτύσσεται κατά τη συνεδρία αιμοκάθαρσης. Χαρακτηριστικά αναφέρεται ότι οι προσωρινοί ΚΦΚ πολυουρεθάνης αντιστοιχούν σε κατεξοχήν θρομβογόνα βιοϋλικά ενώ αντίθετα οι μόνιμοι ΚΦΚ αιμοκάθαρσης σιλικόνης παρουσιάζουν εξαιρετική βιοσυμβατότητα και ελάχιστη ικανότητα γένεσης θρομβίνης (Curelaru et al., 1983). Πάντως μετά την αρχική ενδοθηλιακή βλάβη, αναπτύσσεται προοδευτικά περικαθετηριακό πλέγμα ινικής μέσω φλεγμονωδών διαδικασιών το οποίο έχει

συσχετισθεί με μείωση της κεντρικής φλεβικής ροής κατά 60% και αύξηση του κινδύνου περικαθετηριακής θρόμβωσης (Suojanen et al., 2000).

Αξίζει να σημειωθεί, ότι κάθε προσπάθεια αντικατάστασης του ΚΦΚ ή αποκατάστασης της δυσλειτουργίας του με ενδοκαθετηριακούς χειρισμούς αυξάνει τις πιθανότητες περαιτέρω τραυματισμού του τοιχώματος του αγγείου και λοιμωδών επιπλοκών. Το τελικό αποτέλεσμα αυτών των διαδικασιών θρομβοφλεγμονής είναι η δημιουργία θρόμβων προσκολλημένων στο τοίχωμα του αγγείου που γειτνιάζει με το άκρο του καθετήρα.

**Πίνακας 6.**

**Παράγοντες Κινδύνου Θρόμβωσης σχετιζόμενες με Κεντρικό Φλεβικό Καθετήρα (ΚΦΚ) Αιμοκάθαρσης**

<p><b>Σχετιζόμενες με τον ασθενή</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ κακοήθεια</li> <li>➤ παχυσαρκία</li> <li>➤ επίκτητοι θρομβοφιλικόι παράγοντες (π.χ. αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα)</li> <li>➤ κληρονομικοί θρομβοφιλικόι παράγοντες (π.χ. FVLeiden G1961A, Prothrombin G20210A, MTHFR C677T)</li> <li>➤ ουραμικό περιβάλλον (π.χ. FVIII, Ινωδογόνο)</li> </ul>
<p><b>Σχετιζόμενες με τον ΚΦΚ</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ τύπος καθετήρα (non cuffed &gt; cuffed tunneled)</li> <li>➤ θέση τοποθέτησης (μηριαίος&gt; υποκλείδιος&gt; σφαγιτιδικός)</li> <li>➤ πλευρά τοποθέτησης (αριστερά&gt; δεξιά)</li> <li>➤ θέση άκρου καθετήρα (άνω κοίλη φλέβα&gt; δεξιός κόλπος)</li> <li>➤ διάμετρος καθετήρα (μεγάλη&gt; μικρή)</li> <li>➤ αυλών καθετήρα (τρεις&gt; δύο&gt; ένας)</li> <li>➤ βιοϋλικό (πολυουραιθάνης&gt; σιλκόνης)</li> <li>➤ πολλαπλές προσπάθειες τοποθέτησης</li> <li>➤ περικαθετηριακό πλέγμα ινικής (fibrin sheath)</li> <li>➤ λομώξεις σχετιζόμενες με τον ΚΦΚ</li> </ul>

Οι παραπάνω διεργασίες λαμβάνουν χώρα σε ένα εξαιρετικά προθρομβωτικό περιβάλλον που ευνοεί τη μεγέθυνση του θρόμβου, την αποκόλλησή του και τελικά την εμφάνιση ενός επεισοδίου πνευμονικής εμβολής (Derish et al., 1995).

Επιπρόσθετα η συνυπάρχουσα παρακώλυση της φλεβικής αποχέτευσης του σύστοιχου άκρου που παραμένει μετά την αφαίρεση του ΚΦΚ έχει συσχετισθεί με τη δυσλειτουργία της αρτηριοφλεβικής αναστόμωσης που θα δημιουργηθεί μελλοντικά. Όσον αφορά στο σχηματισμό θρόμβων εντός του αυλού του καθετήρα, η παρουσία τους έχει συσχετισθεί πρωτίστως με δυσλειτουργία του καθετήρα ή/ και πλήρη απόφραξή του παρά με την επαγόμενη από ΚΦΚ θρομβοεμβολική νόσο.

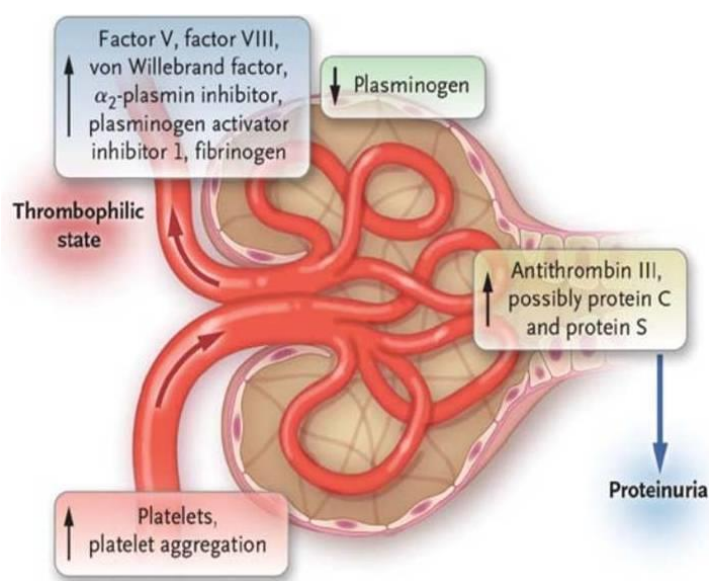


Σπανιότερα η παρουσία θρόμβου σχετιζόμενου με ΚΦΚ αφορά στο τοίχωμα του δεξιού κόλπου ή/και στις δεξιές καρδιακές βαλβίδες. Η παρουσία θρόμβων εντός των δεξιών καρδιακών κοιλοτήτων έχει συσχετισθεί με επιπλοκές όπως είναι η μαζική πνευμονική εμβολή, η δεξιά καρδιακή ανεπάρκεια και ο αιφνίδιος καρδιακός θάνατος δεδομένης της ικανότητάς τους να προσλάβουν μεγάλες διαστάσεις (>6cm) (Stavroulopoulos et al., 2012).

#### 2.1.4. Οι Θρομβοεμβολικές Εκδηλώσεις του Νεφρωσικού Συνδρόμου

Το νεφρωσικό σύνδρομο αποτελεί μία ακόμη ενδιαφέρουσα νοσολογική οντότητα, η οποία χαρακτηρίζεται από νεφρωσικού εύρους λευκωματουρία (> 3,5 g/ημερησίως), λιπιδιουρία, υποαλβουμιναιμία, δυσλιπιδαιμία, περιφερικά οιδήματα και αυξημένο κίνδυνο θρομβοεμβολικών επιπλοκών.

Ο προθρομβωτικός φαινότυπος του νεφρωσικού συνδρόμου έχει συσχετισθεί κυρίως με φλεβικές παρά με αρτηριακές θρομβώσεις (Mahmoodi et al., 2008) και αιτιοπαθογενετικά έχει συνδεθεί με την εκτροπή της αιμοστατικής ισορροπίας, την φλεβική στάση και την αιμοσυμπύκνωση (Εικόνα 8).



Εικόνα 8. Η εκτροπή της αιμοστατικής ισορροπίας στο νεφρωσικό σύνδρομο. Η διαταραχή του σπειραματικού ηθμού έχει ως αποτέλεσμα τη μαζική πρωτεϊνουρία αλλά και την απώλεια αντιθρομβίνης III, των πρωτεϊνών C και S, και του πλασμινογόνου στα ούρα (ανατύπωση από Loscalzo, NEJM, 2013)

Η διαταραχή της λειτουργικής και δομικής ακεραιότητας του σπειραματικού ηθμού έχει ως αποτέλεσμα τη μαζική απώλεια αλβουμίνης στα ούρα αλλά και πληθώρας άλλων μικρο- και μακρομοριακών ουσιών, όπως της αντιθρομβίνης III, των πρωτεϊνών C και S, και του πλασμινογόνου. Η απώλεια της αντιθρομβίνης III στα ούρα

αποτελεί την κύρια αιτία μείωσης των επιπέδων της στο πλάσμα ενώ η σταθερή κατανάλωσή της στα πλαίσια υποκλινικής θρόμβωσης θεωρείται ελάσσονος σημασίας (Vaziri et al., 1984).

Σχετικά με τα επίπεδα της πρωτεΐνης S φαίνεται ότι, παρά τα αυξημένα επίπεδά της στον ορό, η απώλεια της δραστικής και μη συνδεδεμένης με αλβουμίνη μορφής της είναι υπεύθυνη για την επακόλουθη μείωση της δραστηριότητας της πρωτεΐνης C, της οποίας αποτελεί δραστικό συμπαράγοντα (Vigano-D'Angelo et al., 1987). Η απώλεια αυτών των σημαντικών φυσικών αναστολέων αποτελεί καθοριστικό παράγοντα στην εκτροπή της αιμόστασης προς έναν προθρομβωτικό φαινότυπο.

Η υπερिनωδογοναιμία αποτελεί το δεύτερο χαρακτηριστικό γνώρισμα των αιμοστατικών διαταραχών του νεφρωσικού συνδρόμου και θεωρείται αντισταθμιστική απάντηση στην υποαλβουμιναιμία. Η αυξημένη ηπατική βιοσύνθεση ινωδογόνου αποτελεί δηλαδή έναν φυσιολογικό ομοιοστατικό μηχανισμό που εναντιώνεται στην δραματική μείωση της αλβουμίνης στο πλάσμα και της εξαρτώμενης από αυτήν κολλοειδωσμοτικής πίεσης του αίματος.

Παρομοίως, τα επίπεδα των παραγόντων V, VIII, VII, vW αλλά και της  $\alpha_2$ -μακροσφαιρίνης αυξάνονται στο πλάσμα ασθενών με νεφρωσικό σύνδρομο στα πλαίσια μίας αντίδρασης οξείας φάσης (acute phase reaction). Βέβαια η αύξηση των επιπέδων του ινωδογόνου καθαυτή έχει συσχετισθεί με αύξηση της συσσωρευτικής ικανότητας των αιμοπεταλίων, την υπερπροσφορά υποστρώματος για το σχηματισμό ινώδους, την υπεργλοιότητα και τέλος την αυξημένη ικανότητα των ερυθροκυττάρων να συγκολλούνται (Loscalzo, 2013).

Οι διαταραχές του ινωδολυτικού συστήματος αποτελούν την τρίτη καθοριστική συνιστώσα του διαταραγμένου αιμοστατικού μηχανισμού, και περιλαμβάνουν την απώλεια της πλασμίνης στα ούρα, την αύξηση των επιπέδων του PAI-1, την ανταγωνιστική δράση που ασκεί η Lp(a) στο πλασμινογόνο για τις ίδιες θέσεις σύνδεσης στο ινώδες (Soulat et al., 2000; Svenningsen et al., 2009) και τέλος την αύξηση των επιπέδων του αναστολέα της αντιπλασμίνης- $\alpha_2$  (Singhal and Brimble, 2006).

Η υπεραντιδραστικότητα των αιμοπεταλίων φαίνεται ότι συμπληρώνει σε κυτταρικό επίπεδο το μοντέλο υπερπηκτικότητας που διαμορφώνεται στο νεφρωσικό σύνδρομο. Η αιτιολογία της είναι πολυπαραγοντική και συνδέεται με την αύξηση των επιπέδων του ινωδογόνου, του παράγοντα von Willebrand, την υποαλβουμιναιμία και την υπερχοληστερολαιμία. Ειδικότερα, η υποαλβουμιναιμία επάγει την αντιδραστικότητα των αιμοπεταλίων μέσω της σηματοδοτικής οδού του αραχιδονικού οξέος και της επακόλουθης αύξησης του θρομβοξανίου  $A_2$  ενώ η υπερχοληστερολαιμία διευκολύνει την ενεργοποίηση των αιμοπεταλιακών υποδοχέων στους διάφορους αγωνιστές (Loscalzo, 2013).

Επιπρόσθετα, η υποαλβουμιναιμία έχει συσχετισθεί με τη μείωση των ελαστικών ιδιοτήτων των ερυθροκυττάρων λόγω ενδοκυττάριας αφυδάτωσης στα πλαίσια σχετικής υπερνατριαιμίας με τελικό αποτέλεσμα την αύξηση της

συγκολλητικότητάς τους και των αλληλεπιδράσεών τους με τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια (Bohler et al., 1992).

Ως εκ τούτου, οι διαταραχές του αιμοστατικού μηχανισμού στο νεφρωσικό σύνδρομο έχουν ως επίκεντρο την απώλεια της λειτουργικής ακεραιότητας του πειραματικού ηθμού, η οποία σε βιοχημικό επίπεδο μεταφράζεται σε υποαλβουμιναιμία και σε κλινικό επίπεδο σε μείωση του ενδοαγγειακού όγκου λόγω οιδημάτων. Η μείωση του ενδοαγγειακού όγκου και η επακόλουθη αιμοσυμπύκνωση ισοδυναμούν με αύξηση της γλοιότητας και υπερπηκτικότητα ενώ η παρουσία οιδημάτων επηρεάζει καθοριστικά την ικανότητα φλεβικής επιστροφής. Τέλος, η αλόγιστη χρήση διουρητικών συντηρεί τον παραπάνω φαύλο κύκλο υποαλβουμιναιμίας-οιδημάτων και υπερπηκτικότητας σε έναν ήδη θρομβοφιλικό ασθενή.

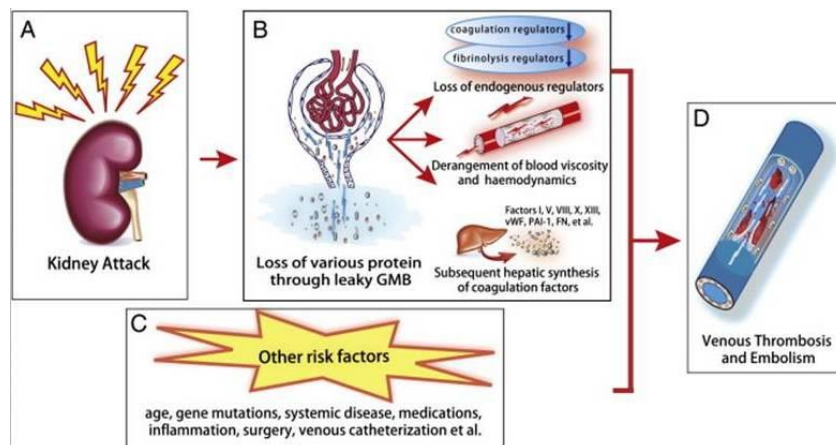
Οι κλινικές εκδηλώσεις της σχετιζόμενης με το νεφρωσικό σύνδρομο θρομβοεμβολικής νόσου περιλαμβάνουν την εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση, την αμφοτερόπλευρη θρόμβωση των νεφρικών φλεβών και την πνευμονική εμβολή. Ασυνήθιστες θέσεις φλεβικής θρόμβωσης έχουν περιγραφεί κυρίως σε παιδιά με νεφρωσικό σύνδρομο και περιλαμβάνουν την κάτω κοίλη, την πυλαία, τη σπληνική, την έσω σφαγίτιδα φλέβα καθώς επίσης και τους φλεβώδεις κόλπους του εγκεφάλου.

Η επίπτωση της εν τω βάθει φλεβικής θρόμβωσης σε ενήλικες ασθενείς με νεφρωσικό σύνδρομο κυμαίνεται από 7 έως 40% και είναι υψηλότερη στην υποομάδα ασθενών με μεμβρανώδη σπειραματοπάθεια (Medjeral-Thomas et al., 2014). Οι Kayali και συν., (Kayali et al., 2008) ανέδειξαν επίσης ότι νεαροί ενήλικοι ασθενείς (18-39 ετών) με νεφρωσικό σύνδρομο εμφανίζουν αυξημένο σχετικό κίνδυνο εν τω βάθει φλεβικής θρόμβωσης (RR:6,8) ενώ ο κίνδυνος θρόμβωσης των νεφρικών φλεβών στο σύνολο των ασθενών ήταν στατιστικώς σημαντικά μικρότερος σε σχέση με αυτόν που αναφέρεται σε προηγούμενες μελέτες και κυμαίνεται από 5-60% (Llach, 1984). Αναφορικά με την επίπτωση της πνευμονικής εμβολής, η προοπτική μελέτη των Zhang και συν., ανέδειξε ότι η πνευμονική εμβολή ήταν συχνότερη της θρόμβωσης των νεφρικών φλεβών αλλά και ότι στην πλειοψηφία των ασθενών παρέμενε κλινικά σιωπηλή (84%) (Zhang et al., 2014). Στην ίδια μελέτη αξίζει επίσης να τονισθεί ότι η πνευμονική εμβολή ως επιπλοκή της εν τω βάθει φλεβικής θρόμβωσης αναφέρθηκε σε ποσοστό 56% ενώ ως μεμονωμένη κλινική ή υποκλινική οντότητα σε ποσοστό 44%.

Αναγνωρισμένοι προγνωστικοί δείκτες θρομβοεμβολικού κινδύνου σε ασθενείς με νεφρωσικό σύνδρομο αποτελούν, μεταξύ άλλων, η προχωρημένη ηλικία, η μεμβρανώδης σπειραματοπάθεια, ο βαθμός αιμοσυμπύκνωσης, η βαρύτητα της υπολευκωματιναιμίας ( $< 2\text{mg/dl}$ ) αλλά και της πρωτεϊνουρίας ( $>10,7\text{gr/dl}$ / ημερησίως) καθώς και ο χρόνος που μεσολαβεί από την αρχική διάγνωση ( $< 6$  μήνες) (Mirrakhimov et al., 2014).

Βέβαια κατά την αναζήτηση των παραπάνω προγνωστικών παραγόντων δεν πρέπει να παραβλέπεται η πιθανή συνύπαρξη παραδοσιακών θρομβοφιλικών παραγόντων κινδύνου, κληρονομικών ή επίκτητων, όπως της παρατεταμένης

ακινητοποίησης, της παχυσαρκίας, της παρουσίας ΚΦΚ και του ιστορικού φλεβικών θρομβώσεων (θεωρία πολλαπλών χτυπημάτων) (Εικόνα 9).



Εικόνα 9. Μηχανισμοί Θρομβοεμβολικής Νόσου στο Νεφρωσικό Σύνδρομο - «Θεωρία Πολλαπλών Χτυπημάτων» (Guochun et al., *Microvasc Res*, 2013)

## 2.2. Οι Αρτηριακές Θρομβώσεις στη ΧΝΝ

Η ΧΝΝ αποτελεί ένα αναδυόμενο παγκόσμιο πρόβλημα δημόσιας υγείας και αντιπροσωπεύει έναν ισχυρό και ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου εκδήλωσης καρδιαγγειακής νόσου, η οποία περιλαμβάνει το οξύ στεφανιαίο σύνδρομο, τη σοβαρή περιφερική αρτηριακή νόσο και το οξύ αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο (Sarnak et al., 2003).

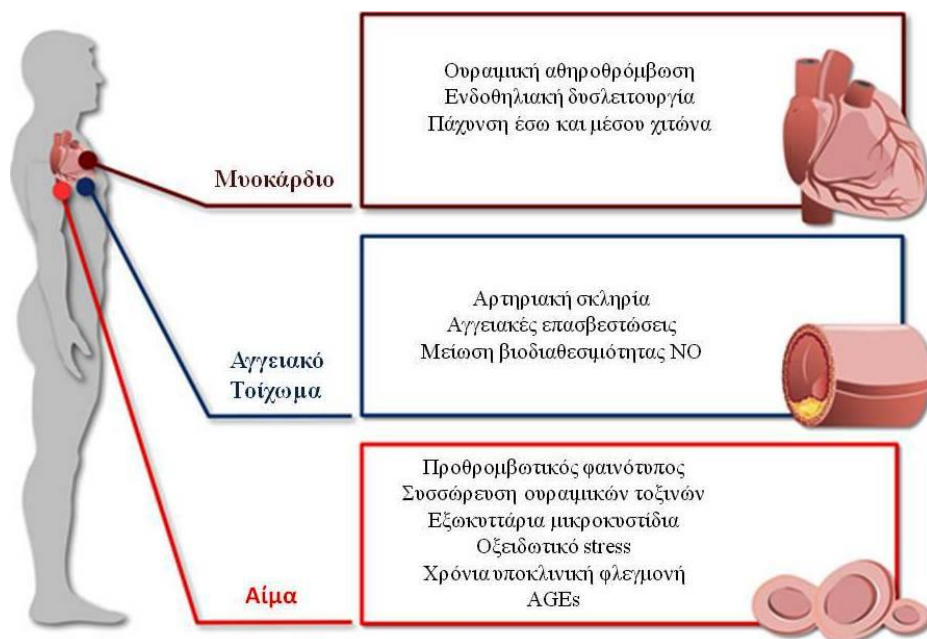
Η καρδιαγγειακή νόσος αφορά την πλειοψηφία (>50%) των ασθενών με ΧΝΝ τελικού σταδίου και αποτελεί την κύρια αιτία θανάτου αυτής της υποομάδας ασθενών. Αναφέρεται χαρακτηριστικά ότι ο σχετικός κίνδυνος θανάτου από ένα καρδιαγγειακό συμβάν σε ασθενείς υπό αιμοκάθαρση είναι είκοσι φορές υψηλότερος σε σχέση με το γενικό πληθυσμό. Επομένως, η ΧΝΝ *per se* έχει συσχετισθεί με την αύξηση του καρδιαγγειακού κινδύνου ανεξαρτήτως άλλων παραδοσιακών παραγόντων κινδύνου, οι οποίοι συχνά συνυπάρχουν, όπως η αρτηριακή υπέρταση και ο σακχαρώδης διαβήτης (Fox et al., 2012; Mahmoodi et al., 2012b).

Ως εκ τούτου, η καρδιαγγειακή νόσος στη χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, σχετίζεται με δύο διακριτές ομάδες παραγόντων κινδύνου (Cozzolino et al., 2017).

Οι παραδοσιακοί παράγοντες κινδύνου περιλαμβάνουν την προχωρημένη ηλικία, το ανδρικό φύλο, το κάπνισμα, την αρτηριακή υπέρταση, το σακχαρώδη διαβήτη και την έλλειψη φυσικής δραστηριότητας ενώ οι μη-παραδοσιακοί παράγοντες κινδύνου περιλαμβάνουν παράγοντες σχετιζόμενους με το ουραιμικό μικροπεριβάλλον.

Οι μη παραδοσιακοί παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου περιλαμβάνουν μεταξύ άλλων την εκτροπή της ισορροπίας του ύδατος και την επακόλουθη υπερφόρτωση όγκου, τη νεφρογενή αναιμία, τη χρόνια υποκλινική φλεγμονή, την υπερομοκυστεϊναιμία, το οξειδωτικό στρες, τις διαταραχές μεταβολισμού των οστών και μετάλλων καθώς και τη συσσώρευση ενδιάμεσων προϊόντων μεταβολισμού των αμινοξέων (Cozzolino et al., 2018). Φαίνεται ότι η συνύπαρξη των παραγόντων αυτών καθορίζει εντέλει έναν εξαιρετικά προθρομβωτικό ουραιμικό φαινότυπο, αφού όπως έχει ήδη αναφερθεί η γένεση θρομβίνης αποτελεί το θεμελιώδες καταληκτικό γεγονός στην πορεία της καρδιαγγειακής νόσου.

Η επαγόμενη από την ουραιμία, αλλά και άλλους συνυπάρχοντες παράγοντες κινδύνου, αγγειακή δυσλειτουργία χαρακτηρίζεται από την παρουσία τεσσάρων αλληλοσχετιζόμενων διαταραχών: την ουραιμική αθηροθρόμβωση, την αρτηριακή σκληρία, τις αγγειακές επασβεστώσεις και τη διαταραχή των μηχανισμών αποκατάστασης της ακεραιότητας του ενδοθηλιακού φραγμού. Οι τέσσερις αυτές εκφράσεις της αγγειακής δυσλειτουργίας έχουν ως κοινό παρανομαστή την επαγόμενη από την ουραιμία ενδοθηλιακή δυσλειτουργία (Εικόνα 10).



Εικόνα 10. Κύρια Χαρακτηριστικά της Αγγειακής Δυσλειτουργίας στην Ουραιμία (τροποποιημένο σχήμα από Schlieper et al, NDT, 2016)

### 2.2.1. Ουραιμική Αθηροθρόμβωση

Η ουραιμική αθηροσκλήρωση και η επακόλουθη θρόμβωση, γνωστή και ως ουραιμική αθηροθρόμβωση, αποτελεί μία ιδιαίτερη παθολογική οντότητα που εκτυλίσσεται παράλληλα με την εξέλιξη της χρόνιας νεφρικής βλάβης. Τα δύο κύρια χαρακτηριστικά της είναι ο επιταχυνόμενος χαρακτήρας της και το γεγονός ότι διαμορφώνεται σε ένα μεταβολικό μικροπεριβάλλον, το οποίο κυριαρχείται από τη

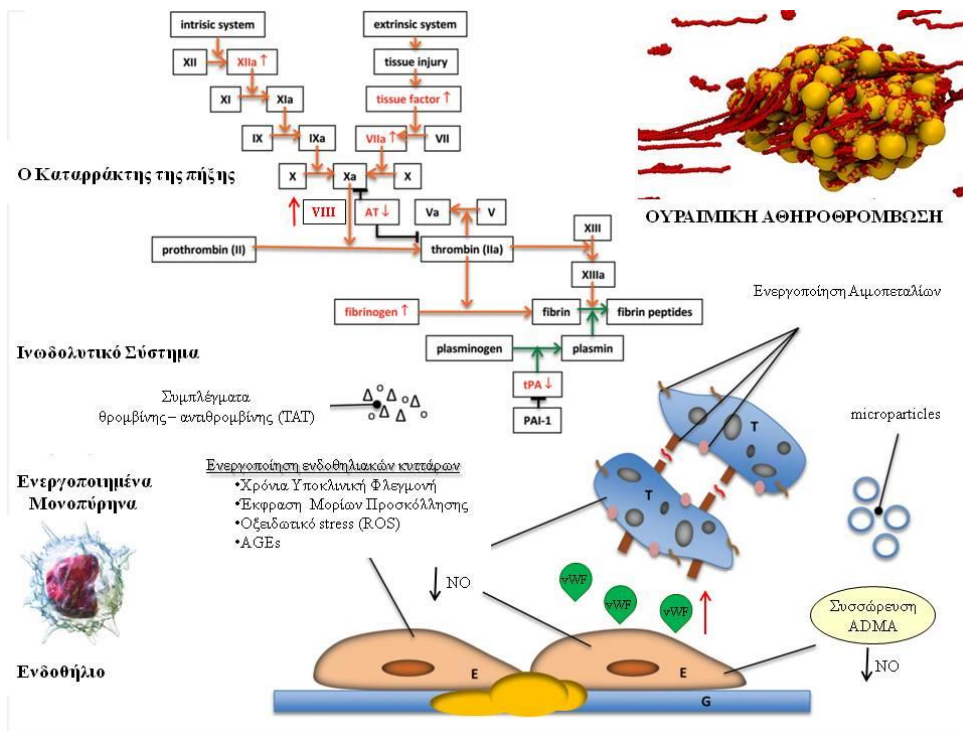
συσσώρευση ουραιμικών τοξινών και πληθώρας άλλων μεσολαβητών που έχουν συσχετισθεί με την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία.

Ο επιταχυνόμενος χαρακτήρας της αθηροσκλήρωσης παρουσιάζεται πρώιμα κατά την εξέλιξη της χρόνιας νεφρικής βλάβης και είναι ανεξάρτητος της παρουσίας γνωστών παραδοσιακών παραγόντων κινδύνου, όπως η προχωρημένη ηλικία. Οι Oh και συν., ανέδειξαν την πρώιμη έναρξη των αθηροσκληρυντικών αγγειακών βλαβών σε νέους ασθενείς με ΧΝΝ ως επακόλουθο της χρόνιας υποκλινικής φλεγμονής, του υπερπαραθυροειδισμού, της υπερφόρτωσης με ασβέστιο, της μακροχρόνιας υπερφωσφαταιμίας και της υπερομοκυστεϊναιμίας (Oh et al., 2002).

Επιπλέον, φαίνεται ότι κατά την προοδευτική έκπτωση του eGFR συντελείται παράλληλα μία δραματική αύξηση του αριθμού αλλά και της βαρύτητας των αθηροσκληρυντικών βλαβών στα στεφανιαία αγγεία (Nakano et al., 2010). Επομένως, η χρόνια νεφρική βλάβη αποτελεί *per se* έναν ισχυρό αθηρογόνο παράγοντα και ευθύνεται εν μέρει για την αυξημένη καρδιαγγειακή νοσηρότητα των ασθενών με ήπια ή/και μέτρια ΧΝΝ, οι οποίοι δεν θα καταλήξουν ποτέ σε ένα τελικό στάδιο νεφρικής ανεπάρκειας λόγω πρώιμου θανάτου. Όσον αφορά στους ασθενείς με τελικού σταδίου νεφρική ανεπάρκεια, υπολογίζεται ότι σε ποσοστό >50% οι κύριες αιτίες θανάτου είναι το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου, η ανεπάρκεια της συστολικής απόδοσης της αριστερής κοιλίας και ο αιφνίδιος καρδιακός θάνατος (Go et al., 2004).

Οι υποκείμενοι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί της ουραιμικής αθηροσκλήρωσης περιλαμβάνουν μεταξύ άλλων αλληλένδετες διαταραχές που αφορούν στις αλληλεπιδράσεις των ενεργοποιημένων μονοκυρήνων με τα ενδοθηλιακά κύτταρα, στην τοπική φλεγμονώδη απάντηση που προάγει τον πολλαπλασιασμό και μετανάστευση των λείων μυϊκών κυττάρων, στην απώλεια των αντιθρομβωτικών ιδιοτήτων του ενδοθηλίου, στη διαταραχή του συστήματος των μεταλλοπρωτεασών και στη μείωση της βιοδιαθεσιμότητας του NO.

Το τελικό αποτέλεσμα των παραπάνω διεργασιών είναι η ρήξη ή η εξέλκωση της αθηρωματικής πλάκας, η αποκάλυψη του υπενδοθηλιακού κολλαγόνου και η επακόλουθη θρόμβωση. Δεδομένης της παρουσίας περιοχών πλούσιων σε λιποσταγονίδια στον υπενδοθηλιακό χώρο, οι παραπάνω διεργασίες επιταχύνονται στο ουραιμικό μικροπεριβάλλον, πιθανόν γιατί το φορτίο αυτό λειτουργεί ως ένα εξαιρετικά θρομβογόνο πλέγμα άμεσης ενεργοποίησης των αιμοπεταλιακών υποδοχέων CD36 (Εικόνα 11).



Εικόνα 11. Παθοφυσιολογικοί Μηχανισμοί Ουραιμικής Αθηροθρόμβωσης (τροποποιημένο σχήμα : Lutz et al, NDT, 2014)

Ωστόσο, θα πρέπει να τονισθεί ότι οι παραπάνω διαταραχές επισυμβαίνουν σε ένα εξαιρετικά δηλητηριώδες μικροπεριβάλλον το οποίο χαρακτηρίζεται από τη συσσώρευση πληθώρας ουραιμικών τοξινών. Πολλές εξ αυτών έχουν συσχετισθεί με τον επιταχυνόμενο χαρακτήρα της ουραιμικής αθηροσκλήρωσης αλλά και τη διαμόρφωση μίας ισχυρής θρομβωτικής προδιάθεσης. Οι ουραιμικές τοξίνες που έχουν συσχετισθεί με την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία περιλαμβάνουν ενδιάμεσα προϊόντα του μεταβολισμού των αμινοξέων, κυτταροκίνες όπως ο TNFα, τη β<sub>2</sub>-μικροσφαιρίνη, τη λεπτίνη, τον φώσφορο, την ασύμμετρη διμεθυλαργινίνη, τη γουανιδίνη καθώς και τα τελικά προϊόντα προχωρημένης γλυκοζυλίωσης (AGEs).

Ο ρόλος των ουραιμικών τοξινών στην αθηροθρόμβωση έχει συσχετισθεί με τις πολύπλοκες αλληλεπιδράσεις των ενεργοποιημένων μονοκυττάρων με τα ενδοθηλιακά κύτταρα και την επαγωγή φλεγμονωδών διαδικασιών σε τοπικό επίπεδο, με αποτέλεσμα τη διέγερση του πολλαπλασιασμού και της μετανάστευσης των λείων μυϊκών κυττάρων.

Οι Tumor και συν., ανέδειξαν το ρυθμιστικό ρόλο του indoxyl-sulfate στην έκφραση των μορίων ICAM-1 και MCP-1 από το ενδοθήλιο μέσω της επαγόμενης από το οξειδωτικό στρες σηματοδοτικής οδού του μεταγραφικού παράγοντα NF-κB (Tumor et al., 2010). Επομένως φαίνεται ότι η συσσώρευση ουραιμικών τοξινών επάγει το οξειδωτικό στρες των ενδοθηλιακών κυττάρων (Dou et al., 2007), την τοπική φλεγμονή (Dou et al., 2015) και την έκφραση προσκολλητικών μορίων, όπως η E-σελεκτίνη (Ito et al., 2010) ή χημειοκινών όπως ο παράγοντας MCP-1. Τελικά, η προσέλκυση ενεργοποιημένων λευκοκυττάρων και η προσκόλλησή τους στο ενδοθηλιακό τοίχωμα

προάγει τοπικές φλεγμονώδεις διεργασίες μέσω των οποίων διεγείρεται ο πολλαπλασιασμός των λείων μυϊκών κυττάρων και η μεταναστευτική τους ικανότητα.

Επιπρόσθετες διαταραχές της ισορροπίας του συστήματος των μεταλλοπρωτεασών με τους ιστικούς τους αναστολείς θεωρείται ότι επιταχύνουν τις διαδικασίες αθηροθρόμβωσης. Αυτό επιτυγχάνεται: α. μέσω αναστολής της πρωτεολυτικής δραστηριότητας των ενδοπεπτιδασών, που οδηγεί σε συσσώρευση εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας, β. μέσω αύξησης της δραστηριότητας άλλων μεταλλοπρωτεασών που αποσταθεροποιούν την αθηρωματική πλάκα (Musial and Zwolinska, 2011).

Όσον αφορά στην απώλεια των αντιθρομβωτικών ιδιοτήτων του ενδοθηλίου στην ουραιμία, φαίνεται ότι η μείωση της βιοδιαθεσιμότητας του NO διαδραματίζει πρωταγωνιστικό ρόλο στην εξέλιξη της αθηροθρόμβωσης. Το NO αντιπροσωπεύει ένα κομβικό σηματοδοτικό μόριο, που ασκεί πλειοτροπικές δράσεις στο αγγειακό τοίχωμα και στις διεργασίες ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων και εξάπλωσης του δυναμικού γένεσης της θρομβίνης.

Σε συνθήκες ουραιμίας, η μειωμένη βιοδιαθεσιμότητα του NO έχει συσχετισθεί με τη δυσλειτουργία της ενδοθηλιακής συνθετάσης και τη συσσώρευση της ασύμμετρης διμεθυλαργινίνης, του ενδογενούς αναστολέα της. Οι υποκείμενοι μηχανισμοί που υπεισέρχονται στην παραπάνω διαδικασία είναι η συσσώρευση οξειδωτικών ριζών και τελικών προϊόντων προχωρημένης γλυκοζυλίωσης. Ο ρόλος των ενδοθηλιακών μικροσωματιδίων έχει επίσης πρόσφατα αναδειχθεί ως καθοριστικός στην αναστολή της ενδοκυττάριας σηματοδοτικής οδού του NO (Brunet et al., 2011).

Επιπρόσθετα, η συσσώρευση της ασύμμετρης διμεθυλαργινίνης στη ΧΝΝ, έχει συνδεθεί με σημαντικές μεταβολές στην έκφραση γονιδίων ανεξάρτητων της οδού του NO όπως της σηματοδοτικής οδού των χημειοκινών, των υποδοχέων των κυτταροκινών, του μεταβολισμού του αραχιδονικού οξέος και του οξειδωτικού στρες (Tain and Hsu, 2017).

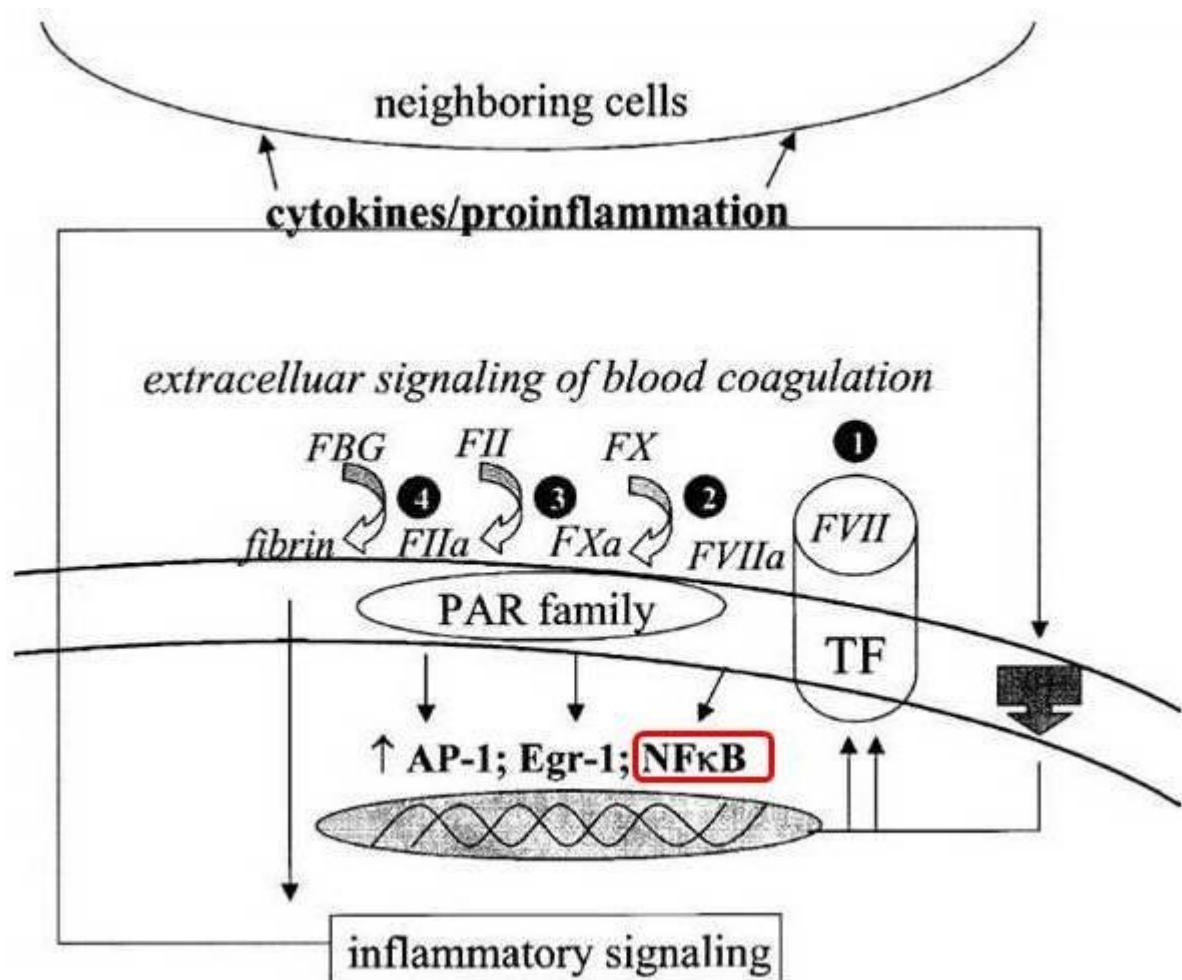
Με βάση τα όσα αναφέρθηκαν παραπάνω γίνεται αντιληπτό ότι η αναστολή βιογένεσης του NO στην ουραιμία είναι αδιάρρηκτα συνδεδεμένη με τη μετατροπή του ενδοθηλίου σε μια ισχυρά προφλεγμονώδη, προοξειδωτική και προθρομβωτική επιφάνεια αλληλεπίδρασης με ενεργοποιημένα αιμοπετάλια, μονοκύτταρα και ερυθροκύτταρα (Tain and Hsu, 2017). Ταυτόχρονα αίρεται η φυσιολογική αναστολή που ασκεί το NO στον πολλαπλασιασμό και μετανάστευση των λείων μυϊκών κυττάρων του μέσου χιτώνα καθώς και στην έκφραση μορίων προσκόλλησης που προάγουν τις διακυτταρικές αλληλεπιδράσεις.

Όμως, οι παραπάνω μεταβολές λαμβάνουν χώρα σε ένα εξαιρετικά προθρομβωτικό περιβάλλον, το οποίο χαρακτηρίζεται από τη διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ των προπηκτικών παραγόντων και των φυσικών τους αναστολέων, την υπο-ινωδόλυση και την υπερ-αντιδραστικότητα των αιμοπεταλίων (Πίνακας 7).



<b>Πίνακας 7. Κύριες Αιμοστατικές Διαταραχές στην επαγόμενη από την Ουραιμία Αθηροθρόμβωση</b>
<b>1. Υπερέκφραση ιστικού παράγοντα (TF)</b>
<b>2. Αυξημένη προπηκτική δραστηριότητα TF</b>
<b>3. Αύξηση επιπέδων vWF</b>
<b>4. Αύξηση επιπέδων VIII</b>
<b>5. Αύξηση επιπέδων VIIa</b>
<b>6. Αύξηση επιπέδων XIIIa</b>
<b>7. Αύξηση επιπέδων ινωδογόνου</b>
<b>8. Μείωση δραστικότητας AT</b>
<b>9. Μείωση δραστικότητας PrC</b>
<b>10. Αύξηση επιπέδων PAI-1</b>
<b>11. Μείωση δραστικότητας t-PA</b>

Πιο συγκεκριμένα, η XNN έχει συσχετισθεί με αυξημένη έκφραση του TF από τα ενεργοποιημένα μονοκύτταρα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα λεία μυϊκά κύτταρα και τα ουραιμικά αιμοπετάλια (Al-Saady et al., 1999). Η υπερέκφραση του TF και η παράλληλη αύξηση των επιπέδων του παράγοντα VIIa ευθύνονται για την ενεργοποίηση της εξωγενούς οδού του καταρράκτη της πήξης και το σχηματισμό του συμπλέγματος της προθρομβινάσης στις επιφάνειες των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων και της εξελκωμένης αθηρωματικής πλάκας. Η δημιουργία μικροποσοτήτων θρομβίνης μέσω της εξωγενούς οδού συνοδεύεται από στρατολόγηση και ενεργοποίηση παρακείμενων αιμοπεταλίων, ενεργοποίηση της ενδογενούς οδού της πήξης και μαζική γένεση θρομβίνης. Παράλληλα, ο TF λειτουργεί ως φλεγμονώδης διαμεσολαβητής μέσω της ενεργοποίησης του υποδοχέα PAR-1 (protease-activated receptor-1), ο οποίος σχετίζεται με ενδοκυττάρια φλεγμονώδεις σηματοδοτικές οδούς, όπως αυτές που εξαρτώνται από το μεταγραφικό πυρηνικό παράγοντα NF-κB. Με τον τρόπο αυτό, η υπερέκφραση του TF στην ουραιμία μπορεί να συνδεθεί με την επιταχυνόμενη εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης, τη θρομβοφλεγμονή και την αθηροθρόμβωση (Chu, 2005) (Εικόνα 12).



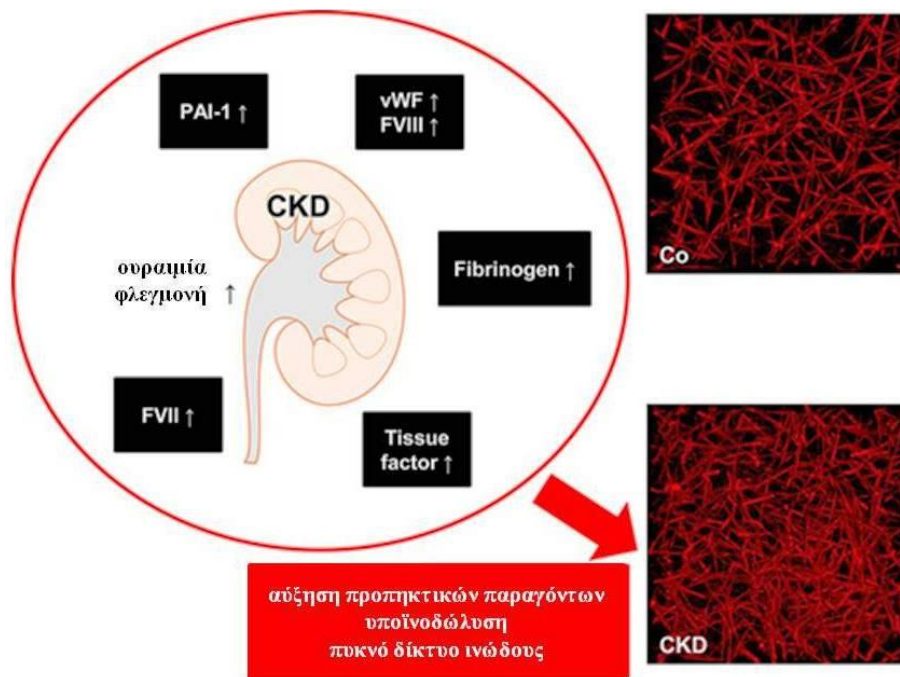
Εικόνα 12. Ο διπλός ρόλος του ιστικού παράγοντα στην έναρξη της εξωγενούς οδού του καταρράκτη της πήξης και την ενεργοποίηση καθοδικών σηματοδοτικών μονοπατιών φλεγμονώδους απόκρισης, μέσω των υποδοχέων που ενεργοποιούνται από πρωτεάσες (PAR). (ανατύπωση από Chu, *Tissue Factor mediates Inflammation*, Arch Bioch Bioph, 2005)

Στις παραπάνω διαδικασίες εμπλέκονται βέβαια και άλλες αιμοστατικές διαταραχές όπως η αύξηση των επιπέδων του παράγοντα von Willebrand και του παράγοντα VIII (Dubin et al., 2011). Οι κύριοι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί που έχουν ενοχοποιηθεί στην απορύθμιση της αιμοστατικής ισορροπίας περιλαμβάνουν εκτός των ίδιων των ουραιμικών τοξινών και τις πλειοτροπικές δράσεις των φλεγμονωδών διαμεσολαβητών, όπως του TNF- $\alpha$ , της IL-6 και της IL-8, οι οποίοι αυξάνονται στις συνθήκες της χρόνιας ουραιμικής υποκλινικής φλεγμονής.

Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η συσχέτιση των αυξημένων επιπέδων της CRP και της IL-6 με τα αυξημένα επίπεδα ινωδογόνου στη ΧΝΝ, τα οποία, με τη σειρά τους, έχουν αναδειχθεί σε ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα καρδιαγγειακών συμβάντων (Goicoechea et al., 2008). Πιθανολογείται ότι τα αυξημένα επίπεδα ινωδογόνου στην ουραιμία επιταχύνουν τις διαδικασίες αθηροσκλήρωσης μέσω αύξησης της γλοιότητας του πλάσματος, προαγωγής της συσσωρευτικής ικανότητας

των αιμοπεταλίων και επαγωγής του σχηματισμού ινώδους σε περιοχές ενδοθηλιακής βλάβης (de la Serna, 1994).

Ταυτόχρονα, η διαταραχή της ισορροπίας του ινωδολυτικού συστήματος, η οποία εκφράζεται κυρίως από τα αυξημένα επίπεδα του αναστολέα της ινωδολύσης PAI-1, εξηγεί την εξαιρετικά υψηλή δομική σταθερότητα του ινώδους στη ΧΝΝ και την καθυστερημένη λύση του θρόμβου μετά από ένα οξύ στεφανιαίο επεισόδιο (Undas et al., 2010) (Εικόνα 13). Βέβαια, οι Hrafnkelsdottir και συν., αναφέρουν ότι η μειωμένη ικανότητα απελευθέρωσης του ιστικού ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (tPA), ακόμη και όταν η ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή παραμένει ακέραιη, αποτελεί τον ακρογωνιαίο λίθο των επαγόμενων από την ουραιμία αθηροθρομβωτικών συμβάντων (Hrafnkelsdottir et al., 2004). Επομένως, η διαταραγμένη οξεία απελευθέρωση του tPA αποτελεί τον κύριο μηχανισμό υπο-ινωδολύσης σε ασθενείς με ΧΝΝ ενώ η συνυπάρχουσα αύξηση των επιπέδων του αναστολέα της ινωδολύσης PAI-1 επιτείνει την παραπάνω διαταραχή.



Εικόνα 13. Οι Αιμοστατικές Διαταραχές στην Ουραιμική Αθηροθρόμβωση (τροποποιημένο σχήμα από Schlieper et al, NDT, 2016)

Η ενεργοποίηση του άξονα ρενίνης – αγγειοτενσίνης - αλδοστερόνης (RAAS) έχει αναφερθεί επίσης ως ένας σημαντικός συνδετικός κρίκος μεταξύ των αιμοστατικών διαταραχών του ουραιμικού συνδρόμου και της ουραιμικής αθηροθρόμβωσης (Sechi et al., 2008). Ειδικότερα, η ενεργοποίηση του συστήματος RAAS έχει συσχετισθεί με τα αυξημένα επίπεδα των d-dimers, του PAI-1 και του ινωδογόνου τόσο σε υπερτασικούς όσο και ουραιμικούς ασθενείς, τα οποία με την σειρά τους αντικατοπτρίζουν τη βλάβη τελικών οργάνων-στόχων, όπως της καρδιάς και του νεφρού (Catena et al., 2013). Πιο

συγκεκριμένα, τα αυξημένα επίπεδα του PAI-1 έχουν συσχετισθεί με την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και τις φλεγμονώδεις διαδικασίες ενώ σε πειραματικά μοντέλα έχει αναδειχθεί ο ρόλος κλειδί του PAI-1 στην αθηροσκλήρωση μέσω της ρύθμισης της έκφρασης του αυξητικού παράγοντα μεταμόρφωσης (TGF-β1), της ανακύκλωσης της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας και της μεταναστευτικής ικανότητας των μακροφάγων και μυο-ινοβλαστών (Huang and Noble, 2007).

Με βάση τα όσα αναλύθηκαν παραπάνω, καθίσταται σαφές ότι οι αιμοστατικές διαταραχές συντελούν στην διαμόρφωση ενός ισχυρού προθρομβωτικού ουραιμικού φαινοτύπου, ο οποίος σε συνδυασμό με άλλους παραδοσιακούς και μη παράγοντες κινδύνου, ευθύνεται για τον αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο αυτών των ασθενών. Ως εκ τούτου, μία μεγάλη σειρά αξιόπιστων κλινικών και εργαστηριακών προγνωστικών παραγόντων κινδύνου έχει αναγνωρισθεί στο ουραιμικό σύνδρομο. Μεταξύ αυτών, η πάχυνση του έσω και μέσου χιτώνα των καρωτίδων, η υπερτροφία της αριστεράς κοιλίας και η μείωση της ενδοθηλιοεξαρτώμενης αγγειοδιαστολής στη βραχιόνιο αρτηρία εφαρμόζονται ευρέως στην καθημερινή κλινική πράξη ενώ ο προσδιορισμός εξειδικευμένων βιοδεικτών, όπως των ενδοθηλιακών μικροσωματιδίων, αποτελεί προς το παρόν μια ελπιδοφόρα μελλοντική προοπτική (Pavord and Myers, 2011) .

### **2.2.2. Ο ρόλος της Αρτηριακής Σκληρίας**

Η αρτηριακή σκληρία και οι εκτεταμένες αγγειακές ελασβεστώσεις του έσω και μέσου χιτώνα αποτελούν δύο ακόμη πυλώνες της ουραιμικής αγγειακής δυσλειτουργίας και του αυξημένου καρδιαγγειακού κινδύνου.

Η αρτηριακή σκληρία ορίζεται ως η απώλεια των ελαστικών ιδιοτήτων του αγγειακού τοιχώματος και εκφράζεται ως αύξηση της πίεσης παλμού και της ταχύτητας μετάδοσης του σφυγμικού κύματος ( pulse wave velocity). Η μείωση της αρτηριακής διατασιμότητας σε κλινικό επίπεδο μεταφράζεται σε μεμονωμένη συστολική υπέρταση και μειωμένη διαστολική αρτηριακή πίεση ενώ η αυξημένη ταχύτητα μετάδοσης του σφυγμικού κύματος και η πρώιμη ανάκλασή του, έχουν συσχετισθεί από αιμοδυναμικής σκοπιάς, με την υπερτροφία της αριστεράς κοιλίας και τη μείωση της υπενδοκάρδιας στεφανιαίας ροής αίματος.

Η αυξημένη ταχύτητα μετάδοσης του σφυγμικού κύματος αποτελεί έναν αξιόπιστο κλασσικό δείκτη αρτηριακής σκληρίας στη ΧΝΝ και έχει συσχετισθεί αντίστροφα με την ενδοθηλιοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή. Επομένως, από παθοφυσιολογικής σκοπιάς θεωρείται αποτέλεσμα της μειωμένης βιοδιαθεσιμότητας του NO αν και σχετικά πρόσφατα έχουν αναγνωρισθεί και άλλα πολύπλοκα μοριακά μονοπάτια και δίκτυα απορρύθμισης των σχετιζόμενων με το αγγειακό τοίχωμα ομοιοστατικών μηχανισμών.

Η συσσώρευση ουραιμικών τοξινών, οξειδωτικών ριζών, τελικών προϊόντων προχωρημένης γλυκοζυλίωσης, προφλεγμονωδών διαμεσολαβητών αλλά και του

ενδογενούς αναστολέα της ενδοθηλιακής συνθετάσης (ADMA) αποτελούν κλασσικούς παράγοντες ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας στη ΧΝΝ (Amabile et al., 2005). Επιπλέον, η παρουσία τους έχει συσχετισθεί με την εκτροπή της δυναμικής ισορροπίας που αφορά τη διαδικασία ανακατασκευής του αγγειακού τοιχώματος. Η ισορροπία αυτή αναφέρεται στις δύο σημαντικότερες δομικές πρωτεΐνες που διαμορφώνουν το ικρίωμα του αγγειακού τοιχώματος, το κολλαγόνο και τις ελαστικές ίνες (Zieman et al., 2005).

Κατά την εξέλιξη της ΧΝΝ, έχει αποσαφηνισθεί ότι επισυμβαίνουν δραματικές μεταβολές στις παραπάνω διαδικασίες ανακατασκευής, με τελικό αποτέλεσμα τη συσσώρευση δυσλειτουργικού κολλαγόνου και ταυτόχρονη μείωση των ελαστικών ινών. Πιο συγκεκριμένα, η χρόνια υποκλινική φλεγμονή και η παρουσία τελικών προϊόντων προχωρημένης γλυκοζυλίωσης έχουν αναγνωρισθεί ως αιτίες μειωμένης υδρολυτικής ανακύκλωσης δυσλειτουργικού κολλαγόνου ενώ η ενεργοποίηση του άξονα RAAS θεωρείται ότι επιτείνει τις παραπάνω μεταβολές επί του αγγειακού τοιχώματος (Griendling and Ushio-Fukai, 2000).

Ο ρόλος της αγγειοτενσίνης II για παράδειγμα αναδεικνύεται κομβικός στις παραπάνω διεργασίες αφού είναι γνωστό ότι προάγει τη βιοσύνθεση κολλαγόνου και αναστέλλει την παραγωγή ελαστίνης ενώ παράλληλα υπεισέρχεται στη σηματοδοτική οδό του NO και μειώνει τη βιοδιαθεσιμότητά του. Αλλά και η αλδοστερόνη εμφανίζεται άρρηκτα συνδεδεμένη με την αρτηριακή σκληρία εξαιτίας των προϊνωτικών της επιδράσεων και της επαγόμενης από τη σηματοδοτική οδό της ενδοθηλίνης-1 ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας (Park and Schiffrin, 2001).

Οι παραπάνω λειτουργικές και δομικές μεταβολές του αγγειακού τοιχώματος στην αρτηριακή σκληρία έχουν πρόσφατα συσχετισθεί με την παρουσία των ενδοθηλιακών MVs. Επομένως, η συσσώρευση ουραιμικών τοξινών επιταχύνει την μη αναστρέψιμη εμφάνιση αρτηριακής σκληρίας που αποτελεί θεμελιώδες χαρακτηριστικό της διαδικασίας γήρανσης μέσω αναστολής της σηματοδοτικής οδού του NO, είτε άμεσα είτε έμμεσα, με τη διαμεσολάβηση των ενδοθηλιακών MVs (Amabile et al., 2005).

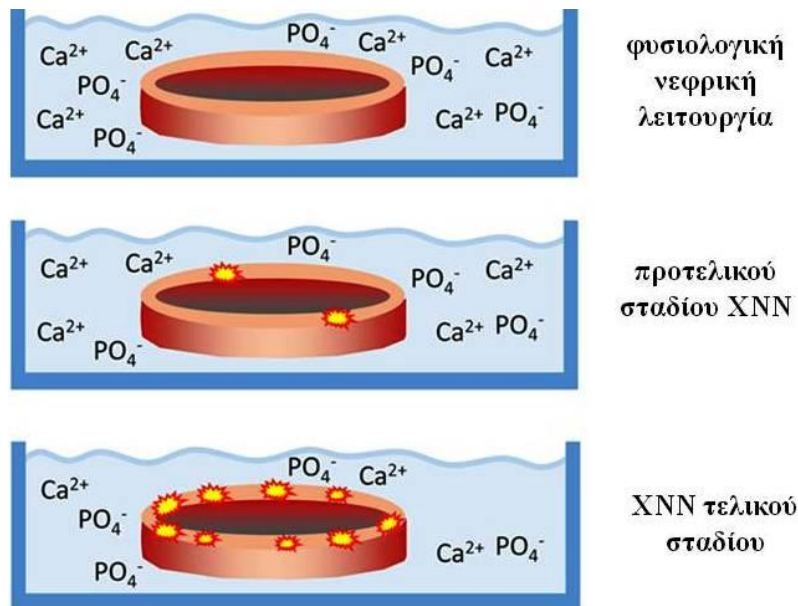
### **2.2.3. Ο Ρόλος των Αγγειακών Επασβεστώσεων**

Οι εκτεταμένες αγγειακές επασβεστώσεις αποτελούν την τρίτη σημαντικότερη συνιστώσα της ουραιμικής αγγειακής δυσλειτουργίας. Διακρίνονται στις επασβεστώσεις του έσω χιτώνα, οι οποίες αποτελούν αναπόσπαστο χαρακτηριστικό της αθηροσκληρωτικής διαδικασίας και στις επασβεστώσεις του μέσου χιτώνα.

Οι επασβεστώσεις του έσω χιτώνα των μεγάλων και μέσου μεγέθους αρτηριών είναι συνήθως εκτεταμένες και εμφανίζονται πρώιμα στην πορεία εξέλιξης της χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας σε περιοχές από τις οποίες χαρακτηριστικά απουσιάζουν τα λεία μυϊκά κύτταρα. Σε επίπεδο κλινικής σημαντικότητας, ο πιθανός τους ρόλος στην αποσταθεροποίηση της αθηρωματικής πλάκας και την επιτάχυνση των διαδικασιών

απόφραξης του αυλού παραμένει αινιγματικός αν και η εξέλιξή τους είναι παράλληλη με την κακοήθη πορεία της ουραιμικής αθηροσκλήρωσης.

Αντίθετα, οι επασβεστώσεις του μέσου χιτώνα επισυμβαίνουν σε ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια και επί απουσίας αθηροσκληρυντικών βλαβών. Αφορούν αγγεία οποιουδήποτε μεγέθους και εντοπίζονται χαρακτηριστικά σε περιοχές πλούσιες σε ελαστικές ίνες, περίξ των λείων μυϊκών κυττάρων (O'Neill and Lomashvili, 2010) (Εικόνα 14).



Εικόνα 14. Οι Επασβεστώσεις του Μέσου Χιτώνα κατά την εξέλιξη της ΧΝΝ (τροποποιημένο σχήμα από Schlieper et al, NDT, 2016)

Οι επασβεστώσεις του μέσου χιτώνα έχουν συσχετισθεί με την αρτηριακή σκληρία και την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και ως εκ τούτου αποτελούν δυσμενή προγνωστικά παράγοντα καρδιαγγειακής νοσηρότητας και θνητότητας. Η πολύπλοκη διαδικασία επασβεστώσεως του μέσου χιτώνα είναι πολυπαραγοντικής αιτιολογίας. Από παθοφυσιολογικής σκοπιάς θεωρείται αποτέλεσμα της διαταραγμένης ισορροπίας μεταξύ των ουσιών που προάγουν και αυτών που αναστέλλουν τις επασβεστώσεις του μέσου χιτώνα.

Πιο συγκεκριμένα, αναγνωρισμένοι παράγοντες που επάγουν τη διαδικασία επασβεστώσεως είναι ο ανόργανος φώσφορος, οι ουραιμικές τοξίνες, η λεπτίνη, το οξειδωτικό στρες, η αλκαλική φωσφατάση, κυτταροκίνες όπως ο TNFα, ο άξονας παραθορμόνης-FGF23- klotho, η οξειδωμένη LDL και οι μεταλλοπρωτεάσες που αποδομούν το δίκτυο ελαστίνης.

Βέβαια, οι διαταραχές του οστικού μεταβολισμού και η επακόλουθη υπερφωσφαταιμία αποτελούν κομβικό σημείο εναπόθεσης κρυστάλλων υδροξυαπατίτη στο μέσο χιτώνα αλλά και της επαγόμενης φαινοτυπικής εκτροπής των λείων μυϊκών

κυττάρων. Η διαδικασία δυσδιαφοροποίησης των λείων μυϊκών κυττάρων σε κύτταρα ομοιάζοντα των οστεοβλαστών που εκφράζουν και εκκρίνουν πρωτεΐνες της οστικής θεμέλιας ουσίας αποτελεί ένα μοναδικό βιολογικό φαινόμενο στην πορεία εξέλιξης των αγγειακών επασβεστώσεων αδιάρρηκτα συνδεδεμένο με την αρτηριακή σκληρία και την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία (Schlieper et al., 2016).

Το παράδοξο της αλλαγής του φαινοτύπου ενός συσταλτού κυττάρου σε ένα κύτταρο με οστεοχονδρογενετικά χαρακτηριστικά έχει συσχετισθεί με το παθολογικό μικροπεριβάλλον της ουραιμίας. Δηλαδή, υπό την επίδραση της χρόνιας υποκλινικής φλεγμονής, του οξειδωτικού στρες και της πρόωρης γήρανσης σε σηματοδοτικά μονοπάτια που ενεργοποιούν οστεοβλαστικούς μεταγραφικούς παράγοντες, ευοδώνεται η παραγωγή πρωτεϊνών, όπως της οστεοποντίνης, της οστεοκαλσίνης και της αλκαλικής φωσφατάσης ενώ παράλληλα καταστέλλεται η έκφραση των συσταλτών πρωτεϊνών.

Υπό αυτήν τη θεώρηση, οι αγγειακές επασβεστώσεις του μέσου χιτώνα, θεωρούνται διαδικασίες καθοδηγούμενες από τα γηράσκοντα λεία μυϊκά κύτταρα στο ουραιμικό περιβάλλον (Shanahan, 2013). Όμως, σε αυτή την πορεία πρόωρης γήρανσης υπόκεινται σε δυσπροσαρμοστικές μεταβολές, όπως αλλαγές στη σύσταση των απελευθερούμενων εξωκυττάρων MVs που περιέχουν μικρότερες ποσότητες αναστολέων, όπως της φετουίνης Α ή/και μεγαλύτερες ποσότητες προ-αβεστοποιητικών μορίων, όπως της αννεξίνης και της φωσφατιδυλοσερίνης. Τα προ-αβεστοποιητικά μόρια αποτελούν τους αρχικούς πυρήνες σχηματισμού κρυστάλλων υδροξυαπατίτη, οι οποίοι τελικά μεγεθύνονται ταχύτατα (Karustin et al., 2011).

Πρόσφατες μελέτες έχουν αναδείξει το ρόλο των ενδοθηλιακών μικροσωματιδίων ως αγγελιοφόρων μορίων διακυτταρικής επικοινωνίας μεταξύ διαφορετικών διαμερισμάτων του αγγειακού τοιχώματος. Επομένως, τα ενδοθηλιακά MVs μπορεί να θεωρηθούν ο συνδετικός κρίκος μεταξύ της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας και της φαινοτυπικής δυσδιαφοροποίησης των λείων μυϊκών κυττάρων στο ουραιμικό μικροπεριβάλλον. Σε μοριακό επίπεδο, αυτή η παθολογική κυτταρική αλληλεπίδραση έχει συσχετισθεί με την παρουσία microRNAs εντός των MVs ενώ ο κλινικός της αντίκτυπος είναι οι εκτεταμένες επασβεστώσεις του μέσου χιτώνα (Brunet et al., 2011).

Χωρίς αμφιβολία, με βάση τα όσα αναφέρθηκαν, οι αγγειακές επασβεστώσεις αποτελούν στο σύνολό τους ένα δυσμενή προγνωστικό παράγοντα καρδιαγγειακής νόσου. Η απόλυτη διάκριση των δύο μορφών επασβεστώσεων στην κλινική πράξη συνήθως δεν είναι εφικτή, αφού οι δύο αυτές οντότητες όχι μόνο συνυπάρχουν αλλά συμπορεύονται με την προοδευτική απώλεια των ελαστικών ιδιοτήτων του αγγειακού τοιχώματος, την αύξηση της ταχύτητας μετάδοσης του σφυγμικού κύματος, τη μεμονωμένη συστολική υπέρταση και την υπερτροφία της αριστεράς κοιλίας.

#### **2.2.4. Ο ρόλος της Υπερπλασίας του Έσω Χιτώνα και των Διαταραχών των Μηχανισμών Επανόρθωσης του Ενδοθηλιακού Φραγμού**

Η υπερπλασία του έσω χιτώνα αποτελεί ένα ακόμη χαρακτηριστικό γνώρισμα της ουραιμικής αγγειακής δυσλειτουργίας. Η παρουσία της έχει συσχετισθεί με μία πολυσταδιακή και πολύπλοκη διαδικασία αλληλοσχετιζόμενων διαταραχών που ενορχηστρώνονται από την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία.

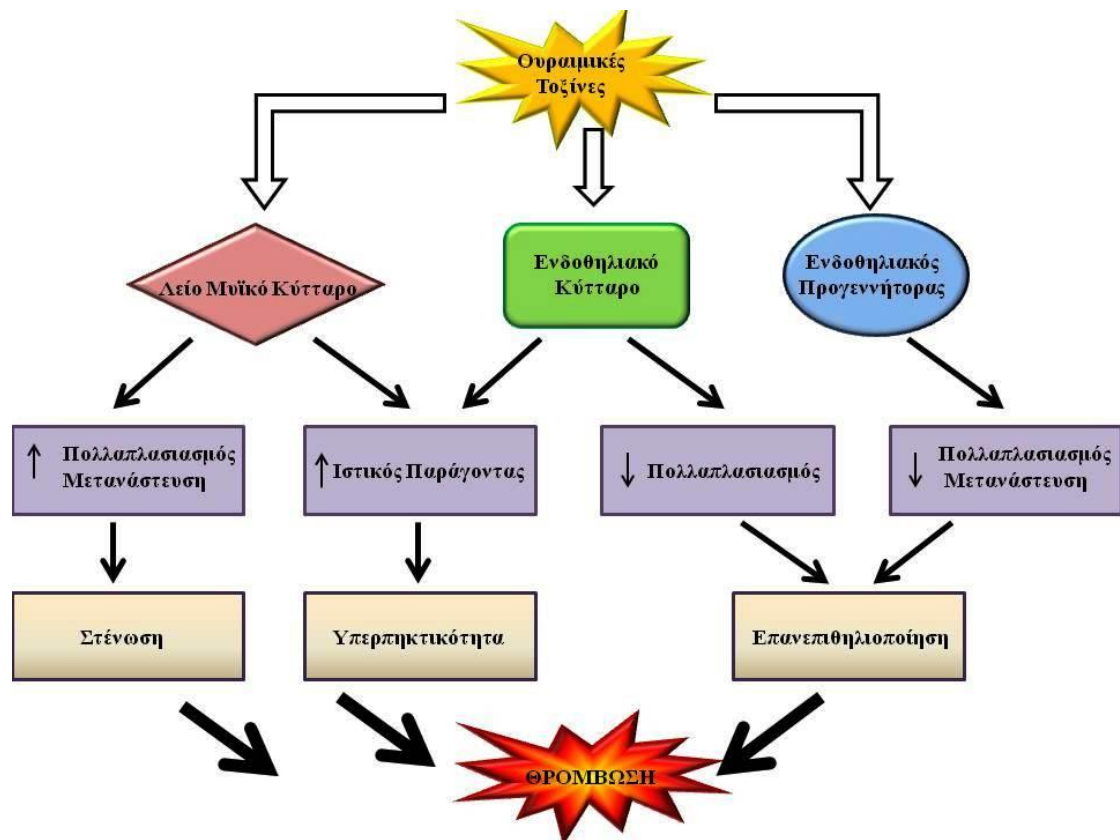
Είναι γνωστό ότι, η συσσώρευση ουραιμικών τοξινών, όπως της γουανιδίνης και του indoxyl-sulfate, ασκεί εξαιρετικά τοξικές επιδράσεις επί των ενδοθηλιακών κυττάρων και των προγεννητόρων τους. Πιο συγκεκριμένα, οι παραπάνω ουραιμικές τοξίνες έχουν συσχετισθεί με διαταραχές πολλαπλασιασμού των ενδοθηλιακών κυττάρων και των μηχανισμών αποκατάστασης της δομικής ακεραιότητας του ενδοθηλιακού φραγμού μετά την επίδραση ενός βλαπτικού παράγοντα.

Επιπρόσθετα, στο ουραιμικό μικροπεριβάλλον διαταράσσεται η ικανότητα μετανάστευσης, εγκατάστασης και διαφοροποίησης των ενδοθηλιακών προγεννητόρων στις θέσεις ενδοθηλιακής βλάβης. Φαίνεται ότι οι βλαπτικές επιδράσεις των ουραιμικών τοξινών επί των ενδοθηλιακών προγεννητόρων αφορούν κατεξοχήν τα πρώιμα στάδια της διαδικασίας διαφοροποίησής τους ενώ παράλληλα επισυμβαίνουν σημαντικές ποσοτικές διαταραχές, που αφορούν στην παρουσία ικανού αριθμού προγεννητόρων στις περιοχές απογύμνωσης του ενδοθηλιακού φραγμού.

Η βλαπτική επίδραση του indoxyl-sulfate στο συνολικό πληθυσμό και την λειτουργικότητα των ενδοθηλιακών προγεννητόρων διαμεσολαμβάνεται από το οξειδωτικό στρες, τη μειωμένη ικανότητα βιογένεσης NO και την αναστολή βιοσύνθεσης IL-10, HIF και VEGF (Wu et al., 2017).

Ως εκ τούτου, οι επανορθωτικές διαδικασίες καθυστερούν και ενεργοποιούνται οι μηχανισμοί υπερπλασίας του έσω χιτώνα. Αντίθετα, όταν η επανεπιθηλιοποίηση εξελίσσεται ομαλά, οι πιθανότητες εμφάνισης αντιρροπιστικής υπερπλασίας είναι ελάχιστες ( Εικόνα 15).





Εικόνα 15. Μηχανισμοί υπερπλασίας του Έσω Χιτώνα και διαταραχών Επανεπιθηλιοποίησης στην Ουραιμία (Σχήμα: Σαμπάνης Ν.)

Η στενή συσχέτιση των ενδοθηλιακών κυττάρων με τα λεία μυϊκά κύτταρα αποτελεί το επόμενο καθοριστικό βήμα σε αυτήν την αλληλουχία γεγονότων. Ο πολλαπλασιασμός των λείων μυϊκών κυττάρων και η επακόλουθη μετανάστευσή τους προς τον έσω χιτώνα έχει πρωτίστως συσχετισθεί με την μειωμένη βιοδιαθεσιμότητα του NO.

Επιπλέον, η συσσώρευση indoxyl-sulfate, έχει συσχετισθεί με την υπερέκφραση στα λεία μυϊκά κύτταρα του υποδοχέα προ-ρενίνης. Ο υποδοχέας αυτός συμμετέχει στην ενεργοποίηση της προ-ρενίνης στη δραστική της μορφή, που με τη σειρά της καταλύει τη μετατροπή του αγγειοτενσινογόνου σε αγγειοτενσίνη-I. Ο βιομετασχηματισμός της τελευταίας σε αγγειοτενσίνη-II αποτελεί έναν ισχυρό παράγοντα ενεργοποίησης του πολλαπλασιασμού των λείων μυϊκών κυττάρων. Ένας ακόμη πιθανός μηχανισμός υπερπλασίας, ανεξάρτητος της αγγειοτενσίνης II, είναι η ενεργοποίηση της σηματοδοτικής οδού που σχετίζεται με τον υποδοχέα της προ-ρενίνης μετά τη σύνδεσή του με το υπόστρωμα (Yisireyili et al., 2014).

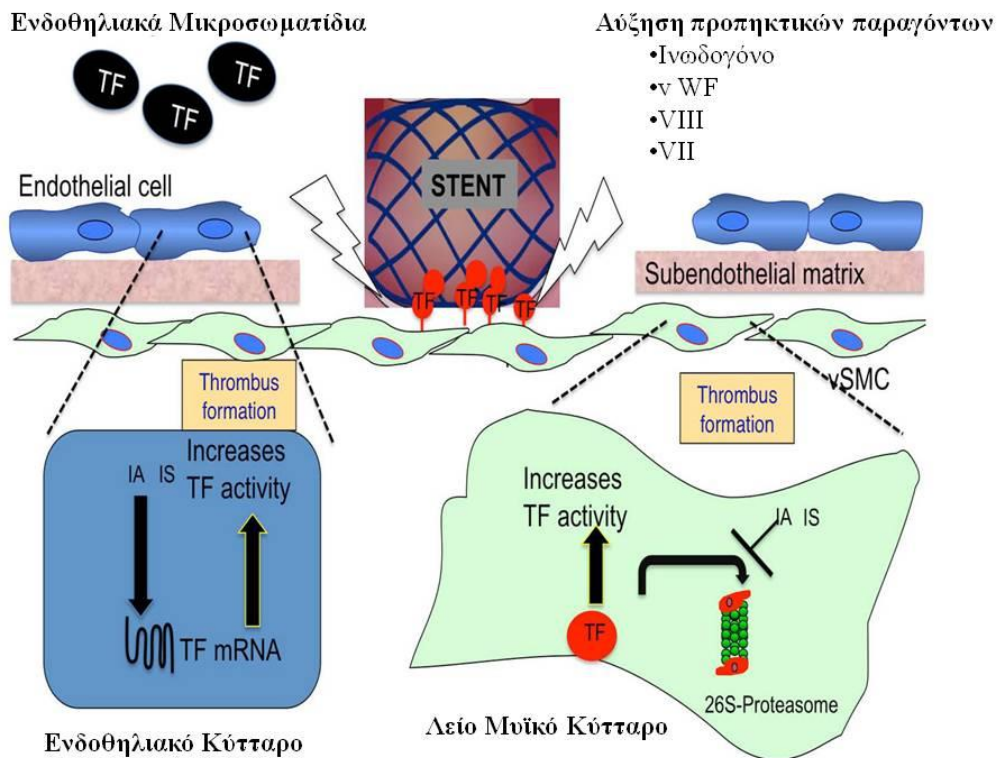
Πρόσφατα τα αυξημένα επίπεδα ενδοθηλιακών MVs, που αποτελούν αξιόπιστους βιοδείκτες ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας, έχουν θεωρηθεί διαμεσολαβητές της παθολογικής διακυτταρικής αλληλεπίδρασης μεταξύ ενδοθηλιακών και λείων μυϊκών κυττάρων (Ryu et al., 2017). Άλλες μελέτες βέβαια έχουν συσχετίσει την παρουσία τους με την κινητοποίηση των ενδοθηλιακών προγεννητόρων, στα πλαίσια ενός ομοιοστατικού μηχανισμού θετικής παλίνδρομης ανατροφοδότησης.

Η συμμετοχή των ινοβλαστών του έξω χιτώνα στις παραπάνω διαδικασίες έχει πρόσφατα αποσαφηνισθεί και θεωρείται εξίσου σημαντικός μηχανισμός υπερπλασίας του έξω χιτώνα. Η μετανάστευση των ινοβλαστών και η διαφοροποίησή τους σε συσταλτά μυϊκά κύτταρα λαμβάνει χώρα παράλληλα με την αύξηση της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας ως επακόλουθο της δράσης φλεγμονωδών διαμεσολαβητών και κυτταροκινών.

Αξίζει να σημειωθεί επίσης ότι οι παραπάνω μεταβολές συντελούνται σε ένα ιδιαίτερα προθρομβωτικό περιβάλλον, το οποίο περιλαμβάνει αφενώς μεν τους θρομβοφιλικούς παράγοντες της συστηματικής κυκλοφορίας αφετέρου δε τοπικούς αιμοστατικούς μηχανισμούς. Η συσσώρευση indoxyl-sulfate θεωρείται σε τοπικό επίπεδο ένας ισχυρός προθρομβωτικός παράγοντας αφού επιταχύνει τη γένεση θρομβίνης και το σχηματισμό σταθερού θρόμβου, ως απάντηση στην ενδοθηλιακή βλάβη, μέσω ποικίλων ρυθμιστικών σηματοδοτικών μονοπατιών και δικτύων (Addi et al., 2018). Κατά κύριο λόγο, η δράση αυτή επιτελείται μέσω της υπερέκφρασης του ιστικού παράγοντα στα λεία μυϊκά κύτταρα, τους ινοβλάστες και τα ενδοθηλιακά κύτταρα.

Βέβαια, η έκφραση του ιστικού παράγοντα στα λεία μυϊκά κύτταρα και τους ινοβλάστες αντιστοιχεί σε έναν φυσιολογικό μηχανισμό ανάσχεσης της αιμορραγίας, ο οποίος εκτρέπεται σε συνθήκες ουραιμίας. Η έκφραση του TF σε MVs ενδοθηλιακής προέλευσης και η υπερέκφρασή του στους ινοβλάστες και τα λεία μυϊκά κύτταρα αποτελούν μέρος αυτής της δυσαρμονίας, η οποία συμπορεύεται με την αυξημένη προπηκτική δραστηριότητά του.

Επομένως, στο ουραιμικό περιβάλλον ο ιστικός παράγοντας μετασχηματίζεται από ένα μόριο αδρανές και κρυπτογραφημένο σε ένα εξαιρετικά δραστικό μόριο με αυξημένη προπηκτική δραστηριότητα (Kolachalama et al., 2018) (Εικόνα 16).



Εικόνα 16. Η επίδραση των Ουραιμικών Τοξινών στα Ενδοθηλιακά και Λεία Μυϊκά Κύτταρα προκαλεί Υπερέκφραση του Ιστικού Παράγοντα είτε μέσω επαγωγής γονιδίων είτε μέσω αναστολής της πρωτεολυτικής του διάσπασης. (τροποποιημένο σχήμα από Moshe et al, Semin Dial., 2015)

Με βάση τα όσα αναφέρθηκαν παραπάνω γίνεται αντιληπτό ότι οι ουραιμικές τοξίνες αποτελούν το συνδετικό κρίκο μεταξύ της ΧΝΝ και της ουραιμικής αρτηριοπάθειας και επεξηγούν επαρκώς τη διαταραχή των επανορθωτικών μηχανισμών του ενδοθηλίου αλλά και την επακόλουθη υπερπλασία του έσω χιτώνα.

Τα κλινικά επακόλουθα αυτών των διαταραχών περιλαμβάνουν τη στένωση του φλεβικού σκέλους της αρτηριοφλεβικής αναστόμωσης και την επαναστένωση των στεφανιαίων αγγείων μετά από επιτυχή αγγειοπλαστική (Brunet et al., 2011). Οι δύο αυτές παθολογικές οντότητες αποτελούν χαρακτηριστικές εκδηλώσεις της ουραιμικής αγγειακής δυσλειτουργίας και έχουν συσχετισθεί με αύξηση της συνολικής και καρδιαγγειακής νοσηρότητας και θνητότητας.

Αξίζει να σημειωθεί, τέλος, η αποτυχία της συμβατικής αντιαιμοπεταλιακής και αντιπηκτικής αγωγής στην πρόληψη των παραπάνω επιπλοκών ακριβώς εξαιτίας της πολυπλοκότητας των εμπλεκόμενων παθογενετικών μηχανισμών (Shashar et al., 2015).

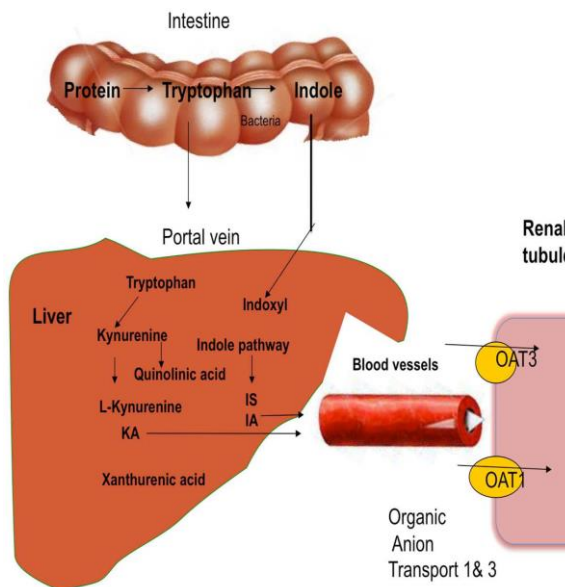
### **3. Η ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΜΟΝΤΕΛΟΥ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗΣ ΣΤΗΝ ΟΥΡΑΙΜΙΑ ΚΑΙ Ο ΑΝΑΔΥΟΜΕΝΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΟΥΡΑΙΜΙΚΩΝ ΤΟΞΙΝΩΝ**

Η συσσώρευση των ουραιμικών τοξινών κατά την εξέλιξη της ΧΝΝ συντελεί στη διαμόρφωση ενός ιδιαίτερα τοξικού μικροπεριβάλλοντος που επιδρά βλαπτικά στις λειτουργίες πληθώρας ιστών και οργάνων (uremic milieu). Η αναγνώριση και ταξινόμηση των ουραιμικών τοξινών αποτελεί πεδίο συνεχιζόμενης επιστημονικής έρευνας. Ως εκ τούτου, η λίστα των ουραιμικών τοξινών από το 2003 έως σήμερα έχει εμπλουτισθεί εντυπωσιακά ενώ παράλληλα έχουν αναγνωρισθεί νέα μοριακά μονοπάτια και δίκτυα αλληλεπίδρασής τους με τους ομοιοστατικούς μηχανισμούς της αιμόστασης.

Η ταξινόμηση των ουραιμικών τοξινών βασίζεται σε διάφορες μεταβλητές όπως το μέγεθος του μορίου τους (μοριακό βάρος), τη θέση παραγωγής ή την πηγή προέλευσής τους και τη δεσμευτική τους συγγένεια με την αλβουμίνη. Όμως σε επίπεδο κλινικής σημαντικότητας, το κυριότερο χαρακτηριστικό ταξινόμησης των ουραιμικών τοξινών είναι η ικανότητα απομάκρυνσής τους μέσω της ημιδιαπερατής μεμβράνης αιμοκάθαρσης (Vanholder et al., 2003).

Κατά συνέπεια, οι υδατοδιαλυτές ουραιμικές τοξίνες μικρού μοριακού βάρους (MB<500 Daltons), όπως η ουρία και η γουανιδίνη, απομακρύνονται ικανοποιητικά κατά τη συνεδρία κλασσικής αιμοκάθαρσης σε αντίθεση με τις μέσου μοριακού βάρους τοξίνες, όπως η β<sub>2</sub>-μικροσφαιρίνη (MB>500 Daltons). Όσον αφορά στις ουραιμικές τοξίνες που εμφανίζουν υψηλή δεσμευτική ικανότητα για τις πρωτεΐνες (αλβουμίνη), όπως τα ενδιάμεσα προϊόντα μεταβολισμού των αμινοξέων, οι συγκεντρώσεις τους αυξάνονται σημαντικά στο πλάσμα ουραιμικών ασθενών, τόσο λόγω αναποτελεσματικής κάθαρσης όσο και λόγω αυξημένης παραγωγής (Jourde-Chiche et al., 2009a).

Στην κατηγορία αυτή των ουραιμικών τοξινών ανήκουν παράγωγα της φαινόλης και της ινδόλης, τα οποία αποτελούν προϊόντα μεταβολισμού των αμινοξέων από τη μικροβιακή χλωρίδα του κολονικού επιθηλίου. Τα προϊόντα αυτά, μέσω του μηχανισμού βακτηριακής διαμετάθεσης, εισέρχονται στο σύστημα της πυλαίας κυκλοφορίας και καταλήγουν στο ήπαρ, όπου βιομετασχηματίζονται σε τοξικά προϊόντα ενδιάμεσου μεταβολισμού. Η αδυναμία σωληναριακής απέκκρισης αυτών των μεταβολιτών σε συνδυασμό με την ανεπαρκή τους απομάκρυνση κατά τη συνεδρία αιμοκάθαρσης οδηγεί αναπόφευκτα στην άθροισή τους στο πλάσμα, σε συγκεντρώσεις έως και 80 φορές υψηλότερες σε σχέση με αυτές που παρατηρούνται σε ασθενείς με φυσιολογική νεφρική λειτουργία (Evenepoel et al., 2009) (Εικόνα 17).



Εικόνα 17. Δημιουργία, Βιομετασχηματισμός και Απέκκριση των Προϊόντων του Ενδιάμεσου Μεταβολισμού-Ουραιμικών Τοξινών (ανατύπωση από Moshe et al., *Semin Dial* 2015)

Η συσχέτιση των προϊόντων του ενδιάμεσου μεταβολισμού με τη θρόμβωση στο ουραιμικό περιβάλλον έχει αποτυπωθεί στην εισαγωγή του όρου θρομβομεταβολισμός (thrombolome) κατά αναλογία του όρου θρομβοφλεγμονή στην αθηροσκλήρωση (Karbowska et al., 2017). Οι ουραιμικές τοξίνες που έχουν εκτενώς μελετηθεί στο πεδίο αυτό, είναι: το *indoxyl-sulfate*, το *indoxyl-acetate*, οι μεταβολίτες της *kynurenines*, όπως το *anthranilic acid* και το *quinolic acid*, και η *p-cresyl-sulfate*.

Ο κομβικός ρόλος των ουραιμικών τοξινών στη θρόμβωση έχει συσχετισθεί με τους ακόλουθους παθογενετικούς μηχανισμούς: α. την αύξηση των προπηκτικών παραγόντων στο πλάσμα και τη μείωση των φυσικών ανασταλτών β. την υποϊνωδόλυση γ. την ενεργοποίηση των μονοπύρηνων, αιμοπεταλίων και ερυθροκυττάρων δ. την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία ε. τη μείωση της βιοδιαθεσιμότητας του NO στ. την απελευθέρωση MVs με έντονη προπηκτική δραστηριότητα (Addi et al., 2018; Pawlak et al., 2009).

Σε πρόσφατες *in vitro* και *in vivo* μελέτες η υπερέκφραση του ιστικού παράγοντα στα ενδοθηλιακά και λεία μυϊκά κύτταρα έχει συσχετισθεί με τα αυξημένα επίπεδα των ουραιμικών τοξινών *indoxyl-sulfate* και *indoxyl-acetate*. Πιο συγκεκριμένα, σε πειραματικά μοντέλα έκθεσης ενδοθηλιακών κυττάρων σε υψηλές συγκεντρώσεις ενδιάμεσων μεταβολικών προϊόντων της τρυπτοφάνης έχει αναγνωρισθεί αυξημένο δυναμικό γένεσης θρομβίνης, ως επακόλουθο ενδοθηλιακής βλάβης και υπερέκφρασης ιστικού παράγοντα. Σε κλινικές μελέτες συσχέτισης, τα αυξημένα επίπεδα των μεταβολιτών της τρυπτοφάνης έχουν αναδειχθεί σε ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα θρόμβωσης της αρτηριοφλεβικής αναστόμωσης, καρδιαγγειακών συμβάντων, οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου και θνητότητας (Kaminski et al., 2017).

Η υπερέκφραση του ιστικού παράγοντα στα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα ενδοθηλιακά MVs θεωρείται αποτέλεσμα της επαγόμενης από τις ουραιμικές τοξίνες ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας και διαμεσολαβείται από το οξειδωτικό στρες και τις

προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες. Τα ενεργοποιημένα μονοκύτταρα αποτελούν μία ακόμη πηγή ιστικού παράγοντα μέσω της απελευθέρωσης MVs που εκφράζουν έντονη προπηκτική δραστηριότητα αλλά και ικανότητα αλληλεπίδρασης με το ενεργοποιημένο ενδοθήλιο. Από την άλλη πλευρά, η έκφραση του ιστικού παράγοντα στα λεία μυϊκά κύτταρα και τους ινοβλάστες συνιστά έναν φυσιολογικό μηχανισμό άμυνας και αντιστοιχεί στον τελευταίο φραγμό ανάσχεσης της αιμορραγίας μετά τον τραυματισμό του αγγείου. Υπό την επίδραση των ουραιμικών τοξινών, η ισορροπία αυτή εκτρέπεται και η υπερέκφραση του ιστικού παράγοντα συνοδεύεται από αυξημένη προπηκτική δραστηριότητα (Karbowska et al., 2017).

Η υπερέκφραση του ιστικού παράγοντα στα ενδοθηλιακά και λεία μυϊκά κύτταρα αποτυπώνεται αντίστοιχα μέσα από τα αυξημένα επίπεδα του αγγελιοφόρου TF-RNA (mRNA) και την αναστολή των διαδικασιών επιλεκτικής αποικοδόμησης του ιστικού παράγοντα στο πρωτεάσωμα. Ο έλεγχος της έκφρασης του ιστικού παράγοντα σε μετα-μεταφραστικό επίπεδο από λειτουργικής και τελεολογικής σκοπιάς πλεονεκτεί του ελέγχου σε μεταφραστικό επίπεδο, αφού η ενεργοποίηση της μεταφραστικής διαδικασίας επισυμβαίνει σε διάστημα αρκετών ωρών ενώ η απάντηση των μηχανισμών αποδόμησης είναι ταχύτατη. Φυσιολογικά, οι παραπάνω διαδικασίες ενδοκυττάριας αποικοδόμησης των πρωτεϊνών υπόκεινται στον ρυθμιστικό έλεγχο της πολυουβικουιτίνωσης και λαμβάνουν χώρα στο πρωτεάσωμα.

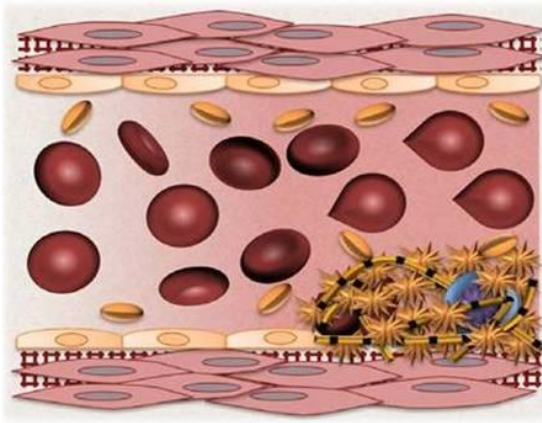
Η αυξημένη προπηκτική δραστηριότητα του ιστικού παράγοντα στην ουραιμία έχει πρόσφατα αποδοθεί στη διαταραχή των διαδικασιών ουβικουιτίνωσης και θεωρείται ότι συντελείται μέσω ενός νέου μοριακού μηχανισμού, της μεταγραφικής οδού του *Aryl-hydrocarbon-Receptor* (AhR). Ο AhR υποδοχέας αποτελεί έναν υποδοχέα περιβαλλοντικών διοξινών αλλά και ισχυρών ενδογενών αγωνιστών, όπως των ενδιάμεσων μεταβολιτών της τρυπτοφάνης, οι οποίοι συσσωρεύονται στη χρόνια νεφρική ανεπάρκεια. Μετά τη σύνδεση του AhR με τις ουραιμικές τοξίνες ενεργοποιούνται καθοδικές σηματοδοτικές οδοί στα ενδοθηλιακά και λεία μυϊκά κύτταρα. Οι γενομικές επιδράσεις του ενεργοποιημένου AhR αφορούν στην έκφραση του ιστικού παράγοντα ενώ οι μη γενομικές επιδράσεις του έχουν συσχετισθεί με άλλα σηματοδοτικά μονοπάτια, όπως της οδού της p38MAPK και του μεταγραφικού παράγοντα NF-κB. Δηλαδή, η ενεργοποίηση του AhR συνοδεύεται από ενεργοποίηση της φλεγμονώδους απόκρισης και μεταφράζεται σε αύξηση των επιπέδων της IL-1, της IL-8, της MCP-I και της COX-2 και περαιτέρω ενεργοποίηση της μεταγραφικής οδού του ιστικού παράγοντα. Οι μεταβολές αυτές συμπορεύονται με μείωση της αποδόμησης του ιστικού παράγοντα, λόγω αναστολής της πρωτεόλυσής του στο κυτταρόπλασμα, και σταθεροποίησης του μορίου του στην επιφάνεια του λείου μυϊκού κυττάρου σε μία δραστική και αποκρυπτογραφημένη μορφή (Addi et al., 2018).

Η επαγόμενη από τις ουραιμικές τοξίνες αιμοπεταλιακή υπεραντιδραστικότητα έχει επίσης συσχετισθεί με τη σηματοδοτική οδό του μεταγραφικού παράγοντα AhR. Η επίδραση του *indoxyl-sulfate* στην αιμοπεταλιακή λειτουργία χαρακτηρίζεται από αύξηση της ικανότητας συγκόλλησης και προσκόλλησης, της έκφρασης P-σελεκτίνης, της ικανότητας απελευθέρωσης MVs και τέλος του σχηματισμού συσσωματωμάτων με μονοκύτταρα. Οι υποκείμενοι παθογενετικοί μηχανισμοί αυτών των μεταβολών είναι η

υπερπαραγωγή οξειδωτικών ριζών και η ενεργοποίηση της σηματοδοτικής οδού της p38MAPK (Yang et al., 2017).

Οι πλειοτροπικές επιδράσεις των ουραιμικών τοξινών αφορούν όμως και τον πληθυσμό των ερυθροκυττάρων. Η επίδραση του *indoxyl-sulfate* στη λειτουργία του ερυθρού αιμοσφαιρίου έχει συσχετισθεί με μεταβολές της ικανότητας παραμόρφωσης, την απελευθέρωση προπηκτικών μικροσωματιδίων και τη συρρίκνωσή τους (eryptosis). Οι διαταραχές αυτές αποδίδονται στην αύξηση του ενδοκυτταρίου ασβεστίου, το οξειδωτικό στρες, την ενεργοποίηση της p38MAPK και την ενεργοποίηση της οδού της κασπάσης. Στο πλαίσιο αυτό, η συρρίκνωση των ερυθροκυττάρων, οι μεταβολές της μεμβράνης τους και η απελευθέρωση στη μικροκυκλοφορία MVs που εκφράζουν φωσφατιδυλοσερίνη έχουν συσχετισθεί με δυσμενείς διακυτταρικές αλληλεπιδράσεις, οι οποίες ευνοούν τη θρόμβωση (Wu et al., 2017).

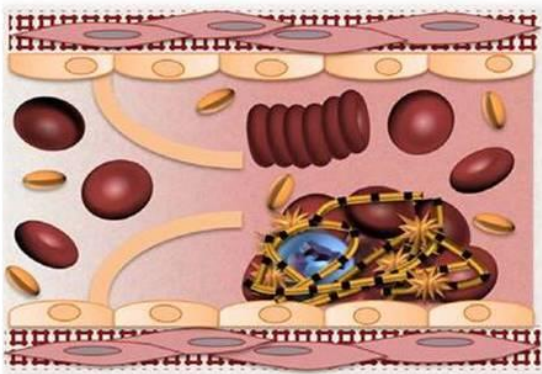
Ο προθρομβωτικός ρόλος των ερυθροκυτταρικών μικροσωματιδίων είναι πολυπαραγοντικός και έχει συσχετισθεί όχι μόνο με την παρουσία φωσφατιδυλοσερίνης στην επιφάνειά τους αλλά και την επαγωγή του καταρράκτη της πήξης μέσω άμεσης ενεργοποίησης του παράγοντα XII, ανεξαρτήτως της οδού του ιστικού παράγοντα, την ενεργοποίηση του καταρράκτη του συμπληρώματος και τέλος την απελευθέρωση ελεύθερης αίμης, που ακολούθως προσλαμβάνεται από τα παρακείμενα ενδοθηλιακά κύτταρα μαζί με τα κυκλοφορούντα MVs (Weisel and Litvinov, 2019). Επομένως, το ουραιμικό ερυθροκύτταρο καθαυτό είτε μέσω απελευθέρωσης προπηκτικών MVs αντιπροσωπεύει έναν καθοριστικό παράγοντα αρτηριακής ή φλεβικής θρόμβωσης και όχι έναν αθώο παρατηρητή όπως μέχρι πρόσφατα θεωρούνταν δεδομένο. Οι παθογενετικοί μηχανισμοί συμμετοχής των ερυθροκυττάρων στην αρτηριακή και φλεβική θρόμβωση περιγράφονται συνοπτικά στο ακόλουθο σχήμα (Εικόνα 18).



### ΑΡΤΗΡΙΑΚΗ ΘΡΟΜΒΩΣΗ

Υψηλή διατμητική τάση  
Πλούσιος σε αιμοπετάλια θρόμβος

1. αύξηση γλοιώτητας αίματος
2. προσκόλληση στο αγγειακό τοίχωμα
3. προαγωγή απόθησης αιμοπεταλίων στην περιφέρεια και αλληλεπίδρασης τους με το ενδοθήλιο
4. αύξηση προσκολλητικότητας, συσσωρευτικής ικανότητας και ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων



### ΦΛΕΒΙΚΗ ΘΡΟΜΒΩΣΗ

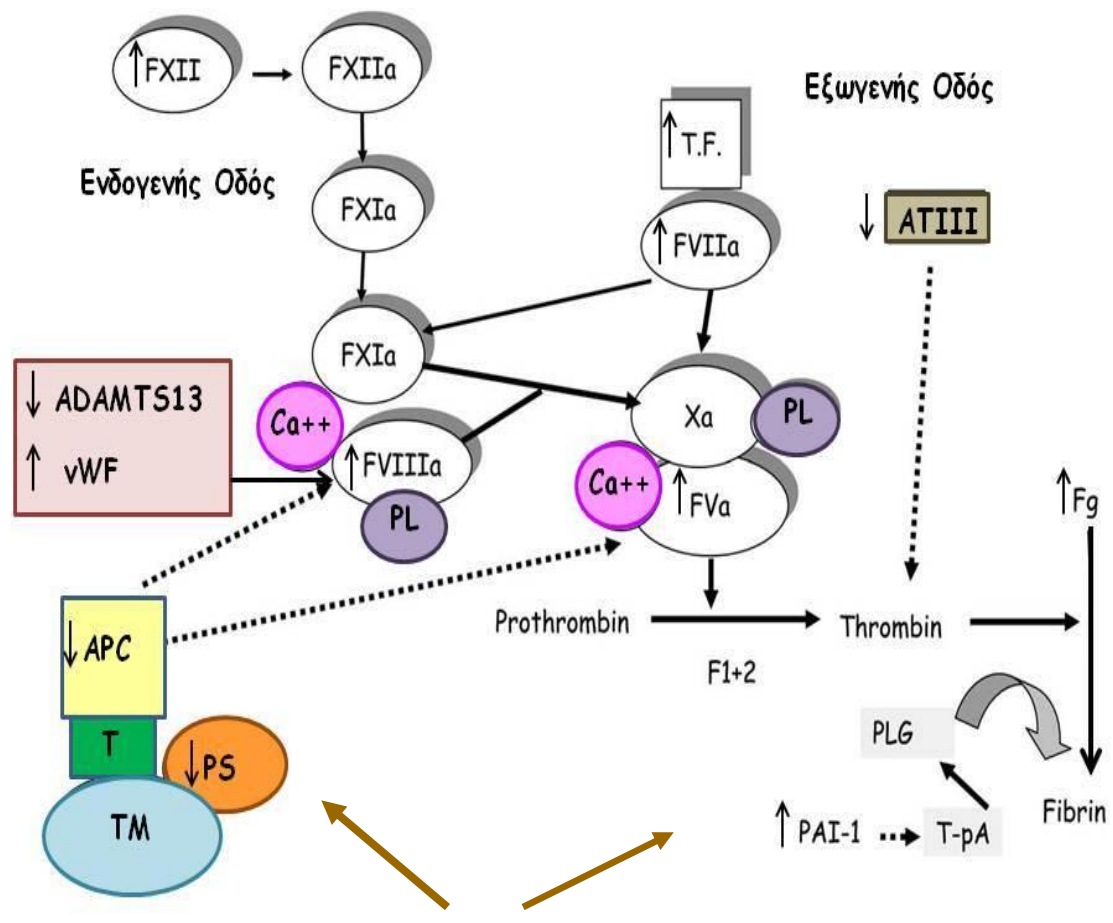
Χαμηλή διατμητική τάση  
Θρόμβοι πλούσιοι σε ερυθροκύτταρα και ινώδες

1. αύξηση γλοιώτητας αίματος
2. σχηματισμός συσσωματωμάτων ερυθροκυττάρων
3. προσκόλληση στο αγγειακό τοίχωμα
4. παγίδευση στο εσωτερικό του θρόμβου
5. προαγωγή γένεσης θρομβίνης
6. αύξηση μεγέθους θρόμβου
7. μείωση ικανότητας λύσης του θρόμβου

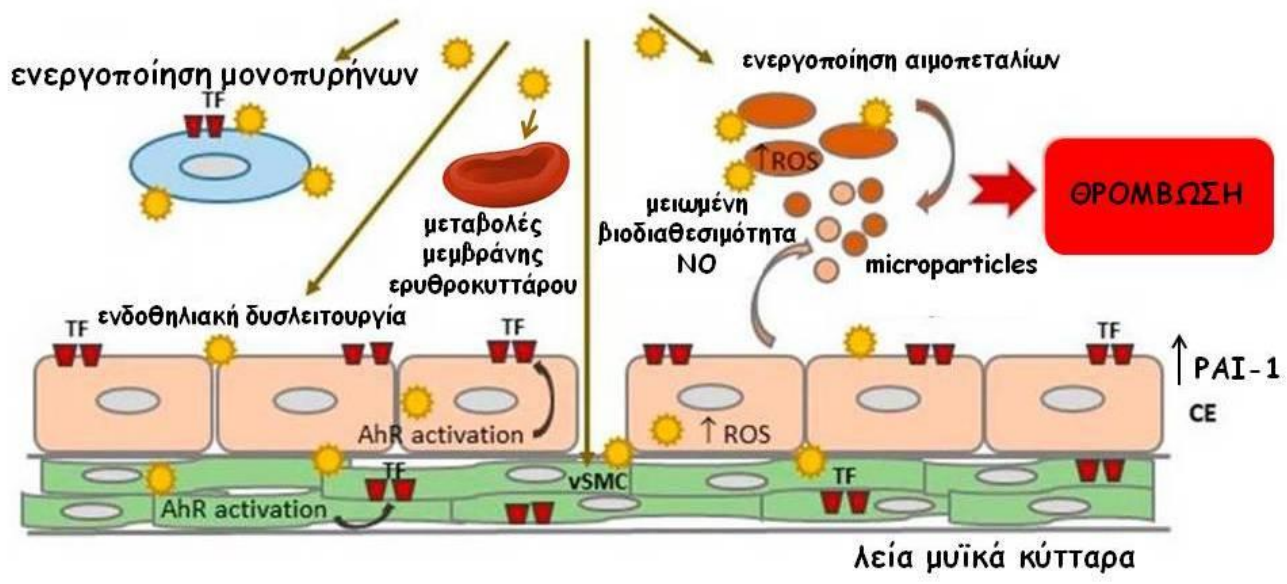
*Εικόνα 18. Ο προθρομβωτικός ρόλος του ουραιμικού ερυθροκυττάρου στην αρτηριακή και φλεβική θρόμβωση ( τροποποιημένο σχήμα από Byrnes JR et al., Red Blood Cells in Thrombosis, Blood 2017)*

Επομένως, οι ουραιμικές τοξίνες έχουν αναδειχθεί σε ένα νέο ισχυρό προθρομβωτικό παράγοντα με πολυεπίπεδη δράση. Οι δυσμενείς τους επιδράσεις στην ισορροπία μεταξύ προπηκτικών παραγόντων και φυσικών αναστολέων, στο ινωδολυτικό σύστημα, το ενδοθήλιο, τα λεία μυϊκά κύτταρα και τα έμμορφα στοιχεία του αίματος (μονοπύρρηνα, αιμοπετάλια και ερυθροκύτταρα) είναι αλληλένδετες και αλληλοσυμπληρώνουν το κυτταρικό μοντέλο ενεργοποίησης των μηχανισμών πήξης. Όσον αφορά τη συμμετοχή των MVs στις παραπάνω διεργασίες, πρόσφατες μελέτες έχουν αναδείξει τον καθοριστικό τους ρόλο ως εναλλακτικής πλατφόρμας ενεργοποίησης της θρόμβωσης αλλά και ως πολύτιμου προγνωστικού βιοδείκτη καρδιαγγειακού κινδύνου ( Εικόνα 19).





## Ουραιμικές Τοξίνες



Εικόνα 19. Το Κυτταρικό Μοντέλο Αιμόστασης στο Ουραιμικό Περιβάλλον (τροποποιημένο σχήμα από Addi et al., Toxins, 2018)

## 4. Ο ΠΟΛΥΠΛΕΥΡΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΕΞΩΚΥΤΤΑΡΙΩΝ ΜΙΚΡΟΚΥΣΤΙΔΙΩΝ ΣΤΗΝ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΗ ΝΟΣΟ

### 4.1. Νεότερα δεδομένα σχετικά με τους μηχανισμούς βιογένεσης και του πολύπλευρου βιολογικού ρόλου των εξωκυτταρίων μικροκυστιδίων

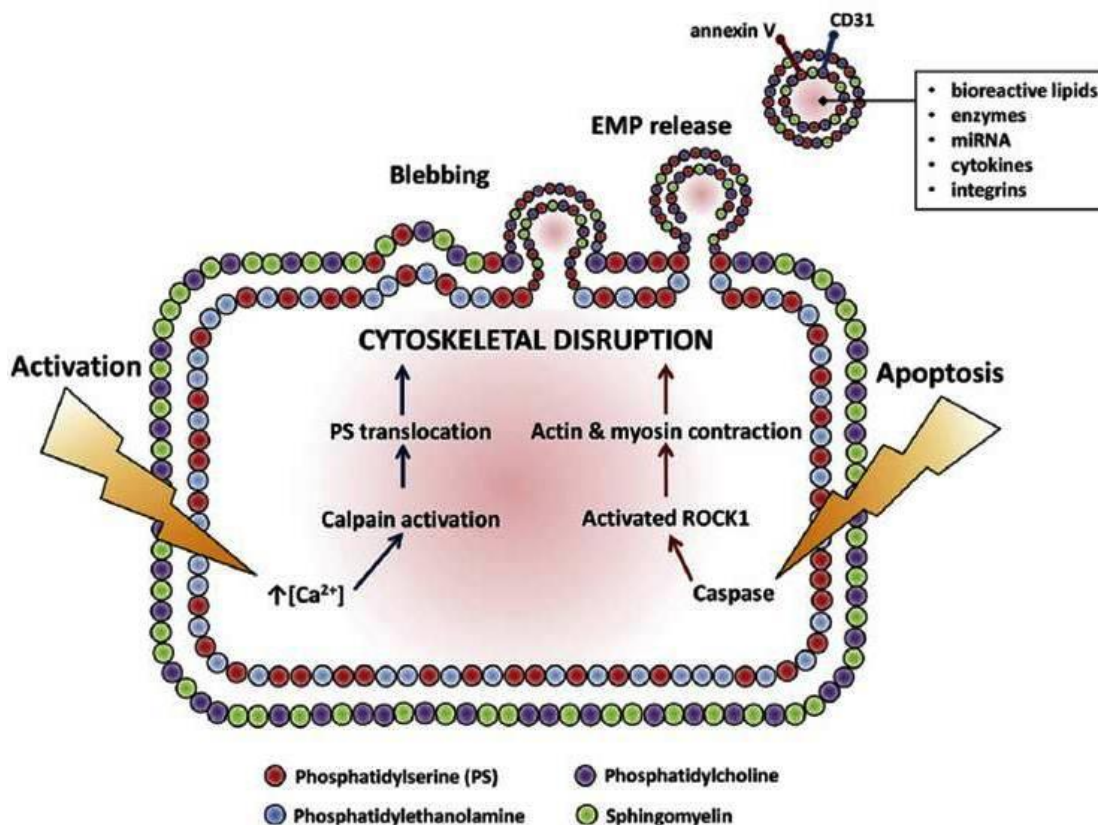
Τα εξωκυττάρια μικροκυστίδια αποτελούν άθικτα φωσφολιπιδικά κυστίδια (Microvesicles, MVs), διαμέτρου 100-1000nm, χωρίς πυρήνα, που απελευθερώνονται στην κυκλοφορία μετά το σχηματισμό τους στην επιφάνεια των κυττάρων. Ως εκ τούτου, αποτελούν στο σύνολό τους έναν εξαιρετικά ετερογενή πληθυσμό διαφορετικής κυτταρικής προέλευσης και είναι αποτέλεσμα της διαδικασίας μικροκυστιδιοποίησης της κυτταροπλασματικής μεμβράνης μετά από την επίδραση ενεργοποιητικών αποπτωτικών σημάτων ή κυτταρικής ενεργοποίησης. Ο ρυθμός απελευθέρωσης MVs αυξάνεται ως απόκριση σε διάφορα ερεθίσματα και παθολογικές καταστάσεις, όπως η διαμεσολαβούμενη από το συμπλήρωμα κυτταρόλυση, το οξειδωτικό stress και η ουραιμία.

Η πρώτη περιγραφή τους από τον Wolf το 1967 ως αιμοπεταλιακής σκόνης (platelet dust) αποτέλεσε την απαρχή της επανάστασης στο επιστημονικό πεδίο της αιμόστασης αφού σε σύντομο χρόνο από την ανακάλυψή τους, τους αποδόθηκαν προθρομβωτικές ιδιότητες (Wolf, 1967). Σήμερα, τα MVs θεωρούνται ένας άριστα διατηρημένος αρχέγονος μηχανισμός διακυτταρικής επικοινωνίας των προκαρυωτικών και ευκαρυωτικών οργανισμών. Βέβαια, η διατήρηση αυτού του μηχανισμού κατά την εξελικτική διαδικασία, δε μπορεί να σημαίνει τίποτα άλλο παρά μόνο το θεμελιώδη βιολογικό τους ρόλο στη διαμόρφωση ενός εκτεταμένου δικτύου ανταλλαγής πληροφοριών και διαμεταβίβασης σημάτων τόσο σε κοντινό, όσο και απομακρυσμένο κυτταρικό επίπεδο (Deatherage and Cookson, 2012).

Οι υποκείμενοι μοριακοί μηχανισμοί βιογένεσης, απελευθέρωσης, ελέγχου του φορτίου που διανέμουν, πρόσληψης και σηματοδότησης από τα κύτταρα στόχους δεν είναι ακόμη απόλυτα διευκρινισμένοι.

Τα δύο καθοριστικά γεγονότα στη βιογένεση των μικροσωματιδίων είναι η απώλεια της ασυμμετρίας της φωσφολιπιδικής διπλοστιβάδας και η αναδιοργάνωση του κυτταροσκελετού του ενεργοποιημένου κυττάρου (Morel et al., 2011) (Εικόνα 20). Η διεργασία του μεμβρανικού ανασχηματισμού που οδηγεί στην αναδιοργάνωση των φωσφολιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης και την έκθεση φωσφατιδυλοσερίνης στην εξωτερική επιφάνεια του κυττάρου, υπόκειται στο ρυθμιστικό έλεγχο των ATP-εξαρτώμενων μεταφορέων φωσφολιπιδίων, φλιπάσης και φλοπάσης, και της μη ATP-εξαρτώμενης, μη ειδικής αναδιοργάνωσης (σκραμπλάσης). Επομένως, σε συνθήκες κυτταρικής ενεργοποίησης, η έκθεση φωσφατιδυλοσερίνης στην εξωτερική επιφάνεια του κυττάρου είναι το συνεργιστικό αποτέλεσμα της ασβέστιο – εξαρτώμενης αναστολής της φλιπάσης, της ασβέστιο – εξαρτώμενης ενεργοποίησης της φλοπάσης

και / ή της μη ασβέστιο - εξαρτώμενης σκραμπλάσης, που εμφανίζει αμφίδρομη δραστηριότητα. Τελικά, η απώλεια της ασυμμετρίας προκαλεί αστάθεια της μεμβρανικής καμπυλότητας της διπλοστιβάδας και καθοδηγεί την εμφάνιση διακυμάνσεων στο σχήμα της, με παρουσία προεκβολών και αυλακώσεων, μικροφουσαλιδοποίηση και σχηματισμό MVs (Flaumenhaft, 2006; McMahon and Boucrot, 2015).



Εικόνα 20. Τα δύο καθοριστικά γεγονότα στη βιογένεση των μικροσωματιδίων είναι α. Η απώλεια της ασυμμετρίας της φωσφολιπιδικής διπλοστιβάδας και η έκθεση PS στην εξωτερική επιφάνεια β. Η αναδιοργάνωση του κυτταροσκελετού, διαδικασία αδιάρρηκτα συνδεδεμένη με την αύξηση της συγκέντρωσης του κυτοσολικού ασβεστίου (ανατύπωση από Schiro et al, Atherosclerosis, 2014)

Συνεπώς, η έκθεση φωσφατιδυλοσερίνης εικάζεται ότι αποτελεί την ικανή και αναγκαία συνθήκη μικροκυστιδιοποίησης, αφού σε συνθήκες τοπικής αστάθειας της μεμβράνης, εννοείται ο σχηματισμός εκβλαστήσεων και απελευθέρωσης μικροκυστιδίων, ακριβώς στις υπερκείμενες θέσεις όπου παρατηρείται συσσώρευση λιποειδικών σχεδίων (Davizon et al., 2010). Η παραπάνω ασβέστιο-εξαρτώμενη διαδικασία απελευθέρωσης MVs που εκφράζουν φωσφατιδυλοσερίνη, έχει πρόσφατα συσχετισθεί με τη λειτουργία του ασβέστιο – εξαρτώμενου διαύλου TMEM 16F (anoctamin). Αδρανοποιητικές μεταλλάξεις του γονιδίου του διαύλου TMEM 16F έχουν περιγραφεί στο σύνδρομο Scott, μία σπάνια κληρονομούμενη αιμορραγική διαταραχή, η οποία χαρακτηρίζεται από αδυναμία έκφρασης φωσφατιδυλοσερίνης ως απάντησης σε διάφορους αγωνιστές και απελευθέρωσης αιμοπεταλιακών MVs στην κυκλοφορία. Επομένως, από τη μελέτη αυτής της σπάνιας αιμορραγικής διαταραχής, επιβεβαιώνεται ο καθοριστικός ρόλος της απώλειας της φωσφολιπιδικής ασυμμετρίας στις διαδικασίες βιογένεσης των MVs (Piccin et al., 2007).

Η αναδιοργάνωση του κυτταροσκελετού αποτελεί το δεύτερο καθοριστικό γεγονός στις διαδικασίες κυστιδιοποίησης και είναι άρρηκτα συνδεδεμένη με την εκσεσημασμένη και παρατεταμένη αύξηση της συγκέντρωσης του κυτοσολικού ασβεστίου, που ακολουθεί τη διέγερση του κυττάρου. Επομένως, αν ανασταλεί η ασβέστιο-εξαρτώμενη ενεργοποίηση πρωτεασών και ο αποπολυμερισμός του δικτύου ακτίνης μειώνεται η βιογένεση MVs ενώ στην αντίθετη περίπτωση, η αύξηση της συγκέντρωσης του κυτοσολικού ασβεστίου, συνοδεύεται από ενεργοποίηση της οδού της κασπάσης και της καλπαΐνης. Ακολούθως, υπό την επίδραση αυτών των πρωτεασών, αποδομείται το πρωτεϊνικό ικρίωμα του κυτταροσκελετού, που συναποτελούν οι πρωτεΐνες, φιλαμίνη, ταλίνη, μυοσίνη και γκελσολίνη. Εικάζεται ότι, στα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια και λευκοκύτταρα, η αναδιοργάνωση του κυτταροσκελετού διαμεσολαβείται από το σύστημα της καλπαΐνης, ενώ στα ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα από τη σηματοδοτική οδό της κασπάσης, η οποία επάγει την εξαρτώμενη από τη Rho-κινάση φωσφορυλίωση των κινασών των ελαφρών αλύσεων της μυοσίνης (MLCK). Τέλος, όσον αφορά τη βιογένεση των αιμοπεταλιακών MVs, φαίνεται ότι στις παραπάνω πολύπλοκες διαδικασίες μικροκυστιδιοποίησης εμπλέκεται και η ενεργοποίηση του γλυκοπρωτεϊνικού υποδοχέα του ινωδογόνου GPIIb-IIIa, ο οποίος διαδραματίζει πρωταγωνιστικό ρόλο στην αποσταθεροποίηση του κυτταροσκελετού της ακτίνης (Hromada et al., 2017).

Αναφορικά, με τις διαδικασίες πρόσληψης και εσωτερικοποίησης των MVs από τα κύτταρα στόχους, ελέγχου του φορτίου που διανέμουν και κάθαρσής τους από την κυκλοφορία, πολλές θεωρίες έχουν διατυπωθεί έως σήμερα αλλά οι ακριβείς παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί παραμένουν εν πολλοίς αδιευκρίνιστοι. Για παράδειγμα, οι μηχανισμοί πρόσληψης και εσωτερικοποίησης των μικροκυστιδίων, περιλαμβάνουν τη διαμεσολαβούμενη από τις λιποειδικές σχεδίες ενδοκύττωση, τη φαγοκυττάρωση και τη διαδικασία συγχώνευσης των κυτταρικών μεμβρανών. Αξίζει επίσης να σημειωθεί, ότι η πρόσληψη των MVs από τα κύτταρα στόχους είναι καθοδηγούμενη από το αρχικό ερέθισμα κυστιδιοποίησης, το οποίο όμως καθορίζει και το ενσωματωμένο σε αυτά διανεμόμενο φορτίο (D'Souza-Schorey and Clancy, 2012).

Πιο συγκεκριμένα, έχει αναφερθεί ότι MVs πλούσια σε micro-RNAs, προσλαμβάνονται ταχύτατα σε σχέση με άλλα φτωχά σε micro-RNAs μικροκυστίδια, αφού είναι δυνατή η εκλεκτική αναγνώρισή τους από τα κύτταρα στόχους και η επακόλουθη εσωτερικοποίησή τους, γεγονός άμεσα σχετιζόμενο από το αρχικό ερέθισμα που πυροδότησε τη δημιουργία τους και προσδιόρισε τις πληροφορίες που εμπεριέχουν. Σχετικά με την απομάκρυνσή τους από τη συστηματική κυκλοφορία είναι κατά γενική ομολογία γνωστό ότι είναι ταχύτατη και επιτελείται από τα μακροφάγα του δικτυοενδοθηλιακού συστήματος, στο ήπαρ και το σπλήνα (Colombo et al., 2014).

Οι μηχανισμοί ελέγχου του διανεμόμενου φορτίου διαμέσου των MVs σχετίζονται άμεσα με τις συνθήκες του μικροπεριβάλλοντος και τα ερεθίσματα που πυροδότησαν τη δημιουργία τους. Επομένως, τόσο σε φυσιολογικές συνθήκες όσο και σε παθολογικές καταστάσεις, ο βιολογικός τους ρόλος είναι κομβικός στη διανομή πολύτιμων πληροφοριών και πολύπλοκων κυτταρικών μηνυμάτων ακόμη και σε απομακρυσμένες θέσεις. Δηλαδή, μπορεί να ειπωθεί ότι λειτουργούν ως ένα καλά

διατηρημένο εργαλείο διακυτταρικής επικοινωνίας και εξωκυττάριας σημειακής διαμεταβίβασης που λαμβάνει χώρα σε κοντινές αλλά και μεγάλες αποστάσεις. Η επίδραση των κυκλοφορούντων MVs στη βιολογική συμπεριφορά των κυττάρων-στόχων είναι πολυεπίπεδη και περιλαμβάνει την ενεργοποίηση υποδοχέων των κυττάρων-στόχων από τα βιοενεργά λιπίδια και τις πρωτεΐνες που καλύπτουν την εξωτερική επιφάνεια των μικροκυστιδίων, τη μεταφορά και ενσωμάτωση των επιφανειακών υποδοχέων των MVs στην επιφάνεια του κυττάρου-στόχου και τη διανομή πρωτεϊνών, μεταγραφικών παραγόντων, DNA, mRNA, microRNA, siRNA, tRNA, rRNA και μακράς αλύσου μη-κωδικοποιούμενου RNA. Όπως ήδη ειπώθηκε, αυτό το φορτίο βιολογικών πληροφοριών μπορεί να υφίσταται σημαντικές μεταβολές μετά την επίδραση συγκεκριμένων μικροπεριβαλλοντικών ερεθισμάτων, γεγονός που αποτυπώνεται σε μελέτες που αφορούν την πρωτεομική σύσταση και τη δομή του τρανσκριπτοσώματος των MVs (Cocucci et al., 2009; Igraci et al., 2016).

Με βάση τα όσα αναφέρθηκαν γίνεται κατανοητή η πρόσφατα διατυπωμένη επαναστατική υπόθεση, ότι τα MVs αντιπροσωπεύουν ένα εκτεταμένο δίκτυο επικοινωνίας και ανταλλαγής γενετικών πληροφοριών, το οποίο εξαρτάται από τη διανομή microRNA μέσω των μικροκυστιδίων. Η ενσωμάτωση γενετικού υλικού και άλλων βιοδραστικών μορίων στο εσωτερικό των άθικτων φωσφολιπιδικών μικροκυστιδίων, αποτελεί τελεολογικά έναν ασφαλή τρόπο μεταφοράς τους αφού σε άλλη περίπτωση είτε θα υφίσταντο ταχεία αποδόμηση από νουκλεάσες και πρωτεολυτικά ένζυμα είτε θα ήταν αδύνατη η διανομή μέσω των κλασσικών μηχανισμών σηματοδότησης. Επιπρόσθετα, φαίνεται ότι η διανομή γενετικών πληροφοριών μέσω των MVs διευκολύνεται από το γεγονός ότι η εσωτερικοποίησή τους στα κύτταρα-στόχους δεν απαιτεί ειδικούς υποδοχείς σε αντίθεση με τις λιποπρωτεΐνες του πλάσματος υψηλής πυκνότητας που αποτελούν επίσης φορείς microRNAs αλλά η δράση τους απαιτεί την πρόσδεση της HDL σε ειδικούς μεμβρανικούς υποδοχείς (Turchinovich et al., 2012).

Η παρουσία στο εσωτερικό των MVs των ρυθμιστικών πρωτεϊνών RISC (RNA-induced Silencing Complex), μέλος των οποίων αποτελεί η ομάδα των πρωτεϊνών Ago (Argonaute proteins), καθορίζει την ικανότητα των pre-microRNA να μετατραπούν σε ώριμα microRNA προκειμένου να ασκήσουν τις βιολογικές τους δράσεις στα κύτταρα στόχους (Li et al., 2012). Ο λειτουργικός ρόλος των ώριμων microRNAs ασκείται μέσω της ικανότητας υβριδισμού με αγγελιοφόρα μόρια RNA, στη βάση ενός μοτίβου μερικής ή πλήρους συμπληρωματικότητας, η οποία ρυθμίζει τη γονιδιακή έκφραση του κυττάρου-στόχου σε μετα-μεταγραφικό επίπεδο και παρεμποδίζει τις διαδικασίες μετάφρασης (Bartel, 2004). Επομένως, η επίδραση των microRNAs στη βιολογική συμπεριφορά των κυττάρων-στόχων εξαρτάται από πολύπλοκους ρυθμιστικούς μηχανισμούς ακόμη και στο εσωτερικό των MVs ή των κυττάρων από τα οποία προσλαμβάνονται (Chen et al., 2012).

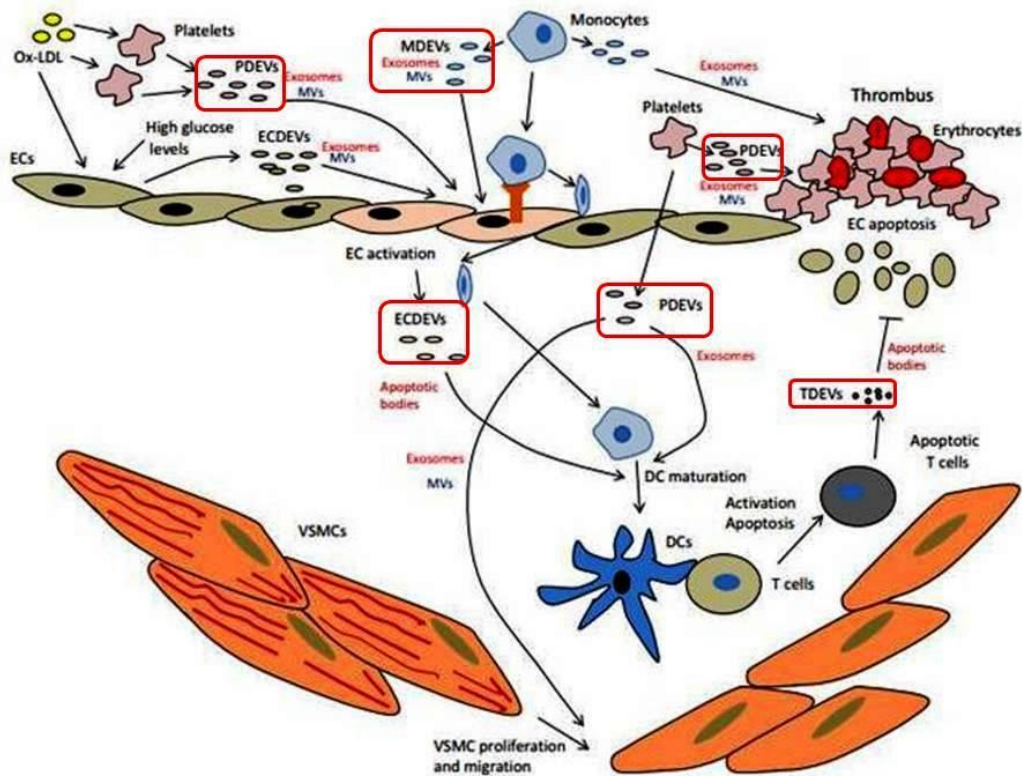
Λαμβάνοντας υπόψη τα προαναφερθέντα νεότερα δεδομένα σχετικά με τις πολύπλοκες διαδικασίες βιογένεσης των MVs και τον αναδυόμενο βιολογικό τους ρόλο στη διακυτταρική επικοινωνία και σημειακή διαμεταβίβαση, διαφαίνεται λογική η στροφή της επιστημονικής έρευνας στο πεδίο της αθηροθρόμβωσης προς την εντατική

μελέτη των μικροκυστιδίων. Και αυτό γιατί η καρδιαγγειακή νόσος αποτελεί την κύρια αιτία νοσηρότητας και θνητότητας στις ανεπτυγμένες χώρες, τόσο για τους άνδρες όσο και για τις γυναίκες, και αιτιοπαθογενετικά έχει συσχετισθεί με τις διαδικασίες αθηρογένεσης, θρομβοφλεγμονής και αθηροθρόμβωσης. Όμως, παρά τις μακροχρόνιες μελέτες, οι υποκείμενοι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί της αθηροσκλήρωσης παραμένουν εν μέρει ασαφείς καθιστώντας επιτακτική ανάγκη την διεύρυνση του πεδίου έρευνας στον πολύπλευρο ρόλο των MVs στις παραπάνω διαδικασίες.

#### **4.2. Ο ρόλος των εξωκυτταρίων μικροκυστιδίων στην αθηροσκλήρωση**

Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία αντιπροσωπεύει τον κοινό παρανομαστή των σχετιζόμενων με την αθηροσκλήρωση καρδιαγγειακών νοσημάτων και εμφανίζεται πρώιμα στην πορεία των αθηροσκληρωτικών διαδικασιών. Αποτελεί συστηματική διαταραχή του ενδοθηλίου και έχει συσχετισθεί με τα αυξημένα επίπεδα των κυκλοφορούντων MVs σε μία εντυπωσιακά μεγάλη σειρά πειραματικών και κλινικών μελετών.

Στα κυκλοφορούντα MVs έχουν αποδοθεί προ-αθηρογόνες, προ-οξειδωτικές, προ-φλεγμονώδεις και προ-θρομβωτικές ιδιότητες, οι οποίες εικάζεται ότι πυροδοτούν την εκτροπή των ομοιοστατικών μηχανισμών που ρυθμίζουν τη λειτουργία του αγγειακού τοιχώματος και συντελούν στην εμφάνιση ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας (Chironi et al., 2009). Πιο συγκεκριμένα, το ενδοθήλιο θεωρείται ο κύριος στόχος κυκλοφορούντων MVs διαφορετικής κυτταρικής προέλευσης (Εικόνα 21), τα επίπεδα των οποίων αυξάνονται σε διάφορα καρδιαγγειακά νοσήματα, όπως στα οξέα στεφανιαία σύνδρομα, την αθηροθρόμβωση, την περιφερική αρτηριακή νόσο, το παροδικό και το οξύ αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, το σακχαρώδη διαβήτη, το μεταβολικό σύνδρομο, την κακοήγη υπέρταση και την προεκλαμψία (Arteaga et al., 2006; Esposito et al., 2006; Meziani et al., 2008; Oehmichen, 1976).



Εικόνα 21. Οι πολύπλοκες αλληλεπιδράσεις των αιμοπεταλιακών, μονοκυτταρικών, ενδοθηλιακών και λεμφοκυτταρικών MVs στις διαδικασίες θρομβοφλεγμονής και αθηροθρόμβωσης (ανατύπωση από Chistiakov et al, Cell Mol Life Sci, 2015).

Η οξεία απάντηση του ενδοθηλίου στην επίδραση των MVs θεωρείται το αποτέλεσμα απελευθέρωσης διαφόρων μεσολαβητικών μορίων από τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Η χρόνια απόκριση του ενδοθηλίου στην παρατεταμένη επίδραση των μικροκυστιδίων περιλαμβάνει όμως μεταβολές στη γονιδιακή έκφραση των κυττάρων του αγγειακού τοιχώματος, οι οποίες εν τέλει, μεταφράζονται σε λειτουργικές και δομικές διαταραχές. Αξίζει να τονισθεί επίσης, ότι σε παθολογικές συνθήκες κυτταρικού στρες μεταβάλλεται τόσο ο αριθμός όσο και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των απελευθερούμενων MVs από διαφορετικούς κυτταρικούς υποπληθυσμούς. Οι κύριες επιδράσεις αυτών των MVs στην ενδοθηλιακή λειτουργία αφορούν την προαγωγή του οξειδωτικού στρες και τη μείωση της βιοδιαθεσιμότητας του NO, την πυροδότηση της φλεγμονώδους απόκρισης, την επαγωγή του αποπτωτικού θανάτου και τη διαταραχή της επουλωτικής ικανότητας του ενδοθηλιακού φραγμού, την ικανότητα αγγειογένεσης και τέλος την απώλεια των αντιθρομβωτικών χαρακτηριστικών του ενδοθηλίου που μετατρέπεται σε μια επιφάνεια με ισχυρές προθηκτικές ιδιότητες (Lovren and Verma, 2013).

Το NO αποτελεί ένα κομβικό μόριο στη διατήρηση της ομοιοστασίας του αγγειακού τοιχώματος αφού μεταξύ άλλων ρυθμίζει την ενδοθηλιοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή και τις αλληλεπιδράσεις των ενδοθηλιακών κυττάρων με τα

κυκλοφορούντα κύτταρα του αίματος και τα λεία μυϊκά κύτταρα. Η βλαπτική επίδραση των MVs στις παραπάνω λειτουργίες συντελείται είτε μέσω μείωσης της βιοδιαθεσιμότητας του NO είτε μέσω αναστολής της δραστηριότητας της ενδοθηλιακής συνθετάσης.

Οι Brodsky και συν., ανέδειξαν ότι η βλαπτική επίδραση των ενδοθηλιακών MVs στο ενδοθήλιο διαμεσολαβείται από το οξειδωτικό στρες και ειδικότερα το ανιόν του υπεροξειδίου. Δηλαδή, θεώρησαν ότι τα ενδοθηλιακά MVs προκαλούν αποσύζευξη της ενδοθηλιακής συνθετάσης, η οποία από ένζυμο βιοσύνθεσης NO μετατρέπεται σε ένζυμο παραγωγής οξειδωτικών ριζών. Ακολούθως, η ίδια ομάδα ερευνητών υπέθεσε ότι η αποσύζευξη της ενδοθηλιακής συνθετάσης διαμεσολαβείται από τις οξειδωτικές ρίζες, οι οποίες παράγονται εντός των ίδιων των μικροκυστιδίων. Πράγματι, αποδείχτηκε ότι τα ενδοθηλιακά MVs είναι φορείς της NAD(P)H οξειδάσης που διανέμεται άμεσα στα ενδοθηλιακά κύτταρα και με αυτό τον τρόπο προάγει το οξειδωτικό στρες και μειώνει τη βιοδιαθεσιμότητα του NO (Brodsky et al., 2004).

Παρομοίως, οι Mostefai και συν., απέδειξαν ότι τα MVs T-λεμφοκυτταρικής προέλευσης αναστέλλουν την παραγωγή του NO ενώ παράλληλα αυξάνουν τη βιογένεση οξειδωτικών ριζών (Mostefai et al., 2008). Άλλοι ερευνητές ακολούθως επιβεβαίωσαν τα παραπάνω ευρήματα και απέδωσαν τις βλαπτικές επιδράσεις των MVs στο ενδοθήλιο τόσο στη διαταραγμένη έκφραση της ενδοθηλιακής συνθετάσης, όσο και στη μειωμένη ικανότητα απελευθέρωσης προστακυκλίνης ή/και την υπερέκφραση της caveolin-1. Η υπερέκφραση της caveolin-1, η οποία αποτελεί έναν διαμεμβρανικό μεταφορέα λιπιδίων αλλά και ένα μόριο που συμμετέχει στην ενδοκυττάρια σηματοδότηση, έχει επίσης συσχετισθεί με την αναστολή της ενδοθηλιακής συνθετάσης του NO. Υπεύθυνος για την παραπάνω διαταραχή μηχανισμός, θεωρείται η επαγόμενη από την caveolin-1 δυσλειτουργία της ενδοκυττάριας μεταφοράς του ενζύμου στο κυτταρόπλασμα, όπου φυσιολογικά ενεργοποιείται μέσω ενός μηχανισμού εξαρτώμενου από τον άξονα ασβεστίου/ καλπαΐνης (Martin et al., 2004; Tesse et al., 2006).

Ο καθοριστικός ρόλος των MVs στο ενδοθήλιο μέσω επαγωγής του οξειδωτικού στρες και μείωσης της βιοδιαθεσιμότητας του NO έχει αναδειχθεί σε πειραματικές μελέτες απομόνωσης MVs από τον ορό ασθενών με οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου ή τον ορό γυναικών με προεκλαμψία και χορήγησής τους ακολούθως σε μεμονωμένες αρτηρίες. Επιπλέον σε διάφορες κλινικές μελέτες αναδείχτηκε αρνητική συσχέτιση των επιπέδων των μικροσωματιδίων με την ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή (FMD), όπως σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου II και ασθενείς με τελικού σταδίου χρόνια νεφρική ανεπάρκεια υπό αιμοκάθαρση. Παρόμοια αποτελέσματα αναφέρονται σε ασθενείς με μεταβολικό σύνδρομο, σύνδρομο αποφρακτικής άπνοιας στον ύπνο και παθητικούς καπνιστές.

Τα κυκλοφορούντα MVs αιμοπεταλιακής, λευκοκυτταρικής και ενδοθηλιακής προέλευσης εμπλέκονται στην ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και τις αθηροσκληρωτικές διαδικασίες μέσω της πυροδότησης φλεγμονωδών διεργασιών που διαμεσολαβούνται από τις προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες, την έκφραση προσκολλητικών μορίων, την



παραγωγή χημειοκινών και άλλων χημειοτακτικών παραγόντων αλλά και την προαγωγή του μεταβολισμού του αραχιδονικού οξέως (Amabile et al., 2010).

Τα αιμοπεταλιακά MVs αποτελούν την κύρια πηγή MVs στο πλάσμα τόσο σε φυσιολογικές συνθήκες όσο και σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις σχετιζόμενες με τα καρδιαγγειακά νοσήματα. Είναι γνωστό ότι τα MVs αιμοπεταλιακής προέλευσης αντιπροσωπεύουν μία εντυπωσιακά πλούσια δεξαμενή μεμβρανικών υποδοχέων, microRNAs, μεταγραφικών παραγόντων, ενζύμων, κυτταροκινών, αυξητικών παραγόντων, φωσφατιδυλοσερίνης και προπηκτικών παραγόντων. Επομένως, σε συνθήκες κυτταρικού στρες και αιμοπεταλιακής ενεργοποίησης, όπως συμβαίνει υπό την επίδραση υψηλής διατημητικής τάσης που χαρακτηρίζει τα νοσήματα του καρδιαγγειακού, απελευθερώνεται στην κυκλοφορία μία καταιγίδα αιμοπεταλιακών μικροσωματιδίων. Τα MVs αυτά ενσωματώνονται ικανοποιητικά από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα κυκλοφορούντα αιμοπετάλια και τα μονοκύτταρα του αίματος και με τον τρόπο αυτό ασκούν τις προθρομβωτικές και προφλεγμονώδεις δράσεις τους (Camaioni et al., 2013).

Η επίδραση των αιμοπεταλιακών MVs στα ενδοθηλιακά κύτταρα επάγει την απελευθέρωση των προφλεγμονωδών κυτταροκινών IL-6, TNF- $\alpha$  και IL-8 καθώς και την έκφραση των προσκολλητικών μορίων ICAM-1, VCAM-1 και E-σελεκτίνη. Η αυξημένη έκφραση προφλεγμονωδών κυτταροκινών από το ενδοθήλιο αποτελεί μία διαδικασία εξαρτώμενη από τη σηματοδοτική οδό του μεταγραφικού παράγοντα NF- $\kappa$ B ή το μονοπάτι των κινασών ERK1/2 και καθαυτή σχετίζεται με την υπερρύθμιση των γονιδίων που ελέγχουν την έκφραση των προσκολλητικών μορίων. Τελικά, με την διαμεσολάβηση των αιμοπεταλιακών MVs διευκολύνεται η στρατολόγηση φλεγμονωδών κυττάρων στο ενδοθήλιο και οι διακυτταρικές αλληλεπιδράσεις ενδοθηλιακών κυττάρων και μονοκυττάρων (Camaioni et al., 2013).

Ένας εναλλακτικός μηχανισμός ενεργοποίησης των ενδοθηλιακών κυττάρων από τα αιμοπεταλιακά MVs αφορά την βλαπτική επίδραση της κυτοκίνης IL-1 $\beta$ , η οποία συντίθεται εντός των αιμοπεταλίων ως πρόδρομο μόριο IL-1 $\beta$  και ακολούθως μετατρέπεται στην δραστική της μορφή εντός των μικροκυστιδίων. Τελικά, υπό την συνεργιστική επίδραση των κυτταροκινών επιτείνονται οι διακυτταρικές αλληλεπιδράσεις του ενδοθηλίου με τα κυκλοφορούντα μονοκύτταρα.

Επιπρόσθετα, αναφέρεται ότι τα αιμοπεταλιακά MVs περικλείουν σημαντικές ποσότητες της προφλεγμονώδους χημειοκίνης RANTES (Regulated on Activation Normal T cells Expressed and Secreted), την οποία διανέμουν στα ενδοθηλιακά κύτταρα κατά την κύλιση τους πάνω στον ενδοθηλιακό φραγμό. Η διαδικασία αυτή απαιτεί την παρουσία ενός μηχανισμού πρόσδεσης εξαρτώμενου από την γλυκοπρωτεΐνης GPIIb-IIIa. Η επίδραση της χημειοκίνης RANTES στο ήδη δυσλειτουργικό ενδοθήλιο διευκολύνει λόγω των ισχυρών χημειοτακτικών ιδιοτήτων της, την προσκόλληση και άλλων κυκλοφορούντων μονοκυττάρων στο ενδοθήλιο όπως και την μετανάστευσή τους σε υποκείμενες στιβάδες (Schober et al., 2002). Οι Mause και συν., ανέδειξαν τον ρόλο της διανεμόμενης από τα αιμοπεταλιακά MVs πρωτεΐνης RANTES στο ενδοθήλιο σε ένα πειραματικό μοντέλο αθηροσκλήρωσης και θεώρησαν

το μηχανισμό αυτό υπεύθυνο για την εξέλιξη των αθηροσκληρωτικών πλακών (Mause et al., 2005).

Σημαντικό ρόλο στην προσέλκυση και προσκόλληση των λευκοκυττάρων στο ενδοθήλιο διαδραματίζει και η P-σελεκτίνη, που εκφράζεται στην επιφάνεια των αιμοπεταλιακών μικροκυστιδίων. Η παρουσία P-σελεκτίνης στα προσκολλημένα στο ενδοθήλιο αιμοπεταλιακών MVs οδηγεί στην δημιουργία γεφυρών μεταξύ αυτών και των κυκλοφορούντων μονοκυττάρων, τα οποία στρατολογούνται στην επιφάνεια του ενδοθηλίου και ενεργοποιούνται μεταναστεύουν στον υπενδοθηλιακό χώρο ή διηθούν την παρακείμενη αθηρωματική πλάκα. Ικανή και αναγκαία συνθήκη στρατολόγησης των μονοκυττάρων στο ενδοθήλιο είναι η παρουσία στην επιφάνειά τους του υποδοχέα της P-σελεκτίνης, PSGL-1 (Vandendries et al., 2004). Εναλλακτικά, η αλληλεπίδραση των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων που εκφράζουν P-σελεκτίνη με MVs μονοκυτταρικής προέλευσης που φέρουν στην επιφάνειά τους τον υποδοχέα PSGL-1 αλλά και ιστικό παράγοντα, φαίνεται ότι εξηγεί ικανοποιητικά τη συσσώρευση σημαντικών ποσοτήτων ιστικού παράγοντα στην αρχική θέση σχηματισμού του αιμοπεταλιακού θρόμβου επί της εξελκωμένης αθηρωματικής πλάκας (Falati et al., 2003).

Παράλληλα, τα αιμοπεταλιακά MVs διανέμουν στο ενεργοποιημένο ενδοθήλιο βιοενεργά λιπίδια, τα οποία εμπεριέχονται στο εσωτερικό τους σε σημαντικές ποσότητες, όπως συμβαίνει με το αραχιδονικό οξύ. Εν συνεχεία, εντός του ενδοθηλιακού κυττάρου λαμβάνει χώρα ο μεταβολισμός του αραχιδονικού οξέος από την κυκλοοξυγενάση-2 σε θρομβοξάνιο  $A_2$ , το οποίο ευνοεί την ενεργοποίηση παρακείμενων αιμοπεταλίων και τις διαδικασίες κυστιδιοποίησης τους, που συντηρούν το φαύλο κύκλο ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας και εξέλιξης των αθηροσκληρωτικών βλαβών. Η διανομή αραχιδονικού οξέος μέσω των αιμοπεταλιακών μικροσωματιδίων μπορεί εναλλακτικά να πραγματοποιηθεί μεταξύ ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων και αιμοπεταλίων σε ηρεμία, διεργασία η οποία αυξάνει την προπηκτική δραστηριότητα των αιμοπεταλίων και την προσκολλητική τους ικανότητα στην εξελκωμένη αθηρωματική πλάκα (Barry et al., 1997).

Η προθρομβωτική δράση των αιμοπεταλιακών MVs συμπληρώνει τον πολύπλευρο παθοφυσιολογικό τους ρόλο στην αθηροθρόμβωση και σχετίζεται πρωτίστως με την παρουσία φωσφατιδυλοσερίνης στην επιφάνειά τους. Φυσιολογικά, η παρουσία στο πλάσμα υγιών ανθρώπων μικροσωματιδίων που εκφράζουν φωσφατιδυλοσερίνη, εξυπηρετεί τη διαρκή αλλά χαμηλού βαθμού ικανότητα γένεσης θρομβίνης (Berckmans et al., 2001). Όμως, στα καρδιαγγειακά νοσήματα, όπου τα επίπεδα των αιμοπεταλιακών MVs αυξάνονται σημαντικά και με βάση το δεδομένο ότι τα MVs που εκφράζουν φωσφατιδυλοσερίνη εμφανίζουν 50-100 φορές υψηλότερη ειδική προπηκτική δραστηριότητα σε σχέση με τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια, η ικανότητα γένεσης θρομβίνης μεγιστοποιείται .

Τελικά, η παρουσία ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων και αιμοπεταλιακών MVs ευνοεί τη συναρμολόγηση της εξωγενούς τενάσης και του συμπλέγματος της προθρομβινάσης, διαδικασίες που καθοδηγούν τη γένεση θρομβίνης και τις διεργασίες

αθηροθρόμβωσης. Παράλληλα, τα αιμοπεταλιακά MVs είναι ικανά να προσλαμβάνουν μόρια αδρανούς εξωγενούς ιστικού παράγοντα, τα οποία αποκρυπτογραφούνται και εκφράζονται πλέον ως δραστικά και βιοενεργά μόρια. Ακολούθως, οι μεμβράνες των MVs φέρουσες ιστικό παράγοντα συγχωνεύονται με παρακείμενες μεμβράνες ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων, έτσι ώστε ο ιστικός παράγοντας και οι υπόλοιποι παράγοντες πήξης να συν-εντοπίζονται στην ίδια επιφάνεια. Οι παραπάνω διεργασίες αντιπροσωπεύουν έναν εξαιρετικά αποτελεσματικό μηχανισμό έναρξης και διάδοσης της ικανότητας σχηματισμού θρόμβου στα καρδιαγγειακά νοσήματα (Diamant et al., 2004).

Η παρουσία MVs ενδοθηλιακής προέλευσης αντιπροσωπεύει επίσης έναν αξιόπιστο βιοδείκτη ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας αφού η βιογένεσή τους αποτελεί φυσικό επακόλουθο της δράσης του οξειδωτικού στρες και των προφλεγμονωδών κυτταροκινών στο ενδοθήλιο. Αλλά και αντιστρόφως, τα ενδοθηλιακά MVs *per se* συμμετέχουν καθοριστικά στη ρύθμιση των φλεγμονωδών διεργασιών. Για παράδειγμα, τα ενδοθηλιακά MVs πυροδοτούν τη φλεγμονώδη απόκριση του ενδοθηλίου μέσω επαγωγής της έκφρασης του προσκολλητικού μορίου ICAM-1 στα παρακείμενα ενδοθηλιακά κύτταρα. Ταυτόχρονα, η έκφραση δραστικού ιστικού παράγοντα στα ενδοθηλιακά MVs υποδηλώνει την ενεργοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων από βλαπτικά ερεθίσματα, όπως ο TNF- $\alpha$  και η οξειδωμένη LDL αλλά και μία ισχυρή εναλλακτική πλατφόρμα γένεσης θρομβίνης, μέσω ενεργοποίησης της εξωγενούς οδού της πήξης. Ο πρωταγωνιστικός ρόλος των ενδοθηλιακών MVs στις διεργασίες αθηροθρόμβωσης συμπληρώνεται από το γεγονός ότι στο εσωτερικό τους εμπεριέχουν τις μεταλλοπρωτεάσες MMP-2 και MMP-9 υπό την επίδραση των οποίων αποδομούνται δομικά συστατικά της αθηρωματικής πλάκας που τελικά εξελκώνεται, ενώ παράλληλα στην επιφάνεια τους εκφράζονται μεγάλοι μοριακού βάρους πολυμερή του vWF, τα οποία διαθέτουν πολυάριθμες θέσεις σύνδεσης για τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια στην περιοχή της βλάβης (Dignat-George and Boulanger, 2011; Leroyer et al., 2010).

Έτσι, αναφέρεται χαρακτηριστικά ότι τα επίπεδα των ενδοθηλιακών μικροσωματιδίων είναι πολύ υψηλότερα σε ασθενείς με οξύ στεφανιαίο επεισόδιο σε σχέση με τα επίπεδά τους σε σταθεροποιημένους ασθενείς με στηθάγχη αλλά και σε ασθενείς που παρουσιάζουν αγγειογραφικά προχωρημένες βλάβες της στεφανιαίας κυκλοφορίας σε σχέση με όσους εμφανίζουν περιορισμένες και ήπιες βλάβες. Σε διαβητικούς ασθενείς επίσης, τα αυξημένα επίπεδα ενδοθηλιακών MV αναδείχθηκαν σε ισχυρό και ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα στεφανιαίας νόσου ή συνέβαλαν στην έγκαιρη αναγνώριση σιωπηλής στεφανιαίας νόσου, η οποία επιβεβαιώθηκε με αγγειογραφικό έλεγχο.

Ο κομβικός ρόλος των λευκοκυτταρικών και ειδικότερα των μονοκυτταρικών MVs στην ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και τα σχετιζόμενα με την αθηροσκλήρωση καρδιαγγειακά νοσήματα αποδίδεται στο γεγονός ότι αποτελούν το συνδετικό κρίκο μεταξύ των διεργασιών φλεγμονής και θρόμβωσης.

Πιο συγκεκριμένα, τα λευκοκυτταρικά MVs εκφράζουν μεταξύ άλλων προσκολλητικά μόρια ( ICAM-1, PSGL-1, CD11b), ιστικό παράγοντα, τον υποδοχέα 3 του συμπληρώματος και IL-1β. Η παρουσία εντός των λευκοκυτταρικών MVs του ενζύμου κασπάση-1, το οποίο αποτελεί τμήμα του φλεγμονοσώματος, αποσκοπεί στην πρωτεολυτική διάσπαση της ανενεργούς πρόδρομης μορφής της IL-1β στην δραστική της μορφή στο εσωτερικό των MVs (Wang et al., 2011).

Παράλληλα, η παρουσία του φλεγμονοσώματος φαίνεται ότι ασκεί διαμεσολαβητικό ρόλο στη ρύθμιση του αποπτωτικού θανάτου των παρακείμενων ενδοθηλιακών κυττάρων. Επομένως, τα μονοπυρηνικά MVs ασκούν καθοριστικό ρόλο στην απώλεια της ακεραιότητας του ενδοθηλιακού φραγμού, επάγοντας τον αποπτωτικό θάνατο των ενδοθηλιακών κυττάρων (Sarkar et al., 2009). Η απόπτωση όμως των ενδοθηλιακών κυττάρων συνεπάγεται την απώλεια θρομβομοντουλίνης και της οδού του αναστολέα του ιστικού παράγοντα (TFPI), παραγόντων που καθορίζουν τις αντιθρομβωτικές ιδιότητες του ενδοθηλίου. Ως εκ τούτου, ο αποπτωτικός θάνατος των ενδοθηλιακών κυττάρων που αποτελεί ένα καθοριστικό γεγονός στην ανάπτυξη και εξέλιξη των αθηρωματικών βλαβών, εξηγεί την κυριαρχία στο εσωτερικό της αθηρωματικής πλάκας MVs με έντονη προπηκτική δραστηριότητα προερχόμενα από ενεργοποιημένα λευκοκύτταρα.

Συμπερασματικά, θεωρείται ότι η παρουσία MVs λευκοκυτταρικής και κυρίως μονοπυρηνικής προέλευσης, επάγει τις φλεγμονώδεις διεργασίες στο αγγειακό τοίχωμα με τη διαμεσολάβηση του μεταγραφικού παράγοντα NF-κB, την παραγωγή κυκλοξυγενάσης-2 και τη μείωση της βιοδιαθεσιμότητας του NO ενώ παράλληλα διευκολύνονται οι διακυτταρικές αλληλεπιδράσεις των ενδοθηλιακών κυττάρων με τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια και τα στρατολογημένα μονοκύτταρα (Angelillo-Scherer, 2012). Βέβαια, το τελικό αποτέλεσμα της συνεργιστικής δράσης των προπηκτικών MVs και των εκλυόμενων προφλεγμονωδών κυτταροκινών είναι η θρομβοφλεγμονή, η οποία σχετίζεται αφενός με την ταχεία ανάπτυξη των αθηρωματικών βλαβών αφετέρου με την αστάθεια της αθηρωματικής πλάκας (Rautou et al., 2011).

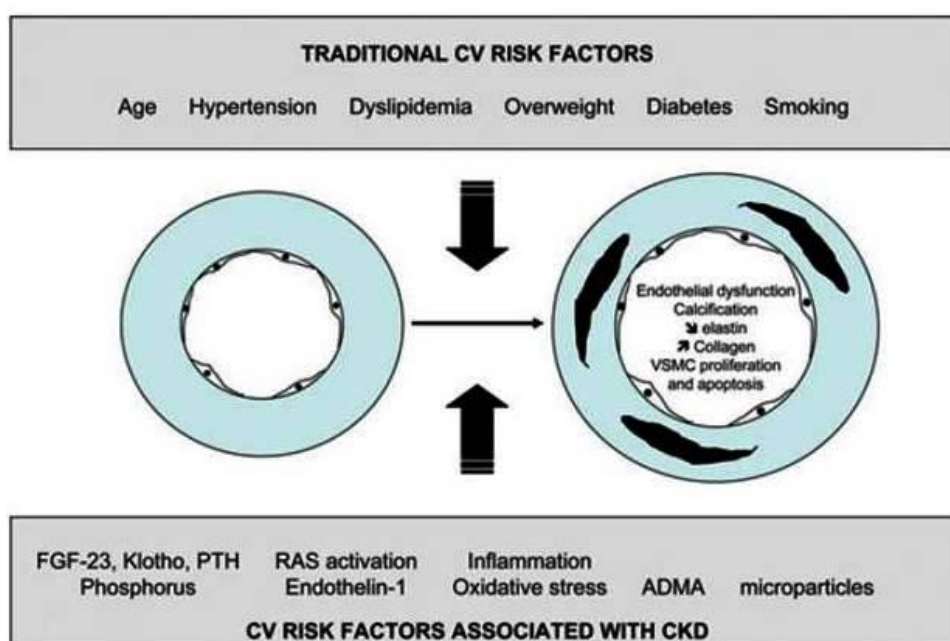
Όσον αφορά τα MVs ερυθροκυτταρικής προέλευσης, ο ρόλος τους στην ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και τα καρδιαγγειακά νοσήματα έχει πρόσφατα διερευνηθεί σε ασθενείς με οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου και ασθενείς με δρεπανοκυτταρική αναιμία ή άλλες χρόνιες αιμολυτικές αναιμίες. Σε αυτές τις περιπτώσεις αναφέρεται χαρακτηριστικά η απελευθέρωση μιας καταγιγίδας MVs που παρουσιάζουν: α. έντονη προπηκτική δραστηριότητα λόγω υπερέκφρασης φωσφατιδυλοσερίνης, β. προφλεγμονώδεις και προ-οξειδωτικές ιδιότητες καθώς και γ. ικανότητα ενεργοποίησης του καταρράκτη του συμπληρώματος. Ειδικότερα, τα ερυθροκυτταρικά MVs είναι πλούσια σε αίμη, η οποία επάγει την παραγωγή οξειδωτικών ριζών από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και επομένως μειώνει τη βιοδιαθεσιμότητα του NO ενώ ταυτόχρονα ενσωματώνεται στις φωσφολιπιδικές μεμβράνες και διαμέσου της τοπικής απελευθέρωσης ιόντων σιδήρου οξειδώνει παρακείμενες δομές πρωτεϊνών και λιπιδίων. Δηλαδή, τα ερυθροκυτταρικά MVs μέσω πλειοτροπικών δράσεων στο ενδοθήλιο συμμετέχουν στην εξέλιξη των

αθηροσκληρυντικών αλλοιώσεων συνεργιστικά με τα υπόλοιπα MVs διαφορετικής κυτταρικής προέλευσης (Ridger et al., 2017).

Λαμβάνοντας υπόψη τα ανωτέρω, καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία αποτελεί ένα πρώιμο και καθοριστικό γεγονός στην παθογένεια των σχετιζόμενων με την αθηροσκλήρωση καρδιαγγειακών νοσημάτων, αδιάρρηκτα συνδεδεμένο με την παρουσία διαφορετικής κυτταρικής προέλευσης εξωκυτταρίων μικροκυστιδίων. Επομένως, η μελέτη τους αποτελεί ένα αποτύπωμα της κυκλοφορίας αφού το ενδοθήλιο εκφράζει το τελικό κοινό μονοπάτι στο οποίο συγκλίνουν παραδοσιακοί και μη παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου, όπως η ηλικία, το κάπνισμα, η αρτηριακή υπέρταση, ο διαβήτης, η δυσλιπιδαιμία και οι ουραιμικές τοξίνες (Heiss et al., 2008).

## 5. Ο ΑΝΑΔΥΟΜΕΝΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΕΞΩΚΥΤΤΑΡΙΩΝ ΜΙΚΡΟΚΥΣΤΙΔΙΩΝ ΣΤΗ ΧΡΟΝΙΑ ΝΕΦΡΙΚΗ ΝΟΣΟ – ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΤΗΣ ΔΙΕΘΝΟΥΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ

Ο πολύπλευρος ρόλος των MVs στις διαδικασίες αθηροθρόμβωσης και η συσχέτισή τους με τα καρδιαγγειακά νοσήματα αποτέλεσε από νωρίς μία ισχυρή πρόκληση στο πεδίο της ερευνητικής και κλινικής νεφρολογίας. Με δεδομένο ότι τα καρδιαγγειακά νοσήματα αποτελούν την κύρια αιτία νοσηρότητας και θνητότητας σε ασθενείς με ΧΝΝ, η στροφή της επιστημονικής έρευνας στη μελέτη των MVs αποσκοπεί ουσιαστικά στην ανεύρεση του χαμένου κρίκου σε μια αλληλουχία γεγονότων, ανεξάρτητων πολλές φορές από τους κλασικούς παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου, η οποία σχετίζεται με την ουραιμική αθηροθρόμβωση (Εικόνα 22).



Εικόνα 22. Παραδοσιακοί και μη παραδοσιακοί παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου στη ΧΝΝ. Ο αναδυόμενος ρόλος των MVs στον επιταχυνόμενο χαρακτήρα της ουραιμικής αθηροθρόμβωσης (ανατύπωση από Briet & Bruns, *Clinical Science* 2012)

. Τα υπάρχοντα δεδομένα σχετικά με το ρόλο των MVs στη ΧΝΝ αναφέρονται σε κλινικές μελέτες με περιορισμένο αριθμό ασθενών και in vitro μελέτες, αλλά παρόλα αυτά έχουν αναδείξει σημαντικές συσχετίσεις με την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, την αρτηριακή σκληρία, τις αγγειακές επασβεστώσεις, την αναιμία, τη θρόμβωση της αγγειακής προσπέλασης και τέλος την αυξημένη καρδιαγγειακή νοσηρότητα και θνητότητα. Ως εκ τούτου, τα MVs έχουν αναδειχθεί σε έναν ισχυρό και ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα καρδιαγγειακού κινδύνου στην ουραιμία αλλά και έναν πιθανό ελπιδοφόρο θεραπευτικό στόχο. Με αφορμή τα όσα αναφέρθηκαν διενεργήθηκε η ακόλουθη συστηματική ανασκόπηση.

## 5.1. Μεθοδολογία Έρευνας

Σκοπό της παρούσας συστηματικής ανασκόπησης αποτέλεσε η διερεύνηση της συσχέτισης των εξωκυτταρίων MPs (microparticles) με τον καρδιαγγειακό κίνδυνο σε ασθενείς με ΧΝΝ τελικού σταδίου. Για το λόγο αυτό πραγματοποιήθηκε έλεγχος της διεθνούς βιβλιογραφίας στη μηχανή αναζήτησης Pubmed.

Ο έλεγχος αφορούσε στην αναζήτηση των κλινικών μελετών που πραγματοποιήθηκαν σε ασθενείς με ΧΝΝ προτελικού ή τελικού σταδίου υπό εξωνεφρική κάθαρση (αιμοκάθαρση ή αιμοδιαδίθηση), ανεξαρτήτως ηλικίας, και οι οποίες διερευνούσαν τα επίπεδα εξωκυτταρίων MPs, οποιασδήποτε κυτταρικής προέλευσης, καθώς και τη συσχέτισή τους με ποικίλους παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου. Μελέτες σε ασθενείς υπό περιτοναϊκή κάθαρση δεν εξυπηρετούσαν της ανάγκες της εν λόγω ανασκόπησης.

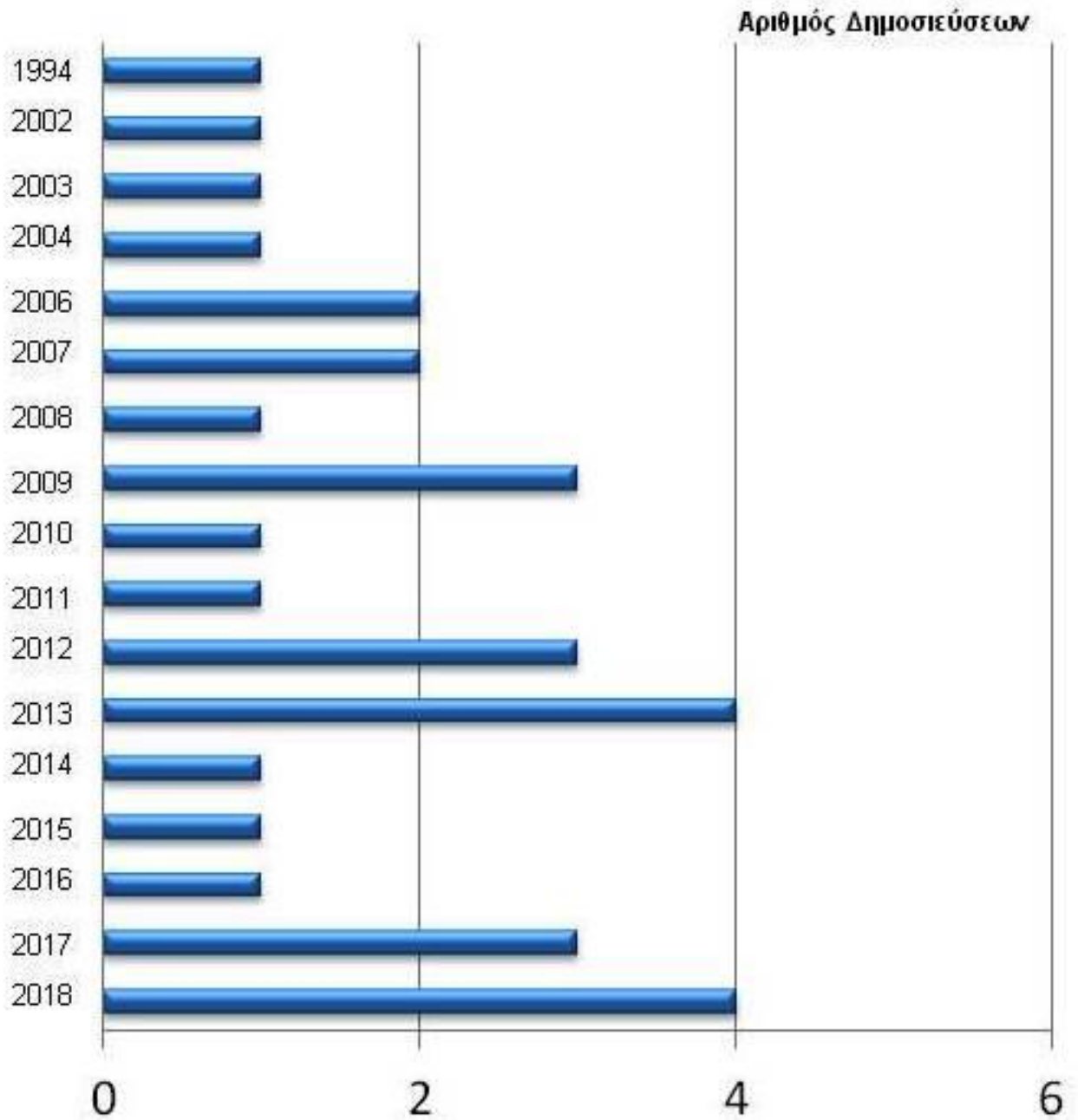
Οι λέξεις-κλειδιά που χρησιμοποιήθηκαν ήταν “microparticles” (=μικροσωματίδια) ή “microvesicles” (=μικροκυστίδια) και “chronic kidney disease”(=ΧΝΝ) ή “end stage renal disease” (=τελικού σταδίου νεφρική νόσος) ή “dialysis” (=κάθαρση) ή “hemodialysis” (=αιμοκάθαρση) ή “peritoneal dialysis” (=περιτοναϊκή κάθαρση) ή “hemodiafiltration” (=αιμοδιαδίθηση).

Από το σύνολο των εξαγομένων άρθρων εξαιρέθηκαν εκείνα που παρουσιαζόταν ως διπλά, όσα περιείχαν *in vitro* μελέτες ή πειραματικά μοντέλα και όσα ήταν γραμμένα σε γλώσσα άλλη πλην της αγγλικής. Τα άρθρα τα οποία προέκυψαν από τον αρχικό έλεγχο ανασκοπήθηκαν περαιτέρω ως προς τις βιβλιογραφίες τους.

Από τις εξαγόμενες μελέτες καταγράφηκαν το όνομά του πρώτου συγγραφέα και το έτος δημοσίευσης της μελέτης, το είδος της μελέτης, ο πληθυσμός στην οποία πραγματοποιήθηκε, τα είδη MPs που μελετήθηκαν, η μέθοδος ανίχνευσής τους σε βιολογικά υγρά, οι συσχετίσεις που διερευνήθηκαν, τα αποτελέσματα της μελέτης και τέλος τα γενικότερα συμπεράσματα.

Από την πρωταρχική αναζήτηση προέκυψαν 139 συνολικά άρθρα ενώ από την ανασκόπηση τους επιπρόσθετα άλλα 49. Ύστερα από απομάκρυνση των διπλοεγγραφών ο τελικός αριθμός των άρθρων που προέκυψε ήταν 139. Από αυτά 93 εξαιρέθηκαν λόγω μη συμβατού με την ανασκόπηση περιεχομένου. Από τα εναπομείναντα 46 άρθρα, 15 εξαιρέθηκαν για ποικίλους λόγους: 6 γιατί αφορούσαν ασθενείς με ΧΝΝ σταδίου I έως III, 3 διότι αφορούσαν μελέτες του αριθμού των MPs στα ούρα, 1 διότι αφορούσε μελέτη του αριθμού των MPs στη νεφρική αρτηρία και τα ούρα, 1 γιατί αφορούσε αποκλειστικά ασθενείς υπό περιτοναϊκή κάθαρση, 1 μελέτη διότι αφορούσε ασθενείς με νεφρωσικό σύνδρομο, 1 μελέτη διότι αφορούσε ασθενείς σε σήψη, 1 μελέτη διότι αφορούσε ασθενείς με καρδιονεφρικό σύνδρομο και 1 ακόμη διότι δεν βρέθηκε -αν και αναζητήθηκε- το πλήρες κείμενο της μελέτης. Ο τελικός

αριθμός των υπό ανασκόπηση μελετών ανέρχεται σε 31 μελέτες (Διάγραμμα Ροής). Ο αριθμός των μελετών που προέκυψαν ανά έτος φαίνεται στο ραβδόγραμμα που ακολουθεί.







# PRISMA 2009 Διάγραμμα Ροής

Αναγνώριση

Μελέτες που προέκυψαν κατά την αναζήτηση στη βάση δεδομένων (n =139)

Συμπληρωματικές μελέτες που ανευρέθησαν από άλλες πηγές (n =49)

Έλεγχος

Καταγραφές που προέκυψαν μετά την αφαίρεση των διπλών μελετών (n =139)

Μελέτες πρωταρχικού ελέγχου (n = 139)

Μελέτες που εξαιρέθηκαν λόγω μη συμβατού περιεχομένου (n =93)

Καταλληλότητα

Μελέτες των οποίων το πλήρες κείμενο ελέγχθηκε για την καταλληλότητά του (n =46 )

Μελέτες που εξαιρέθηκαν για διάφορους λόγους (n =15)

- Μελέτες που αφορούσαν ασθενείς με ΧΝΝ σταδίου I-III, n=6
- Μελέτες που αφορούσαν σε επίπεδα μικροκυστιδίων στα ούρα, n=3
- Μελέτες που αφορούσαν σε επίπεδα μικροκυστιδίων στη νεφρική αρτηρία και τα ούρα, n=1
- Μελέτες αποκλειστικά σε ασθενείς υπό περιτοναϊκή κάθαρση, n=1
- Μελέτες σε ασθενείς με νεφρωσικό σύνδρομο, n=1
- Μελέτες σε ασθενείς με σήψη, n=1

Ανασκόπηση

Μελέτες που ανασκοπήθηκαν (n =31)

## 5.2. Συστηματική Ανασκόπηση

Ο συνολικός αριθμός των 31 μελετών που προέκυψε αφορούσε είτε *in vivo* μελέτες (21 μελέτες) είτε συνδυασμό *in vivo* και *in vitro* μελετών (10 μελέτες). Βάσει των κριτηρίων εισόδου μελετών στη συστηματική ανασκόπηση, 21 μελέτες αφορούσαν αποκλειστικά ασθενείς με ΧΝΝ υπό αιμοκάθαρση και 10 μελέτες περιελάμβαναν στην ομάδα πασχόντων, ασθενείς με ΧΝΝ τελικού σταδίου υπό αιμοκάθαρση ή/ και περιτοναϊκή κάθαρση ή/ και χωρίς υποκατάσταση της νεφρικής λειτουργίας ή/ και ασθενείς με ΧΝΝ προτελικού σταδίου ή ΧΝΝ άλλων σταδίων ( ΧΝΝ σταδίων II-III). Από την ομάδα μελετών με ασθενείς που υποβάλλονταν σε πρόγραμμα χρόνιας περιοδικής αιμοκάθαρσης, μία μελέτη αναφερόταν σε ασθενείς υπό αιμοκάθαρση που υποβλήθηκαν σε νεφρική μεταμόσχευση ενώ από την ομάδα μελετών με ετερογενή πληθυσμό ασθενών, μία ομάδα περιελάμβανε και ασθενείς με συστηματική αγγειίτιδα. Αναφορικά, με το μοντέλο αιμοκάθαρσης που εφαρμοζόταν, η πλειονότητα των ασθενών υποβάλλονταν σε κλασική αιμοκάθαρση με φίλτρο χαμηλής ή υψηλής διαπερατότητας ενώ σε άλλες μελέτες εφαρμόστηκαν οι νεότερες τεχνικές αιμοδιαδιήθησης με μεμβράνες υψηλής διαπερατότητας και γραμμική παραγωγή διαλύματος. Οι παραλλαγές των μεθόδων αιμοκάθαρσης που ακολουθήθηκαν στις διάφορες μελέτες περιγράφονται συνοπτικά στο παράρτημα 1.

Ο περιορισμένος αριθμός ασθενών που περιελήφθησαν στις μελέτες καθώς και η μεγάλη ετερογένεια του υπό μελέτη πληθυσμού αποτέλεσαν δύο βασικούς περιορισμούς στην εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων από την παρούσα συστηματική ανασκόπηση. Όσον αφορά τον αριθμό των ασθενών που μελετήθηκαν, παρατηρήθηκαν διακυμάνσεις από 5 έως 213 ασθενείς στις διάφορες μελέτες. Επιπρόσθετα, καταγράφηκε μεγάλη ετερογένεια όσον αφορά το σχεδιασμό των μελετών. Έτσι, επί των 31 μελετών, αναφέρθηκαν 16 μελέτες πασχόντων-μαρτύρων, 6 συγχρονικές και 4 προοπτικές μελέτες, 4 μελέτες διασταυρούμενης μετάβασης και 1 μελέτη αμφίδρομης διασταυρούμενης μετάβασης. Αξίζει να τονισθεί ότι στις μελέτες διασταυρούμενης μετάβασης παρατηρήθηκε ιδιαίτερα χαμηλός αριθμός ασθενών που στρατολογήθηκαν (5 έως 12 ασθενείς) ενώ οι μεγαλύτεροι αριθμοί ασθενών περιελήφθησαν σε μελέτες πασχόντων-μαρτύρων και προοπτικές μελέτες (100-213 ασθενείς).

Αναφορικά με το είδος και τις τεχνικές/πρωτόκολλα αποθήκευσης, συντήρησης, απομόνωσης, φαινοτύπησης και ποσοτικοποίησης των MPs που μελετήθηκαν είναι λογικό να παρουσιάζεται μεγάλη ετερογένεια μεταξύ των 31 κλινικών μελετών που ανασκοπήθηκαν, από το 1994 έως και το 2018. Πέραν των μεθοδολογικών περιορισμών που αφορούν τον ακριβή προσδιορισμό των μικροκυστιδίων, όσον αφορά στην προέλευση, τον αριθμό και τη σύστασή τους, σε 24 από τις 31 μελέτες, η κυτταρομετρία ροής αποτέλεσε τη μέθοδο εκλογής ενώ σε 5 μελέτες ακολουθήθηκε η ανοσοπροσροφητική μέθοδος ανάλυσης στερεάς φάσης (ELISA). Σε μία μελέτη εφαρμόστηκε η μέθοδος Nanoparticle Tracking Analysis-NTA σε συνδυασμό με την τεχνική Western-Blotting και σε μία ακόμη η λειτουργική δοκιμασία προσδιορισμού

της προπηκτικής δραστηριότητας των μικροσωματιδίων σε πλάσμα φτωχό σε αιμοπετάλια (Zymurphen).

Επομένως, η κυτταρομετρία ροής αποτέλεσε την πιο κοινή τεχνική προσδιορισμού του αριθμού, του μεγέθους και των ιδιοτήτων των MPs σε ασθενείς με ΧΝΝ. Βέβαια, παρά την καθιερωμένη αξία της κυτταρομετρίας ροής, δεν έχει ακόμη θεσπισθεί μια διεθνής και κοινά αποδεκτή συμφωνία σχετικά με τη μεθοδολογία που πρέπει να ακολουθείται τόσο στην προαναλυτική όσο και στην αναλυτική φάση ελέγχου των δειγμάτων. Τα κύρια κριτήρια που χρησιμοποιήθηκαν στην πλειονότητα των μελετών για την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση των MPs ήταν μέγεθος σωματιδίων μικρότερο από 1000 nm και έκφραση στην επιφάνειά τους φωσφατιδυλοσερίνης, η οποία ανιχνεύθηκε μέσω της δέσμευσής της στη συνδεδεμένη με φθοριοχρώματα Annexin-V. Όσον αφορά άλλες μεθόδους ποιοτικής ανάλυσης που χρησιμοποιήθηκαν από διαφορετικές ομάδες ερευνητών, αναφέρεται χαρακτηριστικά η χρήση σημασμένων με φθορίζουσες χρωστικές μονοκλωνικών αντισωμάτων έναντι ειδικών αντιγονικών επιτόπων, οι οποίοι εκφράζονταν στην επιφάνεια MPs διαφορετικής κυτταρικής προέλευσης. Συνεπώς, η μεγάλη ετερογένεια των μελετών σχετικά με την μεθοδολογία που εφαρμόστηκε αφορούσε και τη χρήση από κάθε ερευνητική ομάδα διαφορετικών δεικτών ταυτοποίησης των MPs ίδιας κυτταρικής προέλευσης.

Μεμονωμένη μελέτη MVs αιμοπεταλιακής ή ενδοθηλιακής προέλευσης αφορούσε 7 και 9 μελέτες αντιστοίχως, ενώ συνδυασμένη μελέτη αιμοπεταλιακών και ενδοθηλιακών MPs αναφέρθηκε σε 4 μελέτες. Στις υπόλοιπες 11 μελέτες προσδιορίστηκαν ποσοτικά και ποιοτικά χαρακτηριστικά διαφόρων συνδυασμών μικροσωματιδίων αιμοπεταλιακής, ενδοθηλιακής, μονοπυρηνικής, λευκοκυτταρικής και ερυθροκυτταρικής προέλευσης. Σε μία από τις 11 αυτές μελέτες προσδιορίστηκε ο συνολικός αριθμός MPs που εκφράζουν ιστικό παράγοντα ενώ σε 5 μελέτες συνολικά καταγράφηκαν επιπλέον ποσοτικά και ποιοτικά χαρακτηριστικά των ερυθροκυτταρικής προέλευσης μικροσωματιδίων.

Στην πλειονότητα των μελετών η συλλογή δειγμάτων αίματος από τους ουραιμικούς ασθενείς για τον προσδιορισμό των βασικών τιμών των μικροσωματιδίων πραγματοποιήθηκε 72 ώρες μετά την τελευταία συνεδρία αιμοκάθαρσης, δηλαδή στο χρόνο της μακράς διασυνεδριακής περιόδου. Οι ενδοσυνεδριακές δειγματοληψίες όπως και η μετασυνεδριακή λήψη αίματος αφορούσαν μελέτες σχεδιασμένες να αξιολογήσουν είτε μεταβολές των επιπέδων ή/και των ποιοτικών χαρακτηριστικών των μικροσωματιδίων σε σχέση με την ίδια τη διαδικασία αιμοκάθαρσης είτε διαφορετικά μοντέλα υποκατάστασης της νεφρικής λειτουργίας.

Αναφορικά με τα βασικά επίπεδα των MPs στο σύνολό τους ή/και σε επιμέρους υποπληθυσμούς τους διαπιστώθηκαν σημαντικές διαφοροποιήσεις σε σχέση με τα αντίστοιχα επίπεδα MVs στο πλάσμα υγιών. Πιο συγκεκριμένα, τα βασικά επίπεδα των MPs στο πλάσμα ασθενών υπό αιμοκάθαρση (προσυνεδριακά) καταγράφηκαν σημαντικά υψηλότερα σε σχέση με αυτά των υγιών μαρτύρων. Πιο συγκεκριμένα, οι Trappenburg και συν., μελέτησαν συνολικά 27 ουραιμικούς ασθενείς υπό θεραπεία υποκατάστασης ή με ΧΝΝ προτελικού σταδίου και αξιολόγησαν τα επίπεδα όλων των

MPs στο πλάσμα τόσο μεταξύ των υποομάδων των ασθενών όσο και με την ομάδα των υγιών μαρτύρων. Τα αποτελέσματα της μελέτης κατέδειξαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερα επίπεδα MPs όλων των κυτταρικών προελεύσεων στους ουραιμικούς ασθενείς σε σχέση με τους υγιείς, ενώ δεν αναφέρθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ασθενών που υποβάλλονταν σε αιμοκάθαρση ή περιτοναϊκή κάθαρση. Αξίζει να σημειωθεί επίσης ότι τα επίπεδα των MPs δεν μεταβάλλονταν σημαντικά μετά τη συνεδρία αιμοκάθαρσης σε αυτή τη μελέτη, σε αντίθεση με τα αποτελέσματα άλλων μελετών που θα παρουσιασθούν στη συνέχεια (Trappenburg et al., 2012).

Παρομοίως, οι Gao και συν., στη μελέτη πασχόντων-μαρτύρων που διεξήγαγαν αξιολόγησαν τα επίπεδα όλων των MPs στο πλάσμα 23 ασθενών υπό αιμοκάθαρση, 18 ασθενών υπό περιτοναϊκή κάθαρση και 25 ασθενών με ΧΝΝ προτελικού σταδίου. Ο αριθμός του συνολικού αριθμού MPs στους ουραιμικούς ασθενείς καταγράφηκε εξαιρετικά υψηλότερος σε σχέση με την ομάδα των υγιών και επιπρόσθετα περιγράφηκαν σημαντικές διαφοροποιήσεις μεταξύ των υποομάδων των ασθενών σε σχέση με τα επίπεδα υποπληθυσμών μικροσωματιδίων. Ειδικότερα, τα επίπεδα των λευκοκυτταρικών, ερυθροκυτταρικών και αιμοπεταλιακών MPs ήταν στατιστικώς σημαντικά υψηλότερα σε ασθενείς υπό αιμοκάθαρση σε σχέση με τους υπόλοιπους ουραιμικούς ασθενείς (Gao et al., 2015).

Σε παλαιότερη μελέτη, οι Faure και συν., στρατολόγησαν 45 ασθενείς με ΧΝΝ και 30 ασθενείς υπό αιμοκάθαρση και ανέδειξαν επίσης τη σημαντική αύξηση των MPs Annexin V + και των MPs ενδοθηλιακής και αιμοπεταλιακής προέλευσης στο πλάσμα όλων των ουραιμικών ασθενών σε σχέση με την ομάδα των υγιών. Όμως στη μελέτη αυτή δεν καταγράφηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές όσον αφορά τα επίπεδα των ενδοθηλιακών μικροσωματιδίων μεταξύ των ασθενών με προτελικού και τελικού σταδίου ΧΝΝ, αν και αναφέρθηκε σημαντική αύξηση των επιπέδων των MPs λευκοκυτταρικής προέλευσης στην ομάδα των ασθενών υπό αιμοκάθαρση σε σχέση με την ομάδα των υγιών αλλά και των υπολοίπων ουραιμικών ασθενών (Faure et al., 2006).

Όσον αφορά την επίδραση καθαυτής της διαδικασίας αιμοκάθαρσης στα επίπεδα των κυκλοφορούντων MPs, τα αποτελέσματα των διαφόρων μελετών παρουσιάζουν σημαντικές διαφοροποιήσεις και συχνά είναι αντικρουόμενα. Στη μελέτη διασταυρούμενης μετάβασης, που διεξήχθη από τον Martin και συν., σε 11 ασθενείς υπό αιμοκάθαρση, διαπιστώθηκε σημαντική αύξηση του συνολικού αριθμού των μικροσωματιδίων κατά την διάρκεια της συνεδρίας σε σχέση με τα προσυνεδριακά βασικά τους επίπεδα. Στην ίδια μελέτη διερευνήθηκε επίσης ο ρόλος της άσκησης κατά την συνεδρία αιμοκάθαρσης στα επίπεδα των MPs. Αν και δεν καταγράφηκε κάποια ουσιαστική μεταβολή στον αριθμό των MPs είναι άξιο σχολιασμού να αναφερθεί η ευεργετική επίδραση της άσκησης σε ποιοτικά χαρακτηριστικά τους, που αφορούν πρωτίστως τις προφλεγμονώδεις ιδιότητές τους παρά τον προθρομβωτικό τους ρόλο (Martin et al., 2018).

Παρομοίως, σε μία προηγούμενη μελέτη διασταυρούμενης μετάβασης που περιελάμβανε 5 ασθενείς υπό αιμοκάθαρση, αναφέρθηκε σημαντική αύξηση των MPs

αιμοπεταλιακής προέλευσης μετασυνεδριακά. Βέβαια, η παραπάνω μελέτη αποσκοπούσε στη συγκριτική αξιολόγηση δύο διαφορετικών τεχνικών αιμοδιαδιήθησης με έγχυση υγρού υποκατάστασης πριν και μετά το φίλτρο. Οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι ο βαθμός ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων αυξάνεται εξίσου στις δύο μεθόδους, αν και η τεχνική έγχυσης του υγρού υποκατάστασης προ φίλτρου είναι περισσότερο ευνοϊκή σχετικά με την ενεργοποίηση των πολυμορφοπυρήνων και των λεμφοκυττάρων (Sakurai et al., 2013).

Άλλες μελέτες συσχέτισης του καθοριστικού ρόλου της αιμοκάθαρσης με τις διαδικασίες κυστιδιοποίησης των έμμορφων στοιχείων του αίματος είναι αυτές που διεξήχθησαν από τις ερευνητικές ομάδες των Daniel και συν., και Inami και συν. Η ερευνητική ομάδα των Daniel και συν., ανέδειξε τη σημαντική αύξηση των επιπέδων των πολυμορφοπυρηνικών και αιμοπεταλιακών MPs κατά τη διάρκεια της συνεδρίας αιμοκάθαρσης αλλά και την παρουσία υβριδικών μορφών MPs στο τέλος της συνεδρίας, τα οποία συνεκφράζουν προσκολλητικά μόρια και των δύο παραπάνω τύπων κυττάρων. Η παρουσία αυτών των υβριδικών μορφών MPs θεωρήθηκε ακολούθως ο συνδετικός κρίκος των επαγόμενων από την αιμοκάθαρση διαδικασιών θρομβοφλεγμονής (Daniel et al., 2006).

Η μελέτη αυτή ουσιαστικά επιβεβαίωσε τα αποτελέσματα μιας προηγούμενης μελέτης που διεξήχθη από τους Inami και συν., κατά την οποία είχε αναφερθεί σημαντική αύξηση των επιπέδων των αιμοπεταλιακών MPs αλλά και της διαλυτής L-σελεκτίνης στο πλάσμα ασθενών υπό αιμοκάθαρση στη μετασυνεδριακή περίοδο. Επιπρόσθετα, είχε καταγραφεί ισχυρή θετική συσχέτιση των κυκλοφορούντων αιμοπεταλιακών MPs με τα επίπεδα της διαλυτής L-σελεκτίνης. Η παραπάνω συσχέτιση αποτέλεσε την απαρχή στο χώρο της ερευνητικής νεφρολογίας στη διερεύνηση της αλληλεπίδρασης των ενεργοποιημένων λευκοκυττάρων με το ενδοθήλιο διαμέσου των αιμοπεταλιακών MPs. Η ικανότητα όμως κύλισης των ενεργοποιημένων λευκοκυττάρων και μονοπυρήνων στο ενδοθήλιο αποτελεί όπως ήδη έχουμε περιγράψει ένα καθοριστικό γεγονός στην έναρξη των αθηροσκληρωτικών διαδικασιών (Inami et al., 2004). Εξάλλου, πριν τη δημοσίευση των παραπάνω μελετών, ήταν ήδη γνωστή η επαγόμενη από την αιμοκάθαρση αύξηση του βαθμού ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων και της ικανότητάς τους να απελευθερώνουν MPs στην κυκλοφορία. Επομένως, η πρώτη αναφορά σχετικά με την αυξημένη ικανότητα αλληλεπίδρασης αιμοπεταλίων και αιμοπεταλιακών MPs με τα λευκοκύτταρα, έγινε από την ερευνητική ομάδα των Gawaz και συν., η οποία όμως συσχέτισε την αυξημένη παρουσία συσσωματωμάτων αιμοπεταλίων και λευκοκυττάρων ενδοσυνεδριακά με την παροδική λευκοπενία της αιμοκάθαρσης (Gawaz and Bogner, 1994).

Αντίθετα, άλλες μελέτες δεν ανέδειξαν καμία ουσιαστική επίδραση της διαδικασίας αιμοκάθαρσης *per se* στα επίπεδα των κυκλοφορούντων μικροκυστιδίων. Η μελέτη πασχόντων-μαρτύρων που διεξήχθη από τους Ando και συν., σε μία ετερογενή ομάδα ασθενών με ΧΝΝ, κατέληξε στο συμπέρασμα ότι καθαυτή η διαδικασία αιμοκάθαρσης αλλά και η παρουσία αρτηριοφλεβικής αναστόμωσης δεν επηρεάζουν σημαντικά τα επίπεδα των αιμοπεταλιακών MPs. Επίσης, στην ίδια μελέτη δεν παρουσιάστηκαν ουσιαστικές διαφορές μεταξύ των διαφόρων υποομάδων ουραιμικών ασθενών όσον

αφορά τα επίπεδα των αιμοπεταλιακών MPs, αν και καταγράφηκαν πολύ υψηλότερα επίπεδα αυτών σε ασθενείς με ιστορικό θρομβώσεων και χορήγησης ανασυνδυασμένης ερυθροποιητίνης συγκριτικά με αυτούς με αρνητικό ιστορικό. Συνεπώς, τα αυξημένα επίπεδα αιμοπεταλιακών MPs θεωρήθηκε ότι εμπλέκονται καθοριστικά στην εκδήλωση ενός ισχυρού προθρομβωτικού φαινοτύπου στην ουραιμία και μπορεί να αποτελέσουν προγνωστικό βιοδείκτη θρόμβωσης (Ando et al., 2002).

Σε άλλες μελέτες συσχέτισης της διαδικασίας αιμοκάθαρσης με τα επίπεδα των MPs περιγράφηκαν εκ διαμέτρου αντίθετα αποτελέσματα με τα όσα έχουν έως τώρα αναφερθεί. Οι Georgatzakou και συν., διαπίστωσαν πρόσφατα αυξημένα επίπεδα κυκλοφορούντων MPs στο πλάσμα 32 ασθενών με τελικού σταδίου χρόνια νεφρική ανεπάρκεια υπό αιμοκάθαρση σε σχέση με την ομάδα υγιών μαρτύρων. Ακολούθως, οι ερευνητές παρατήρησαν ότι τα επίπεδα των MPs μειώνονται σημαντικά στη μετασυνεδριακή περίοδο, χωρίς βέβαια να ομαλοποιούνται πλήρως, με εξαίρεση τα ερυθροκυτταρικής προέλευσης MPs, τα επίπεδα των οποίων παραμένουν υψηλά. Η επίδραση αυτή στα επίπεδα των ερυθροκυτταρικών MPs ήταν περισσότερο ισχυρή στην ομάδα ασθενών που υποβαλλόταν σε αιμοδιαδιήθηση σε σχέση με την ομάδα των ασθενών υπό συμβατική αιμοκάθαρση. Συνεπώς, η διαδικασία αιμοκάθαρσης καθαυτή θεωρήθηκε ότι προάγει τις διαδικασίες κυστιδιοποίησης των ερυθρών αιμοσφαιρίων, τα οποία όπως έχει ήδη αναφερθεί συμμετέχουν ενεργά στις διαδικασίες της ουραιμικής αθηροθρόμβωσης (Georgatzakou et al., 2018). Η ίδια ομάδα ερευνητών σε προηγούμενη μελέτη συσχέτισε τις επαγόμενες από την αιμοκάθαρση μεταβολές των επιπέδων των κυκλοφορούντων ερυθροκυτταρικών MPs με την ανθεκτική στις συνήθεις δόσεις ερυθροποιητίνης αναιμία. Η σημαντική αυτή συσχέτιση στηρίχτηκε στην παρατήρηση ότι τα επίπεδα των Annexin V+ ερυθροκυτταρικών MPs μετασυνεδριακά ήταν πολύ υψηλότερα σε ασθενείς μη ανταποκρινόμενους σε συνήθεις δόσεις ερυθροποιητίνης σε σχέση με την ομάδα των ασθενών που ανταποκρίνονταν ικανοποιητικά στη θεραπεία (Georgatzakou et al., 2017).

Άλλες μελέτες, και με βάση το δεδομένο της σημαντικής αύξησης των επιπέδων των MPs σε ουραιμικούς ασθενείς, διεξήχθησαν προκειμένου να αποσαφηνίσουν την επίδραση διαφορετικών μοντέλων και τεχνικών αιμοκάθαρσης σε αυτές τις διαδικασίες. Οι Ramirez και συν., μελέτησαν την επίδραση της μετάβασης, από τη συμβατική αιμοκάθαρση με μεμβράνη υψηλής διαπερατότητας σε αιμοδιαδιήθηση με γραμμική παραγωγή διαλύματος, σε 15 ασθενείς με τελικού σταδίου χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, σε παράγοντες σχετικούς με την ενεργοποίηση των μονοκυττάρων και των ενδοθηλιακών κυττάρων. Οι ερευνητές διαπίστωσαν στατιστικά σημαντική μείωση των επιπέδων των ενδοθηλιακών MPs, των ενεργοποιημένων μονοκυττάρων CD14+CD16+ και των ενδοθηλιακών προγεννητόρων στο πλάσμα των ασθενών κατά τη μετάβασή τους στο μοντέλο της on line αιμοδιαδιήθησης. Συνεπώς, θεώρησαν την παραπάνω τεχνική υποκατάστασης περισσότερο ευνοϊκή σε σχέση με τις παραδοσιακές μεθόδους αιμοκάθαρσης σε παραμέτρους που σχετίζονται με τη χρόνια υποκλινική φλεγμονή και την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία της ουραιμίας (Ramirez et al., 2007).

Παρομοίως, η ερευνητική ομάδα των Ariza και συν., σε μία μελέτη διασταυρούμενης μετάβασης, που διεξήχθη σε 12 ασθενείς υπό αιμοκάθαρση,

επιβεβαίωσε τα παραπάνω αποτελέσματα. Πιο συγκεκριμένα, οι ερευνητές διαπίστωσαν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα αποπτωτικών ενδοθηλιακών MPs και ενεργοποιημένων μονοκυττάρων CD14+CD16+ κατά τη μετάβαση των ασθενών από το σχήμα κλασσικής αιμοκάθαρσης με μεμβράνη υψηλής διαπερατότητας σε αιμοδιαδιήθηση με ενδιάμεση ή συνεχή γραμμική παραγωγή διαλύματος. Επιπρόσθετα, αναφέρθηκαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα κυκλοφορούντων ενδοθηλιακών προγεννητόρων σε ασθενείς υπό αιμοδιαδιήθηση σε σχέση με τη συμβατική αιμοκάθαρση. Επομένως, θεωρήθηκε ότι η εφαρμογή της αιμοδιαδιήθησης βελτιώνει όχι μόνο την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία της ουραιμίας αλλά και τους διαταραγμένους μηχανισμούς επανόρθωσης του ενδοθηλιακού φραγμού. Φυσικά, οι παραπάνω ευνοϊκές επιδράσεις της αιμοδιαδιήθησης αποδόθηκαν από τους ερευνητές στην αποτελεσματικότερη κάθαρση που αυτή επιφέρει σε ουραιμικές τοξίνες μέσου και μεγάλου μοριακού βάρους, οι οποίες όπως έχουμε ήδη προαναφέρει, θεωρούνται αναπόσπαστος κρίκος στην αλληλουχία των διεργασιών θρομβοφλεγμονής και αθηροθρόμβωσης (Ariza et al., 2013).

Με δεδομένη λοιπόν την ευνοϊκή επίδραση της αιμοδιαδιήθησης στα επίπεδα των MPs ενδοθηλιακής προέλευσης, άλλοι ερευνητές διερεύνησαν την επίδραση διαφορετικών τεχνικών αιμοδιαδιήθησης στην ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, τη χρόνια υποκλινική φλεγμονή και το οξειδωτικό στρες. Οι Esquivas και συν., συνέκριναν αυτές τις επιδράσεις σε δύο μοντέλα αιμοδιαδιήθησης, την κλασσική αιμοδιαδιήθηση με γραμμική παραγωγή διαλύματος και την αιμοδιαδιήθηση με ενδογενή επανέγχυση υγρού υποκατάστασης. Αν και δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο μοντέλων, αναφορικά με τα επίπεδα των κυκλοφορούντων ενδοθηλιακών MPs, οι ερευνητές διαπίστωσαν τη σαφή ανωτερότητα της τεχνικής με ενδογενή επανέγχυση στο βαθμό κάθαρσης των ουραιμικών τοξινών μέσου μοριακού βάρους καθώς και σε όλους τους δείκτες που σχετίζονταν με την φλεγμονή και το οξειδωτικό στρες (Esquivas-Motta et al., 2017).

Η επίδραση διαφορετικών μεμβρανών υψηλής διαπερατότητας, σχεδιασμένων κατάλληλα ώστε να εφαρμόζονται σε μοντέλα αιμοδιαδιήθησης υψηλών όγκων με γραμμική παραγωγή διαλύματος, μελετήθηκε πρόσφατα αναφορικά με το βαθμό ενεργοποίησης διαφόρων παραμέτρων της αιμόστασης. Η αμφίδρομη μελέτη διασταυρούμενης μετάβασης, που διεξήχθη από τους Tangvoraphonkchai και συν., σε 10 ασθενείς υπό αιμοκάθαρση, διερεύνησε την επίδραση δύο διαφορετικών μεμβρανών υψηλής διαπερατότητας στην προπηκτική δραστηριότητα των κυκλοφορούντων MPs, πριν και μετά τη συνεδρία αιμοκάθαρσης. Για το σκοπό αυτό εφαρμόστηκε μία λειτουργική δοκιμασία προσδιορισμού της προπηκτικής δραστηριότητας των MPs σε πλάσμα φτωχό σε αιμοπετάλια (Zymuphen). Από τα αποτελέσματα της μελέτης δεν διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση των επιπέδων των MPs που εκφράζουν προπηκτικές ιδιότητες ή/και του βαθμού ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων. Επομένως, μεμβράνες σχεδιασμένες για αιμοδιαδιήθηση υψηλών όγκων με γραμμική παραγωγή υγρού υποκατάστασης δεν επιφέρουν σημαντική αύξηση του κινδύνου θρόμβωσης του εξωσωματικού κυκλώματος, παρά την αδιαμφισβήτητη αύξηση της γλοιότητας του αίματος στο τέλος της συνεδρίας (Tangvoraphonkchai et al., 2018).

Πέραν των διαφοροποιήσεων που αναφέρθηκαν σχετικά με την επίδραση διαφορετικών μοντέλων αιμοκάθαρσης και αιμοδιαδιήθησης στα επίπεδα των κυκλοφορούντων MPs, άλλες μελέτες σχεδιάστηκαν προκειμένου να αξιολογήσουν την εφαρμογή διαφορετικών μεθόδων εξωνεφρικής κάθαρσης στις παραπάνω διεργασίες. Οι μελέτες αυτές περιελάμβαναν συνήθως στην ομάδα πασχόντων έναν ετερογενή πληθυσμό ασθενών που υποβάλλονταν σε περιτοναϊκή κάθαρση και αιμοκάθαρση. Τα αποτελέσματα αυτών των μελετών ήταν συχνά ασαφή και αντικρουόμενα.

Για παράδειγμα, οι Ando και συν., δεν ανέδειξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές των επιπέδων των αιμοπεταλιακής προέλευσης μικροσωματιδίων μεταξύ ασθενών υπό περιτοναϊκή κάθαρση και αιμοκάθαρση (Ando et al., 2002). Παρομοίως, οι Dursun και συν., κατέγραψαν σημαντικά υψηλότερες τιμές ενδοθηλιακών MPs σε όλες τις υποομάδες ουραιμικών ασθενών σε σχέση με την ομάδα υγιών μαρτύρων και επιπλέον σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων ασθενών υπό περιτοναϊκή κάθαρση ή αιμοκάθαρση σε σχέση με τους ασθενείς με XNN άλλων σταδίων. Επομένως, στη συγχρονική αυτή μελέτη ενός παιδιατρικού πληθυσμού, δεν αναφέρθηκαν αξιόλογες διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων ασθενών με τελικού σταδίου χρόνια νεφρική ανεπάρκεια υπό περιτοναϊκή κάθαρση ή αιμοκάθαρση. Αξίζει επίσης να αναφέρουμε ότι οι ερευνητές συσχέτισαν τα αυξημένα επίπεδα ενδοθηλιακών MPs με άλλους δείκτες ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας, όπως την ταχύτητα μετάδοσης του σφυγμικού κύματος ( pulse wave velocity) και το πάχος του έσω και μέσου χιτώνα της καρωτίδας. Συνεπώς, από τη μελέτη αυτού του παιδιατρικού πληθυσμού εξήχθησαν πολύτιμα συμπεράσματα που αφορούν τις διαδικασίες της ουραιμικής αθηροσκλήρωσης. Σήμερα, στη βάση αυτών των μελετών, θεωρείται ότι η ενδοθηλιακή βλάβη αποτελεί πρώιμο γεγονός στην πορεία εξέλιξης της XNN και ότι τα επίπεδα των ενδοθηλιακών MPs αντικατοπτρίζουν ένα αποτύπωμα της κυκλοφορίας, άμεσα συνδεδεμένο με την εμφάνιση της αρτηριακής σκληρίας και της πρώιμης-υποκλινικής αθηροσκλήρωσης (Dursun et al., 2009).

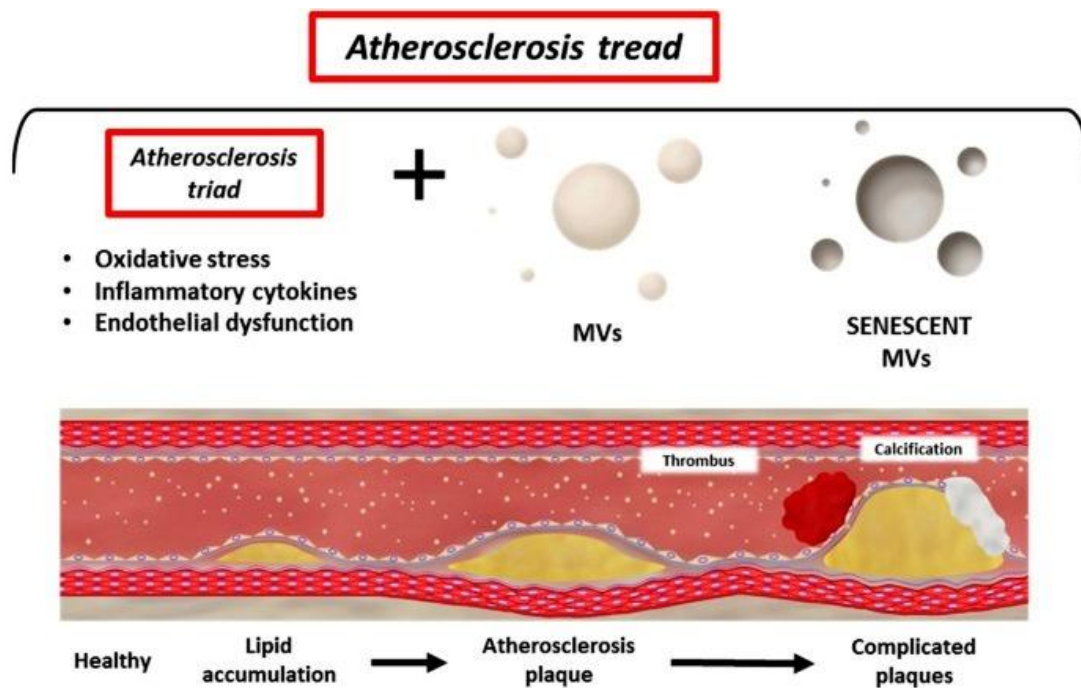
Επίσης, οι Trappenburg και συν., δεν κατέγραψαν ουσιαστικές διαφοροποιήσεις στα συνολικά επίπεδα των MPs μεταξύ ασθενών υπό αιμοκάθαρση και περιτοναϊκή κάθαρση. Όμως, στην ίδια μελέτη η σημαντική αύξηση των ενδοθηλιακών και φερόντων ιστικό παράγοντα MPs που παρατηρήθηκε σε όλες τις υποομάδες ασθενών με XNN δεν συνοδεύτηκε από αντίστοιχη αύξηση του δυναμικού γένεσης θρομβίνης στις λειτουργικές δοκιμασίες που εφαρμόστηκαν. Οπότε, οι ερευνητές συμπέραναν ότι η αυξημένη προπηκτική δραστηριότητα των MPs στη XNN αντισταθμίζεται κατά κάποιον τρόπο από τις συνυπάρχουσες λειτουργικές διαταραχές του ουραιμικού αιμοπεταλίου, τις οποίες έχουμε περιγράψει σε προηγούμενο κεφάλαιο (Trappenburg et al., 2012). Αντίθετα με τα προαναφερθέντα, οι Burton και συν., παρά το γεγονός ότι δεν κατέγραψαν σημαντικές διαφορές στα επίπεδα αιμοπεταλιακών και ενδοθηλιακών MPs μεταξύ των δύο ομάδων ασθενών, διαπίστωσαν ότι η έντονη προπηκτική δραστηριότητα των MPs στο πλάσμα ουραιμικών ασθενών ήταν στενά συνδεδεμένη με υψηλό δυναμικό γένεσης θρομβίνης (Burton et al., 2013).

Σε άλλες μελέτες βέβαια, υπήρξαν σημαντικές αποκλίσεις των επιπέδων των MPs μεταξύ των ασθενών υπό αιμοκάθαρση και περιτοναϊκή κάθαρση, όπως στη μελέτη των



Γαο και συν. Στη μελέτη αυτή, τα επίπεδα των ερυθροκυτταρικών, αιμοπεταλιακών και λευκοκυτταρικών MPs αναδείχθηκαν στατιστικώς σημαντικά υψηλότερα σε ασθενείς υπό αιμοκάθαρση σε σχέση με την ομάδα ασθενών υπό περιτοναϊκή κάθαρση. Επιπρόσθετα, η έντονη προπηκτική τους δραστηριότητα αποδόθηκε τόσο στη συσσώρευση των ουραιμικών τοξινών όσο και στην επαγόμενη από την ίδια την αιμοκάθαρση των διαδικασιών κυστιδιοποίησης (Gao et al., 2015). Παρομοίως, οι Merino και συν., κατέγραψαν στατιστικώς σημαντικά υψηλότερα επίπεδα ενδοθηλιακών MPs, VEGF και ενεργοποιημένων μονοκυττάρων σε ασθενείς υπό αιμοκάθαρση σε σχέση με ασθενείς που υποβάλλονταν σε περιτοναϊκή κάθαρση. Συνεπώς, συμπέραναν ότι υπάρχει μια αιτιολογική και αμφίδρομη συσχέτιση μεταξύ των ενεργοποιημένων μονοκυττάρων CD14+CD16+, των MPs ενδοθηλιακής προέλευσης και του VEGF στο πλαίσιο της επαγόμενης από την ίδια την αιμοκάθαρση ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας (Merino et al., 2010). Τα αποτελέσματα αυτά βέβαια είναι σε ασυμφωνία με αυτά που προέκυψαν από την προοπτική μελέτη των Weber και συν., όπου δεν αναδείχθηκε καμία αιτιολογική συσχέτιση μεταξύ των κυκλοφορούντων MPs ενδοθηλιακής προέλευσης, της αρτηριακής σκληρίας και της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας. Η μοναδική σημαντική συσχέτιση, η οποία παρουσιάστηκε στην παραπάνω μελέτη, ήταν αυτή της αρτηριακής σκληρίας με τα επίπεδα της ασύμμετρης διμεθυλαργινίνης, ο παθοφυσιολογικός ρόλος της οποίας έχει ήδη αναλυθεί εκτενώς (Weber et al., 2011).

Σε άλλες μελέτες βέβαια αναδείχθηκαν σημαντικές αλληλοσυσχετίσεις μεταξύ των κυκλοφορούντων MPs, της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας, της φλεγμονής και του οξειδωτικού στρες στο πλαίσιο ενός εξαιρετικά τοξικού για τις φυσιολογικές κυτταρικές λειτουργίες μικροπεριβάλλοντος, όπως είναι το ουραιμικό μικροπεριβάλλον. Φαίνεται, ότι η αδιάρρηκτη σχέση των διεργασιών φλεγμονής, οξειδωτικού στρες και ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας, οι οποίες αναφέρονται και ως τριάδα των αθηροσκληρυντικών διαταραχών, με τις διαδικασίες θρομβοφλεγμονής και αθηροθρόμβωσης αποτελεί κοινό γνώρισμα των νοσημάτων που σχετίζονται με αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο, όπως της ΧΝΝ (Εικόνα 23). Στη βάση αυτής της παραδοχής διεξήχθησαν πολλές κλινικές μελέτες προκειμένου να αποσαφηνίσουν τις πολύπλοκες διαδικασίες της ουραιμικής αθηροθρόμβωσης, πέρα από τους γνωστούς παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου.



Εικόνα 23. Η αδιάρρηκτη σχέση των διεργασιών φλεγμονής, οξειδωτικού στρες και ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας (η τριάδα των αθηροσκληρωτικών διαταραχών) με τις διαδικασίες θρομβοφλεγμονής και αθηροθρόμβωσης. Οι προθρομβωτικές, προφλεγμονώδεις και προοξειδωτικές ιδιότητες των MVs συμπληρώνουν παθογενετικά το παζλ της ουραιμικής αθηροσκλήρωσης (ανατύπωση από Alique M, *Int J Mol Sci*, 2018).

Η συμμετοχή των αιμοπεταλιακής προέλευσης MPs στις διαδικασίες θρόμβωσης διερευνήθηκε πρώιμα στις μελέτες των Ando και συν. και Chuan και συν. αλλά τα αποτελέσματά τους ήταν αντικρουόμενα. Έτσι, οι Chuan και συν., δεν κατάφεραν να αναδείξουν μια σημαντική αιτιολογική συσχέτιση μεταξύ των αυξημένων επιπέδων των αιμοπεταλιακών MPs με την επιβίωση της αγγειακής προσπέλασης. Παρόλα αυτά κατέγραψαν υψηλά επίπεδα ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων σε ασθενείς με βραχεία επιβίωση της φυσικής αρτηριοφλεβικής αναστόμωσης ή του συνθετικού μοσχεύματος. Ως εκ τούτου, πρότειναν τη μέτρηση των δεικτών αιμοπεταλιακής ενεργοποίησης GPIIb-IIIa και CD62P ως χρήσιμους προγνωστικούς βιοδείκτες θρόμβωσης των αγγειακών προσπελάσεων (Chuang et al., 2003).

Σε μία μελέτη πασχόντων-μαρτύρων, στην οποία στρατολογήθηκαν 82 ασθενείς υπό αιμοκάθαρση, οι Ryu και συν., διερεύνησαν το ρόλο των αιμοπεταλιακών και ενδοθηλιακών MPs στην επιβίωση των αγγειακών προσπελάσεων. Διαπιστώθηκε μεταξύ άλλων, ισχυρή θετική συσχέτιση μεταξύ των δύο αυτών υποπληθυσμών MPs στην ομάδα πασχόντων αλλά και συσχέτισή τους με τις διεργασίες φλεγμονής και θρόμβωσης της αγγειακής προσπέλασης. Όσον αφορά την ομάδα διαβητικών ασθενών, οι υψηλότερες τιμές MPs συσχετίστηκαν με βράχυνση του χρόνου επιβίωσης της αναστόμωσης σε λιγότερο από ένα χρόνο ενώ αντίθετα η διατήρηση της βατότητας της προσπέλασης για διάστημα μεγαλύτερο των τεσσάρων ετών συσχετίστηκε με σημαντικά χαμηλότερες τιμές MPs (Ryu et al., 2012).

Ακολούθως, σε άλλες μελέτες, διερευνήθηκαν τα υψηλά επίπεδα MPs στο πλάσμα διαβητικών ασθενών με ΧΝΝ ως πιθανών προγνωστικών βιοδεικτών καρδιαγγειακού κινδύνου. Σε μια μεγάλη σειρά ασθενών υπό αιμοκάθαρση, οι Carmona και συν., αξιολόγησαν τα επίπεδα των MPs ενδοθηλιακής, μονοπυρηνικής και αιμοπεταλιακής προέλευσης, τους υποπληθυσμούς των ενεργοποιημένων μονοπυρήνων και το λόγο των αγγειοποιητινών 1 και 2 ως πιθανών προγνωστικών δεικτών ενδοθηλιακής βλάβης. Διαπιστώθηκε σημαντική αύξηση όλων των παραπάνω βιοδεικτών σε διαβητικούς ασθενείς υπό αιμοκάθαρση σε σχέση με τους μη διαβητικούς ασθενείς και ορίστηκε το κατώφλι των 264MPs/μl ως όριο, πέραν του οποίου αυξάνεται σημαντικά ο κίνδυνος καρδιαγγειακού θανάτου (Carmona et al., 2017).

Βέβαια, η συσχέτιση της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας με τον αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο των ασθενών με ΧΝΝ, ανεξαρτήτως άλλων παραδοσιακών παραγόντων κινδύνου όπως ο σακχαρώδης διαβήτης, είχε αποτελέσει από νωρίς επίκεντρο του επιστημονικού ενδιαφέροντος. Η πιθανή εμπλοκή των MPs στους παραπάνω παθογενετικούς μηχανισμούς, διερευνήθηκε αρχικά από την ομάδα των Boulanger και συν., η οποία ανέδειξε την αντίστροφη σχέση μεταξύ των επιπέδων των ενδοθηλιακών MPs και της διατμητικής τάσης. Συνεπώς, η χαμηλή διατμητική τάση και η αναιμία συσχετίστηκαν με τα αυξημένα επίπεδα ενδοθηλιακών MPs λόγω επαγωγής του αποπτωτικού θανάτου, και εμμέσως η παραπάνω αλληλεπίδραση θεωρήθηκε ότι συμμετέχει στις διαδικασίες πρόωμης αθηροσκλήρωσης (Boulanger et al., 2007).

Κατόπιν, οι Jourde-Chiche και συν., διερεύνησαν *in vivo* και *in vitro* τις πιθανές συσχετίσεις των επιπέδων των ενδοθηλιακών MPs με τα επίπεδα των ενδοθηλιακών προγεννητόρων, των ουραιμικών τοξινών αλλά και άλλων δεικτών ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας, όπως της ταχύτητας μετάδοσης του σφυγμικού κύματος. Από τη μελέτη αυτή, εξήχθη το πολύτιμο συμπέρασμα, ότι η επαγόμενη από τις ουραιμικές τοξίνες ενδοθηλιακή βλάβη ανάγεται ουσιαστικά σε αύξηση του αριθμού των ενδοθηλιακών MPs, τα οποία με τη σειρά τους επιδρούν καθοριστικά στη βιολογία των ενδοθηλιακών προγεννητόρων. Παράλληλα, διαπιστώθηκε ότι στις περιπτώσεις ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας ο αριθμός των ενδοθηλιακών προγεννητόρων αυξάνεται αντισταθμιστικά αφού είναι γνωστό ότι στην ουραιμία τα επίπεδά τους είναι εξαιρετικά μειωμένα (Jourde-Chiche et al., 2009b).

Τα συμπεράσματα αυτά επιβεβαιώθηκαν σύντομα, από την ερευνητική ομάδα των Meijers και συν., η οποία ανέδειξε την ισχυρή θετική συσχέτιση μεταξύ της ουραιμικής τοξίνης p-cresol με τα επίπεδα των ενδοθηλιακών μικροσωματιδίων και σε *in vitro* μελέτες απέδειξε την εμπλοκή της σηματοδοτικής οδού της Rho-κινάσης στην παραπάνω διεργασία (Meijers et al., 2009).

Η συσχέτιση των ενδοθηλιακών MPs και υποπληθυσμών ενδοθηλιακών προγεννητόρων με την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και τον αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο αποτέλεσε αντικείμενο μελέτης των Soriano και συν., οι οποίοι διεξήγαγαν μία συγχρονική *in vivo* και *in vitro* μελέτη, σε 75 ασθενείς με ΧΝΝ προτελικού και τελικού σταδίου. Τα υψηλότερα επίπεδα MPs ενδοθηλιακής προέλευσης παρατηρήθηκαν στην ομάδα ασθενών με αγγειακές επασβεστώσεις, οι οποίες όπως έχουμε αναφέρει,

αποτελούν χαρακτηριστικό γνώρισμα της ουραιμικής αθηροσκλήρωσης και αντιπροσωπεύουν έναν ισχυρό προγνωστικό παράγοντα καρδιαγγειακού κινδύνου. Επιπλέον, στην ίδια ομάδα ασθενών με αγγειακές επασβεστώσεις καταγράφηκαν τα χαμηλότερα επίπεδα ενδοθηλιακών προγεννητόρων, τα οποία αποτελούν ένδειξη σοβαρής διαταραχής των επανορθωτικών μηχανισμών του ενδοθηλίου ενώ παράλληλα διαπιστώθηκε αύξηση του ποσοστού των ενδοθηλιακών προγεννητόρων, οι οποίοι παρουσίαζαν οστεοβλαστικά χαρακτηριστικά (Soriano et al., 2014).

Με βάση τα δεδομένα των παραπάνω κλινικών μελετών συσχέτισης των MPs με τις διαδικασίες της ουραιμικής αθηροσκλήρωσης διεξήχθησαν οι ακόλουθες μελέτες παρέμβασης.

Οι Al-Massarani και συν., μελέτησαν τα επίπεδα των κυκλοφορούντων ενδοθηλιακών κυττάρων, των ενδοθηλιακής προέλευσης MPs και του διαλυτού μορίου VCAM-1, σε 52 ασθενείς υπό αιμοκάθαρση, πριν και μετά την διενέργεια νεφρικής μεταμόσχευσης. Τα επίπεδα όλων των δεικτών ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας καταγράφηκαν σημαντικά αυξημένα στους ασθενείς υπό αιμοκάθαρση σε σχέση με την ομάδα των υγιών μαρτύρων αλλά σύντομα ομαλοποιήθηκαν μετά την νεφρική μεταμόσχευση. Επομένως, η νεφρική μεταμόσχευση θεωρήθηκε καθεαυτή η βέλτιστη θεραπευτική προσέγγιση αναφορικά με τον αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο των ουραιμικών ασθενών (Al-Massarani et al., 2008).

Η ευεργετική επίδραση της αλισκιρένης στην ενδοθηλιακή δυσλειτουργία μελετήθηκε από μια άλλη ερευνητική ομάδα, η οποία διερεύνησε τη συσχέτιση της ενδοθήλιο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής (FMD) με τα επίπεδα των αιμοπεταλιακών MPs. Η προοπτική αυτή μελέτη διεξήχθη σε 24 ασθενείς υπό αιμοκάθαρση και κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η χορήγηση ενός άμεσου αναστολέα της ρενίνης επιφέρει σημαντικές μεταβολές στην ενδοθηλιακή δυσλειτουργία αυτών των ασθενών, ανεξαρτήτως του αντιυπερτασικού της αποτελέσματος. Πιο συγκεκριμένα, διαπιστώθηκε ότι μετά τη χορήγηση αλισκιρένης παρουσιάζεται στατιστικώς σημαντική βελτίωση της ενδοθήλιο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής και του βαθμού αιμοπεταλιακής ενεργοποίησης. Φυσικά, από τη μελέτη αυτή αναδεικνύεται εμμέσως ο σημαντικός ρόλος του ενεργοποιημένου άξονα RAAS στην ουραιμική αθηροθρόμβωση και επιπλέον οι πολύπλοκες αλληλεπιδράσεις των αιμοπεταλιακών MPs με το ενδοθήλιο (Moriya et al., 2013).

Επίσης, η ευεργετική επίδραση των δραστικών μορφών της βιταμίνης D στην ενδοθηλιακή δυσλειτουργία αναδείχθηκε μέσα από τη μελέτη των ενδοθηλιακών μικροσωματιδίων, από την ερευνητική ομάδα των Meijers και συν. Σε αυτή την προοπτική μελέτη τα αυξημένα επίπεδα των ενδοθηλιακών MPs συσχετίστηκαν στατιστικώς σημαντικά με τη βαρύτητα των διαταραχών των μετάλλων ασβεστίου και φωσφόρου ή/και του οστικού μεταβολισμού. Η βελτίωση των επιπέδων αυτών των παραμέτρων μετά τη χορήγηση δραστικών μεταβολιτών της βιταμίνης D, επιβεβαίωσε έτσι τις πλειοτροπικές της δράσεις στο ενδοθήλιο και κατ' επέκταση στην ουραιμική αθηροθρόμβωση (Meijers et al., 2009).

Παρομοίως, στη μελέτη πασχόντων-μαρτύρων που διεξήχθη από τους Okuda και συν., διαπιστώθηκε σημαντική μείωση των επιπέδων των κυκλοφορούντων αιμοπεταλιακών MPs μετά τη χορήγηση τενελιγλιπτίνης, σε διαβητικούς ασθενείς υπό αιμοκάθαρση. Επιπλέον, η χορήγηση τενελιγλιπτίνης μείωσε στατιστικά σημαντικά τα επίπεδα του αναστολέα του ιστικού ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (PAI-1) και της διαλυτής P-σελεκτίνης. Επομένως, η χορήγησή της σε αυτήν την υποομάδα ασθενών υπό αιμοκάθαρση, θεωρήθηκε ότι μπορεί να μειώσει σημαντικά τον κίνδυνο αθηροθρόμβωσης (Okuda et al., 2016).

Τέλος, αξίζει να αναφέρουμε την προοπτική μελέτη των Amabile και συν., που διεξήχθη σε 81 ασθενείς υπό αιμοκάθαρση και αποσκοπούσε στη διερεύνηση πιθανών συσχετίσεων των MPs με το θανατηφόρο έμφραγμα του μυοκαρδίου, το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, τον αιφνίδιο καρδιακό θάνατο και το οξύ πνευμονικό οίδημα. Από τη μελέτη αυτή, τα ενδοθηλιακής προέλευσης MPs αναδείχθηκαν σε ισχυρό και ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα όλων των αιτιών καρδιαγγειακής θνητότητας σε ασθενείς υπό αιμοκάθαρση ενώ τα υπόλοιπα MPs όχι. Στη βάση αυτών των αποτελεσμάτων, η καταγραφή των επιπέδων των ενδοθηλιακών MPs θεωρείται σήμερα πολύτιμος προγνωστικός βιοδείκτης καρδιαγγειακού κινδύνου και πιθανός μελλοντικός θεραπευτικός στόχος (Amabile et al., 2012).

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Addi T, Dou L and Burtey S (2018) Tryptophan-Derived Uremic Toxins and Thrombosis in Chronic Kidney Disease. *Toxins* **10**.
- Adler S, Szczech L, Qureshi A, Bollu R and Thomas-John R (2001) IgM anticardiolipin antibodies are associated with stenosis of vascular access in hemodialysis patients but do not predict thrombosis. *Clinical nephrology* **56**:428-434.
- Agyei-Mensah S and de-Graft Aikins A (2010) Epidemiological transition and the double burden of disease in Accra, Ghana. *Journal of urban health : bulletin of the New York Academy of Medicine* **87**:879-897.
- Al-Massarani G, Vacher-Coponat H, Paul P, Widemann A, Arnaud L, Loundou A, Robert S, Berland Y, Dignat-George F and Camoin-Jau L (2008) Impact of immunosuppressive treatment on endothelial biomarkers after kidney transplantation. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* **8**:2360-2367.
- Al-Saady NM, Leatham EW, Gupta S, Kwan JT, Eastwood JB and Seymour CA (1999) Monocyte expression of tissue factor and adhesion molecules: the link with accelerated coronary artery disease in patients with chronic renal failure. *Heart* **81**:134-140.
- Amabile N, Guerin AP, Leroyer A, Mallat Z, Nguyen C, Boddart J, London GM, Tedgui A and Boulanger CM (2005) Circulating endothelial microparticles are associated with vascular dysfunction in patients with end-stage renal failure. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* **16**:3381-3388.
- Amabile N, Guerin AP, Tedgui A, Boulanger CM and London GM (2012) Predictive value of circulating endothelial microparticles for cardiovascular mortality in end-stage renal failure: a pilot study. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* **27**:1873-1880.
- Amabile N, Rautou PE, Tedgui A and Boulanger CM (2010) Microparticles: key protagonists in cardiovascular disorders. *Seminars in thrombosis and hemostasis* **36**:907-916.
- Ando M, Iwata A, Ozeki Y, Tsuchiya K, Akiba T and Nihei H (2002) Circulating platelet-derived microparticles with procoagulant activity may be a potential cause of thrombosis in uremic patients. *Kidney international* **62**:1757-1763.
- Andrews RK, Gardiner EE, Shen Y, Whisstock JC and Berndt MC (2003) Glycoprotein Ib-IX-V. *The international journal of biochemistry & cell biology* **35**:1170-1174.
- Angelillo-Scherrer A (2012) Leukocyte-derived microparticles in vascular homeostasis. *Circulation research* **110**:356-369.
- Ariza F, Merino A, Carracedo J, Alvarez de Lara MA, Crespo R, Ramirez R, Martin-Malo A and Aljama P (2013) Post-dilution high convective transport improves microinflammation and endothelial dysfunction independently of the technique. *Blood purification* **35**:270-278.
- Arteaga RB, Chirinos JA, Soriano AO, Jy W, Horstman L, Jimenez JJ, Mendez A, Ferreira A, de Marchena E and Ahn YS (2006) Endothelial microparticles and platelet and leukocyte activation in patients with the metabolic syndrome. *The American journal of cardiology* **98**:70-74.
- Barry OP, Pratico D, Lawson JA and FitzGerald GA (1997) Transcellular activation of platelets and endothelial cells by bioactive lipids in platelet microparticles. *The Journal of clinical investigation* **99**:2118-2127.
- Bartel DP (2004) MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* **116**:281-297.
- Berckmans RJ, Nieuwland R, Boing AN, Romijn FP, Hack CE and Sturk A (2001) Cell-derived microparticles circulate in healthy humans and support low grade thrombin generation. *Thrombosis and haemostasis* **85**:639-646.
- Bohler T, Linderkamp O, Leo A, Wingen AM and Scharer K (1992) Increased aggregation with normal surface charge and deformability of red blood cells in children with nephrotic syndrome. *Clinical nephrology* **38**:119-124.
- Boulanger CM, Amabile N, Guerin AP, Pannier B, Leroyer AS, Mallat CN, Tedgui A and London GM (2007) In vivo shear stress determines circulating levels of endothelial microparticles in end-stage renal disease. *Hypertension* **49**:902-908.

- Brodsky SV, Zhang F, Nasjletti A and Goligorsky MS (2004) Endothelium-derived microparticles impair endothelial function in vitro. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology* **286**:H1910-1915.
- Brunet P, Gondouin B, Duval-Sabatier A, Dou L, Cerini C, Dignat-George F, Jourde-Chiche N, Argiles A and Burtsey S (2011) Does uremia cause vascular dysfunction? *Kidney & blood pressure research* **34**:284-290.
- Burton JO, Hamali HA, Singh R, Abbasian N, Parsons R, Patel AK, Goodall AH and Brunskill NJ (2013) Elevated levels of procoagulant plasma microvesicles in dialysis patients. *PLoS one* **8**:e72663.
- Camaioni C, Gustapane M, Cialdella P, Della Bona R and Biasucci LM (2013) Microparticles and microRNAs: new players in the complex field of coagulation. *Internal and emergency medicine* **8**:291-296.
- Carmona A, Aguera ML, Luna-Ruiz C, Buendia P, Calleros L, Garcia-Jerez A, Rodriguez-Puyol M, Arias M, Arias-Guillen M, de Arriba G, Ballarin J, Bernis C, Fernandez E, Garcia-Rebollo S, Mancha J, Del Peso G, Perez E, Poch E, Portoles JM, Rodriguez-Puyol D, Sanchez-Villanueva R, Sarro F, Torres A, Martin-Malo A, Aljama P, Ramirez R and Carracedo J (2017) Markers of endothelial damage in patients with chronic kidney disease on hemodialysis. *American journal of physiology Renal physiology* **312**:F673-F681.
- Casari C and Bergmeier W (2016) Acquired platelet disorders. *Thrombosis research* **141 Suppl 2**:S73-75.
- Catena C, Colussi G, Valeri M and Sechi LA (2013) Association of aldosterone with left ventricular mass in hypertension: interaction with plasma fibrinogen levels. *American journal of hypertension* **26**:111-117.
- Chen X, Liang H, Zhang J, Zen K and Zhang CY (2012) Horizontal transfer of microRNAs: molecular mechanisms and clinical applications. *Protein & cell* **3**:28-37.
- Cheung KL, Bouchard BA and Cushman M (2018a) Venous thromboembolism, factor VIII and chronic kidney disease. *Thrombosis research* **170**:10-19.
- Cheung KL, Zakai NA, Callas PW, Howard G, Mahmoodi BK, Peralta CA, Judd SE, Kurella Tamura M and Cushman M (2018b) Mechanisms and mitigating factors for venous thromboembolism in chronic kidney disease: the REGARDs study. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* **16**:1743-1752.
- Chironi GN, Boulanger CM, Simon A, Dignat-George F, Freyssinet JM and Tedgui A (2009) Endothelial microparticles in diseases. *Cell and tissue research* **335**:143-151.
- Chiu JJ, Usami S and Chien S (2009) Vascular endothelial responses to altered shear stress: pathologic implications for atherosclerosis. *Annals of medicine* **41**:19-28.
- Chu AJ (2005) Tissue factor mediates inflammation. *Archives of biochemistry and biophysics* **440**:123-132.
- Chuang YC, Chen JB, Yang LC and Kuo CY (2003) Significance of platelet activation in vascular access survival of haemodialysis patients. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* **18**:947-954.
- Cocucci E, Racchetti G and Meldolesi J (2009) Shedding microvesicles: artefacts no more. *Trends in cell biology* **19**:43-51.
- Colombo M, Raposo G and Thery C (2014) Biogenesis, secretion, and intercellular interactions of exosomes and other extracellular vesicles. *Annual review of cell and developmental biology* **30**:255-289.
- Couser WG, Remuzzi G, Mendis S and Tonelli M (2011) The contribution of chronic kidney disease to the global burden of major noncommunicable diseases. *Kidney international* **80**:1258-1270.
- Cozzolino M, Galassi A, Pivari F, Ciceri P and Conte F (2017) The Cardiovascular Burden in End-Stage Renal Disease. *Contributions to nephrology* **191**:44-57.
- Cozzolino M, Mangano M, Stucchi A, Ciceri P, Conte F and Galassi A (2018) Cardiovascular disease in dialysis patients. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* **33**:iii28-iii34.
- Crowther MA, Clase CM, Margetts PJ, Julian J, Lambert K, Sneath D, Nagai R, Wilson S and Ingram AJ (2002) Low-intensity warfarin is ineffective for the prevention of PTFE graft failure in patients on hemodialysis: a randomized controlled trial. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* **13**:2331-2337.
- Curelaru I, Gustavsson B, Hansson AH, Linder LE, Stenqvist O and Wojciechowski J (1983) Material thrombogenicity in central venous catheterization II. A comparison between plain silicone elastomer, and plain polyethylene, long, antebachial catheters. *Acta anaesthesiologica Scandinavica* **27**:158-164.

- D'Souza-Schorey C and Clancy JW (2012) Tumor-derived microvesicles: shedding light on novel microenvironment modulators and prospective cancer biomarkers. *Genes & development* **26**:1287-1299.
- Daniel L, Fakhouri F, Joly D, Mouthon L, Nusbaum P, Grunfeld JP, Schifferli J, Guillemin L, Lesavre P and Halbwachs-Mecarelli L (2006) Increase of circulating neutrophil and platelet microparticles during acute vasculitis and hemodialysis. *Kidney international* **69**:1416-1423.
- Daugirdas JT and Bernardo AA (2012) Hemodialysis effect on platelet count and function and hemodialysis-associated thrombocytopenia. *Kidney international* **82**:147-157.
- Davizon P, Munday AD and Lopez JA (2010) Tissue factor, lipid rafts, and microparticles. *Seminars in thrombosis and hemostasis* **36**:857-864.
- de la Serna G (1994) Fibrinogen: a new major risk factor for cardiovascular disease. A review of the literature. *The Journal of family practice* **39**:468-477.
- Deatherage BL and Cookson BT (2012) Membrane vesicle release in bacteria, eukaryotes, and archaea: a conserved yet underappreciated aspect of microbial life. *Infection and immunity* **80**:1948-1957.
- Derish MT, Smith DW and Frankel LR (1995) Venous catheter thrombus formation and pulmonary embolism in children. *Pediatric pulmonology* **20**:349-354.
- Di Minno G, Cerbone A, Usberti M, Cianciaruso B, Cortese A, Farace MJ, Martinez J and Murphy S (1986) Platelet dysfunction in uremia. II. Correction by arachidonic acid of the impaired exposure of fibrinogen receptors by adenosine diphosphate or collagen. *The Journal of laboratory and clinical medicine* **108**:246-252.
- Diamant M, Tushuizen ME, Sturk A and Nieuwland R (2004) Cellular microparticles: new players in the field of vascular disease? *European journal of clinical investigation* **34**:392-401.
- Diaz-Ricart M, Estebanell E, Cases A, Calls J, Lopez-Pedret J, Carretero M, Castillo R, Ordinas A and Escolar G (2000) Abnormal platelet cytoskeletal assembly in hemodialyzed patients results in deficient tyrosine phosphorylation signaling. *Kidney international* **57**:1905-1914.
- Dignat-George F and Boulanger CM (2011) The many faces of endothelial microparticles. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* **31**:27-33.
- Doherty CC (1993) Gastrointestinal bleeding in dialysis patients. *Nephron* **63**:132-136; discussion 137-139.
- Dou L, Jourde-Chiche N, Faure V, Cerini C, Berland Y, Dignat-George F and Brunet P (2007) The uremic solute indoxyl sulfate induces oxidative stress in endothelial cells. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* **5**:1302-1308.
- Dou L, Sallee M, Cerini C, Poitevin S, Gondouin B, Jourde-Chiche N, Fallague K, Brunet P, Calaf R, Dussol B, Mallet B, Dignat-George F and Burtey S (2015) The cardiovascular effect of the uremic solute indole-3 acetic acid. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* **26**:876-887.
- Dubin R, Cushman M, Folsom AR, Fried LF, Palmas W, Peralta CA, Wassel C and Shlipak MG (2011) Kidney function and multiple hemostatic markers: cross sectional associations in the multi-ethnic study of atherosclerosis. *BMC nephrology* **12**:3.
- Dursun I, Poyrazoglu HM, Gunduz Z, Ulger H, Yykylmaz A, Dusunsel R, Patyroglu T and Gurgoze M (2009) The relationship between circulating endothelial microparticles and arterial stiffness and atherosclerosis in children with chronic kidney disease. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* **24**:2511-2518.
- el-Shahawy MA, Francis R, Akmal M and Massry SG (1994) Recombinant human erythropoietin shortens the bleeding time and corrects the abnormal platelet aggregation in hemodialysis patients. *Clinical nephrology* **41**:308-313.
- Escolar G, Diaz-Ricart M, Cases A, Castillo R, Ordinas A and White JG (1993) Abnormal cytoskeletal assembly in platelets from uremic patients. *The American journal of pathology* **143**:823-831.
- Esposito K, Ciotola M, Schisano B, Gualdiero R, Sardelli L, Misso L, Giannetti G and Giugliano D (2006) Endothelial microparticles correlate with endothelial dysfunction in obese women. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* **91**:3676-3679.
- Esquivias-Motta E, Martin-Malo A, Buendia P, Alvarez-Lara MA, Soriano S, Crespo R, Carracedo J, Ramirez R and Aljama P (2017) Hemodiafiltration With Endogenous Reinfusion Improved Microinflammation and Endothelial Damage Compared With Online-Hemodiafiltration: A Hypothesis Generating Study. *Artificial organs* **41**:88-98.



- Evenepoel P, Meijers BK, Bammens BR and Verbeke K (2009) Uremic toxins originating from colonic microbial metabolism. *Kidney international Supplement*:S12-19.
- Falati S, Liu Q, Gross P, Merrill-Skoloff G, Chou J, Vandendries E, Celi A, Croce K, Furie BC and Furie B (2003) Accumulation of tissue factor into developing thrombi in vivo is dependent upon microparticle P-selectin glycoprotein ligand 1 and platelet P-selectin. *The Journal of experimental medicine* **197**:1585-1598.
- Faure V, Dou L, Sabatier F, Cerini C, Sampol J, Berland Y, Brunet P and Dignat-George F (2006) Elevation of circulating endothelial microparticles in patients with chronic renal failure. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* **4**:566-573.
- Ferroni P, Guadagni F, Laudisi A, Vergati M, Riondino S, Russo A, Davi G and Roselli M (2014) Estimated glomerular filtration rate is an easy predictor of venous thromboembolism in cancer patients undergoing platinum-based chemotherapy. *The oncologist* **19**:562-567.
- Flaumenhaft R (2006) Formation and fate of platelet microparticles. *Blood cells, molecules & diseases* **36**:182-187.
- Fox CS, Matsushita K, Woodward M, Bilo HJ, Chalmers J, Heerspink HJ, Lee BJ, Perkins RM, Rossing P, Sairenchi T, Tonelli M, Vassalotti JA, Yamagishi K, Coresh J, de Jong PE, Wen CP and Nelson RG (2012) Associations of kidney disease measures with mortality and end-stage renal disease in individuals with and without diabetes: a meta-analysis. *Lancet* **380**:1662-1673.
- Freyssinet JM and Toti F (2010) Formation of procoagulant microparticles and properties. *Thrombosis research* **125 Suppl 1**:S46-48.
- Galbusera M, Remuzzi G and Boccardo P (2009) Treatment of bleeding in dialysis patients. *Seminars in dialysis* **22**:279-286.
- Gao C, Xie R, Yu C, Ma R, Dong W, Meng H, Zhang Y, Si Y, Zhang Z, Novakovic V, Kou J, Bi Y, Li B, Gilbert GE, Zhou J and Shi J (2015) Thrombotic Role of Blood and Endothelial Cells in Uremia through Phosphatidylserine Exposure and Microparticle Release. *PloS one* **10**:e0142835.
- Gaspari F, Vigano G, Orisio S, Bonati M, Livio M and Remuzzi G (1987) Aspirin prolongs bleeding time in uremia by a mechanism distinct from platelet cyclooxygenase inhibition. *The Journal of clinical investigation* **79**:1788-1797.
- Gawaz M and Bogner C (1994) Changes in platelet membrane glycoproteins and platelet-leukocyte interaction during hemodialysis. *The Clinical investigator* **72**:424-429.
- Gawaz MP, Dobos G, Spath M, Schollmeyer P, Gurland HJ and Mujais SK (1994) Impaired function of platelet membrane glycoprotein IIb-IIIa in end-stage renal disease. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* **5**:36-46.
- Georgatzakou HT, Tzounakas VL, Kriebardis AG, Velentzas AD, Kokkalis AC, Antonelou MH and Papassideri IS (2018) Short-term effects of hemodiafiltration versus conventional hemodialysis on erythrocyte performance. *Canadian journal of physiology and pharmacology* **96**:249-257.
- Georgatzakou HT, Tzounakas VL, Kriebardis AG, Velentzas AD, Papageorgiou EG, Voulgaridou AI, Kokkalis AC, Antonelou MH and Papassideri IS (2017) Pathophysiological aspects of red blood cells in end-stage renal disease patients resistant to recombinant human erythropoietin therapy. *European journal of haematology* **98**:590-600.
- Go AS, Chertow GM, Fan D, McCulloch CE and Hsu CY (2004) Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *The New England journal of medicine* **351**:1296-1305.
- Goicoechea M, de Vinuesa SG, Gomez-Campdera F, Aragoncillo I, Verdalles U, Mosse A and Luno J (2008) Serum fibrinogen levels are an independent predictor of mortality in patients with chronic kidney disease (CKD) stages 3 and 4. *Kidney international Supplement*:S67-70.
- Griendling KK and Ushio-Fukai M (2000) Reactive oxygen species as mediators of angiotensin II signaling. *Regulatory peptides* **91**:21-27.
- Gunawansa N, Sudusinghe DH and Wijayaratne DR (2018) Hemodialysis Catheter-Related Central Venous Thrombosis: Clinical Approach to Evaluation and Management. *Annals of vascular surgery* **51**:298-305.
- Hagendorn R, Farkas N, Vincze A, Gyongyi Z, Csupor D, Bajor J, Eross B, Csecsei P, Vasas A, Szakacs Z, Szapary L, Hegyi P and Miko A (2017) Chronic kidney disease severely deteriorates the outcome of gastrointestinal bleeding: A meta-analysis. *World journal of gastroenterology* **23**:8415-8425.

- Hakim RM and Schafer AI (1985) Hemodialysis-associated platelet activation and thrombocytopenia. *The American journal of medicine* **78**:575-580.
- Hasuike Y, Kakita N, Aichi M, Masachika S, Kantou M, Ikeda Takahashi S, Nanami M, Nagasawa Y, Kuragano T and Nakanishi T (2019) Imbalance of coagulation and fibrinolysis can predict vascular access failure in patients on hemodialysis after vascular access intervention. *Journal of vascular surgery* **69**:174-180 e172.
- Heiss C, Amabile N, Lee AC, Real WM, Schick SF, Lao D, Wong ML, Jahn S, Angeli FS, Minasi P, Springer ML, Hammond SK, Glantz SA, Grossman W, Balmes JR and Yeghiazarians Y (2008) Brief secondhand smoke exposure depresses endothelial progenitor cells activity and endothelial function: sustained vascular injury and blunted nitric oxide production. *Journal of the American College of Cardiology* **51**:1760-1771.
- Herzog CA, Asinger RW, Berger AK, Charytan DM, Diez J, Hart RG, Eckardt KU, Kasiske BL, McCullough PA, Passman RS, DeLoach SS, Pun PH and Ritz E (2011) Cardiovascular disease in chronic kidney disease. A clinical update from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney international* **80**:572-586.
- Hrafnkelsdottir T, Ottosson P, Gudnason T, Samuelsson O and Jern S (2004) Impaired endothelial release of tissue-type plasminogen activator in patients with chronic kidney disease and hypertension. *Hypertension* **44**:300-304.
- Hromada C, Muhleder S, Grillari J, Redl H and Holnthoner W (2017) Endothelial Extracellular Vesicles-Promises and Challenges. *Frontiers in physiology* **8**:275.
- Huang Y and Noble NA (2007) PAI-1 as a target in kidney disease. *Current drug targets* **8**:1007-1015.
- Inami N, Nomura S, Takahashi N, Isami Y, Nakamura E, Tsuda N, Kimura Y and Iwasaka T (2004) Correlation between platelet-derived microparticles and soluble L-selectin in patients undergoing hemodialysis. *Thrombosis and haemostasis* **92**:1452-1454.
- Iraci N, Leonardi T, Gessler F, Vega B and Pluchino S (2016) Focus on Extracellular Vesicles: Physiological Role and Signalling Properties of Extracellular Membrane Vesicles. *International journal of molecular sciences* **17**:171.
- Ito S, Osaka M, Higuchi Y, Nishijima F, Ishii H and Yoshida M (2010) Indoxyl sulfate induces leukocyte-endothelial interactions through up-regulation of E-selectin. *The Journal of biological chemistry* **285**:38869-38875.
- Jacobsson B, Ransnas L, Nyberg G, Bergh CH, Magnusson Y and Hjalmarson A (1985) Abnormality of adenylate cyclase regulation in human platelet membranes in renal insufficiency. *European journal of clinical investigation* **15**:75-81.
- Jain N and Reilly RF (2018) Clinical Pharmacology of Oral Anticoagulants in Patients with Kidney Disease. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN*.
- Jha V, Garcia-Garcia G, Iseki K, Li Z, Naicker S, Plattner B, Saran R, Wang AY and Yang CW (2013) Chronic kidney disease: global dimension and perspectives. *Lancet* **382**:260-272.
- Jourde-Chiche N, Dou L, Cerini C, Dignat-George F, Vanholder R and Brunet P (2009a) Protein-bound toxins--update 2009. *Seminars in dialysis* **22**:334-339.
- Jourde-Chiche N, Dou L, Sabatier F, Calaf R, Cerini C, Robert S, Camoin-Jau L, Charpiot P, Argiles A, Dignat-George F and Brunet P (2009b) Levels of circulating endothelial progenitor cells are related to uremic toxins and vascular injury in hemodialysis patients. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* **7**:1576-1584.
- Kaminski TW, Pawlak K, Karbowska M, Mysliwiec M, Grzegorzewski W, Kuna J and Pawlak D (2018) Association between uremic toxin-anthranilic acid and fibrinolytic system activity in predialysis patients at different stages of chronic kidney disease. *International urology and nephrology* **50**:127-135.
- Kaminski TW, Pawlak K, Karbowska M, Mysliwiec M and Pawlak D (2017) Indoxyl sulfate - the uremic toxin linking hemostatic system disturbances with the prevalence of cardiovascular disease in patients with chronic kidney disease. *BMC nephrology* **18**:35.
- Kapustin AN, Davies JD, Reynolds JL, McNair R, Jones GT, Sidibe A, Schurgers LJ, Skepper JN, Proudfoot D, Mayr M and Shanahan CM (2011) Calcium regulates key components of vascular smooth muscle cell-derived matrix vesicles to enhance mineralization. *Circulation research* **109**:e1-12.

- Karbowska M, Kaminski TW, Marcinczyk N, Misztal T, Rusak T, Smyk L and Pawlak D (2017) The Uremic Toxin Indoxyl Sulfate Accelerates Thrombotic Response after Vascular Injury in Animal Models. *Toxins* **9**.
- Kaufman JS, O'Connor TZ, Zhang JH, Cronin RE, Fiore LD, Ganz MB, Goldfarb DS and Peduzzi PN (2003) Randomized controlled trial of clopidogrel plus aspirin to prevent hemodialysis access graft thrombosis. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* **14**:2313-2321.
- Kayali F, Najjar R, Aswad F, Matta F and Stein PD (2008) Venous thromboembolism in patients hospitalized with nephrotic syndrome. *The American journal of medicine* **121**:226-230.
- Kiaii M, Djurdjev O, Farah M, Levin A, Jung B and MacRae J (2011) Use of electron-beam sterilized hemodialysis membranes and risk of thrombocytopenia. *Jama* **306**:1679-1687.
- Kolachalama VB, Shashar M, Alousi F, Shivanna S, Rijal K, Belghasem ME, Walker J, Matsuura S, Chang GH, Gibson CM, Dember LM, Francis JM, Ravid K and Chitalia VC (2018) Uremic Solute-Aryl Hydrocarbon Receptor-Tissue Factor Axis Associates with Thrombosis after Vascular Injury in Humans. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* **29**:1063-1072.
- Kumar G, Sakhuja A, Taneja A, Majumdar T, Patel J, Whittle J and Nanchal R (2012) Pulmonary embolism in patients with CKD and ESRD. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN* **7**:1584-1590.
- Landry P, Plante I, Ouellet DL, Perron MP, Rousseau G and Provost P (2009) Existence of a microRNA pathway in anucleate platelets. *Nature structural & molecular biology* **16**:961-966.
- Leroyer AS, Anfosso F, Lacroix R, Sabatier F, Simoncini S, Njock SM, Jourde N, Brunet P, Camoin-Jau L, Sampol J and Dignat-George F (2010) Endothelial-derived microparticles: Biological conveyors at the crossroad of inflammation, thrombosis and angiogenesis. *Thrombosis and haemostasis* **104**:456-463.
- Li L, Zhu D, Huang L, Zhang J, Bian Z, Chen X, Liu Y, Zhang CY and Zen K (2012) Argonaute 2 complexes selectively protect the circulating microRNAs in cell-secreted microvesicles. *PLoS one* **7**:e46957.
- Lindsay CR and Edelstein LC (2016) MicroRNAs in Platelet Physiology and Function. *Seminars in thrombosis and hemostasis* **42**:215-222.
- Livio M, Gotti E, Marchesi D, Mecca G, Remuzzi G and de Gaetano G (1982) Uraemic bleeding: role of anaemia and beneficial effect of red cell transfusions. *Lancet* **2**:1013-1015.
- Llach F (1984) Thromboembolic complications in nephrotic syndrome. Coagulation abnormalities, renal vein thrombosis, and other conditions. *Postgraduate medicine* **76**:111-114, 116-118, 121-113.
- Loscalzo J (2013) Venous thrombosis in the nephrotic syndrome. *The New England journal of medicine* **368**:956-958.
- Lovren F and Verma S (2013) Evolving role of microparticles in the pathophysiology of endothelial dysfunction. *Clinical chemistry* **59**:1166-1174.
- Lozano R, Naghavi M, Foreman K, Lim S, Shibuya K, Aboyans V, Abraham J, Adair T, Aggarwal R, Ahn SY, Alvarado M, Anderson HR, Anderson LM, Andrews KG, Atkinson C, Baddour LM, Barker-Collo S, Bartels DH, Bell ML, Benjamin EJ, Bennett D, Bhalla K, Bikbov B, Bin Abdulhak A, Birbeck G, Blyth F, Bolliger I, Boufous S, Bucello C, Burch M, Burney P, Carapetis J, Chen H, Chou D, Chugh SS, Coffeng LE, Colan SD, Colquhoun S, Colson KE, Condon J, Connor MD, Cooper LT, Corriere M, Cortinovis M, de Vaccaro KC, Couser W, Cowie BC, Criqui MH, Cross M, Dabhadkar KC, Dahodwala N, De Leo D, Degenhardt L, Delossantos A, Denenberg J, Des Jarlais DC, Dharmaratne SD, Dorsey ER, Driscoll T, Duber H, Ebel B, Erwin PJ, Espindola P, Ezzati M, Feigin V, Flaxman AD, Forouzanfar MH, Fowkes FG, Franklin R, Fransen M, Freeman MK, Gabriel SE, Gakidou E, Gaspari F, Gillum RF, Gonzalez-Medina D, Halasa YA, Haring D, Harrison JE, Havmoeller R, Hay RJ, Hoen B, Hotez PJ, Hoy D, Jacobsen KH, James SL, Jasrasaria R, Jayaraman S, Johns N, Karthikeyan G, Kassebaum N, Keren A, Khoo JP, Knowlton LM, Kobusingye O, Koranteng A, Krishnamurthi R, Lipnick M, Lipshultz SE, Ohno SL, Mabweijano J, MacIntyre MF, Mallinger L, March L, Marks GB, Marks R, Matsumori A, Matzopoulos R, Mayosi BM, McAnulty JH, McDermott MM, McGrath J, Mensah GA, Merriman TR, Michaud C, Miller M, Miller TR, Mock C, Mocumbi AO, Mokdad AA, Moran A, Mulholland K, Nair MN, Naldi L, Narayan KM, Nasseri K, Norman P, O'Donnell M, Omer SB, Ortblad K, Osborne R, Ozgediz D, Pahari B, Pandian JD, Rivero AP, Padilla RP, Perez-Ruiz F, Perico N, Phillips D, Pierce K, Pope CA, 3rd, Porrini E, Pourmalek F, Raju M, Ranganathan D, Rehm JT, Rein DB, Remuzzi G, Rivara FP, Roberts T, De Leon FR, Rosenfeld LC, Rushton L, Sacco RL, Salomon JA, Sampson U, Sanman E, Schwebel DC, Segui-Gomez M, Shepard DS, Singh D, Singleton J, Sliwa K, Smith E, Steer A, Taylor JA, Thomas B, Tleyjeh IM, Towbin JA, Truelsen T, Undurraga EA,

- Venketasubramanian N, Vijayakumar L, Vos T, Wagner GR, Wang M, Wang W, Watt K, Weinstock MA, Weintraub R, Wilkinson JD, Woolf AD, Wulf S, Yeh PH, Yip P, Zabetian A, Zheng ZJ, Lopez AD, Murray CJ, AlMazroa MA and Memish ZA (2012) Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet* **380**:2095-2128.
- Lu GY, Shen L, Wang ZY, Guo XF, Bai X, Su J and Ruan CG (2008) Significance of plasma von Willebrand factor level and von Willebrand factor-cleaving protease activity in patients with chronic renal diseases. *Chinese medical journal* **121**:133-136.
- Lutz J, Menke J, Sollinger D, Schinzel H and Thurmel K (2014) Haemostasis in chronic kidney disease. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* **29**:29-40.
- Macconi D, Viganò G, Bisogno G, Galbusera M, Orisio S, Remuzzi G and Livio M (1992) Defective platelet aggregation in response to platelet-activating factor in uremia associated with low platelet thromboxane A2 generation. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation* **19**:318-325.
- Mahmoodi BK, Gansevoort RT, Naess IA, Lutsey PL, Braekkan SK, Veeger NJ, Brodin EE, Meijer K, Sang Y, Matsushita K, Hallan SI, Hammerstrom J, Cannegieter SC, Astor BC, Coresh J, Folsom AR, Hansen JB and Cushman M (2012a) Association of mild to moderate chronic kidney disease with venous thromboembolism: pooled analysis of five prospective general population cohorts. *Circulation* **126**:1964-1971.
- Mahmoodi BK, Matsushita K, Woodward M, Blankestijn PJ, Cirillo M, Ohkubo T, Rossing P, Sarnak MJ, Stengel B, Yamagishi K, Yamashita K, Zhang L, Coresh J, de Jong PE and Astor BC (2012b) Associations of kidney disease measures with mortality and end-stage renal disease in individuals with and without hypertension: a meta-analysis. *Lancet* **380**:1649-1661.
- Mahmoodi BK, ten Kate MK, Waanders F, Veeger NJ, Brouwer JL, Vogt L, Navis G and van der Meer J (2008) High absolute risks and predictors of venous and arterial thromboembolic events in patients with nephrotic syndrome: results from a large retrospective cohort study. *Circulation* **117**:224-230.
- Martin N, Smith AC, Dungey MR, Young HML, Burton JO and Bishop NC (2018) Exercise during hemodialysis does not affect the phenotype or prothrombotic nature of microparticles but alters their proinflammatory function. *Physiological reports* **6**:e13825.
- Martin S, Tesse A, Hugel B, Martinez MC, Morel O, Freyssinet JM and Andriantsitohaina R (2004) Shed membrane particles from T lymphocytes impair endothelial function and regulate endothelial protein expression. *Circulation* **109**:1653-1659.
- Mause SF, von Hundelshausen P, Zerneck A, Koenen RR and Weber C (2005) Platelet microparticles: a transcellular delivery system for RANTES promoting monocyte recruitment on endothelium. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* **25**:1512-1518.
- McMahon HT and Boucrot E (2015) Membrane curvature at a glance. *Journal of cell science* **128**:1065-1070.
- Medjeral-Thomas N, Ziaj S, Condon M, Galliford J, Levy J, Cairns T and Griffith M (2014) Retrospective analysis of a novel regimen for the prevention of venous thromboembolism in nephrotic syndrome. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN* **9**:478-483.
- Meijers BK, Van Kerckhoven S, Verbeke K, Dehaen W, Vanrenterghem Y, Hoylaerts MF and Evenepoel P (2009) The uremic retention solute p-cresyl sulfate and markers of endothelial damage. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation* **54**:891-901.
- Merino A, Portoles J, Selgas R, Ojeda R, Buendia P, Ocana J, Bajo MA, del Peso G, Carracedo J, Ramirez R, Martin-Malo A and Aljama P (2010) Effect of different dialysis modalities on microinflammatory status and endothelial damage. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN* **5**:227-234.
- Meziani F, Tesse A and Andriantsitohaina R (2008) Microparticles are vectors of paradoxical information in vascular cells including the endothelium: role in health and diseases. *Pharmacological reports : PR* **60**:75-84.
- Mirrahimov AE, Ali AM, Barbaryan A, Prueksaritanond S and Hussain N (2014) Primary Nephrotic Syndrome in Adults as a Risk Factor for Pulmonary Embolism: An Up-to-Date Review of the Literature. *International journal of nephrology* **2014**:916760.

- Molino D, De Lucia D and Gaspare De Santo N (2006) Coagulation disorders in uremia. *Seminars in nephrology* **26**:46-51.
- Molino D, De Lucia D, Marotta R, Perna A, Lombardi C, Cirillo M and De Santo NG (2005) In uremia, plasma levels of anti-protein C and anti-protein S antibodies are associated with thrombosis. *Kidney international* **68**:1223-1229.
- Morel O, Jesel L, Freyssinet JM and Toti F (2011) Cellular mechanisms underlying the formation of circulating microparticles. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* **31**:15-26.
- Moriya H, Kobayashi S, Ohtake T, Tutumi D, Mochida Y, Ishioka K, Oka M, Maesato K, Hidaka S and Nomura S (2013) Aliskiren, a direct renin inhibitor, improves vascular endothelial function in patients on hemodialysis independent of antihypertensive effect approximately a pilot study approximately. *Kidney & blood pressure research* **37**:190-198.
- Mortberg J, Blomback M, Wallen A, He S, Jacobson SH and Spaak J (2016) Increased fibrin formation and impaired fibrinolytic capacity in severe chronic kidney disease. *Blood coagulation & fibrinolysis : an international journal in haemostasis and thrombosis* **27**:401-407.
- Mostefai HA, Agouni A, Carusio N, Mastronardi ML, Heymes C, Henrion D, Andriantsitohaina R and Martinez MC (2008) Phosphatidylinositol 3-kinase and xanthine oxidase regulate nitric oxide and reactive oxygen species productions by apoptotic lymphocyte microparticles in endothelial cells. *J Immunol* **180**:5028-5035.
- Musial K and Zwolinska D (2011) Matrix metalloproteinases (MMP-2,9) and their tissue inhibitors (TIMP-1,2) as novel markers of stress response and atherogenesis in children with chronic kidney disease (CKD) on conservative treatment. *Cell stress & chaperones* **16**:97-103.
- Nakano T, Ninomiya T, Sumiyoshi S, Fujii H, Doi Y, Hirakata H, Tsuruya K, Iida M, Kiyohara Y and Sueishi K (2010) Association of kidney function with coronary atherosclerosis and calcification in autopsy samples from Japanese elders: the Hisayama study. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation* **55**:21-30.
- Noris M, Benigni A, Boccardo P, Aiello S, Gaspari F, Todeschini M, Figliuzzi M and Remuzzi G (1993) Enhanced nitric oxide synthesis in uremia: implications for platelet dysfunction and dialysis hypotension. *Kidney international* **44**:445-450.
- Noris M and Remuzzi G (1999) Uremic bleeding: closing the circle after 30 years of controversies? *Blood* **94**:2569-2574.
- Noris M, Todeschini M, Casiraghi F, Roccatello D, Martina G, Minetti L, Imberti B, Gaspari F, Atti M and Remuzzi G (1998) Effect of acetate, bicarbonate dialysis, and acetate-free biofiltration on nitric oxide synthesis: implications for dialysis hypotension. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation* **32**:115-124.
- Nunns GR, Moore EE, Chapman MP, Moore HB, Stettler GR, Peltz E, Burlew CC, Silliman CC, Banerjee A and Sauaia A (2017) Discussion of: "The hypercoagulability paradox of chronic kidney disease: The role of fibrinogen". *American journal of surgery* **214**:1219.
- O'Neill WC and Lomashvili KA (2010) Recent progress in the treatment of vascular calcification. *Kidney international* **78**:1232-1239.
- Ocak G, Lijfering WM, Verduijn M, Dekker FW, Rosendaal FR, Cannegieter SC and Vossen CY (2013) Risk of venous thrombosis in patients with chronic kidney disease: identification of high-risk groups. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* **11**:627-633.
- Ocak G, Vossen CY, Lijfering WM, Verduijn M, Dekker FW, Rosendaal FR and Cannegieter SC (2014) Role of hemostatic factors on the risk of venous thrombosis in people with impaired kidney function. *Circulation* **129**:683-691.
- Oehmichen M (1976) Characterization of mononuclear phagocytes in human CSF using membrane markers. *Acta cytologica* **20**:548-552.
- Oh J, Wunsch R, Turzer M, Bahner M, Raggi P, Querfeld U, Mehls O and Schaefer F (2002) Advanced coronary and carotid arteriopathy in young adults with childhood-onset chronic renal failure. *Circulation* **106**:100-105.
- Okuda Y, Omoto S, Taniura T, Shouzu A and Nomura S (2016) Effects of teneligliptin on PDMPs and PAI-1 in patients with diabetes on hemodialysis. *International journal of general medicine* **9**:65-71.

- Padberg JS, Wiesinger A, di Marco GS, Reuter S, Grabner A, Kentrup D, Lukasz A, Oberleithner H, Pavenstadt H, Brand M and Kumpers P (2014) Damage of the endothelial glycocalyx in chronic kidney disease. *Atherosclerosis* **234**:335-343.
- Parikh AM, Spencer FA, Lessard D, Emery C, Baylin A, Linkletter C and Goldberg RJ (2011) Venous thromboembolism in patients with reduced estimated GFR: a population-based perspective. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation* **58**:746-755.
- Park JB and Schiffrin EL (2001) ET(A) receptor antagonist prevents blood pressure elevation and vascular remodeling in aldosterone-infused rats. *Hypertension* **37**:1444-1449.
- Pavord S and Myers B (2011) Bleeding and thrombotic complications of kidney disease. *Blood reviews* **25**:271-278.
- Pawlak K, Mysliwiec M and Pawlak D (2009) Hypercoagulability is independently associated with kynurenine pathway activation in dialysed uraemic patients. *Thrombosis and haemostasis* **102**:49-55.
- Piccin A, Murphy WG and Smith OP (2007) Circulating microparticles: pathophysiology and clinical implications. *Blood reviews* **21**:157-171.
- Ple H, Maltais M, Corduan A, Rousseau G, Madore F and Provost P (2012) Alteration of the platelet transcriptome in chronic kidney disease. *Thrombosis and haemostasis* **108**:605-615.
- Prakash R, Miller CC, 3rd and Suki WN (1995) Anticardiolipin antibody in patients on maintenance hemodialysis and its association with recurrent arteriovenous graft thrombosis. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation* **26**:347-352.
- Prandoni P (2009) Venous and arterial thrombosis: Two aspects of the same disease? *Clinical epidemiology* **1**:1-6.
- Prandoni P (2017) Venous and Arterial Thrombosis: Is There a Link? *Advances in experimental medicine and biology* **906**:273-283.
- Qin Y, Shen L, Lu FR, Shi W and Liu JG (2008) Effect of Xiaoyu Zhixue Tablet on the expression of platelet membrane glycoprotein I b/IX/V complex in patients with chronic renal failure. *Chinese journal of integrative medicine* **14**:83-87.
- Ramirez R, Carracedo J, Merino A, Nogueras S, Alvarez-Lara MA, Rodriguez M, Martin-Malo A, Tetta C and Aljama P (2007) Microinflammation induces endothelial damage in hemodialysis patients: the role of convective transport. *Kidney international* **72**:108-113.
- Rautou PE, Leroyer AS, Ramkhalawon B, Devue C, Duflaut D, Vion AC, Nalbone G, Castier Y, Leseche G, Lehoux S, Tedgui A and Boulanger CM (2011) Microparticles from human atherosclerotic plaques promote endothelial ICAM-1-dependent monocyte adhesion and transendothelial migration. *Circulation research* **108**:335-343.
- Remuzzi G (1989) Bleeding disorders in uremia: pathophysiology and treatment. *Advances in nephrology from the Necker Hospital* **18**:171-186.
- Remuzzi G, Benigni A, Dodesini P, Schieppati A, Livio M, De Gaetano G, Day SS, Smith WL, Pinca E, Patrignani P and Patrono C (1983) Reduced platelet thromboxane formation in uremia. Evidence for a functional cyclooxygenase defect. *The Journal of clinical investigation* **71**:762-768.
- Ridger VC, Boulanger CM, Angelillo-Scherrer A, Badimon L, Blanc-Brude O, Bochaton-Piallat ML, Boilard E, Buzas EI, Caporali A, Dignat-George F, Evans PC, Lacroix R, Lutgens E, Ketelhuth DFJ, Nieuwland R, Toti F, Tunon J, Weber C, Hoefler IE, Lip GYH, Werner N, Shantsila E, Ten Cate H, Thomas M and Harrison P (2017) Microvesicles in vascular homeostasis and diseases. *Thrombosis and haemostasis* **117**:1296-1316.
- Roy-Chaudhury P, El-Khatib M, Campos-Naciff B, Wadehra D, Ramani K, Leesar M, Mistry M, Wang Y, Chan JS, Lee T and Munda R (2012) Back to the future: how biology and technology could change the role of PTFE grafts in vascular access management. *Seminars in dialysis* **25**:495-504.
- Roy-Chaudhury P, Kelly BS, Zhang J, Narayana A, Desai P, Melham M, Duncan H and Heffelfinger SC (2003) Hemodialysis vascular access dysfunction: from pathophysiology to novel therapies. *Blood purification* **21**:99-110.
- Ryu JH, Lim SY, Ryu DR, Kang DH, Choi KB and Kim SJ (2012) Association between vascular access failure and microparticles in hemodialysis patients. *Kidney research and clinical practice* **31**:38-47.

- Ryu JH, Park H and Kim SJ (2017) The effects of indoxyl sulfate-induced endothelial microparticles on neointimal hyperplasia formation in an ex vivo model. *Annals of surgical treatment and research* **93**:11-17.
- Sabovic M, Salobir B, Preloznik Zupan I, Bratina P, Bojec V and Buturovic Ponikvar J (2005) The influence of the haemodialysis procedure on platelets, coagulation and fibrinolysis. *Pathophysiology of haemostasis and thrombosis* **34**:274-278.
- Sakurai K, Saito T, Yamauchi F, Asahi D and Hosoya H (2013) Comparison of the effects of predilution and postdilution hemodiafiltration on neutrophils, lymphocytes and platelets. *Journal of artificial organs : the official journal of the Japanese Society for Artificial Organs* **16**:316-321.
- Sarkar A, Mitra S, Mehta S, Raices R and Wewers MD (2009) Monocyte derived microvesicles deliver a cell death message via encapsulated caspase-1. *PloS one* **4**:e7140.
- Sarnak MJ, Levey AS, Schoolwerth AC, Coresh J, Culeton B, Hamm LL, McCullough PA, Kasiske BL, Kelepouris E, Klag MJ, Parfrey P, Pfeffer M, Raij L, Spinosa DJ and Wilson PW (2003) Kidney disease as a risk factor for development of cardiovascular disease: a statement from the American Heart Association Councils on Kidney in Cardiovascular Disease, High Blood Pressure Research, Clinical Cardiology, and Epidemiology and Prevention. *Circulation* **108**:2154-2169.
- Schlieper G, Schurgers L, Brandenburg V, Reutelingsperger C and Floege J (2016) Vascular calcification in chronic kidney disease: an update. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* **31**:31-39.
- Schober A, Manka D, von Hundelshausen P, Huo Y, Hanrath P, Sarembock IJ, Ley K and Weber C (2002) Deposition of platelet RANTES triggering monocyte recruitment requires P-selectin and is involved in neointima formation after arterial injury. *Circulation* **106**:1523-1529.
- Schwab SJ, Harrington JT, Singh A, Roher R, Shohaib SA, Perrone RD, Meyer K and Beasley D (1999) Vascular access for hemodialysis. *Kidney international* **55**:2078-2090.
- Sechi LA, Novello M, Colussi G, Di Fabio A, Chiuch A, Nadalini E, Casanova-Borca A, Uzzau A and Catena C (2008) Relationship of plasma renin with a prothrombotic state in hypertension: relevance for organ damage. *American journal of hypertension* **21**:1347-1353.
- Sedaghat S, de Vries PS, Boender J, Sonneveld MA, Hoorn EJ, Hofman A, de Maat MP, Franco OH, Ikram MA, Leebeek FW and Dehghan A (2016) von Willebrand Factor, ADAMTS13 Activity, and Decline in Kidney Function: A Population-Based Cohort Study. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation* **68**:726-732.
- Shanahan CM (2013) Mechanisms of vascular calcification in CKD-evidence for premature ageing? *Nature reviews Nephrology* **9**:661-670.
- Shashar M, Francis J and Chitalia V (2015) Thrombosis in the uremic milieu--emerging role of "thrombolome". *Seminars in dialysis* **28**:198-205.
- Singhal R and Brimble KS (2006) Thromboembolic complications in the nephrotic syndrome: pathophysiology and clinical management. *Thrombosis research* **118**:397-407.
- Smits HF, Van Rijk PP, Van Isselt JW, Mali WP, Koomans HA and Blankestijn PJ (1997) Pulmonary embolism after thrombolysis of hemodialysis grafts. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* **8**:1458-1461.
- Soriano S, Carmona A, Trivino F, Rodriguez M, Alvarez-Benito M, Martin-Malo A, Alvarez-Lara MA, Ramirez R, Aljama P and Carracedo J (2014) Endothelial damage and vascular calcification in patients with chronic kidney disease. *American journal of physiology Renal physiology* **307**:F1302-1311.
- Soulat T, Loyau S, Baudouin V, Maisonneuve L, Hurtaud-Roux MF, Schlegel N, Loirat C and Angles-Cano E (2000) Effect of individual plasma lipoprotein(a) variations in vivo on its competition with plasminogen for fibrin and cell binding: An in vitro study using plasma from children with idiopathic nephrotic syndrome. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* **20**:575-584.
- Stavroulopoulos A, Aresti V and Zounis C (2012) Right atrial thrombi complicating haemodialysis catheters. A meta-analysis of reported cases and a proposal of a management algorithm. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* **27**:2936-2944.

- Stevens PE and Levin A (2013) Evaluation and management of chronic kidney disease: synopsis of the kidney disease: improving global outcomes 2012 clinical practice guideline. *Annals of internal medicine* **158**:825-830.
- Suojanen JN, Brophy DP and Nasser I (2000) Thrombus on indwelling central venous catheters: the histopathology of "Fibrin sheaths". *Cardiovascular and interventional radiology* **23**:194-197.
- Svenningsen P, Bistrup C, Friis UG, Bertog M, Haerteis S, Krueger B, Stubbe J, Jensen ON, Thiesson HC, Uhrenholt TR, Jespersen B, Jensen BL, Korbmacher C and Skott O (2009) Plasmin in nephrotic urine activates the epithelial sodium channel. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* **20**:299-310.
- Tain YL and Hsu CN (2017) Toxic Dimethylarginines: Asymmetric Dimethylarginine (ADMA) and Symmetric Dimethylarginine (SDMA). *Toxins* **9**.
- Tangvoraphonkchai K, Riddell A and Davenport A (2018) Platelet activation and clotting cascade activation by dialyzers designed for high volume online hemodiafiltration. *Hemodialysis international International Symposium on Home Hemodialysis* **22**:192-200.
- Tassies D, Reverter JC, Cases A, Calls J, Escolar G and Ordinas A (1998) Effect of recombinant human erythropoietin treatment on circulating reticulated platelets in uremic patients: association with early improvement in platelet function. *American journal of hematology* **59**:105-109.
- Tesse A, Martinez MC, Meziani F, Hugel B, Panaro MA, Mitolo V, Freyssinet JM and Andriantsitohaina R (2006) Origin and biological significance of shed-membrane microparticles. *Endocrine, metabolic & immune disorders drug targets* **6**:287-294.
- Thekkedath UR, Chirananthavat T, Leypoldt JK, Cheung AK and Mohammad SF (2006) Elevated fibrinogen fragment levels in uremic plasma inhibit platelet function and expression of glycoprotein IIb-IIIa. *American journal of hematology* **81**:915-926.
- Trappenburg MC, van Schilfgaarde M, Frerichs FC, Spronk HM, ten Cate H, de Fijter CW, Terpstra WE and Leyte A (2012) Chronic renal failure is accompanied by endothelial activation and a large increase in microparticle numbers with reduced procoagulant capacity. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* **27**:1446-1453.
- Trimarchi H, Duboscq C, Genoud V, Lombi F, Muryan A, Young P, Schwab M, Castanon M, Rodriguez-Reimundes E, Forrester M, Pereyra H, Campolo-Girard V, Seminario O, Alonso M and Kordich L (2008) Plasminogen activator inhibitor-1 activity and 4G/5G polymorphism in hemodialysis. *The journal of vascular access* **9**:142-147.
- Tumur Z, Shimizu H, Enomoto A, Miyazaki H and Niwa T (2010) Indoxyl sulfate upregulates expression of ICAM-1 and MCP-1 by oxidative stress-induced NF-kappaB activation. *American journal of nephrology* **31**:435-441.
- Turchinovich A, Weiz L and Burwinkel B (2012) Extracellular miRNAs: the mystery of their origin and function. *Trends in biochemical sciences* **37**:460-465.
- Undas A, Nycz K, Pastuszczak M, Stompor T and Zmudka K (2010) The effect of chronic kidney disease on fibrin clot properties in patients with acute coronary syndrome. *Blood coagulation & fibrinolysis : an international journal in haemostasis and thrombosis* **21**:522-527.
- Vandendries ER, Furie BC and Furie B (2004) Role of P-selectin and PSGL-1 in coagulation and thrombosis. *Thrombosis and haemostasis* **92**:459-466.
- Vanholder R, De Smet R, Glorieux G, Argiles A, Baurmeister U, Brunet P, Clark W, Cohen G, De Deyn PP, Deppisch R, Descamps-Latscha B, Henle T, Jorres A, Lemke HD, Massy ZA, Passlick-Deetjen J, Rodriguez M, Stegmayr B, Stenvinkel P, Tetta C, Wanner C and Zidek W (2003) Review on uremic toxins: classification, concentration, and interindividual variability. *Kidney international* **63**:1934-1943.
- Vaziri ND, Paule P, Toohey J, Hung E, Alikhani S, Darwish R and Pahl MV (1984) Acquired deficiency and urinary excretion of antithrombin III in nephrotic syndrome. *Archives of internal medicine* **144**:1802-1803.
- Vigano-D'Angelo S, D'Angelo A, Kaufman CE, Jr., Sholer C, Esmon CT and Comp PC (1987) Protein S deficiency occurs in the nephrotic syndrome. *Annals of internal medicine* **107**:42-47.
- Vigano G, Benigni A, Mendogni D, Mingardi G, Mecca G and Remuzzi G (1991) Recombinant human erythropoietin to correct uremic bleeding. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation* **18**:44-49.



- Vlachoyannis J and Schoeppe W (1982) Adenylate cyclase activity and cAMP content of human platelets in uraemia. *European journal of clinical investigation* **12**:379-381.
- Vlahu CA, Lemkes BA, Struijk DG, Koopman MG, Krediet RT and Vink H (2012) Damage of the endothelial glycocalyx in dialysis patients. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* **23**:1900-1908.
- Wang JG, Williams JC, Davis BK, Jacobson K, Doerschuk CM, Ting JP and Mackman N (2011) Monocytic microparticles activate endothelial cells in an IL-1beta-dependent manner. *Blood* **118**:2366-2374.
- Ware JA, Clark BA, Smith M and Salzman EW (1989) Abnormalities of cytoplasmic Ca<sup>2+</sup> in platelets from patients with uremia. *Blood* **73**:172-176.
- Weber C, Sigrist M, Romann A, Whalen BA and Levin A (2011) Exploring the Relationships between Hemoglobin, the Endothelium and Vascular Health in Patients with Chronic Kidney Disease. *Nephron extra* **1**:190-200.
- Weisel JW and Litvinov RI (2019) Red blood cells: the forgotten player in hemostasis and thrombosis. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* **17**:271-282.
- Wolf P (1967) The nature and significance of platelet products in human plasma. *British journal of haematology* **13**:269-288.
- Wu CC, Hung SC, Kuo KL and Tarng DC (2017) Impact of Indoxyl Sulfate on Progenitor Cell-Related Neovascularization of Peripheral Arterial Disease and Post-Angioplasty Thrombosis of Dialysis Vascular Access. *Toxins* **9**.
- Wu VC, Wang YT, Wang CY, Tsai IJ, Wu KD, Hwang JJ and Hsueh PR (2006) High frequency of linezolid-associated thrombocytopenia and anemia among patients with end-stage renal disease. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **42**:66-72.
- Yang K, Du C, Wang X, Li F, Xu Y, Wang S, Chen S, Chen F, Shen M, Chen M, Hu M, He T, Su Y, Wang J and Zhao J (2017) Indoxyl sulfate induces platelet hyperactivity and contributes to chronic kidney disease-associated thrombosis in mice. *Blood* **129**:2667-2679.
- Yisireyili M, Saito S, Abudureyimu S, Adelibieke Y, Ng HY, Nishijima F, Takeshita K, Murohara T and Niwa T (2014) Indoxyl sulfate-induced activation of (pro)renin receptor promotes cell proliferation and tissue factor expression in vascular smooth muscle cells. *PLoS one* **9**:e109268.
- Zhang LJ, Zhang Z, Li SJ, Meinel FG, Nance JW, Jr., Zhou CS, Zhao YE, Schoepf UJ and Lu GM (2014) Pulmonary embolism and renal vein thrombosis in patients with nephrotic syndrome: prospective evaluation of prevalence and risk factors with CT. *Radiology* **273**:897-906.
- Zieman SJ, Melenovsky V and Kass DA (2005) Mechanisms, pathophysiology, and therapy of arterial stiffness. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* **25**:932-943.
- Zwaginga JJ, Ijsseldijk MJ, Beeser-Visser N, de Groot PG, Vos J and Sixma JJ (1990) High von Willebrand factor concentration compensates a relative adhesion defect in uremic blood. *Blood* **75**:1498-1508.

## **ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ**

(Τα Χαρακτηριστικά των Κλινικών Μελετών που περιελήφθησαν στη Συστηματική Ανασκόπηση)

Συγγραφέας	Είδος μελέτης		Πάσχοντες	Μάρτυρες	Είδος ΜΣ	Μέθοδος Μέτρησης	Συσχετίσεις/ Μετρήσεις	Συμπεράσματα	Σχόλια
Lee J, 2018	πασχόντων - μαρτύρων	in vivo	90 ασθενείς υπό αιμοκάθαρση	50 υγείς	MPs	ELISA	Συσχέτιση 10 βιοδεικτών με νευρολογικές διαταραχές αγγειακής αιτιολογίας	Σε ασθενείς υπό αιμοκάθαρση καταγράφεται σημαντική αύξηση των MPs-TF ( $p < 0.001$ ) σε σχέση με υγείς μάρτυρες	Τα επίπεδα των MPs-TF έχουν περιορισμένη αξία στην αξιολόγηση των νευρολογικών διαταραχών αγγειακής αιτιολογίας σε ασθενείς υπό αιμοκάθαρση
Martin N, 2018	διασταυρούμενες μετάβασης	in vivo, in vitro	11 ασθενείς υπό αιμοκάθαρση		PDMPs, EMPs, NMPs, MMPs	Κυτταρομετρία ροής	Μελέτη της επίδρασης της άσκησης κατά τη συνεδρία αιμοκάθαρσης στα επίπεδα των MPs	Ο αριθμός των MPs αυξάνεται κατά τη διάρκεια της συνεδρίας αιμοκάθαρσης και δεν επηρεάζεται από την άσκηση	Η άσκηση κατά τη διάρκεια της συνεδρίας αιμοκάθαρσης δεν επιδρά στην προθρομβωτική φύση των MPs αλλά τροποποιεί την προφλεγμονώδη λειτουργία τους
Georgatzakou HT, 2018	πασχόντων - μαρτύρων	in vivo, in vitro	32 ασθενείς με τελικού σταδίου ΧΝΝ (16 υπό αιμοδιαδιήθηση, 16 υπό κλασσική αιμοκάθαρση)	12 υγείς	RMPs	Κυτταρομετρία ροής	Μέτρηση των επιπέδων του συνόλου των MPs και επιπλέον των RMPs πριν και μετά τη συνεδρία αιμοκάθαρσης	Σε ασθενείς υπό αιμοκάθαρση παρατηρείται αύξηση των επιπέδων του συνολικού αριθμού MPs καθώς και των RMPs σε σχέση με υγείς μάρτυρες. Μετασυνεδριακά τα επίπεδα των MPs ομαλοποιούνται σε αντίθεση με τα επίπεδα των RMPs που παραμένουν υψηλά	Η αιμοκάθαρση έχει μικρή επίδραση στα RMPs, γεγονός που παρατηρείται κυρίως στην ομάδα των ασθενών υπό αιμοδιαδιήθηση, υπονοώντας ότι η αιμοκάθαρση per se διεγείρει τη διαδικασία κυστιδιοποίησης και απελευθέρωσης RMPs
Tangvoraphonkchai K, 2018	αμφίδρομη διασταυρούμενες μετάβασης	in vivo	10 ασθενείς υπό αιμοκάθαρση		MPs	Λειτουργική δοκιμασία προσδιορισμού της προπηκτικής δραστηριότητας των MPs (Zymuphen) σε πλάσμα πτωχό σε αιμοπετάλια	Σύγκριση διαφόρων παραμέτρων της πήξης και δεικτών ενεργοποίησής της, πριν και μετά την αιμοδιαδιήθηση υψηλών όγκων με γραμμική παραγωγή διαλύματος χρησιμοποιώντας δύο διαφορετικές μεμβράνες αιμοδιαδιήθησης	Μεμβράνες σχεδιασμένες για αιμοδιαδιήθηση υψηλών όγκων δεν αυξάνουν στατιστικά σημαντικά το σχηματισμό MPs ή το βαθμό ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων	Η αιμοδιαδιήθηση υψηλών όγκων με γραμμική παραγωγή διαλύματος δεν αυξάνει στατιστικά σημαντικά τον κίνδυνο θρόμβωσης του εξωσωματικού κυκλώματος παρά τη σημαντική αύξηση της γλοιότητας του αίματος που επιφέρει

Συγγραφέας	Είδος μελέτης		Πάσχοντες	Μάρτυρες	Είδος ΜΣ	Μέθοδος Μέτρησης	Συσχετίσεις/ Μετρήσεις	Συμπεράσματα	Σχόλια
Georgatzakou HT, 2017	πασχόντων - μαρτύρων	in vivo, in vitro	28 ασθενείς υπό αιμοκάθαρση	12 υγιείς	MPs, RMPs	Κυτταρομετρία ροής	Συσχέτιση των επιπέδων MPs πριν και μετά τη συνεδρία αιμοκάθαρσης με την ανταπόκριση ή όχι σε σταθερή χορήγηση EPO	Η συνεδρία αιμοκάθαρσης συσχετίζεται με μειωμένη συσσώρευση (αλλά όχι ομαλοποίηση) όλων των ειδών των AnnV+ MPs, συμπεριλαμβανομένων των RMPs, σε ασθενείς που ανταποκρίνονται σε σταθερές δόσεις EPO. Αντίθετα, αυτό δε παρατηρείται σε μη απαντητές στις συνήθεις δόσεις EPO	Το πλάσμα των ασθενών που δεν ανταποκρίνονται στη χορήγηση EPO μετά τη συνεδρία αιμοκάθαρσης περιείχε σημαντικά περισσότερα επίπεδα AnnV+ RMPs σε σχέση με το πλάσμα ασθενών που ανταποκρίνονται στη χορήγηση EPO. Η μελέτη αναδεικνύει διάφορες παθοφυσιολογικές διαταραχές συμπεριλαμβανομένης της μικροκυστιδιοποίησης της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης που πιθανώς συσχετίζονται με την ανθεκτική αναιμία των ασθενών με τελικού σταδίου ΧΝΝ
Carmona A, 2017	πασχόντων - μαρτύρων	in vivo	160 ασθενείς υπό αιμοκάθαρση	15 υγιείς	EMPs, PDMPs, MMPs	Κυτταρομετρία ροής	Αξιολόγηση των επιπέδων των MPs, των υποπληθυσμών μονοκυρήνων και του λόγου Ang2/Ang1 ως προγνωστικών δεικτών ενδοθηλιακής βλάβης σε αιμοκαθαιρόμενους ασθενείς	Τα επίπεδα των MPs, οι υποπληθυσμοί των μονοκυρήνων (CD14+/CD62+ και CD14+/CD62++), και ο λόγος Ang2/Ang1 αυξάνονται σε ασθενείς υπό αιμοκάθαρση με ΣΔ συγκρινόμενα με μη διαβητικούς ασθενείς. Επίπεδα MPs πέραν του μέσου όρου (264 MPs/μl) αποτελούν ανεξάρτητο προγνωστικό δείκτη αυξημένης θνητότητας	Τα επίπεδα MPs, οι υποπληθυσμοί μονοκυρήνων και ο λόγος Ang2/Ang1 μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως προγνωστικοί δείκτες καρδιαγγειακού κινδύνου

Συγγραφέας	Είδος μελέτης		Πάσχοντες	Μάρτυρες	Είδος ΜΣ	Μέθοδος Μέτρησης	Συσχετίσεις/ Μετρήσεις	Συμπεράσματα	Σχόλια
Esquivias-Motta E, 2017	διασταυρούμενες μεταβάσεις	in vivo	17 ασθενείς υπό αιμοκάθαρση		EMPs	Κυτταρομετρία ροής	Αξιολόγηση της επίδρασης της αιμοδιαδίθησης με ενδογενή επανέγχυση και της αιμοδιαδίθησης με γραμμική παραγωγή διαλύματος σε 2 ουραιμικές τοξίνες και 13 δείκτες φλεγμονής, ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας και οξειδωτικού στρες	Δε παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά των επιπέδων EMPs μεταξύ των δύο μοντέλων αιμοδιαδίθησης	Η εφαρμογή αιμοδιαδίθησης με ενδογενή επανέγχυση είναι ανώτερη της αιμοδιαδίθησης με γραμμική παραγωγή διαλύματος όσον αφορά την κάθαρση των ουραιμικών τοξινών μέσου MB, το οξειδωτικό στρες και τη χρόνια υποκλινική φλεγμονή
Okuda Y, 2016	πασχόντων - μαρτύρων	in vivo	47 ασθενείς υπό αιμοκάθαρση	56 ασθενείς με ΧΝΝ προτελικού ύ σταδίου	PDMPs	ELISA	Αξιολόγηση της προστατευτικής επίδρασης της τελεγγλιπτίνης στον καρδιαγγειακό κίνδυνο μέσα από τη μελέτη των επιπέδων της διαλυτής P-selectin, των PDMPs, του PAI-1, της διαλυτής E-selectin, του διαλυτού VCAM-1 και της adiponectin σε ασθενείς υπό αιμοκάθαρση και μη αιμοκαθαιρόμενους ασθενείς με ΣΔ	Η θεραπεία με τελεγγλιπτίνη μείωσε σημαντικά τα επίπεδα των PDMPs, της διαλυτής P-selectin και του PAI-1 σε σχέση με τα βασικά επίπεδα. Η μείωση των PDMPs και του PAI-1 ήταν πιο σημαντική σε ασθενείς υπό αιμοκάθαρση	Η τελεγγλιπτίνη μπορεί να είναι ωφέλιμη στην πρόληψη της αθηροθρόμβωσης σε ασθενείς με ΣΔ υπό αιμοκάθαρση
Gao C, 2015	πασχόντων - μαρτύρων	in vivo, in vitro	23 ασθενείς υπό αιμοκάθαρση, 25 με ΧΝΝ, 18 ασθενείς υπό περιτοναϊκή κάθαρση	20 υγιείς	EMPs, PDMPs, LEU-MPs, GrMPs, LYM-MPs, MMPs	Κυτταρομετρία ροής	Μέτρηση του συνόλου των MPs διαφορετικής κυτταρικής προέλευσης καθώς και της έκφρασης φωσφατιδυλοσερίνης.	Ο συνολικός αριθμός των MPs ήταν μεγαλύτερος στους ουραιμικούς ασθενείς, και ειδικά σε ασθενείς υπό αιμοκάθαρση, σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες – τα επίπεδα των RMPs, PDMPs και των LEU-MPs ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερα σε ασθενείς υπό αιμοκάθαρση σε σχέση με ασθενείς υπό περιτοναϊκή κάθαρση και ασθενείς με ΧΝΝ	Οι ουραιμικές τοξίνες και η διαδικασία της αιμοκάθαρσης καθ' αυτή συντελούν στη δημιουργία ενός εξαιρετικά προθρομβωτικού φαινοτύπου ο οποίος πρωτίστως συσχετίζεται με την έκφραση φωσφατιδυλοσερίνης στα απελευθερούμενα MPs από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα έμμορφα στοιχεία του αίματος

Συγγραφέας	Είδος μελέτης		Πάσχοντες	Μάρτυρες	Είδος ΜΣ	Μέθοδος Μέτρησης	Συσχετίσεις/ Μετρήσεις	Συμπεράσματα	Σχόλια
Soriano S, 2014	συγχρονική	in vivo, in vitro	75 ασθενείς με ΧΝΝ (σταδίου III-V)		EMP	Κυτταρομετρία ροής	Μέτρηση των EMPs και των υποπληθυσμών των EPCs, συμπεριλαμβανομένων εκείνων με οστεοβλαστικά χαρακτηριστικά, και συσχετίσή τους με την παρουσία αγγειακών επασβεστώσεων	Τα επίπεδα των EMPs καταγράφηκαν σημαντικά αυξημένα σε όλους τους ασθενείς με ΧΝΝ σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες. Μεταξύ των ασθενών με ΧΝΝ τα υψηλότερα επίπεδα EMPs αφορούσαν ασθενείς με αγγειακές επασβεστώσεις ενώ παράλληλα η ίδια ομάδα ασθενών παρουσίαζε τους χαμηλότερους αριθμούς EPCs	Η μελέτη αυτή αναδεικνύει τις συσχετίσεις μεταξύ της αύξησης των EMPs, του ελαττωμένου αριθμού των EPCs και του υψηλού ποσοστού των κυττάρων που εκφράζουν οστεοβλαστικά χαρακτηριστικά με την παρουσία αγγειακών επασβεστώσεων σε ασθενείς με ΧΝΝ
Moriya H, 2013	προοπτική		21 ασθενείς υπό αιμοκάθαρση		PDMPs	ELISA	Η επίδραση της διαμεσολαβούμενης από την αλσικρινή άμεσης αναστολής της ρενίνης στην ενδοθηλιακή λειτουργία και την αιμοπεταλιακή ενεργοποίηση σε ασθενείς υπό αιμοκάθαρση, μέσω καταγραφής της ενδοθηλιοεξαρτώμενης αγγειοδιαστολής (FMD) και των επιπέδων των PDMPs αντίστοιχα	Η αλσικρινή, ένας άμεσος αναστολέας της ρενίνης, βελτίωσε την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και τα επίπεδα των PDMPs, ανεξαρτήτως της αντιυπερτασικής της δράσης	Η αλσικρινή βελτίωσε την ενδοθηλιακή λειτουργία και τις αλληλεπιδράσεις αιμοπεταλίων – ενδοθηλίου σε ασθενείς υπό αιμοκάθαρση, ανεξάρτητα από την επίδρασή της στη συστηματική αρτηριακή πίεση
Ariza F, 2013	διασταυρούμενης μετάβασης	in vivo	12 ασθενείς υπό αιμοκάθαρση		EMP	Κυτταρομετρία ροής	Σύγκριση κλασσικής αιμοκάθαρσης με φίλτρο υψηλής διαπερατότητας και δύο τεχνικών αιμοδιαδιήθησης με ενδιάμεση και κλασσική συνεχή γραμμική παραγωγή διαλύματος με φίλτρο υψηλής διαπερατότητας	Ο αριθμός των αποπτωτικών EMPs μειώθηκε στα δύο μοντέλα αιμοδιαδιήθησης σε αντίθεση με την κλασσική αιμοκάθαρση με φίλτρο υψηλής διαπερατότητας. Τα επίπεδα των EPCs ήταν υψηλότερα στην αιμοδιαδιήθηση ανεξαρτήτως τεχνικής σε σχέση με την κλασσική αιμοκάθαρση με φίλτρο υψηλής διαπερατότητας. Ο αριθμός των CD14+CD16+ μονοκυττάρων μειώθηκε σημαντικά με την εφαρμογή των δύο μοντέλων αιμοδιαδιήθησης σε σχέση με την κλασσική αιμοκάθαρση	Δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις δύο μεθόδους αιμοδιαδιήθησης αναφορικά με την κάθαρση ουραιμικών τοξινών μέσου και μεγάλου μοριακού βάρους - τα EPCs αντιπροσωπεύουν ένα δείκτη της ικανότητας επιδιόρθωσης του ενδοθηλίου ενώ τα EMPs αποτελούν βιοδείκτη ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας. Η αιμοδιαδιήθηση βελτιώνει τη χρόνια υποκλινική φλεγμονή και την ισορροπία μεταξύ επανορθωτικών και βλαπτικών παραγόντων επί του ενδοθηλίου

Συγγραφέας	Είδος μελέτης		Πάσχοντες	Μάρτυρες	Είδος ΜΣ	Μέθοδος Μέτρησης	Συσχετίσεις/ Μετρήσεις	Συμπεράσματα	Σχόλια
Sakurai K, 2013	διασταυρούμενη μετάβασης	in vivo	5 ασθενείς υπό αιμοκάθαρση		PDMPs	ELISA	Συγκριτική μελέτη των δύο τεχνικών αιμοδιαδίθησης με έγχυση υγρού υποκατάστασης πριν ή μετά το φίλτρο. Μετρήθηκαν διάφοροι παράγοντες η IL-6, ο ICAM-1 και τα PDMPs πριν και μετά τη συνεδρία αιμοκάθαρσης	Και στα δύο μοντέλα αιμοδιαδίθησης παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων PDMPs μετασυνεδριακά	Η έγχυση υγρού υποκατάστασης προ φίλτρου αναδεικνύεται πιο ευνοϊκή σε σχέση με την μετά το φίλτρο έγχυση αναφορικά με τον βαθμό ενεργοποίησης των πολυμορφοκυττάρων και λεμφοκυττάρων
Burton JO, 2013	πασχόντων - μαρτύρων	in vivo, in vitro	20 ασθενείς υπό αιμοκάθαρση, 17 ασθενείς υπό περιτοναϊκή κάθαρση	20 υγιείς	EMPs, PDMPs	electron microscopy nanoparticle tracking analysis (NTA), Western Blotting	Μέτρηση των κυκλοφορούντων EMPs και PDMPs σε δύο ομάδες ασθενών υπό εξωνεφρική κάθαρση και αντίστοιχους μάρτυρες και εκτίμηση του σχετιζόμενου θρομβοεμβολικού κινδύνου	Τα κυκλοφορούντα επίπεδα των PDMPs και των EMPs ήταν σημαντικά υψηλότερα στους ασθενείς υπό αιμοκάθαρση σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες και επιπλέον παρουσίαζαν υψηλή προληπτική δραστηριότητα	Η μελέτη δεν ανέδειξε διαφορές στα επίπεδα των αιμοπεταλιακών και ενδοθηλιακών MPs μεταξύ των ασθενών υπό περιτοναϊκή κάθαρση – αλλά τα MPs ασθενών με τελικού σταδίου ΧΝΝ παρουσίαζαν έντονη προληπτική δραστηριότητα και σχετιζόνταν με υψηλό δυναμικό γένεσης θρομβίνης
Ryu JH, 2012	πασχόντων - μαρτύρων	in vivo	82 ασθενείς υπό αιμοκάθαρση	26 υγιείς	EMPs, PDMPs	Κυτταρομετρία ροής	Συσχέτιση των επιπέδων των κυκλοφορούντων MPs με την ικανότητα διατήρησης της βατότητας της αγγειακής προσπέλασης στο χρόνο, σε ασθενείς υπό αιμοκάθαρση	Τα επίπεδα των EMPs και PDMPs ήταν σημαντικά αυξημένα στους ασθενείς σε σχέση με του υγιείς μάρτυρες. Υπήρξε ισχυρή θετική συσχέτιση των επιπέδων EMPs με τα επίπεδα PDMPs. Υψηλά επίπεδα αυτών σχετίζονται με τις διεργασίες φλεγμονής και θρόμβωσης της αγγειακής προσπέλασης	Στους μη διαβητικούς ασθενείς υπό αιμοκάθαρση, τα αυξημένα επίπεδα των EMPs και PDMPs συσχετίστηκαν με μειωμένη επιβίωση της αγγειακής προσπέλασης (<1 χρόνο) ενώ η διατήρηση της βατότητας της προσπέλασης για χρονικό διάστημα > 4 ετών συσχετίστηκε με χαμηλότερα επίπεδα EMPs και PDMPs

Συγγραφέας	Είδος μελέτης		Πάσχοντες	Μάρτυρες	Είδος ΜΣ	Μέθοδος Μέτρησης	Συσχετίσεις/ Μετρήσεις	Συμπεράσματα	Σχόλια
Amabile N, 2012	προοπτική	in vivo	81 ασθενείς υπό αιμοκάθαρση		EMPS, PDMPs, RMPs	Κυτταρομετρία ροής	Μέτρηση των επιπέδων των MPs 72ώρες μετά την τελευταία συνεδρία αιμοκάθαρσης και συσχετίσή τους με το θανατηφόρο έμφραγμα του μυοκαρδίου, το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, το οξύ πνευμονικό οίδημα και τον αιφνίδιο καρδιακό θάνατο	Τα αυξημένα επίπεδα EMPs στο πλάσμα αποτελούν ανεξάρτητο και ισχυρό προγνωστικό δείκτη όλων των αιτιών καρδιαγγειακής θνητότητας, ενώ τα MPs άλλης κυτταρικής προέλευσης όχι	Σε σχέση με άλλους παραδοσιακούς παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου τα EMPs αποτελούν έναν ισχυρό και ανεξάρτητο προγνωστικό βιοδείκτη
Trappenburg MC, 2012	συγχρονική	in vivo	10 ασθενείς υπό αιμοκάθαρση, 8 ασθενείς με XNN (σταδίου IV), 9 ασθενείς υπό περιτοναϊκή κάθαρση	10 υγιείς	EMPs, PDMPs, RMPs, NMPs, TF-MPs	Κυτταρομετρία ροής	Μέτρηση των επιπέδων όλων των ειδών MPs σε διαφορετικές ομάδες ασθενών με XNN (ασθενείς με XNN σταδίου IV, υπό περιτοναϊκή κάθαρση και υπό αιμοκάθαρση)	Οι ασθενείς με XNN είχαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερα επίπεδα MPs σε σχέση με τους υγιείς. Δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές ως προς τα επίπεδα των MPs μεταξύ των υποομάδων ασθενών με XNN υπό θεραπεία. Δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές των επιπέδων MPs πριν και μετά τη συνεδρία αιμοκάθαρσης. Τα EMPs και τα TF-MPs ήταν υψηλότερα σε όλους τους ασθενείς με XNN. Η αύξηση του αριθμού των προπηκτικών MPs δεν συνοδεύεται με αυξημένη ικανότητα γένεση θρομβίνης	Σε ασθενείς με XNN τα PDMPs αποτελούν την πλειονότητα των κυκλοφορούντων MPs, όμως η προπηκτική τους δραστηριότητα είναι περιορισμένη εξαιτίας των λειτουργικών διαταραχών του ουραιμικού αιμοπεταλίου.
Weber , 2011C	προοπτική	in vivo	25 ασθενείς με XNN τελικού σταδίου (υπό αιμοκάθαρση ή περιτοναϊκή κάθαρση), 21 ασθενείς με XNN		EMPs	Κυτταρομετρία ροής	Συσχέτιση των επιπέδων EMPs, με την αιμοσφαιρίνη και την ταχύτητα μετάδοσης του σφυγμικού κύματος σε ασθενείς με XNN προτελικού σταδίου και XNN υπό αιμοκάθαρση ή περιτοναϊκή κάθαρση στους 0, 3 και 6 μήνες	Δεν παρατηρήθηκε καμία συσχέτιση μεταξύ της αναμίας, της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας και της αρτηριακής σκληρίας σε αυτή την ετερογενή σειρά ασθενών	Τα επίπεδα της ασύμμετρης διμεθυλαργινίνης (ADMA) συσχετίστηκαν θετικά με την ταχύτητα μετάδοσης του σφυγμικού κύματος σε όλη τη διάρκεια της μελέτης



Συγγραφέας	Είδος μελέτης		Πάσχοντες	Μάρτυρες	Είδος ΜΣ	Μέθοδος Μέτρησης	Συσχετίσεις/ Μετρήσεις	Συμπεράσματα	Σχόλια
Merino A, 2010	συγχρονική	in vivo	14 ασθενείς με τελικού σταδίου ΧΝΝ, 15 ασθενείς υπό αιμοκάθαρση, 25 ασθενείς υπό περιτοναϊκή κάθαρση	10 υγιείς	EMPΣ	Κυτταρομετρία ροής	Σύγκριση των επιπέδων των EMPs, του VEGF και των CD14+CD16+ μονοκυττάρων σε υγιείς και ασθενείς με ΧΝΝ τελικού σταδίου και ΧΝΝ τελικού σταδίου υπό θεραπεία υποκατάστασης της νεφρικής λειτουργίας	Στο σύνολό τους οι ουραιμικοί ασθενείς παρουσιάζουν αυξημένα επίπεδα EMPs και VEGF σε σχέση με τους υγιείς. Οι ασθενείς υπό αιμοκάθαρση και ΧΝΝ σταδίου V έχουν υψηλότερα επίπεδα ενεργοποιημένων μονοκυττάρων σε σχέση με τους ασθενείς υπό περιτοναϊκή κάθαρση.	Τα επίπεδα των EMPs και VEGF ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερα σε ασθενείς υπό αιμοκάθαρση σε σχέση με όλες τις άλλες ομάδες ασθενών και συσχετιζόνταν με τα επίπεδα των ενεργοποιημένων μονοκυττάρων. Σε ασθενείς υπό αιμοκάθαρση υπάρχει συσχέτιση της ενδοθηλιακής βλάβης και της χρόνιας υποκλινικής φλεγμονής.
Meijers BK, 2009	προοπτική	in vivo, in vitro	100 ασθενείς υπό αιμοκάθαρση		EMPΣ, PDMPs	Κυτταρομετρία ροής	Συσχέτιση των επιπέδων της ουραιμικής τοξίνης p-cresol και δεικτών ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας όπως η διαλυτή P-selectin και τα κυκλοφορούντα EMPs	1. ισχυρή θετική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της ελεύθερης p-cresol και του αριθμού των κυκλοφορούντων EMPs 2. η τοξίνη p-cresyl sulfate αποτελεί in vitro ισχυρό ερέθισμα απελευθέρωσης EMPs πιθανόν με τη διαμεσολάβηση της σηματοδοτικής οδού της Rho-κινάσης	Οι διαταραχές μεταβολισμού των μετάλλων ασβεστίου και φωσφόρου συσχετίστηκαν άμεσα με τα επίπεδα των κυκλοφορούντων EMPs ενώ η χορήγηση δραστικών μεταβολιτών της βιταμίνης D βελτίωσε την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία αυτών των ασθενών
Jourde-Chiche N, 2009	πασχόντων - μαρτύρων	in vivo, in vitro	38 ασθενείς υπό αιμοκάθαρση	21 υγιείς	EMPΣ	Κυτταρομετρία ροής	Συσχέτιση των επιπέδων των ενδοθηλιακών προγεννητόρων με τα επίπεδα των ουραιμικών τοξινών, των κυκλοφορούντων EMPs, και άλλων δεικτών ενδοθηλιακής βλάβης (ταχύτητα μετάδοσης σφυγμικού κύματος)	Τα επίπεδα των EMPs ήταν υψηλότερα σε ασθενείς υπό αιμοκάθαρση σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες. Η ενδοθηλιακή βλάβη επάγει την κινητοποίηση των ενδοθηλιακών προγεννητόρων ακόμη και αν τα επίπεδά τους είναι μειωμένα	Οι ουραιμικές τοξίνες και η ενδοθηλιακή βλάβη όπως αυτή εκφράζεται από τα επίπεδα των EMPs επιδρούν καθοριστικά στην βιολογία των ενδοθηλιακών προγεννητόρων στη ΧΝΝ

Συγγραφέας	Είδος μελέτης		Πάσχοντες	Μάρτυρες	Είδος ΜΣ	Μέθοδος Μέτρησης	Συσχετίσεις/ Μετρήσεις	Συμπεράσματα	Σχόλια
Dursun , 2009	συγχρονική	in vivo, in vitro	12 ασθενείς υπό αιμοκάθαρση, 25 υπό περιτοναϊκή κάθαρση, 33 με XNN	18 υγιείς	EMPs	Κυτταρομετρία ροής	Συσχέτιση των επιπέδων των κυκλοφορούντων EMPs με την αρτηριακή σκληρία και την πρώιμη αθηροσκλήρωση σε παιδιατρικό πληθυσμό. Ως δείκτες χρησιμοποιήθηκαν αντίστοιχα, η ταχύτητα μετάδοσης του σφυγμικού κύματος και το πάχος του έσω και μέσου χιτώνα της καρωτίδας	Τα επίπεδα των κυκλοφορούντων EMPs, της αρτηριακής σκληρίας και της πρώιμης αθηροσκλήρωσης ήταν σημαντικά υψηλότερα στους ουραιμικούς ασθενείς σε σχέση με τους υγιείς. Επιπλέον, οι ίδιες παράμετροι ήταν σημαντικά υψηλότερες στους ασθενείς που υποβάλλονταν σε θεραπεία υποκατάστασης της νεφρικής λειτουργίας σε σχέση με τους ασθενείς με προτελικού σταδίου XNN	Η ενδοθηλιακή βλάβη αποτελεί πρώιμο γεγονός στην πορεία εξέλιξης της XNN. Τα επίπεδα των EMPs αποτελούν αξιόπιστο δείκτη αρτηριακής σκληρίας και υποκλινικής αθηροσκλήρωσης
Al-Massarani G, 2008	πασχόντων - μαρτύρων	in vivo	52 ασθενείς υπό αιμοκάθαρση που υποβλήθηκαν σε νεφρική μεταμόσχευση	50 υγιείς	EMPs	Κυτταρομετρία ροής	Αξιολόγηση των επιπέδων των κυκλοφορούντων ενδοθηλιακών κυττάρων (CEC), των EMPs και της sVCAM-1 σε ασθενείς με XNN τελικού σταδίου πριν και μετά τη μεταμόσχευση και συσχέτισή τους με 2 διαφορετικά ανοσοκατασταλτικά σχήματα.	1. Τα επίπεδα όλων των δεικτών ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας προ μεταμόσχευσης ήταν σημαντικά υψηλότερα σε σχέση με των υγιών μαρτύρων, 2. Σημαντική μείωση των επιπέδων των EMPs παρατηρήθηκε ένα χρόνο μετά τη μεταμόσχευση	Η μελέτη αυτή επιβεβαιώνει την ευνοϊκή επίδραση της νεφρικής μεταμόσχευσης στη λειτουργία του ενδοθελίου και τονίζει την ανωτερότητα του θεραπευτικού σχήματος cyclosporine/ azathioprine σε σχέση με το συνδυασμό tacrolimus/ mycophenolate mofetil
Ramirez R, 2007	πασχόντων - μαρτύρων	in vivo	15 ασθενείς υπό αιμοκάθαρση	5 υγιείς	EMPs	Κυτταρομετρία ροής	Σύγκριση της κλασικής αιμοκάθαρσης με μεμβράνη υψηλής διαπερατότητας (HF-HD) με την αιμοκάθαρση με γραμμική παραγωγή διαλύματος (OL-HDF) σχετικά με την επίδραση τους στα επίπεδα των CD14+ CD16+ μονοκυττάρων, EMPs και EPCs.	Τα επίπεδα των CD14+ CD16+ μονοκυττάρων μειώνονται κατά τη μετάβαση των ασθενών από HF-HD σε OL-HDF. Παρομοίως μειώνονται τα επίπεδα των EMPs και EPCs.	Το μοντέλο της OL-HDF βελτιώνει την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και τη χρόνια υποκλινική φλεγμονή πιθανώς εξαιτίας της ικανότητάς της να απομακρύνει αποτελεσματικότερα ουραιμικές τοξίνες μέσου μοριακού βάρους

Συγγραφέας	Είδος μελέτης		Πάσχοντες	Μάρτυρες	Είδος ΜΣ	Μέθοδος Μέτρησης	Συσχετίσεις/ Μετρήσεις	Συμπεράσματα	Σχόλια
Boulangier CM, 2007	πασχόντων - μαρτύρων	in vivo	34 ασθενείς υπό αιμοκάθαρση	25 υγιείς	PDMPs, EMPs	Κυτταρομετρία ροής	Συσχέτιση των επιπέδων των κυκλοφορούντων MPs με τις τιμές διατμητικής τάσης σε υψηλού καρδιαγγειακού κινδύνου ασθενείς υπό αιμοκάθαρση. Μελέτη των μεταβολών της γλοιότητας αίματος και συσχέτισή τους με μεταβολές της διατμητικής τάσης και των επιπέδων των EMPs	Η παρούσα μελέτη παρουσιάζει την αντίστροφη σχέση μεταξύ της διατμητικής τάσης και των επιπέδων EMPs σε ασθενείς υπό αιμοκάθαρση ενώ παράλληλα αναδεικνύει το ρόλο της αναιμίας ως καθοριστικού παράγοντα της ενδοθηλιακής απόπτωσης	Η χαμηλή διατμητική τάση και η αναιμία διεγείρουν την παραγωγή EMPs διαμέσου αύξησης των ερεθισμάτων που σχετίζονται με τον ενδοθηλιακό αποπτωτικό θάνατο. Πιθανόν μέσω του παραπάνω μηχανισμού επιδρούν με έμμεσο τρόπο στις διαδικασίες επιταχυνόμενης αθηροσκλήρωσης
Daniel L, 2006	πασχόντων - μαρτύρων	in vivo	40 ασθενείς υπό αιμοκάθαρση, 46 ασθενείς με συστηματική αγγειίτιδα και 127 ασθενείς με ΧΝΝ	20 υγιείς	PDMPs, NDMPs	Κυτταρομετρία ροής	Μέτρηση των επιπέδων των NDMPs και των PDMPs σε ασθενείς υπό αιμοκάθαρση, με οξεία αγγειίτιδα και διάφορα άλλα αίτια ΧΝΝ	Κατά τη διάρκεια της αιμοκάθαρσης παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση των επιπέδων των πολυμορφοκυτταρικών και αιμοπεταλιακών MPs καθώς και των υβριδικών MPs που συνεκφράζουν προσκολλητικά μόρια και των δύο τύπων κυττάρων. Σε ασθενείς με αγγειίτιδα καταγράφηκαν τα υψηλότερα επίπεδα όλων των ειδών MPs	Τα επίπεδα των πολυμορφοκυτταρικών, αιμοπεταλιακών και υβριδικών μορφών MPs αποτελούν μη ειδικούς δείκτες ενεργοποίησης των πολυμορφοκυτταρικών κατά την οξεία φάση της συστηματικής αγγειίτιδας και στην επαγόμενη από την αιμοκάθαρση φλεγμονή. Οι υβριδικές μορφές MPs αποτελούν το συνδετικό κρίκο στις διαδικασίες θρομβοφλεγμονής
Faure V, 2006	συγχρονική	in vivo, in vitro	45 ασθενείς με ΧΝΝ, 30 ασθενείς υπό αιμοκάθαρση	36 υγιείς	EMPs, PDMPs, LEU-MPs, Annexin V+ MPs	Κυτταρομετρία ροής	Μέτρηση των επιπέδων των κυκλοφορούντων MPs σε ασθενείς με ΧΝΝ προτελικού και τελικού σταδίου σε σχέση με υγιείς	Τα Annexin V+ MPs ήταν σημαντικά αυξημένα σε όλους τους ουραιμικούς ασθενείς όπως και τα επίπεδα των EMPs και PDMPs. Τα επίπεδα των LMPs καταγράφηκαν αυξημένα μόνο στην ομάδα των ασθενών υπό αιμοκάθαρση	Σχετικά με τα επίπεδα των EMPs δεν καταγράφηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων ασθενών με ΧΝΝ προτελικού και τελικού σταδίου. Από την in vitro μελέτη θεωρήθηκε ότι οι ουραιμικές τοξίνες εμπλέκονται στην ενδοθηλιακή δυσλειτουργία μέσω των EMPs

Συγγραφέας	Είδος μελέτης		Πάσχοντες	Μάρτυρες	Είδος ΜΣ	Μέθοδος Μέτρησης	Συσχετίσεις/ Μετρήσεις	Συμπεράσματα	Σχόλια
Inami N, 2004	πασχόντων - μαρτύρων	in vivo	30 ασθενείς υπό αιμοκάθαρση	20 υγιείς	PDMPs	ELISA	Συσχέτιση των επιπέδων των PDMPs με τα επίπεδα των sL-, sE-, sP σελεκτινών σε ασθενείς υπό αιμοκάθαρση -πριν και μετά τη συνεδρία - και υγιείς	Πριν τη συνεδρία τα επίπεδα των PDMPs και διαλυτών σελεκτινών ήταν σημαντικά υψηλότερα σε σχέση με αυτά των υγιών μαρτύρων. Μετά τη συνεδρία τα επίπεδα των PDMPs και sL-σελεκτινών αυξάνονται επιπλέον σε σχέση με τα προ της συνεδρίας επίπεδα	Η ισχυρή θετική συσχέτιση των PDMPs με τη sL-σελεκτίνη υποδηλώνει τη διαμεσολάβησή τους στην ενεργοποίηση των λευκοκυττάρων και την ικανότητα κύλισης στο ενδοθήλιο στο αρχικό στάδιο της αθηροσκλήρωσης
Chuang YC, 2003	πασχόντων - μαρτύρων	in vivo	38 ασθενείς υπό αιμοκάθαρση (23 με επανειλημμένα επεισόδια θρόμβωσης της αγγειακής προσπέλασης, 15 με μακρόχρονη επιβίωση της αγγειακής προσπέλασης)	10 υγιείς	PDMPs	Κυτταρομετρία ροής	Συσχέτιση των δεικτών ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων ( CD62P και GPIIb-IIIa) και των επιπέδων των PDMPs σε ασθενείς υπό αιμοκάθαρση με την επιβίωση της αγγειακής προσπέλασης ( φυσικής αρτηριοφλεβικής αναστόμωσης ή συνθετικού μοσχεύματος)	Δεν παρατηρήθηκε σημαντική συσχέτιση των επιπέδων των PDMPs με την επιβίωση της αγγειακής προσπέλασης σε αντίθεση με τους άλλους δείκτες αιμοπεταλιακής ενεργοποίησης	Τα επίπεδα των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων σχετίζονται με βραχεία επιβίωση της αγγειακής προσπέλασης και αποτελούν πιθανό προγνωστικό παράγοντα θρόμβωσής της.

Συγγραφέας	Είδος μελέτης		Πάσχοντες	Μάρτυρες	Είδος ΜΣ	Μέθοδος Μέτρησης	Συσχετίσεις/ Μετρήσεις	Συμπεράσματα	Σχόλια
Ando M, 2002	πασχόντων - μαρτύρων	in vivo	20 ασθενείς με ΧΝΝ, 46 ασθενείς υπό αιμοκάθαρση, 23 ασθενείς υπό περιτοναϊκή κάθαρση	29 υγιείς	PDMPs	Κυτταρομετρία ροής	Μελέτη της επίδρασης της διαδικασίας αιμοκάθαρσης per se, της αρτηριοφλεβικής αναστόμωσης και της θεραπείας με ανθρώπινη ανασυνδυασμένη ερυθροποιητίνη στην απελευθέρωση των PDMPs	1. τα επίπεδα των PDMPs ήταν σημαντικά υψηλότερα σε όλες τις ομάδες ουραιμικών ασθενών σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες και καμία διαφορά δεν καταγράφηκε μεταξύ τους, 2. Τα επίπεδα PDMPs ήταν σημαντικά υψηλότερα σε ουραιμικούς ασθενείς με ιστορικό θρομβωτικών επεισοδίων σε σχέση με εκείνους που δεν είχαν θρομβωτικό επεισόδιο στο ιστορικό τους 3. Η συνεδρία της αιμοκάθαρσης και η παρουσία αρτηριοφλεβικής αναστόμωσης δεν επηρεάζουν τα επίπεδα των PDMPs , αλλά η θεραπεία με ανθρώπινη ανασυνδυασμένη ερυθροποιητίνη πιθανώς διεγείρει την απελευθέρωση PDMPs σε αυτούς τους ασθενείς	Τα αυξημένα επίπεδα PDMPs μπορεί να θεωρηθούν ότι συμμετέχουν στην εκδήλωση του προθρομβωτικού φαινοτύπου σε ουραιμικούς ασθενείς
Gawaz M, 1994	συγχρονική	in vivo	7 ασθενείς υπό αιμοκάθαρση		PDMPs	Κυτταρομετρία ροής	Αξιολόγηση των αλληλεπιδράσεων των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων και PDMPs με τα λευκοκύτταρα. Μελετήθηκε η έκφραση των GPIIb-IIIa και CD62 στη επιφάνεια των πολυμορφοκυττάρων και μονοκυττάρων	Παρατηρήθηκε αυξημένη ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και απελευθέρωση PDMPs κατά τη συνεδρία αιμοκάθαρσης. Επίσης, αυξημένη ήταν και η προσκολλητικότητα τους στα κυκλοφορούντα λευκοκύτταρα.	Το φαινόμενο της αλληλεπίδρασης αιμοπεταλίων και PDMPs με τα κυκλοφορούντα λευκοκύτταρα αποτελεί την αιτία της επαγόμενης από την αιμοκάθαρση λευκοπενίας

*ΧΝΝ: ΧΝΝ; ΜPs: MVsMP-TF: MVs φέροντα Ιστικό Παράγοντα EPCs: E; EMPs: Ενδοθηλιακά Μικροκυστίδια; PDMPs: Αιμοπεταλιακά MVs; LEU-MPs: Λευκοκυτταρικά Μικροκυστίδια; NMPs: Πολυμορφοκυτταρικά Μικροκυστίδια; MMPs: Μονοκυτταρικά Μικροκυστίδια; Gr-MPs: MVs προερχόμενα από Μακροφάγα LYM-MPs: Λεμφοκυτταρικά Μικροκυστίδια; RMPs: Ερυθροκυτταρικά MVs, Ang: Αγγειοποιητίνη; Ann-V: Ανεξίτη-Ν; PAI-1: Ιστικός Ενεργοποιητής Πλασμινογόνου -1; VCAM-1: Vascular Cell Adhesion Molecule 1; VEGF: Αγγειακός Ενδοθηλιακός Αυξητικός Παράγοντας HF-HD: κλασική αιμοκάθαρση με μεμβράνη υψηλής διαπερατότητας; OL-HDF: αιμοκάθαρση με γραμμική παραγωγή διαλύματος*



