

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ  
ΠΣΕ ΙΑΤΡΙΚΗ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ

## ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Με θέμα:

**Τυποποίηση της μεθοδολογίας ανιχνεύσεως  
αντιπηκτικών του λύκου και η εφαρμογή της  
για την διάγνωση του αντιφωσφολιπιδικού  
συνδρόμου σε πληθυσμό ατόμων που  
νοσηλεύονται στο νοσοκομείο για θρομβωτικά  
επεισόδια.**

*της σοφίας δημ. αλμπανίδου*

**Λάρισα Δεκέμβριος 2002**

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ ΕΠΙΛΟΓΗΣ  
ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ  
Ημερομ. 07.01.2003  
Αριθ. Πρωτ. 2459

ερ. εισ. ... 3/2002



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗΣ & ΠΛΗΡΟΦΟΡΗΣΗΣ  
ΕΙΔΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ «ΓΚΡΙΖΑ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ»**

Αριθ. Εισ.: 2306/1  
Ημερ. Εισ.: 31/1/2003  
Δωρεά:  
Ταξιδετικός Κωδικός: ΠΤ-ΠΣΕ-ΙΒ  
2002  
ΑΛΜ

**Τυποποίηση της μεθοδολογίας ανιχνεύσεως  
αντιπηκτικών του λύκου και η εφαρμογή της για την  
διάγνωση του αντιφωσφολιπιδικού συνδρόμου σε  
πληθυσμό ατόμων που νοσηλεύονται στο νοσοκομείο για  
θρομβωτικά επεισόδια.**

*Επιβλέποντες καθηγητές: Σταθάκης Νικόλαος  
Κυριάκου Δέσποινα*

**Επιτροπή αξιολόγησης:  
Σταθάκης Νικόλαος, Καθηγητής Παθολογίας  
Κυριάκου Δέσποινα, Επίκουρος Καθηγήτρια Παθολογίας -  
Ιατρικής των Μεταγγίσεων  
Γεωργάτσου Έλενα, Επίκουρος Καθηγήτρια Βιοχημείας**

# ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Το αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο θεωρείται ως κύρια αιτία επίκτητης υπερπηκτικότητας. Εμφανίζεται σε άτομα με χωρίς υποκείμενο νόσημα, αλλά μπορεί και να συνυπάρχει με άλλα νοσήματα, όπως με τον συστηματικό ερυθματώδη λύκο, με νόσους του συνδετικού ιστού, με ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα, με κακοήθειες καθώς και με άλλες νόσους.

Οφείλεται σε αυτοαντισώματα, που μπορεί να είναι αντικαρδιολιπινικά αντισώματα ή/και αντιπηκτικό του λύκου, και αποτελούν αιτία νοσηρότητας, αλλά και θνητότητας των ατόμων που τα φέρουν.

Οι κλινικές μελέτες δείχνουν, ότι το αντιπηκτικό του λύκου, είναι ισχυρός παράγοντας κινδύνου θρομβωτικών φαινομένων, αλλά η σχετική μεθοδολογία για την ανίχνευση του, από την φύση της δεν είναι εύκολα τυποποιήσιμη.

Αυτό αποτέλεσε ένα από τα αντικείμενα της εργασίας.

Επίσης μελετήθηκε εάν το αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο είναι αιτία εμφάνισης αγγειακών εγκεφαλικών επεισοδίων και οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου.

Η εργασία εκπονήθηκε στο Αιματολογικό Εργαστήριο του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου της Λάρισας και ευχαριστώ το προσωπικό του για την συνεργασία του κατά το διάστημα της παρουσίας μου εκεί.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ.κ. Ν. Σταθάκη, Καθηγητή Παθολογίας και την κ.κ. Δ. Κυριάκου, Επίκουρο Καθηγήτρια Παθολογίας - Ιατρικής των Μεταγγίσεων για την εμπιστοσύνη, το ενδιαφέρον, την υποστήριξη και την καθοδήγηση τους, καθώς και την κ.κ. Ε. Γεωργιάτσου, Επίκουρο Καθηγήτρια Βιοχημείας, για το ενδιαφέρον της και την αξιολόγηση της πτυχιακής μου εργασίας .

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω προσωπικά τα μέλη της οικογένειάς μου για την υπομονή, τις πολύτιμες συμβουλές και την υποστήριξη τους.

# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ.....	1
<b>ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>	
Μηχανισμός της πήξης .....	3
Υπερπηκτικές καταστάσεις .....	4
ΑΝΤΙΦΩΣΦΟΛΙΠΙΔΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ.....	5
Γενικές εκτιμήσεις	
Επιδημιολογία	
Γενετικοί παράγοντες	
ΑΝΤΙΠΗΚΤΙΚΟ ΤΟΥ ΛΥΚΟΥ.....	12
Μηχανισμός δράσης του αντιπηκτικού του λύκου	
ΑΝΤΙΦΩΣΦΟΛΙΠΙΔΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΚΑΙ Β <sub>2</sub> -GPI.....	16
ΚΛΙΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΓΝΩΡΙΣΜΑΤΑ.....	20
ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΓΝΩΡΙΣΜΑΤΑ.....	24
ΠΑΘΟΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΘΡΟΜΒΩΣΗΣ.....	26
aPL και ινωδολυτικός μηχανισμός	
aPL και ενεργοποίηση αιμοπεταλίων	
aPL και αννεξίνη V	
aPL και οδός του ιστικού παράγοντα	
aPL και οδός της pC	
aPL και απόπτωσης	
ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΟΥ APS ΜΕ ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ.....	39
Εγκεφαλική ισχαιμία	
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΤΟΥ APS.....	42
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΟΥ LA.....	45
ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΠΟΣΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ LA.....	50
ΘΕΡΑΠΕΙΑ.....	51
<b>ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>	
ΑΣΘΕΝΕΙΣ, ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	55
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	67
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	72
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	73
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	74
ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ.....	84



## ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Το αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο (APS) είναι μια αυτοάνοση διαταραχή, στην οποία τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα (aPL) εμπλέκονται στην δημιουργία φλεβικής ή/και αρτηριακής θρόμβωσης.

aPL που βρίσκονται σε αυτό το σύνδρομο είναι αντισώματα που κατευθύνονται ενάντια σε σύμπλοκα πρωτεϊνών - φωσφολιπιδίων (PL), από τα οποία η  $\beta_2$  - γλυκοπρωτεΐνη I ( $\beta_2$ -GPI) και η προθρομβίνη, θεωρούνται ότι είναι σημαντικοί αντιγονικοί στόχοι.

Αυτό - aPL που δεσμεύονται μέσω της  $\beta_2$ -GPI στην καρδιολιπίνη, καλούνται αντικαρδιολιπινικά αντισώματα (aCL).

Μερικά από αυτά τα aPL παρατείνουν τις PL - εξαρτώμενες αντιδράσεις της πήξης *in vitro* και καλούνται αντιπηκτικά του λύκου (LA).

Οι κλινικές μελέτες δείχνουν ότι τα LA, είναι ισχυρότερος παράγοντας κινδύνου για τη θρόμβωση, από τα aCL.

Λόγω του ότι υπάρχουν ακόμη, πολλές δυσκολίες και ως προς την εκτέλεση των δοκιμασιών για το LA και ως προς την ερμηνεία των αποτελεσμάτων, συγκρίθηκαν δύο μέθοδοι προσδιορισμού του (IL Test™ LAC Screen, Confirm και Viperquik™ LA Test, Check), σε φυσιολογικά άτομα καθώς και σε ασθενείς με αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο (ΑΕΕ), με έμφραγμα του μυοκαρδίου (ΕΜ) και με συστηματικό ερυθματώδη λύκο (SLE).

Σκοπός της μελέτης είναι η προτύπωση δύο μεθόδων για τον προσδιορισμό του LA και ο έλεγχος της επαναληψιμότητας και της ακρίβειας των μεθόδων αυτών. Σκοπός επίσης, ήταν ο προσδιορισμός της συχνότητας παρουσίας του La σε πληθυσμό υψηλού κινδύνου και σε φυσιολογικό πληθυσμό. Ταυτόχρονα χρησιμοποιήθηκε μέθοδος ELISA (QUANTA Lite™ ACA IgM και IgG) για την ανίχνευση των aCL, σε πληθυσμό φυσιολογικών ατόμων και σε ασθενείς με ΑΕΕ.

# **ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

**A**ιμόσταση είναι ένα σύνολο από πολύπλοκες επακριβώς ρυθμιζόμενες, αλληλεπιδράσεις των αιμοπεταλίων, των πλασματικών παραγόντων και του αγγειακού τοιχώματος, που εξασφαλίζουν αφ' ενός την επίσχεση της αιμορραγίας σε περιπτώσεις αγγειακών κακώσεων και αφ' ετέρου τη ρευστότητα του αίματος στον ενδοαγγειακό χώρο<sup>1</sup>.

Η αιμόσταση μπορεί να διακριθεί :

■ σε πρωτογενή, η οποία ενεργοποιείται, όταν για οποιοδήποτε λόγο διαρραγεί το αγγειακό ενδοθήλιο με αποτέλεσμα την έκθεση του αίματος στον υπενδοθηλιακό συνδετικό ιστό. Συνίσταται σε σύσπαση του αγγείου και σε αλληλεπιδράσεις των αιμοπεταλίων με τελικό αποτέλεσμα το σχηματισμό του αιμοπεταλιακού θρόμβου. Πρόκειται για ταχύτατη διαδικασία, που έχει ιδιαίτερη σημασία στην επίσχεση της αιμορραγίας μικρών αγγείων και τριχοειδών, και

■ σε δευτερογενή, που περιλαμβάνει τις αντιδράσεις της πήξης του αίματος, που έχουν ως τελικό αποτέλεσμα τη μετατροπή μιας ευδιάλυτης πρωτεΐνης, του ινωδογόνου, σε αδιάλυτο δίκτυο ινικής, που σταθεροποιεί τον αιμοπεταλιακό θρόμβο. Για την ολοκλήρωση της διαδικασίας αυτής απαιτούνται αρκετά λεπτά, έχει δε ιδιαίτερη σημασία στην επίσχεση της αιμορραγίας μεγαλύτερων αγγείων.

## Μηχανισμός της πήξης του αίματος

Κινητοποιείται παράλληλα με την διαδικασία σχηματισμού του αιμοπεταλιακού θρόμβου και συμμετέχουν πλασματικοί και κυτταρικοί παράγοντες<sup>1</sup>. Διακρίνονται η ενδογενής, η εξωγενής και η κοινή οδός της πήξης.





# ΑΝΤΙΦΩΣΦΟΛΙΠΙΔΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ

## Γενικές Εκτιμήσεις.

Είναι μία αυτοάνοση διαταραχή, η οποία χαρακτηρίζεται από την παρουσία αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων (aPL) στον ορό των πασχόντων, από αρτηριακές ή φλεβικές θρομβώσεις<sup>2,3</sup>, υποτροπιάζουσες αποβολές<sup>4-6</sup>, και θρομβοκυτοπενία\* ή νευρολογικές διαταραχές<sup>7</sup>.

Οι συνηθέστερα ανιχνευμένες κατηγορίες aPL, είναι τα αντισώματα τύπου αντιπηκτικού του λύκου (Lupus Anticoagulant - LA) και τα αντικαρδιολιπινικά\* (anti-Cardiolipin - aCL) αντισώματα<sup>8</sup>.

Η σταδιακή ανάπτυξη της γνώσης για το APS, παλαιότερα γνωστό ως σύνδρομο Hughes<sup>9</sup>, άρχισε τη δεκαετία του '50 με την αναγνώριση δύο ασυνήθιστων εργαστηριακών ευρημάτων, του παρατεταμένου χρόνου προθρομβίνης και στοιχείων υπερπηκτικής δραστηριότητας<sup>10</sup>, σε μερικούς ασθενείς με Συστηματικό Ερυθηματώδη Λύκο<sup>ε</sup> (Systemic Lupus Erythematosis - SLE)<sup>11</sup>.

Σε αυτούς τους ασθενείς οι ρευματολόγοι συχνά εύρισκαν ψευδώς θετικές δοκιμασίες για τη σύφιλη, ενώ οι αιματολόγοι περιέγραφαν έναν μη ειδικό ανασταλτή της πήξης, που προκαλούσε παράταση του χρόνου πήξης (clotting time) και του χρόνου προθρομβίνης, δεν υπήρχε όμως μείωση κανενός παράγοντα της πήξης· μόνο σπάνια συνυπήρχε μείωση του ποσού της προθρομβίνης<sup>12,13</sup>. Ο μη ειδικός ανασταλτής της πήξης, ο οποίος δεν φαινόταν να συνοδεύεται από αιμορραγική διάθεση, ονομάστηκε "αντιπηκτικό του λύκου" από τους Feistain και Rapport το 1972.

Ο όρος βέβαια, είναι διπλά άστοχος μιας και δεν απαντά μόνο στον SLE, αλλά και η κύρια εκδήλωση του είναι το θρομβοεμβολικό επεισόδιο και λιγότερο η αιμορραγία.

\* αριθμός αιμοπεταλίων, μικρότερος του φυσιολογικού, στο κυκλοφορούν αίμα.

‡ αυτοάνοσα aPL που δεσμεύονται μέσω της β<sub>2</sub>-GPI στην καρδιολιπίνη, καλούνται αντικαρδιολιπινικά αντισώματα (aCL)<sup>77</sup>.

Καρδιολιπίνη (δι-φωσφατιδυλο-γλυκερόλη) = αρνητικά φορτισμένο φωσφολιπίδιο της εσωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης<sup>76</sup>.

ε χρόνια πολυσυστηματική νόσος, προκαλούμενη από αυτοαντισώματα και ανασοσυμπλέγματα. Οφείλεται σε αλληλεπιδράσεις μεταξύ γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων που επηρεάζονται σημαντικά από το φύλο<sup>15</sup>.

Τη τελευταία δεκαετία έχει γίνει αντιληπτό ότι τα aPL είναι μια μεγάλη ετερογενής οικογένεια ανοσοσφαιρινών, οι οποίες παρά το όνομα τους, δεν προσδέονται σε φωσφολιπίδια (PL), αλλά κατευθύνονται προς πρωτεΐνες του πλάσματος που προσδέονται σε αρνητικά φορτισμένες επιφάνειες (φωσφολιπίδια)<sup>16</sup>.

Μερικοί από τους αντιγονικούς στόχους αυτών των αντισωμάτων είναι η βήτα 2-γλυκοπρωτεΐνη I ( $\beta_2$ -GPI), η προθρομβίνη (παράγοντας II)<sup>17</sup>, το υψηλού και χαμηλού μοριακού βάρους κινινογόνο (HMWK, LMWK), η αννεξίνη V, η ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C (apC) και πρωτεΐνη S (apS)<sup>18-21</sup>.

Η ανάγκη να καθοριστούν κοινά κριτήρια για το APS, έχει γίνει εμφανής από την ποικιλία των κλινικών εργασιών αλλά και αυτών των βασικών επιστημών που έχουν συμβάλλει στη γνώση του APS<sup>22</sup>.

Από το 1984 και κάθε διετία, πραγματοποιείται διεθνές συμπόσιο για το APS με τη συμμετοχή ιατρών πολλών ειδικοτήτων και άλλων επιστημόνων. Μετά το 8<sup>ο</sup> Διεθνές συμπόσιο που έγινε στο Supporo της Ιαπωνίας το 1998, συγκροτήθηκε με τη συνδρομή 56 ερευνητών ειδική ομάδα εργασίας, από την οποία επετεύχθη ο με κοινή αποδοχή καθορισμός των κριτηρίων για τον ορισμό του APS<sup>23</sup>.

Η πρόδρομη κατάταξη των κριτηρίων καθορίζει τα βασικά χαρακτηριστικά του APS, με σκοπό τη διευκόλυνση των μελετών για τη θεραπευτική αγωγή και την αιτιολογία της νόσου.

Τα κριτήρια περιλαμβάνουν τα κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά τα οποία είναι πιο στενά συνδεδεμένα με τα aPL σε προοπτικές μελέτες και βασισμένα σε πιο ισχυρά πειραματικά δεδομένα.

Η ομάδα εργασίας επικεντρώθηκε στο να διερευνήσει μια κατηγορία "βέβαιου" APS. Οι συμμετέχοντες εξέτασαν, αλλά δεν διευκρίνισαν άλλες κατηγορίες του APS, ως "πιθανά" APS, διότι αυτές οι κατηγορίες στερούνται προοπτικών μελετών ή πειραματικής επιβεβαίωσης. Ελπίζεται ότι αυτά τα προκαταρκτικά κριτήρια της κατηγοριοποίησης θα ελεγχθούν σε προοπτικές πολυκεντρικές μελέτες, και ότι τροποποιήσεις ή προσθήκες στα κριτήρια θα γίνουν και πάλι σε ομάδες εργασίας που θα συγκροτηθούν εφόσον κριθούν ως αναγκαίες. Τα κριτήρια παρουσιάζονται στον πίνακα 1.

Από την ομάδα εργασίας εξετάστηκε εάν άλλα ευρήματα του APS όπως θρομβοπενία (με συχνότητα εκδηλώσεων 44%), αιμολυτική αναιμία (23%), παροδικό ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο (transient ishaemic attacks - 44%), εγκάρσια μυελοπάθεια,

δικτυωτή πελίοση του δέρματος (livedo reticularis - 49%), καρδιακή βαλβιδοπάθεια (48%), σύνδρομο ομοιάζον με την πολλαπλή σκλήρυνση, χορεία και πονοκέφαλος, θα θεωρηθούν ως κριτήρια.

### Πίνακας 1. Βασικά κριτήρια για τον χαρακτηρισμό του APS<sup>23</sup>.

#### Κλινικά κριτήρια

##### 1. Αγγειακή Θρόμβωση

- Ένα ή περισσότερα επεισόδια αρτηριακής ή φλεβικής θρόμβωσης μικρού αγγείου σε οποιοδήποτε ιστό ή όργανο.
- Η θρόμβωση μπορεί να έχει επιβεβαιωθεί με μαγνητική τομογραφία ή υπερήχους ή ιστοπαθολογικά, με εξαίρεση την επιπολής φλεβική θρόμβωση.
- Για την ιστοπαθολογική επιβεβαίωση, η θρόμβωση δεν θα πρέπει να συνοδεύεται από σημαντική φλεγμονή του αγγειακού τοιχώματος.

##### 2. Νοσηρότητα της κύησης

- Ένας ή περισσότεροι ανεξήγητοι θάνατοι ενός μορφολογικά φυσιολογικού εμβρύου τη / ή μετά τη 10η εβδομάδα της κύησης, με φυσιολογική μορφολογία του εμβρύου, που έχει επιβεβαιωθεί με υπερήχους ή με απευθείας εξέταση του εμβρύου.
- Μια ή περισσότερες πρόωρες γεννήσεις ενός μορφολογικά φυσιολογικού νεογνού την / ή πριν την 34 εβδομάδα της κύησης λόγω βαρείας προεκλαμψίας ή εκλαμψίας, ή βαρείας πλακουντιακής ανεπάρκειας
- Τρεις ή περισσότερες ανεξήγητες αυτόματες αποβολές πριν τη 10η εβδομάδα της κύησης, με αποκλεισμό μητρικής ανατομικής ή ορμονικής διαταραχής και πατρικής ή μητρικής χρωμοσωμιακής αιτίας.

#### Εργαστηριακά κριτήρια

1. Αντικαρδιολιπινικά αντισώματα IgG και / ή IgM ισοτύπου στο αίμα, σε μέτριο ή υψηλό τίτλο, σε 2 ή περισσότερες εξετάσεις σε απόσταση τουλάχιστον 6 εβδομάδων, που έχουν προσδιοριστεί με προτυποποιημένες μεθόδους ενζυμικού ανοσοπροσφορητικού προσδιορισμού για αντι-καρδιολιπινικά αντισώματα, τα οποία εξαρτώνται από την β<sub>2</sub> γλυκοπρωτεΐνη I.

2. Αντιπηκτικά του λύκου παρόντα σε πλάσμα σε 2 ή περισσότερες περιπτώσεις εξέτασης που απέχουν τουλάχιστον 6 εβδομάδες μεταξύ τους, τα οποία έχουν ελεγχθεί σύμφωνα με τις οδηγίες της Διεθνούς Εταιρείας Θρόμβωσης και Αιμόστασης (Επιστημονική Υποεπιτροπή για τα αντιπηκτικά του λύκου / εξαρτώμενα από αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα)<sup>24</sup>.

**Βέβαιο APS θεωρείται αυτό στο οποίο υπάρχει τουλάχιστον ένα κλινικό και ένα εργαστηριακό κριτήριο.**

Η ομάδα όμως έκρινε ότι αυτά τα ευρήματα, αν και σε μερικές μελέτες συνδέονται με τα aPL ή το APS, δεν έχουν ισχυρή σύνδεση όπως αυτή που περιγράφεται στον πίνακα 1.

Ενθαρρύνονται λοιπόν, περαιτέρω μελέτες πάνω σε αυτά τα πρόσθετα ευρήματα σχετικά με το APS. Επίσης, υπάρχει κοινή αποδοχή της ομάδας ότι άλλα εργαστηριακά ευρήματα του APS, όπως οι αντι -  $\beta_2$ -GPI χαμηλοί θετικοί τίτλοι των IgG και IgM aCL, IgA ισότυποι των aCL και αντισώματα σε άλλα PL ή σε πρωτεΐνες συνδεδεμένες με PL, απαιτούν περαιτέρω προτύπωση ή /και μελέτη και δεν πρέπει να περιλαμβάνονται στα κριτήρια του APS προς το παρόν.

## **Επιδημιολογία.**

Το APS, όπως αναφέρθηκε, θεωρείται ως κύρια αιτία επίκτητης υπερπηκτικότητας, οφειλόμενη σε αυτοαντισώματα, που προκύπτουν συνήθως *de novo*, τόσο σε άτομα με υποκείμενο νόσημα (δευτεροπαθές), όσο και χωρίς υποκείμενο νόσημα (πρωτοπαθές)<sup>25</sup>.

Τα αντισώματα αυτά αποτελούν συχνά την αιτία σοβαρής νοσηρότητας αλλά και την αιτία θνητότητας αυτών των ασθενών. Η παρουσία aPL χωρίς κλινικές εκδηλώσεις δεν συνιστά βέβαια APS, συγκεντρώνει όμως την προσοχή στα άτομα που τα φέρουν σε σχέση με την διάρκεια της παρουσίας αυτών των αντισωμάτων.

Στον φυσιολογικό πληθυσμό, εφόσον αυτός είναι νεαράς ηλικίας, ανευρίσκονται συνήθως τα aCL και σπανιότερα το LA<sup>26</sup>. Τα αντισώματα αυτά είναι παροδικά και αποδίδονται σε κοινές ιογενείς λοιμώξεις.

### **Πίνακας 2. Ταξινόμηση του APS<sup>29</sup>.**

1. *Πρωτοπαθές* : χωρίς κλινικές εκδηλώσεις ή εργαστηριακά ευρήματα, άλλης διαγνώσιμης παθολογικής κατάστασης.
2. *Δευτεροπαθές* : επί εδάφους άλλης οντότητας :
  - SLE
  - άλλες αυτοάνοσες διαταραχές (νόσοι συνδετικού ιστού, ιδιοπαθής θρομβοπενική πορφύρα)
  - αδιαφοροποίητες νόσοι /καταστάσεις που θέτουν την πιθανότητα αυτοάνοσων παθήσεων
  - κακοήθειες
  - φαρμακευτικά σύνδρομα



Στα άτομα μεγαλύτερης ηλικίας η εμφάνιση aCL είναι πλέον συχνή, ανάλογα όμως με τις χρησιμοποιηθείσες τεχνικές, αυτά κυμαίνονται από 0-50% στις διάφορες εργασίες<sup>27</sup>. Πρόσφατες εργασίες, καταδεικνύουν ότι τα aPL είναι περισσότερο κοινά σε γηραιά άτομα με χρόνια νοσήματα, παρά σε υγιή<sup>28</sup>.

Τα aPL βρίσκονται κατά μέσο όρο στο 1/3 των ασθενών με SLE στις διάφορες μελέτες. Συχνά, η πραγματική συχνότητα της παρουσίας των aPL υποεκτιμάται, διότι τα αντισώματα παρουσιάζονται παροδικά<sup>30</sup>· γι' αυτό είναι αναγκαίες οι προοπτικές μελέτες σε αυτούς τους ασθενείς.

Κατά κύριο λόγο είναι aCL, που ελέγχονται με τεχνικές ELISA, λιγότερο συχνά δε ή /και LA που ελέγχονται με τεχνικές πήξης. Και τα δυο αυτά αυτοαντισώματα παρουσιάζονται με υψηλό τίτλο κατά τις περιόδους έξαρσης της νόσου<sup>22</sup>.

Αντίθετα κατά τις περιόδους που οι ασθενείς είναι υπό κορτιζονοθεραπεία ή /και σε θεραπεία με υδροξυχλωροκίνη, ο τίτλος των αντισωμάτων είναι πολύ χαμηλότερος ή και ελλείπουν τα aPL<sup>22</sup>.

Η παρουσία LA εκθέτει αυτή την ομάδα των ασθενών σε κίνδυνο θρόμβωσης τόσο φλεβικής όσο και αρτηριακής<sup>25</sup>, ενώ η παρουσία aCL σε φλεβική θρόμβωση κυρίως<sup>21</sup>.

Οι μελέτες για την παρουσία των aPL σε ασθενείς, που έχουν αναπτύξει φλεβική θρόμβωση, χωρίς την ύπαρξη υποκείμενου νοσήματος αποκαλύπτουν μια συχνότητα 5,2% - 30% τέτοιων αντισωμάτων<sup>23,31</sup>. Σε ότι αφορά τις αρτηριακές θρομβώσεις aPL ανευρίσκονται στο 2 - 46% των ασθενών με υποτροπιάζοντα εγκεφαλικά επεισόδια και ηλικία μικρότερη των 50 ετών<sup>33</sup>.

Προοπτικές μελέτες έχουν καταδείξει επίσης τη συσχέτιση aPL με το έμφραγμα του μυοκαρδίου (21%)<sup>34</sup>. Στις επιμέρους μελέτες που εξήτασαν τη συσχέτιση aPL και αθηρωματικής νόσου, ευρέθη ότι τα aPL ήσαν συχνότερα στους αθηρωματικούς ασθενείς, παρά σε αυτούς, που ανήκαν σε ομάδα ελέγχου<sup>35</sup>.

Στην κύηση τα aPL θεωρούνται υπεύθυνα κυρίως της απώλειας του εμβρύου κατά το 2<sup>ο</sup> τρίμηνο<sup>36</sup>.

Παρ' όλο ότι η μελέτη του APS έχει αναπτυχθεί πρόσφατα, σε ορισμένες εργασίες, έχει περιγραφεί η συσχέτιση του με τη γεωγραφική περιοχή και τη φυλετική καταγωγή<sup>37</sup>. Είναι απόλυτα αναγκαίο όμως να διευκρινιστεί το κατά πόσο αυτές οι συσχετίσεις είναι πραγματικές ή οφείλονται απλώς σε διαφορά των μεθοδολογικών παραγόντων. Οι διάφοροι παράγοντες πρέπει να εκτιμηθούν για να διευκρινιστεί η



σχέση τους με το APS, για το οποίο τόσο περιβαλλοντικοί όσο και κληρονομικοί παράγοντες ενοχοποιούνται.

Είναι γνωστό ότι περιβαλλοντικοί και γενετικοί παράγοντες συμβάλλουν στις εθνικές ποικιλίες και στις διάφορες ενδοεθνικές ασθένειες. Επιπλέον υπάρχουν κάποιοι περιβαλλοντικοί παράγοντες, όπως οι ρετροϊοί, που έχουν ισχυρή συσχέτιση με την αυτοανοσία και οι οποίοι εισέρχονται στο ανθρώπινο γονιδίωμα και μεταδίδονται δια αυτού. Γι' αυτό και για άλλες αιτίες, απαιτείται πολύ προσεκτική μελέτη για να διαχωριστούν οι περιβαλλοντικοί από τους γενετικούς παράγοντες, που συμβάλλουν στην ενδοεθνική διαφορά της συχνότητας του APS<sup>22</sup>.

Το APS πάντως φαίνεται να υπάρχει σε όλους τους μελετηθέντες πληθυσμούς με κάποιες διαφορές μόνο στη συχνότητα. Οι κλινικές επιπλοκές επίσης ποικίλουν μεταξύ των διαφόρων μελετών<sup>22</sup>.

### ***Γενετικοί Παράγοντες.***

Το 1/3 των συγγενών από ασθενείς με APS εμφανίζουν αντισώματα κατά της καρδιολιπίνης (aCL) στον ορό τους, που σε κάποιες περιπτώσεις μπορεί να συνοδεύονται και από τις κλινικές εκδηλώσεις του συνδρόμου. Μελέτες των οικογενειών, ασθενών με APS έδειξαν ότι υπάρχει η τάση να εμφανίζονται αυτοάνοσα νοσήματα μεταξύ των ενηλίκων μελών, ενώ τα νεώτερα μέλη εμφανίζουν μόνο τα αυτοαντισώματα. Ωστόσο, κατά τη διάρκεια μεγαλύτερης χρονικά παρακολούθησης, κάποια από τα νεώτερα μέλη αναπτύσσουν τελικά αυτοάνοσα νοσήματα, όπως είναι νοσήματα του θυρεοειδούς, αυτοάνοση θρομβοπενία, αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία, σακχαρώδη διαβήτη τύπου I, σύνδρομο Sjogren, ρευματοειδή αρθρίτιδα, μεικτή νόσο του συνδετικού ιστού<sup>22,38</sup>.

Μεγάλες μελέτες οικογενειών με APS έδειξαν υψηλή συχνότητα aCL (περίπου 30%) μεταξύ των μελών<sup>39</sup>. Μία μελέτη 101 μελών οικογενειών από 7 ασθενείς με πρωτοπαθές APS, έδειξε ένα επικρατούν ή συνεπικρατούν αυτοσωματικό μοντέλο μετάδοσης<sup>40</sup>.

*-Μείζον σύστημα ιστοσυμβατότητας (MHC) τάξης II και συσχέτιση με το πρωτοπαθές APS :*

Διάφορες μελέτες έχουν γίνει προκειμένου να διερευνηθεί η πιθανή συσχέτιση των HLA (Human Leukocyte Antigen) αλληλίων με τα aPL ή το APS σε ποικίλους πληθυσμούς και με διαφορετικές μεθόδους, όπως μέσω φαινοτυπικής ή γονοτυπικής

ανάλυσης, ενώ κάποιες μελέτες περιελάμβαναν την περισσότερο εκτεταμένη ανάλυση των αλληλίων του HLA καθώς και των απλοτύπων<sup>17,41</sup>.

Οι Asherson RA et al το 1992<sup>41</sup> αρχικά, χρησιμοποιώντας γονοτυπική ανάλυση με RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) περιέγραψαν σε 13 ασθενείς με πρωτοπαθές APS, αυξημένη συχνότητα των αλληλίων HLA-DR4, DR153, DQB1\*0301 (DQ7) και DQB1\*0302. Τα ευρήματα αυτά όπως και η συσχέτιση με το DR5 αλληλίο επιβεβαιώθηκε και σε μεταγενέστερες μελέτες<sup>42</sup>.

Στο δευτεροπαθές APS, οι αναφερόμενες συσχετίσεις είναι παρόμοιες με αυτές που αναφέρθηκαν για το πρωτοπαθές APS. Μια μεγάλη Ευρωπαϊκή μελέτη 314 ασθενών με SLE έδειξε συσχέτιση των αλληλίων HLA-DR4, DR53 και DR7 με τα aCL<sup>43</sup>. Οι παραπάνω συσχετίσεις είχαν ήδη περιγραφεί σε προηγούμενες μικρότερες μελέτες από την Αγγλία, την Ιταλία και την Αυστραλία<sup>44</sup>.

Η παρουσία του HLA-DR4 έχει περιγραφεί περισσότερο σε Αγγλοσάξονες, ενώ του DQ7 σε άτομα Λατινικής καταγωγής<sup>45</sup>. Παρόλο που οι παραπάνω συσχετίσεις φαίνονται σύνθετες, πρέπει να λαμβάνεται υπόψη ότι πολλά από τα παραπάνω αλληλία βρίσκονται σε ανισορροπία σύνδεσης (linkage disequilibrium) στους ίδιους απλότυπους του HLA.

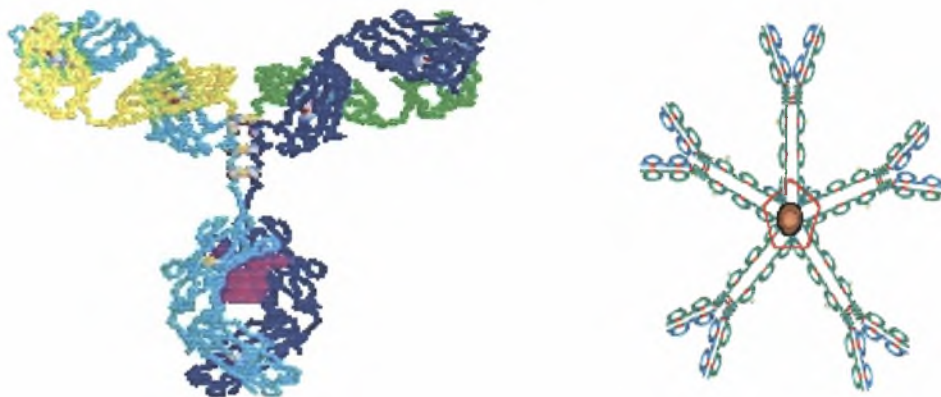
Έχει διατυπωθεί η υπόθεση ότι η νουκλεοτιδική αλληλουχία TRAE LDT 71-77, που υπάρχει στα αλληλία HLA-DQB1\*03 μπορεί να αντιστοιχεί σε ένα επίτοπο που προδιαθέτει για την εμφάνιση αυτοανοσίας<sup>47</sup>.

Σε μελέτη συσχέτισης των αντι-β<sub>2</sub>-GPI αντισωμάτων με αλληλία και απλότυπους του HLA σε ασθενείς από 3 εθνικές ομάδες, διαπιστώθηκε συσχέτιση με τα αλληλία HLA-DQB1\*03 και σε μικρότερη έκταση με τα αλληλία HLA-DQB1\*06<sup>47</sup>.

Από μελέτη οικογενειών με APS έχει διαπιστωθεί επίσης ένδεια του C4 παράγοντα του συμπληρώματος που σχετίζεται με το πρωτοπαθές όσο και με το δευτεροπαθές APS<sup>48</sup>.

# ΑΝΤΙΠΗΚΤΙΚΟ ΤΟΥ ΛΥΚΟΥ

Το αντιπηκτικό του λύκου (ή ανασταλτής της προθρομβινάσης) είναι IgG ή IgM σφαιρίνη, κ ή λ, και είναι αυτοαντίσωμα στρεφόμενο κατά PL, κυρίως των ενδοθηλιακών κυττάρων του τοιχώματος των αγγείων<sup>1,7,49,50</sup>.



Εικόνα 1.

Τρισδιάστατη δομή IgG ανοσοσφαιρίνης (αριστερά),  
δομή IgM ανοσοσφαιρίνης (δεξιά).

Ασθενείς με LA, που δεν έχουν αποδεδειγμένο SLE, ταξινομούνται σε διάφορες διαφορετικές κατηγορίες<sup>25</sup>:

- ασθενείς με τις "lupus - like" χρόνιες αυτοάνοσες διαταραχές, αλλά χωρίς ευρήματα που να ταιριάζουν στα κριτήρια για τη διάγνωση του SLE<sup>51-53</sup>,
- ασθενείς με άλλες χρόνιες συστηματικές αυτοάνοσες διαταραχές,
- ασθενείς που παρουσιάζουν μαζί ένα φλεβικό ή αρτηριακό θρομβωτικό γεγονός, για το οποίο δεν υπάρχει προφανώς υποκείμενη αιτία<sup>54-56</sup>,
- ασθενείς που λαμβάνουν ορισμένα φάρμακα, συμπεριλαμβανομένων της προκαϊναμίδης<sup>57</sup> και των φαινοθειαζινών<sup>58,59</sup>. Άλλα φάρμακα ή βιολογικά προϊόντα που μπορούν να επάγουν το LA, περιλαμβάνουν την υδραλαζίνη (hydralazine), την κινιδίνη (quinidine) και ενδεχομένως τη β - ιντερφερόνη<sup>60</sup>,
- ασθενείς με μια πρόσφατη οξεία προερχόμενη από ιό μόλυνση, στους οποίους το αντίσωμα είναι συνήθως παροδικό<sup>61,62</sup>,
- ασθενείς με το σύνδρομο επίκτητης ανοσοανεπάρκειας (HIV)<sup>63,64</sup>,
- γυναίκες με επαναλαμβανόμενη εμβρυϊκή απώλεια<sup>65,66</sup>, και
- ασθενείς όπου το LA αποτελεί τυχαίο εύρημα<sup>67</sup>.

Η συχνότητα του LA στους ασθενείς με SLE<sup>12</sup>, στους οποίους η δοκιμή του ενεργοποιημένου χρόνου μερικής θρομβοπλαστίνης (Partial Thromboplastin Time - aPTT) χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευσή της, είναι περίπου 10%<sup>68</sup>.

Εντούτοις, μια υψηλότερη συχνότητα, περίπου 50%, βρίσκεται όταν χρησιμοποιείται ο τροποποιημένος aPTT με μειωμένη συγκέντρωση των PL για να ανιχνεύσει το LA<sup>52</sup>.

Με τη χρήση του χρόνου καολίνης (Kaolin Clotting Time - KCT) σε σύγκριση με τον χρόνο μερικής θρομβοπλαστίνης (aPTT) ανασταλτές τύπου LA ανιχνεύονται στο πλάσμα του 30 - 50% των ασθενών με SLE, συχνότητα περίπου ίση με την συχνότητα των aCL<sup>26,69,70</sup>.

Επειδή η κατανομή των επιπέδων των aCL στο πλάσμα δεν ακολουθεί την καμπύλη του Gauss, ο σαφής διαχωρισμός μεταξύ των φυσιολογικών και των παθολογικών ορίων είναι δύσκολο να καθοριστεί<sup>71,72</sup>.

Αυξημένα επίπεδα IgG και IgM aCL στον γενικό πληθυσμό ήταν 5 - 7% και 5 - 9% αντίστοιχα, ενώ η συχνότητα του LA ήταν 4%. Η συχνότητα αυξημένων επιπέδων IgG και IgM aCL στις υγιείς έγκυες γυναίκες ήταν 2 - 3% και 4% αντίστοιχα. Οι περισσότερες από αυτές είχαν χαμηλό τίτλο μόνο 0,2% είχαν υψηλό τίτλο<sup>73-75</sup>.

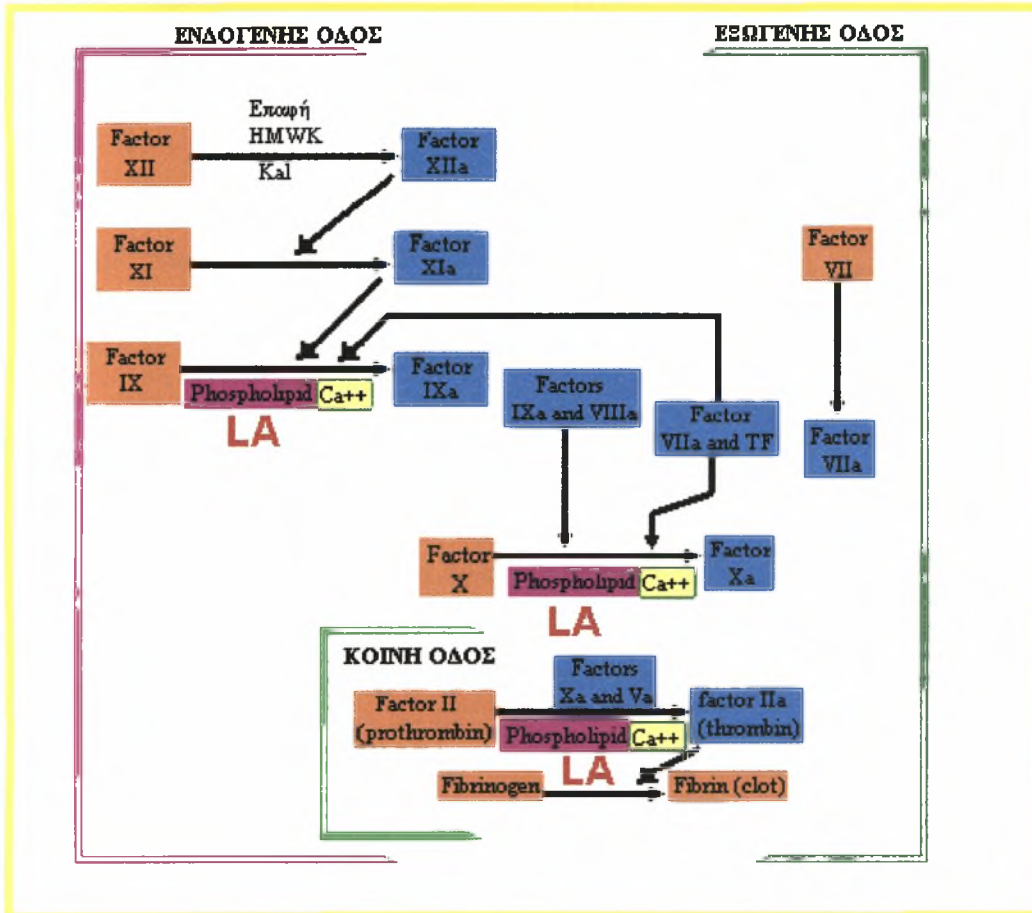
### ***Μηχανισμός δράσης του αντιπηκτικού του λύκου.***

Ο μηχανισμός με τον οποίο τα διαφορετικά aPL παρεμβαίνουν στην πήξη δεν είναι *in vitro* σαφής. Εντούτοις, τα PL\* συμμετέχουν στην πήξη σε διάφορα γνωστά βήματα<sup>22,25</sup>:

- ως συστατικό του συμπλόκου της προθρομβινάσης (παράγοντες Xa και Va), για την ενεργοποίηση του παράγοντα II (θρομβίνη),
- ως συμπαραγών (co-factor) στην ενεργοποίηση του παράγοντα X από τους παράγοντες VIIIa και IXa (σύμπλοκο δεκάσης (tenase), και
- ως συμπαραγών στην ενεργοποίηση του παράγοντα X και του IX από τον παράγοντα VIIa (σύμπλοκο ιστικού παράγοντα).

\*φωσφατιδλιοσερίνη (PS) , καρδιολιπίνη (aCL) κ.α.

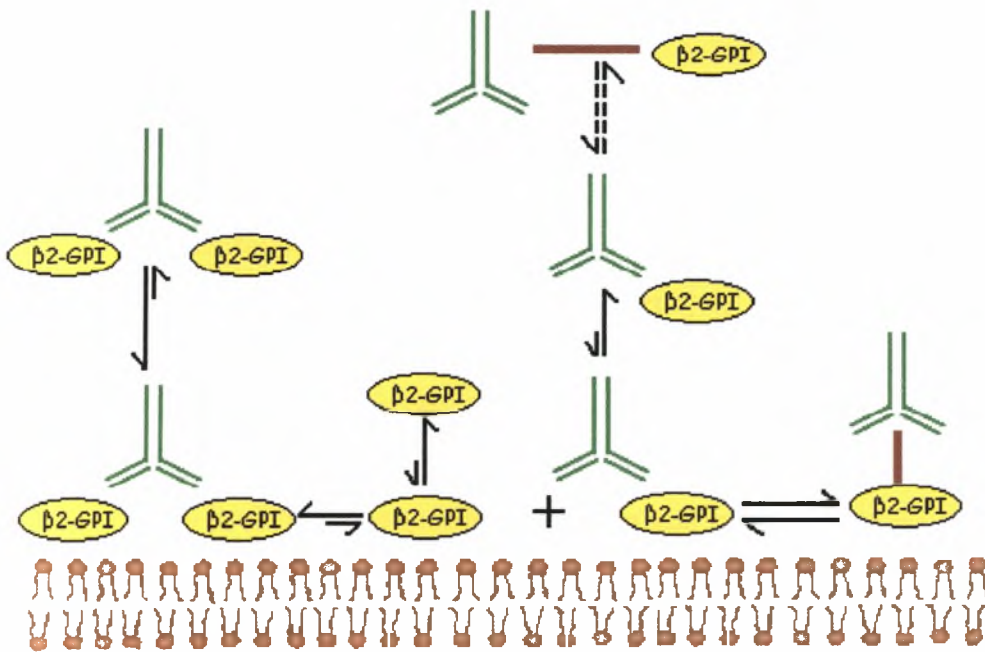
Το LA μπορεί να παρεμποδίσει κάθε μια από αυτές τις αντιδράσεις της πήξης του αίματος, και να εμποδίσει τη δέσμευση και του παράγοντα X και της προθρομβίνης στις αρνητικά φορτισμένες επιφάνειες.



Σχήμα 2. Αντιδράσεις που μπορεί να παρεμποδίσει το LA.

Επειδή η  $\beta_2$ -GPI δεσμεύεται επίσης στενά στα PL, είναι πιθανό αυτά τα αντισώματα που κατευθύνονται στους επίτοπους της  $\beta_2$ -GPI, να μπορούν να παρέμβουν στις φωσφολιπιδιο-εξαρτώμενες αντιδράσεις πήξης, συγκεκριμένα στα σύμπλοκα δεκάσης και προθρομβινάσης, γεγονός που εξηγεί την επίδραση των αντιπηκτικών αυτών *in vitro*.





**Σχήμα 3.**

Πιθανός μηχανισμός με τον οποίο τα  $\beta_2$ -GPI - εξαρτώμενα LA, σχηματίζουν τα σταθερά δισθενή  $\beta_2$ - GPI - αντίσωμα σύμπλοκα στις επιφάνειες των φωσφολιπιδίων.

Ανάλογα με τον επίτοπο που αναγνωρίζουν, τον αριθμό των μορίων  $\beta_2$ -GPI της μεμβράνης και την κινητική των αντισωμάτων και της  $\beta_2$ -GPI (affinity, avidity), εξαρτάται και η σταθερότητα των συμπλόκων Ab -  $\beta_2$ - GPI<sup>76,77</sup>.



## ΑΝΤΙΦΩΣΦΟΛΙΠΙΔΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΚΑΙ β<sub>2</sub>-GPI

Η ανθρώπινη β<sub>2</sub>-γλυκοπρωτεΐνη I (β<sub>2</sub>-GPI, παλαιότερα γνωστή ως απολιποπρωτεΐνη H)<sup>78</sup> είναι έντονα γλυκοζυλιωμένη πρωτεΐνη του πλάσματος, που έχει συγγένεια με τα αρνητικώς φορτισμένα PL<sup>79</sup>.

Η φυσιολογική λειτουργία της β<sub>2</sub>-GPI δεν έχει πλήρως διευκρινισθεί πιστεύεται ότι δρα ως φυσική αντιπηκτική πρωτεΐνη αναστέλλοντας το μηχανισμό της πήξης στο στάδιο επαφής, καθώς και την επαγόμενη από το ADP συσσώρευση των αιμοπεταλίων. Πρόσφατα έχει αναφερθεί ότι προσκολλάται στα ενδοθηλιακά κύτταρα και στα κύτταρα της τροφοβλάστης, προσφέροντας κατάλληλους επίτοπους για τη δέσμευση αντί - β<sub>2</sub>-GPI αντισωμάτων, δέσμευση που σχετίζεται με τις εκδηλώσεις του APS, τη θρόμβωση και τις αυτόματες αποβολές εμβρύου<sup>11,80</sup>.

Η β<sub>2</sub>-GPI είναι πρωτεΐνη μονής αλυσού, MB 50 kDa, αποτελείται από 326 αμινοξέα, περιέχει 17% υδατάνθρακες και η φυσιολογική συγκέντρωση στο πλάσμα είναι = 200μg/ml.

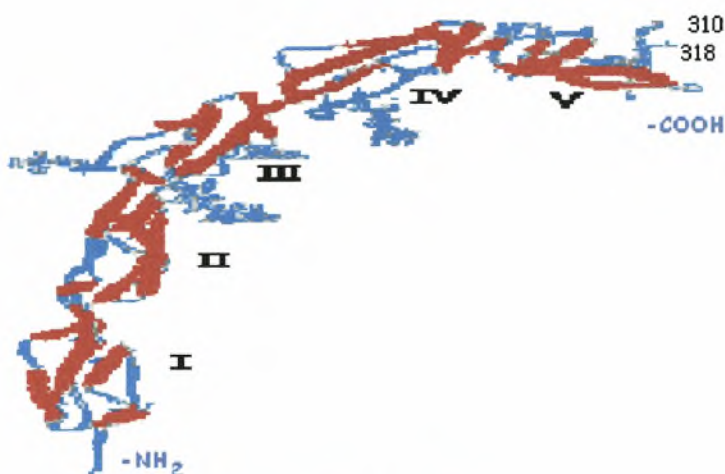
Αποτελεί ένα από τα αντιγονικά κλειδιά στην παθογένεια του APS.

Η β<sub>2</sub>-GPI ανήκει στην υπεροικογένεια πρωτεϊνών, που χαρακτηρίζονται από την παρουσία επαναλαμβανόμενων αλληλουχιών, = 60 αμινοξικών καταλοίπων καθεμιά, που περιλαμβάνουν ένα σύνολο 16 διατηρημένων καταλοίπων και δύο απόλυτα διατηρημένων δισουλφιδικών δεσμών (Sulfidic Conserved Region -- SCR)<sup>81</sup>.

Η δομή της β<sub>2</sub>-GPI (εικόνα 2) αποτελείται από μία εκτεινόμενη αλυσό από 5 SCR περιοχών με συνολική εμφάνιση αγκύλης και πλευρικές αλυσούς από 12 κατάλοιπα λυσίνης, αργινίνης και ιστιδίνης, στην εξωτερική επιφάνεια της αγκύλης με κάθετη διάσταση 130 Å και οριζόντια 85 Å. Οι SCR περιοχές συνδέονται μεταξύ τους με μικρά συνδετικά τμήματα από 3 ή 4 αμινοξέα. Αυτά τα συνδετικά τμήματα αποτελούν μέρος της β - πτυχωτής επιφάνειας (β-sheet), υποδηλώνοντας μειωμένη ενδοπεριοχική ευκαμψία.

Οι περιοχές I - IV της β<sub>2</sub>-GPI έχουν κοινές SCR αναδιπλώσεις, ενώ η V περιοχή περιλαμβάνει μια εσοχή από 6 αμινοξέα και μια O - τελική επέκταση 19 αμινοξέων που μαζί με κάποιες αναδιατάξεις των υπάρχοντων συστατικών σχηματίζει μία θετικώς φορτισμένη περιοχή = 2000 Å. Στο μέσον αυτής της θετικώς φορτισμένης περιοχής υπάρχει μία εύκαμπτη υδρόφοβη αγκύλη (Ser311-Lys317) που είναι αυτή που εισέρχεται στη φωσφολιπιδιακή μεμβράνη και που καθορίζει την ειδικότητα

προς τη λιπιδική διπλοστοιβάδα. Από τα στοιχεία αυτά της δομής της  $\beta_2$ -GPI, φαίνεται ότι η σύνδεση της στη μεμβράνη γίνεται με απλό μηχανισμό: το θετικό φορτίο



**Εικόνα 2.**  
Δομή της  $\beta_2$ -GPI<sup>76</sup>.

της περιοχής V αντιδρά με τα αρνητικώς φορτισμένα PL και η εύκαμπτη υδρόφοβη αγκύλη εισδύει στη λιπιδική διπλοστοιβάδα<sup>82</sup>.

Οι περιοχές III και IV είναι εντόνως γλυκοζυλιωμένες, προστατευόμενες μερικώς από τις πρωτεϊνικές αλληλεπιδράσεις και θεωρούνται ως συνδετικές περιοχές για τα N-τελικά άκρα που εκτίθενται στο αίμα. Οι περιοχές I και II παρέχουν τις δεσμευτικές για τα αντισώματα θέσεις. Η πλειονότητα των aPL δεσμεύεται κατά προτίμηση με την περιοχή I.

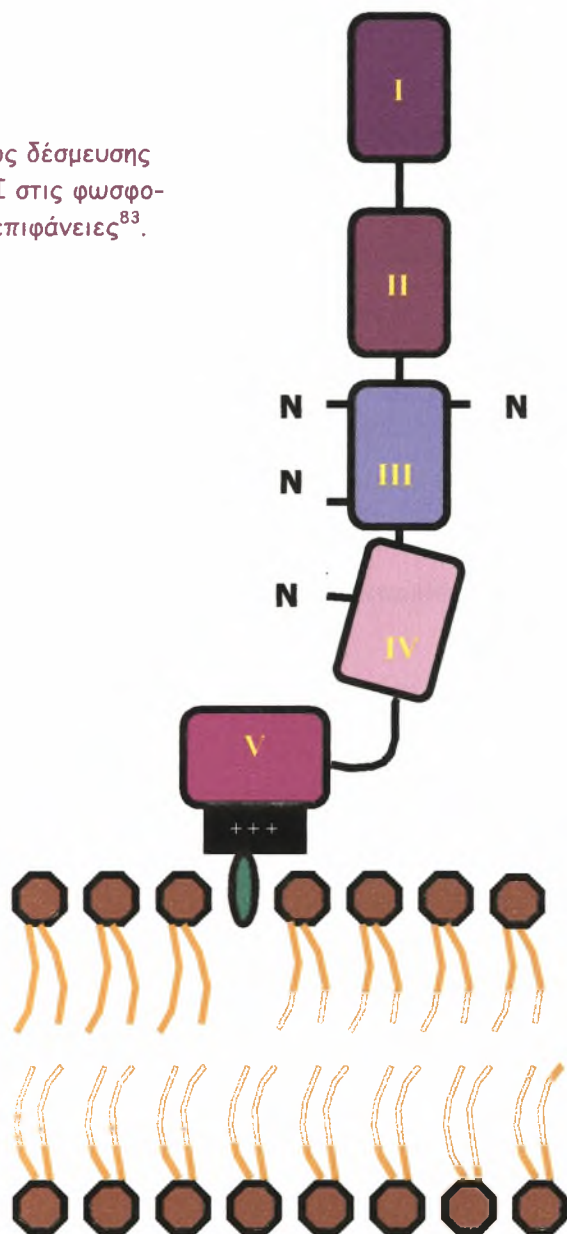
Υπάρχουν όμως και πειραματικά δεδομένα σύμφωνα με τα οποία, οι "κρυμμένοι" επίτοποι βρίσκονται στην περιοχή IV, αποκαλυπτόμενοι μετά την τροποποίηση της δομής της συγκεκριμένης περιοχής, που προκύπτει λόγω ηλεκτροστατικών δυνάμεων μεταξύ αυτής και της περιοχής V, μετά τη σύνδεση τους με τα μεμβρανικά PL. Η ενδοθηλιακή δέσμευση της  $\beta_2$ -GPI επιτυγχάνεται μέσω δεσμευτικής θέσης της περιοχής V.

Τα aPL και κυρίως τα αντί -  $\beta_2$ -GPI αντισώματα μόλις δεσμευθούν από την προσκολλημένη στο ενδοθήλιο  $\beta_2$ -GPI, επάγουν την ενεργοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων, αυξάνοντας την έκφραση μορίων προσκόλλησης, την έκκριση κυττοκινών, το μεταβολισμό του αραχιδονικού οξέος, μεταβολές που όλες επάγουν την

προφλεγμονώδη αντίδραση και πιθανόν τον προπηκτικό φαινότυπο του ενδοθηλίου. Η ετερογένεια των aPL είναι τόσο μεγάλη που δικαιολογεί τα παραπάνω ευρήματα<sup>83</sup>.

Σχήμα 4.

Μηχανισμός δέσμευσης της  $\beta_2$ -GPI στις φωσφολιπιδικές επιφάνειες<sup>83</sup>.



Σημειακή μετάλλαξη της περιοχής I, προκαλεί μεγάλες μεταβολές στη δέσμευση με τα αντι- $\beta_2$ -GPI αντισώματα, που συχνά φθάνουν στην απώλεια της ικανότητας σύνδεσης. Δεν έχει ακόμη διευκρινισθεί αν η σύνδεση αυτών των αντισωμάτων γίνεται με έναν δεδομένο εξ αρχής επίτοπο ή με έναν "κρυμμένο" επίτοπο που αποκλύπτεται μετά την δέσμευση των αντί- $\beta_2$ -GPI αντισωμάτων με τα αρνητικώς φορτισμένα PL.

Η  $\beta_2$ -GPI είναι εξαιρετικά ευαίσθητη σε διάσπαση, στην περιοχή της υδρόφοβης αγκύλης (μεταξύ των αμινοξέων Lys317 και Thr318 - η πλασμίνη\* μπορεί να προκαλέσει τέτοια διάσπαση). Η προκύπτουσα μετά τη διάσπαση μορφή της  $\beta_2$ -GPI, δεν έχει τη δυνατότητα δέσμευσης με αρνητικώς φορτισμένα PL, πιθανόν λόγω της δέσμευσης ουδέτερων PL (κυρίως φωσφατιδυλο-χολίνης και σφιγγομυελίνης). Η ένδεια της  $\beta_2$ -GPI δεν συνδέεται με παθολογικές καταστάσεις.

Η πλειοψηφία των κλινικών εκδηλώσεων που σχετίζονται με την παρουσία των αντι- $\beta_2$ -GPI αντισωμάτων, είναι αγγειακές αποφράξεις και θρομβώσεις, τόσο του φλεβικού όσο και του αρτηριακού συστήματος<sup>83</sup>.

Το ποιές θα είναι οι εκδηλώσεις σε έναν δεδομένο ασθενή, εξαρτάται από την διάταξη των επιτόπων και από την ειδικότητα των αντι- $\beta_2$ -GPI αντισωμάτων του ασθενούς. Η χαρτογράφηση των επιτόπων θα επιτρέψει τον καθορισμό των κριτικών σημείων που επάγουν την πρόκληση κλινικών συμπτωμάτων και τις θεραπευτικές προσεγγίσεις με παράγοντες που θα κατευθύνονται έναντι των αντιγόνων.

\* ένζυμο που παράγεται από περιορισμένη πρωτεόλυση πρωτεΐνης του πλάσματος (πλασμίνη)<sup>1</sup>.

## ΚΛΙΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΓΝΩΡΙΣΜΑΤΑ

Αν και η σχέση των κλινικών εκδηλώσεων με την παρουσία των aPL, είναι σαφέστερη στο πρωτοπαθές APS, δεν υπάρχει καμία σημαντική διαφορά στις κλινικές συνέπειες των aPL μεταξύ των ασθενών με το πρωτοπαθές και εκείνων με το δευτεροπαθές APS<sup>84</sup>. Ουσιαστικά οποιοδήποτε όργανο μπορεί να προσβληθεί, και η σειρά των διαταραχών που παρατηρούνται μέσα σε οποιοδήποτε σύστημα οργάνων εκτείνεται σε διαφορετικό φάσμα (πίνακας 3).



**Εικόνα 3.** Φωτογραφία γυναίκας 56 ετών, που άρχισε να έχει πόνο και ερυθρότητα του αριστερού κάτω άκρου, μετά οδήγηση 6 ωρών. Δύο ημέρες αργότερα βρέθηκε να έχει ερύθημα στην έσω επιφάνεια του αριστερού γόνατου και οίδημα στην αριστερή ποδοκνημική. Δεν είχε ιστορικό έν τω βάθει φλεβικής θρόμβωσης. Και οι δύο γονείς της, εντούτοις, είχαν ένα ιστορικό έν τω βάθει φλεβικής θρόμβωσης. Το διπλό υπερηχοτομογράφημα (ultrasonography) Doppler αποκάλυψε τη θρόμβωση της σαφηνούς φλέβας, χωρίς επέκταση στο έν τω βάθει φλεβικό σύστημα. Επανελημμένο διπλό υπερηχοτομογράφημα Doppler 5, 10, και 25 ημέρες αργότερα δεν εμφάνισαν καμία επέκταση του θρόμβου στο έν τω βάθει φλεβικό σύστημα. Οι εξετάσεις αποκάλυψαν ότι η ασθενής είχε LA, και έγινε διάγνωση του πρωτοπαθούς APL. Άλλες εξετάσεις για θρομβοφιλία, συμπεριλαμβανομένων των δοκιμασιών για τον παράγοντα V Leiden και της ένδειας των πρωτεϊνών C και S, ήταν αρνητικές.

Τα αποτελέσματα των aPL εκτιμώνται καλλίτερα από παθογενετικής άποψης, λαμβάνοντας υπ' όψιν βασικά χαρακτηριστικά γνωρίσματα: τη φύση και το μέγεθος των αγγείων που προσβάλλονται και την οξύτητα ή τη χρονιότητα της θρομβωτικής διαδικασίας.



### Πίνακας 3. Κλινικές εκδηλώσεις του APS.

ΣΥΣΤΗΜΑ	ΠΡΩΤΟΓΕΝΗΣ ΠΑΘΟΓΕΝΕΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ	
	ΘΡΟΜΒΟΕΜΒΟΛΗ ΜΕΓΑΛΩΝ ΑΙΤΕΙΩΝ	ΘΡΟΜΒΩΤΙΚΗ ΜΙΚΡΟΑΙΤΕΙΟΠΑΘΕΙΑ
Αρτηριακό	Θρόμβωση της αορτής ή της μασχαλαίας, καρωτιδικής, ηπατικής, μεσεντέριας παγκρεατικής, σπληνικής ή υποκλειδιάς αρτηρίας.	
Καρδιακό	Στηθάγγη, μυοκαρδιακό έμφραγμα, καρδιακές βαλβιδικές εκβλαστήσεις, βαλβιδικές ανωμαλίες, ενδοκαρδιακοί θρόμβοι, μη βακτηριακή θρομβωτική (Lidmam- Sacks) ενδοκαρδίτιδα, περιφερικές εμβολές ή αθηροσκληρώση.	Μυοκαρδιακό έμφραγμα, ενδοκαρδιακοί θρόμβοι, μυοκαρδίτιδα, ή βαλβιδικές ανωμαλίες.
Δερματική	Επιφανειακή θρομβοφλεβίτιδα, αιμορραγίες θραυσμάτων, έλκη ποδιών, ακραία δερματική ισχαιμία, έμφρακτα του δέρματος, σύνδρομο νέκρωσης μεγάλου δακτύλου (blue toe), ή ακροκυάνωση.	Δικτυωτή πελίωση, επιφανειακή γάγγραινα, πορφύρα, εκχυμώσεις, ή υποδόριοι κόνδυλοι.
Ενδοκρινικό ή αναπαραγωγικό	Επινεφριδικά εμφράγματα, επινεφριδική ανεπάρκεια, έμφρακτα όρχεως και προστάτη, νέκρωση του βλεννογόνιου αδένα ή βλεννογόνια ανεπάρκεια.	
Γαστρεντερικό	Budd- Chiari σύνδρομο, ηπατικό έμφραγμα, εντερικό έμφραγμα, ισχαιμική κολίτιδα, οισοφαγική διάτρηση, έμφρακτο της κύστης αμυγλής μη αποδοτέα στους χολόλιθους, παγκρεατίτιδα ή ασκίτης.	Εντερικά, ηπατικά, παγκρεατικά και σπληνικά έμφρακτα ή γάγγραινα.
Αιματολογικό	Θρομβοκυτοπενία, αιμολυτική αναιμία, ή αιμολυτικό-ουραιμικό σύνδρομο και θρομβωτική θρομβοκυτοπενική πορφύρα.	Διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη (καταστροφικό αντιφωσfolιπιδικό σύνδρομο μόνο).
Miscellaneous (ποικίλο)	Διάτρηση του ρινικού διαφράγματος ή της άνευ αγγείων νέκρωσης του οστού.	
Νευρολογικό	Παροδική ισχαιμική επίθεση, εγκεφαλοαγγειακό ατύχημα (θρομβωτικό ή εμβολικό), χορεία, συλλήψεις, πολλαπλή-έμφρακτη άνοια, εγκάρσια μυελίτιδα, εγκεφαλοπάθεια, ημικρανίες, ψευδοόγκος εγκεφάλου, εγκεφαλική φλεβική θρόμβωση, πολλαπλή μονονευρίτιδα ή amaurosis fugax.	Μικροθρόμβοι ή μικροεμφράγματα.
Μαιευτικό	Απώλεια εγκυμοσύνης, σύνδρομο HELLP (αιμόλυση, ανυψωμένα ένζυμα συκωτιού, και ένας χαμηλός αριθμός αιμοπεταλίων σε συνδυασμό με προεκλαμψία), πλακουντιακή ανεπάρκεια ή προεκλαμψία.	
Οφθαλμολογικό	Θρόμβωση της αμφιβληστροειδικής αρτηρίας, θρόμβωση της αμφιβληστροειδικής φλέβας ή amaurosis fugax.	Αμφιβληστροειδίτιδα.
Πνευμονικό	Πνευμονική εμβολή, πνευμονική υπέρταση, πνευμονική αρτηριακή θρόμβωση ή φατνιακή αιμορραγία.	Σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας ή φατνιακή αιμορραγία.
Νεφρικό	Θρόμβωση της νεφρικής φλέβας, θρόμβωση της νεφρικής αρτηρίας, νεφρικό έμφραγμα, υπέρταση, οξεία νεφρική ανεπάρκεια, χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, πρωτεϊνουρία, αιματουρία ή νεφρωτικό σύνδρομο.	Οξεία νεφρική ανεπάρκεια (συνήα απαιτεί διάλυση), θρομβωτική μικροαγγειοπάθεια, ή υπέρταση.
Φλεβικό	Βαθιά φλεβική θρόμβωση των κάτω άκρων ή θρόμβωση της επινεφρίδιου, ηπατικής, μεσεντέριας, ή σπληνικής φλέβας ή της κάτω κοίλης φλέβας.	



Οι αρτηριακές θρομβώσεις είναι λιγότερο κοινές από τις φλεβικές θρομβώσεις και πολύ συχνά εμφανίζονται με χαρακτηριστικά γνωρίσματα συμβατά με ισχαιμία\* ή έμφραγμα. Η δριμύτητα της εμφάνισης αφορά την οξύτητα και την έκταση της βλάβης<sup>85</sup>.

Ο εγκέφαλος είναι η πιο κοινή περιοχή, με εγκεφαλικά και παροδικά ισχαιμικά επεισόδια, με συχνότητα σχεδόν 50% αρτηριακής βλάβης. Οι στεφανιαίες βλάβες έχουν συχνότητα 23%, ενώ το υπόλοιπο 27% περιλαμβάνει διαφορετικές περιοχές, όπως υποκλείδιες, νεφρικές, αμφιβληστροειδικές, και πελματικές αρτηρίες<sup>86</sup>.

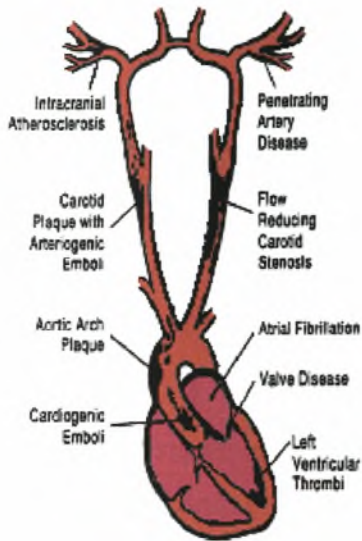
Πρέπει να τονιστεί ότι θρομβωτικά επεισόδια, που συνδέονται με το APS, μπορούν να εμφανιστούν και σε αγγεία που επηρεάζονται σπάνια από άλλες προ-θρομβωτικές καταστάσεις (πίνακας 3).

Η φλεβική θρόμβωση, ειδικά η έν τω βάθει φλεβική θρόμβωση των κάτω άκρων, είναι η πιο κοινή εκδήλωση του APS· εμφανίζεται σε 29 έως 55 % των ασθενών με το σύνδρομο κατά τη διάρκεια μιας μέσης παρακολούθησης 6 ετών<sup>26,84</sup>. Πάνω από το μισό από αυτούς τους ασθενείς εμφανίζει πνευμονικές εμβολές<sup>86</sup>.

Δεν είναι όλα τα αρτηριακά επεισόδια της ισχαιμίας ή του εμφράγματος θρομβωτικά. Έμβολα ή εκβλαστήσεις ειδικά από την μητροειδή και από την αορτική βαλβίδα, μπορούν επίσης να οδηγήσουν σε εγκεφαλικά επεισόδια. Η συχνότητα των βαλβιδοπαθειών εμφανίζεται αρκετά υψηλή· μέχρι και το 63% των ασθενών με APS εμφανίζει τουλάχιστον μια βαλβιδική βλάβη στο ηχοκαρδιογράφημα<sup>84</sup>. Από αυτές τις βλάβες λίγες είναι κλινικής σημασίας, αν και εκβλαστήσεις των μητροειδών ή των αορτικών βαλβίδων είναι παρούσες σε περίπου 4% των ασθενών με το πρωτοπαθές ή το δευτεροπαθές APS<sup>84</sup>.

Η οξεία προσβολή των τριχοειδών αγγείων (αρτηρίδια ή φλεβίδια), συχνά οδηγεί σε μια κλινική εικόνα, ουσιαστικά όμοια με εκείνη του αιμολυτικού - ουραιμικού συνδρόμου και της θρομβωτικής θρομβοκυτοπενικής πορφύρας, καθώς επίσης και άλλων θρομβωτικών μικροαγγειοπαθειών.

\* ανεπαρκής ροή του αίματος προς μια περιοχή ή ένα όργανο.



Κατά συνέπεια, η προσβολή οργάνων στους ασθενείς με το APS, μπορεί να εμφανιστεί σε ένα φάσμα, από ταχέως επιδεινούμενο μέχρι κλινικά σιωπηλό και αδρανές.

Εξαρτώμενη από το μέγεθος των αγγείων, η βλάβη των οργάνων έχει δύο κυρίαρχες αιτίες, τη θρομβωτική μικροαγγειοπάθεια και την ισχαιμία, ως συνέπεια των θρομβοεμβολικών γεγονότων.

#### Εικόνα 4.

Η απόφραξη μιας εγκεφαλικής αρτηρίας μπορεί να είναι αποτέλεσμα εμβολής<sup>89</sup>.

Άλλες εξέχουσες εκδηλώσεις του APS περιλαμβάνουν την θρομβοκυτοπενία<sup>87</sup> (σε 40 έως 50% των ασθενών), την αιμολυτική αναιμία (σε 14 έως 23%), και τη δικτυωτή πελίωση του δέρματος ( livedo reticularis -- σε 11 έως 22%)<sup>26,84</sup>.

Αν και οι νεφρικές εκδηλώσεις είναι ένα πολύ κοινό χαρακτηριστικό γνώρισμα του SLE, μόνο πρόσφατα αναγνωρίστηκαν ως τμήμα του APS<sup>88</sup>.

## ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΓΝΩΡΙΣΜΑΤΑ

Τα ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά γνωρίσματα του APS απεικονίζουν έναν συνδυασμό διάφορων σημαντικών παθοφυσιολογικών διαδικασιών:

- ❖ της θρομβωτικής μικροαγγειοπάθειας,
- ❖ της δευτερογενούς ισχαιμίας σε αντίθεση με την αρτηριακή θρόμβωση ή την εμβολή
- ❖ και τις περιφερικές εμβολές από φλεβικές, αρτηριακές ή ενδοκαρδιακές πηγές (intracardiac sources)<sup>90,91</sup>.

Τα ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά γνωρίσματα των αρτηριακών και φλεβικών θρομβώσεων που εμφανίζονται σε συνδυασμό με το APS, δεν διαφέρουν από εκείνα που εμφανίζονται σε άλλες προθρομβωτικές καταστάσεις. Ομοίως, οι περιοχές της ισχαιμίας και του εμφράγματος, απόρροια των θρομβωτικών ή των εμβολικών βλαβών, στερούνται των μοναδικών χαρακτηριστικών γνωρισμάτων.

Οι θρομβωτικές μικροαγγειοπάθειες, αποτελούν αυξανόμενη κλινική ανησυχία στο APS και είναι συνέπεια της μικροαγγειακής συμμετοχής.

Τα ιστολογικά χαρακτηριστικά γνωρίσματα δεν είναι συγκεκριμένα για το APS και μπορούν να φανούν σε ποικίλες άλλες ασθένειες και σύνδρομα, συμπεριλαμβανομένου του αιμολυτικού - ουραιμικού συνδρόμου και της θρομβωτικής θρομβοκυτοπενικής πορφύρας, της κακοήθους υπέρτασης, του σκληροδέρματος, της εγκυμοσύνης - συνδεδεμένης με νεφρική ανεπάρκεια και διαφόρων θρομβωτικών μικροαγγειοπαθειών προκληθέντων από φάρμακα, όπως η κυκλοσπορίνη (cyclosporine)<sup>76</sup>.

Αν και οι οξείες βλάβες της θρομβωτικής μικροαγγειοπάθειας είναι συνήθως αρκετά εξέχουσες, οι χρόνιες βλάβες εύκολα διαφεύγουν. Οι βλάβες περιλαμβάνουν την τριχοειδή συμφόρηση και τους ενδοτριχοειδείς ινώδεις θρόμβους, γενικά χωρίς φλεγμονή<sup>90,92,93</sup>.

Ο ανοσοφθορισμός αποκαλύπτει μια υπεροχή των ινώδο - σχετικών αντιγόνων. Άνοσα συμπλέγματα δεν ανιχνεύονται<sup>91,94</sup>.

Οι χρόνιες βλάβες κυμαίνονται από την ισχαιμική υποαιμάτωση (ischemic hypoperfusion) μέχρι την ατροφία και την ίνωση<sup>92,95</sup>.

Κατά τη διάρκεια της οξείας φάσης, ινώδεις θρόμβοι που περιέχουν τεμαχισμένα στοιχεία του αίματος στενεύουν ή αποφράσσουν τις αγγειακές κοιλότητες<sup>91,94</sup>.

Οι θρόμβοι οργανώνονται τελικά, σε ινωδοκυτταρικές και ινώδεις αγγειακές αποφρά-

ξεις. Η ροή του αίματος μπορεί να αποκατασταθεί από την ανάπτυξη νέων ενδοθηλιακών καναλιών, που διαπερνούν την απόφραξη<sup>91</sup>.

Η αληθινή αγγειίτιδα σπάνια, αν ποτέ, εμφανίζεται στο πρωτοπαθές APS<sup>90</sup>, ενώ στο δευτεροπαθές APS είναι αποδοτέα σε SLE και όχι στο APS.

Αν και υπάρχει τεράστια σύγχυση, σχετικά με την ορολογία για τις αγγειακές αλλοιώσεις που συνδέονται με το SLE, η αγγειο - αποφρακτική (vaso - occlusive) νόσος που συνδέεται με το APS, ανεξάρτητα από το μέγεθος του αγγείου που προσβάλλεται, αποδίδεται στη θρόμβωση<sup>90</sup>.

# ΠΑΘΟΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΘΡΟΜΒΩΣΗΣ

Από την αρχική παρατήρηση του Bowie et al το 1963, έχει γίνει σαφές ότι η θρόμβωση αποτελεί σημαντική ανησυχία για τους ασθενείς με LA<sup>2</sup>.

Οι προταθέντες παθογενετικοί μηχανισμοί των σχετιζόμενων με τα APS, θρομβοεμβολικών επεισοδίων, περιστρέφονται γύρω από την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, την ενεργοποίηση ή την δυσλειτουργία των ενδοθηλιακών κυττάρων και την παρεμβολή των aPL στα κριτικά για τη ρύθμιση της πήξης του αίματος συστήματα της πρωτεΐνης C (pC), της θρομβομοδουλίνης (TM) και της προθρομβίνης (πίνακας 4)<sup>22,96</sup>.

Ήδη από το 1981 είχε δειχθεί<sup>97</sup> ότι IgG κλάσμα από ασθενείς με δραστηριότητα LA, θρομβώσεις και επανειλημμένες αυτόματες αποβολές, αναστέλλει το σχηματισμό προστακυκλίνης (PGI<sub>2</sub>)\* από τα αγγειακά τμήματα ή τα αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα. Η προσθήκη αραχιδονικού οξέως που παρακάμπτει αυτή την ανασταλτική δράση, σημαίνει ότι τα APS παρεμβαίνουν στην απελευθέρωση αραχιδονικού οξέως, που αποτελεί το υπόστρωμα παραγωγής PGI<sub>2</sub>, από τα μεμβρανικά PL<sup>79</sup>.

**Πίνακας 4. Μηχανισμός θρόμβωσης επί παρουσίας aPL.**

Ιστός	Προθρομβωτική δράση
Ενδοθήλιο	Διαταραχή απελευθέρωσης προστακυκλίνης, διασταυρούμενη αντίδραση aPL με γλυκοζαμινογλυκάνες της επιφάνειας, επαγωγή έκφρασης του ιστικού παράγοντα /ενεργοποίηση ενδοθηλιακών κυττάρων, σύνθεση /έκκριση παράγοντα που ενεργοποιεί τα αιμοπετάλια
Ινωδόλυση	Τροποποίηση κυκλοφορίας /ενεργοποίησης λευκοκυττάρων, αύξηση επιπέδων PAI-1 και μειωμένη ινωδόλυση, αναστολή προκαλλικρεΐνης και διαταραχή της εκ του XII εξαρτώμενης ινωδόλυσης,
Αιμοπετάλια	Ενεργοποίηση (μέσω aPL ή ανοσοσυμπλεγμάτων που περιέχουν aPL), αυξημένη παραγωγή θρομβοξάνη, αυξημένη προσκόλληση και συγκόλληση αιμοπεταλίων από τα aPL
Αντιθρομβίνη	Η δέσμευση aPL με γλυκοζαμινογλυκάνες αναστέλλει τη δραστηριότητα αντιθρομβίνης,
β <sub>2</sub> -GPI	Αρνητικοποίηση της αντιπηκτικής δράσης της β <sub>2</sub> -GPI,
Αννεξίνη	Αρνητικοποίηση της αντιπηκτικής δράσης της, λόγω εκτόπισης της από τις φωσφολιπιδικές θέσεις.

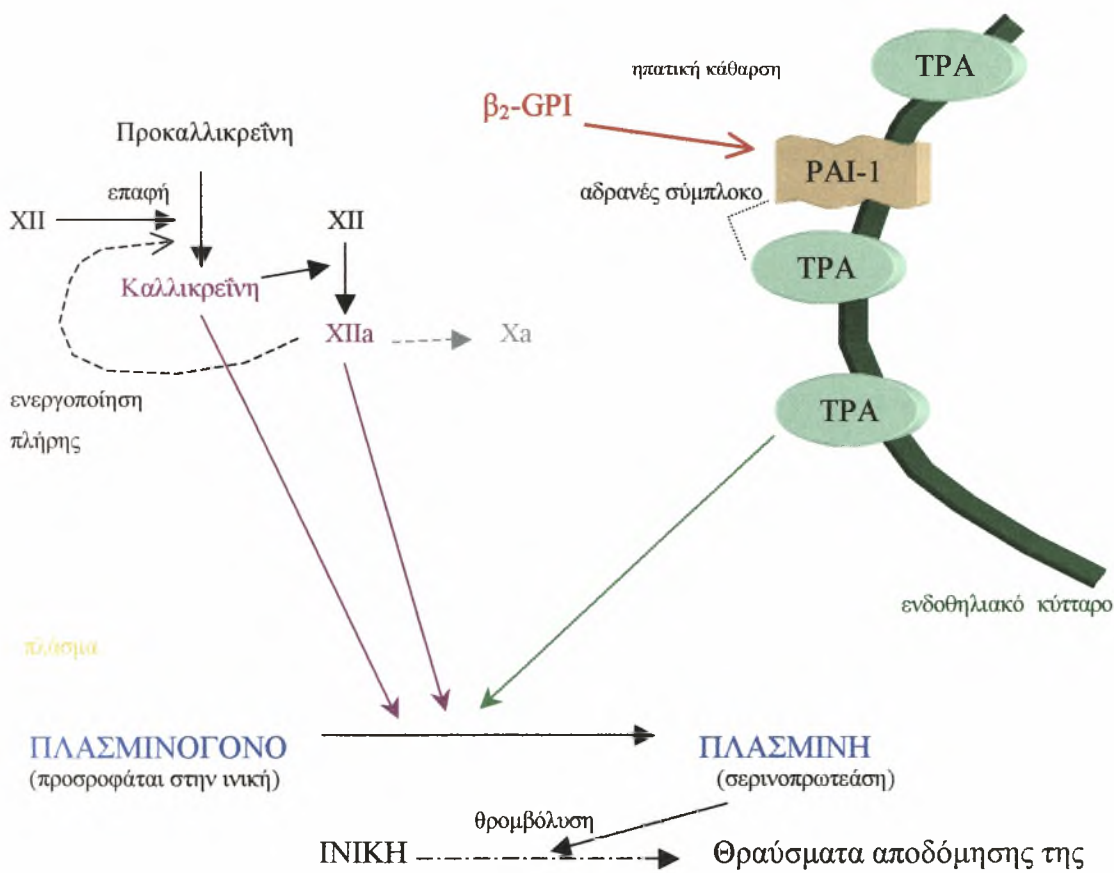
\* ισχυρός αναστολέας της αντίδρασης και της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων, δηλαδή δρα ανταγωνιστικά προς την θρομβοξάνη A2<sup>1</sup>.

Τα ευρήματα αυτά επιβεβαιώθηκαν από πολλές μετέπειτα εργασίες που έδειξαν επιπλέον, ότι μερικά κεκαθαρμένα aPL αναστέλλουν εκτός από την παραγωγή της PGI<sub>2</sub>, και την παραγωγή του PAF από το άθικτο ενδοθήλιο, διαδικασίες που και οι δύο εξαρτώνται από τη φωσφολιπάση A<sub>2</sub>.

Φαίνεται συνεπώς ότι σ' αυτές τις περιπτώσεις τα aPL κατευθύνονται έναντι του συμπλέγματος φωσφολιπάση A<sub>2</sub> - PL.

### aPL και ινωδολυτικός μηχανισμός.

Τα δεδομένα της επίδρασης των aPL επί του ινωδολυτικού συστήματος είναι αντικρουόμενα. Υπάρχουν μελέτες που έδειξαν σημαντική μείωση της απελευθέρωσης του ιστικού ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (t-PA) σε ασθενείς με aPL μετά φλεβικού αποκλεισμού, όπως και μελέτες που έδειξαν φυσιολογική ενδοθηλιακή απελευθέρωση του t-PA, σε ασθενείς με LA και θρόμβωση.



**Σχήμα 5.**  
Ενεργοποίηση του μηχανισμού  
ινωδόλυσης.

(FDPs – fibrin degradation products)

απομάκρυνση μέσω πρωτεάσης



Το πλέον σταθερό εύρημα σε ασθενείς με LA και ιδίως σε συνδυασμό με SLE, αλλά και χωρίς νόσο του συνδετικού ιστού, είναι η αύξηση του τύπου 1 ανασταλτή του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (PAI-1)<sup>98</sup>.

Η β<sub>2</sub>-GPI, υπό φυσιολογικές συνθήκες, αναστέλλει τη δραστηριότητα του PAI-1 με μια αντίδραση που δεν απαιτεί PL. Πιστεύεται ότι ο PAI-1 επικαλύπτεται από την β<sub>2</sub>-GPI και ο επικαλυμμένος με αυτό τον τρόπο PAI-1 υπάρχει στην κυκλοφορία, ως μη δραστική μορφή. Συνεπώς η β<sub>2</sub>-GPI ρυθμίζει την εξωγενή ινωδολύση, δια μείωσης της δραστηριότητας του PAI-1<sup>98</sup>.

Επί ασθενών με APS και παρουσίας αντί- β<sub>2</sub>-GPI αντισωμάτων, επέρχεται απορύθμιση του ινωδολυτικού μηχανισμού, με αύξηση της δραστηριότητας του PAI-1<sup>98</sup>.

Επίσης, έχει αναφερθεί αύξηση των επιπέδων, στο πλάσμα, της λιποπρωτεΐνης α (Lpa). Η Lpa αναστέλλει την ινωδολυτική δραστηριότητα όχι μόνο σαν ανασταλτής του t-PA, αλλά αυξάνοντας και την έκφραση του PAI-1 στα ενδοθηλιακά κύτταρα.

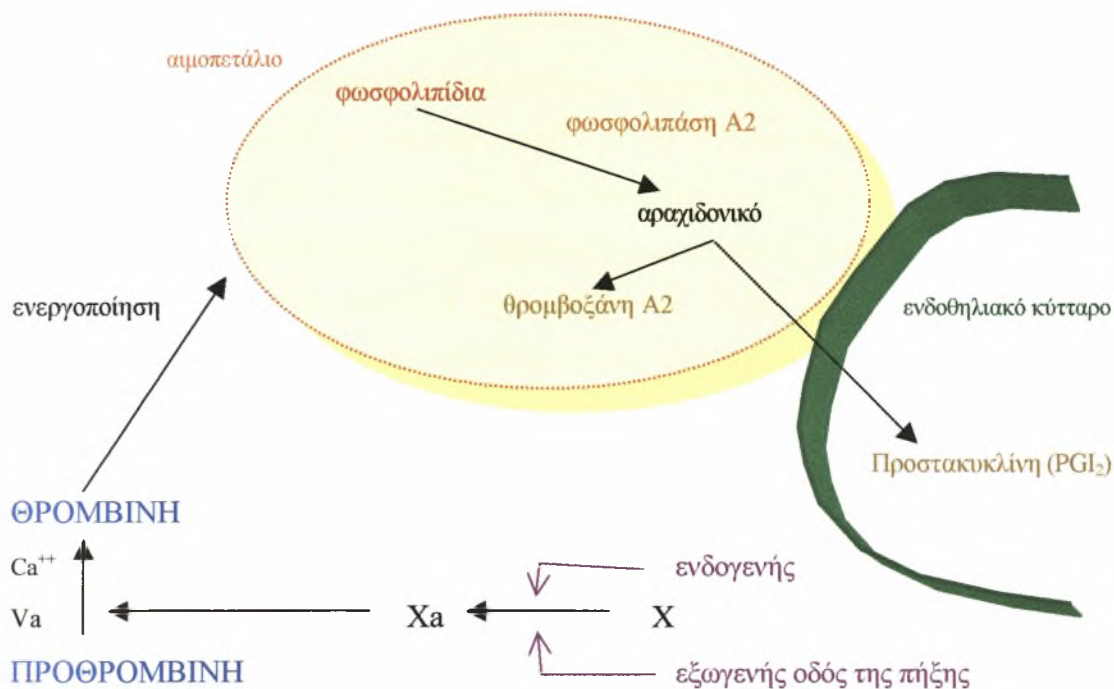
Από τα παραπάνω ευρήματα, συνάγεται ότι σε ασθενείς με APS, η ινωδολυτική δραστηριότητα αναστέλλεται λόγω αύξησης της δραστηριότητας του PAI-1 στο πλάσμα, αλλά και αύξησης των επιπέδων του<sup>22</sup>.

Σε μείωση της ινωδολυτικής δραστηριότητας των ασθενών με APS, συμβάλλουν και οι διαταραχές της δραστηριότητας της προκαλικρεΐνης (Prek)<sup>22</sup>.

### ***aPL και ενεργοποίηση αιμοπεταλίων.***

Όσον αφορά τη δράση των aPL επί της λειτουργίας των αιμοπεταλίων, προκαλούν ενεργοποίησή τους. Σε μερικούς ασθενείς με SLE, τα aPL, αυξάνουν την παραγωγή θρομβοξάνης A<sub>2</sub> (TX A<sub>2</sub>) από πλούσιο σε αιμοπετάλια πλάσμα μετά διέγερση από το κολλαγόνο ή το αραχιδονικό οξύ.

Κλάσμα F(ab')<sub>2</sub> από aPL - IgG ασκεί άμεση διεγερτική επίδραση σε πλυμμένα ανθρώπινα αιμοπετάλια ενεργοποιημένα με θρομβίνη και αύξηση της παραγωγής της TXA<sub>2</sub>, που φαίνεται ότι οφείλεται στην αναγνώριση φωσφολιπιδικών ή φωσφολιποπρωτεϊνικών επιτόπων επί των αιμοπεταλίων, δράση που δεν ασκείται σε εν ηρεμία αιμοπετάλια. Τα aCL εμποδίζουν την ανασταλτική δράση της β<sub>2</sub>-GPI επί των αιμοπεταλίων, αυξάνοντας την παραγωγή του παράγοντα Xa και τη θρομβωτική διάθεση<sup>99</sup>.



**Σχήμα 6.**  
Μηχανισμός ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων.

Ένα από τα πλέον σταθερά ευρήματα επί APS, είναι η σημαντικά αυξημένη απέκκριση με τα ούρα, μεταβολιτών της εκ των αιμοπεταλίων προερχόμενης TXA<sub>2</sub> (11 - dehydro - TX A<sub>2</sub> και 2,3 - dinor - TX A<sub>2</sub>) και η μικρότερη αύξηση των μεταβολιτών της PGI<sub>2</sub> από το αγγειακό ενδοθήλιο (2,3 - dinor - 6 - keto - PGF 1b<sub>2</sub>).

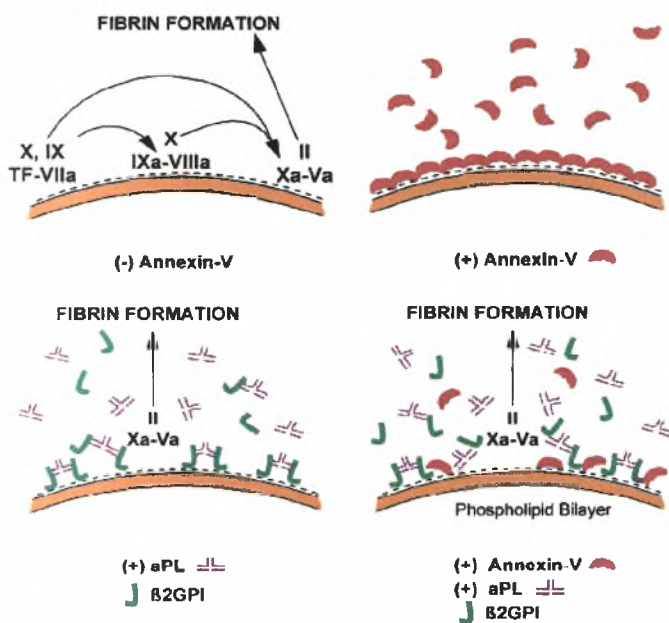
Παρακολούθηση για ένα χρόνο ασθενών με aPL, έδειξε σταθερή αύξηση της 11 - dehydro - TX A<sub>2</sub>, γεγονός που συνηγορεί υπέρ της συνεχούς και όχι παροδικής *in vivo* ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων σ' αυτούς τους ασθενείς. Τα παραπάνω ευρήματα σε συνδυασμό με την ανεπαρκή παραγωγή PGI<sub>2</sub> από το αγγειακό ενδοθήλιο, οδηγούν σε ανισορροπία της σχέσης TX A<sub>2</sub>/PGI<sub>2</sub> *in vivo*, εις βάρος της PGI<sub>2</sub> που αποτελεί ισχυρό αγγειοδιασταλτικό και ανασταλτικό της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων παράγοντα, ευνοώντας την προθρομβωτική κατάσταση<sup>99</sup>.

## *aPL* και αννεξίνη-V.

Η αννεξίνη-V, γνωστή προηγουμένως και ως πλακουντιακή αντιπηκτική πρωτεΐνη I ή αγγειακό αντιπηκτικό α, που έχει μεταξύ άλλων θέσεων απομονωθεί και από τον ανθρώπινο πλακούντα και τα αγγεία, είναι πρωτεΐνη με ισχυρή *in vitro* αντιπηκτική δραστηριότητα, λόγω της μεγάλης συγγένειας της με τα αρνητικώς φορτισμένα PL και της ικανότητας της να εκτοπίζει τους παράγοντες πήξης από τις φωσφολιπιδικές επιφάνειες. Η φυσιολογική της συγκέντρωση στο πλάσμα είναι <10 ng/ml.

Το ενδιαφέρον έγκειται στο ότι η αννεξίνη-V συγκεντρώνεται κατά ομάδες στα εκτεθειμένα PL και σχηματίζει δύο διαστάσεων κρυσταλλικές δομές, στις οποίες απόδίδεται και η αντιπηκτική της δραστηριότητα, δηλαδή με τη διάταξη της αυτή σχηματίζεται, πάνω από τα PL, ένα προστατευτικό κέλυφος και έτσι δεν είναι πλέον διαθέσιμα για τις αντιδράσεις πήξης (σχήμα 7).

Η αννεξίνη-V εκφράζεται σε υψηλή συγκέντρωση στην τροφοβλάστη του πλακούντα και αφθονεί στα κορυφαία κύτταρα των μικρολαχνών της συγκυτιοτροφοβλάστης.



Σχήμα 7.

Μηχανισμός μείωσης της αννεξίνης V και επιτάχυνση της πήξης, επί παρουσίας *aPL*<sup>76</sup>.

Σε ποντικούς, η χορήγηση αντισωμάτων έναντι της αννεξίνης-V, προκαλεί έμφρακτα στον πλακούντα με απώλεια του κυήματος, γεγονός που αποδεικνύει ότι είναι απαραίτητη για τη διατήρηση της ακεραιότητας του<sup>100</sup>. Επί προεκλαμψίας έχει διαπιστωθεί μειωμένη έκφραση της αννεξίνης-V στην τροφοβλάστη του πλακούντα

και μάλιστα ο βαθμός μείωσης σχετίζεται με τον βαθμό αύξησης των δεικτών ενεργοποίησης της πήξης.

Από τις παραπάνω μελέτες είναι εμφανές ότι η αννεξίνη-V έχει θρομβο-ρυθμιστική δράση στον πλακούντα και στο ενδοθήλιο των αγγείων. Στα ίδια συμπεράσματα έχουν καταλήξει και ανοσοϊστοχημικές μελέτες τομών πλακούντα γυναικών με APS (παρατηρήθηκε μειωμένη έκφραση αννεξίνης-V) και φυσιολογικών γυναικών, ευρήματα τα οποία αναπαράγονται και *in vivo*<sup>96</sup>.

Η υψηλή συγγένεια δέσμευσης των aPL με τα PL ή τα συμπλέγματα πρωτεϊνών - PL (που περιέχουν προθρομβίνη, β<sub>2</sub>-GPI ή άλλες πρωτεΐνες) παρεμβαίνουν στερεοχημικά στην ικανότητα της αννεξίνης-V να συγκεντρώνεται στην επιφάνεια των κυττάρων, επιτρέποντας τη διαθεσιμότητα περισσότερων PL, για τον σχηματισμό συμπλεγμάτων με τις πρωτεΐνες της πήξης, προάγοντας έτσι την πήξη και συνεπώς τη θρόμβωση<sup>101</sup>.

### ***aPL και οδός του ιστικού παράγοντα.***

Ο ιστικός παράγων (TF) αποτελεί το φυσιολογικό έναυσμα της πήξης του αίματος, αλλά και το κύριο έναυσμα της πήξης στη θρόμβωση.

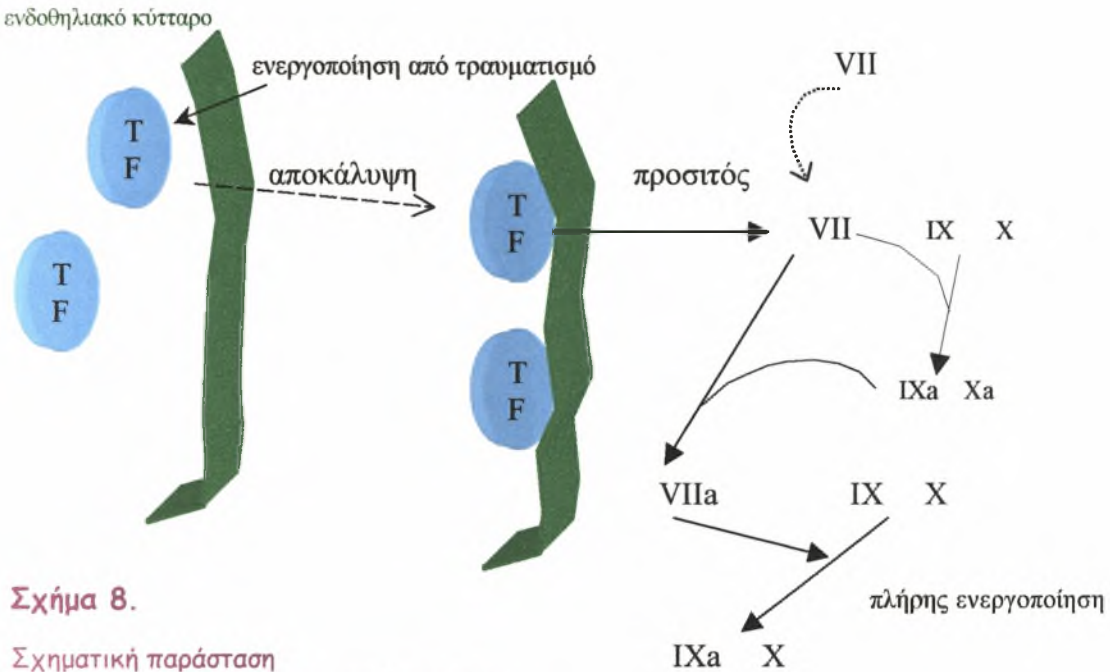
Ο TF είναι διαμεμβρανική πρωτεΐνη, μέλος της υπεροικογένειας των υποδοχέων κυττοκινών, που εκφράζεται συστηματικά στην επιφάνεια πολλών τύπων κυττάρων όχι όμως στα ενδοθηλιακά κύτταρα ούτε στα κύτταρα του περιφερικού αίματος (όχι τουλάχιστον σε λειτουργικώς δραστική μορφή).

Αποτελεί υψηλής συγγένειας υποδοχέα για τους VII / VIIa και απαραίτητο συμπάργοντα του VIIa, ώστε να μετατρέπει αποτελεσματικά τα υποστρώματα του, τον IX και τον X, στις ενεργοποιημένες μορφές τους IXa και Xa<sup>102</sup>.

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα μονοκύτταρα και άλλα κύτταρα που έρχονται σε επαφή με το αίμα, ως ήδη ελέχθη, δεν εκφράζουν υπό κανονικές συνθήκες τον TF. Τα κύτταρα αυτά συνθέτουν και εκφράζουν τον TF μετά την ενεργοποίησή τους από λιποπολυσακχαρίτες και μερικές φλεγμονώδεις κυττοκίνες. Το ποσό του αντιγόνου του TF που υπάρχει στην επιφάνεια των κυττάρων που τον εκφράζουν, συνήθως δε συσχετίζεται με την προσηκτική του δραστηριότητα.

Η δραστηριότητα του TF σε φυσιολογική κατάσταση είναι "κρυμμένη" πάνω στην επιφάνεια των φερόντων TF κυττάρων, δηλαδή παρ' ότι το αντιγόνο του TF προσδιο-

ρίζεται στην επιφάνεια των μη ενεργοποιημένων κυττάρων, η πλήρης πηκτική του δραστηριότητα δεν προσδιορίζεται. Διέγερση των κυττάρων με ιόντα  $Ca^{++}$ , οδηγεί σε ταχεία αύξηση της TF δραστηριότητας χωρίς παράλληλη αύξηση της έκφρασης του αντιγόνου<sup>103</sup>.



**Σχήμα 8.**

Σχηματική παράσταση της εξωτερικής οδού ενεργοποίησης του παράγοντα X.

Η αυξημένη δραστηριότητα του TF εμπλέκεται σε πολλές θρομβωτικές και υπερπηκτικές καταστάσεις. Αυξημένη έκφραση του TF στα ενδοθηλιακά κύτταρα, παρατηρείται σε ασθενείς με καρκίνο, Gramm αρνητική σήψη και αθηρωμάτωση.

Ο πιθανός ρόλος της οδού του TF στο APS ξεκίνησε από παρατηρήσεις όπου ο ορός, αρκετών ασθενών με SLE, αύξανε την προπηκτική δραστηριότητα σε καλλιέργειες ενδοθηλιακών κυττάρων, ενώ πιο πρόσφατα εδείχθη αυξημένη TF έκφραση και προπηκτική δραστηριότητα στα κυκλοφορούντα μονοκύτταρα του αίματος.

Ο ορός, το πλάσμα, η κεκαθαυμένη ολική IgG και τα αντί-  $\beta_2$ -GPI αντισώματα από ασθενείς με APS αυξάνουν την έκφραση του TF και της προπηκτικής δραστηριότητας στα μονοκύτταρα. Η αυξημένη TF δραστηριότητα σχετίζεται με τα IgM aCL και με ιστορικό θρομβώσεων<sup>103</sup>.

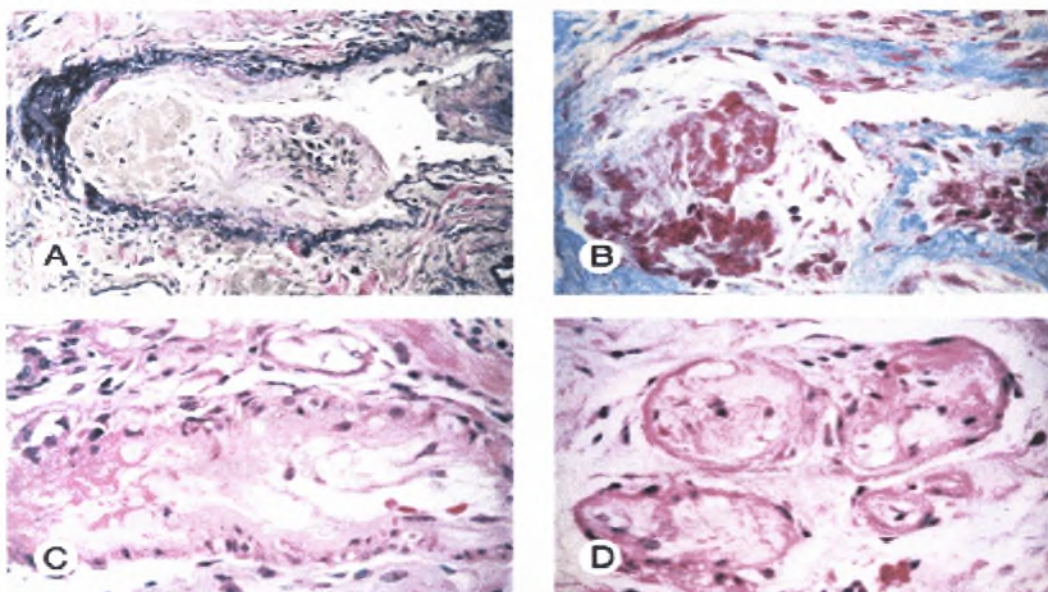


### Εικόνα 5. Ενδοθηλιακός τραυματισμός σε μια περίπτωση με APS.

Ο ενδοθηλιακός τραυματισμός (injury) φαίνεται σε μια δωδεκαδακτυλική βιοψία μιας γυναίκα 40 ετών, που παρουσίασε άφθονη εντερική αιμορραγία και βρέθηκε να έχει LA και εμφανώς θετικά aCL.

(A) Χρώση ελαστίνης (elastic stain - αρχική ενίσχυση  $\times 200$ ) που αναδεικνύει ένα νέο θρόμβο (δεξιά) με τα αρχικά στάδια της οργάνωσης και της ενδοθηλιακής ανάπτυξης και ένα παλαιότερο οργανωμένο θρόμβο με πολλαπλασιασμό ινοβλαστών (κέντρο), μέσα σε ένα αγγείο με τραυματισμένα και διαλυμένα ενδοθηλιακά κύτταρα.

(B) Τριπλή χρώση (trichrome - αρχική ενίσχυση  $\times 400$ ) του ίδιου πεδίου που τονίζει το υλικό του θρόμβου (κόκκινο μη κυτταρικό υλικό στα δεξιά) με τα πρόωρα στάδια της οργάνωσης.



(C) Χρώση αιματοξυλίνης - ηωσίνης (hematoxylin και eosin - αρχική ενίσχυση  $\times 400$ ) εμφανίζοντας την ινώδη νέκρωση (δεξιά) εν τη απουσία μιας φλεγμονώδης αντίδρασης μέσα σε ένα αγγείο, της ίδιας δωδεκαδακτυλικής βιοψίας, όπως φαίνεται στα (A) και (B). Τα ενδοθηλιακά κύτταρα εμφανίζουν χαρακτηριστική κυστική εκφύλιση (αριστερά). Τα περιβάλλοντα ηωζινοφιλικά αγγειακά κύτταρα είναι μικρά μυϊκά κύτταρα, που περιβάλλονται από ινοβλάστες.

(D) Μια μεγαλύτερης ισχύος εικόνα (αρχική ενίσχυση  $\times 600$ ) της ίδιας βιοψίας που εμφανίζει τέσσερα τριχοειδή αγγεία με ενδοθηλιακά κύτταρα καθολικά εκφυλισμένα και καθαρές περιοχές με εξάλειψη του ενδοθηλίου (effacement)<sup>104</sup>.

Πειραματικά δεδομένα συνηγορούν ότι τα αντι- $\beta_2$ -GPI αυτοαντισώματα, παίζουν σημαντικό ρόλο στην αυξημένη έκφραση του TF των μονοκυττάρων των ασθενών με APS. Επίσης έχουν προσδιορισθεί και αυτοαντισώματα έναντι του ανασταλτή της οδού του ιστικού παράγοντα (TFPI) σε ασθενείς με APS, τα οποία συσχετίζονται με αρτηριακές θρομβώσεις και αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια<sup>22</sup>.



Έχει δε αναφερθεί και κυτταρική ανοσία προς τη  $\beta_2$ -GPI·  $\beta_2$ -GPI ειδικά T κύτταρα ανήκουν στον φαινότυπο Th1 και παράγουν ιντερφερόνη- $\gamma$ , που ως γνωστόν διεγείρει την έκφραση του TF στα μονοκύτταρα<sup>102</sup>.

### ***APS και οδός της pC.***

Η οδός της πρωτεΐνης C / πρωτεΐνης S (pC / Ps) παίζει ρόλο κλειδί στη ρύθμιση της αιμόστασης, γιατί η pC αποτελεί ισχυρό φυσιολογικό ανασταλτή των Va και VIIIa, και περιορίζει τον σχηματισμό θρομβίνης<sup>105</sup>. Συνεπώς ήταν λογικό να θεωρηθεί ότι η εκλεκτική αναστολή της, ερμηνεύει την προθρομβωτική διάθεση που εμφανίζει τουλάχιστον κάποια κατηγορία LA και aPL.

Παρ' ότι η συσχέτιση της διαταραχής της λειτουργικότητας της οδού της pC και των aPL, είναι από τις πρώτες προσπάθειες που έγιναν για την ερμηνεία των θρομβώσεων, ο ακριβής μηχανισμός παραμένει ασαφής. Οι υποθέσεις που έχουν διατυπωθεί είναι οι εξής:

- αναστολή του σχηματισμού θρομβίνης
- μείωση της ενεργοποίησης της pC από το σύμπλεγμα θρομβίνη- θρομβομοδουλίνη
- αναστολή του σχηματισμού του συμπλέγματος της pC
- αναστολή της δραστηριότητας της pC άμεσα ή μέσω της pS
- αντισώματα έναντι των υποστρωμάτων της pC των Va και VIIIa, που τους προστατεύουν από την αδρανοποίηση τους
- επίκτητη apC - R (Resistance to Activated Protein C)

Σε ασθενείς με APS έχει ανευρεθεί υψηλότερη επίπτωση της apC -R σε σχέση με την παρουσία αντί- $\beta_2$ -GPI-αντισωμάτων.

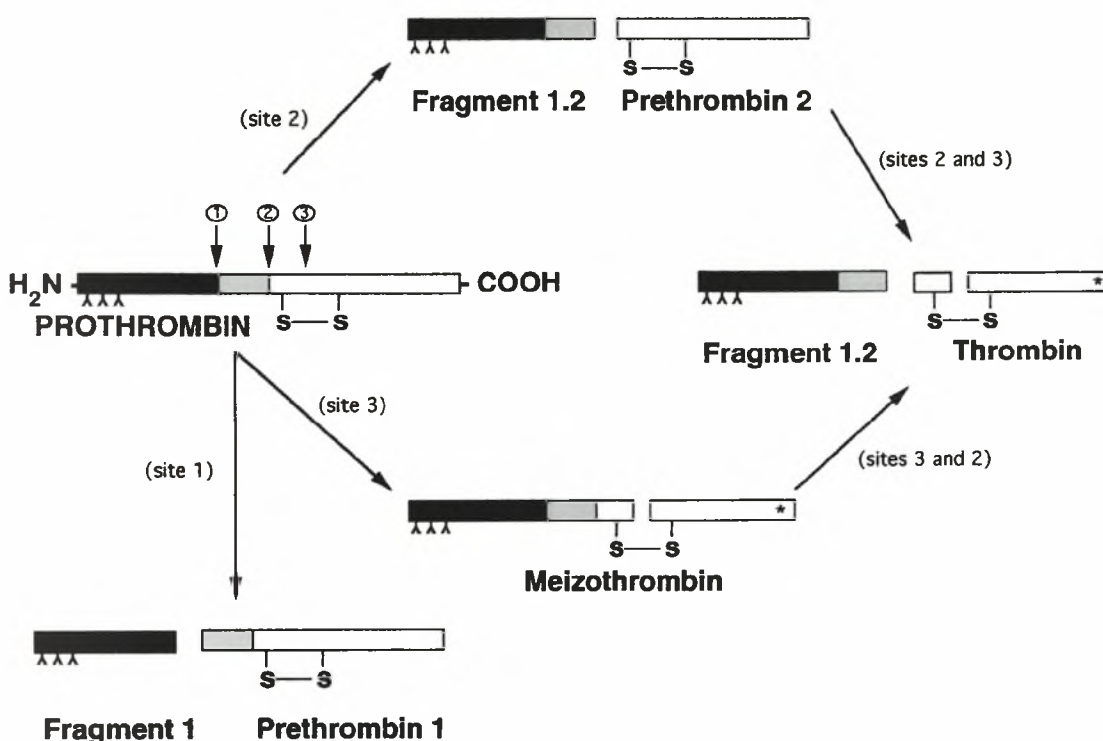
Σε ασθενείς με LA, χωρίς θρομβωτικό επεισόδιο η παρουσία του apC -R φαινοτύπου ανευρίσκεται στο 7%, σε ασθενείς με ένα θρομβωτικό επεισόδιο στο 52% και σε ασθενείς με επανειλημμένες θρομβώσεις στο 93%.

Η pC ενεργοποιείται από τη θρομβίνη τη συνδεδεμένη με τον υποδοχέα των ενδοθηλιακών κυττάρων, τη θρομβομοδουλίνη\* (TM).

\* διαμεμβρανική πρωτεΐνη, με εκτεταμένο NH<sub>2</sub>- τελικό τμήμα, των ενδοθηλιακών κυττάρων<sup>3</sup>.

Στο ενδοθήλιο υπάρχει δεύτερος υποδοχέας της οδού αυτής, ο υποδοχέας της pC των ενδοθηλιακών κυττάρων (EPCR). Ο EPCR δρα δια δεσμεύσεως της pC, αυξάνοντας έτσι τη συγκέντρωση της pC στην επιφάνεια του αγγειακού τοιχώματος και συνεπώς επιταχύνοντας την ενεργοποίηση της.

Η TM εκτός από την επιτάχυνση της ενεργοποίησης της pC<sup>106</sup>, εμποδίζει τη θρομβίνη να ενεργοποιεί τα κύτταρα, τον παράγοντα V και το ινωδογόνο, δρώντας έτσι ως έμμεσος, αλλά και άμεσος ανασταλτής της προπηκτικής δραστηριότητας της θρομβίνης.



**Σχήμα 9.** Σχηματικό διάγραμμα των οδών ενεργοποίησης της προθρομβίνης<sup>1</sup>.

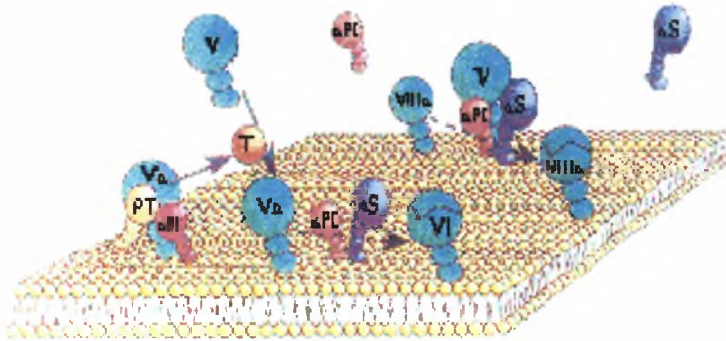
Η pS κυκλοφορεί στο πλάσμα ως ελεύθερη και ως συνδεδεμένη με τη ρυθμιστική πρωτεΐνη, συστατικό του συμπληρώματος, την C4b δεσμευτική πρωτεΐνη. Μόνον το ελεύθερο κλάσμα της pS δρα ως φυσικός ανασταλτής της πήξης<sup>107</sup>. Το σύμπλεγμα pC-pS αδρανοποιεί τους Va και VIIIa επί της επιφάνειας των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων, των ενδοθηλιακών κυττάρων ή πιθανόν και άλλου τύπου κυττάρων<sup>1,108,109</sup>.

Οι επιφάνειες αυτές μετά την ενεργοποίησή τους από διάφορους διεγέρτες, εκφράζουν PL και κυρίως φωσφατιδυλο-σερίνη (PS), φωσφατιδυλο-χολίνη (PC) και



φωσφατιδυλο-αιθανολαμίνη (PE), η οποία φαίνεται ότι είναι ιδιαίτερος απαραίτητη για τη λειτουργία της pC.

Πιστεύεται ότι τα aPL ανταγωνίζονται την apC για τις μεμβρανικές δεσμευτικές θέσεις ή παρεμβαίνουν στην ειδική, εξαρτώμενη από τη PE, λειτουργία της pC<sup>105</sup>.



**Σχήμα 10.**

Ο ρόλος της pC και της pS στην ενεργοποίηση των παραγόντων της πήξης<sup>110</sup>.

Σε αρκετές μελέτες ασθενών με LA, έχει αναφερθεί ένδεια των επιπέδων της pS. Η επίκτητη αυτή ανεπάρκεια ενδέχεται να οφείλεται σε αυτοαντισώματα έναντι της pS. Σε άλλες μελέτες έχει αναφερθεί ένδεια των επιπέδων της C4b δεσμευτικής πρωτεΐνης<sup>107</sup>. Είναι προφανές ότι αντισώματα, ειδικά έναντι των πρωτεϊνών αυτών, δημιουργούν προθρομβωτική κατάσταση· μερικά εξ αυτών των αντισωμάτων στρέφονται έναντι νεοεπιτόπων των πρωτεϊνών δημιουργούμενων από την αλληλεπίδραση με PL, άλλα περιλαμβάνουν ως τμήμα του επιτόπου PL, ερμηνεύοντας την εκ των PL εξαρτώμενη δέσμευση ή αναστολή.

Οι φλεγμονώδεις παράγοντες ιντερλευκίνη-1, TNF $\alpha$  και διάφορες ενδοτοξίνες εξασθενούν τη λειτουργία της οδού της pC εμποδίζοντας τη μεταγραφή των γονιδίων της TM και του EPCR αλλά δρώντας και με άλλους μηχανισμούς, όπως για παράδειγμα η αύξηση από τον TNF $\alpha$ , της ικανότητας των λευκοκυττάρων να διασπών την TM και να την απομακρύνουν από το ενδοθήλιο.

Το κατά πόσο οι διαταραχές αυτές συνδέονται με τη θρόμβωση επί φλεγμονής, δεν είναι ακόμη γνωστό.

Δεδομένης όμως της επαγωγής αυτοάνοσου μηχανισμού της θρόμβωσης στο APS, οι διαταραχές αυτές φαίνεται ότι παίζουν ρόλο στην αγγειακή βλάβη και τη θρόμβωση. Η ικανότητα του συστήματος της apC να ρυθμίζει, εκτός από τον μηχανισμό πήξης και τη φλεγμονώδη αντίδραση, εξηγεί μερικώς τουλάχιστον, τις αρτηριακές και τις φλεβικές θρομβώσεις επί ανεπάρκειας της οδού αυτής<sup>82</sup>.

## ***aPL και απόπτωσης.***

Τα αρνητικώς φορτισμένα PL των κυτταρικών μεμβρανών αντιπροσωπεύουν σημαντικούς δυνητικούς στόχους για τη δημιουργία του APS.

Η ένδεια αρνητικώς φορτισμένων PL από την εξωτερική επιφάνεια του κυττάρου, σε συνδυασμό με την έλλειψη αντιδραστικότητας των aPL με τα ακέραια κύτταρα, σημαίνει ότι η δέσμευση των aPL με τα κύτταρα προϋποθέτει αναδιάταξη των λιπιδίων της μεμβράνης.

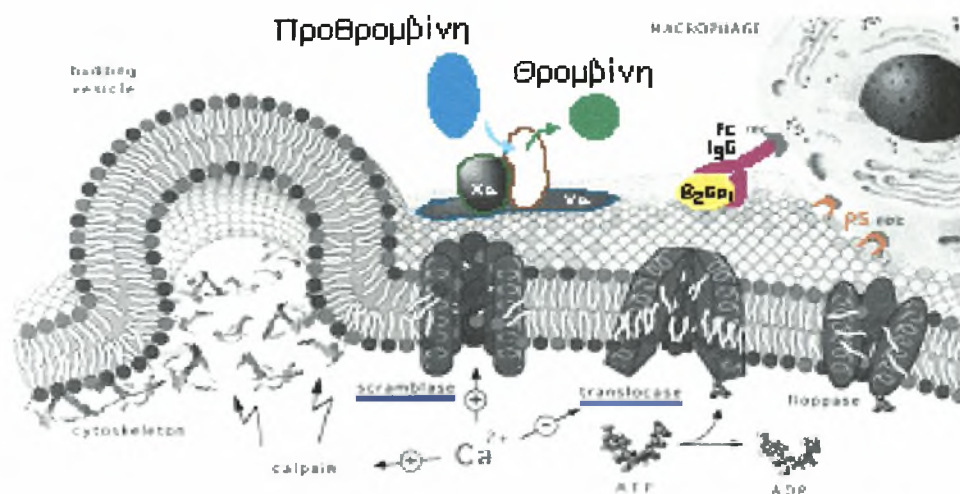
Ανακατανομή των λιπιδίων της μεμβράνης παρατηρείται τυπικά κατά την απόπτωση, αλλά και σε αρκετές φυσιολογικές καταστάσεις, όπως κατά την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων. Η προκύπτουσα έκθεση αρνητικώς φορτισμένων PL, προς την εξωτερική επιφάνεια των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων είναι κριτικής σημασίας για την έναρξη του μηχανισμού πήξης.

Κατά την απόπτωση των κυττάρων μεταξύ των ποικίλων μορφολογικών και βιοχημικών μεταβολών, επέρχεται και αναδιάταξη των PL της μεμβράνης· κατά τα πολύ πρώιμα στάδια της απόπτωσης, η PS, το αρνητικώς φορτισμένο PL που κυριαρχεί στη μεμβράνη, μετατοπίζεται από την εσωτερική προς την εξωτερική πλευρά ακολουθούμενη από τις άλλες μεταβολές της απόπτωσης.

Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες η λιπιδική μεμβρανική σύνθεση διατηρείται με τη βοήθεια ενός ενζύμου, μιας αμινοφωσfolιπιδικής τρανσλοκάσης (translocase), η οποία με ATP - εξαρτώμενο τρόπο μεταθέτει διαρκώς την PS και σε μικρότερο βαθμό την PE από την εξωτερική προς την εσωτερική πλευρά της μεμβράνης. Παρ' ότι η απόπτωση προκαλεί μείωση της δραστηριότητας της τρανσλοκάσης, δεν φαίνεται ότι από μόνη της μπορεί να προκαλέσει διαταραχές των λιπιδίων της μεμβράνης.

Είναι πιθανότερο, η απόπτωση να προκαλεί ενεργοποίηση μιας μη ειδικής λιπιδικής σκραμπλάσης (scramblase), που έχει αποτέλεσμα τη διαμεμβρανική μετακίνηση και προς τις δύο κατευθύνσεις όλων των λιπιδίων. Αυτό το φαινόμενο έχει αποδειχθεί και στα αιμοπετάλια και στα ερυθρά αιμοσφαίρια<sup>111</sup>.

Η  $\beta_2$ -GPI δεσμεύεται εκλεκτικώς με τις αποπτωτικές μεμβράνες (όχι όμως με τις μεμβράνες των ζώντων κυττάρων) σχηματίζοντας επίτοπο, αναγνωριζόμενο από τα aPL ασθενών με πρωτοπαθές APS και SLE.



**Εικόνα 6.**  
Κατανομή και ρύθμιση των λιπιδίων της μεμβράνης του κυττάρου κατά την απόπτωση<sup>19</sup>.

Επιπλέον οι οξειδωτικές μεταβολές που παρατηρούνται κατά την απόπτωση, έχουν σχέση με τη δημιουργία ή /και την αντιδραστικότητα των aPL. Οι οξειδωτικές τροποποιήσεις των PL και των συμπλεγμάτων PL - δεσμεύουσες PL πρωτεΐνες (phospholipid binding proteins -- PL-BP), δημιουργούν νέους επίτοπους που μπορούν να δρουν ως αντιγόνα ή ανοσογόνα. Οι νέοι επίτοποι προκύπτουν όχι μόνο από χημικές τροποποιήσεις των υπάρχοντων επιτόπων αλλά και από την έκθεση "κρυμμένων" φυσιολογικά επιτόπων, εντός των PL ή των συμπλεγμάτων PL-BP<sup>112</sup>.

Παρά τους πολλούς προαναφερθέντες παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς, που έχουν προταθεί για την ερμηνεία των κλινικών εκδηλώσεων του APS, φαίνεται ότι ο ακριβής μηχανισμός των θρομβώσεων δεν έχει ακόμη διευκρινισθεί. Η εμφάνιση ενός θρομβωτικού επεισοδίου απαιτεί τη σύμπτωση πολλών παραγόντων που προδιαθέτουν σε θρόμβωση, παραγόντων κληρονομικών, επίκτητων, αλλά και παραγόντων που πυροδοτούν τη θρόμβωση.



# ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΟΥ APS ΜΕ ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

Οι πρώτες μικρές σειρές ασθενών με συσχέτιση των aPL με νευρολογικές παθήσεις εμφανίστηκαν στη βιβλιογραφία τη δεκαετία του 1980. Οι πρώτες μεγάλες σειρές ανακοινώθηκαν το 1984, από τον Harris et al, οι οποίοι ήταν οι πρώτοι που συσχέτισαν τα εγκεφαλικά επεισόδια με τα aPL<sup>113</sup>.

Στην κατηγορία αυτή των παθήσεων του νευρικού συστήματος, που συσχετίζονται με aPL περιλαμβάνονται ποικίλα νοσήματα, όπως εστιακή εγκεφαλική ισχαιμία, οφθαλμική ισχαιμία, μυελοπάθεια, σύνδρομο Guillain - Barre, ημικρανία, χορεία, επιληπτικές κρίσεις (πίνακας 5). Η συχνότερα εμφανιζόμενη όλων νευρολογική πάθηση, είναι η εγκεφαλική ισχαιμία<sup>114</sup>.

## Πίνακας 5. Νευρολογικές παθήσεις που σχετίζονται με το LA και τα aPL.

- |   |   |
|---|---|
| - Εστιακή εγκεφαλική ισχαιμία <ul style="list-style-type: none"><li>• Παροδικό ισχαιμικό επεισόδιο</li><li>• Ημισφαιρικό ισχαιμικό έμφρακτο</li><li>• Ισχαιμικό έμφρακτο στελέχους</li><li>• Εγκεφαλική φλεβική θρόμβωση.</li></ul>               | - Ημικρανία και ημικρανικά φαινόμενα <ul style="list-style-type: none"><li>• Κλασσική ημικρανία (με αύρα)</li><li>• Κοινή ημικρανία (χωρίς αύρα)</li><li>• Μεμονωμένα ημικρανία συμπτώματα</li><li>• Σπινθηροβόλο σύμπτωμα</li><li>• Ημιανοπική ημικρανία</li><li>• Παροδική σφαιρική αμνησία</li><li>• Επιπεπλεγμένη ημικρανία</li></ul> |
| - Οφθαλμική ισχαιμία <ul style="list-style-type: none"><li>• Αμαύρωση</li><li>• Φλεβική θρόμβωση αμφιβληστροειδούς</li><li>• Αρτηριακή θρόμβωση αμφιβληστροειδούς</li><li>• Απόφραξη ακτινοειδών αρτηριών</li><li>• Χοριοειδές έμφρακτο</li></ul> | - Χορεία  |
| - Μυελοπάθεια <ul style="list-style-type: none"><li>• Λυκοειδής σκλήρυνση / Νευροπάθεια Τζαμάικας</li><li>• Νόσος Kohlmeier - Degos</li></ul>   | - Επιληπτικές κρίσεις   |
|   | - Μυοσίτις εγκλείστων σωματίων  |
|   | - Νευρολογικές εκδηλώσεις σε: <ul style="list-style-type: none"><li>• Σύνδρομο Behcet</li><li>• Νόσο Lyme</li><li>• Νόσο Sneddon</li></ul>  |

## Εγκεφαλική Ισχαιμία.

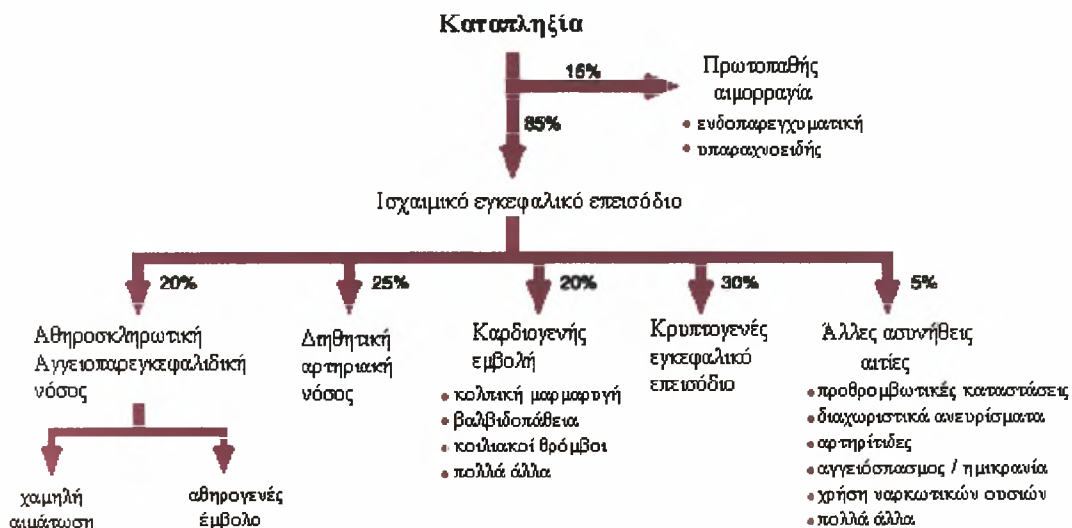
Πρόκειται για πολλαπλά και υποτροπιάζοντα αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια (ΑΕΕ) aPL θετικών ασθενών, μικρού ή μεγάλου διαμετρήματος των αγγείων (της μέσης

εγκεφαλικής και της έξω καρωτίδας κατ' εξοχήν) που συχνά καταλείπουν διαταραχές της μνήμης<sup>29</sup>.

Παρουσιάζεται πιο συχνά από τα τυπικά αθηροθρομβωτικά εγκεφαλικά επεισόδια, σε άτομα <50 ετών (2 - 46%)<sup>20</sup> και η συχνότητα τους παραμένει αυξημένη στα ΑΕΕ ασθενών μεγαλύτερης ηλικίας (10 - 18%)<sup>29</sup>, κυρίως γυναίκες.

Είναι δυνατόν να συνυπάρχουν και άλλοι παράγοντες κινδύνου για ΑΕΕ πλην των aPL, όπως υπέρταση, διαβήτης, κάπνισμα, υπερχοληστεριναιμία, οι οποίοι αυξάνουν την πιθανότητα ΑΕΕ, ανεξάρτητα των aPL.

Σε ορισμένους ασθενείς με APS, πιθανή αιτία ΑΕΕ είναι τα καρδιακά έμβολα<sup>115</sup>. Το υπερηχοκαρδιογράφημα είναι παθολογικό στο 1/3 των περιπτώσεων και απεικονίζει βαλβιδοπάθεια κυρίως μητροειδική, η οποία δεν είναι ειδική, αλλά μπορεί να είναι πηγή ΑΕΕ, και σε μικρότερο βαθμό αορτική ή τοιχωματική βλάβη. Η αγγειογραφία εμφανίζει τυπική απόφραξη ενδοκρανιακού κλάδου, δυνατόν όμως να είναι και φυσιολογική στο ένα τρίτο των περιπτώσεων.



**Σχήμα 11.**  
Ταξινόμηση του εγκεφαλικού επεισοδίου<sup>116</sup>.

Ο τύπος της θρομβωτικής νόσου σε ασθενείς με APS, είναι μοναδικός και διαφέρει τελείως από τον τύπο που παρατηρείται σε άλλες θρομβοφιλικές καταστάσεις, όπως σε ένδεια αντιθρομβίνης III, πρωτεΐνης C και ιδιοπαθούς θρομβοπενίας. Το θρομβωτικό εγκεφαλικό επεισόδιο με APS συνδυαζόμενο με SLE, εμφανίζει 30% ψευδώς θετική VDRL.

Στις περιπτώσεις του APS σχεδόν το 20% των ασθενών, δεν έχουν άλλο αίτιο για ισχαιμικό επεισόδιο.

Ως προς τα aPL, η μελέτη της ομάδας μελέτης καταπληξίας (Stroke Study Group), έδειξε ότι αποτελούν ανεξάρτητα παράγοντα κινδύνου για το πρώτο AEE.

Σε προοπτική μελέτη διαπιστώθηκε ότι το 31% των ασθενών με AEE, χωρίς SLE και με aPL, παρουσίαζαν υποτροπιάζοντα επεισόδια για 7 έτη και όσοι εκ των ασθενών είχαν υψηλότερους τίτλους, ανέπτυξαν σε συντομότερο χρονικό διάστημα ένα νέο επεισόδιο<sup>22</sup>.

Αντίθετα πρόσφατη προοπτική μελέτη 481 ασθενών με ισχαιμικό AEE, έδειξε ότι μόνο 5 ασθενείς παρουσίασαν aPL αυξημένα, όμως μόνο 2 εξ αυτών δεν είχαν άλλους παράγοντες κινδύνου και μόνο ο ένας παρουσίασε αργότερα SLE<sup>22</sup>. Κατά τους συγγραφείς τα aPL σε ασθενείς χωρίς AEE, υπερεκτιμώνται και για το λόγο αυτό όλοι συμφωνούν, ότι απαιτείται περαιτέρω μελέτη του ρόλου των aPL σε ασθενείς χωρίς SLE<sup>117</sup>.

aPL υπάρχουν σχεδόν, στο 10% ασθενών που παρουσιάζουν το πρώτο ισχαιμικό επεισόδιο και είναι συχνότερα σε AEE αγνώστου αιτιολογίας.

Έχουν παρατηρηθεί αρτηριακά ισχαιμικά έμφρακτα, ως και παροδικά ισχαιμικά επεισόδια στην κύηση και τη λοχεία. Είναι όμως άγνωστος ο πραγματικός κίνδυνος. Σε μελέτη 59 εγκύων με aPL δεν διαπιστώθηκε AEE.

Σε αναδρομική μελέτη, 147 ασθενείς με APS, εκ των οποίων 124 ήσαν γυναίκες, το 70% παρουσίασε υποτροπιάζουσες θρομβώσεις, εκ των οποίων μόνο 6 γυναίκες είχαν επεισόδιο στην κύηση ή τη λοχεία. Η κύηση δεν θεωρείται σημαντικός παράγων για θρόμβωση<sup>118</sup>.

## ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΤΟΥ APS

Υπάρχουν τρεις βασικές μεθοδολογίες για τον προσδιορισμό των aPL<sup>5</sup> :

- Η παλαιότερη χρησιμοποιεί *ψευδώς θετικές ορολογικές δοκιμασίες για τη σύφιλη* (biological false - positive serological test for syphilis - BFP-STS)<sup>115</sup>.

Οι κοινές αυτές ορολογικές δοκιμασίες χρησιμοποιούν είτε συγκόλληση (RPR, Rapid Plasma Reagin), είτε κροκίδωση (VDRL, Venereal Disease Research Laboratory), είτε σύνδεση συμπληρώματος (Wasserman) ως μεθοδολογία, με καρδιολιπίνη - χοληστερόλη – φωσφατιδυλο - χολίνη ως αντιγόνο. Έντονα θετική αντίδραση παρατηρείται στη σύφιλη, ενώ ήπια / μικρή / αρνητική αντίδραση παρατηρείται στο APS.

- *Δοκιμασία αντικαρδιολιπίνης στερεάς φάσεως (solid phase assays) με τη βοήθεια ενζυμικής ανοσο-προσρόφησης (ELISA).*

Η μέθοδος συνήθως χρησιμοποιεί πλάκες μικροτιτλοδότησης (microtiter) επιστρωμένες με καθαρά αρνητικώς φορτισμένα PL (καρδιολιπίνη), ως αντιγόνο και επιτρέπει τον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό ειδικών υποτάξεων (IgG, IgM, IgA) των aPL.

Τελευταία, φαίνεται ότι η προσθήκη β<sub>2</sub>- GPI<sup>\*</sup>, στον υπό εξέταση ορό, αυξάνει την ευαισθησία της μεθόδου. Ασθενείς με APS συνήθως έχουν σημαντικούς τίτλους IgG ή /και IgM aPL. Μερικές φορές δυνατό είναι να ανευρίσκονται μόνο IgM aPL, ενώ σπανιότερα, ανιχνεύεται μόνο ο IgA ισότυπος.

- *Η δοκιμασία του αντιπηκτικού του λύκου, είναι μία λειτουργική δοκιμασία που εκτιμά τη δυνατότητα του ορού που περιέχει aPL, να επιμηκύνει *in vitro* τις παραμέτρους της πήξης.*

Μέσω διεθνών ομάδων εργασίας (workshops) και επιτροπών έχουν γίνει διάφορες προσπάθειες για την τυποποίηση (standardization) δοκιμασιών για το LA και τα aPL και παρά την πρόοδο που έχει γίνει παραμένουν ακόμη πολλές δυσκολίες και ως προς την εκτέλεση των δοκιμασιών και ως προς την ερμηνεία των αποτελεσμάτων<sup>22,25</sup>.

\* Ορός βόός προστίθεται για να μπλοκάρει το μη ειδικό εξαρτώμενο αντίσωμα και για να παρέχει μια πηγή της β<sub>2</sub>-GPI<sup>25</sup>.





κατάλληλη προετοιμασία του προς εξέταση δείγματος, για τον προσδιορισμό του LA<sup>120,121</sup>. Η επιτυχία συνίσταται στην απομάκρυνση των αιμοπεταλίων έτσι ώστε ο αριθμός τους στο δείγμα να είναι μικρότερος του  $10 \times 10^9/l$ .

Έχει αποδειχθεί από διάφορες μελέτες ότι η παραμονή αιμοπεταλίων στο προς εξέταση δείγμα επηρεάζει τους χρόνους πήξης, κυρίως όταν το δείγμα έχει ήδη καταψυχθεί (στους  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  για 1 μήνα ή στους  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  για παρατεταμένη αποθήκευση) και αποψύχεται<sup>18</sup>.

Ένα πολύ καλό αποτέλεσμα επιτυγχάνεται με τη χρήση φίλτρου 0,22 μ, πριν από την κατάψυξη ή πριν από τη δοκιμασία, με δύο όμως μειονεκτήματα, το κόστος αφενός και την επίδραση σε άλλους παράγοντες πήξης αφετέρου<sup>121,122</sup>.

Από την άλλη πλευρά η υπερβολική φυγοκέντρωση, που αποτελεί και τον συνήθη τρόπο για απαλλαγμένο, κατά το δυνατόν, από αιμοπετάλια πλάσμα, πρέπει να γίνεται με προσοχή, ώστε να μη δημιουργούνται αιμοπεταλιακά θραύσματα.

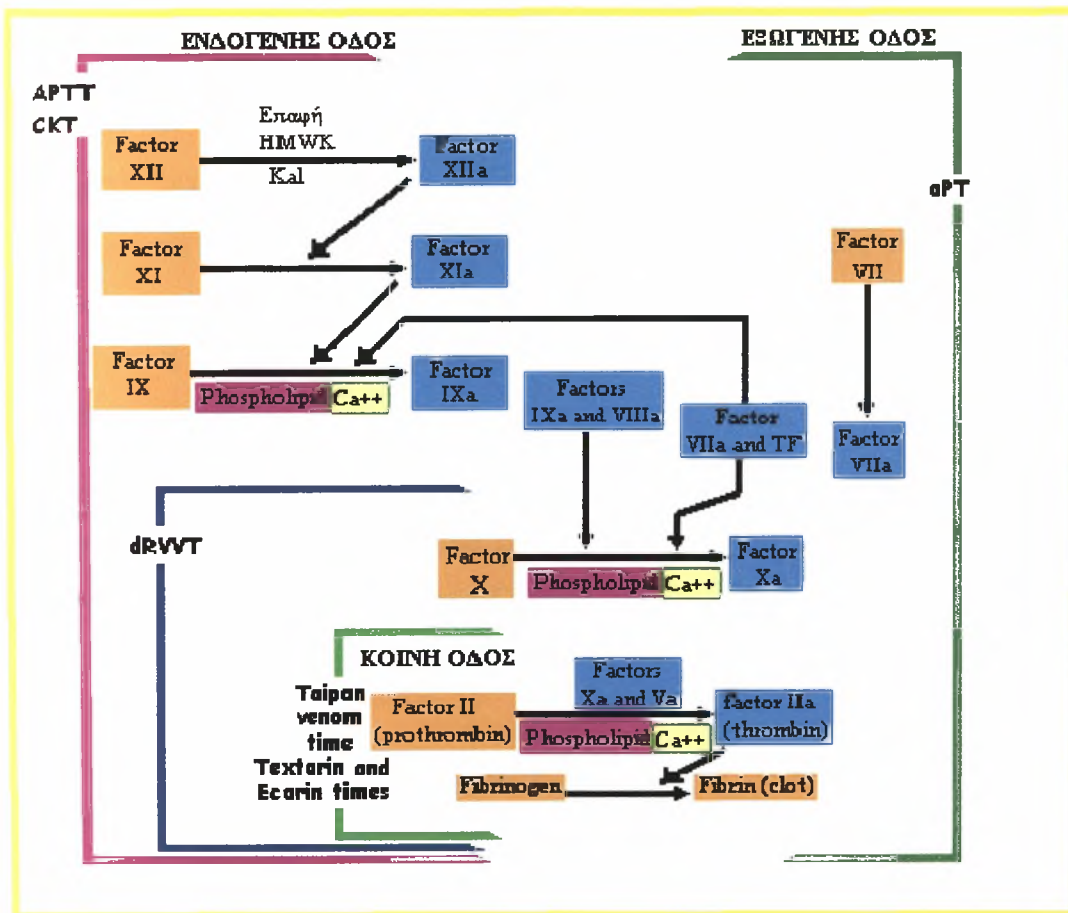
Προτείνεται διπλή φυγοκέντρωση στις 2.500 ή στις 3.500 στροφές, περίπου για 10-20 λεπτά κάθε φορά<sup>18,115,122,123</sup>.

# ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΟΥ LA

Στηρίζεται σε 4 αρχές (principles)<sup>18,25,115,124</sup> :

- ανωμαλία μίας φωσφολιπιδιο- εξαρτώμενης δοκιμασίας της πήξης,
- στοιχεία ότι η ανωμαλία οφείλεται στην παρουσία ενός ανασταλτικού παράγοντα και όχι στην ένδεια ενός παράγοντα της πήξης,
- στοιχεία ότι ο ανασταλτικός παράγοντας κατευθύνεται στα PL και όχι σε έναν άλλο παράγοντα της πήξης,
- στοιχεία ότι η ανωμαλία δεν προκαλείται από άλλους παράγοντες της πήξης.

Τα δύο πρώτα είναι απαραίτητα για να αποδείξουν, ότι ένας ανασταλτικός παράγοντας είναι παρών, ενώ τα επόμενα βήματα απαιτούνται για να διαφοροποιήσουν το LA από άλλους ανασταλτικούς παράγοντες της πήξης.



Σχήμα 13. Ανίχνευση των LA από τις *in vitro* δοκιμασίες της πήξης<sup>18</sup>.

Οι διάφορες δοκιμασίες πήξης που χρησιμοποιούνται για να ανιχνεύσουν την δραστηριότητα του LA είναι υποδειγμένες με πλάγιους χαρακτήρες, και η εικόνα εμφανίζει ένα απλου-

στευμένο σχηματικό διάγραμμα της οδού της πήξης, που αξιολογείται από κάθε μια από αυτές τις δοκιμασίες.

Ο καταρράκτης της πήξης είναι ένα αποτέλεσμα της ενζυματικής μετατροπής κάθε παράγοντα (πορτοκαλί) σε ενεργοποιημένη μορφή (μπλε), η οποία έπειτα, σε συνδυασμό με ενεργοποιημένο συμπάγοντα, καταλύει την επόμενη αντίδραση. Η ενδογενής οδός της πήξης αρχίζει από την ενεργοποίηση του παράγοντα επαφής (APTT και KCT διαδικασίες), ενώ η εξωγενής οδός της πήξης αρχίζει από το σχηματισμό ενός συμπλόκου, μεταξύ του TF και του παράγοντα VIIa (aPT δοκιμασία).

Και η ενδογενής και η εξωγενής οδός οδηγεί στη μετατροπή του παράγοντα X, σε ενεργοποιημένο παράγοντα X (παράγοντας Xa).

Τελικά, και η ενδογενής και η εξωγενής οδός συγκλίνουν στην τελική κοινή οδό, στην ενεργοποίηση της προθρομβίνης σε θρομβίνη, που ακολουθείται από τη μετατροπή του ινωδογόνου σε ινική.

Το δηλητήριο οχιών Russell's ενεργοποιεί άμεσα τον παράγοντα X.

Τα δηλητήρια Tairan, Textrin και Escarin ενεργοποιούν άμεσα την προθρομβίνη, αλλά έχουν διαφορετικές σε συμπάγοντες απαιτήσεις. Η ενεργοποίηση της προθρομβίνης από το δηλητήριο Tairan απαιτεί φωσφολιπίδια και  $Ca^{++}$ , αλλά όχι τον παράγοντα Va.

Η ενεργοποίηση της προθρομβίνης σε θρομβίνη, όπως και διάφορες άλλες αντιδράσεις στον καταρράκτη της πήξης, απαιτεί την παρουσία PL και  $Ca^{++}$ .

Αυτές οι εξαρτώμενες αντιδράσεις PL θεωρείται ότι στοχεύονται από τα La *in vitro*.

### **Ανωμαλία μίας φωσφολιπιδιο- εξαρτώμενης δοκιμής πήξης.**

Το aPTT είναι η πιο κοινή εξέταση που χρησιμοποιείται στις δοκιμασίες διαλογής (screening test) για το LA. Η ευαισθησία του για το LA, ποικίλει ανάλογα με την χρησιμοποιούμενη δοκιμασία του εργαστηρίου, δηλαδή συνδυασμό αντιδραστηρίων και οργάνων ή τεχνικής ανίχνευσης θρόμβων<sup>123</sup>.

Άλλες εξετάσεις περιλαμβάνουν:

- τον χρόνο αραιωμένης προθρομβίνης (dilute Prothrombin Time - dPT ή Tissue Thromboplastin Inhibition - TTI)<sup>18</sup>,
- τον χρόνο πήξης καολίνη (Kaolin Clotting Time - KCT) που χρησιμοποιεί πλάσμα χωρίς προστιθέμενα PL<sup>123</sup>. Έχει βρεθεί από μελέτες, να είναι η πιο ευαίσθητη δοκιμή για το LA<sup>125,126</sup>,
- τον αραιό χρόνο δηλητηρίου οχιάς Russel's (dilute Russel's Viper Venom Time - dRVVT). Είναι μία ευαίσθητη δοκιμή για το LA, που μπορεί να αυτοματοποιηθεί εύκολα, όταν τα PL και το δηλητήριο οχιάς Russel's είναι προανεμιγμένα<sup>126,127</sup>,
- ενεργοποίηση του χρόνου πήξης από δηλητήρια φιδιών, χρησιμοποιώντας

ντας Textarin (T) και Ecarin (E - ένζυμο που καθαρίζεται από το δηλητήριο της *Echis Carinatus*<sup>128</sup>. Το T ενεργοποιεί την προθρομβίνη παρουσία PL, ιόντων  $Ca^{++}$  και του παράγοντα V, ενώ το E ενεργοποιεί την προθρομβίνη χωρίς την παρουσία των ανωτέρων. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως λόγος T/E<sup>129</sup>.

### *Στοιχεία ότι η ανωμαλία οφείλεται στην παρουσία ενός ανασταλτικού παράγοντα και όχι στην ένδεια ενός παράγοντα της πήξης.*

Η διερεύνηση της αίτιας που δημιουργεί μια παθολογική τιμή στις δοκιμασίες διαλογής (screening test) απαιτεί πειράματα μίξης (mixing studies), στα οποία χρησιμοποιούνται μείγματα με ποικίλες αναλογίες του παθολογικού και του φυσιολογικού μάρτυρα<sup>130</sup>. Πριν πραγματοποιηθεί μία πλήρης σειρά μελετών μίξης, η λανθάνουσα παρουσία της ηπαρίνης (η θεραπευτική ηπαρίνη ή η επιμόλυνση κατά τη δειγματοληψία μπορεί να οδηγήσει σε ψευδώς θετικά αποτελέσματα)<sup>18</sup>, θα πρέπει να αποκλειστεί (με χρήση κατιονικών ρητίνων)<sup>25</sup>.

Ποικίλες προσπελάσεις των μελετών μείξης έχουν περιγραφεί<sup>131,132</sup>. Η χρήση της αναλογίας 4:1 μέρη παθολογικού / φυσιολογικού πλάσματος θεωρείται ως πιο ευαίσθητη δοκιμή από την αναλογία 1:1<sup>132</sup>.

Η επιλογή του φυσιολογικού πλάσματος είναι σημαντική, διότι μπορεί να περιέχει σημαντικά ποσά αιμοπεταλιακών τμημάτων (material from platelets)\* που μπορεί να οδηγήσουν σε εξουδετέρωση των αιμοπεταλίων (neutralization effect), κατά την ανάμιξη με το παθολογικό πλάσμα<sup>133</sup>.

Η παρουσία αντιπηκτικών (LA ή από του στόματος αντιπηκτικά (per os) κατάδεικνύεται, καθώς δεν διορθώνεται ο παρατεταμένος χρόνος πήξης με την προσθήκη του φυσιολογικού πλάσματος.

\* τα υπολείμματα θεωρούνται επιβλαβή μετά το πάγωμα - ξεπάγωμα, καθώς τα PL που απελευθερώνονται από τα διαρρηγμένα αιμοπετάλια, μπορούν να μειώσουν το LA<sup>122</sup>.

## ***Στοιχεία ότι ο ανασταλτικός παράγοντας κατευθύνεται στα PL και όχι σε έναν άλλο παράγοντα της πήξης.***

Το LA διαφοροποιείται από τους άλλους ανασταλτικούς παράγοντες της πήξης (πίνακας 6) με την επίδειξη της φωσφολιπιδικής ειδικότητας του ως ανασταλτικού παράγοντα. Δύο προσπελάσεις έχουν χρησιμοποιηθεί για να καταδείξουν τη φωσφολιπιδική εξάρτηση, στηριζόμενες στην αντίστροφη σχέση μεταξύ της περιεκτικότητας των PL στο σύστημα δοκιμής (test system) και του βαθμού παράτασης της δοκιμασίας πήξης.

Το aPTT ή το PT είναι παραδείγματα εξετάσεων που τονίζουν την επίδραση ανασταλτικών παραγόντων, λόγω της μείωσης της συγκέντρωσης των PL<sup>51,134</sup>. Αν και είναι ευαίσθητες δοκιμασίες για το LA δεν είναι συγκεκριμένες γι' αυτό, και δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται ως μόνες επικυρωτικές (confirm) ή διαγνωστικές δοκιμασίες<sup>133</sup>.

Η διαδικασία της εξουδετέρωσης (Platelet Neutralization Procedure -- PNP) ή παράκαμψης (bypass) των αιμοπεταλίων, είναι συχνά χρησιμοποιούμενο σύστημα δοκιμής που περιέχει μια υψηλή συγκέντρωση PL<sup>133,135</sup>.

Σε άλλες εξετάσεις μπορεί να προστεθεί υπερβολική συγκέντρωση PL :

- ως παγωμένα – ξεπαγωμένα αιμοπετάλια,
- ως λιποσώματα που περιέχουν φωσφατυδιλο-σερίνη<sup>136</sup>,
- ως αιμοπετάλια προερχόμενα από μικροτριχοειδή (microvesicles)<sup>137</sup>,
- ως φωσφολιπίδια από εγκέφαλο κουνελιών<sup>134</sup>, ή
- ως εξαγωνικής φάσης PL (HPP -- hexagonal phase phospholipids)<sup>133</sup>, όπως είναι η φωσφατιδυλο-αιθανολαμίνη (PE)<sup>80,138</sup>.

## ***Στοιχεία ότι η ανωμαλία δεν προκαλείται από άλλους παράγοντες της πήξης.***

Σύμφωνα με τις οδηγίες της SSC-ISTH, οι εξετάσεις προσδιορισμού των παραγόντων της πήξης, πρέπει να εκτελεστούν όποτε υπάρχει υποψία ενός συγκεκριμένου ανασταλτικού παράγοντα του πίνακα 6, για να διακρίνουν ή να αποκλείσουν το LA.



## Πίνακας 6. Διαφορική διάγνωση των ανασταλτικών παραγόντων της πήξης<sup>18</sup>.

- **Ανασταλτικοί παράγοντες που συνδέονται με την κλινική αιμορραγία:**  
αντι- παράγοντας VIII,  
αντι- παράγοντες II, VII, IX, X, XI,  
αντι- ινοδωγόνο / ινική,  
αντιπηκτικά ομοιάζοντα με την ηπαρίνη.
- **Ανασταλτικοί παράγοντες με ή χωρίς κλινική αιμορραγία:**  
αντι- παράγοντας V.
- **Ανασταλτικοί παράγοντες που συνήθως δεν συνδέονται με την κλινική αιμορραγία:**  
αντιπηκτικό του λύκου,  
αντι- παράγοντας XII.

Μια διαγνωστική προσπέλαση που είναι χρήσιμη στην διάγνωση, είναι η εκτέλεση συγκεκριμένων εξετάσεων πήξης ενός σταδίου (one-stage), που βασίζονται στην τεχνική του PTT.

Συχνά ανευρίσκονται :

- χαμηλές τιμές διαφόρων παραγόντων της πήξης  
(τεχνητά μειωμένες τιμές απεικονίζουν την ικανότητα του LA του υπό εξέταση δείγματος, να αναστέλλει την ικανότητα άμεσης αντίδρασης του αντιδραστηρίου που περιέχει PL σε κάθε σύστημα δοκιμασίας),
- αυξανόμενες τιμές διαφόρων παραγόντων της πήξης για κάθε αυξανόμενη διάλυση του πλάσματος σε κάθε σύστημα δοκιμασίας  
(απεικονίζει τη μειωμένη μεταφορά του LA στο σύστημα δοκιμασίας, που περιέχει αυξανόμενη διάλυση του παθολογικού πλάσματος).

Κατά συνέπεια οι ανασταλτικοί παράγοντες που έχουν επιπτώσεις σε περισσότερους του ενός παράγοντες πήξης με τη χρήση της τεχνικής του PTT, είναι συνήθως LA<sup>25</sup>.

## ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΠΟΣΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ LA

Έως τώρα, είναι αδύνατο να μελετηθεί η σχέση μεταξύ του θρομβωτικού κινδύνου και της δραστηριότητας του LA, δεδομένου ότι καμία πραγματική ποσοτική μέθοδος δεν είναι διαθέσιμη<sup>18,123</sup>.

Διάφορες μελέτες γίνονται χρησιμοποιώντας μονοκλωνικά αντισώματα ποντικών (murine monoclonal antibodies - moabs) έναντι των aPL που παρατείνουν τις PL - εξαρτώμενες αντιδράσεις της πήξης, προσπαθώντας να ποσοτικοποιήσουν τη δραστηριότητα των LA<sup>77,115,139</sup>.

Η Γαλλική ομάδα μελέτης της αιμόστασης και θρόμβωσης (Groupe d'Etudes sur l'Hemostase Thrombose - GEHT) κατάφερε να ποσοτικοποιήσει την δραστηριότητα του LA, χρησιμοποιώντας καμπύλη και πρότυπες αραιώσεις φυσιολογικού πλάσματος επωασμένου με αντι -  $\beta_2$ -GPI moab και αντι-προθρομβινικό moab<sup>18</sup>.

Προτείνεται η περαιτέρω βελτίωση για αποτελεσματική διάκριση των υποκατηγοριών του LA.

## ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Οι νέοι ασθενείς που αναπτύσσουν ενεργό APS με υποτροπιάζουσα θρομβοεμβολικά επεισόδια, συμπεριλαμβανομένων υποτροπιαζόντων εγκεφαλικών ισχαιμικών επεισοδίων, δυνατόν να έχουν ανάγκη από "εφόδου" θεραπεία, με στόχο τόσο τη θρόμβωση, όσο και τους ανοσολογικούς μηχανισμούς του συνδρόμου.

Σε ασθενείς με AEE και APS, το αποτέλεσμα στη θεραπεία ποικίλει πολύ χωρίς καμία σταθερή απάντηση, από οποιαδήποτε μορφή θεραπείας. Ωστόσο ο συνολικός αριθμός ασθενών που έχουν ανακοινωθεί με παρακολούθηση σε ειδική θεραπεία είναι μικρός. Η θεραπεία των AEE που συνδέονται με APS και θρομβωτικά επεισόδια είναι επομένως εμπειρική με περιορισμένες υποθετικές πληροφορίες για ισχυρή αντιπηκτική αγωγή (international normalized ratio - INR >3)<sup>22,25,76,140</sup>.

### *Αντιθρομβωτικά*

Τα αντιθρομβωτικά περιλαμβάνουν αντιπηκτικά (βαρφαρίνη -- warfarin), υποδόρια ηπαρίνη (heparin -- 5000 units bid), ή χαμηλού μοριακού βάρους ηπαρίνη (HMWH), και αντιαιμοπεταλιακούς παράγοντες (ασπιρίνη, τικλοπιδίνη, διπυριδαμόλη)<sup>108,109,141</sup>. Ασθενείς με APS και θρομβοαποφρακτικά επεισόδια, δυνατόν να έχουν επηρεασμένα αιμοπετάλια και ενδοθηλιακές λειτουργίες.

Η ασπιρίνη εμποδίζει τη συσσώρευση αιμοπεταλίων και την ενδοθηλιακή σύνθεση προστακυκλίνης και είναι αποτελεσματική στη μείωση της υποτροπής του AEE σε άτομα που δεν ελέγχονται συστηματικά για το APS. Επίσης συχνά, συνταγογραφείται η ασπιρίνη σε ασθενείς με APS και υποτροπιάζουσα αποβολή ή αγγειακή εγκεφαλική πάθηση. Χορηγείται μόνη ή σε συνδυασμό με άλλα φάρμακα.

Η ημερήσια δόση της ασπιρίνης κυμαίνεται από 80 - 1300mg και μειώνει την υποτροπή (για > 1 έτους) του AEE. Εν τούτοις, δυνατόν είναι να συμβεί υπό ασπιρίνη.

### *Αντιπηκτικά*

Η βαρφαρίνη έχει μεγαλύτερη αντιπηκτική ισχύ από την ασπιρίνη (χαμηλών - δόσεων -80mg) στην πρόληψη περαιτέρω θρομβωτικών επεισοδίων<sup>140</sup>.

Παρ' όλα αυτά δεν υπάρχει επαρκής μελέτη του κινδύνου υποτροπής επεισοδίων, του αναγκαίου επιπέδου INR (>3) και της διάρκειας της θεραπείας.

Επιπλέον, σε χορήγηση της δημιουργούνται επιπλοκές, όπως νέκρωση δέρματος.

## Θεραπείες με ανοσολογική βάση

Οι θεραπείες αυτές περιλαμβάνουν<sup>25,29</sup> :

\* Κορτικοστεροειδή. Έχουν χρησιμοποιηθεί με περιορισμένη επιτυχία καθώς έχουν περιγραφεί πολλές ανεπιθύμητες παρενέργειες (υπέρταση ή διαβήτη)<sup>25</sup>. Ορισμένες έχουν συμβεί ενώ χορηγούνται μεγάλες δόσεις predιζόνης (predisone, 60-80mg)<sup>25</sup>. Το αποτέλεσμα των κορτικοειδών δεν προδιαγράφεται πάντοτε, αλλά τα κορτικοειδή δυνατόν είναι να ομαλοποιήσουν το αποτέλεσμα του LA,

\* Ανοσοκατασταλτικά. Η γνώση με αυτό το είδος θεραπείας είναι περιορισμένη και εμπειρική. Η αζαθειοπρίνη, η κυκλοφωσφαμίδη, ή η μεθοτρεξάτη είναι τα ανοσοκατασταλτικά που χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με άλλα φάρμακα, όπως η predιζόνη και η βαρφαρίνη.

Ελάττωση των τίτλων των αντισωμάτων έχει διαπιστωθεί, μετά τη χορήγηση κυκλοφωσφαμίδης, αζαθειοπρίνης και μεθυλοpredιζολόνης. Η δραστηριότητα του LA δεν έγινε φυσιολογική με τη χορήγηση των ανοσοκατασταλτικών.

Έχουν περιγραφεί ασθενείς με AEE και aCL, οι οποίοι παίρνουν ανοσοκατασταλτικά και εν τούτοις έχουν παρουσιάσει υποτροπιάζοντα επεισόδια εγκεφαλικών, γεγονός που πιθανώς συμβαίνει επειδή αποτελούν την τελευταία επιλογή στη θεραπεία σε άτομα που είναι πολύ επιρρεπή σε θρομβοεμβολικά επεισόδια<sup>142</sup>.

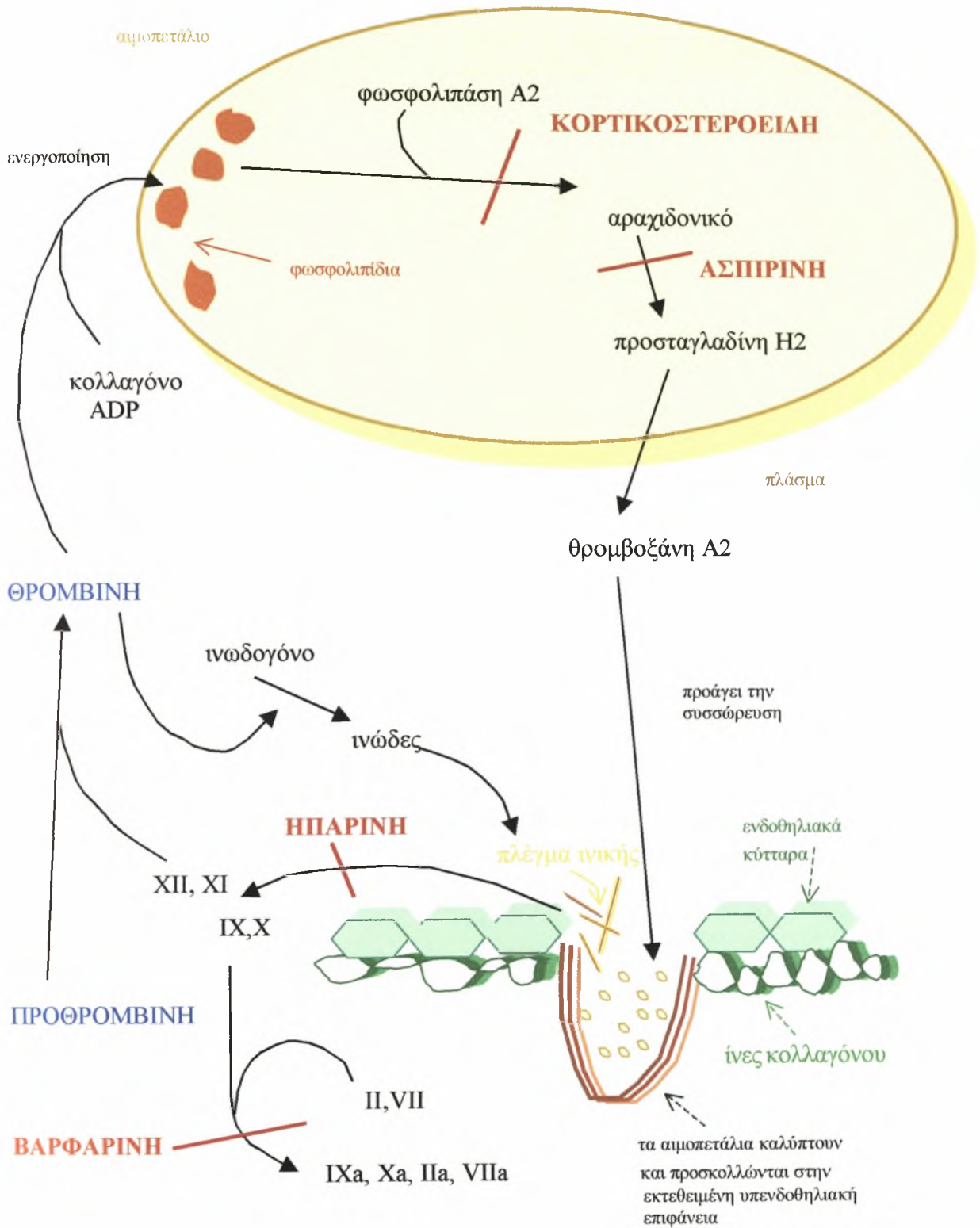
\* Πλασμαφαίρεση. Η δραστηριότητα του LA και τα επίπεδα του aCL, δυνατόν είναι να μειωθούν αν γίνουν πλασμαφαιρέσεις για μερικές μέρες ή εβδομάδες.

Παράλληλα χορηγούνται υψηλές δόσεις κορτικοειδών. Η πλασμαφαίρεση χρησιμοποιείται επίσης, σε συνδυασμό με ανοσοκατασταλτικά και αντιπηκτικά για θεραπεία σε μη έγκυες ασθενείς, με συστηματικά θρομβωτικά επεισόδια, περιλαμβανομένου και του εγκεφαλικού έμφρακτου. Δεν έχει βέβαια ακόμη δειχθεί πλήρως το κατά πόσο η πλασμαφαίρεση ελαττώνει το κίνδυνο επιπλοκών, που συνδέονται με τα αντισώματα.

\* Ανοσοσφαιρίνες (IVIg). Ημερήσια χορήγηση IVIg φυσιολογικοποιεί τη δραστηριότητα του LA παροδικά και βελτιώνει το αριθμό αιμοπεταλίων σε θρομβοπενικούς ασθενείς<sup>22</sup>. Απαιτείται όμως προσοχή επειδή έχουν ανακοινωθεί επεισόδια περιστασιακά θρομβοεμβολικά, κατά τη χρήση της IVIg σε άλλα ανοσολογικά νοσήματα. Η βάση αυτών των επιπλοκών, περιλαμβανομένων και των AEE, δυνατόν να είναι μέσω της αυξημένης γλοιότητας που προκαλεί η IVIg.

Καλό θα είναι να παρακολουθείται πριν και μετά τη θεραπεία η γλοιότητα του

αίματος αν χρησιμοποιούνται οι IVIG για υποτροπιάζοντα θρομβοεμβολικά επεισόδια.



Σχήμα 14. Οδοί που αναστέλλονται από φάρμακα.



## ***ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ***

# ΑΣΘΕΝΕΙΣ, ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

## Ασθενείς

Μελετήθηκαν 145 ασθενείς, που νοσηλεύθηκαν στη Παθολογική και στη Καρδιολογική κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας, κατά τους μήνες Μάιο έως Οκτώβριο του 2002, καθώς επίσης και 200 φυσιολογικά άτομα, που προήλθαν από εθελοντές αιμοδότες.

Από τους ασθενείς 77 ήταν άνδρες και 68 γυναίκες, ηλικίας από 20 έως 65 ετών.

Από αυτούς τους ασθενείς, 128 είχαν ένα τουλάχιστον θρομβωτικό εγκεφαλικό επεισόδιο και χωρίς άλλη εμφανή αιτία του επεισοδίου για την παρουσία αντιφωσφολιπιδικού συνδρόμου (APS), 6 από τους ασθενείς έπασχαν από οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου (OEM) και 11 από τους ασθενείς έπασχαν από συστηματικό ερυθματώδη λύκο (SLE).

Από τα φυσιολογικά άτομα 100 ήταν άνδρες και 100 γυναίκες, ηλικίας από 25 έως 60 ετών.

**Πίνακας 7.** Χαρακτηριστικά των ατόμων που μελετήθηκαν.

	Άνδρες	Γυναίκες	Σύνολο
<b>ΑΕΕ</b>	71	57	128
διάμεσος ηλικία	60	58	55
εύρος ηλικίας	35-65	30-64	30-65
μέση ηλικία	45	48	46
<b>OEM</b>	3	3	6
διάμεσος ηλικία	58	62	58
εύρος ηλικίας	46-62	44-64	44-64
μέση ηλικία	53	57	55
<b>SLE</b>	3	8	11
διάμεσος ηλικία	37	30	36
εύρος ηλικίας	25-39	25-40	25-40
μέση ηλικία	38	35	36
<b>Φυσιολογικά</b>			
<b>άτομα</b>	100	100	200
διάμεσος ηλικία	38	42	43
εύρος ηλικίας	25-60	30-60	25-60
μέση ηλικία	49	42	48

## Συλλογή και προετοιμασία δειγμάτων

Τα δείγματα αίματος συλλέχθηκαν σε φιαλίδια που περιείχαν κιτρικό άλας νατρίου (3,2 %), ως αντιπηκτική ουσία.

Υποβλήθηκαν σε φυγοκέντρηση, εντός 30 λεπτών, μετά από τη συλλογή, για 15 λεπτά, στις 3500 στροφές και συλλέχθηκαν τα υπερκείμενα (πλάσμα).

Τα δείγματα καταψύχθηκαν στους  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , αφού πρώτα μοιράστηκαν σε δύο πλαστικά σωληνάρια, και πριν την μέτρηση αποψύχθηκαν ταχέως στους  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Στην συνέχεια υποβλήθηκαν και πάλι σε φυγοκέντρηση για 15 λεπτά, στις 3500 στροφές, για να αφαιρεθούν τα τυχόν υπολειμματικά αιμοπετάλια, δεδομένου ότι μπορούν να μικραίνουν τον χρόνο πήξης του Viperquick LA - Test και του LA Screen.

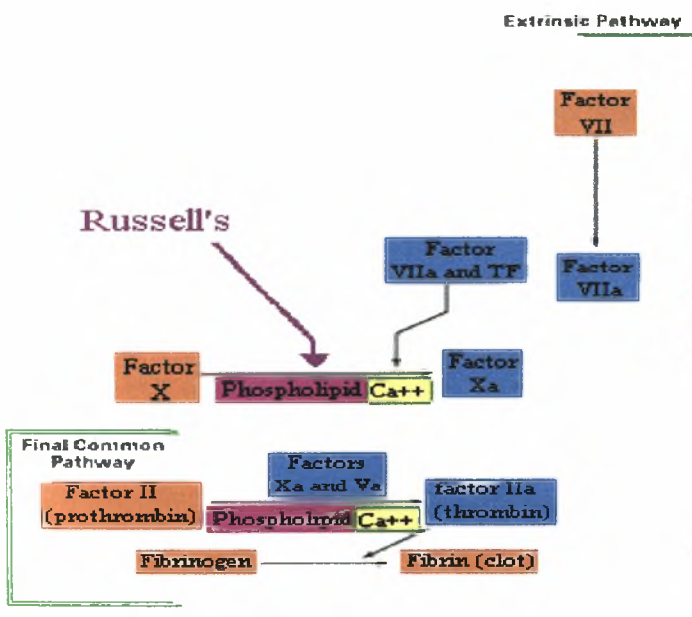
Τα δείγματα πλάσματος που περιείχαν θρόμβους απορρίφθηκαν.

Τα δείγματα που ήταν ικτερικά ή λιπαιμικά, ενώ συνήθως δεν παρεμβαίνουν στην διαδικασία dRVVT, απορρίφθηκαν.

## Αρχή της διαδικασίας

Το δηλητήριο οχιάς Russell's, παρουσία ασβεστίου, ενεργοποιεί άμεσα τον παράγοντα X, "παρακάμπτοντας" τον παράγοντα VII της εξωγενούς οδού της πήξης, και τους επαφής και αντιαιμοφιλικούς παράγοντες της ενδογενούς οδού, που απαιτούν φωσφολιπίδια.

Επομένως οι δοκιμασίες dRVVT είναι περισσότερο συγκεκριμένες για το LA από το aPTT.



Σχήμα 15.

Στάδιο στο οποίο παρεμβαίνει το δηλητήριο οχιάς Russell's.

## Viperquik™ LA - Test και Viperquik™ LA - Check

Τα αντιδραστήρια ανασυστάθηκαν με απεσταγμένο ύδωρ.

Η ανάμιξη έγινε με αντιστροφή για να εξασφαλιστεί η πλήρης αναδιάλυση (resuspension) του λυοφιλοποιημένου υλικού και παρέμειναν σε θερμοκρασία εργαστηρίου για 30 λεπτά, πριν την χρήση.

Τα αντιδραστήρια περιέχουν :

### Viperquik LA - Test

- δηλητήριο οχιών Russell's,
- αντι - ηπαρινικούς παράγοντες,
- ασβέστιο,
- buffers,
- σταθεροποιητές,
- νάτριο azide (0.01%) και
- πράσινη χρωστική ουσία < 0,001%.

### Viperquik LA - Check

- δηλητήριο οχιών Russell's,
- φωσφολιπίδια
- αντι - ηπαρινικούς παράγοντες,
- ασβέστιο,
- buffers,
- σταθεροποιητές,
- νάτριο azide (0.01%) και
- κόκκινη χρωστική ουσία < 0,001%.

### Διαδικασία της δοκιμής

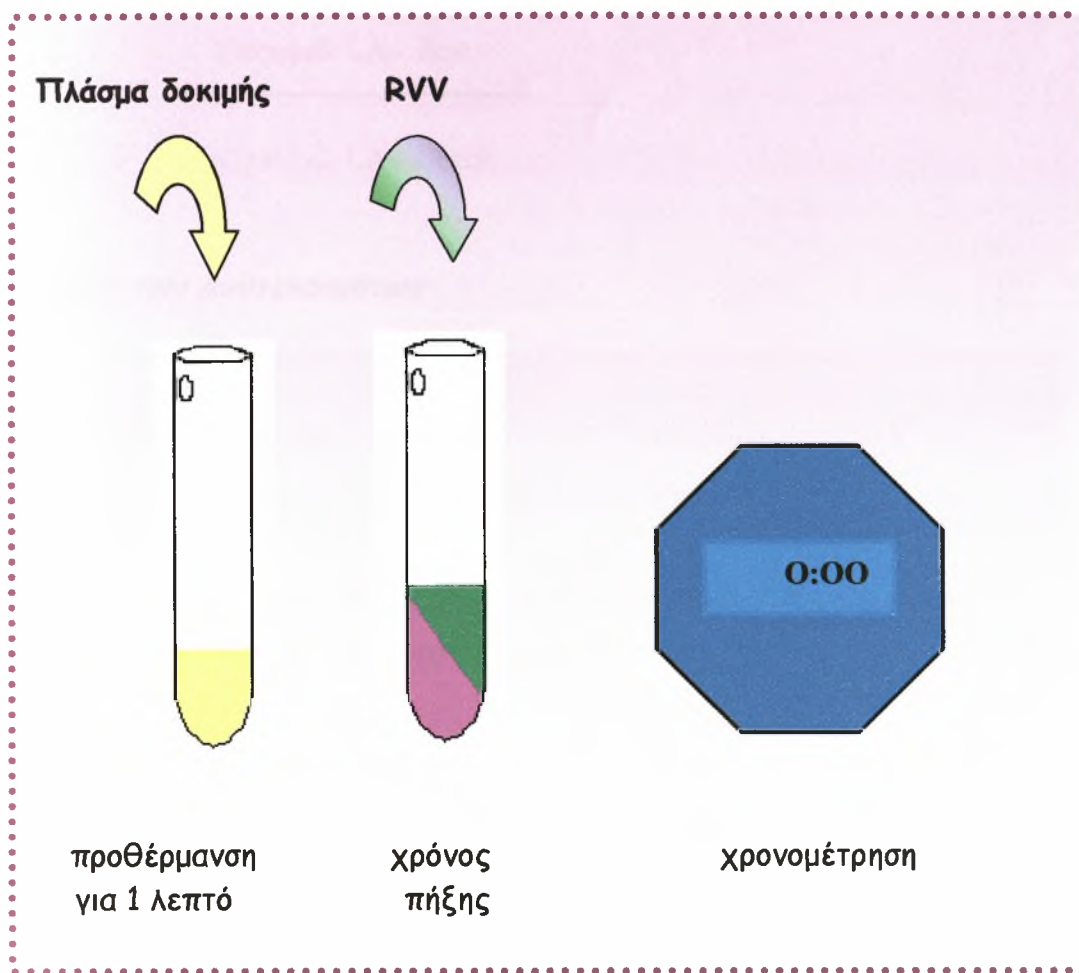
Προθερμάνθηκε ποσότητα των αντιδραστηρίων Viperquik LA - Test και Viperquik LA - Check στους  $37 \pm 1$  °C σε υδατόλουτρο (waterbath).

Μεταφέρθηκαν 150 μl του πλάσματος προς μέτρηση, σε δύο δοκιμαστικά γυάλινα σωληνάρια και θερμάνθηκαν για 1 λεπτό στους  $37 \pm 1$  °C.

Προστέθηκαν 150 μl προ - θερμασμένου Viperquik LA - Test στο ένα σωληνάριο, ή του LA - Check στο άλλο σωληνάριο και μετρήθηκε ο χρόνος από τη στιγμή της προσθήκης του αντιδραστηρίου, μέχρι το σημείο πήξης (clotting point).

Οι μετρήσεις επαναλήφθηκαν δύο φορές, για κάθε δοκιμή.

\*εταιρεία Organon Teknika



Εικόνα 7. Φαίνεται η διαδικασία της μεθόδου.

### Αποτελέσματα της δοκιμής

Οι συγκριτικές μελέτες Viperquick LA - Test και Viperquick LA - Check, εκτελέστηκαν συγχρόνως.

Το αποτέλεσμα εκφράζεται ως ο λόγος :

Viperquick LA - Test (A + N)

Viperquick LA - Test (N)

Viperquick LA - Check (A + N)

Viperquick LA - Check (N)

A = παθολογικό (abnormal),

N = φυσιολογικό (normal) δείγμα.



Το τελικό αποτέλεσμα μπορεί να εκφραστεί και ως αναλογία των χρόνων πήξης:

$$LA = \frac{\text{Viperquik LA - Test}}{\text{Viperquik LA - Check}}$$

### ***Ερμηνεία των αποτελεσμάτων***

- Εάν η αναλογία Viperquik LA - Test / Viperquik LA - Check είναι μεγαλύτερη από 2.0, το LA είναι έντονα παρόν,
- εάν η αναλογία Viperquik LA - Test / Viperquik LA - Check είναι μεταξύ 1.5 και 2.0, το LA είναι μέτρια παρόν,
- εάν η αναλογία Viperquik LA - Test / Viperquik LA - Check είναι μεταξύ 1.2 και 1.5, το LA είναι ασθενώς παρόν.

### ***Αναμενόμενες τιμές***

Οι φυσιολογικές τιμές για το Viperquik LA - Test είναι 31 - 44 δευτερόλεπτα και για το Viperquik LA - Check είναι 30 - 33 δευτερόλεπτα, τα οποία λήφθηκαν χρησιμοποιώντας τη χειρωνακτική μέθοδο.

Η αναλογία του Viperquik LA - Test / Viperquik LA - Check ορίστηκε ως 0.8 - 1.2.

Αυτά τα αποτελέσματα χρησιμοποιούνται ως οδηγός, μόνο.

Κάθε εργαστήριο καθορίζει την δική του σειρά αναφοράς και για τις χειρωνακτικές και για τις αυτοματοποιημένες μεθόδους.

## **Verify® LA Control**

Το Control LA είναι ένα λυοφιλοποιημένο παθολογικό πλάσμα για χρήση στον ποιοτικό έλεγχο του LA και για τις αντικαρδιολιπινικές δοκιμασίες, και έχει συλλεχθεί από δότες θετικούς για το LA και δεν έχουν λάβει κουμαρινικά παράγωγα για τουλάχιστον 30 ημέρες.

Το προϊόν έχει κατασκευαστεί από ανθρώπινο πλάσμα, που έχει εξεταστεί και έχει βρεθεί για να είναι αρνητικό (nonreactive) για την παρουσία HIV-1, HIV-2, και αντισωμάτων HCV, καθώς επίσης και για το αντιγόνο επιφάνειας της ηπατίτιδας Β (HBsAg).

### ***Προετοιμασία του αντιδραστηρίου***

Ανασυγκροτήθηκε Verify LA Control με 0,5 ml απεσταγμένου ύδατος.

Παρέμεινε σε θερμοκρασία εργαστηρίου για 20 - 30 λεπτά πριν από τη χρήση.

### ***Χρήση του αντιδραστηρίου***

Ήπια αναμιγήθηκε το μίγμα Verify LA Control, πριν από κάθε χρήση, για να εξασφαλισθεί η ομοιογένεια.

Το Verify LA Control χρησιμοποιήθηκε με τον ίδιο τρόπο με τα υπόλοιπα δείγματα πλάσματος κατά την εκτέλεση των διαδικασιών δοκιμής πήξης.

## IL Test™ LAC Screen και IL Test™ LAC Confirm

Τα IL Test LAC Screen και IL Test LAC Confirm είναι βελτιωμένα DRVVT αντιδραστήρια και στοχεύουν να απλοποιήσουν και να οριοθετήσουν την ανίχνευση του LA σε κλινικές αξιολογήσεις.

Το LAC Screen είναι φτωχό σε φωσφολιπίδια, πράγμα που το κάνει ευαίσθητο στο LA. Το επιπλέον ποσό φωσφολιπιδίου στο LAC Confirm εξουδετερώνει το LA, για να δώσει μικρότερους χρόνους πήξης.

Τα LAC Screen και LAC Confirm δεν επηρεάζονται από ανωμαλίες του παράγοντα επαφής, ελλείψεις των παραγόντων VII, VIII και IX ή ανασταλτικούς παράγοντες.

Η δράση ηπαρίνης μέχρι και 1 U/mL εξουδετερώνεται από polybrene.

Κάθε αντιδραστήριο ανασυστάθηκε με 2 ml απεσταγμένο ύδωρ.

Η ανάμιξη έγινε με αναστροφή για να εξασφαλιστεί η πλήρης αναδιάλυση του λυοφιλοποιημένου υλικού και παρέμειναν σε θερμοκρασία εργαστηρίου για 30 λεπτά, πριν την χρήση.

Τα αντιδραστήρια περιέχουν :

### LAC Screen

- δηλητήριο οχιών Russell's,
- φωσφολιπίδια (φτωχό),
- αντι - ηπαρινικούς παράγοντες (polybrene),
- ασβέστιο,
- buffers,
- σταθεροποιητές,
- νάτριο azide (<0.1%) και
- χρωστική ουσία.

### LAC Confirm

- δηλητήριο οχιών Russell's,
- φωσφολιπίδια (πλούσιο),
- αντι - ηπαρινικούς παράγοντες (polybrene),
- ασβέστιο,
- buffers,
- σταθεροποιητές,
- νάτριο azide (<0.1%) και
- χρωστική ουσία.

\*εταιρεία ACL - Instrumentation Laboratory.

### **Διαδικασία της δοκιμής**

Χρησιμοποιήθηκε αυτόματος αναλυτής, ο ACL Futura Plus, ο οποίος χρησιμοποιεί πηξιομετρική μέθοδο.

Συγκεκριμένα, ο αναλυτής προσθέτει αυτόματα τα αντιδραστήρια που είναι απαραίτητα για την μέθοδο και καταγράφει τον χρόνο πήξης. Η δημιουργία θρόμβου ανιχνεύεται με την αλλαγή της οπτικής πυκνότητας στο πλάσμα.

### **Αποτελέσματα της δοκιμής**

Για κάθε καινούργιο κουτί LAC Screen και LAC Confirm πρέπει να προσδιορίζεται η καινούργια φυσιολογική διακύμανση (normal range).

#### **LAC Screen :**

Το αποτέλεσμα του παθολογικού δείγματος, σε δευτερόλεπτα, διαιρείται με το μέσο της LAC Screen φυσιολογικής διακύμανσης.

$$\text{ποσοστό LAC Screen} = \frac{\text{Αποτελέσματα LAC Screen παθολογικού (σε δευτερόλεπτα)}}{\text{Μέσο της LAC Screen φυσιολογικής διακύμανσης (σε δευτερόλεπτα)}}$$

#### **LAC Confirm :**

Το αποτέλεσμα του παθολογικού δείγματος, σε δευτερόλεπτα, διαιρείται με το μέσο της LAC Confirm φυσιολογικής διακύμανσης:

$$\text{ποσοστό LAC Confirm} = \frac{\text{Αποτελέσματα LAC Confirm παθολογικού (σε δευτερόλεπτα)}}{\text{Μέσο της LAC Confirm φυσιολογικής διακύμανσης (σε δευτερόλεπτα)}}$$

Τα αποτελέσματα του ποσοστού από το LAC Screen διαιρούνται με το αποτέλεσμα του ποσοστού από το LAC Confirm:

$$\text{Φυσιολογικό ποσοστό LAC} = \frac{\text{Ποσοστό LAC Screen}}{\text{Ποσοστό LAC Confirm}}$$

### ***Ερμηνεία των αποτελεσμάτων***

Το τελικό αποτέλεσμα εκφράζεται ως LAC ποσοστό.

- Εάν το ποσοστό είναι μεγαλύτερο από 2.0, το LA είναι έντονα παρόν,
- εάν το ποσοστό είναι μεταξύ 1.5 και 2.0, το LA είναι μέτρια παρόν,
- εάν το ποσοστό είναι μεταξύ 1.2 και 1.5, το LA είναι ασθενώς παρόν.

### ***Αναμενόμενες τιμές***

Φυσιολογικό LAC ποσοστό: 0,8 με 1,2.



## **IL Test™ Normal control plasma**

Το IL Test™ Normal control plasma είναι ένα λυοφιλοποιημένο φυσιολογικό πλάσμα για χρήση στον ποιοτικό έλεγχο των δοκιμασιών της πήξης.

Το προϊόν έχει κατασκευασθεί από ανθρώπινο πλάσμα αιμοδοτών, που έχει εξεταστεί και έχει βρεθεί για να είναι αρνητικό (nonreactive) για την παρουσία HIV και HCV αντισωμάτων καθώς επίσης και για το αντιγόνο επιφάνειας της ηπατίτιδας Β (HBsAg).

Περιέχει buffer και σταθεροποιητές.

## QUANTA Lite™ ACA IgG και IgM (HRP)

### Αρχή της διαδικασίας

Τα Lite™ ACA IgG και IgM (HRP) είναι κιτ ανοσο-ενζυμικής μεθόδου (ELISA) για την ανίχνευση των αντισωμάτων καρδιολιπίνης στον ανθρώπινο ορό, χρησιμοποιώντας την τεχνική σάντουιτς ELISA .

Το καθαρισμένο αντιγόνο καρδιολιπίνης είναι συνδεδεμένο στα φρεάτια μιας πλάκας πολυστυρενίου 96 οπών, με συνθήκες στις οποίες το αντιγόνο διατηρείται σε ανέπαφη κατάσταση.

Προ-αραιωμένα controls και αραιωμένοι οροί ασθενών προστέθηκαν σε χωριστά φρεάτια, επιτρέποντας σε οποιαδήποτε παρόντα, αντικαρδιολιπινικά αντισώματα να δεσμευθούν στο ακινητοποιημένο αντιγόνο.

Το δείγμα πλύθηκε καλά και προστέθηκε, αντίστοιχα μια αντι-ανθρώπινη IgG και IgM ανοσοσφαιρίνη σε κάθε ένα φρεάτιο. Η δεύτερη επώαση, επιτρέπει στην αντι-ανθρώπινη IgG και IgM ανοσοσφαιρίνη να δεσμεύσει οποιαδήποτε ασθενή αντισώματα που είναι συνδεδεμένα με τα μικροφρεάτια (microwells)

Οι αντι-ανθρώπινες IgG και IgM ανοσοσφαιρίνες είναι συνδεδεμένα με το ένζυμο υπεροξειδάση (peroxidase).

Μετά από πλύση απομακρύνεται η περίσσεια της αντι-ανθρώπινες IgG και IgM ανοσοσφαιρίνης και προστίθεται ένα υπόστρωμα υπεροξειδάσης, το οποίο οδηγεί σε μια αλλαγή χρώματος με τη παρουσία της συνδεδεμένης υπεροξειδάσης.

Στην συνέχεια η αντίδραση διακόπτεται σε συγκεκριμένο χρόνο και η παρουσία ή η απουσία των αντικαρδιολιπινικών αντισωμάτων τεκμηριώνεται μετά την σύγκριση της οπτικής πυκνότητας (optical density) κάθε δείγματος με την οπτική πυκνότητα προτύπων διαλυμάτων (calibration curve).

\*εταιρεία INOVA Diagnostics.

## *Ερμηνεία των αποτελεσμάτων*

Τα αποτελέσματα αναφέρονται ημιποσοτικά σε πρότυπες IgA και IgG αντι - καρδιολιπινικές μονάδες (APL και GPL).

- εάν το ποσοστό είναι πάνω από 15.0, τα APL ή τα GPL είναι παρόντα και
- εάν το ποσοστό είναι κάτω από 15.0, τα APL ή τα GPL απουσιάζουν.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Οι δυο μέθοδοι ελέγχθηκαν για την επαναληψιμότητα τους.

Αναλύθηκε ένα δείγμα, το οποίο παρασκευάστηκε από την ανάμιξη 12 διαφορετικών δειγμάτων πλάσματος, φυσιολογικών αιμοδοτών.

Για την επαναληψιμότητα κατά την διάρκεια της ημέρας μετρήθηκε το δείγμα 15 φορές.

Βρέθηκαν :

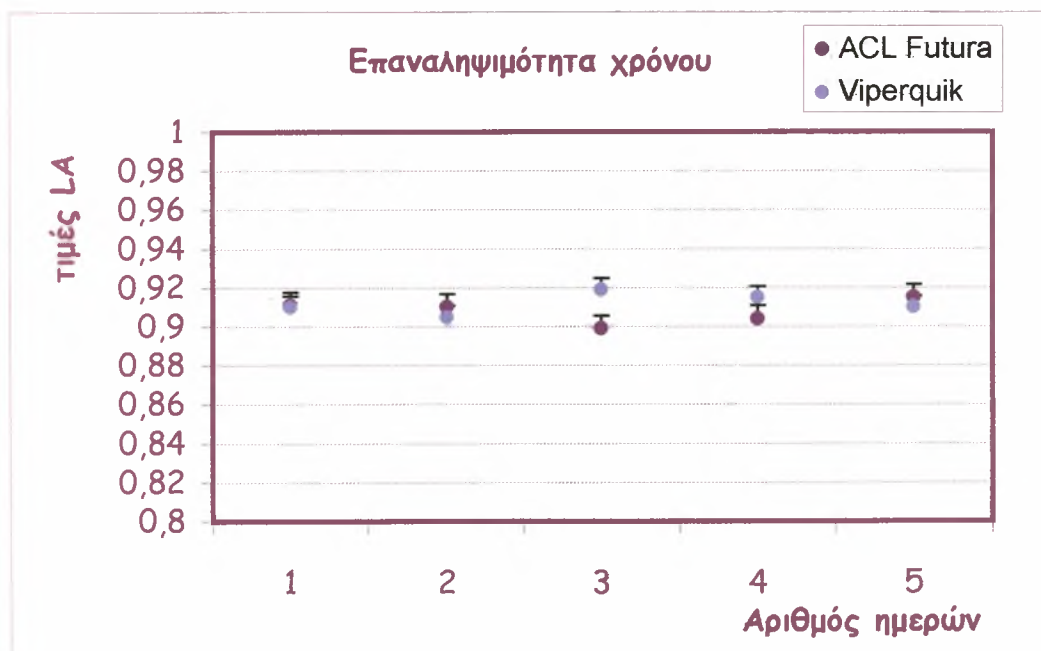
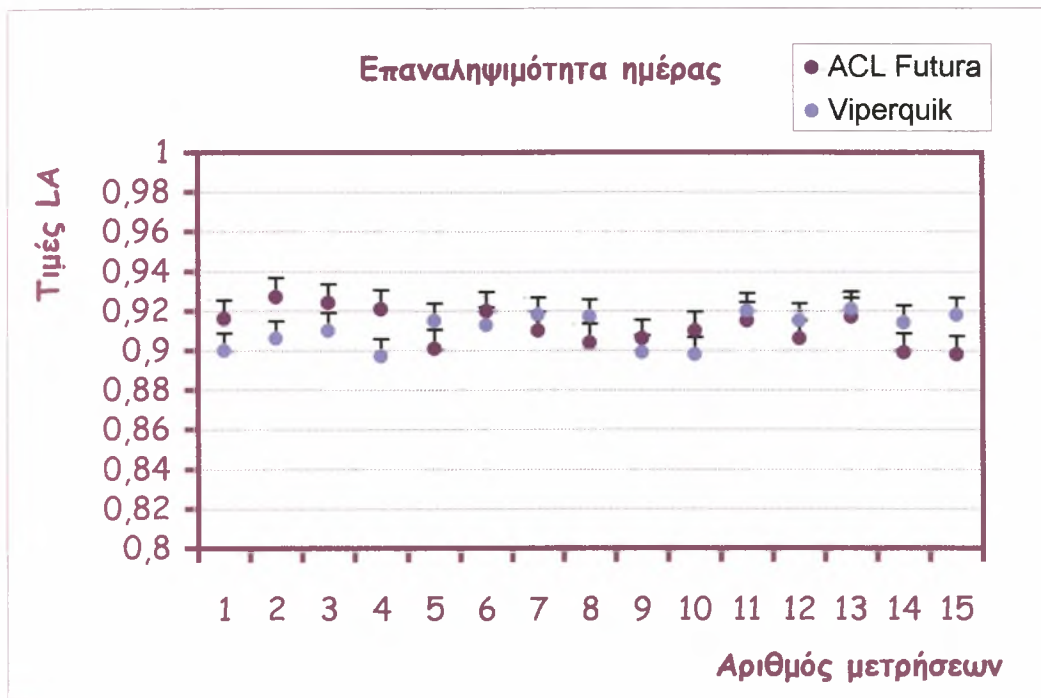
	ACL Futura	Viperquik
Μικρότερη τιμή (Min):	0.898	0.887
Μέση τιμή (Mean):	0.911	0.910
Μεγαλύτερη τιμή (Max):	0.927	0.921
Τυπική απόκλιση (SD):	0.009	0.008
Συντελεστής μεταβλητότητας (CV):	0.98	0.87

Για την επαναληψιμότητα χρόνου μετρήθηκε το δείγμα 5 διαφορετικές ημέρες.

Βρέθηκαν :

	ACL Futura	Viperquik
Μικρότερη τιμή (Min):	0.899	0.905
Μέση τιμή (Mean):	0.907	0.911
Μεγαλύτερη τιμή (Max):	0.915	0.919
Τυπική απόκλιση (SD):	0.006	0.005
Συντελεστής μεταβλητότητας (CV):	0.62	0.54

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων φαίνονται στο διάγραμμα 1.



**Διάγραμμα 1.**  
 Σύγκριση επαναληψιμότητας, ημέρας και χρόνου, των δύο δοκιμασιών προσδιορισμού του LA.



Για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων συγκρίθηκαν οι μέσες τιμές της κάθε ομάδας για κάθε μια από τις μεθόδους προσδιορισμού του LA.

Η ομάδα με ΑΕΕ και τα φυσιολογικά άτομα, μετρήθηκαν και για τα aCL.

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα 8.

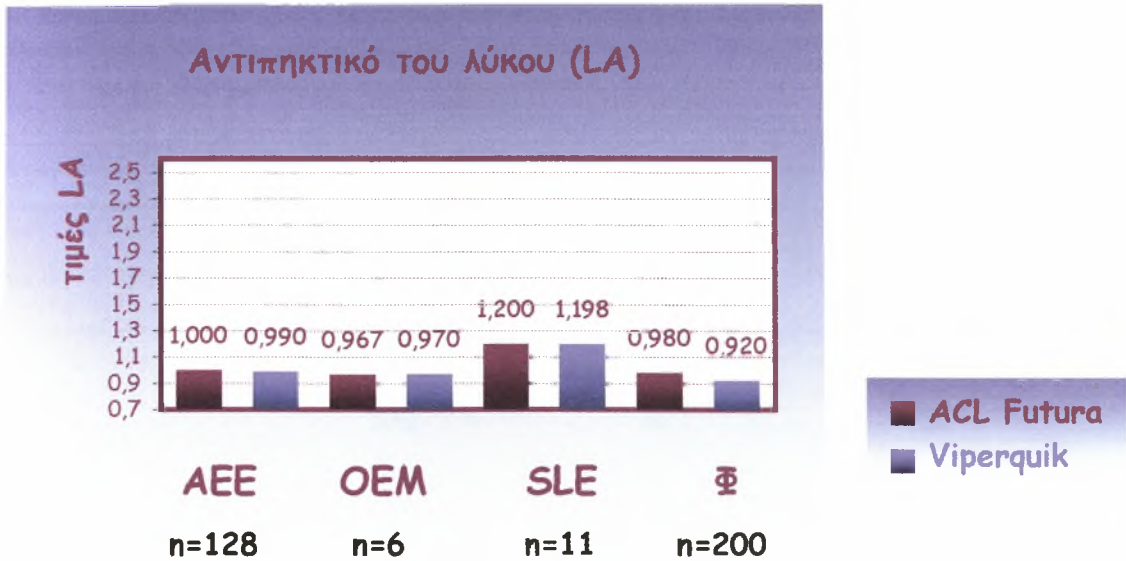
	Αντιπηκτικό του λύκου		Αντικαρδιολιπινικά αντισώματα	
	ACL Futura	Viperquik	IgG	IgM
AEE ± SD	1.000 ± 0.180	0.990 ± 0.100	12 ± 1.5	10 ± 1.0
OEM ± SD	0.967 ± 0.120	0.970 ± 0.100		
SLE ± SD	1.200 ± 0.700	1.198 ± 0.745		
Φ ± SD	0.980 ± 1.145	0.920 ± 0.080	8 ± 2.0	9 ± 2.0

Πίνακας 8.

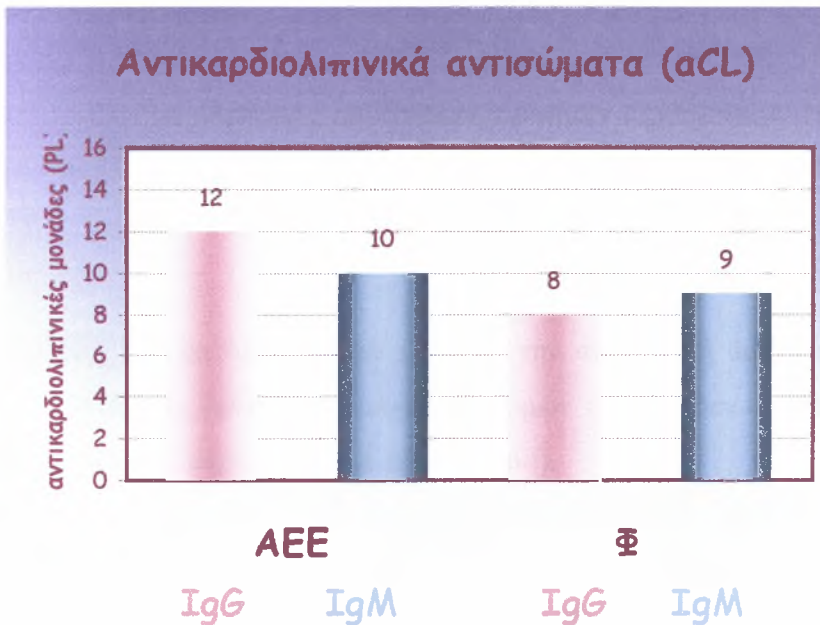
Οι τιμές του αντιπηκτικού του λύκου και των καρδιολιπινικών αντισωμάτων, για τις ομάδες που μελετήθηκαν.

Οι τιμές φαίνονται επίσης στο διάγραμμα 2.

A



B



Διάγραμμα 2.

- A. Παρουσιάζονται συγκριτικά οι μέσες τιμές των δύο μεθόδων προσδιορισμού του LA για κάθε ομάδα ατόμων.
- B. Παρουσιάζονται συγκριτικά οι μέσες τιμές των δύο μεθόδων προσδιορισμού των aCL για τις ομάδες των ατόμων με AEE και των φυσιολογικών ατόμων.

Στον πίνακα 9, φαίνονται οι τιμές των αρνητικών, των οριακών και των θετικών τιμών που βρέθηκαν για κάθε μία από τις ομάδες των ασθενών που μελετήθηκαν. Ο αριθμός είναι ο ίδιος και για τις δύο μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν.

	αριθμός αρνητικών τιμών	αριθμός οριακών τιμών	αριθμός θετικών τιμών
AEE	108	18	2
OEM	4	1	1
SLE	3	3	5
Φ	149	46	5

**Πίνακας 9.**  
Αριθμός αρνητικών, οριακών και θετικών τιμών  
για τις ομάδες των ασθενών που μελετήθηκαν.

Η ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε με την στατιστική δοκιμασία Kruskal - Wallis (ή Mann - Whitnen), διότι η κατανομή των τιμών του LA δεν αποτελεί κανονική κατανομή (και επομένως το t-test δεν είναι εφαρμόσιμο).

Δεν διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην συχνότητα παρουσίας του LA μεταξύ των ασθενών με AEE, OEM ή των φυσιολογικών ατόμων, και στην συχνότητα παρουσίας των aCL μεταξύ των ασθενών με AEE και των φυσιολογικών ατόμων ( $p > 0,1$ ). Αντίθετα διαπιστώθηκε σημαντική διαφορά στην συχνότητα παρουσίας του LA στους ασθενείς με SLE σε σύγκριση με τα φυσιολογικά άτομα.

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Το αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο αποτελεί μια αυτοάνοση διαταραχή, η οποία χαρακτηρίζεται από την παρουσία αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων (αντιπηκτικό του λύκου και αντικαρδιολιπινικά αντισώματα) στον ορό των πασχόντων.

Η συσχέτιση τους με υποτροπιάζουσες αρτηριακές ή φλεβικές θρομβώσεις<sup>2,3</sup> είναι τόσο ισχυρή ώστε σήμερα να αποτελούν μια από τις σημαντικότερες αιτίες επίκτητης υπερπηκτικής κατάστασης, ο μοριακός μηχανισμός της οποίας δεν έχει πλήρως διευκρινισθεί.

Λόγω του ότι υπάρχουν ακόμη, πολλές δυσκολίες και ως προς την εκτέλεση των δοκιμασιών για το αντιπηκτικό του λύκου και ως προς την ερμηνεία των αποτελεσμάτων, συγκρίθηκαν δύο μέθοδοι προσδιορισμού του, σε φυσιολογικά άτομα καθώς και σε ασθενείς με αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια, με έμφραγμα του μυοκαρδίου και με συστηματικό ερυθματώδη λύκο, διότι περιγράφονται σε αυτούς τους ασθενείς αυξημένα ποσοστά του<sup>30,33,34,67</sup>. Μετρήθηκαν επίσης τα αντικαρδιολιπινικά αντισώματα των φυσιολογικών ατόμων και των ασθενών με αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια, για την τεκμηρίωση της παρουσίας του αντιφωσφολιπιδικού συνδρόμου.

Οι δύο μέθοδοι ανίχνευσης του αντιπηκτικού του λύκου, στις ομάδες των ασθενών, αλλά και των φυσιολογικών ατόμων δεν παρουσίασαν καμία σημαντική διαφορά ως προς τα αποτελέσματα.

Η επαναληψιμότητα και των δύο μεθόδων κατά την διάρκεια της ίδιας ημέρας και κατά την διάρκεια διαφόρων ημερών, με διαφορετικά κιτ, ήταν > 90 %.

Στους ασθενείς που μελετήθηκαν, το αντιπηκτικό του λύκου δεν βρέθηκε να είναι αιτία εμφάνισης αγγειακών εγκεφαλικών επεισοδίων ή εμφράγματος του μυοκαρδίου. Τα ποσοστά των θετικών δοκιμασιών είναι πολύ μικρότερα όσων περιγράφονται στην διεθνή βιβλιογραφία<sup>121</sup>. Επίσης, και στα φυσιολογικά άτομα τα ποσοστά αυτά ήταν μικρότερα, δεδομένου ότι στο 2% των φυσιολογικών ατόμων δυνατόν είναι να ανευρίσκονται θετικές τιμές αντιπηκτικού του λύκου<sup>67</sup>.

Αυτό μπορεί να οφείλεται στο ότι η μελέτη δεν αφορούσε μεγάλο και αντιπροσωπευτικό δείγμα του πληθυσμού, αλλά πληθυσμό ενός νοσοκομείου σε διάρκεια ενός εξαμήνου, καθώς και στο ότι οι ασθενείς μελετήθηκαν σε περίοδο ύφεσης των συμπτωμάτων<sup>30,22</sup>. Επομένως χρειάζεται μακροχρόνια παρακολούθηση προκειμένου να κριθεί εάν πρόκειται για αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο.

Αναμενόμενα θετικές τιμές βρέθηκαν στους ασθενείς με συστηματικό ερυθματώδη λύκο.

## ABSTRACT

Antiphospholipid syndrome (APS) is an autoimmune disorder in which anti-phospholipid antibodies (aPL) are thought to be involved in the development of venous and /or arterial thrombosis.

aPL found in this syndrome are antibodies directed against a variety of phospholipid (PL) binding - proteins of which  $\beta_2$  - glycoprotein I ( $\beta_2$ -GPI) and prothrombin are considered to be the major antigens.

Some of these antibodies prolong PL - dependent clotting reactions and are termed lupus anticoagulants (LA).

Auto - aPL which bind through  $\beta_2$ -GPI to cardiolipin are called anticardio-lipin antibodies (aCL).

Clinical studies indicate that LA is a stronger risk factor for thrombosis than aCL.

Due to the numerous difficulties towards analyzing and interpreting the results for the determination of LA, a comparison of two methods was undertaken and cardiolipin antibodies (aCL) were measured with the Quanta LITE™ aCL, IgG and IgM (HRP).

145 patients and 200 normal blood donors were studied. The stroke patients (n=128) had a LA value of 1000, the acute heart failure patients (n=6) 0.990, the SLE patients (n=11) 1.200 and normal donors (n=200) 0.920.

The value of aCL for the stroke was 12 and 10 for the IgG and IgM methods respectively and for the normal donors, 8 and 9 for the IgG and IgM methods respectively.

The reproducibility of the two methods (was also compared throughout the day and throughout several days (1-5 days).

The LA value throughout the day for the ACL Futura was 0.911 and 0.910 for the Viperquick method. Throughout different days the values for the ACL Futura was 0.907 and 0.911 for the Viperquick method.

In conclusion, no statistically significant differences between the two methods of determination of LA, and between the stroke patients and normal donors were found throughout the day, and during the course of different days. There was also no significant difference when evaluating the reproducibility of the two methods investigated.



## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Ράπτης ΣΑ. Εσωτερική παθολογία. Αιμορραγικές καταστάσεις: Σταθάκης ΝΕ. Επιστημονικές εκδόσεις Παρισιάνος ΓΚ. Αθήνα 1996; 3: 1917.
2. Bowie EJW, Thompson JU, Pascuzzi CA and Owen CA. Thrombosis in systemic lupus erythematosus despite circulating anticoagulants. *Journal of Clinical Investigation* 1963; 62: 416.
3. Elias M and Eldor A. Thromboembolism in patients with the lupus-like circulating anticoagulant. *Archives of Internal Medicine* 1984; 144: 510.
4. Beaumont JL. Syndrome hemorrhagique acquis du a un anticoagulant circulant. *Sang* 1954; 25: 1.
5. Laurell AB and Nilsson IM. Hypergammaglobulinemia, circulating anticoagulant, and biologic false positive Wassermann reaction: a study of 2 cases. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 1957; 49: 694.
6. Nilsson IM, Astedt B, Hedner U and Berezin D. Intrauterine death and circulating anticoagulant, 'Antithromboplastin'. *Acta Medica Scandinavica* 1975; 197: 153.
7. Arnaut J. The role of beta-2-glycoprotein-dependent lupus anticoagulant in the pathogenesis of the antiphospholipid syndrome. *Verh K Acad Geneesk Belg* 2002; 62 (5): 353.
8. Μελέτης Ιωαν. Εγχειρίδιο κλινικής αιματολογίας Oxford. Ιατρικές εκδόσεις Πασχαλίδης 2002; 342.
9. Cuadrado MJ, Khamashta MA, Ballesteros A, Godfrey T Simon MJ and Hughes GR. Can neurologic manifestations of Hughes (antiphospholipid) syndrome be distinguished from Multiple Sclerosis? Analysis of 27 patients and review of the literature. *Medicine (Baltimore)* 2000; 79 (1): 57.
10. Conley CL and Hartmann RC. A hemorrhagic disorder caused by circulating anticoagulant in patients with disseminated lupus erythematosus. *Journal of Clinical Investigation* 1952; 31: 621.
11. Bloom AL, Fofbes CD, Thomas DP and Tuddenham EGD. Haemostasis and thrombosis. 3<sup>rd</sup> ed. Churchill Livingstone Inc 1994; 2: 957.
12. Rapaport SI, Ames SB and Duval BJ: A plasma coagulation defect in systemic lupus erythematosus arising from hypoprothrombinemia combined with antiprothrombinase activity. *Blood* 1960; 15: 212.
13. Loeliger EA. Prothrombin as co-factor of the circulating anticoagulant in systemic lupus erythematosus. *Thrombosis et Diathesis Haemorrhagica* 1956; 3: 237.

14. Feinstein DI and Rapaport SI. Acquired inhibitors of blood coagulation. *Prog Hemost Thromb.* 1972; 1: 75.
15. Σημειώσεις Παθολογίας, Ν. Σταθάκης. Ιατρική σχολή Λάρισας.
16. Me Neil HP, Simpson RJ, Chesterman CN and Krilis SA. Antiphospholipid antibodies are directed against a complex antigen, that include a lipid-binding inhibitor of coagulation:  $\beta_2$ -glycoprotein I (apolipoprotein H). *Proc Natl Acad Sci. USA* 1990; 87: 4120.
17. Galleazzi M, Sebastiani GD, Passiu G et al. HLA-DP-genotyping in patients with SLE: correlations with autoantibody subsets. *J Rheumatol* 1992; 19 (1): 42.
18. Arnaut J. Antiphospholipid syndrome: Diagnostic aspects of LA. *Thromb Haemost* 2001; 86: 83.
19. Chantarangkul V, Tripodi A et al. Laboratory diagnosis of lupus anticoagulant: Effect of residual platelets in plasma. Assessed by Staclot LA and silica clotting time. *Thromb Haemost* 2002; 87: 854.
20. Αρώνη-Βουρνά Σ. Θρομβοεμβολικά επεισόδια του κεντρικού νευρικού συστήματος στα παιδιά. *Pediatrici* 2002; 65: 4.
21. Horbach DA et al. The contribution of anti-prothrombin antibodies to lupus anticoagulant activity. *Thromb Haemost* 1998; 79: 790.
22. Αντιψωφολιπιδικό σύνδρομο. Ημερίδα Ελληνικής Αιματολογικής Εταιρείας, Τμήμα Αιμόστασης. Αθήνα 2001.
23. Wilson W, Gharavi A, Koike T, Lockshin M, Branch D, Piette J C, Brey R, Derksen R, Harris N, Hughes G, Triplett DA and Khamashta M. International Consensus. Statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (Report of an International Workshop). *Arth and Rheum* 1999; 42, 7: 1309.
24. Brant JT, Triplett DA, Alving B and Scharrer I. Criteria for the diagnosis of lupus anticoagulant: an update. *Thromb Haemost* 1995; 74: 1185.
25. Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, Furil B, Cohen HJ, Silberstein LE, eds. Inhibitors of blood coagulation. In: *Hematology. Basic Principles and Practice*. 3<sup>rd</sup> ed. Churchill Livingstone Inc 2000; 1969.
26. Shi W, Krilis SA, Chong BH, Gordon S and Chesterman CN. Prevalence of lupus anticoagulant and anticardiolipin antibodies in a healthy population. *Aust N Z J Med.* 1990; 20: 231.
27. Manoussakis MN, Tzioufas AG, Silis MR, Pauge PJ, Goudevenos J and Moutsopoulos HM. High prevalence of anti-cardiolipin and other autoantibodies in a healthy elderly population. *Glin Exp Immunol.* 1987; 69: 557.
28. Juby AG and Davis R. Prevalence and disease association of certain autoantibodies in elderly patient. *Clin Invest Med.* 1998; 21: 4.

29. Α.Π.Θ. Τμήμα Ιατρικής - Τομέας Παθολογίας. Εσωτερική Παθολογία: Π. Μπούρα: αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο. University studio pres. Θεσσαλονίκη 1998. Τόμος 2<sup>ος</sup>: 1270.
30. Petri M. Epidemiology of the Antiphospholipid antibody Syndrome. JAI 2000; 15: 145.
31. Mateo J, Oliver A, Borrell Sala N and Fontcuberta J. Laboratory evaluation and clinical characteristics of 2.132 consecutive unselected patients with venous thromboembolism-results of the Spanish multicentric Study on Thrombophilia (EMET-study) Thromb Haemost. 1997; 77: 444.
32. Zanou E, Prandoni P, Vianello F, Saggiorato G, Garraro G, Bagatella P et al. Anti-beta2-glycoprotein I antibodies in patients with acute venous thromboembolism: prevalence and association with recurrent thromboembolism. Thromb Res. 1999; 96: 269.
33. Levine SR, Brey RL, Joseph CLM and Havstad S. Risk of recurrent thromboembolic events in patients with focal cerebral ischemia and antiphospholipid antibodies. Stroke 1992; 23 (1): 129.
34. Yilmaz E, Adalet K, Yilmaz G, Badur S, Erzen F, Koylan N et al: Importance of serum anticardiolipin antibody levels in coronary heart disease. Clin Cardiol. 1994; 17: 117.
35. Phadke KV, Phillips RA, Clarke DT, Jone M, Naish P and Carson R. Anticardiolipin antibodies in ischaemic heart disease: marker or myth? Br Heart J. 1993; 69: 391.
36. Cowchock S. Antibodies and pregnancy loss (editorial) N Engl J Med. 1997; 337: 197.
37. Wilson W. Ethnicity and APS. JAI 2000; 15: 153.
38. Μουτσόπουλος ΧΜ. Ανοσολογία: αυτοάνοσα ρευματικά νοσήματα. Ιατρικές εκδόσεις Λίτσας. Αθήνα 1990; 323.
39. Goldberg SN, Cont-Kelly AM, Greco TP et al. A family study of anticardiolipin antibodies and associated conditions. Am J Med 1995; 98: 473.
40. Goel N, Ortel TL, Bali D et al. Familial antiphospholipid antibody syndrome. Arthritis Rheum 1999; 43: 318.
41. Asherson RA, Fein HM, Stanb HL et al. Antiphospholipid antibodies and HLA associations in primary Sjogren's syndrome. An Rheum Dis 1992; 51,4: 495.
42. Camps MT, Cuadrado MJ, Ocon P et al. Association between HLA class III antigens and primary antiphospholipid antibody syndrome from the South of Spain. Arthritis Rheum. 1995; 4: 51.
43. Hartung K, Coldewey R, Corevetta A et al. MHC gene products and anticardiolipin antibodies in systemic lupus erythematosus. Results of a multicenter study. Autoimmunity 1992; 13: 95.
44. Me Neil HR, Gavaghan TP, Krilis SA et al. HLA-DR antigens and anticardiolipin antibodies. Clin Exp Rheumatol 1990; 8: 425.
45. Sebastiani GD, Galeazzi M, Morozzi G and Marcolongo R. The

immunogenetics of antiphospholipid syndrome, anticardiolipin antibodies and lupus anticoagulant. *Seminars Arthritis Rheum.* 1996; 25: 414.

46. Arnett FC, Olsen ML, Anderson KL and Reveille JD. Molecular analysis of major histocompatibility complex alleles associated with the lupus anticoagulant. *J Clin Invest* 1991; 87: 1490.

47. Arnett PC, Thiagarajan P, Ahn C, and Reveille JD. Associations of anti- $\beta_2$ -glycoprotein I autoantibodies with HLA class II alleles in three ethnic groups. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 268.

48. Bentolia S. High prevalence of C4 'null' alleles in primary antiphospholipid syndrome. *Arthritis Rheum.* 1995; 38: 171.

49. Rao LVM, Hoang AD and Rapaport SI. Mechanism and effects of lupus anticoagulant IgG and prothrombin to surface phospholipid. *Blood* 1996; 11: 4173.

50. Thiagarajan P, Shapiro SS and DeMarco L. Monoclonal immunoglobulin M lambda coagulation inhibitor with phospholipid specificity. Mechanism of a lupus anticoagulant. *Journal of Clinical Investigation* 1980; 66: 397.

51. Schleider MA, Nachman RL, Jaffe EA and Coleman M. A clinical study of the lupus anticoagulant. *Blood* 1976; 48: 499.

52. Boey ML, Colaco CB, Gharavi AE et al. Thrombosis in systemic lupus erythematosus: striking association with the presence of circulating lupus anticoagulant. *BMJ* 1983; 287: 1021.

53. Calaco Cb and Elkin KB. The lupus anticoagulant. *Arthritis Rheum.* 1985; 28: 67.

54. Mueh JR, Herbst KD and Rapaport SI. Thrombosis in patients with lupus anticoagulant. *Ann Intern Med.* 1980; 92:156.

55. Hart RG, Miller VT, Coull BM and Bril V. Cerebral infraction association with lupus anticoagulant: preliminary report. *Stroke* 1984; 15: 114.

56. Gardlund B. The lupus inhibitor in thromboembolism disease and intrauterine death in the absence of systemic lupus. *Acta Medica Scandinavica* 1984; 215: 293.

57. Bell WR, Boss GR and Wolfson JS. Circulating anticoagulant in the procainamide-induced lupus syndrome. *Arch Intern Med* 1977; 137: 1471.

58. Zarrabi MH, Zucker S, Miller F et al. Immunologic and coagulation disorders in chlorpromazine-treated patients. *Ann Intern Med* 1979; 91: 194.

59. Canoso RT, Zon LI and Groopman JE. Anticardiolipin antibodies associated with HTLV-III infection. *Br J Haematol* 1987; 65: 495.

60. Hunt JE, McNeil HP, Morgan FJ et al. A phospholipid- $\beta_2$ -glycoprotein I complex is an antigen for anticardiolipin antibodies occurring in autoimmune disease but not with infection. *Lupus* 1992; 1: 75.



61. Beck DW, Strauss RG, Kisker T and Henriksen RA. An intrinsic coagulation pathway inhibitor in a 3-year-old child. *Am J Clin Pathol.* 1979; 71: 470.
62. Brodeur GM, O'Neill PJ and Williams JA. Acquired inhibitors of coagulation in nonhemophiliac children. *J Pediatr.* 1980; 96: 439.
63. Cohen AJ, Philips TM and Kessler CM. Circulatory coagulating inhibitors in the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann Intern Med* 1985; 104: 175.
64. Bloom EJ, Abrams DI and Rodgers G. Lupus anticoagulant in acquired immunodeficiency syndrome. *JAMA* 1986; 256: 491.
65. Feinstein D. Lupus anticoagulant, anticardiolipin antibodies, fetal loss, and systemic lupus erythematosus. *Blood* 1992; 80: 859.
66. Ginsberg JS, Brill-Edwards P, Johnston M et al. Relationship of antiphospholipid antibodies to pregnancy loss in patients with systemic lupus erythematosus: a cross-sectional study. *Blood* 1992; 80: 859.
67. Triplett DA, Brandt JT, Musgrave KA and On CA. The relationship between lupus anticoagulants and antibodies to phospholipid. *JAMA* 1988; 259: 560.
68. Regan MG, Lackner H and Karpatkin S. Platelet function and coagulation profile in lupus erythematosus: studies in 50 patients. *Ann Intern Med.* 1974; 81: 462.
69. Vila P, Hrmandtz MC, Lopez-Fernandez MF and Battle J. Prevalence, follow-up and clinical significance of the anticardiolipin antibodies in normal subjects. *Thromb Haemost.* 1994; 72: 209.
70. Exner T, Rickard KA and Kronenberg BH. A sensitive test demonstrating lupus anticoagulant and its behavioral patterns. *Br j Haematol.* 1978; 40: 143.
71. Shapiro SS. The lupus anticoagulant/antiphospholipid syndrome. *Annu Rev Med.* 1996; 47: 533.
72. Jones JV, Eastwood BJ, Jones E et al. Antiphospholipid antibodies in healthy population: methods for estimating the distribution. *J Rheumatol.* 1995; 22: 55.
73. Harris EN and Spinnato JA. Should anticardiolipin tests be performed in otherwise healthy pregnant women? *Am J Obstet Gynecol.* 1991; 165: 1272.
74. Aoki K, Matsuura E, Sasa H et al. Beta<sub>2</sub>-glycoprotein I-dependent and independent anticardiolipin antibodies in healthy pregnant women. *Hum Report* 1994; 9: 1849.
75. Lockshin MD. Antiphospholipid antibody: babies, blood clots, biology. *JAMA* 1997; 277: 1549.
76. Levine JS, Branch DW and Rauch J. The antiphospholipid syndrome. *N Engl J Med.* 2002; 346 (10): 752.



77. Robert FA, Zwaal and Sahroit JA. Pathophysiology implications of membrane phospholipid asymmetry in blood cells. *Blood* 1997; 89: 1121.
78. Wurm H. Beta<sub>2</sub>-glycoprotein I (apolipoprotein H) interactions with phospholipid vesicles. *Int J Biochem.* 1984; 16(5): 511.
79. Triplett DA. Protean clinical presentation of antiphospholipid-protein antibodies (APA). *Thromb Haemost.* 1995; 74: 329.
80. Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, Furil B, Cohen HJ, Silberstein LE, eds. Inhibitors of blood coagulation. In: *Hematology. Basic Principles and Practice.* 3<sup>rd</sup> ed. Churchill Livingstone Inc 2000; 1844.
81. Koike T, Ichikawa K, Atsumi T, Kasahara H and Matsuura E. β<sub>2</sub>-glycoprotein I - anti-β<sub>2</sub>-glycoprotein I interaction. *J Autoimmun.* 2000; 15: 97.
82. De Groot RG, Bouma B, Lutters BCH, Simmelink MJA and Derksen RHWM. Structure-Function on β<sub>2</sub>-glycoprotein I. *J Autoimmun.* 2000; 15: 87.
83. Rand JH, Wu XX, Andree HA, Ross A et al. Antiphospholipid antibodies accelerate plasma coagulation by inhibiting Annexin V binding to antibodies: A "Lupus procoagulant" phenomenon. *Blood* 1998; 92: 1652.
84. Vianna JL, Khamashta MA, Ordi-Ros J et al. Comparison of the the primary and secondary antiphospholipid syndrome: a European multicenter study of the 144 patients. *Am J Med.* 1994; 96: 3.
85. Asherson RA, Khamashta MA, Ordi-Ros et al. The "primary" antiphospholipid syndrome: major clinical and serological features. *Medicine (Baltimore)* 1989; 68: 366.
86. Alarcon-Segovia D, Perez-Vazquez ME, Villa AR, Drenkard C and Cabiedes J. Preliminary classification criteria for the antiphospholipid syndrome within systemic lupus erythematosus. *Semin Arthritis Rheum.* 1992; 21: 275.
87. Hoffbrand AV and Lewis SM. *Postgraduate Haematology.* 3<sup>rd</sup>. Heinemann professional publishing. Oxford 1989; 669.
88. Levine JS and Rauch J. Renal involvement in the antiphospholipid syndrome. In: Adu D, Emery P, Madaio M eds. *Rheumatology and the kidney.* New York: Oxford University Press. 2001; 132.
89. Arnout J, Wittevrongel C et al. Beta-2-glycoprotein I dependent lupus anticoagulant from stable bivalent antibody beta-2-glycoprotein I complexes on phospholipid surfaces. *Thromb Haemost.* 1998; 79: 79.
90. Lie JT. Pathology of the antiphospholipid syndrome. In: Asherson RA, Cervera R, Piette J-C, Shoenfeld Y eds. *The antiphospholipid syndrome.* Boca Raton, Fla.: CRC PreM. 1996; 89.
91. Nochy D, Dugas E, Droz D et al. The intrarenal vascular lesions associated with primary antiphospholipid syndrome. *J Am Soc Nephrol.* 1999; 10: 507.
92. Hughson MD, McCarty GA and Brumback RA. Spectrum of vascular

pathology affecting patients with the antiphospholipid syndrome. *Hum Pathol.* 1995; 26: 716.

93. Gineck HI, Kant KS, Weiss MA, Pollak VE, Miller MA and Coots M. Thrombosis in systemic lupus erythematosus: relation to the presence of circulating anticoagulants. *Arch Intern Med.* 1985; 145: 1389.

94. Kincaid-Smith P, Fairley KF and Kloss M. Lupus anticoagulant associated with renal thrombotic microangiopathy and pregnancy-related renal failure. *Q J Med.* 1988; 69: 795.

95. Leaker B, McGregor A, Griffith M, Snaith N, Neild GH and Isenberg D. Insidious loss of renal function in patient with anticardiolipin antibodies and absence of overt nephritis. *Br J Rheumatol.* 1991; 30: 422.

96. Blank M, Shoenfeld Y, Cabilly S, Heldman Y, Fridkin M and Katchalski Katzir E. Prevention of experimental antiphospholipid syndrome and endothelial cell activation by synthetic peptides. *Proc Natl Acad Sci. USA.* 1999; 96 (9): 5164.

97. Carreras LO and Vermynen J. "Lupus" anticoagulant and prostacyclin. *Lancet.* 1981; 1 (8221): 665.

98. Leko M, Ichicawa K, Atsumi T, Takeuchi R, Sawada K, Yasukouchi T and Koike T. Effects of  $\beta_2$ -glycoprotein I and monoclonal anticardiolipin antibodies on extrinsic fibrinolysis. *Sem Thromb Hemost.* 2000; 26 (1): 85.

99. Carreras LO, Forestiano RR and Martinuzzo ME. Which are the best biological markers of the antiphospholipid syndrome? *J Autoimmun.* 2000; 15: 163.

100. Rand JH. Antiphospholipid antibodies disruption of the annexin V antithrombotic shield: a thrombogenic mechanism for the antiphospholipid syndrome. *J Autoimmun.* 2000; 15: 107.

101. Hajjar K.A, Guevara C.A, Lev E, Dowling K and Chocko J. Interaction of the fibrinolytic receptor, annexin II, with the endothelial cell surface: essential role of endonexin repeat 2. *J Biol Chem.* 1996; 271 (35): 21625.

102. Roubey RAS. Tissue Factor Pathway and the Antiphospholipid Syndrome. *J Autoimmun.* 2000; 15: 217.

103. Bach RR and Moldow CF. Mechanisms of tissue factor activation on HL-60 cells. *Blood* 1997; 89: 3270.

104. Douglas B, Eleanor S, Clagton A et al. Endothelial cells in physiology and pathophysiology of vascular disorders. *Blood* 1998; 91: 3527.

105. Esmon NL, Safa O, Smirnov MD and Esmon CT. Antiphospholipid antibodies and the protein C pathway. *J Autoimmun.* 2000; 15: 221.

106. Marciniak E and Romond EH. Impaired catalytic function of activated protein C: a new *in vitro* manifestation of lupus anticoagulant. *Blood* 1989; 74 (7): 2426.

107. Forastiero RR, Kordich L, Basilotta E and Carreras LO. Differences in protein S and C4b-binding protein levels in different groups of patients with antiphospholipid antibodies. *Blood Coag Fibrinol*. 1994; 5: 609.
108. Arnaut J, Vanruselt M, Wittevrongel C and Vermeylen J. Monoclonal antibodies against beta2-glycoprotein I: Use as reference material for lupus anticoagulant tests. *Thromb Haemost*. 1998; 79: 955.
109. Mycen MJ, Harrey RA and Champe PC. *Φαρμακολογία*. 2<sup>η</sup> έκδοση. Επιστημονικές εκδόσεις Παρισιάνος Α.Ε. Αθήνα 1998; 215.
110. Provan D and Gribben J. *Molecular Haematology*. Blackwell Science Ltd 2000; 158- 167.
111. Pittoni V and Isenberg D. Apoptosis and Antiphospholipid Antibodies. *Sem Athr Rheum*. 1998; 28; 3163.
112. Rauch J, Subang R, D'Agnillo R Koh JS and Levine JS. Apoptosis and Antiphospholipid Antibodies. *J Autoimmun*. 2000; 15: 231.
113. Harris EN, Gharavi AE, Asherson RA et al: Cerebral infarction in systemic lupus association with anticardiolipin antibodies. *Clin Exp Rheumatol*. 1984; 2: 47.
114. Vrethem M, Ernerudh J, Lindstrom F and Olsson JE. Cerebral ischemia associated with anticardiolipin antibodies. *Acta Neurol Scand*. 1992; 85 (6): 412.
115. Asherson RA, Mercey D, Phillips G, Sheehan N, Gharavi AE, Harris EN and Hughes GR. Recurrent stroke and multi infarct dementia in systemic lupus erythematosus: association with antiphospholipid antibodies. *Ann Rheum Dis*. 1987; 46: 605.
116. Arnaut J, Wittevrongel C et al. Beta-2-glucoprotein I dependent lupus anticoagulant from stable bivalent antibody beta-2-glucoprotein I complexes on phospholipid surfaces. *Thromb Haemost*. 1998; 79: 79.
117. Hörkkö S, Miller E, Branch W, Palinski W and Witztum J. The epitopes for some antiphospholipid antibodies are adducts of oxidized phospholipid and  $\beta_2$  glycoprotein I (and other proteins) *Proc Natl Acad Sci. USA*. 1997; 94 (19): 10356.
118. Asherson RA, Khamashta MA, Gil A, Vazquez JJ, Chan O, Baguley E and Hughes GR. Cerebrovascular disease and antiphospholipid antibodies in systemic lupus erythematosus, lupus-like disease, and the primary antiphospholipid syndrome. *Am J Med*. 1989; 86: 391.
119. Grenn D, Hougie C, Kazmier FJ et al. Report of the working party on acquired inhibitors of coagulation: Studies of the lupus anticoagulant. *Thromb Haemost*. 1983; 49: 144.
120. Exner T, Triplett DA, Taberner DA, Howard MA and Harriw EN. Comparison of test methods for the lupus anticoagulant: international survey on lupus anticoagulants-I (ISLA-1). *Thromb Haemost*. 1990; 64 (3): 478.



121. Exner T, Triplett DA, Taberner DA and Machin SJ. Guidelines for testing and revised criteria for lupus anticoagulants. SSC, Subcommittee for the Standardization of Lupus Anticoagulants. *Thromb Haemost.* 1991; 65 (3): 320.
122. Chantarangkul V, Tripodi A et al. Laboratory diagnosis of lupus anticoagulant: Effect of residual platelets in plasma. Assessed by Staclot LA and silica clotting time. *Thromb Haemost.* 2002; 87: 854.
123. Galli M, Duca F et al. Congenital resistance to activated protein C in patients with lupus anticoagulant: evaluation of two functional assays. *Thromb Haemost.* 1998; 80: 246.
124. Triplett DA et al. Laboratory identification of the lupus anticoagulant. *Br J Haemat.* 1982; 73 (2): 139.
125. Lesperance B, David M, Ranch J, Infante-Rivard C and Rivard CE. Relative sensitivity of different tests in the detection of low titer lupus anticoagulants. *Thromb Haemost.* 1988; 60: 217.
126. Lo SC, Oldineadow MJ, Howard MA and Firkin BG. Comparison of laboratory tests used for identification of the lupus anticoagulant. *American journal of Hematology* 1989; 39: 213.
127. Thiagarajan P, Pengo V and Shapiro SS. The use of the dilute Russell Viper Venom Time for the diagnosis of lupus anticoagulants. *Blood* 1986; 68: 869.
128. Triplett DA, Stocker KF, Unger GA and Berna LK. The Textarin / Ecarin ratio: a confirmatory test for lupus anticoagulants. *Thromb Haemost.* 1993; 70(6): 925.
129. Γεωργούλης Ιωαν. Αιματολογία. Διαγνωστικές προσεγγίσεις. 2<sup>η</sup> έκδοση, 2001; 573.
130. Lossing TS, Kasper CK and Feinstein DI. Detection of factor VIII inhibitors with the partial thromboplastin time. *Blood* 1977; 49(5): 793.
131. Ewing NP and Kasper CK. In vitro detection of mild inhibitors to factor VIII in hemophilia. *Am J Clin Pathol.* 1982; 77(6): 749.
132. Triplett DA and Brandt JT. Lupus anticoagulants: misnomer, paradox, riddle, epiphenomenon. *Hematologic Pathology* 1988; 1: 121.
133. Triplett DA, Brandt JT, Kaczor D and Schaeffler J. Laboratory diagnosis of lupus inhibitors: a comparison of the tissue thromboplastin inhibition procedure with a new platelet neutralization procedure. *American Journal of Clinical Pathology* 1983; 79: 678.
134. Rosove MH, Ismail M, Kozlowski BJ, Runge A and Kasper CK. Lupus anticoagulants: Improved diagnosis with a kaolin clotting time using rabbit brain phospholipid in standard and high concentrations. *Blood* 1986; 68: 472.
135. Howard MA and Firkin BG. Investigations of the lupus-like inhibitor by-passing activity of platelets. *Thrombosis and Haemostasis* 1983; 50: 775.

136. Keisey P, Stevenson KJ and Polier L. The diagnosis of lupus anti-coagulants by the activated partial thromboplastin time - the central role of phosphatidyl serine. *Thromb Haemost.* 1984; 52; 172.
137. Arnat J, Huybrechts E, Vanrusselt M and Vermynen J. A new lupus anticoagulant neutralization test based on platelet-derived vesicles. *Br J Haematol.* 1992; 80: 341.
138. Rauch J, Tannenbaum M, Neville C and Fortin PR. Inhibition of lupus anticoagulant activity by hexagonal phase phosphatidylethanolamine in the presence of prothrombin. *Thromb Haemost.* 1998; 80: 936.
139. Hoffbrant AV and Pettit JE. *Essential Haematology*. 3<sup>rd</sup> ed. Blackwell Science Ltd 1993; 299.
140. Robert A, Le Querrec A et al. Control of oral anticoagulation in patients with the antiphospholipid syndrome - Influence of the lupus anticoagulant on International Normalized Ratio. *Thromb Haemost.* 1998; 80: 99.
141. Neal MJ. Ιατρική φαρμακολογία με μια ματιά. Επιστημονικές εκδόσεις Παρισιάνος Α.Ε. Αθήνα 2000; 44, 70.
142. Brey RL and Levine SR. Treatment of neurologic complications of antiphospholipid antibody syndrome. *Lupus* 1996; 5 (5): 473.

## ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ

<b>APS</b>	αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο
<b>aPL</b>	αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα
<b>aCL</b>	αντικαρδιολιπινικά αντισώματα
<b>AEE</b>	αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο
<b><math>\beta_2</math>-GPI</b>	$\beta_2$ -γλυκοπρωτεΐνη I
<b>BFP-STIS</b>	βιολογικά ψευδώς θετικές ορολογικές δοκιμασίες για τη σύφιλη
<b>dRVVT</b>	αραιός χρόνος δηλητηρίου οχιάς Russel's
<b>dPT</b>	αραιός χρόνος προθρομβίνης
<b>EPCR</b>	υποδοχέας της pC
<b>FDPs</b>	θραύσματα αποδόμησης της ινικής
<b>HPP</b>	εξαγωνικής φάσης φωσφολιπίδια
<b>HMWK</b>	υψηλού μοριακού βάρους κινινογόνο
<b>IVIG</b>	ανοσοσφαιρίνες
<b>ISTH</b>	διεθνή εταιρεία της θρόμβωσης και της αιμόστασης
<b>INR</b>	διεθνή κανονικοποιημένη αναλογία
<b>KCT</b>	χρόνος πήξης καολίνης
<b>LMWH</b>	χαμηλού μοριακού βάρους ηπαρίνη
<b>Lp a</b>	λιποπρωτεΐνη a



LA	αντιπηκτικό του λύκου
moabs	μονοκλωνικά αντισώματα
MHC	μείζον σύστημα ιστοσυμβατότητας
PS	φωσφατιδυλο-σερίνη
PC	φωσφατιδυλο-χολίνη
pC	πρωτεΐνη C
pS	πρωτεΐνη S
PNP	διαδικασία εξουδετέρωσης αιμοπεταλίων
PTT	χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης
PGI2	προστακυκλίνη 2
PFLP	πολυμορφισμός του μήκους τμημάτων μετά από πέψη με περιοριστικές νουκλεάσες
PAI-1	τύπου 1 ανασταλτής του t-PA
RAF	παράγοντας ενεργοποίησης αιμοπεταλίων
RPR	ταχεία αντίδραση πλάσματος
SSC	επιτροπή επιστημονικής μεθοδολογίας και τυποποίησης
SCR	σουλφιδικές διατηρημένες περιοχές
SLE	συστηματικός ερυθματώδης λύκος
TXA2	θρομβοξάνη A2
TM	θρομβομοντουλίνη
TF	ιστικός παράγοντας
TFPI	ανασταλτής της οδού του ιστικού παράγοντα
t-PA	ιστικός ενεργοποιητής του πλασμινογόνου
VDRL	εργαστηριακή μελέτη αφροδισίου νοσήματος



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ**

Τηλ.: 74.760-61 ΛΑΡΙΣΑ

2410-565077  
565078



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ  
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



004000057253