

# Πήξη I

ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΤΣΟΤΣΟΛΗΣ

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο πηκτικός μηχανισμός είναι ένας φυσιολογικός μηχανισμός που αποσκοπεί κυρίως στην επίσχεση της αιμορραγίας με το σχηματισμό αιμοστατικού θρόμβου. Περιλαμβάνει τόσο την διαδικασία πήξης όσο και την ινωδολύση, δεδομένου ότι οι μηχανισμοί αυτοί συχνά επικαλύπτουν ο ένας τον άλλον.

Το σύστημα της πήξης του αίματος αποτελείται από διάφορα ένζυμα που συνήθως είναι πρωτεάσες σερίνης και τους συμπαράγοντες που είναι απαραίτητοι για να δράσουν τα ένζυμα. Η δράση των παραγόντων και συμπαράγοντων επιτελείται πάνω σε ενεργοποιημένα αιμοπετάλια ή τραυματισμένα ενδοθηλιακά κύτταρα στην επιφάνεια των οποίων σχηματίζεται ο σταθερός θρόμβος ινώδους. Η όλη διαδικασία της αιμόστασης επιτελείται περισσότερο μέσω διαδοχικών και αλληλοκαλυπτόμενων σταδίων, παρά από συγκεκριμένες "οδούς".

Πρόσφατα, η αντίληψή μας για τον πηκτικό μηχανισμό έχει αλλάξει από το κλασσικό μοντέλο "καταρράκτη" σε ένα κυτταρικό μοντέλο το οποίο επιτρέπει καλύτερα την κατανόηση της ρύθμισης της πήξης.

Η έναρξη της πήξης συμβαίνει όταν ο ιστικός παράγοντας εκλύεται είτε από τους ινοβλάστες (όταν υπάρχει βλάβη του ιστού όπως τραύμα, έγκαυμα), είτε από μονοκύτταρα και ενδοθηλιακά κύτταρα, τα οποία ενεργοποιούνται από τις κυτοκίνες (σήψη). Ενώ ο TF είναι ο κύριος παράγοντας έναρξης της πήξης, η ενδοτοξίνη, ξένα σώματα και αρνητικά φορτισμένα μόρια μπορούν επίσης να συμβάλλουν στην ενεργοποίηση του πηκτικού μηχανισμού.

Ο ιστικός παράγοντας (TF, Tissue Factor) σε συνδυασμό με τον παράγοντα VIIa στις επιφάνειες των κυτταρικών μεμβρανών είναι οι κύριοι παράγοντες οι οποίοι προκαλούν την έναρξη της διαδικασίας πήξης. Ο μηχανισμός αυτός ακολουθείται από μαζική ενίσχυση της παραγωγής θρομβίνης από το προθρομβινικό σύμπλεγμα (παράγοντας Xa και παράγοντας Va), γεγονός που συμβαίνει στην επιφάνεια των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων.

Ο αιμοστατικός μηχανισμός με τον οποίο επιτυγχάνεται η επίσχεση της αιμορραγίας, είναι ένας φυσιολογικός μηχανισμός άμυνας του οργανισμού. Οποιαδήποτε εκτροπή του αιμοστατικού μηχανισμού έχει ως επακόλουθο την εμφάνιση παθολογικών κλινικοεργαστηριακών ευρημάτων. Έτσι, ανεπάρκεια των παραγόντων της πήξης ή αυξημένη δραστηριότητα του ινωδολυτικού συστήματος εκδηλώνεται ως αιμορραγικό σύνδρομο, ενώ ανεπάρκεια των αναστολέων της αιμόστασης ή αυξημένη δραστηριότητα του πηκτικού μηχανισμού οδηγεί κλινικά σε θρόμβωση.

Οι δοκιμασίες αυτές χρησιμοποιούνται κυρίως ως πρώτο βήμα στην έρευνα της αιμόστασης των ασθενών που εμφανίζουν οξεία αιμορραγία ή αιμορραγική διάθεση, στα πλαίσια του προεγχειρητικού ελέγχου, στα πλαίσια ενός ελέγχου ρουτίνας.

Οι δοκιμασίες αυτές έχουν το πλεονέκτημα ότι είναι απλές, γρήγορες στην εκτέλεσή τους και επαναλήψιμες. Θα πρέπει να τονιστεί ότι φυσιολογικές δοκιμασίες δεν σημαίνει πάντα και φυσιολογική αιμόσταση, δεδομένου ότι οι δοκιμασίες αυτές συχνά είναι φυσιολογικές σε ήπια αλλά σημαντική αιμορραγική διάθεση, όπως π.χ. είναι η νόσος von Willebrand.

Στα περισσότερα εργαστήρια οι δοκιμασίες αυτές περιλαμβάνουν τον χρόνο προθρομβίνης (PT), τον ενεργοποιημένο χρόνο μερικής θρομβοπλαστίνης (APTT) και την μέτρηση του ινωδογόνου, καθώς και τη μέτρηση του αριθμού των αιμοπεταλίων και τα D-διμερή (D-dimers).

**Λέξεις Κλειδιά:** Πήξη, αιμόσταση, πηκτικός μηχανισμός

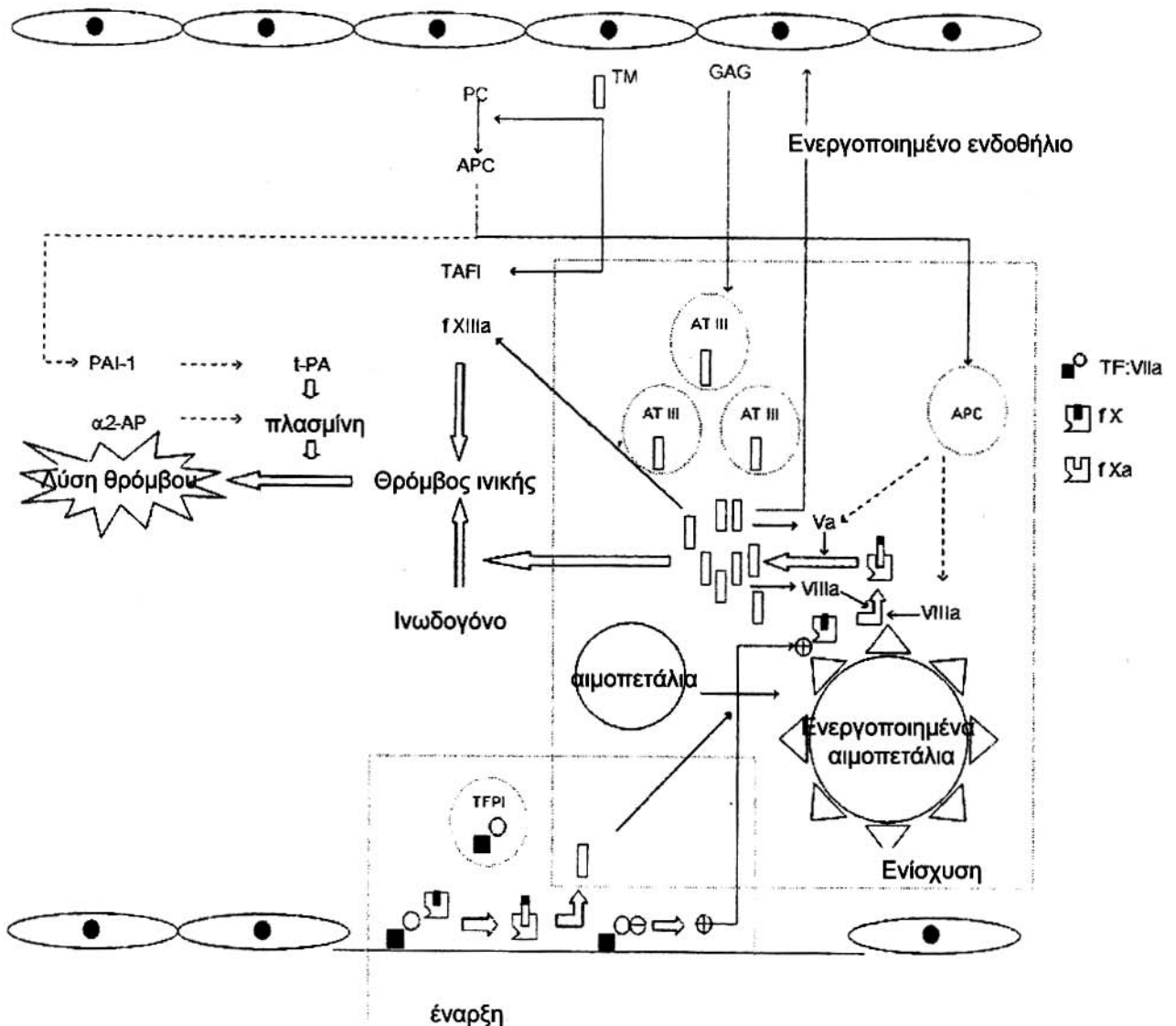
**ΠΗΚΤΙΚΟΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ**

**Φυσιολογικός μηχανισμός πήξης**

Ο πήκτικός μηχανισμός είναι ένας φυσιολογικός μηχανισμός που αποσκοπεί κυρίως στην επίσχεση της αιμορραγίας με το σχηματισμό αιμοστατικού θρόμβου. Περιλαμβάνει τόσο την διαδικασία πήξης όσο και την ινωδύλυση, δεδομένου ότι οι μηχανισμοί αυτοί συχνά επικαλύπτουν ο ένας τον άλλον. Η πήξη αποτελεί μία περίπλοκη, συγκεκριμένη και ολοκληρωμένη διαδικασία, που λαμβάνει χώρα σε ένα συγκεκριμένο σημείο του αγγειακού συστήματος και για πρακτικούς λόγους χωρίζεται

σε τέσσερα στάδια, τα οποία αλληλο καλύπτονται:

- Αγγειοσύσπαση
- Προσκόλληση και συσώρευση των αιμοπεταλίων στο σημείο της βλάβης του ενδοθηλίου, σχηματισμός του αιμοπεταλιακού θρόμβου (αρχική αιμόσταση)
- Παραγωγή ινώδους και σχηματισμός του αιμοστατικού θρόμβου (μόνιμη αιμόσταση)
- Συμμετοχή του ινωδολυτικού συστήματος και του συστήματος μεταλλοπρωτεϊνολυτικών στην απομάκρυνση του θρόμβου και στην αποκατάσταση της βλάβης



Εικόνα 1. Σχηματική παράσταση ενεργοποίησης του πήκτικού μηχανισμού

<b>α2-AP:</b>	άλφα-2- αντιπλασμίνη
<b>APC:</b>	ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C
<b>AT III:</b>	αντιθρομβίνη
<b>GAG:</b>	γλυκοσαμινογλυκάνη
<b>PAI-1:</b>	αναστολέας ενεργοποιητή πλασμινογόνου
<b>t-PA:</b>	ιστικός ενεργοποιητής πλασμινογόνου
<b>TAFI:</b>	αναστολέας της ινωδολύσης ενεργοποιημένος από θρομβίνη
<b>TFPI:</b>	αναστολέας της ιστικής οδού
<b>TM:</b>	θρομβομοδουλίνη
<b>Συνεχόμενη γραμμή:</b>	ενεργοποίηση
<b>Διακεκομμένη γραμμή:</b>	αναστολή

Ο αιμοστατικός μηχανισμός είναι ένας φυσιολογικός μηχανισμός άμυνας του οργανισμού. Οποιαδήποτε εκτροπή του αιμοστατικού μηχανισμού έχει ως επακόλουθο την εμφάνιση παθολογικών κλινικοεργαστηριακών ευρημάτων. Έτσι, ανεπάρκεια των παραγόντων της πήξης ή αυξημένη δραστηριότητα του ινωδολυτικού μηχανισμού εκδηλώνεται ως αιμορραγικό σύνδρομο, ενώ ανεπάρκεια των αναστολέων της αιμόστασης ή αυξημένη δραστηριότητα του πηκτικού μηχανισμού οδηγεί κλινικά σε θρόμβωση.

Το σύστημα της πήξης του αίματος αποτελείται από διάφορα ένζυμα που συνήθως είναι πρωτεάσες σερίνης και τους συμπαράγοντες που είναι απαραίτητοι για να δράσουν τα ένζυμα. Η δράση των παραγόντων και συμπαράγοντων επιτελείται πάνω σε ενεργοποιημένα αιμοπετάλια ή τραυματισμένα ενδοθηλιακά κύτταρα στην επιφάνεια των οποίων σχηματίζεται ο σταθερός θρόμβος ινώδους. Η όλη διαδικασία της αιμόστασης επιτελείται περισσότερο μέσω διαδοχικών και αλληλοκαλυπτόμενων σταδίων, παρά από συγκεκριμένες "οδούς".

Πρόσφατα, η αντίληψή μας για τον πηκτικό μηχανισμό έχει αλλάξει από το κλασσικό μοντέλο "καταρράκτη" σε ένα κυτταρικό μοντέλο το οποίο επιτρέπει καλύτερα την κατανόηση της ρύθμισης της πήξης. Η περιγραφή του μοντέλου αυτού έχει γίνει από τους Andre Amaral, Steven M. Opal,

Jean-Lois Vincent.

Η έναρξη της πήξης συμβαίνει όταν ο ιστικός παράγοντας εκλύεται είτε από τους ινοβλάστες (όταν υπάρχει βλάβη του ιστού όπως τραύμα, έγκαιμα), είτε από μονοκύτταρα και ενδοθηλιακά κύτταρα, τα οποία ενεργοποιούνται από τις κυτταροκίνες (σήψη). Ενώ ο TF είναι ο κύριος παράγοντας έναρξης της πήξης, η ενδοτοξίνη, ξένα σώματα και αρνητικά φορτισμένα μόρια μπορούν επίσης να συμβάλλουν στην ενεργοποίηση του πηκτικού μηχανισμού.

Ο ιστικός παράγοντας (TF, Tissue Factor) σε συνδυασμό με τον παράγοντα VIIa στις επιφάνειες των κυτταρικών μεμβρανών είναι οι κύριοι παράγοντες οι οποίοι προκαλούν την έναρξη της διαδικασίας πήξης. Ο μηχανισμός αυτός ακολουθείται από μαζική ενίσχυση της παραγωγής θρομβίνης από το προθρομβινικό σύμπλεγμα (παράγοντας Xa και παράγοντας Va), γεγονός που συμβαίνει στην επιφάνεια των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων (εικόνα 1).

Ο παράγοντας VII του αίματος συνδέεται άμεσα με τον TF, με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του VII και το σχηματισμό του συμπλέγματος TF/VIIa (εξωγενής οδός). Στην ενεργοποίηση του παράγοντα VII συμβάλλουν και ίχνη του παράγοντα Xa. Το μεγαλύτερο μέρος του παράγοντα VII κυκλοφορεί ως ζυμογόνο (σε αδρανή μορφή), αφήνοντας το κανονικό πλάσμα με το 1% του παράγοντα

VIIa. Μόλις ενώνεται με το TF, το ζυμογόνο μετατρέπεται γρήγορα σε ενεργοποιημένη μορφή VIIa μέσω περιορισμένης πρωτεόλυσης. Έτσι, το σύμπλεγμα TF:VIIa μπορεί να σχηματιστεί με δύο διαφορετικούς τρόπους: πρώτον, ο TF μπορεί να ενωθεί με τον παράγοντα VIIa ο οποίος ήδη υπάρχει στο πλάσμα και, δεύτερον, ο TF μπορεί να ενωθεί με τον παράγοντα VII με την επακόλουθη μετατροπή του στον ενεργοποιημένο παράγοντα VIIa.

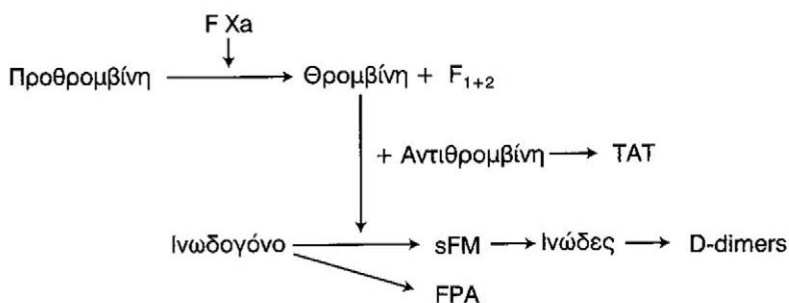
Το ενεργό σύμπλεγμα TF/VIIa ενεργοποιεί τον παράγοντα IX (IXa) και εν μέρει τον X (Xa). Από την ενεργοποίηση του τελευταίου δημιουργούνται τα πρώτα ίχνη θρομβίνης. Ο παράγοντα IXa σχηματίζει σύμπλεγμα με τον παράγοντα VIIIa, που έχει ενεργοποιηθεί από τα πρώτα ίχνη θρομβίνης και παρουσία ιόντων  $Ca^{++}$  και φωσφολιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης, ενεργοποιεί επίσης τον παράγοντα X (Xa) (ενδογενής οδός). Οι παράγοντες V, VIII, IX και X είναι παρόντες στην επιφάνεια των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων, προστατευμένοι από την αναστολή από τις πρωτεάσες του πλάσματος, μπορούν να συμβάλλουν στην παραγωγή της θρομβίνης που θα μετατρέψει το ινωδογόνο σε ινώδες, και, επίσης, μπορούν να ασκήσουν θετική ανάδραση στη δική τους οδό, ενεργοποιώντας τους παράγοντες V, VIII και XI. Η ενεργοποίηση των παραγόντων IX και VIII συμβάλλει περισσότερο στη διατήρηση του σχηματισμού ινώδους. Ο κοινός στόχος που έχουν τα ενζυμικά συμπλέγματα IXa/VIIIa και TF/VIIa είναι η ενεργοποίηση του παράγοντα X. Ο ενεργοποιημένος παράγοντα X (Xa), παρουσία ιόντων  $Ca^{++}$  και φωσφολιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης, συνδέ-

εται με τον παράγοντα Va, ο οποίος έχει ενεργοποιηθεί από τη θρομβίνη και το σύμπλεγμα Xa/Va μετατρέπει ταχύτατα την προθρομβίνη σε μεγάλη ποσότητα θρομβίνης. Ο παράγοντας Xa ενώνεται με τον παράγοντα Va, σχηματίζοντας το προθρομβινικό σύμπλεγμα, το οποίο διαδοχικά μετατρέπει την προθρομβίνη σε θρομβίνη. Το σύμπλεγμα Xa/Va ονομάζεται προθρομβινάση ή προθρομβινικό σύμπλεγμα. Η τελική δράση της θρομβίνης συνίσταται στη μετατροπή του ινωδογόνου σε ασταθές ινώδες και στην ενεργοποίηση του παράγοντα XIII (XIIIa) που συμμετέχει στη δημιουργία σταθερού θρόμβου. Η συμμετοχή των αιμοπεταλίων στον αιμοστατικό θρόμβο προσδίδει σ' αυτόν ακόμη σταθερότερη δομή.

Η θρομβίνη θα διασπάσει το ινωδογόνο, παράγοντας το ινώδες. Η θρομβίνη, επίσης, ενεργοποιεί τον παράγοντα XIII, ο οποίος σταθεροποιεί την ινική σχηματίζοντας διασταυρωτούς συνδέσμους που την καθιστούν πιο ανθεκτική στην διάσπαση από την πλασμίνη. Ένας άλλος σημαντικός παράγοντας στη σταθεροποίηση του θρόμβου είναι ο αναστολέας της ινωδολύσης ενεργοποιημένος από θρομβίνη (TAFI, thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor). Η πρωτεΐνη αυτή περιορίζει σημαντικά τη δραστηριότητα της πλασμίνης, δεσμεύοντας τα αμινοξέα του ινώδους, τα οποία είναι απαραίτητα για τη δέσμευση με την πλασμίνη.

Υπό φυσιολογικές συνθήκες, οι ελάχιστες ποσότητες του ιστικού παράγοντα του πλάσματος (TF-tissue factor) στο αγγειακό σύστημα είναι ικανές να ενεργοποιήσουν μικρές ποσότητες του παράγοντα VII, με επακόλουθη ήπια ενεργοποίηση του παράγοντα X και παραγωγή ελάχιστων ποσοτήτων θρομβίνης, όπως φαίνεται από τα αυξημένα επίπεδα του θραύσματος 1+2 της προθρομβίνης (F1+2), του συμπλέγματος θρομβίνης-αντιθρομβίνης (TAT), του διαλυτού ινώδους και των D-διμερών (D-Dimers).

Το σύστημα της πήξης του αίματος έχει την ικανότητα να ρυθμίζει τα ένζυμα της αιμόστασης, έτσι ώστε το ινώδες να περιορίζεται στο σημείο της βλάβης και αν μην γενικεύεται η όλη διαδικασία της



**Εικόνα 2.** Δείκτες πηκτικής δραστηριότητας: F1+2-θραύσμα προθρομβίνης, sFM-διαλυτό μονομερές του ινώδους, TAT-σύμπλεγμα θρομβίνης-αντιθρομβίνης, FPA-ινωδοπεπτίδια A.

πήξης. Οι μηχανισμοί που αποτρέπουν τη γενίκευση της πήξης του αίματος περιλαμβάνουν τους φυσικούς αναστολείς της πήξης, όπως είναι η αντιθρομβίνη (AT), πρωτεΐνη C (PC), η πρωτεΐνη S (PS) και ο αναστολέας της οδού του ιστικού παράγοντα (TFPI, tissue factor pathway inhibitor).

Η AT όπως και άλλοι αναστολείς, ανήκει στη μεγάλη οικογένεια των σερίπινων (serpins-serine protease inhibitors). Η αναστολή της θρομβίνης από την AT χωρίς την παρουσία συμπαράγοντων είναι ήπια, επιταχύνεται όμως 2000 φορές με την παρουσία ηπαρίνης ή θειϊκής ηπαράνης της επιφάνειας των ενδοθηλιακών κυττάρων. Με την παρουσία της θρομβομοδουλίνης, που είναι πρωτεΐνη συνδεδεμένη στο ενδοθήλιο, η θρομβίνη ενεργοποιεί την PC που με τη σειρά της, διασπά και αναστέλλει τη δράση των παραγόντων VIII και V. Η αντίδραση αυτή επιταχύνεται από τον συμπαράγοντα PS.

Ο TFPI είναι πρωτεΐνη του πλάσματος συνδεδεμένη με λιποπρωτεΐνη και σχηματίζει τετραμερές σύμπλεγμα με τον TF και τους ενεργοποιημένους παράγοντες VII και V με συνέπεια την αναστολή της εξωγενούς οδού. Με αυτόν τον μηχανισμό το ινώδες περιορίζεται στο σημείο της βλάβης και αποτρέπεται η γενίκευση της πήξης του αίματος. Οι φυσικοί αναστολείς της πήξης περιορίζουν και αδρανοποιούν σε μεγάλο βαθμό τη θρομβίνη, ούτως ώστε να μην είναι σε θέση να δημιουργήσει ινώδες (θρόμβο). Έτσι, το προθρομβωτικό στάδιο χαρακτηρίζεται από δημιουργία θρομβίνης, που αδρανοποιείται από φυσικούς ανασταλτικούς μηχανισμούς. Κατά το θρομβωτικό στάδιο, η παραγωγή της θρομβίνης μεγιστοποιείται, ενώ οι φυσικοί αναστολείς της πήξης δεν επαρκούν για να την αδρανοποιήσουν, με επακόλουθο τη δημιουργία θρόμβου.

## ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΟΥ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥ ΠΗΞΗΣ

### Απομάκρυνση του ινώδους και αποκατάσταση της βλάβης

Το ινωδολυτικό σύστημα και το σύστημα μεταλλοπρωτεϊνών συμμετέχουν στο τελευταίο στάδιο της αιμόστασης. Με την τοπική ή συστηματική παραγωγή του κύριου ενζύμου της ινωδολύσης, της πλασμίνης, επιτυγχάνεται η λύση του θρόμβου

και σε συνεργασία με το σύστημα μεταλλοπρωτεϊνών, η αποκατάσταση της βλάβης του αγγείου. Η αποικοδόμηση του θρόμβου εκτελείται μέσω της πλασμίνης, η οποία παράγεται από μία ανενεργή ζυμογόνο δομή, το πλασμινογόνο, με τη δράση μιας σειράς από πρωτεάσες, οι οποίες είναι γνωστές ως ενεργοποιητές πλασμινογόνου, όπως είναι ο ιστικός (t-PA) και ο τύπου ουροκινάση ενεργοποιητής πλασμινογόνου (u-PA).

Το σύστημα της ινωδολύσης μπορεί να ανασταλεί σε δύο σημεία: πρώτον, από τον αναστολέα-1 ενεργοποιητή πλασμινογόνου - (PAI-1) που δεσμεύει το t-PA και το u-PA και, δεύτερον, από την α2-αντιπλασμίνη που σθνδέεται με την πλασμίνη δημιουργώντας το σύμπλεγμα πλασμίνης-α2-αντιπλασμίνης (PAP, plasmin- α2-antiplasmin).

Ο αιμοστατικός μηχανισμός με τον οποίο επιτυγχάνεται η επίσχεση της αιμορραγίας, είναι ένας φυσιολογικός μηχανισμός άμυνας του οργανισμού. Οποιαδήποτε εκτροπή του αιμοστατικού μηχανισμού έχει ως επακόλουθο την εμφάνιση παθολογικών κλινικοεργαστηριακών ευρημάτων. Έτσι, ανεπάρκεια των παραγόντων της πήξης ή αυξημένη δραστηριότητα του ινωδολυτικού συστήματος εκδηλώνεται ως αιμορραγικό σύνδρομο, ενώ ανεπάρκεια των αναστολέων της αιμόστασης ή αυξημένη δραστηριότητα του πηκτικού μηχανισμού οδηγεί κλινικά σε θρόμβωση.

## ΔΕΙΚΤΕΣ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΗΣ ΠΗΞΗΣ ΚΑΙ ΙΝΩΔΟΛΥΣΗΣ

### Φυσικοί αναστολείς πήξης:

- Αντιθρομβίνη (AT),
- Πρωτεΐνη C (protein C, PrC)
- Πρωτεΐνη S (protein S, PrS)

Φυσιολογικές τιμές AT -80-110%, PrC-75-150%, PrS-70-140%

### Δείκτες ενεργοποίησης ινωδολύσης:

- Ιστικός ενεργοποιητής του πλασμινογόνου (tissue plasminogen activator, t-PA)
- Αναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (plasminogen activator inhibitor 1, PAI-1)

- Σύμπλεγμα πλασμίνης - $\alpha$ 2 αντιπλασμίνης (plasmin/ $\alpha$ 2 antiplasmin complexes, PAP)

Ο αναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου -1 (PAI-1) και τα αντιγόνα του ιστικού ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (t PA) αναλύονται με την ανοσοπροσροφητική τεχνική ανάλυσης (ELISA). Φυσιολογικές τιμές 4-43ng/ml για PAI-1, 1-12 ng/ml για tPA). Τα επίπεδα του συμπλέγματος PAP προσδιορίζονται με την τεχνική ανάλυσης micro-ELISA (φυσιολογικές τιμές 120-700  $\mu$ g/L).

#### **Δείκτες ενεργοποίησης παραγωγής και αποδόμησης της θρομβίνης και κατανάλωσης των αναστολέων πήξης:**

- Σύμπλεγμα θρομβίνης - αντιθρομβίνης (thrombin / antithrombin complexes, TAT)
- Προϊόν αποδομής του ινώδους (D-διμερές, D-dimer, D-d)
- Θραύσμα 1+2 προθρομβίνης (prothrombin fragment 1+2, F1+2)

Τα επίπεδα του συμπλέγματος TAT προσδιορίζονται με την τεχνική ανάλυσης micro ELISA (φυσιολογικές τιμές 1-4.1  $\mu$ g/l). Τα D-d προσδιορίζονται με μια ημιποσοτική μέθοδο (φυσιολογικές τιμές: λιγότερα από τα 0.5 $\mu$ g/ml). Τα επίπεδα του θραύσματος F1+2 ανιχνεύονται ανοσοενζυμικά (ELIZA), φυσιολογικές τιμές 1.4-1.1 nmol/L.

#### **Θρομβίνη-αντιθρομβίνη (TAT)**

Αυξημένα επίπεδα του συμπλέγματος TAT αποτελούν εργαστηριακό δείκτη αυξημένης πηκτικής δραστηριότητας. Το σύμπλεγμα TAT επίσης διεγείρει την παραγωγή αιμοπεταλίων. Ελαττωμένα επίπεδα TAT φανερώνουν λύση του θρόμβου, ενώ αυξημένα επίπεδα TAT παρατηρούνται δευτερογενώς σε φλεγμονή και μικροαγγειακές θρομβώσεις. Το σύμπλεγμα TAT συνδέεται στο αίμα με τη βιτρονεκτίνη και απομακρύνεται ταχύτατα μέσω της ηπατικής οδού. Τα επίπεδα TAT ανιχνεύονται είτε ραδιοανοσολογικά, είτε ανοσοενζυμικά με τη χρησιμοποίηση μονοκλωνικών αντισωμάτων κατά του συμπλέγματος TAT.

#### **Θραύσμα 1+2 προθρομβίνης (F1+2)**

Το θραύσμα 1+2 της προθρομβίνης αποτελεί πολυπεπτίδιο που απελευθερώνεται μετά την ενεργοποίηση της προθρομβίνης από το σύμπλεγμα της προθρομβινάσης (ιόντα  $Ca^{++}$ , φωσφολιπίδια, παράγοντες Xa και Va). Η προθρομβίνη ενεργοποιείται από το καλούμενο σύμπλεγμα και μετατρέπεται σε θρομβίνη. Το θραύσμα 1+2 της προθρομβίνης είναι κομμάτι που διαχωρίζεται από την προθρομβίνη με τη δράση του παράγοντα Xa κατά τη μετατροπή της σε θρομβίνη. Το θραύσμα 1+2 της προθρομβίνης αποτελεί εργαστηριακό δείκτη της ενεργοποίησης της πήξης. Τα επίπεδα F1+2 ανιχνεύονται είτε ραδιοανοσολογικά, είτε ανοσοενζυμικά (ELIZA) με τη χρησιμοποίηση μονοκλωνικών ή πολυκλωνικών αντισωμάτων κατά του θραύσματος.

#### **Προϊόν αποδομής του ινώδους (D-διμερές, D-Dimer, D-d)**

Η πλασμίνη διασπά δυναμικούς δεσμούς τόσο του ινωδογόνου, όσο και του ινώδους. Παράγονται έτσι προϊόντα αποδομής που προέρχονται τόσο από το ινωδογόνο όσο και από το ινώδες, τα καλούμενα *προϊόντα αποδομής ινώδους και ινωδογόνου* (F/FDP's-fibrin/fibrinogen degradation products). Η δράση της πλασμίνης στο ινωδογόνο έχει ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση μονομερών πεπτιδίων D και E. Η δράση της πλασμίνης στο ινώδες δημιουργεί διμερή θραύσματα όπως D-D (D-dimers), D-Y και Y-Y τα οποία και χαρακτηρίζουν την αποδόμηση του ινώδους. Στην ανίχνευση των D-διμερών του ινώδους στηρίζεται η διαγνωστική προσπέλαση τόσο της θρόμβωσης όσο και της θρομβόλυσης. Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό των D-διμερών είναι ανοσοενζυμικές (ELIZA). Τα D-διμερή ανιχνεύονται με ειδικά αντισώματα που δεν ανιχνεύουν θραύσματα του ινωδογόνου, και βρίσκονται αυξημένα σε εν τω βάθει φλεβικές θρομβώσεις, πνευμονική εμβολή έμφραγμα του μυοκαρδίου, θεραπευτική θρομβολυτική αγωγή.

### **Συμπλέγμα πλασμίνης-α2 αντιπλασμίνης (PAP)**

Η ενεργοποίηση του ινωδολυτικού μηχανισμού οδηγεί στη δημιουργία πλασμίνης. Η άμεση μέτρηση της πλασμίνης είναι δύσκολη, αφενός επειδή ο χρόνος ημίσειας ζωής της πλασμίνης είναι μόλις 30 δευτερόλεπτα, και αφ' ετέρου επειδή *in vitro* αδρανοποιείται άμεσα από τον αναστολέα α2-αντιπλασμίνη με τον σχηματισμό του συμπλέγματος πλασμίνης-αντιπλασμίνης (PAP). Ο χρόνος ημίσειας ζωής του συμπλέγματος PAP είναι 12 ώρες και έτσι είναι δυνατή η μέτρησή του. Τα επίπεδα του συμπλέγματος πλασμίνης-αντιπλασμίνης αντανακλούν άμεσα τη δημιουργία πλασμίνης και έμμεσα την ινωδολυτική δραστηριότητα. Οι μέθοδοι μέτρησης που χρησιμοποιούνται είναι ανοσοενζυμικές.

### **Ιστικός ενεργοποιητής του πλασμινογόνου (t-PA), Αναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (PAI-1)**

Αυξημένη συγκέντρωση του ιστικού ενεργοποιητή του πλασμινογόνου και του αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου παρατηρείται σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις, όπως στο έμφραγμα του μυοκαρδίου, στη σηψαιμία, στη βαριά ηπατική ανεπάρκεια.

Ο PAI-1 είναι γλυκοπρωτεϊνική αλυσίδα που συντίθεται κυρίως στο ήπαρ και στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Απαντάται κυρίως στο ενδοθήλιο, αλλά και στα αιμοπετάλια και στον πλακούντα. Συνδέεται και αναστέλλει τον t-PA σε σταθερή σχέση. Αυξημένα επίπεδα PAI-1 θεωρούνται παράγοντας αυξημένου κινδύνου θρομβώσεων.

Ο t-PA είναι ο κύριος ενεργοποιητής του ινωδολυτικού συστήματος και προέρχεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Αυξημένα επίπεδα t-PA συσχετίζονται με αυξημένη ινωδολυτική δραστηριότητα. Η ανοσοενζυμική μέθοδος χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό των παραγόντων αυτών.

### **ΒΑΣΙΚΕΣ ΔΟΚΙΜΑΣΙΕΣ ΣΤΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗΣ**

Οι δοκιμασίες αυτές χρησιμοποιούνται κυρίως ως πρώτο βήμα στην έρευνα της αιμόστασης των

ασθενών που εμφανίζουν οξεία αιμορραγία ή αιμορραγική διάθεση, στα πλαίσια του προεγχειρητικού ελέγχου, στα πλαίσια ενός ελέγχου ρουτίνας. Οι δοκιμασίες αυτές έχουν το πλεονέκτημα ότι είναι απλές, γρήγορες στην εκτέλεσή τους και επαναλήψιμες. Θα πρέπει να τονιστεί ότι φυσιολογικές δοκιμασίες δεν σημαίνει πάντα και φυσιολογική αιμόσταση, δεδομένου ότι οι δοκιμασίες αυτές συχνά είναι φυσιολογικές σε ήπια αλλά σημαντική αιμορραγική διάθεση, όπως π.χ. είναι η νόσος von Willebrand.

Στα περισσότερα εργαστήρια οι δοκιμασίες αυτές περιλαμβάνουν τον χρόνο προθρομβίνης (PT), τον ενεργοποιημένο χρόνο μερικής θρομβοπλαστικής (APTT) και την μέτρηση του ινωδογόνου, καθώς και τη μέτρηση του αριθμού των αιμοπεταλίων και τα D-διμερή (D-dimers). Ο χρόνος ροής αν και αποτελεί ιδιαίτερα ευαίσθητη δοκιμασία, δεν είναι καθόλου ειδική, αλλά και ούτε αναπαραγωγίμη δοκιμασία και έτσι δεν προτείνεται στις βασικές δοκιμασίες μελέτης της αιμόστασης.

### **Χρόνος προθρομβίνης (PT)**

Η δοκιμασία μετρά το χρόνο πήξης πλάσματος εμπλουτισμένου με ασβέστιο παρουσία συγκεκριμένης ποσότητας θρομβοπλαστικής και χαρακτηρίζει την επάρκεια των παραγόντων VII, V, X, II, προθρομβίνης και ινωδογόνου. Η ονομασία της δοκιμασίας οφείλεται στο γεγονός ότι αρχικά υπήρχε η αντίληψη ότι μετρά μόνο τα επίπεδα της προθρομβίνης. Φυσιολογικά ο χρόνος προθρομβίνης είναι 10-15 δευτερόλεπτα και εκφράζεται σε σχέση με το μάρτυρα. Ελέγχει τρεις από τους τέσσερις βιταμίνο-K εξαρτώμενους παράγοντες της πήξης (II, VII, X), δηλαδή δεν ελέγχει τον παράγοντα IX. Ελέγχει τους παράγοντες της κοινής οδού (V, X, προθρομβίνη και ινωδογόνο). Λόγω της μη υψηλής καθαρότητας της θρομβοπλαστικής, ο PT ελέγχει, αλλά σε μικρότερο βαθμό και τον παράγοντα VIII.

Ο PT εξαρτάται τα μέγιστα από την θρομβοπλαστική που θα χρησιμοποιηθεί. Κάθε θρομβοπλαστική πρέπει να χαρακτηρίζεται από το διεθνή δείκτη ευαισθησίας (ISI - international sensitivity index), ο οποίος εκφράζει την ευαισθησία της σε σχέση με την πρότυπη θρομβοπλαστική αναφοράς

του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (WHO - world health organization) που εξ ορισμού έχει δείκτη ISI 1.0. Τα αποτελέσματα του PT εκφράζονται με το διεθνή δείκτη ομαλοποίησης (INR - international normalized ratio) που αντικατοπτρίζει τη σχέση χρόνου προθρομβίνης που υπολογίζεται με τέτοιο τρόπο σαν να είχε χρησιμοποιηθεί η πρότυπη θρομβοπλαστίνη αναφοράς του WHO. Ο δείκτης INR βρίσκεται με τη χρήση ειδικών πινάκων, με βάση τον τύπο:

$$\text{INR} = (\text{PT ασθενούς} / \text{PT φυσιολ. μάρτυρα})^{\text{ISI}}$$

Τα κυριότερα αίτια παράτασης του PT είναι:

- χορήγηση κουμαρινικών αντιπηκτικών (ανταγωνιστές της βιταμίνης K)
- ανεπάρκεια βιταμίνης K
- ηπατικά νοσήματα
- διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη
- ανεπάρκεια των παραγόντων της πήξης VII, V, X (σπάνια)

### Χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης (partial thromboplastin time-PTT)

Μετρά το χρόνο πήξης πλάσματος μετά από ενεργοποίηση της ενδογενούς οδού με την προσθήκη ειδικά επεξεργασμένης θρομβοπλαστίνης, η οποία συνήθως είναι κεφαλίνη (γι' αυτό ο PTT καλείται και χρόνος κεφαλίνης) και έτσι μετράται η επάρκεια της ενδογενούς οδού, αλλά και του συστήματος επαφής. Η δοκιμασία μετρά και την κοινή οδό, δηλαδή την επάρκεια των παραγόντων V, X, προθρομβίνη και ινωδογόνου. Η δοκιμασία είναι επίσης ευαίσθητη στην παρουσία κυκλοφορούντων αντιπηκτικών (αντιπηκτικό λύκου, αναστολείς παραγόντων) και ηπαρίνης.

Η χρησιμοποιούμενη θρομβοπλαστίνη κατά την εκτέλεση του χρόνου PT, αποτελεί υδατικό διάλυμα ιστικής θρομβοπλαστίνης και θεωρείται ότι καλύπτει την εξωγενή οδό και τον παράγοντα VIII της ενδογενούς οδού, γι' αυτό θεωρείται ως "πλήρης θρομβοπλαστίνη. Το διάλυμα ιστικής θρομβοπλαστίνης ληφθέν με ειδική επεξεργασία (αιθέρα ή χλωροφόρμιο) παρουσιάζει ειδικότητα στην ενδογενή οδό και ιδιαίτερα στον παράγοντα VIII, καλείται ατελής ή μερική θρομβοπλαστίνη, η

οποία είναι η κεφαλίνη. Ο PTT ελέγχει τον χρόνο πήξης του πλάσματος εμπλουτισμένου με ασβέστιο παρουσία κεφαλίνης (μερικής θρομβοπλαστίνης). Η κλασική ηπαρίνη αναστέλλει έντονα τη θρομβίνη και ως εκ τούτου παρατείνει τη δοκιμασία.

Ο ενεργοποιημένος χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης (activated partial thromboplastin time - APTT), αποτελεί τροποποίηση του χρόνου κεφαλίνης με προσθήκη καολίνης, η οποία ενεργοποιεί με σταθερό τρόπο την αντίδραση και γι' αυτό καλείται και χρόνος ενεργοποιημένης κεφαλίνης (θρομβοπλαστίνης) ή και χρόνος κεφαλίνης - καολίνης. Ο PTT με προσθήκη καολίνης (APTT) καλύπτει τη μελέτη τόσο της ενδογενούς οδού (και της κοινής), όσο και του συστήματος επαφής (HMVK, KK, παράγοντες XI και XII). Όταν λαμβάνονται κουμαρινικά ή σε ανεπάρκεια της βιταμίνης K, εκτός από την παράταση του PT, συχνά είναι μέτρια επιμηκυσμένοι και ο APTT. Αυτό συμβαίνει διότι στην ενδογενή οδό συμμετέχει ο βιταμινο-K εξαρτώμενος παράγοντας IX. Επιμήκυνση του APTT δεν διαπιστώνεται σε κάθε περίπτωση ελάττωσης παράγοντα, αλλά συνήθως όταν τα δραστικά επίπεδα του παράγοντα είναι <40%. Γι' αυτό το λόγο, στις περιπτώσεις που υπάρχει σοβαρή υποψία ήπιας αιμορροφιλίας, ακόμη και όταν ο APTT είναι φυσιολογικός, απαιτείται μέτρηση των επιπέδων των παραγόντων. Μεμονωμένη παράταση του APTT συχνά υποκρύπτει ανεπάρκεια του παράγοντα XII χωρίς να υπάρχει αιμορραγική διάθεση του ασθενούς.

Τα κυριότερα αίτια παράτασης του APTT είναι:

- χορήγηση ηπαρίνης
- διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη
- ηπατικά νοσήματα
- μαζική μετάγγιση συντηρημένου αίματος
- ύπαρξη αντιπηκτικού λύκου ή άλλου αντιφωσfolιπιδικού αντισώματος
- ύπαρξη αναστολέα παράγοντα της πήξης
- ανεπάρκεια οποιουδήποτε παράγοντα της πήξης, εκτός από τον VII (εκφράζει την εξωγενή οδό)

### Αιμοπετάλια

Τα αποδεκτά φυσιολογικά όρια των αιμοπεταλίων



κυμαίνονται ευρέως από 150.000/μl έως 400.000/μl, αν και αριθμός πολύ μικρότερος είναι επαρκής για μία ικανοποιητική αιμόσταση.

Η μέτρηση των αιμοπεταλίων επιτυγχάνεται είτε με τους αυτόματους αιματολογικούς αναλυτές, είτε εναλλακτικά με τη βοήθεια μικροσκοπίου (οπτική μέθοδος). Ιδιαίτερη προσοχή επιβάλλεται σε περιπτώσεις ψευδοθρομβοπενίας, όπως συμβαίνει σε ασθενείς με ψυχροσυγκολλητίνες, με υψηλά επίπεδα ανοσοσφαιρινών. Στις περιπτώσεις αυτές επιβάλλεται η μελέτη επιχρίσματος περιφερικού αίματος, στο οποίο και διαπιστώνεται συσσώρευση αιμοπεταλίων. Μεγάλα αιμοπε-

τάλια που συνοδεύουν ορισμένα νοσήματα μπορούν να οδηγήσουν στην εσφαλμένη εντύπωση θρομβοπενίας, δεδομένου ότι ο αναλυτής τα εκλαμβάνει σαν λευκοκύτταρα και σπανιότερα σαν ερυθροκύτταρα.

Σε περιπτώσεις θρομβοπενίας με ιδιαίτερα χαμηλό αριθμό αιμοπεταλίων και δεδομένου ότι αριθμός αιμοπεταλίων 10.000/μl έως 20.000/μl χρησιμοποιείται στις περισσότερες περιπτώσεις ως κατώτερο όριο για την μετάγγιση αιμοπεταλίων, θεωρείται εξαιρετικά σημαντική η ακριβής γνώση του αριθμού τους με την οπτική μέθοδο.

**ABSTRACT**  
**Coagulation I**  
**Nikolaos Tsotsolis**

Bleeding is a common problem in critically ill patients. A rational approach to diagnosis and treatment of bleeding requires an understanding of the major elements of the hemostatic system, currently available laboratory tests of hemostatic function, and specific disorders of hemostasis.

Vascular endothelium, clotting proteins and platelets comprise the key components of the hemostatic mechanism. A complex interaction of vascular endothelium, platelets, red blood cells, coagulation factors, natural anticoagulants and fibrinolytic enzymes results in formation of blood clot at the site of vascular injury. Vascular injury results in platelet activation, adhesion and aggregation, activation of coagulation factors resulting in cleavage of fibrinogen to fibrin, and formation of a stable blood clot. Simultaneously, naturally occurring anticoagulants and fibrinolytic enzymes are activated, a process that limits the amount of clot formed and degrades clot once the vessel is repaired. Recently, our understanding of the coagulation system changed from the classical "cascade" model to a cell-based model of hemostasis, where tissue factor, complexed with factor VIIa on membrane surfaces, is now known to be the major initiator of in vivo coagulation, followed by massive amplification of thrombin generation, an events that takes place on activated platelet membranes. The process of initiating and amplifying coagulation is tightly regulated by the anticoagulant system.

Currently available screening laboratory tests detect clinically quantitative and qualitative defects of most important elements of hemostasis. The history and the clinical status of the patients should dictate the choice of tests to determine the adequacy of hemostatic function. A highly suggestive history for a bleeding disorders calls for sophisticated laboratory testing, whereas abnormal test results may not be predictive of future risk of bleeding.

**Key Words:** coagulation, hemostasis

**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

1. Amaral A, Opal SM, Vincent JL Coagulation in sepsis. *Intensive Care Med* 2004, 30: 1032-40
2. Γεωργούλης Ι.Ε. Αιμόσταση, διαγνωστικές και θεραπευτικές προσεγγίσεις. Θεσσαλονίκη, 2004
3. Opal SM Phylogenetic and functional relationship between coagulation and the innate immune response. *Crit Care Med* 2000 28: S77-S80
4. Coluci M, Paramo GA, Collen D Generation in plasma of a fast-acting inhibitor of plasminogen activator. In response to endotoxin stimulation. *J Clin Invest* 1985 75: 818-24
5. Mavrommatis AC, Theodoridis T, Economou M, Kotanidou A, El Ali M, Christopoulou-Kokkinou B, Zakyntinos SG. Activation of the

- fibrinolytic system and utilization of the coagulation inhibitors in sepsis: comparison with severe sepsis and septic shock. *Intensive Care Med* 2001 27: 1853-59
6. Lorente JA, Garcia-Frade LJ, Landin L, De Pablo R, Torrado C, Renes E, Garcia-Avello A, Time course of hemostatic abnormalities in sepsis and its relation to outcome. *Chest* 1993, 103: 1536-42
7. Watanabe R, Wada H, Watanabe Y, Sakakura M, Nakasaki T, Mori Y. Activity and antigen levels of thrombin activatable fibrinolysis inhibitor in plasma of patients with disseminated intravascular coagulation *Thromb Res* 2001 104: 1-6