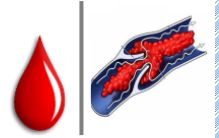




ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ  
ΑΘΗΝΩΝ  
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ



Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών  
**ΘΡΟΜΒΩΣΗ – ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΑ – ΙΑΤΡΙΚΗ ΤΩΝ ΜΕΤΑΓΓΙΣΕΩΝ**

## *Διπλωματική Εργασία*

«Διαταραχές της ινωδόλυσης σε ασθενείς που πάσχουν από  
μη αλκοολική λιπώδη νόσο του ήπατος»

ΟΝΟΜΑ: Σπανουδάκη Αναστασία

Αριθμός Μητρώου: 20161293

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: Ντοϊτς Μαρία-Μέλανη

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

**ΕΙΣΑΓΩΓΗ:** Η μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος (ΜΑΛΝΗ) αποτελεί τη συχνότερη αιτία χρόνιας ηπατικής νόσου στον ανεπτυγμένο κόσμο. Ο επιπολασμός της νόσου φτάνει στο 25% του ενήλικου πληθυσμού παγκοσμίως. Οι πάσχοντες από ΜΑΛΝΗ παρουσιάζουν αυξημένα ποσοστά θνητότητας, η οποία συνδέεται κυρίως με καρδιαγγειακά αίτια. Ο αυξημένος καρδιαγγειακός κίνδυνος έχει συσχετιστεί, σε ένα βαθμό τουλάχιστον, με την παρουσία ενός προθρομβωτικού φαινοτύπου, παρ' ότι τα αποτελέσματα της ανάλυσης της αιμόστασης σε ασθενείς με ΜΑΛΝΗ είναι αντικρουόμενα. Με τα παρόντα δεδομένα δεν μπορούν να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα για τη συμβολή της υπερπηκτικότητας στον αυξημένο θρομβωτικό κίνδυνο των ασθενών που πάσχουν από ΜΑΛΝΗ.

**ΣΚΟΠΟΣ:** Σκοπός της μελέτης ήταν η διερεύνηση των διαταραχών της ινωδόλυσης σε ασθενείς με μη-κίρρωτική ΜΑΛΝΗ.

**ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ:** Συμπεριλήφθηκαν 50 ασθενείς με υπερηχογραφικά διαπιστωμένη ΜΑΛΝΗ (άρρηνες:48%, μέση ηλικία:56+/-12,2 έτη, μέσο BMI:28.2+/-3.9, FIB4: 70%<1.45, 30% 1.45-3.25). Εξαιρέθηκαν ασθενείς με κίρρωση, ιογενή/άλλη δευτεροπαθή ηπατίτιδα, ιστορικό κατάχρησης οινόπνευματος, ιστορικό συγγενούς ή επίκτητης θρομβοφιλίας, ενεργό λοίμωξη, νεοπλασματική νόσο καθώς και νοσηλεύομενοι ασθενείς και έγκυες γυναίκες. Καταγράφηκαν τα επιδημιολογικά και βιομετρικά στοιχεία των ασθενών, δεδομένα σχετικά με την παρουσία παραγόντων μεταβολικού κινδύνου από το ατομικό και οικογενειακό ιστορικό, εργαστηριακές εξετάσεις (ηπατική βιοχημεία, τιμές αιμοπεταλίων) και έγινε υπολογισμός του σκορ Fibrosis-4 (FIB-4). Μετρήθηκαν κλασσικές παράμετροι της αιμόστασης (PT, APTT, INR, ινωδογόνο) και παράγοντες ινωδόλυσης (fXIII, D-dimers, PAI-1) καθώς και η φερριτίνη ορού.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ: Όλοι οι ασθενείς είχαν φυσιολογικές τιμές fXIII. Δεν παρατηρήθηκαν αυξημένες τιμές PAI-1. 11/50 ασθενείς παρουσίαζαν παθολογικές τιμές D-dimers. Διαπιστώθηκε συσχέτιση του δείκτη μάζας σώματος, των αιμοπεταλίων και του καπνίσματος με τα δ-διμερή σε στατιστικά σημαντικό βαθμό ( $p < 0.05$ ). Με χρήση πολυπαραγοντικής γραμμικής παλινδρόμησης καταγράφηκε η επίδραση του εκάστοτε παράγοντα κινδύνου (ή/και συνδυασμού αυτών) στην τιμή των δ-διμερών, χωρίς να είναι δυνατή η ανάδειξη στατιστικά σημαντικών αποτελεσμάτων.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ: Στους ασθενείς με ΜΑΛΝΗ έχει περιγραφεί μια διαταραχή ισορροπίας ανάμεσα σε προπηκτικούς και αντιπηκτικούς παράγοντες που μπορεί να οδηγήσει σε υπερπηκτικό φαινότυπο. Τα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι σε ασθενείς με ΜΑΛΝΗ και περιορισμένη ίνωση, το ινωδολυτικό σύστημα δεν φαίνεται να επηρεάζεται σημαντικά και συμβάλλει, αλλά σε μικρότερο βαθμό, στην εκδήλωση αυτού του φαινοτύπου.

## ABSTRACT

INTRODUCTION: The prevalence of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) has risen and it is now the most common cause of liver disease in the developed world, reaching 25% of the global adult population. NAFLD patients exhibit high mortality rates, mainly due to cardiovascular causes. NAFLD is strongly associated with a prothrombotic tendency, which may, at least in part, contribute to the increased cardiovascular risk observed in these patients. Studies of the hemostatic profile of patients suffering from NAFLD have shown conflicting results. Taking current contemporary data into consideration, it remains unclear if hypercoagulability contributes to an increased thrombotic risk in patients suffering from NAFLD.

**AIM:** The aim of the study was to investigate fibrinolysis disorders in patients suffering from non-cirrhotic NAFLD.

**MATERIALS AND METHODS:** 50 patients suffering from ultrasound-diagnosed NAFLD were included in the study (male:48%, mean age:56+/-12,2 years, mean BMI:28.2+/-3.9, FIB4: 70%<1.45, 30% 1.45-3.25). Patients suffering from cirrhosis, viral/other secondary hepatitis, alcohol abuse history, history of familial/acquired thrombophilia, active infection or neoplasm, hospitalised patients and pregnant women, were excluded. Patients' characteristics, including epidemiological and biometric data, the presence of metabolic syndrome risk factors and laboratory results (liver function tests, platelet values) were recorded. The Fibrosis-4 index (FIB-4) was calculated for all patients. Blood samples were drawn for laboratory testing, using conventional hemostasis assays (PT, APTT, INR, fibrinogen), fibrinolytic assays (fXIII, D-dimers, PAI-1) and ferritin measurement.

**RESULTS:** Factor XIII levels were within reference range for all patients. No patient demonstrated high PAI-1 levels. D-dimers values were beyond normal values for 11/50 patients. A correlation between high D-dimers values, body mass index, platelet values and smoking was found to be statistically important ( $p<0.05$ ). Using multivariate linear regression models, the effect of each risk factor (or combination of them) on the observed D-dimers value, was studied. Statistically important correlations were not observed.

**CONCLUSIONS:** NAFLD patients suffer from a hemostatic imbalance between procoagulant and anticoagulant factors, which may be expressed as a prothrombotic phenotype. The results of the present study show that the fibrinolytic system of NAFLD patients without advanced fibrosis, does not seem to be seriously affected by the disease. In this patient category, fibrinolysis contributes in a limited way in the manifestation of the procoagulant phenotype.

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Για την ολοκλήρωση της παρούσας διπλωματικής εργασίας, συνέβαλαν πολλοί άνθρωποι, τους οποίους θα ήθελα να ευχαριστήσω.

Πρώτα από όλα τους ασθενείς που δέχτηκαν να συμμετάσχουν ανιδιοτελώς στη μελέτη.

Τα μέλη της τριμελούς επιτροπής μου:

Την καθηγήτρια Μέλανι Ντόιτς, επιβλέπουσα της διπλωματικής μου εργασίας. Αποτέλεσε την αιτία να αποκτήσω ιδιαίτερο ενδιαφέρον στον τομέα της ηπατολογίας και της σύνδεσής της με τις διαταραχές της αιμόστασης, τομέα που εφόσον μου δοθεί η δυνατότητα θα ήθελα να εξειδικευτώ στο άμεσο μέλλον. Την ευχαριστώ για την καθοδήγηση, τη συμπαράσταση, και την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, καθ' όλη τη διάρκεια της συνεργασίας μας. Την έμπρακτη απόδειξη πως υπάρχουν ακόμα και σήμερα Ιατροί-Δάσκαλοι, που μπορούν με τις γνώσεις, το χαρακτήρα και το ήθος τους να μας μεταδώσουν την αγάπη τους για την επιστήμη και τον άνθρωπο και να μας εμπνεύσουν ώστε να γίνουμε καλύτεροι επιστήμονες, καλύτεροι γιατροί και καλύτεροι άνθρωποι.

Την καθηγήτρια Μαριάννα Πολίτου, χωρίς τη συνεισφορά της οποίας δεν θα ήταν δυνατή η εκπόνηση της παρούσας εργασίας. Με την καθοδήγησή της σχεδιάστηκε το πλάνο της μελέτης και έδωσε τη δυνατότητα για την πλήρη και εξειδικευμένη εργαστηριακή διερεύνηση των ασθενών που συμμετείχαν σε αυτή.

Την ομότιμη καθηγήτρια Τραυλού Ωραιάνθη, μέλος της τριμελούς μου επιτροπής, που αποτέλεσε την ψυχή του μεταπτυχιακού προγράμματος και πηγή έμπνευσης για τους νέους ιατρούς και ερευνητές.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τον καθηγητή Σπήλιο Μανωλακόπουλο, που μου έδωσε τη δυνατότητα να παρακολουθήσω τα εξωτερικά ιατρεία της ιατρικής του ομάδας. Εκτός από την στρατολόγηση ασθενών για τη μελέτη, μου έδωσε την ευκαιρία να αντλήσω γνώσεις σχετικά με την παρακολούθηση ασθενών με ηπατολογικά προβλήματα.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κο Δημήτρη Κορακάκη και την κα Θεοδώρα Κάσση, από το εργαστήριο Αιμοδοσίας του Γ.Ν.Αρεταίειου για την εξαιρετική συνεργασία και την ουσιαστική συμβολή τους στη διαχείριση των εργαστηριακών δειγμάτων των ασθενών της μελέτης. Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τον παθολόγο-ηπατολόγο Δρ. Νικόλαο Παπαδόπουλο για το ενδιαφέρον του για τη στρατολόγηση ασθενών, την καθοδήγηση για το πρωτόκολλο της μελέτης και την έμπρακτη βοήθειά του για την ολοκλήρωση αυτής της προσπάθειας. Επίσης ευχαριστώ την ειδικευόμενη παθολόγο Σοφία Βασιλειάδη για την πολύτιμη βοήθεια της και την εξαιρετική συνεργασία που αναπτύξαμε και την φίλη και συνοδοιπόρο μαθηματικό, Αγγελική Παπαδεράκη για την καθοριστική συμβολή της στη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων της μελέτης και την προτροπή της να κοιτάξω την έρευνα με «άλλη» ματιά.

Τέλος νιώθω την ανάγκη να ευχαριστήσω την επαγγελματική μου «οικογένεια», τους συναδέλφους μου στην Α' Παθολογική κλινική του Νοσοκομείου Ερυθρός Σταυρός. Τη διευθύντριά μου Δρ Βάνα Τζαβάρα, την παθολόγο κα Μαρία Δαφνή και τις συνειδικευόμενές μου ιατρούς, την Άσπα, τη Βάγια, τη Βικτώρια, τη Δέσποινα, τη Δήμητρα και τη Σοφία. Που σε αυτή την πρωτόγνωρη περίοδο, με όλες τις δυσκολίες της καθημερινής μάχης με την πανδημία, ήταν δίπλα μου στην προσπάθεια να ολοκληρώσω τη συγγραφή της διπλωματικής μου εργασίας «εν καιρώ πολέμου». Τις ευχαριστώ για την υπομονή τους, την υποστήριξη και το ενδιαφέρον τους.

# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

## I. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

<b>A ΧΡΟΝΙΑ ΗΠΑΤΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ.....</b>	<b>12</b>
<b>A1 ΟΡΙΣΜΟΣ.....</b>	<b>12</b>
<b>A2 ΣΥΝΗΘΗ ΑΙΤΙΑ ΧΡΟΝΙΑΣ ΗΠΑΤΟΠΑΘΕΙΑΣ.....</b>	<b>13</b>
A 2.1 Αλκοολική νόσος του ήπατος.....	13
A 2.2 Μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος-ΜΑΛΝΗ.....	14
A 2.3 Χρόνια ιογενής ηπατίτιδα.....	14
A 2.3.1 Χρόνια ηπατίτιδα Β.....	14
A 2.3.2 Χρόνια ηπατίτιδα C.....	17
A 2.3.3 Χρόνια ηπατίτιδα D.....	19
A 2.4 Γενετικά νοσήματα.....	20
A 2.4.1 Ανεπάρκεια της A-1-αντιθρυψίνης.....	20
A 2.4.2 Κληρονομική αιμοχρωμάτωση.....	21
A 2.4.3 Νόσος Wilson.....	21
A 2.5 Αυτοάνοσα νοσήματα.....	23
A 2.5.1 Πρωτοπαθής χολική χολαγγειίτιδα.....	23
A 2.5.2 Πρωτοπαθής σκληρυντική χολαγγειίτιδα.....	24
A 2.5.3 Αυτοάνοση ηπατίτιδα.....	25
A 2.6 Άλλα αίτια χρόνιας ηπατοπάθειας.....	28
<b>A3 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ.....</b>	<b>28</b>
<b>A4 ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ.....</b>	<b>29</b>
<b>A5 ΙΣΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΑ.....</b>	<b>32</b>
<b>A6 ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ.....</b>	<b>35</b>
A 6.1 Πυλαία Υπέρταση.....	35
A 6.2 Ηπατική εγκεφαλοπάθεια.....	38
A 6.3 Ίκτερος.....	42
A 6.4 Αυτόματη βακτηριακή περιτονίτιδα.....	42
A 6.5 Υπεροιστρογοναιμία.....	42
A 6.6 Ηπατονεφρικό σύνδρομο.....	43
A 6.7 Διαταραχές της αιμόστασης.....	44
<b>A7 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ.....</b>	<b>47</b>

<b>A8</b>	<b>ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ.....</b>	<b>49</b>
<b>A9</b>	<b>ΠΡΟΓΝΩΣΗ.....</b>	<b>53</b>
<b>B.</b>	<b>Η ΜΗ ΑΛΚΟΟΛΙΚΗ ΛΙΠΩΔΗΣ ΝΟΣΟΣ ΤΟΥ ΗΠΑΤΟΣ...55</b>	
<b>B1</b>	<b>ΟΡΙΣΜΟΣ.....</b>	<b>55</b>
<b>B2</b>	<b>ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΜΑΛΝΗ.....</b>	<b>56</b>
<b>B3</b>	<b>ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ ΤΗΣ ΜΑΛΝΗ.....</b>	<b>57</b>
	<b>B 3.1</b> Απλή στεάτωση.....	<b>59</b>
	<b>B 3.2</b> Μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα.....	<b>61</b>
	<b>B 3.3</b> Ίνωση.....	<b>62</b>
<b>B4</b>	<b>ΘΕΡΑΠΕΙΑ.....</b>	<b>68</b>
<b>Γ.</b>	<b>ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ.....</b>	<b>71</b>
<b>Γ1</b>	<b>ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....</b>	<b>71</b>
<b>Γ2</b>	<b>ΠΡΩΤΟΓΕΝΗΣ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ.....</b>	<b>72</b>
	<b>Γ 2.1</b> Το ενδοθήλιο.....	<b>72</b>
	<b>Γ 2.2</b> Τα αιμοπετάλια.....	<b>74</b>
<b>Γ3</b>	<b>ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΗΣ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ.....</b>	<b>78</b>
	<b>Γ 3.1</b> Η ενδογενής οδός.....	<b>79</b>
	<b>Γ 3.2</b> Η εξωγενής οδός.....	<b>80</b>
	<b>Γ 3.3</b> Η κοινή οδός.....	<b>80</b>
<b>Γ4</b>	<b>ΤΟ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ ΤΗΣ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗΣ.....</b>	<b>81</b>
	<b>Γ 4.1</b> Φάση έναρξης (Initiation phase).....	<b>82</b>
	<b>Γ 4.2</b> Φάση ενίσχυσης (Amplification phase).....	<b>83</b>
	<b>Γ 4.3</b> Φάση εξάπλωσης (Propagation phase).....	<b>83</b>
<b>Γ5</b>	<b>ΑΝΑΣΤΑΛΤΕΣ ΤΟΥ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥ ΠΗΞΗΣ.....</b>	<b>84</b>
<b>Γ6</b>	<b>ΙΝΩΔΟΛΥΣΗ.....</b>	<b>85</b>
	<b>Γ 6.1</b> Ανασταλτές του ινωδολυτικού μηχανισμού.....	<b>86</b>
<b>Γ7</b>	<b>Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΗΠΑΤΟΣ ΣΤΗΝ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ.....</b>	<b>88</b>



<b>Γ8 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗΣ.....</b>	<b>89</b>
<b>Γ 8.1 Συμβατικές/Κλασσικές εξετάσεις.....</b>	<b>89</b>
Γ 8.1.1 Χρόνος προθρομβίνης (PT/INR).....	90
Γ 8.1.2 Χρόνος ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστικής (APTT).....	90
Γ 8.1.3 Χρόνος θρομβίνης (TT).....	92
Γ 8.1.4 Ινωδογόνο.....	92
Γ 8.1.5 D-διμερή.....	92
<b>Γ 8.2 Λειτουργικός έλεγχος και ποσοτικός προσδιορισμός παραγόντων πήξης και αναστολέων.....</b>	<b>94</b>
<b>Γ 8.3 Έλεγχος αιμοπεταλίων.....</b>	<b>97</b>
Γ 8.3.1 Ποσοτικός έλεγχος.....	97
Γ 8.3.2 Ποιοτικός έλεγχος.....	97
Γ 8.3.3 Χρόνος ροής (Μέθοδος του Ivy).....	98
Γ 8.3.4 PFA 100 (Platelet Function Analyzer).....	98
Γ 8.3.5 Συσσώρευση αιμοπεταλίων in vitro με χρήση αγωνιστών.....	99
Γ 8.3.5.1 Αγκρεγομετρία μετάδοσης φωτός (Light Transmission Aggregometry-LTA).....	99
Γ 8.3.5.2 Multiplate analyzer.....	100
Γ 8.3.6 Άλλες μέθοδοι εκτίμησης της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων.....	100
<b>Γ 8.4 Έλεγχος ινωδόλυσης.....</b>	<b>101</b>
Γ 8.4.1 D-διμερή.....	101
Γ 8.4.2 Χρόνος λύσης θρόμβου ευσφαιρινών πλάσματος.....	101
Γ 8.4.3 α-2 αντιπλασμίνη (α <sub>2</sub> -AP).....	101
Γ 8.4.4 Πλασμινογόνο.....	102
Γ 8.4.5 Ανασταλέας-1 του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου(PAI-1).....	102
Γ 8.4.6 Ιστικός ενεργοποιητής του πλασμινογόνου (tPA).....	103
Γ 8.4.7 Αναστολέας της ινωδόλυσης που ενεργοποιείται από τη θρομβίνη (TAFI).....	104
Γ 8.4.8 Ενεργοποιητής τύπου ουροκινάσης (uPA).....	105
Γ 8.4.9 Δοκιμασία φλεβικής συμπίεσης.....	106
Γ 8.4.10 Δοκιμασία ελέγχου ολικής ινωδολυτικής ικανότητας.....	106
<b>Γ 8.5 Μοριακός έλεγχος γονιδίων που σχετίζονται με διαταραχές της αιμόστασης.....</b>	<b>107</b>

Γ 8.6 Σφαιρικές δοκιμασίες της αιμόστασης.....	107
<b>Δ. ΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗΣ ΣΤΟ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΚΑΙ ΣΤΗ ΜΑΛΝΗ.....</b>	<b>115</b>
Δ1 ΠΡΟΦΛΕΓΜΟΝΩΔΕΣ/ ΠΡΟΘΡΟΜΒΩΤΙΚΟ ΣΤΑΔΙΟ ΣΤΟ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ.....	115
Δ2 ΠΡΟΦΛΕΓΜΟΝΩΔΕΣ/ ΠΡΟΘΡΟΜΒΩΤΙΚΟ ΣΤΑΔΙΟ ΣΤΗ ΜΑΛΝΗ/ΜΑΣΗ.....	116
<b>Π. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....</b>	<b>122</b>
<b>Α. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....</b>	<b>122</b>
<b>Β. ΑΣΘΕΝΕΙΣ-ΜΕΘΟΔΟΙ.....</b>	<b>122</b>
<b>Γ. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ.....</b>	<b>125</b>
<b>Δ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....</b>	<b>126</b>
Δ1 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΣΘΕΝΩΝ.....	126
Δ2 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ.....	129
Δ 2.1 Φερριτίνη ορού.....	129
Δ 2.2 Κλασσικοί παράμετροι της πήξης.....	129
Δ 2.3 Παράγοντες ινωδόλυσης.....	130
Δ3 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ.....	130
Δ 3.1 Μελέτη του συνολικού πληθυσμού.....	130
Δ 3.2 Μελέτη υποπληθυσμού με παθολογικά δ-διμερή.....	133
<b>Ε. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....</b>	<b>142</b>
<b>ΣΤ. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ.....</b>	<b>151</b>
<b>Ζ. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....</b>	<b>154</b>

**III. ΓΛΩΣΣΑΡΙ.....156**

**IV. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....161**

# I. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

## A. ΧΡΟΝΙΑ ΗΠΑΤΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

### A1 ΟΡΙΣΜΟΣ

Τα χρόνια ηπατικά νοσήματα χαρακτηρίζονται από φλεγμονώδη αντίδραση και ηπατοκυτταρική νέκρωση, που συνεχίζεται χωρίς βελτίωση, πέραν των έξι μηνών και οδηγεί σε προοδευτική καταστροφή και αναγέννηση του ηπατικού παρεγχύματος, με αποτέλεσμα στις περισσότερες περιπτώσεις την ίνωση και την κίρρωση.(1) Η κίρρωση χαρακτηρίζεται από καταστροφή της αρχιτεκτονικής του ήπατος με διάχυτη ίνωση, με σχηματισμό όζων, αναδιοργάνωση της αγγείωσης, νέο-αγγειογένεση και εναπόθεση εξωκυττάριας ουσίας. Ο υποκείμενος μηχανισμός σε κυτταρικό επίπεδο, αφορά στην κινητοποίηση των αστεροειδών κυττάρων και των ινοβλαστών που οδηγεί σε ίνωση και στην αναγεννητική ικανότητα των ηπατοκυττάρων στο ηπατικό παρέγχυμα.(2)

Ο όρος χρόνια ηπατοπάθεια περιλαμβάνει ένα φάσμα διαταραχών με διαφορετική αιτιολογία, παθογένεια, ιστοπαθολογία και κλινική εικόνα. Υπολογίζεται ότι παγκοσμίως, 2 εκατομμύρια άνθρωποι πεθαίνουν κάθε χρόνο από ηπατικά νοσήματα, 1 εκατομμύριο λόγω επιπλοκών της κίρρωσης και 1 εκατομμύριο λόγω ιογενούς ηπατίτιδας και ηπατοκυτταρικού καρκινώματος. Η κίρρωση αποτελεί πλέον την 11<sup>η</sup> συχνότερη αιτία θανάτου και ο καρκίνος του ήπατος την 16<sup>η</sup>. Μαζί ευθύνονται για το 3.5% των συνολικών θανάτων παγκοσμίως (Πίνακας 1).(3)

	Χρόνια ηπατοπάθεια/ Κίρρωση			ΗΚΚ	
	Θέση	Θάνατοι (.000)	% επί συνόλου θανάτων	Αριθμός θανάτων/ 100,000 πληθυσμού	Θάνατ οι (.000)
Παγκοσμίως	11	1.162	2.1	15.8	788
Ανατολική Ασία&Ειρηνικός	13	328	2.0	14.4	547
Ευρώπη&Κεντρική Ασία	17	115	1.2	12.7	78
Λατινική Αμερική&Καραϊβική	9	98	2.7	15.6	33
Μέση Ανατολή&Βόρεια Αφρική	8	77	3.5	18.2	24
Βόρεια Αμερική	12	50	1.7	14.0	27
Νότια Ασία	10	314	2.5	18.0	38
Υποσαχάριος Αφρική	16	179	1.9	17.9	42

**Πίνακας 1: Θνησιμότητα σχετιζόμενη με χρόνια ηπατική νόσο και ηπατική κίρρωση σε παγκόσμια κλίμακα, 2015.** Δεδομένα από: Global Health Estimates 2015: Deaths by Cause, Age, Sex, by Country and by Region, 2000–2015. Geneva, World Health Organization; 2016. (τροπ. από Sumeet KA et al, J Hepatol 2019; 70: 151-71). (3) ΗΚΚ: ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα.

## **Α2 ΣΥΝΗΘΗ ΑΙΤΙΑ ΧΡΟΝΙΑΣ ΗΠΑΤΟΠΑΘΕΙΑΣ**

### **A 2.1 Αλκοολική νόσος του ήπατος**

Η αλκοολική νόσος του ήπατος, αποτελεί ένα φάσμα ηπατοπαθειών που περιλαμβάνει την αλκοολική λιπώδη νόσο του ήπατος (με ή χωρίς ηπατίτιδα), την αλκοολική ηπατίτιδα (αναστρέψιμη, σε έδαφος οξείας κατανάλωσης αιθυλικής αλκοόλης και την κίρρωση (μη-αναστρέψιμη). Παγκοσμίως, περίπου 2 δισεκατομμύρια άνθρωποι καταναλώνουν αλκοόλ, ενώ 75 εκατομμύρια διαγιγνώσκονται με προβλήματα που σχετίζονται με την κατανάλωση οινοπνεύματος και κινδυνεύουν από ηπατοπάθειες σχετιζόμενες με το αλκοόλ.(3)

## **A 2.2 Μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος-ΜΑΛΝΗ**

Η μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος-ΜΑΛΝΗ (Non-alcoholic fatty liver disease-NAFLD) σχετίζεται με το μεταβολικό σύνδρομο (παχυσαρκία, υπερλιπιδαιμία και σακχαρώδης διαβήτης). Η νόσος μπορεί να εξελιχθεί σε μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα-ΜΑΣΗ (non-alcoholic steatohepatitis-NASH), και τελικά σε ίνωση και κίρρωση.(4)<sup>4</sup> Η πορεία της νόσου επιβαρύνεται από την παρουσία των παραγόντων του μεταβολικού συνδρόμου.(5) (Κεφ. Β)

## **A 2.3 Χρόνια ιογενής ηπατίτιδα**

Οι χρόνιες ιογενείς ηπατίτιδες Β, C και D, αποτελούν τις συχνότερες αιτίες χρόνιας ηπατοπάθειας στην ανατολική Ασία και την υποσαχάριο Αφρική. Στη χώρα μας, ο επιπολασμός για τη χρόνια ηπατίτιδα Β υπολογίζεται σε 2.5-3% του πληθυσμού και για την ηπατίτιδα C σε 1.5-2% του πληθυσμού, ενώ η επίπτωση των χρόνιων ιογενών ηπατιτίδων ποικίλλει ανά γεωγραφικό διαμέρισμα και πληθυσμό.(6)

### **A 2.3.1 Χρόνια ηπατίτιδα Β**

Η χρόνια ηπατίτιδα Β αποτελεί παγκόσμια απειλή για τη δημόσια υγεία, προκαλώντας σημαντική νοσηρότητα και θνησιμότητα (Κεφ. Α3). Ο ιός της ηπατίτιδας Β (HBV), είναι DNA ιός, που μεταδίδεται με τη σεξουαλική επαφή, παρεντερικά καθώς και από μητέρα με θετικό αντιγόνο επιφανείας (HbsAg) στο παιδί, κατά την κύηση ή τον τοκετό (κάθετη μετάδοση).(7)

Η χρόνια HBV λοίμωξη περιλαμβάνει 4 φάσεις, που διακρίνονται σε θετικές και αρνητικές για ανίχνευση του e αντιγόνου του HBV (HBeAg). Τα επίπεδα του ιϊκού DNA και της αλανινικής αμινοτρανσφαιράσης (ALT) αντικατοπτρίζουν την παρουσία ή όχι ιστολογικών βλαβών του ήπατος και τις χωρίζουν σε χρόνια ηπατίτιδα και χρόνια λοίμωξη αντίστοιχα. Πρόσφατα, έχει

προστεθεί και μια 5<sup>η</sup> φάση της χρόνιας HBV λοίμωξης, η «λανθάνουσα/κρυπτική HBV λοίμωξη», που χαρακτηρίζεται από αρνητικό HBsAg, αλλά παρουσία του ιού στα ηπατοκύτταρα (πίνακας 2).(8)

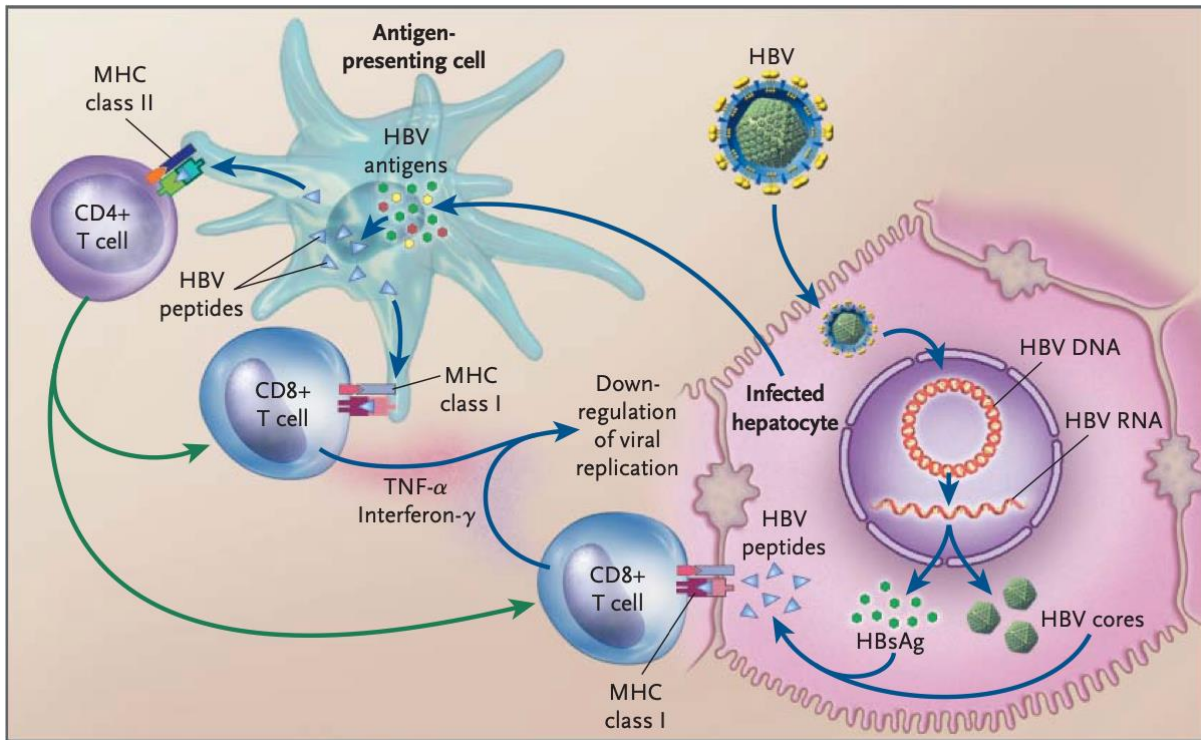
	HBeAg θετική		HBeAg αρνητική	
	Χρόνια λοίμωξη	Χρόνια ηπατίτιδα	Χρόνια λοίμωξη	Χρόνια ηπατίτιδα
<b>HBsAg</b>	Υψηλά	Υψηλά/Ενδιάμεσα	Χαμηλά	Ενδιάμεσα
<b>HBeAg</b>	+	+	-	-
<b>HBV DNA(IU/mL)</b>	>10 <sup>7</sup>	10 <sup>4</sup> -10 <sup>7</sup>	<2000*	>2000
<b>ALT</b>	Φυσιολογική	Αυξημένη	Φυσιολογική	Αυξημένη**
<b>Ιστολογικές βλάβες ήπατος</b>	Καμία/Ελάχιστες	Μέτριες/Σοβαρές	Καμία	Μέτριες/Σοβαρές
<b>Παλαιά ορολογία</b>	Φάση ανοσολογικής ανοχής	Φάση ανοσολογικής διέγερσης	Φάση χρόνιου ανενεργού φορέα	HBeAg αρνητική χρόνια ηπατίτιδα B

**Πίνακας 2: Φυσική ιστορία και αξιολόγηση ασθενών με χρόνια HBV λοίμωξη, βάσει ορολογικών δεικτών και δεικτών ηπατικής βλάβης.** (τροπ. από Lampertico P et al, J Hepatol 2017; 67: 370-398) (8) HbsAg: αντιγόνο επιφανείας του HBV; HBeAg: e αντιγόνο του HBV

\*τα επίπεδα του HBV DNA μπορεί να είναι μεταξύ 2,000 and 20,000 IU/ml σε κάποιους ασθενείς χωρίς σημεία χρόνιας ηπατίτιδας.

\*\*Σταθερά ή διαλειπόντως αυξημένη ALT.

Ο HBV εισέρχεται στα ηπατοκύτταρα, χωρίς να τα καταστρέφει, αφού δεν είναι απευθείας κυτταροπαθογόνος. Προκαλεί έμμεση ηπατική βλάβη, μέσω ενεργοποίησης του ανοσολογικού μηχανισμού του ξενιστή ενάντια στα μολυσμένα ηπατοκύτταρα (Εικόνα 1).(9)



**Εικόνα 1: Απόκριση της κυτταρικής ανοσίας στην είσοδο του HBV στα ηπατοκύτταρα.** Ο HBV αντιγράφεται εντός των ηπατοκυττάρων για να παράξει μόρια HBsAg και ιικά σωματίδια, τα οποία εντοπίζονται από τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα, που διασπών τις ικές πρωτεΐνες σε πεπτίδια. Τα πεπτίδια αυτά παρουσιάζονται στη συνέχεια στην κυτταρική μεμβράνη μέσω μορίων MHC, τάξης I ή II. (Τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα μπορούν να επεξεργαστούν και να παρουσιάσουν επίσης ιικά αντιγόνα που προέρχονται από τη φαγοκυττάρωση των προσβεβλημένων ηπατοκυττάρων που έχουν νεκρωθεί). Τα πεπτίδια-αντιγόνα αναγνωρίζονται από τα CD8+ και τα CD4+ T κύτταρα, τα οποία ευαισθητοποιούνται και ξεκινά η κλωνική επέκτασή τους. Ειδικά πλέον για τον ιό CD8+ κυτταροτοξικά T κύτταρα (με τη βοήθεια των CD4+ T κυττάρων, πράσινο βέλος) αναγνωρίζουν ιικά αντιγόνα που παρουσιάζονται σε μόρια MHC τάξης I ή σε προσβεβλημένα ηπατοκύτταρα. Η αναγνώριση των αντιγόνων οδηγεί είτε στην άμεση λύση του προσβεβλημένου ηπατοκυττάρου, ή στην απελευθέρωση ιντερφερόνης-γ και TNF-α, που αναστέλλουν τον ιικό πολλαπλασιασμό στα γειτονικά ηπατοκύτταρα, χωρίς άμεση καταστροφή των κυττάρων αυτών. (τροπ. από Ganem D et al, N Eng J Med 2004; 350: 1118-29)<sup>10</sup>(10) MHC class I/II: μείζον σύστημα ιστοσυμβατότητας τάξης I/II; Antigen-presenting cell: αντιγονοπαρουσιαστικό κύτταρο; HBV: ιός της ηπατίτιδας B; HBV antigens: αντιγόνα του HBV; HBV cores: πυρηνικές πρωτεΐνες του HBV; HBsAg: αντιγόνο επιφάνειας του HBV; HBV peptides: πεπτίδια του HBV; Infected hepatocyte: προσβεβλημένο ηπατοκύτταρο; Down-regulation of viral replication: καταστολή του ιικού πολλαπλασιασμού;



CD8+/CD4+T cell: CD8+/CD4+T κύτταρο; TNF-α: παράγοντας νέκρωσης όγκων α

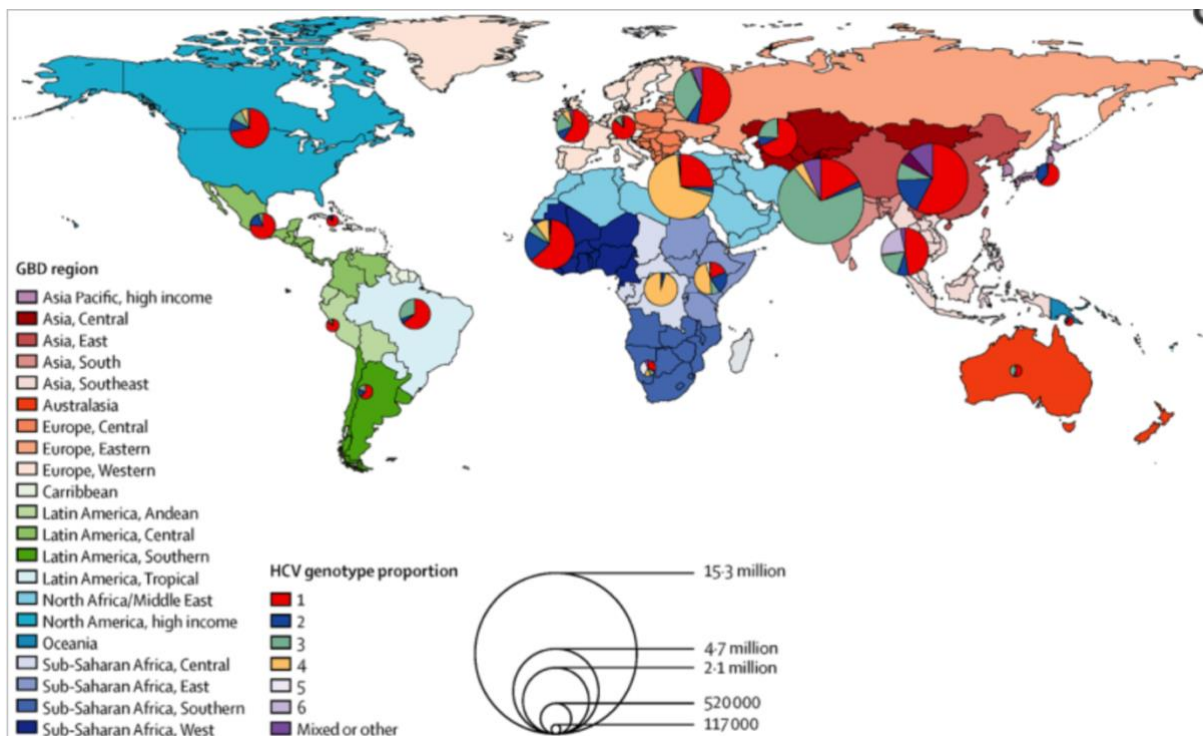
Σε ασθενείς με χρόνια HBV λοίμωξη, η αρχική εκτίμηση, βάσει της οποίας αποφασίζεται και η έναρξη ή μη αγωγής, περιλαμβάνει πλήρες εργαστηριακό έλεγχο (γενική αίματος, ηπατική βιοχημεία, χρόνο προθρομβίνης), ορολογικούς δείκτες, επίπεδα HBV DNA, ενώ εκτιμώνται επίσης ο υπέρηχος κοιλίας και μη-επεμβατικοί δείκτες ηπατικής ίνωσης. Απαραίτητος είναι επίσης ο έλεγχος για παρουσία αντισωμάτων έναντι του ιού της ηπατίτιδας δ (HDV), C (HCV), A (HAV) καθώς και του ιού της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV).(11)

Θεραπεία εκλογής αποτελούν τα από του στόματος αντικα φάρμακα (εντεκαβίρη, δισοπροξεική φουμαρική τενοφοβίρη, αλφεναμιδική τενοφοβίρη), που είναι ασφαλή και καλώς ανεκτά από τους ασθενείς, επιτυγχάνουν καταστολή του ιικού πολλαπλασιασμού και μειώνουν την εμφάνιση επιπλοκών, σχετιζόμενων με το ήπαρ. Σε επιλεγμένους ασθενείς μπορεί να χορηγηθεί υποδορίως για 48 εβδομάδες πεγκυλιωμένη ιντερφερόνη άλφα.(12) Η χρόνια ηπατίτιδα B είναι νόσος που απαιτεί μακροχρόνια παρακολούθηση, ανεξάρτητα από το αν ο ασθενής λαμβάνει ή όχι θεραπεία. Ο εμβολιασμός προστατεύει αποτελεσματικά από τη λοίμωξη και αποτελεί τη βασική μέθοδο πρόληψης. Ο εμβολιασμός, η αντική αγωγή και η βελτίωση της πρόσβασης σε δομές υγείας, αποτελούν τους πυλώνες της εκστρατείας του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας που έχει θέσει ως στόχο το 2030, ο ιός της Ηπατίτιδας B να μην αποτελεί πλέον απειλή για την παγκόσμια υγεία.(13)

### **A 2.3.2 Χρόνια ηπατίτιδα C**

Η χρόνια ηπατίτιδα C, όπως και η χρόνια ηπατίτιδα B, αποτελεί παγκόσμια απειλή για τη δημόσια υγεία, προκαλώντας σημαντική νοσηρότητα και θνησιμότητα (Κεφ. A3). Ο ιός της ηπατίτιδας C (HCV), είναι RNA ιός και χαρακτηρίζεται από γενετική πολυμορφία. Υπάρχουν 7 γονότυποι της ηπατίτιδας C και τουλάχιστον 67 υπότυποι: οι γονότυποι 1a και 1b συναντώνται

συχνότερα στην Ευρώπη και τη Βόρεια Αμερική, ενώ στην νοτιοανατολική Ασία, συχνότερος είναι ο γονότυπος 3 (Εικόνα 2).(14)



**Εικόνα 2: Παγκόσμια κατανομή των γονοτύπων της ηπατίτιδας C.** Ο χάρτης αναπαράγεται όπως στην πρωτότυπη δημοσίευση: The Polaris Observatory HCV Collaborators, *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2017; 2: 161–76.(15)

Η HCV λοίμωξη μεταδίδεται με τη σεξουαλική επαφή, με τη χρήση μολυσμένων βελονών κατά τη λήψη ενδοφλεβίων ουσιών, μέσω μη ασφαλών ιατρικών τεχνικών, καθώς και από μητέρα με λοίμωξη από HCV στο παιδί, κατά την κύηση ή τον τοκετό (κάθετη μετάδοση). Ο ιός καθαίρεται κατά την οξεία λοίμωξη, σε ποσοστό 25-30% των μολυσμένων ατόμων, ενώ οι υπόλοιποι ασθενείς μεταπίπτουν σε χρονιότητα, η οποία προκαλεί σταδιακή ηπατική βλάβη, που συχνά οδηγεί σε εμφάνιση κίρρωσης και ηπατοκυτταρικού καρκινώματος. Τόσο η οξεία, όσο και η χρόνια λοίμωξη, διαδράμουν συνήθως ασυμπτωματικά ή με μη-ειδικά συμπτώματα, με αποτέλεσμα η νόσος να διαγιγνώσκεται στα προχωρημένα στάδια, όπου παρουσιάζονται συμπτώματα και σημεία που σχετίζονται με την κίρρωση.(16)

Η διάγνωση της νόσου περιλαμβάνει την ανίχνευση των antiHCV αντισωμάτων, του HCV RNA, τον προσδιορισμό του γονότυπου και του υπότυπου του ιού στον ορό του ασθενούς. Είναι πλέον διαθέσιμα άμεσα δρώντα αντικά φάρμακα (direct-acting antiviral agents-DAAs), που στοχεύουν σε τρεις πρωτεΐνες που συμμετέχουν σε κρίσιμα στάδια του κύκλου ζωής του HCV: της πρωτεάσης NS3/4A, της πρωτεΐνης NS5A και της νουκλεοτιδικής NS5B πολυμεράσης.(17) Τα φάρμακα αυτά λαμβάνονται σε συνδυασμό, από του στόματος, έχουν πολύ υψηλή αποτελεσματικότητα, άριστη ανοχή και η θεραπεία διαρκεί από 8 έως 16 εβδομάδες. Η εκκρίζωση του ιού, που επιβεβαιώνεται με την εμμένουσα ιολογική ανταπόκριση (sustained virological response-SVR), 12 εβδομάδες μετά την ολοκλήρωση της αγωγής, επιτυγχάνεται σε ποσοστά 95-100%. Δεδομένης της έλλειψης προφυλακτικού εμβολίου για τον ιό, οι στρατηγικές πρόληψης, έγκαιρης ανίχνευσης και καθολικής πρόσβασης στη θεραπεία αποτελούν τα μέσα για την εξάλειψη της πανδημίας της λοίμωξης από ηπατίτιδα C, στόχο που ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας επιθυμεί να επιτευχθεί έως το 2030.(18)

### **A 2.3.3 Χρόνια ηπατίτιδα D**

Ο ιός της ηπατίτιδας δέλτα (Hepatitis D virus-HDV), είναι ένας ελλειμματικός RNA ιός, ο οποίος απαιτεί το αντιγόνο επιφανείας του ιού της ηπατίτιδας B (HBsAg) για τη συναρμολόγηση, την απελευθέρωση και τη μετάδοσή του. Ο HDV είναι έντονα παθογόνος, προκαλώντας τη σπανιότερη αλλά την πιο σοβαρή μορφή χρόνιας ηπατίτιδας.(19) Η διάγνωση της νόσου περιλαμβάνει την ανίχνευση των antiHDV αντισωμάτων, έλεγχος που πρέπει να γίνεται σε όλους τους HBsAg θετικούς ασθενείς. Σε ασθενείς που είναι antiHDV(+), ακολουθεί ο προσδιορισμός του HDV RNA, που αντανακλά την ενεργότητα της νόσου και καθορίζει την ανάγκη έναρξης αγωγής.(20) Παρά τις σημαντικές προόδους στη θεραπευτική αντιμετώπιση των άλλων χρόνιων ιογενών ηπατιτίδων, δεν υπάρχει ακόμα στοχευμένη αγωγή για τον HDV, εξαιτίας της

βιολογικής ιδιαιτερότητάς του. Η ιντερφερόνη α αποτελεί τη μόνη εγκεκριμένη θεραπεία εδώ και 30 χρόνια, χωρίς όμως να επιτυγχάνει μακροχρόνια ανταπόκριση στους περισσότερους ασθενείς. Δεδομένου ότι ο HDV στερείται δικής του RNA πολυμεράσης, τα νεότερα αντικά μόρια που βρίσκονται υπό μελέτη, στοχεύουν σε άλλα βήματα του κύκλου ζωής του ιού, πέραν του ιικού πολλαπλασιασμού. Μόρια υπό μελέτη αποτελούν το Myrcludex B, που εμποδίζει την είσοδο του HDV στα ηπατοκύτταρα, το Ionafarnib, ένας αναστολέας πρενυλίωσης και το REP 2139, ένα πολυμερές νουκλεϊκού οξέος, που θεωρείται ότι αναστέλλει την απελευθέρωση του HBsAg από τα ηπατοκύτταρα.(21)

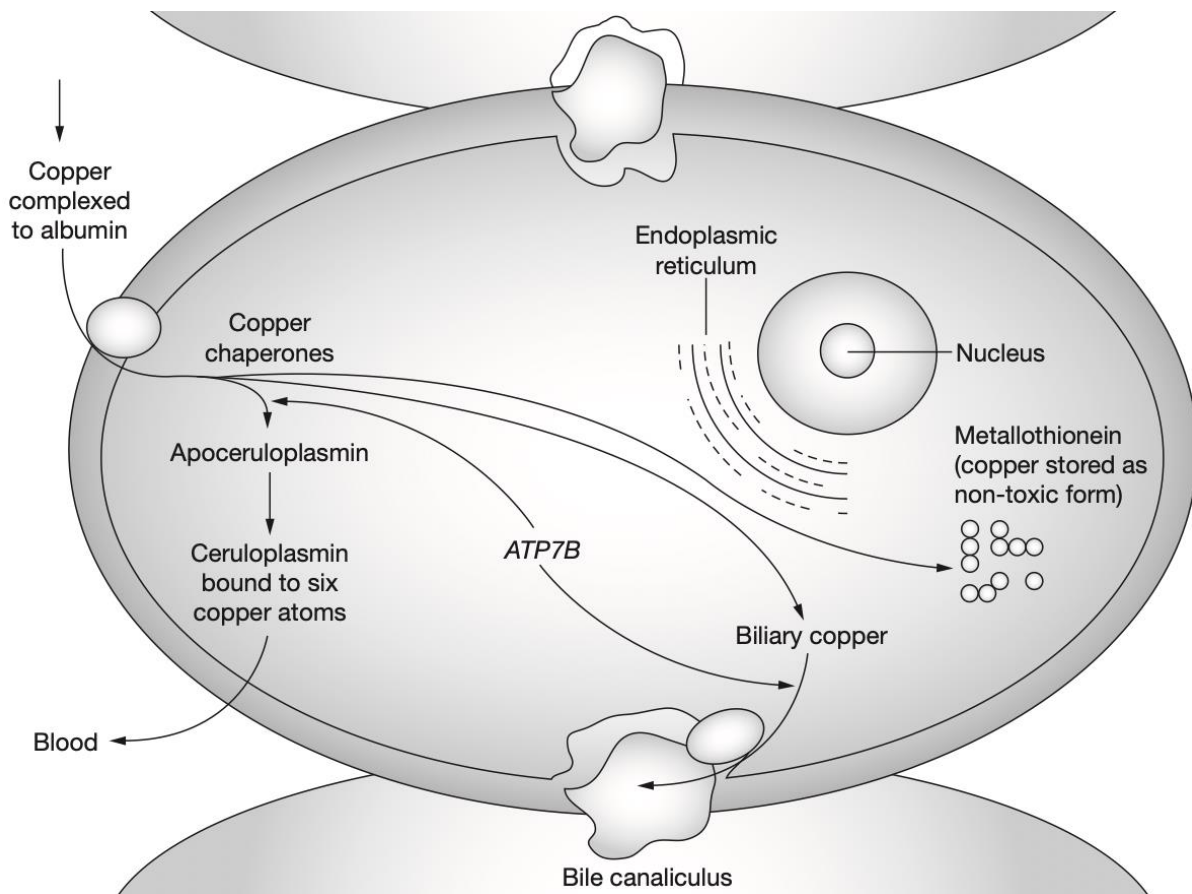
## **A 2.4 Γενετικά νοσήματα**

**A 2.4.1 Ανεπάρκεια της A-1-αντιθρυψίνης:** Αποτελεί τη συνηθέστερη χρόνια ηπατοπάθεια γενετικής αιτιολογίας στα παιδιά και οφείλεται σε μεταλλάξεις του γονιδίου SERPINA1. Χαρακτηρίζεται από παθολογική αναδίπλωση της A-1-αντιθρυψίνης, που οδηγεί σε συσσώρευσή της στο ενδοπλασματικό δίκτυο των ηπατοκυττάρων, με αποτέλεσμα τη φλεγμονή, την ίνωση, την κίρρωση και τον αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ηπατοκυτταρικού καρκινώματος. Η έλλειψη φυσιολογικής A-1-αντιθρυψίνης, προδιαθέτει επίσης στην εμφάνιση πανλοβιδιακού εμφυσήματος στην ενήλικη ζωή. Η νόσος παρουσιάζει σημαντική φαινοτυπική ετερογένεια, γεγονός που υποδεικνύει την συμμετοχή και άλλων γενετικών ή επιγενετικών παραγόντων στη φαινοτυπική της έκφραση. Επί του παρόντος, η ηπατική μεταμόσχευση αποτελεί τη μόνη θεραπεία της νόσου, παρότι έχει σημειωθεί σημαντική πρόοδος στην ανάπτυξη μοριακών θεραπειών για την αντιμετώπισή της.(22)

**A 2.4.2 Κληρονομική αιμοχρωμάτωση:** Πρόκειται για μια κληρονομούμενη διαταραχή της απορρόφησης του σιδήρου που χαρακτηρίζεται από αυξημένη απορρόφηση σιδήρου από το έντερο και παθολογική αύξηση του ολικού σιδήρου στο σώμα (που αντανακλάται στις αυξημένες τιμές φερριτίνης, αιμοσιδηρίνης και κορεσμού τρανσφερρίνης). Η συνηθέστερη μορφή της αφορά την ομόζυγη μετάλλαξη C282Y του γονιδίου HFE.(23) Ένα σημαντικό ποσοστό ομοζυγωτών για τη μετάλλαξη C282Y δεν παρουσιάζουν κλινικά έκδηλη υπερφόρτωση σιδήρου. Περιβαλλοντικοί και γενετικοί παράγοντες φαίνεται να συμμετέχουν στη φαινοτυπική έκφραση της νόσου. Η εψιδίνη, μια πρωτεΐνη οξείας φάσης που μειώνει την απελευθέρωση του σιδήρου από τα δικτυοενδοθηλιακά κύτταρα και την απορρόφησή του από το έντερο, φαίνεται από πρόσφατες έρευνες, να παίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεση της νόσου.(24)

**A 2.4.3 Νόσος Wilson:** Αποτελεί μια κληρονομούμενη διαταραχή του μεταβολισμού του χαλκού, που οφείλεται σε μεταλλάξεις του γονιδίου *ATP7B* και χαρακτηρίζεται από παθολογική συσσώρευση χαλκού στους ιστούς. Φυσιολογικά, ο χαλκός που απορροφάται από τα εντερικά κύτταρα, μεταφέρεται στο ήπαρ συνδεδεμένος με αλβουμίνη. Στα ηπατοκύτταρα μέρος του χαλκού αποθηκεύεται συνδεδεμένος με μεταλλοθειονίνη και ο υπόλοιπος απεκκρίνεται στα χολαγγεία μέσω της λειτουργίας της διαμεμβρανικής πρωτεΐνης *ATP7B*. Η *ATP7B* συμμετέχει στη μεταφορά του χαλκού στην αποσερουλοπλασμίνη με στόχο τη δημιουργία μια νέας πρωτεΐνης, που συνδέεται με 6 μόρια χαλκού, της σερουλοπλασμίνης, που ανήκει στις α2-σφαιρίνες (Εικόνα 3). Η σερουλοπλασμίνη απελευθερώνεται στην κυκλοφορία και μεταφέρει το 90% του χαλκού που βρίσκεται στο αίμα και λειτουργεί ως πηγή χαλκού για τα περιφερικά όργανα όπως ο εγκέφαλος και οι νεφροί. Οι μεταλλάξεις της *ATP7B*, οδηγούν σε μείωση της μετατροπής της αποσερουλοπλασμίνης σε σερουλοπλασμίνη, η οποία ανευρίσκεται μειωμένη

σε ασθενείς με νόσο Wilson. Οδηγούν επίσης σε αδυναμία έκκρισης του χαλκού στα χολαγγεία και άρα σε συσσώρευσή του εντός των ηπατοκυττάρων. Η περίσσεια χαλκού καταστρέφει τα μιτοχόνδρια, προκαλώντας οξειδωτικές βλάβες στα κύτταρα και επιτρέποντας την απελευθέρωση του χαλκού στην κυκλοφορία, με αποτέλεσμα την εναπόθεσή του σε άλλα όργανα όπως ο εγκέφαλος.(25)



**Εικόνα 3: Σχηματική αναπαράσταση του μεταβολισμού του χαλκού εντός του ηπατοκυττάρου.** (Shyamal KD et al, Nat Clin Pract Neurol 2006; 2: 482-93) (25) Copper complexed to albumin: χαλκός συνδεδεμένος με αλβουμίνη; Copper chaperones: μοριακοί συνοδοί του χαλκού (σαπερόνες); Apoceruloplasmin: αποσερουλοπλασμίνη; Ceruloplasmin bound to six copper atoms: σερουλοπλασμίνη συνδεδεμένη με 6 άτομα χαλκού; Endoplasmic reticulum: ενδοπλασματικό δίκτυο; Nucleus: πυρήνας; Metallothionein: μεταλοθειονίνη; Biliary copper: χαλκός που εκκρίνεται στα χολαγγεία; Bile canaliculus: χολαγγεία; Blood: αίμα.

Η κλινική πορεία της νόσου διαφέρει όσον αφορά τη βαρύτητά της, αλλά η προοδευτική προσβολή του ήπατος είναι κοινό χαρακτηριστικό. Η νόσος μπορεί να παρουσιαστεί αρχικά με νευρολογικά ή ψυχιατρικά συμπτώματα.(26)

Η διάγνωση της νόσου Wilson γίνεται βάσει αλγορίθμων που περιλαμβάνουν τα κλινικά συμπτώματα και σημεία, μετρήσεις του μεταβολισμού του χαλκού και μοριακό έλεγχο. Η θεραπεία της νόσου περιλαμβάνει τη διά βίου λήψη χυλικών παραγόντων (πενικιλλαμίνη, τριεντίνη). Σε ορισμένες περιπτώσεις, απαιτείται η μεταμόσχευση ήπατος. Νέες θεραπείες όπως τα άλατα tetrathiomolybdate, ερευνώνται σε κλινικές μελέτες, αλλά και γενετικές θεραπείες δοκιμάζονται σε πειραματικά μοντέλα ζώων. Εφόσον η νόσος διαγνωστεί νωρίς, πριν την εμφάνιση σοβαρών συμπτωμάτων και η θεραπεία αρχίσει έγκαιρα, η πρόγνωσή της είναι καλή. Η βελτίωση του προσυμπτωματικού ελέγχου για τη νόσο Wilson, μπορεί να βοηθήσει στην έγκαιρη διάγνωση και άρα σε βελτίωση του προσδόκιμου των ασθενών που πάσχουν από αυτή.(27)

## **A 2.5 Αυτοάνοσα νοσήματα**

Τα αυτοάνοσα νοσήματα του ήπατος χαρακτηρίζονται από καταστροφή του ηπατικού παρεγχύματος από αυτοαντισώματα. Κατά τη διάγνωση, οι περισσότεροι ασθενείς έχουν ήδη αναπτύξει κίρρωση. Παρατηρούνται συχνότερα σε γυναίκες.

**A 2.5.1 Πρωτοπαθής χολική χολαγγειΐτιδα (Primary biliary cirrhosis-PBC):** Χαρακτηρίζεται από προοδευτική καταστροφή των ενδοηπατικών χοληφόρων, οίδημα και νέκρωση των περιπυλαίων ηπατοκυττάρων και ουλοποίηση. Οδηγεί σε χολοστατικό ίκτερο και ίνωση του ηπατικού παρεγχύματος. Είναι συχνότερη σε γυναίκες, στην 5<sup>η</sup> και 6<sup>η</sup> δεκαετία της ζωής τους. Η νόσος συνήθως είναι ασυμπτωματική στα αρχικά στάδια, ή παρουσιάζεται με κόπωση, κνησμό, σύνδρομο sicca (ξηροστομία και/ή

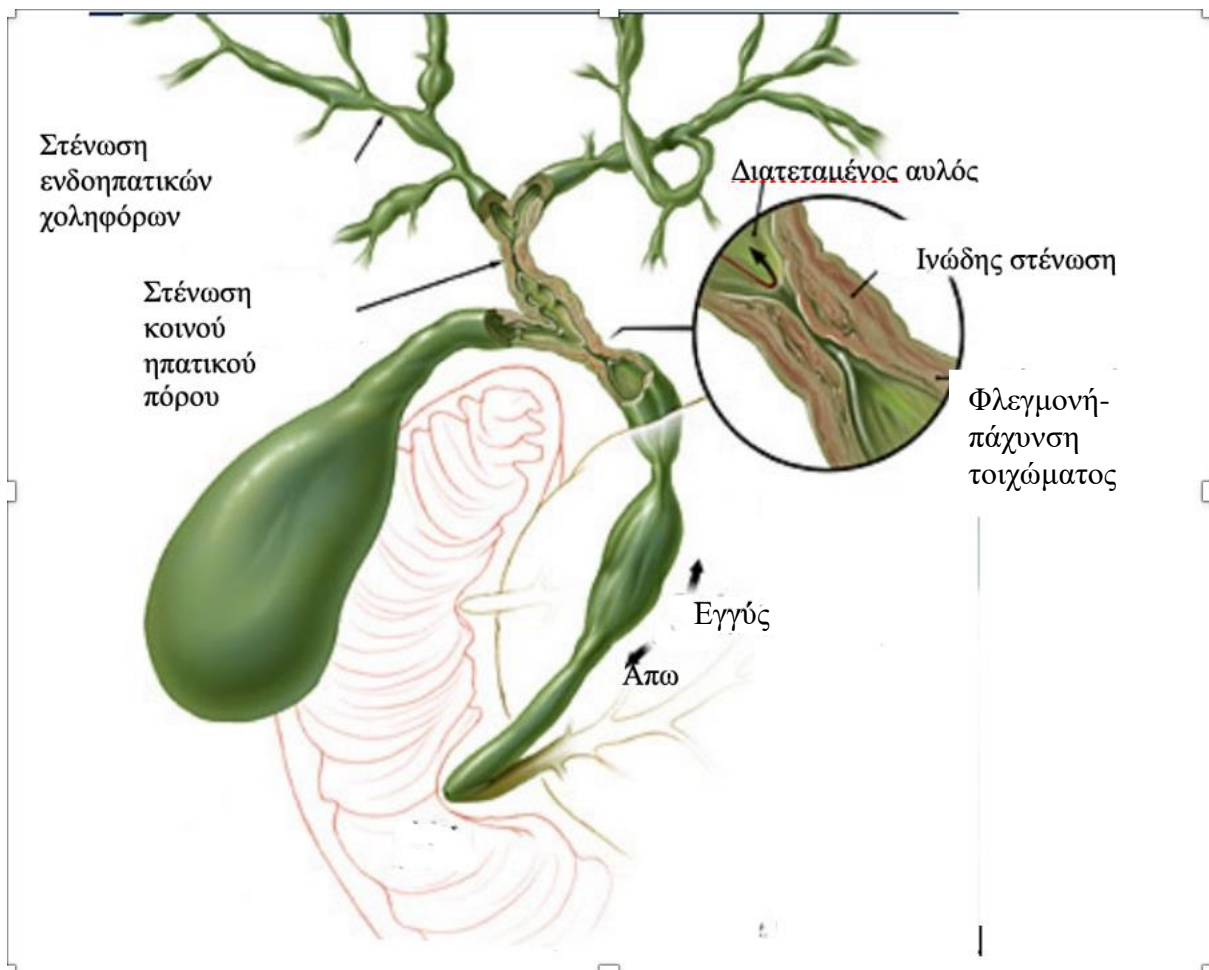
ξηροφθαλμία) και δυσφορία στο επιγάστριο. Η διάγνωση του συνδρόμου τίθεται σε ασθενείς με βιοχημική χολόσταση και παρουσία αντιμιτοχονδριακών αντισωμάτων (AMA) ή αντιπυρηνικών αντισωμάτων ειδικών για τη νόσο (anti-grp210 και anti-sp100).(28) Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες της Ευρωπαϊκής Εταιρείας Μελέτης του ήπατος, του 2017, η ιστολογική επιβεβαίωση δεν απαιτείται για τη διάγνωση της νόσου παρά μόνο όταν δεν ανιχνεύονται τα ειδικά για τη νόσο αντισώματα, όταν υπάρχει υποψία συνύπαρξης αυτοανόσου ηπατίτιδας ή μη-αλκοολικής λιπώδους νόσου του ήπατος ή όταν άλλες συστηματικές συννοσηρότητες είναι παρούσες.(29)

Στόχος της θεραπείας είναι η επιβράδυνση της προόδου της νόσου, η διαχείριση των συμπτωμάτων που σχετίζονται με αυτή και η αντιμετώπιση των επιπλοκών της προχωρημένης ηπατικής νόσου. Πρώτης γραμμής θεραπεία για την επιβράδυνση της εξέλιξης είναι το αρκτο-δεοξυχολικό οξύ (ursodeoxycholic acid-UDCA). Η μόνη δεύτερης γραμμής θεραπεία που έχει λάβει έγκριση επί του παρόντος για ασθενείς που δεν απαντούν ικανοποιητικά στη χορήγηση UDCA ή που παρουσιάζουν δυσανεξία στο UDCA, είναι το ομπετιχολικό οξύ (obeticholic acid-OCA), ένας αγωνιστής του υποδοχέα FXR.(30)

**A 2.5.2 Πρωτοπαθής σκληρυντική χολαγγειίτιδα (Primary Sclerosing Cholangitis-PSC):** Αποτελεί μια σπάνια διαταραχή, που χαρακτηρίζεται από προοδευτική καταστροφή των χοληφόρων αγγείων, στο πλαίσιο μιας φλεγμονώδους διεργασίας με συνοδό περιχολαγγειακή ίνωση των ενδοηπατικών και των εξωηπατικών χοληφόρων (Εικόνα 4). Σχετίζεται συχνά με ιδιοπαθείς φλεγμονώδεις νόσους του εντέρου (ΙΦΝΕ) και συνοδεύεται από αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης χολαγγειοκαρκινώματος και καρκίνου του παχέος εντέρου (ιδιαίτερα σε συνύπαρξη ΙΦΝΕ).(31) Λόγω των περιορισμένων θεραπευτικών επιλογών και της έλλειψης δεικτών πρόγνωσης, οι ασθενείς που πάσχουν από PSC, έχουν ιδιαίτερα επιβαρυσμένη ποιότητα ζωής και πτωχό



προσδόκιμο επιβίωσης. Οι περισσότεροι θα χρειαστεί να μεταμοσχευθούν, με αυξημένες πιθανότητες επανεμφάνισης της νόσου μετά τη μεταμόσχευση.(32)



**Εικόνα 4: Στενώσεις των ενδοηπατικών και εξωηπατικών χοληφόρων σε έδαφος πρωτοπαθούς σκληρυντικής χολαγγειΐτιδας.** (τροπ. από <https://www.hopkinsmedicine.org/health/conditions-and-diseases/primary-sclerosing-cholangitis>)(33)

**Α 2.5.3 Αυτοάνοση ηπατίτιδα (Autoimmune hepatitis-AIH):** Πρόκειται για ηπατοπάθεια αγνώστου αιτιολογίας, που προσβάλλει παιδιά και ενήλικες και χαρακτηρίζεται από χρόνια φλεγμονή του ηπατοκυττάρων (περιπυλαία ηπατίτιδα στη βιοψία ήπατος), από πολυκλωνική υπεργαμμασφαιριναιμία και αυξημένο τίτλο αυτοαντισωμάτων στον ορό (αντιπυρηνικά αντισώματα, αντισώματα έναντι λείων μυϊκών ινών). Παρατηρείται συχνότερα σε γυναίκες, σε αναλογία 3-4:1. Η εμφάνισή της έχει σχετιστεί με διάφορες καταστάσεις

όπως η εγκυμοσύνη και η λοχεία, οι ιογενείς λοιμώξεις, η λήψη φαρμάκων και συμπληρωμάτων διατροφής. Συνδυάζεται επίσης με πολυάριθμα αυτοάνοσα νοσήματα, όπως η αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα Hashimoto.(34) Σε ποσοστό 30% των ενηλίκων, η διάγνωση γίνεται σε προχωρημένο στάδιο, όταν οι ασθενείς έχουν ήδη εμφανίσει κίρρωση. Για τη διάγνωση της νόσου, έχει προταθεί ένα σύστημα βαθμολόγησης από τη Διεθνή Ομάδα Μελέτης της Αυτοάνοσης Ηπατίτιδας (International Autoimmune Hepatitis Group- IAIHG), που βασίζεται σε 4 παραμέτρους(Πίνακας 3):

- Παρουσία και τίτλο αυτοαντισωμάτων
- Συγκέντρωση IgG ανοσοσφαιρίνης στον ορό
- Τυπικά/συμβατά ευρήματα στη βιοψία ήπατος
- Απουσία ορολογικών δεικτών ιογενούς ηπατίτιδας Β ή C(35)

Η αυτοάνοση ηπατίτιδα ανταποκρίνεται στην ανοσοκατασταλτική αγωγή, που πρέπει να ξεκινά άμεσα μετά τη διάγνωση. Η συνήθης αγωγή περιλαμβάνει υψηλές δόσεις κορτικοστεροειδών (πρεδνιζολόνη ή πρεδνιζόνη), ακολουθούμενη από την προσθήκη αζαθειοπρίνης και τη σταδιακή μείωση των κορτικοστεροειδών. Στόχος είναι η ελεύθερη κορτικοστεροειδών μονοθεραπεία με αζαθειοπρίνη. Εναλλακτικά, σε ασθενείς που δεν ανταποκρίνονται στη θεραπεία πρώτης γραμμής ή παρουσιάζουν δυσανεξία ή παρενέργειες λόγω της αζαθειοπρίνης, συστήνεται η χρήση φαρμάκων δεύτερης γραμμής όπως η μυκοφαινόλη, οι αναστολείς καλσινευρίνης (κυκλοσπορίνη, tacrolimus), η μεθοτρεξάτη, η κυκλοφωσφαμίδη και βιολογικοί παράγοντες, θεραπείες που θα πρέπει να δοκιμάζονται σε εξειδικευμένα κέντρα. Ασθενείς που δεν ανταποκρίνονται, παρουσιάζουν πολλαπλές υποτροπές και οδηγούνται σε νόσο τελικού σταδίου, είναι υποψήφιοι για μεταμόσχευση, παρ' ότι η νόσος μπορεί να επανεμφανιστεί μετά τη μεταμόσχευση.(36)

Παράμετρος		Βαθμός
ANA ή SMA +	≥1:40	+1
ANA ή SMA +	≥1:80	+2
ή LKM +	≥1:40	+2
ή SLA/LP+	Οποιοσδήποτε τίτλος	+2
IgG ή γ-σφαιρίνες	>ΑΦΤ	+1
	>1,1x ΑΦΤ	+2
Βιοψία ήπατος	Συμβατή με ΑΗ	+1
	Τυπική ΑΗ	+2
	Άτυπη	0
Απουσία ιογενούς ηπατίτιδας Β και C	Όχι	0
	Ναι	+2
<b>Αποτελέσματα</b>		≥6: πιθανή ΑΗ ≥7: σίγουρη ΑΗ

**Πίνακας 3: Απλοποιημένα κριτήρια για τη διάγνωση της αυτοάνοσης ηπατίτιδας.** (τροπ. από Hennes EM et al., Hepatology 2008: 169-76)(35) AMA: αντιμιτοχονδριακά αντισώματα; ANA: αντιπυρηνικά αντισώματα; IG: ανοσοσφαιρίνη; LKM1: αντισώματα έναντι των μικροσωμάτων ήπατος / νεφρού τύπου 1; SLA: αντισώματα έναντι του διαλυτού αντιγόνου του ήπατος; SMA: αντισώματα έναντι λείων μυϊκών ινών; ΑΗ: αυτοάνοση ηπατίτιδα; ΑΦΤ: ανώτερη φυσιολογική τιμή;

## **A 2.6 Άλλα αίτια χρόνιας ηπατοπάθειας**

- Φάρμακα: αμιωδαρόνη, ισονιαζίδη, μεθοτρεξάτη, φενυτοΐνη, νιτροφουραντοΐνη.
- Αγγειακά: σύνδρομο Budd-Chiari, Σύνδρομο απόφραξης κολποειδών ήπατος/Φλεβο-αποφρακτική νόσος ήπατος.
- Ιδιοπαθής/κρυψιγενής (περίπου 15%).(37)

## **A3 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ**

Οι χρόνιας ηπατοπάθειες αποτελούν μια από τις συχνότερες αιτίες θανάτου, ιδιαίτερα στον αναπτυσσόμενο κόσμο.(38) Συχνότερη αιτία στον αναπτυσσόμενο κόσμο αποτελούν οι ιογενείς ηπατίτιδες. Το 2017, ο Παγκόσμιος Οργανισμός υγείας δημοσίευσε το «WHO Global hepatitis report», όπου υπολογίζονται οι νοσούντες από ιογενή ηπατίτιδα παγκοσμίως για το έτος 2015. Η αναφορά εστιάζει στις ηπατίτιδες Β και C, δεδομένου ότι σε αυτές οφείλεται το 96% των θανάτων από ιογενή ηπατίτιδα. Υπολογίζεται ότι το 2015, 257 εκατομμύρια άνθρωποι έπασχαν από χρόνια ηπατίτιδα Β (3,5% του παγκόσμιου πληθυσμού). Το 68% αυτών ζουν στην υποσαχάριο Αφρική και σε περιοχές του Δυτικού Ειρηνικού Ωκεανού. Η ηπατίτιδα Β οδήγησε σε 887 000 θανάτους το 2016, κυρίως σε έδαφος κίρρωσης και ηπατοκυτταρικού καρκινώματος. Μόλις το 10.5% των νοσούντων γνωρίζουν ότι νοσούν, ενώ μόνο το 16.7% λαμβάνει αγωγή.

Αντίστοιχα για τη χρόνια ηπατίτιδα C, ο επιπολασμός της το 2015 υπολογίζεται στα 71 εκατομμύρια. 399.000 άνθρωποι πέθαναν από Ηπατίτιδα C το 2016, κυρίως σε έδαφος κίρρωσης και ηπατοκυτταρικού καρκινώματος, ομοίως με την Ηπατίτιδα Β. Μόλις το 20% των νοσούντων γνωρίζουν ότι νοσούν, ενώ μόνο το 15% έχει λάβει αγωγή.

Στις ανεπτυγμένες χώρες, οι συχνότερες χρόνιες ηπατοπάθειες αφορούν την αλκοολική νόσο του ήπατος, τη χρόνια ιογενή ηπατίτιδα, τη μη-αλκοολική λιπώδη νόσο του ήπατος και την αιμοχρωμάτωση.(39) Στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής, σύμφωνα με την ετήσια στατιστική αναφορά του Κέντρου Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων (Center for Disease Control and Prevention-CDC) για το 2017, περίπου 4,5 εκατομμύρια άνθρωποι πάσχουν από χρόνιες ηπατοπάθειες και κίρρωση, ποσοστό που αντιστοιχεί στο 1,8% του ενήλικου πληθυσμού. Το 2017, παρατηρήθηκαν 41,473 θάνατοι (12.8 θάνατοι ανά 100,000 άτομα) από χρόνιες ηπατοπάθειες και κίρρωση.

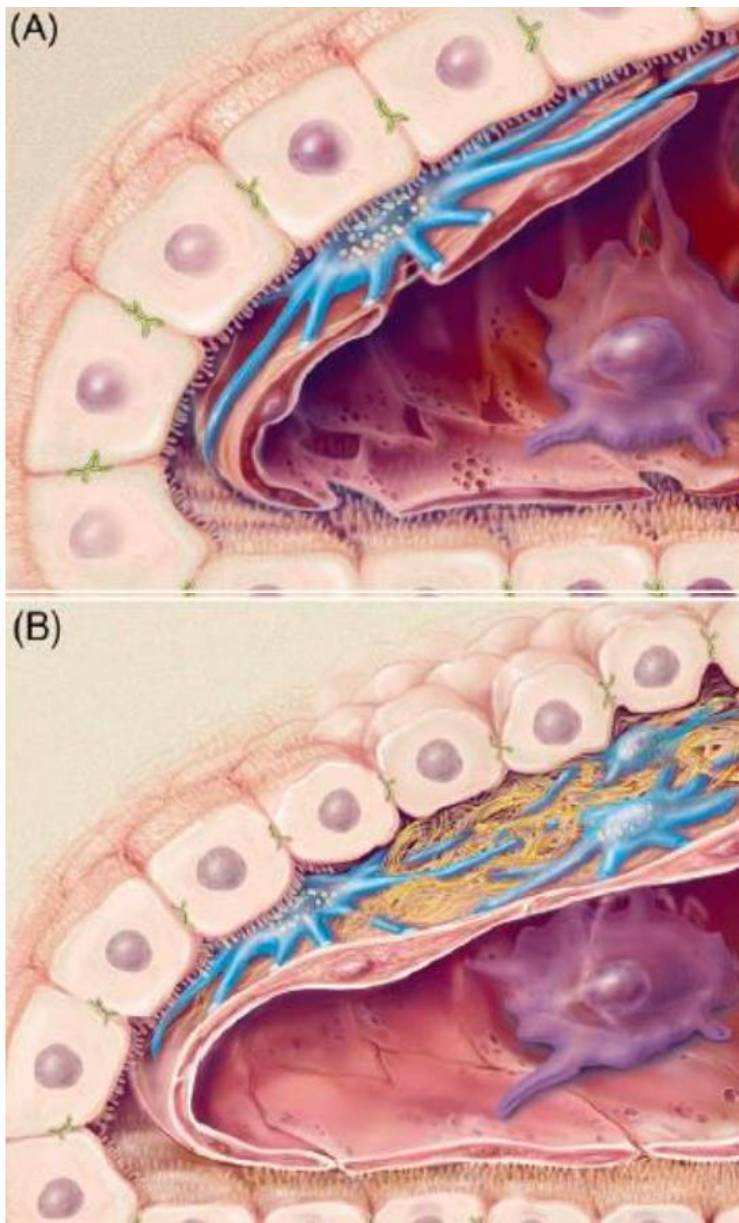
#### **A4 ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ**

Η χρόνια ηπατική νόσος αποτελεί μια συνεχή και εξελισσόμενη διαδικασία, που οδηγεί σε ηπατική ίνωση, διαταραχή της αρχιτεκτονικής του ηπατικού ιστού και δημιουργία αναγεννητικών όζων. Η ίνωση, δύναται να αναστραφεί στα αρχικά στάδια εξέλιξής της, δεν είναι όμως σαφές πότε η βλάβη παύει να είναι αναστρέψιμη. Χωρίς θεραπεία, οι χρόνιες ηπατοπάθειες, οδηγούν συνήθως σε μη αναστρέψιμη ίνωση, σχηματισμό αναγεννητικών όζων και κίρρωση του ήπατος. Ο ρυθμός εξέλιξης της ίνωσης εξαρτάται από την υποκείμενη αιτιολογία, από περιβαλλοντικούς και ιδιοσυστασιακούς παράγοντες. Σε μελέτη 4852 ασθενών με χρόνια ηπατοπάθεια διαφορετικής αιτιολογίας, παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στο χρόνο εμφάνισης της ίνωσης και στο ρυθμό εξέλιξής της. Ταχύτερη εξέλιξη παρατηρήθηκε σε ασθενείς με συλλοίμωξη από τον ιό της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV) και τον ιό της ηπατίτιδας C. Ασθενείς με πρωτοπαθή χολική χολαγγειίτιδα παρουσίασαν βραδύτερη εξέλιξη. Η προχωρημένη ηλικία φάνηκε να ενισχύει την πρόοδο της ίνωσης, ενώ μεταξύ των δύο φύλων, οι γυναίκες παρουσίασαν βραδύτερη εξέλιξη, ανεξαρτήτως αιτιολογίας της ηπατικής νόσου, με εξαίρεση την αλκοολική νόσο.(40)

Όσον αφορά τους ιδιοσυστασιακούς παράγοντες, έχουν περιγράψει πολυμορφισμοί σε γονίδια που πιθανώς επηρεάζουν την εξέλιξη της ηπατικής ίνωσης.(41) Σχετική μελέτη, συνέκρινε την εξέλιξη της ίνωσης σε ασθενείς που έφεραν αυτούς τους πολυμορφισμούς σε σχέση με άλλους που δεν τους έφεραν. Οι δύο ομάδες έπασχαν από χρόνια ηπατοπάθεια ίδιας αιτιολογίας. Η παρουσία των πολυμορφισμών φάνηκε να επηρεάζει την εξέλιξη της ίνωσης, αλλά και τη βαρύτητα της νόσου.(42)

Η ίνωση οφείλεται σε εναπόθεση εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας ως απάντηση σε χρόνια ηπατική βλάβη οποιασδήποτε αιτιολογίας. Το κοινό μονοπάτι ξεκινά από τα αστεροειδή κύτταρα, που βρίσκονται στον περικολποειδικό χώρο του Disse και υπό κανονικές συνθήκες, περιέχουν μεγάλα περιτυρητικά σταγονίδια λιπιδίων, ο κύριος ρόλος των οποίων είναι η αποθήκευση της βιταμίνης A και η ρύθμιση της ομοιόστασης του ρετινοϊκού οξέος.

Σε απάντηση στη χρόνια ηπατική βλάβη, τα αστεροειδή κύτταρα ενεργοποιούνται και μετατρέπονται σε μυοϊνοβλάστες, οι οποίοι εκφράζουν πλήθος φλεγμονωδών υποδοχέων, απελευθερώνουν χημειοκίνες, κυτταροκίνες και αυξητικούς παράγοντες. Η προφλεγμονώδης φάση ή φάση έναρξης, αλλάζει επίσης τη γονιδιακή και φαινοτυπική έκφραση των αστεροειδών κυττάρων, δίνοντάς τους την ικανότητα διαφοροποίησης σε ηπατικά ή ενδοθηλιακά κύτταρα, συμμετέχοντας έτσι στην αγγειογένεση μέσω της έκκρισης αγγειογενετικών παραγόντων. Η συνεχιζόμενη ενεργοποίησή τους, οδηγεί στην παραγωγή και συσσώρευση εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας και στην προοδευτική ίνωση.(43)



**Εικόνα 5: Υποενδοθηλιακές αλλαγές κατά τη διάρκεια της ενεργοποίησης των αστεροειδών κυττάρων του ήπατος. (Α)Φυσιολογική αρχιτεκτονική των ηπατικών κολποειδών. Τα αστεροειδή κύτταρα (κυανό χρώμα) περιέχουν σταγονίδια βιταμίνης Α και εμφανίζουν ποδοειδείς απολήξεις που περιβάλλουν το τριχοειδές. (Β)Κατά τη διάρκεια της ηπατοκυτταρικής βλάβης, τα αστεροειδή κύτταρα πολλαπλασιάζονται και περιβάλλονται από ινώδη ιστό, με αποτέλεσμα απώλεια των μικρολαχνών των ηπατοκυττάρων και απόφραξη των οπών του ενδοθηλίου. (Τροποποιημένο από Friedman SL, J Hepatol 2003; 38: 38-53)(44)**

## **A5 ΙΣΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΑ**

Η χρόνια ηπατική βλάβη οδηγεί, όπως είδαμε, σε ενεργοποίηση των αστεροειδών κυττάρων και μετατροπή τους σε μυοϊνοβλάστες, που εναποθέτουν εξωκυττάρια θεμέλια ουσία. Η χρόνια φλεγμονή και η διαταραχή της αρχιτεκτονικής του παρεγχύματος, αποτυπώνονται με συγκεκριμένα ευρήματα στην ιστοπαθολογική εξέταση του ήπατος.

Το μοτίβο της ηπατικής ίνωσης, δεν είναι σταθερό και διαφοροποιείται αναλόγως της αιτιολογίας της χρόνιας ηπατικής νόσου. Στην περίπτωση της χρόνιας ιογενούς ηπατίτιδας, η πυλαία επέκταση ακολουθείται από περιπυλαία ίνωση, γεφυροποιό ίνωση και κίρρωση (Εικόνα 6A και 6B). Αντίθετα, στην αλκοολική νόσο του ήπατος και στη μη-αλκοολική λιπώδη νόσο του ήπατος, η ίνωση ξεκινά με κεντρολοβιδιακή περιαγγειακή κατανομή. Στην περίπτωση της λιπώδους νόσου του ήπατος στα παιδιά, το μοτίβο της ίνωσης είναι περιπυλαίο, όπως αυτό της λοίμωξης από ηπατοτρόπους ιούς. Δεν παρατηρείται συνήθως περικολποειδική ή περιαγγειακή ίνωση.(45)

Κατά την ιστοπαθολογική εκτίμηση είναι απαραίτητη η ημιποσοτική αξιολόγηση της ίνωσης για τον καθορισμό του σταδίου. Έχουν αναπτυχθεί διάφορα συστήματα, εκ των οποίων τα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα στη χρόνια ηπατική νόσο, είναι το METAVIR και το Ishak. Η σημαντική ίνωση αντιστοιχεί σε METAVIR σταδίου  $\geq$ F2 και Ishak  $\geq$ 3, ενώ η βαθμονόμηση F4 κατά METAVIR και Ishak $\geq$ 5, αντιστοιχεί σε κίρρωση ήπατος (Πίνακας 4 και 5).(46)



Στάδιο ίνωσης	Περιγραφή
F0	απουσία ίνωσης
F1	ινώδης διεύρυνση πυλαίων διαστημάτων χωρίς διαφράγματα
F2	ινώδης διεύρυνση πυλαίων διαστημάτων με σπάνια διαφράγματα
F3	πολλά διαφράγματα, όχι κίρρωση
F4	κίρρωση

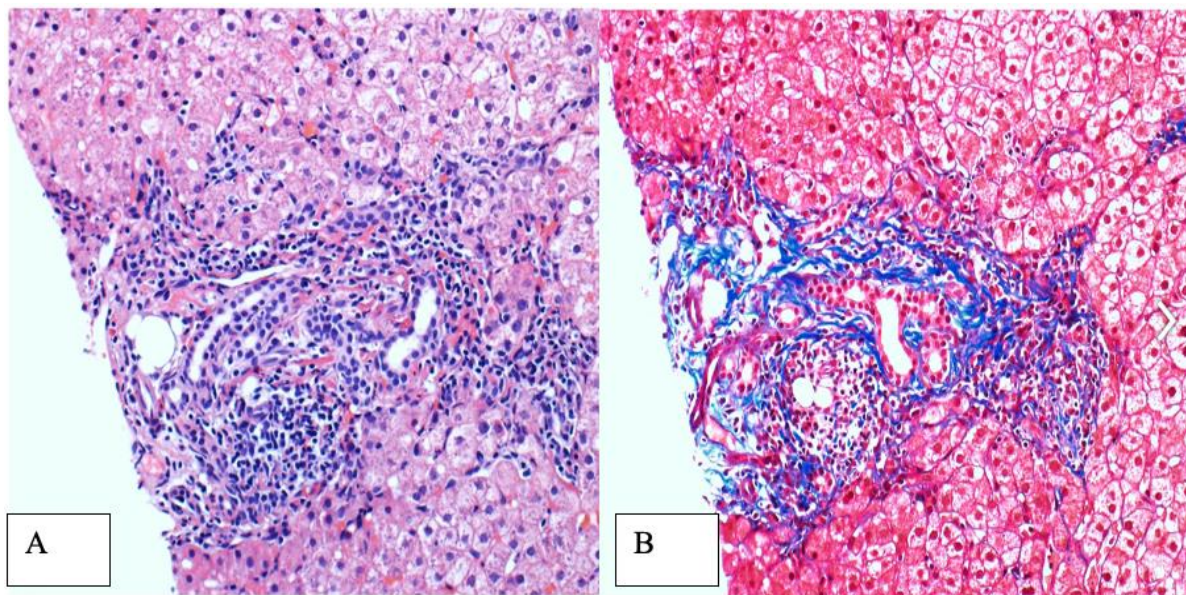
**Πίνακας 4: Σταδιοποίηση ίνωσης κατά METAVIR.** (τροπ. από Mohamadnejad et al, Gastroenterology 2008; 134)(47)

Στάδιο ίνωσης	Περιγραφή
F0	απουσία ίνωσης
F1	ινώδης διεύρυνση λίγων πυλαίων διαστημάτων με ή χωρίς βραχέα διαφραγμάτια
F2	ινώδης διεύρυνση των περισσότερων πυλαίων διαστημάτων με ή χωρίς βραχέα διαφραγμάτια
F3	ινώδης διεύρυνση των περισσότερων πυλαίων διαστημάτων ενίοτε με πυλαιο-πυλαίες γέφυρες
F4	ινώδης διεύρυνση των περισσότερων πυλαίων διαστημάτων με σημαντική γεφυροποιό ίνωση (πυλαιο-πυλαία ή πυλαιο-κεντρική)
F5	ικανή γεφυροποιός ίνωση ενίοτε με σχηματισμό όζων (ατελής κίρρωση)
F6	Κίρρωση, πιθανή ή αδιαμφισβήτητη

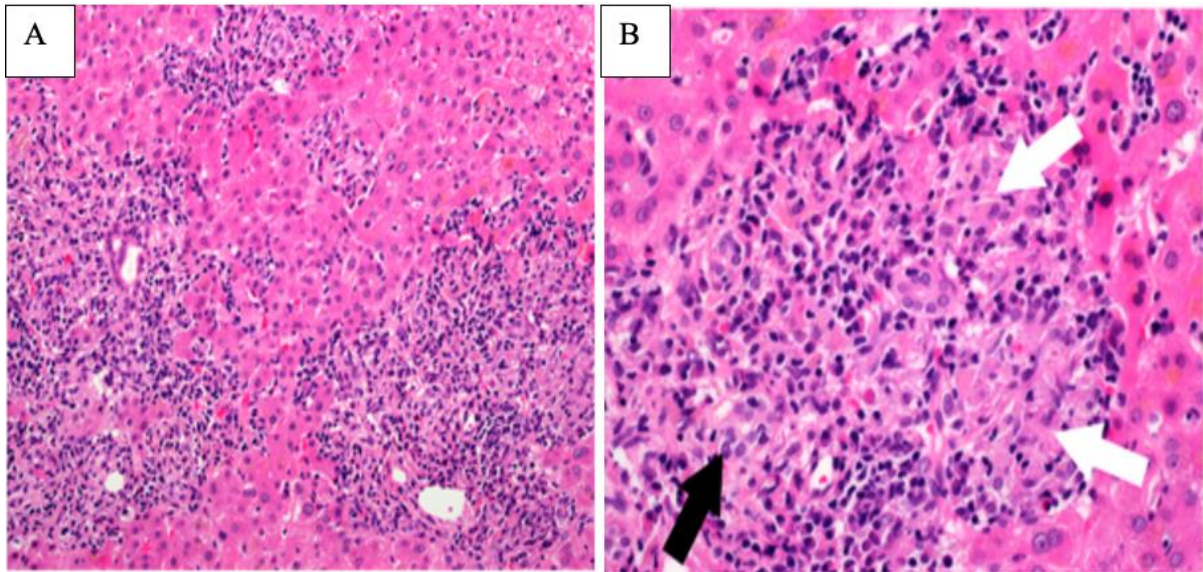
**Πίνακας 11: Σταδιοποίηση ίνωσης κατά Ishak.** (τροπ. από Mohamadnejad et al, Gastroenterology 2008; 134) (47)

Εκτός από την ίνωση, κατά την ιστοπαθολογική μελέτη των χρόνιων ηπατικών νοσημάτων, εκτιμώνται η παρουσία νεκρώσεων και η νεκροφλεγμονώδης δραστηριότητα που υποδηλώνει την ενεργότητα της νόσου.

Στην περίπτωση των χολαγγειακών νοσημάτων, παρατηρούνται ευρήματα φλεγμονής μέσα και γύρω από τα χολαγγεία, βλάβες του επιθηλίου τους και του παρεγχύματος που τα περιβάλλει και σε τελικά στάδια, καταστροφή και εξαφάνισή τους. Στην περίπτωση της πρωτοπαθούς χολικής χολαγγειΐτιδας, χαρακτηριστική είναι η παρουσία κοκκιωματώδους χολαγγειΐτιδας, ενώ στην περίπτωση της σκληρυντικής χολαγγειΐτιδας, παρατηρείται περιχολαγγειΐτιδα και συγκεντρική περιχολαγγειακή ίνωση με αποτέλεσμα την ινώδη εξάλειψη του χολαγγείου και τη δημιουργία ουλής.(48) (Εικόνα 7A και 7B)



**Εικόνα 6: Ιστοπαθολογικές εικόνες Ηπατίτιδας C: A.** Περιπυλαία φλεγμονώδη διηθήματα και λεμφοκυτταρικές αθροίσεις, τυπικές της ηπατίτιδας C. **B.** Κίρρωση. Παρατηρείται πυλαία επέκταση της ίνωσης. (Fiel MI, Clin Liver Dis 2010; 14: 555-75)(49)



**Εικόνα 6: Ιστοπαθολογικές εικόνες πρωτοπαθούς χολικής χολαγγειΐτιδας:**  
**A.** Η πυλαία ζώνη παρουσιάζει κοκκιωματώδη και λεμφοκυτταρική φλεγμονή, με επίκεντρο τα ενδολόβια χολαγγεία. **B.** Λεμφοκυτταρική χολαγγειΐτιδα (μαύρο βέλος) και αθροίσεις ιστιοκυττάρων (λευκά βέλη). (Lewis J, Clin Liver Dis 2017; 10: 107-10)(50)

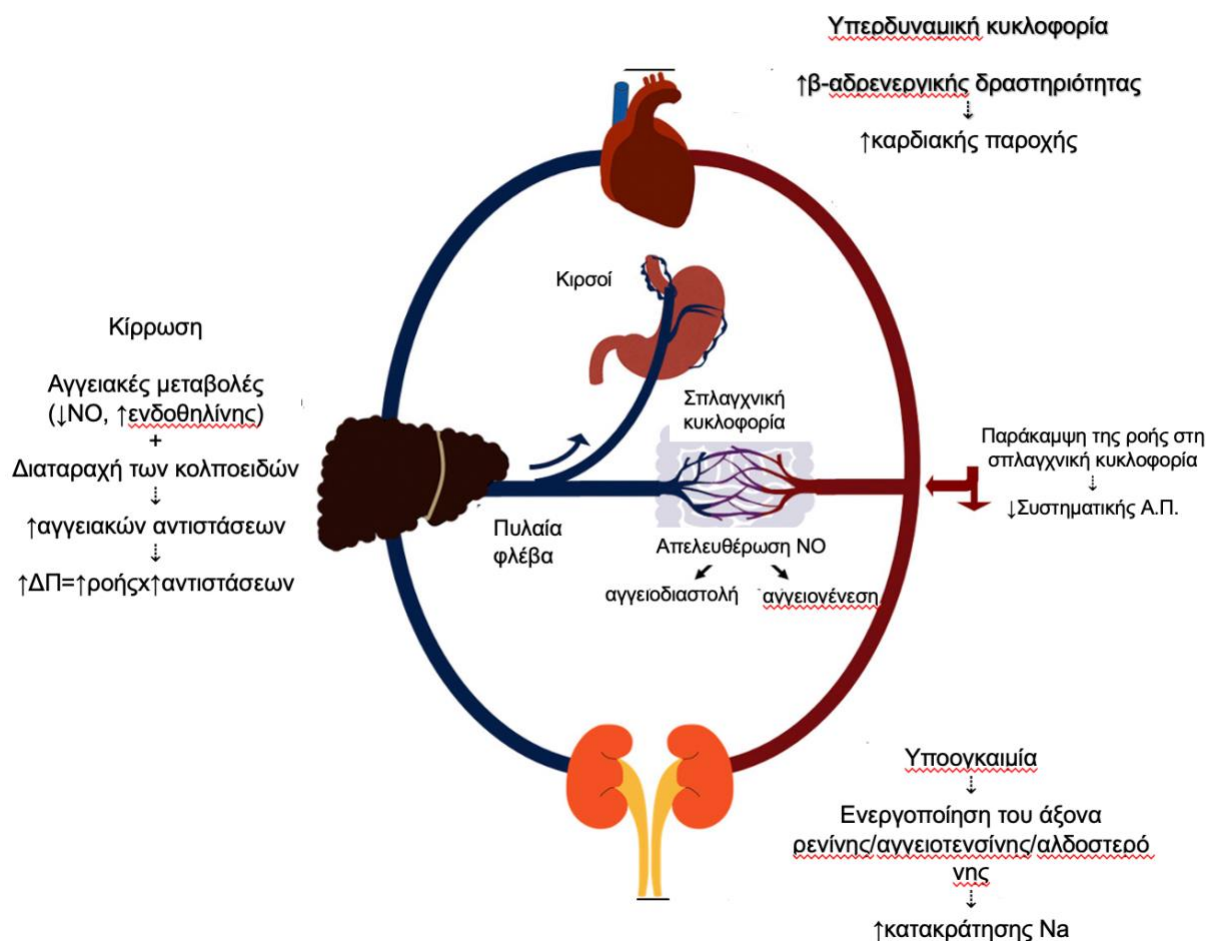
## **A6 ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ**

Τα σημεία και τα συμπτώματα των χρόνιων ηπατοπαθειών μπορεί να είναι μη ειδικά, όπως κόπωση, ανορεξία, απώλεια βάρους, ή να σχετίζονται με επιπλοκές της νόσου. Η πυλαία υπέρταση, αποτελεί την κύρια συνέπεια της κίρρωσης του ήπατος και σχετίζεται με σοβαρές επιπλοκές (αιμορραγία από γαστροοισοφαγικούς κισσούς, ασκίτης), ενώ η ηπατική ανεπάρκεια οδηγεί σε εκδήλωση ικτέρου, ηπατικής εγκεφαλοπάθειας και διαταραχών της αιμόστασης. Άλλα σημεία και συμπτώματα των ασθενών με χρόνια ηπατοπάθεια μπορεί να σχετίζονται με την υπεροιστρογοναιμία, το ηπατονεφρικό σύνδρομο αλλά και την εμφάνιση ηπατοκυτταρικού καρκινώματος.

### **A 6.1 Πυλαία Υπέρταση**

Η πυλαία υπέρταση είναι αποτέλεσμα αυξημένων αντιστάσεων στην πυλαία κυκλοφορία, κίρρωτικής ή μη αιτιολογίας. Το παθοφυσιολογικό υπόβαθρο της

εμφάνισής της περιγράφεται στην Εικόνα 8 (51). Πολλά συστήματα συμμετέχουν στους αντιρροπιστικούς μηχανισμούς που χαρακτηρίζουν την πυλαία υπέρταση. Η κίρρωση αυξάνει τις αγγειακές αντιστάσεις του ήπατος, μέσω μηχανικής παραμόρφωσης των ηπατικών κολλοειδών και αγγειοσύσπασης, που οφείλεται στη μειωμένη αγγειοδιασταλτική ικανότητα (μονοξειδίο του αζώτου) και στην αυξημένη παραγωγή αγγειοσυσπαστικών ουσιών (ενδοθηλίνη). Η αύξηση της πίεσης στην πυλαία φλέβα λειτουργεί ως σήμα προς τη σπλαγχνική κυκλοφορία, για την πρόκληση αγγειοδιαστολής και την αύξηση της αιματικής ροής προς την πυλαία. Το μονοξειδίο του αζώτου θεωρείται ο βασικός διαμεσολαβητής της αγγειοδιαστολής και της αγγειογένεσης. Η αύξηση των αγγειακών αντιστάσεων και η αυξημένη αιματική ροή από τη σπλαγχνική κυκλοφορία, οδηγούν σε περαιτέρω αύξηση της πίεσης στην πυλαία φλέβα. Η πυλαία υπέρταση από την άλλη πλευρά, ενισχύει την πυλαιοσυστηματική διαφυγή και είναι υπεύθυνη για την ανάπτυξη κίρσων και ασκίτη. Η σπλαγχνική αγγειοδιαστολή προκαλεί επίσης εκτροπή της καρδιακής παροχής από τη συστηματική στη μεσεντέρια κυκλοφορία, με αποτέλεσμα τη συστηματική υπόταση και νεφρική υποάρδευση. Η ενεργοποίηση του συστήματος ρενίνης-αγγειοτενσίνης-αλδοστερόνης οδηγεί σε κατακράτηση νατρίου και υγρών, προκαλώντας υπερφόρτωση όγκου. Η υπερδυναμική κυκλοφορία, αποτέλεσμα της ενεργοποίησης του β-αδρενεργικού συστήματος, είναι ακόμα ένας αντιρροπιστικός μηχανισμός απέναντι στη συστηματική υπόταση.



**Εικόνα 8: Παθοφυσιολογία της πυλαίας υπέρτασης.** (τροπ. από Douglas AS et al, Mayo Clin Proc 2019; 94: 714-26)(51) NO: μονοξείδιο του αζώτου; ΑΠ: αρτηριακή πίεση; Na: νάτριο.

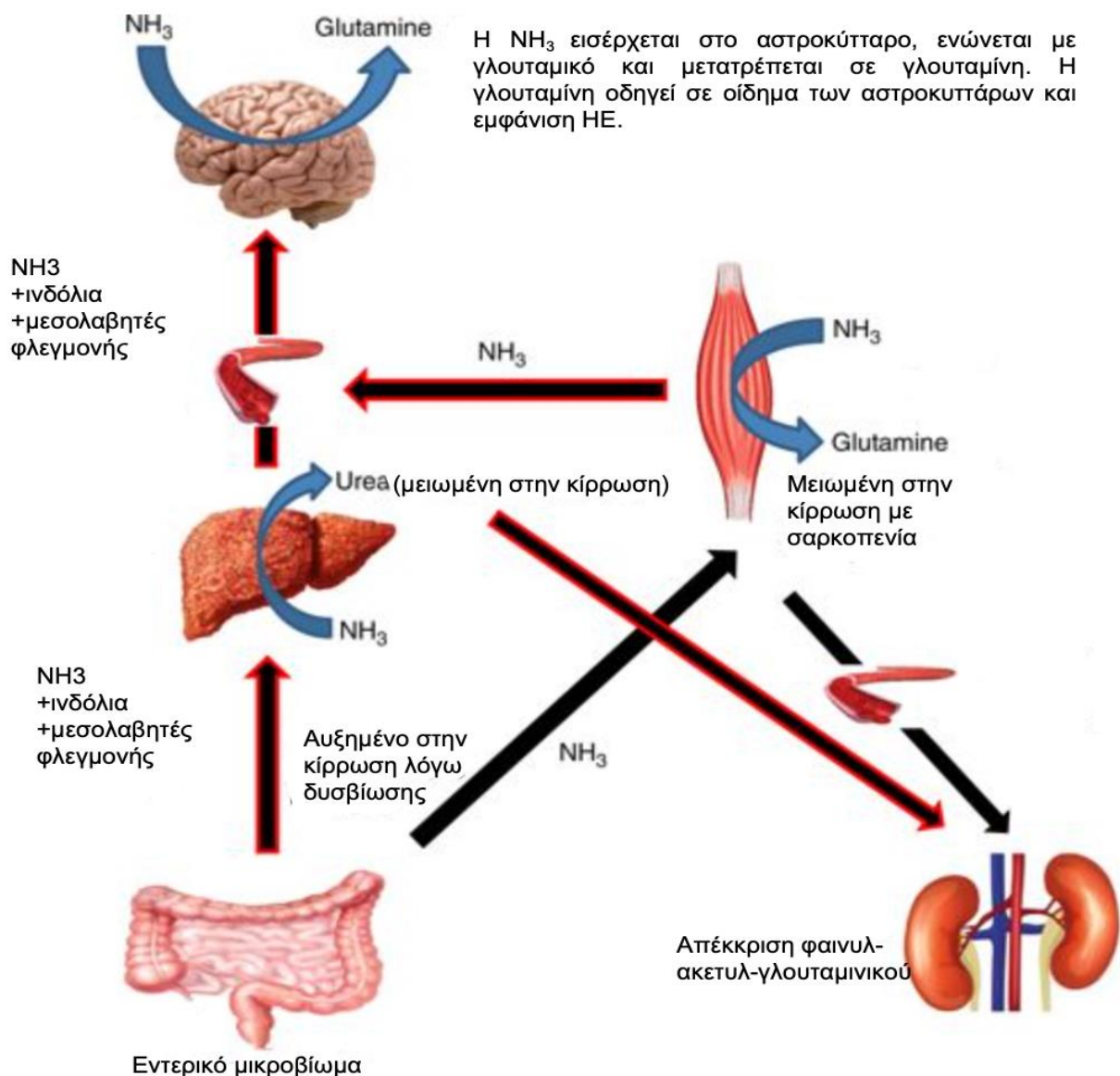
Η πυλαία υπέρταση ορίζεται ως η πίεση στην πυλαία φλέβα μεγαλύτερη από 5 mmHg. Παρ' όλα αυτά κλινικά σημεία και επιπλοκές εμφανίζονται όταν η πίεση στην πυλαία φλέβα ξεπεράσει τα 10-12 mmHg.

Τα αίτια της πυλαίας υπέρτασης χωρίζονται σε προ-ηπατικά (πχ θρόμβωση της πυλαίας φλέβας), ηπατικά (κίρρωση) και μεθηπατικά (πχ σύνδρομο Budd Chiari). Η κίρρωση και η ηπατική σχιστοσωμίαση παραμένουν οι συνηθέστερες αιτίες πυλαίας υπέρτασης, με την κίρρωση να είναι η συχνότερη αιτία στον ανεπτυγμένο κόσμο.(52) Οι επιπλοκές της πυλαίας υπέρτασης είναι:

- Γαστροοισοφαγικοί κίρσοι: παρουσιάζονται συνήθως ως μέλαινα κένωση ή αιμορραγία από το ανώτερο πεπτικό. Η κίρρωση, λόγω της αυξημένης πίεσης στην πυλαία κυκλοφορία, οδηγεί στη δημιουργία κίρσων στον οισοφάγο ή το στόμαχο. Η ρήξη των κίρσων του οισοφάγου αποτελεί την πλέον συνήθη απειλητική για τη ζωή επιπλοκή των χρόνιων ηπατοπαθειών.(53)
- Κοιλιακό επίφλεβο, κεφαλή μεδούσης
- Αιμορροϊδοπάθεια
- Ασκίτης: αφορά σε συλλογή υγρού εντός της περιτοναϊκής κοιλότητας, λόγω της αυξημένης πίεσης στην πυλαία φλέβα (αυξημένη υδροστατική πίεση), της μειωμένης αλβουμίνης (μειωμένη κολλοειδοσμοτική πίεση) και της σπλαχνικής αγγειοδιαστολής (λόγω απελευθέρωσης μονοξειδίου του αζώτου). Ο ασκίτης εμφανίζεται συνήθως στα τελικά στάδια της νόσου. Κλινικά οι ασθενείς παρουσιάζουν διάταση της κοιλίας, μετακινούμενη αμβλύτητα και το σημείο της αντιτυπίας. Ο ασκίτης υπό τάση μπορεί να οδηγήσει σε εμφάνιση δύσπνοιας και σε αίσθημα πρόωρου κορεσμού.(54)

## **A 6.2 Ηπατική εγκεφαλοπάθεια**

Η ηπατική εγκεφαλοπάθεια (HE) αποτελεί ένα νευροψυχιατρικό σύνδρομο, αποτέλεσμα της ηπατικής ανεπάρκειας. Τα επιβλαβή προϊόντα του μεταβολισμού (πχ αμμωνία), υφίστανται επεξεργασία προς απομάκρυνση των τοξικών στοιχείων από το ήπαρ. Σε ασθενείς με κίρρωση, η απομάκρυνση αυτών των στοιχείων παρεμποδίζεται, με αποτέλεσμα τη συσσώρευση της αμμωνίας (Εικόνα 9).



**Εικόνα 9: Παθοφυσιολογικός μηχανισμός συσσώρευσης της αμμωνίας σε ασθενείς με κίρρωση.** Η αμμωνία ( $\text{NH}_3$ ) παράγεται από τη διάσπαση του αζώτου κατά τη διάρκεια του μεταβολισμού των πρωτεϊνών στο έντερο και μεταφέρεται μέσω της πυλαίας φλέβας στο ήπαρ. Το ήπαρ και οι σκελετικοί μύες, αποτελούν τους βασικούς μετατροπείς της τοξικής αμμωνίας σε ουρία μέσω του κύκλου της ουρίας και σε γλουταμίνη μέσω της συνθετάσης της γλουταμίνης/γλουταμινάσης αντίστοιχα. Η γλουταμίνη που παράγεται στους σκελετικούς μύες, εισέρχεται στη συστηματική κυκλοφορία και μετατρέπεται εκ νέου σε αμμωνία στους νεφρούς, από όπου και απεκκρίνεται. Στην κίρρωση ο κύκλος της ουρίας μεταβάλλεται, ενώ λόγω της σαρκοπενίας, ο μυϊκός ιστός είναι συχνά περιορισμένος, με αποτέλεσμα τη μείωση της μετατροπής της ουρίας και των άλλων αζωτούχων παραπροϊόντων στους μη-τοξικούς μεταβολίτες τους. (τροπ από Chatur A et al, Am J Gastroenterol 2018; 113:1600–12)(55) Glutamine: γλουταμίνη;  $\text{NH}_3$ : αμμωνία; ΗΕ: ηπατική εγκεφαλοπάθεια

Τα αυξημένα επίπεδα αμμωνίας, επηρεάζουν το επίπεδο συνείδησης. Το 30-40% των ασθενών με κίρρωση, αναμένεται να παρουσιάσουν ΗΕ, κάποια χρονική στιγμή κατά τη διάρκεια της κλινικής πορείας τους. Το 20-80% των κίρρωτικών ασθενών, παρουσιάζει ελάχιστη ΗΕ ή υποκλινική ΗΕ, που συχνά δεν γίνονται αντιληπτές και διαγιγνώσκονται κυρίως με ψυχομετρικές δοκιμασίες.(56)

Η κλινική εικόνα της ηπατικής εγκεφαλοπάθειας περιλαμβάνει ποικίλα σημεία και συμπτώματα που κυμαίνονται από διαταραχές στο γνωσιακό επίπεδο και στην προσωπικότητα, έως διαταραχές του επιπέδου συνείδησης και της νευρομυϊκής λειτουργικότητας (πτερυγοειδής τρόμος). Η περιγραφή και ταξινόμηση της ΗΕ γίνεται βάσει 5 αξόνων:

- i. της αιτιολογίας (οξεία ηπατική ανεπάρκεια, TIPS, κίρρωση)
- ii. της βαρύτητας
- iii. της διαχρονικής εξέλιξης (σποραδική, υποτροπιάζουσα, εμμένουσα)
- iv. της παρουσίας ή μη εκλυτικού παράγοντα
- v. της παρουσίας ή μη οξείας επί χρόνιας ηπατικής ανεπάρκειας.

Τα κριτήρια κατά West-Haven χρησιμοποιούνται για την ταξινόμηση της ηπατικής εγκεφαλοπάθειας σε στάδια, από το 0 που αντιστοιχεί σε φυσιολογικό επίπεδο συνείδησης, έως το 4 όπου ο ασθενής βρίσκεται σε κώμα. Τα κριτήρια αυτά βασίζονται στα κλινικά σημεία και συμπτώματα που παρουσιάζουν οι ασθενείς (πίνακας 12).(57)

Παράγοντες που συσχετίζονται με τη εμφάνιση και τη βαρύτητα της ηπατικής εγκεφαλοπάθειας είναι οι λοιμώξεις, η αιμορραγία του ανώτερου πεπτικού, η υπερκαλιαιμία, η τοποθέτηση ενδοηπατικής πυλαιοσυστηματικής ενδοπρόθεσης (transjugular intrahepatic portosystemic shunt-TIPS)(58), η λήψη υπναγωγών ουσιών και η αλκάλωση.



	Επίπεδο συνείδησης	Νευροψυχιατρικά συμπτώματα	Νευρολογικά συμπτώματα	
0	Φυσιολογικό	Διαταραχές μετρήσιμες μόνο με ψυχομετρικές δοκιμασίες	Απόντα «Ελάχιστη ΗΕ»	Υποκλινική ΗΕ
1	Ήπια νοητική επιβράδυνση	Ευφορία/δυσφορία, ευερεθιστότητα, άγχος, διαταραχή προσοχής, αναστροφή ύπνου	Επηρεάζονται οι λεπτές δεξιότητες	
2	Κόπωση, απάθεια, λήθαργος	Διαταραχή της προσωπικότητας, αποπροσανατολισμός	Πτερυγοειδής τρόμος, αταξία, ακατάληπτος λόγος, δυσπραξία, αστηριξία	
3	Υπνηλία	Επιθετικότητα, σημαντικός αποπροσανατολισμός	Ακαμψία, κλώνος	Κλινική ΗΕ
4	Κώμα			

**Πίνακας 12: Κλινική ταξινόμηση της ηπατικής εγκεφαλοπάθειας κατά West-Haven.** (τροπ. από Vilstrup H et al, Hepatology 2014; 6: 715-35)(57)  
 ΗΕ: Ηπατική εγκεφαλοπάθεια

### **A 6.3 Ίκτερος**

Ως ίκτερος ορίζεται η κιτρινωπή χροιά του δέρματος, των επιπεφυκότων και των βλεννογόνων που προκαλείται από την αυξημένη παραγωγή ή τη μειωμένη απέκκριση της χολερυθρίνης. Η χολερυθρίνη παράγεται από την αποδόμηση της αιμοσφαιρίνης στο σπλήνα. Προσδένεται στην αλβουμίνη και με την μορφή αυτή κυκλοφορεί στο αίμα. Σε αυτή τη μορφή, ονομάζεται ασύζευκτη ή έμμεση χολερυθρίνη. Μέσω της κυκλοφορίας μεταφέρεται στο ήπαρ, όπου το σύμπλοκο χολερυθρίνης-αλβουμίνης διασπάται. Στο ήπαρ, η χολερυθρίνη συνδέεται με γλυκουρονικό οξύ με τη δράση του ενζύμου γλυκουρονυλ-τρανσφεράση. Η χολερυθρίνη αυτή ονομάζεται συζευγμένη χολερυθρίνη ή άμεση χολερυθρίνη. Ο ίκτερος είναι κλινικά ανιχνεύσιμος όταν η τιμή της χολερυθρίνης είναι πάνω από 2 mg/dl. Στις χρόνιες ηπατοπάθειες, η καταστροφή του ηπατικού παρεγχύματος οδηγεί σε αδυναμία σύζευξης της χολερυθρίνης και εναπόθεσής της στους ιστούς. Όταν ο ίκτερος συνυπάρχει με χολόσταση, οι ασθενείς παρουσιάζουν κνησμό, που οφείλεται στη συσσώρευση χολικών αλάτων.(59)

### **A 6.4 Αυτόματη βακτηριακή περιτονίτιδα**

Πρόκειται για μια οξεία επιπλοκή των χρόνιων ηπατοπαθειών. Οφείλεται σε παθολογική βακτηριακή αλλόθεση από τον εντερικό αυλό (*E. coli*, *Klebsiella*, *Streptococcus pneumonia*). Η λοίμωξη επεκτείνεται από το ασκитικό υγρό στο περιτόναιο, προκαλώντας φλεγμονή. Η αυτόματη βακτηριακή περιτονίτιδα παρουσιάζεται συνήθως με πυρετό και κοιλιακό άλγος.(60)

### **A 6.5 Υπεροιστρογοναιμία**

Στις χρόνιες ηπατοπάθειες, παρατηρείται διαταραχή στον καταβολισμό των οιστρογόνων, που οδηγεί σε αύξηση της συγκέντρωσής τους. Η αύξηση αυτή

αντανακλάται κλινικά στην παρουσία παλαμιαίου ερυθήματος και αραχνοειδών αγγειωμάτων (ένα κεντρικό αρτηριόλιο από το οποίο εκκινούν λεπτά αγγεία, που εξαφανίζονται όταν πιεσθεί το κεντρικό αγγείο). Οι άνδρες μπορεί να παρουσιάσουν επίσης γυναικομαστία και ατροφία των όρχεων.(61)

## **A 6.6 Ηπατονεφρικό σύνδρομο**

Πρόκειται για λειτουργική νεφρική ανεπάρκεια, που παρατηρείται σε άτομα με βαριά ηπατική ανεπάρκεια, πυλαία υπέρταση και ασκίτη και χαρακτηρίζεται από διαταραχή της νεφρικής λειτουργίας, αγγειοδιαστολή και υπόταση στην σπλαχνική κυκλοφορία και αγγειοσύσπαση και ελάττωση της σπειραματικής διήθησης στο νεφρό. Η διάγνωση του ηπατονεφρικού συνδρόμου σχετιζόμενου με οξεία νεφρική βλάβη, τίθεται με βάση τα κριτήρια του International Club of Ascites (Πίνακας 13)(62)

<b>Διαγνωστικά κριτήρια ηπατονεφρικού συνδρόμου σχετιζόμενου με οξεία νεφρική βλάβη</b>
<b>Κίρρωση με ασκίτη</b>
Αύξηση της βασικής κρεατινίνης ορού, $\geq 0.3\text{mg/dl}$ εντός 48 ωρών ή αύξηση της βασικής κρεατινίνης ορού $\geq 50\%$ από τη βασική τιμή εντός 7 ημερών.
<b>Απουσία καταπληξίας</b>
Μη ανταπόκριση της νεφρικής λειτουργίας 2 ημέρες μετά τη διακοπή των διουρητικών και την αύξηση του όγκου πλάσματος με αλβουμίνη (1gr/kg βάρους σώματος)
<b>Αποκλεισμός τρέχουσας/πρόσφατης λήψης νεφροτοξικών φαρμάκων (ΜΣΑΦ, αμινογλυκοσίδες, σκιαγραφικά μέσα)</b>
<b>Απουσία δομικής νεφρικής βλάβης:</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Απουσία πρωτεϊνουρίας (&lt;500mg/ημέρα)</i></li> <li>• <i>Απουσία μικροσκοπικής αιματουρίας (&lt;50/οπτικό πεδίο)</i></li> <li>• <i>Φυσιολογικό υπερηχογράφημα νεφρών</i></li> </ul>

**Πίνακας 13: Διαγνωστικά κριτήρια ηπατονεφρικού συνδρόμου σχετιζόμενου με οξεία νεφρική βλάβη.** (τροπ. από Acevedo JA et al, World J Hepatol 2017; 9: 293–99.)(62) ΜΣΑΦ: μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα

### A 6.7 Διαταραχές της αιμόστασης

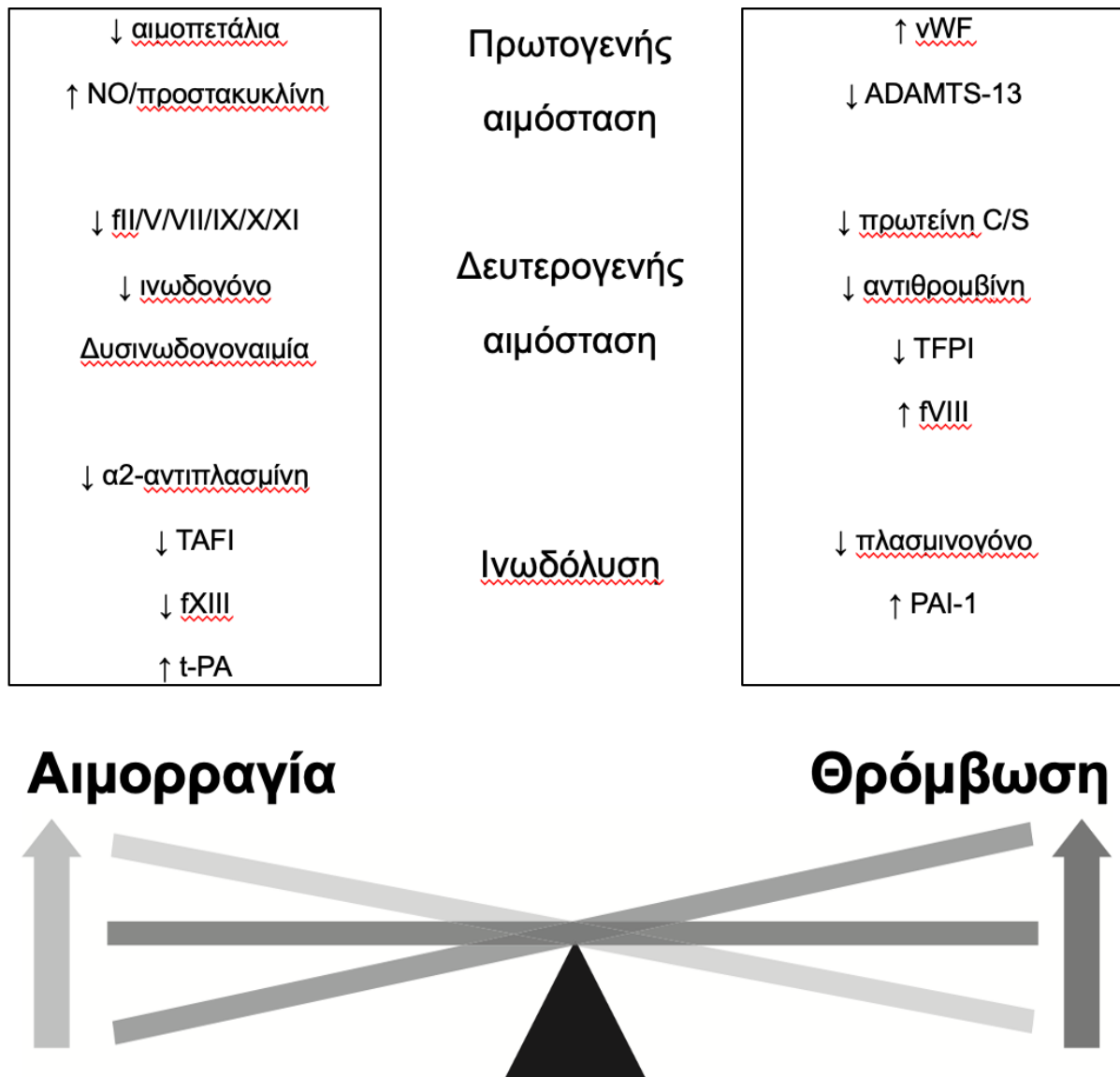
Το ήπαρ αποτελεί τον τόπο σύνθεσης και κάθαρσης των περισσότερων προπηκτικών και αντιπηκτικών παραγόντων της πήξης και της ινωδόλυσης (Πίνακας 14).(63)

Προπηκτικοί	Αντιπηκτικοί	Ινωδολυτικοί	Αντι-ινωδολυτικοί
Ινωδογόνο	Πρωτεΐνη C	Πλασμινογόνο	PAI-1
Προθρομβίνη	Πρωτεΐνη S		α-1-αντιπλασμίνη
Παράγοντας V	TFPI		TAFI
Παράγοντας VII	Αντιθρομβίνη		
Παράγοντας VIII (κολποειδή)			
Παράγοντας IX			
Παράγοντας XI			
Παράγοντας XII			
Παράγοντας XIII			
Θρομβοποιητίνη			

**Πίνακας 14: Ο ρόλος του ήπατος στην αιμόσταση: παράγοντες πήξης που παράγονται στο ήπαρ.** (τροπ. από Webster C, Vet Clin North Am Small Anim Pract 2017; 47: 601-15)(63) PAI-1: αναστολέας-1 του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου; TAFI: αναστολέας της ινωδόλυσης που ενεργοποιείται από τη θρομβίνη; TFPI: αναστολέας της οδού του ιστικού παράγοντα;

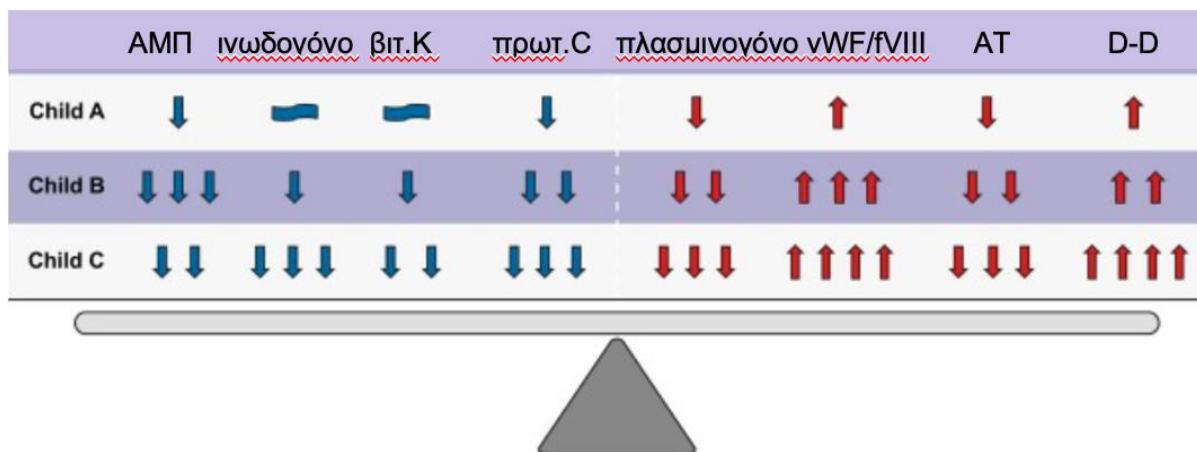
Οι ασθενείς με χρόνιες ηπατοπάθειες παρουσιάζουν παράταση των χρόνων πήξης (χρόνος προθρομβίνης-PT/INR και χρόνος ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης-APTT). Η παράταση των κλασσικών αυτών εργαστηριακών εξετάσεων δεν αντανάκλα το αιμοστατικό προφίλ του χρόνιου ηπατοπαθούς, αφού δίνει τη λανθασμένη εντύπωση ότι ο ασθενής παρουσιάζει αποκλειστικά αιμορραγική διάθεση.(64) Στην πραγματικότητα οι ασθενείς αυτοί διατηρούν μια “επισφαλή” αιμοστατική ισορροπία, λόγω των αλλαγών στη συγκέντρωση

τόσο των προπηκτικών όσο και των αντιπηκτικών παραγόντων, με αποτέλεσμα να κινδυνεύουν όχι μόνο από αιμορραγικές, αλλά και από θρομβωτικές επιπλοκές (Εικόνα 10).(65)



**Εικόνα 10: Νέα αιμοστατική ισορροπία στη χρόνια ηπατοπάθεια.** Οι αλλαγές στους προπηκτικούς και αντιπηκτικούς παράγοντες στη χρόνια ηπατική νόσο, μεταβάλλουν την ισορροπία του μηχανισμού της αιμόστασης (τροπ. από Northup P et al, Liver Transpl 2018; 24: 1119–32).(65) fII: παράγοντας II; NO: μονοξείδιο του αζώτου; PAI-1: αναστολέας-1 του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου; TAFI: αναστολέας της ινωδόλυσης που ενεργοποιείται από τη θρομβίνη; TFPI: αναστολέας της οδού του ιστικού παράγοντα; tPA: ιστικός ενεργοποιητής του πλασμινογόνου; vWF: παράγοντας von Willebrand.

Η νέα αυτή “επισφαλής” ισορροπία, μεταβάλλεται με την εξέλιξη της ηπατικής νόσου, δεδομένης της διαρκώς επιδεινούμενης ηπατικής ανεπάρκειας. Το προφίλ της νέας ισορροπίας συναντάται κυρίως σε ασθενείς με αντιρροπούμενη κίρρωση. Οι ασθενείς αυτοί σπάνια αιμορραγούν αυτόματα και τα αιμορραγικά επεισόδια (πχ. ρήξη κιστών οισοφάγου) είναι αποτέλεσμα περισσότερο της πυλαίας υπέρτασης και λιγότερο των αιμοστατικών διαταραχών.(66) Σε αυτούς τους ασθενείς, η συχνότερη αιτία αιμορραγικών επεισοδίων είναι οι μηχανικές επιπλοκές επεμβατικών τεχνικών, οι οποίες συνήθως υποχωρούν χωρίς ειδική θεραπεία. Αντίθετα, στη μη-αντιρροπούμενη κίρρωση, ιδίως σε ασθενείς με ασκίτη και ασθενείς με οξεία επί χρονίας ηπατική ανεπάρκεια, παρατηρείται σοβαρή συστηματική φλεγμονώδης αντίδραση λόγω της βακτηριακής αλλόθεσης, που οδηγεί σε οργανική ανεπάρκεια, νεφρική βλάβη και διατάραξη της νέας αιμοστατικής ισορροπίας.(67) Αυτοί οι ασθενείς παρουσιάζουν διαταραχή της αιμοστατικής ικανότητας, με αποτέλεσμα τη συνεχή αύξηση του αιμορραγικού κινδύνου (αυτόματες αιμορραγίες και σχετιζόμενες με επεμβατικές τεχνικές), που δεν αντανakλάται στις αλλαγές των κλασσικών εργαστηριακών εξετάσεων της πήξης. Πρόσφατα, οι λοιμώξεις και η οξεία νεφρική βλάβη αναγνωρίστηκαν ως επιπλέον παράγοντες κινδύνου, που οδηγούν στη διατάραξη της επισφαλούς αιμοστατικής ισορροπίας των κίρρωτικών ασθενών. Πιθανοί υποκείμενοι μηχανισμοί είναι η αυξημένη ινωδολυτική δραστηριότητα και οι αλλαγές στη λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων λόγω της νεφρικής δυσλειτουργίας και της απελευθέρωσης ενδογενών ηπαρινοειδών κατά τη διάρκεια των λοιμώξεων.(68) (Εικόνα 11)



**Εικόνα 11: Η αιμοστατική ισορροπία στην κίρρωση, αναλόγως του Child-Pugh score.** Οι συγκεντρώσεις των προπηκτικών και αντιπηκτικών παραγόντων μεταβάλλονται με την πρόοδο της ηπατικής νόσου (τροπ. από Turco L et al, JHEP Rep 2019; 1:227-239).(69) ΑΜΠ: αιμοπετάλια; ΑΤ: αντιθρομβίνη; βιτ.Κ: βιταμίνη Κ; πρωτ C: πρωτεΐνη C; D-D: δ-διμερή; vWF/fVIII: παράγοντας von Willebrand/ παράγοντας VIII.

## Α7 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ

Η φλεγμονή και καταστροφή του ηπατικού παρεγχύματος, που παρατηρείται τις χρόνιες ηπατοπάθειες, οδηγούν στην απελευθέρωση ασπαρτικής (AST) και αλανινικής αμινοτρανσφεράσης (ALT) και άρα στις αυξημένες τιμές τους στο αίμα. Οι AST και ALT είναι συνήθως αυξημένες 2 με 3 φορές πάνω από τα φυσιολογικά όρια, αλλά οι φυσιολογικές τιμές δεν αποκλείουν την παρουσία κίρρωσης. Στις χολοστατικές παθήσεις παρατηρείται επίσης αύξηση των χολοστατικών ενζύμων (πχ αλκαλική φωσφατάση-ALP στην πρωτοπαθή χολική χολαγγειίτιδα). Η άμεση χολερυθρίνη είναι συχνά αυξημένη, είτε στα πλαίσια παρεγχυματικής ηπατικής βλάβης, είτε λόγω απόφραξης.(70)

Λόγω της ηπατοκυτταρικής ανεπάρκειας, στους κίρρωτικούς ασθενείς παρατηρείται υπαλβουμιναιμία, παράταση χρόνων πήξης και αύξηση των επιπέδων της αμμωνίας.(71)

Στην περίπτωση παρουσίας ασκίτη, η διαγνωστική παρακέντηση είναι απαραίτητη για τον προσδιορισμό της φύσης του. Η αρχική εργαστηριακή

διερεύνηση περιλαμβάνει τη μέτρηση των λευκών αιμοσφαιρίων και τον τύπο τους, την αναζήτηση ερυθρών αιμοσφαιρίων, τη μέτρηση των ολικών λευκωμάτων και της αλβουμίνης. Ανεξάρτητα από την κλινική εικόνα, γίνεται πάντα καλλιέργεια του υγρού (σε φιαλίδια αιμοκαλλιιεργειών). Συνολικός αριθμός λευκών αιμοσφαιρίων  $>500/\text{microliter}$  ή πολυμορφοπύρηνων  $>250/\text{microliter}$ , είναι στοιχεία ενδεικτικά λοίμωξης. Τα ερυθρά αιμοσφαίρια στον κίρρωτικό ασκίτη είναι συνήθως  $<1000/\text{microliter}$ , ενώ αύξηση του αριθμού τους παρατηρείται στον καρδιακό, τον φυματιώδη και τον χυλώδη ασκίτη. Ο προσδιορισμός της κλίσης αλβουμίνης (Serum Ascites Albumin Gradient-SAAG), διακρίνει τον ασκίτη που οφείλεται σε πυλαία υπέρταση (εάν  $\text{SAAG} \geq 1.1\text{g/dl}$ ) από τον ασκίτη άλλης αιτιολογίας ( $\text{SAAG} < 1.1\text{g/dl}$ ). Σε περιπτώσεις πυλαίας υπέρτασης, η τιμή των ολικών λευκωμάτων του υγρού  $>2.5\text{g/dL}$  δηλώνει την παρουσία φυσιολογικών ηπατικών κολλοειδών που επιτρέπουν τη δίοδο πρωτεϊνών στο ασκίτικο υγρό, άρα ο ασκίτης οφείλεται σε καρδιακή ανεπάρκεια ή σε κώλυμα στο επίπεδο των ηπατικών φλεβών και όχι σε ενδοηπατικά αίτια. Περαιτέρω εργαστηριακός έλεγχος του ασκίτικού υγρού πραγματοποιείται βάσει ενδείξεων.(72)

Η μέτρηση της α-εμβρυϊκής σφαιρίνης (AFP), έχει θέση στην περίπτωση υποψίας ηπατοκυτταρικού καρκινώματος (ΗΚΚ). Τα επίπεδα της βρίσκονται αυξημένα σε κάθε κατάσταση που συνοδεύεται από αναγέννηση των ηπατοκυττάρων και στην περίπτωση παραγωγής της από κάποιο νεόπλασμα. Συχνά ανευρίσκεται αυξημένη στη χρόνια ηπατίτιδα C (επίπεδα μεταξύ 200-300 ng/mL), όπου τα επίπεδά της παρουσιάζουν διακυμάνσεις, σε αντίθεση με τον ηπατοκυτταρικό καρκίνο, όπου αυξάνονται προοδευτικά. Άλλες καταστάσεις που συνδέονται με αυξημένες τιμές AFP είναι η φάση ανάπλασης μετά από τμηματική ηπατεκτομή, η αναγέννηση μετά από τοξική βλάβη και η φάση ορομετατροπής στην ιογενή ηπατίτιδα Β. Η αύξησή της σε τιμές άνω των 400 ng/mL, στο κατάλληλο κλινικό πλαίσιο και με τα αντίστοιχα απεικονιστικά



ευρήματα, σχετίζεται με τη διάγνωση ΗΚΚ με ειδικότητα της τάξης του 75-91%.(73)

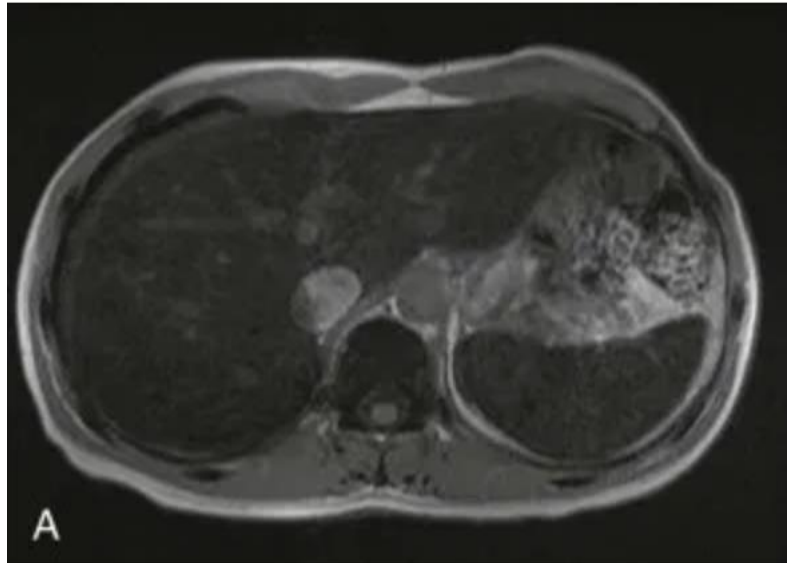
## Α8 ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

- **Ο υπέρηχος κοιλίας**, αποτελεί την πιο κοινή, προσβάσιμη και οικονομική απεικονιστική μέθοδο που χρησιμοποιείται στη διάγνωση και παρακολούθηση των χρόνιων ηπατοπαθειών. Προσφέρει πληροφορίες για το μέγεθος του ήπατος και του σπλήνα, την ηχογένεια του παρεγχύματος, την παρουσία όζων και την παρουσία ασκίτη. Είναι δυνατή η μέτρηση της διαμέτρου της ηπατικής φλέβας (ως έμμεσος τρόπος εκτίμησης της παρουσίας πυλαίας υπέρτασης), καθώς και η απεικόνιση θρόμβου εντός της πυλαίας και της ηπατικής φλέβας. Η χρήση ενδοφλέβιας σκιαγραφικής ουσίας, επιτρέπει τον λεπτομερέστερο χαρακτηρισμό των εστιακών βλαβών του ήπατος (Εικόνα 12).(74)



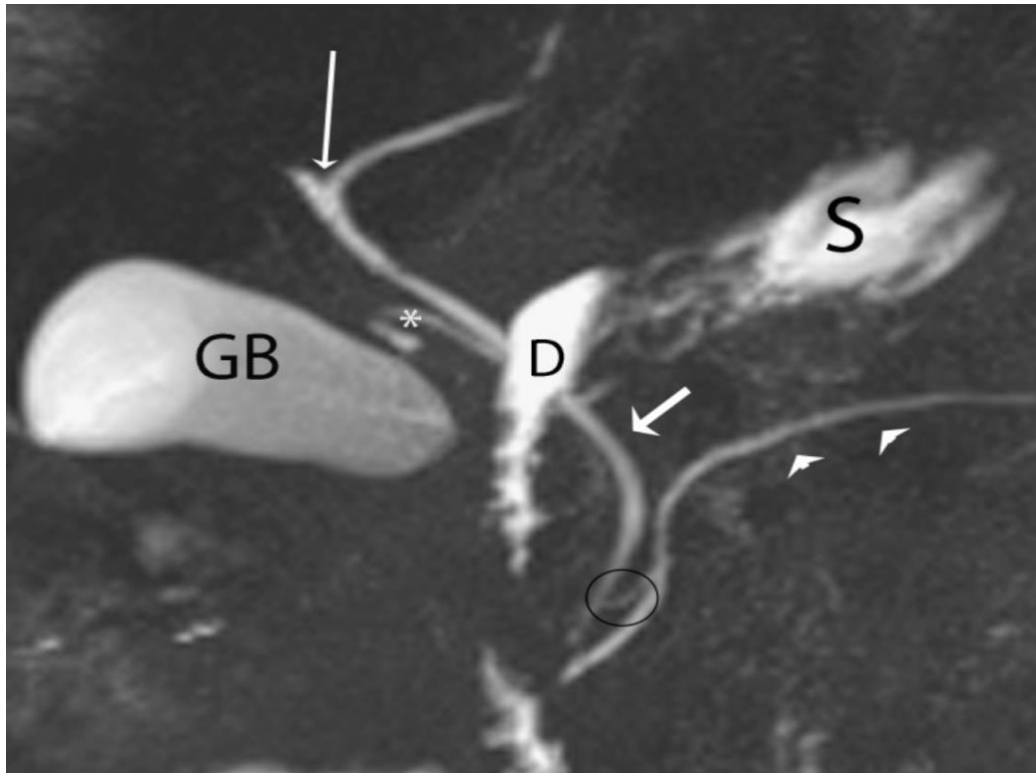
**Εικόνα 12: Υπερηχογράφημα ήπατος.** Αιμαγγείωμα ήπατος όπως απεικονίζεται με απλό υπερηχογράφημα (αριστερά) και μετά από έγχυση ενδοφλέβιας σκιαγραφικής ουσίας(δεξιά). (<http://icus-society.org/liver/>)(75)

- **Το έγχρωμο Doppler** βοηθά στην αξιολόγηση των αγγείων του ήπατος και του σπληνοπυλαίου άξονα (διάγνωση συνδρόμου Budd-Chiari, θρόμβωσης της πυλαίας φλέβας).(74)
- **Η ελαστογραφία ήπατος** αποτελεί μια μη επεμβατική τεχνική που πραγματοποιείται είτε με βάση τις αρχές των υπερήχων (Fibroscan, Point Shear Wave Elastography-pSWE, 2D-Shear Wave Elastography-2D-SWE), είτε με βάση τις αρχές του μαγνητικού συντονισμού. Εκτιμά την ηπατική δυσκαμψία.(76) Ο συνδυασμός της ελαστογραφίας και βιοδεικτών που χρησιμοποιούνται για την πρόβλεψη του βαθμού της ηπατικής ίνωσης (Κεφ. Β3), μειώνουν την ανάγκη διενέργειας βιοψίας ήπατος, βοηθούν στην πρόβλεψη της νοσηρότητας και της θνητότητας καθώς και στον καθορισμό της θεραπείας και του τρόπου παρακολούθησης των ασθενών που πάσχουν από χρόνιες ηπατοπάθειες.(77)
- **Η αξονική τομογραφία** αναδεικνύει εστιακές βλάβες στο ήπαρ και απόφραξη στο σύστημα των χοληφόρων. Η πολυτομική αξονική τομογραφία με χρήση ενδοφλέβιου σκιαγραφικού και μελέτη τριών φάσεων (όψιμη αρτηριακή, πυλαιοφλεβική και καθυστερημένη), αποτελεί την εξέταση εκλογής για την ανίχνευση και τον χαρακτηρισμό εστιακών αλλοιώσεων του ήπατος.(78)
- **Η μαγνητική τομογραφία** χρησιμοποιείται για την ανίχνευση και τον χαρακτηρισμό εστιακών αλλοιώσεων του ήπατος. Παρέχει επίσης μορφολογικές και λειτουργικές πληροφορίες στις περιπτώσεις διάχυτων ηπατοπαθειών (Εικόνα 13).(79)



**Εικόνα 13: Εικόνα αιμοσιδήρωσης σε μαγνητική τομογραφία ήπατος.** T1 ακολουθία που αναδεικνύει μείωση της έντασης του σήματος στο ήπαρ και στο σπλήνα εξαιτίας της εναπόθεσης σιδήρου στα κύτταρα Kupffer του ήπατος και στα δικτυοενδοθηλιακά κύτταρα του σπλήνα. (<https://radiologykey.com/diffuse-liver-disease-4/>)(80)

- **Η μαγνητική χολαγγειοπαγκρεατογραφία (MRCP)** χρησιμοποιείται για την ανάδειξη χολαγγειοπαθειών καθώς και παθήσεων των παγκρεατικών πόρων. Δεν απαιτεί την έγχυση σκιαγραφικής ουσίας (Εικόνα 14).(81)



**Εικόνα 14: Φυσιολογική ανατομία στην MRCP.** Η συμβολή του δεξιού και του αριστερού ενδοηπατικού πόρου στη δημιουργία του κοινού ηπατικού πόρου (μακρύ, λεπτό βέλος). Ο κυστικός πόρος (\*) συνήθως συναντά τη δεξιά πλευρά του κοινού ηπατικού πόρου και δημιουργεί τον κοινό χοληδόχο πόρο (κοντό βέλος). Ο κύριος παγκρεατικός πόρος (κεφαλές βελών), παροχετεύεται μαζί με τον κοινό χοληδόχο πόρο στη μείζονα δωδεκαδακτυλική θηλή. Ένας επικουρικός παγκρεατικός πόρος (μαύρος κύκλος), παροχετεύεται στην ελάσσονα δωδεκαδακτυλική θηλή. Οι δομές που περιέχουν υγρό, όπως η χοληδόχος κύστη (GB), το δωδεκαδάκτυλο (D) και ο στόμαχος (S), απεικονίζονται καλύτερα στην T2 ακολουθία με το δωδεκαδάκτυλο να σκιάζει μέρος του χοληφόρου δένδρου. (Griffin et al, Insights Imaging 2011; 3: 11-21) (81) GB: χοληδόχος κύστη; D: δωδεκαδάκτυλο; S: στόμαχος

- **Το ηλεκτροεγκεφαλογράφημα (ΗΕΓ)** χρησιμοποιείται στις περιπτώσεις ηπατικής εγκεφαλοπάθειας. Διαπιστώνεται αρχικά επικράτηση βραδέων κυμάτων (συμμετρικό, βραδύ κύμα υψηλής τάσης, 2-5Hz) στους μετωπιαίους λοβούς, τα οποία αργότερα επεκτείνονται και σε άλλες περιοχές. Στο στάδιο IV παρατηρούνται βραδέα κύματα δέλτα. Ωστόσο, οι αλλαγές στο ΗΕΓ δεν είναι αρκετά τυπικές ώστε να είναι χρήσιμο στη

διαφοροδιάγνωση της ηπατικής εγκεφαλοπάθειας από άλλες καταστάσεις.(82)

- **Η βιοψία ήπατος**, αποτελεί τη μέθοδο εκλογής για τη διάγνωση των χρόνιων ηπατοπαθειών. Η χρήση της σήμερα έχει ελαττωθεί, λόγω των πιθανών επιπλοκών που ενέχει, καθώς και της βελτίωσης των υπόλοιπων απεικονιστικών και μη-επεμβατικών διαγνωστικών μεθόδων. Ενδείκνυται όταν τα αποτελέσματά της ιστοπαθολογικής μελέτης της βιοψίας, αναμένεται να καθορίσουν τη θεραπευτική αντιμετώπιση. Η βιοψία ήπατος μπορεί να πραγματοποιηθεί διαδερμικά, διασφαγιτιδικά ή λαπαροσκοπικά.(83)

## **A9 ΠΡΟΓΝΩΣΗ**

Η πρόγνωση των χρόνιων ηπατοπαθειών εξαρτάται από τη βαρύτητα της νόσου, όπως αυτή καθορίζεται από τα συστήματα βαθμολόγησής της. Τα συχνότερα χρησιμοποιούμενα συστήματα βαθμολόγησης είναι το Child-Pugh score και το MELD score. Για παράδειγμα, η μέση επιβίωση είναι περίπου 6 μήνες για ασθενείς που παρουσιάζουν Child-Pugh score  $\geq 12$  ή MELD score  $\geq 21$ .

1. Στο **Child-Pugh score** (πίνακας 14) η βαρύτητα της νόσου αξιολογείται βάσει των τιμών της χολερυθρίνης, της αλβουμίνης, του χρόνου προθρομβίνης και της παρουσίας ασκίτη και εγκεφαλοπάθειας. Η βαθμολογία που προκύπτει από το άθροισμα των μεμονωμένων τιμών των μεταβλητών επιτρέπει την κατηγοριοποίηση των ασθενών σε 3 ομάδες:

- Class A (score 5-6): αντιρροπούμενη/ήπια νόσος.
- Class B (score 7-9): λειτουργική επιβάρυνση/μέτριας βαρύτητας νόσος
- Class C (score 10-15): μη-αντιρροπούμενη/βαριά νόσος (84)

CHILD-PUGH score			
Ομάδα	A	B	C
Χολερυθρίνη (mg/dl)	<2.0	2.0-3.0	>3.0
Αλβουμίνη (g/l)	>35	30-35	<35
Ασκίτης	Απών	Ελεγχόμενος	Ανθεκτικός
Εγκεφαλοπάθεια	Απούσα	Μέτρια	Προχωρημένη
Παράταση PT(sec)	1-3	4-6	>6

**Πίνακας 14: Το Child-Pugh score.** (τροπ. από Pugh RJ et al, The Br J Surg 1973; 60: 646-49) (84)<sup>84</sup>

2. Στο **MELD score** (model of end-stage liver disease) η βαρύτητα της νόσου αξιολογείται βάσει των τιμών της χολερυθρίνης, της κρεατίνης του ορού, και του INR. Το MELD score χρησιμοποιήθηκε αρχικά για την πρόβλεψη της επιβίωσης ασθενών μετά από τη διασφαγιτιδική ενδοηπατική πυλαιοσυστηματική αναστόμωση (TIPS). Σήμερα χρησιμοποιείται για την ιεράρχηση της διάθεσης των μοσχευμάτων. Το MELD score προβλέπει τη θνησιμότητα τόσο σε νοσοκομειακούς όσο και περιπατητικούς ασθενείς με κίρρωση, εφαρμόζεται ανεξαρτήτως της αιτιολογίας και της σοβαρότητας της κίρρωσης και είναι ένα χρήσιμο score για την αξιολόγηση της βραχυπρόθεσμης επιβίωσης (Πίνακας 15). Παρ' όλα αυτά δεν είναι ένα καθολικό, απόλυτα ακριβές μοντέλο, αφού σε ένα ποσοστό 15-20% των ασθενών, δεν μπορεί να προβλέψει με ακρίβεια την επιβίωση.(85)

Το τρέχον μοντέλο που χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό του MELD είναι:

$$\text{MELD}(i) = 0.957 \times \ln(\text{Cr}) + 0.378 \times \ln(\text{bilirubin}) + 1.120 \times \ln(\text{INR}) + 0.643$$

Το αποτέλεσμα στρογγυλοποιείται στο 10<sup>ο</sup> δεκαδικό ψηφίο και πολλαπλασιάζεται επί 10.

Εάν MELD(i) > 11, υπολογίζεται εκ νέου με βάση το μοντέλο:

$$\text{MELD} = \text{MELD}(i) + 1.32 \times (137 - \text{Na}) - [ 0.033 \times \text{MELD}(i) \times (137 - \text{Na}) ]$$

MELD Score	Θνησιμότητα στους 3 μήνες
≤9	1.9%
10-19	6.0%
20-29	19.6%
30-39	52.6%
≥40	71.3%

**Πίνακας 15: Ποσοστά θνησιμότητας στους 3 μήνες, αναλόγως της βαθμολογίας του MELD score.** (τροπ. από Aiello FI et al, AME Med J 2017; 2)(86)

## **B. Η ΜΗ ΑΛΚΟΟΛΙΚΗ ΛΙΠΩΔΗΣ ΝΟΣΟΣ ΤΟΥ ΗΠΑΤΟΣ**

### **B1 ΟΡΙΣΜΟΣ**

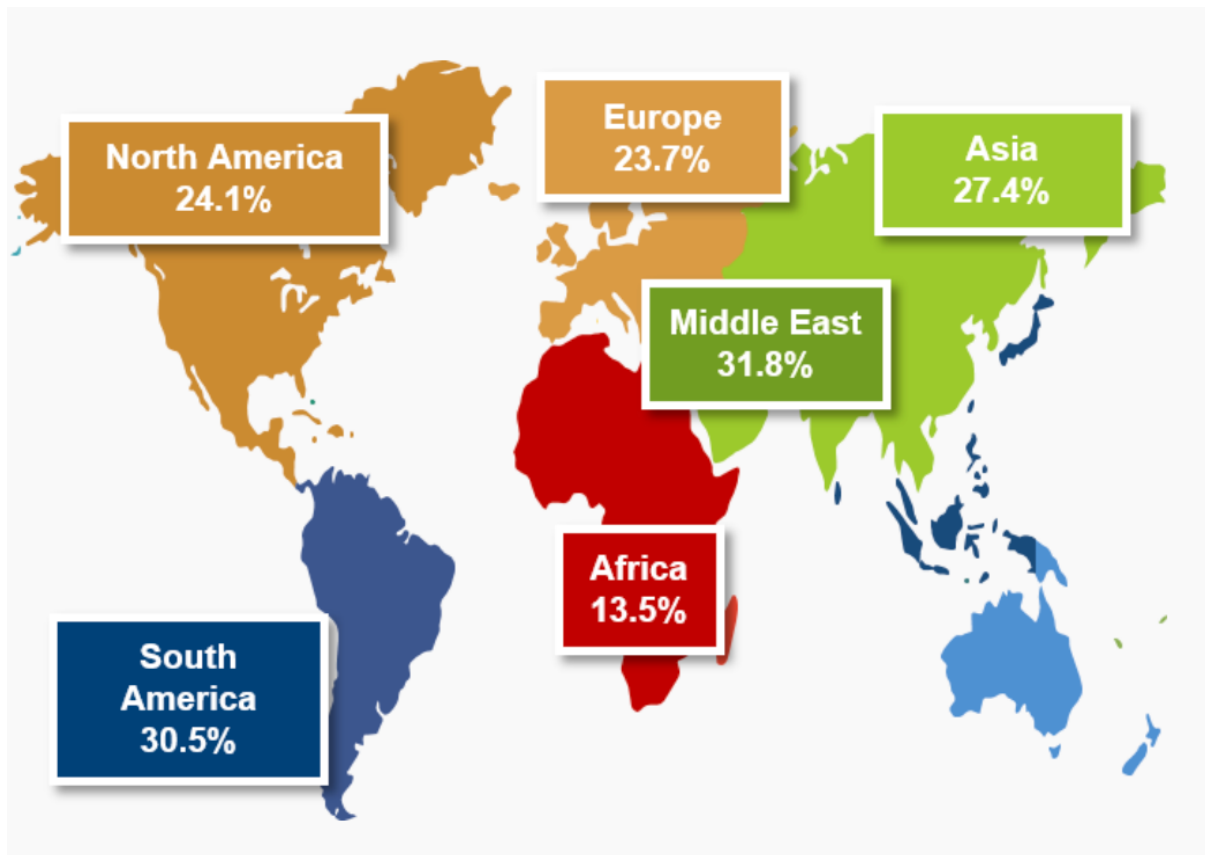
Η μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος-ΜΑΛΝΗ (Non-alcoholic fatty liver disease-NAFLD) περιλαμβάνει ένα φάσμα ηπατοπαθειών που εκτείνεται από την απλή στεάτωση και τη μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα-ΜΑΣΗ (non-alcoholic steatohepatitis-NASH), μέχρι την ίνωση, την κίρρωση και σε ορισμένες περιπτώσεις τον ηπατοκυτταρικό καρκίνο.(87,88)

Ιστολογικά, η ΜΑΛΝΗ χαρακτηρίζεται από την παρουσία στεάτωσης σε ποσοστό τουλάχιστον 5% των ηπατοκυττάρων, χωρίς να συνυπάρχουν ενδείξεις ηπατοκυτταρικής βλάβης (απουσία διόγκωσης των ηπατοκυττάρων-ballooning). Στη ΜΑΣΗ, η ηπατοκυτταρική βλάβη είναι παρούσα με τη μορφή της φλεγμονής και της διόγκωσης των ηπατοκυττάρων, ενώ μπορεί να συνυπάρχει και ίνωση.(89)

## **B2 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΜΑΛΝΗ**

Η ΜΑΛΝΗ αποτελεί πλέον τη συχνότερη αιτία χρόνιας ηπατοπάθειας στο δυτικό κόσμο. Ο επιπολασμός της νόσου φτάνει το 25% στους ενήλικες(90) και το 10% στα παιδιά (Εικόνα 15).(91) Σε διαβητικούς ή παχύσαρκους ασθενείς το ποσοστό αυξάνεται μεταξύ 70% και 90%.(92) Σε αντίθεση με το δυτικό κόσμο, στοιχεία από την Ασία δείχνουν ότι μέρος των ασθενών με ΜΑΛΝΗ, ιδίως από τις υπαίθριες περιοχές, δεν πάσχουν από σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 ή παχυσαρκία και παρουσιάζουν την αναφερόμενη ως «ισχνή ΜΑΛΝΗ» (lean NAFLD).(93) Συχνότερα, αφορά σε άτομα ηλικίας 40-60 ετών.(94) Δεν παρατηρείται διάκριση με βάση το φύλο, αν και αρκετές μελέτες υποστηρίζουν ότι είναι συχνότερη στους άνδρες.(95) Δεδομένης της συνεχούς αύξησης των ποσοστών παχυσαρκίας και σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 στο δυτικό κόσμο, ο επιπολασμός της ΜΑΛΝΗ αναμένεται να αυξηθεί ακόμα περισσότερο τις επόμενες δεκαετίες, προκαλώντας σοβαρή οικονομική επιβάρυνση στα συστήματα υγείας.(96) Στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής, η ΜΑΛΝΗ αναμένεται τα επόμενα 15 χρόνια να αναδειχθεί ως η κύρια αιτιολογία ηπατοκυτταρικού καρκινώματος και βασική ένδειξη ηπατικής μεταμόσχευσης.





**Εικόνα 15:** Παγκόσμιος επιπολασμός της μη-αλκοολικής λιπώδους νόσου του ήπατος. (Younossi Z et al, Hepatology 2019; 69: 2672-82) (93)

### **B3 ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ ΤΗΣ ΜΑΛΝΗ**

Οι ασθενείς με ΜΑΛΝΗ είναι κατά βάση ασυμπτωματικοί, με αποτέλεσμα η διάγνωση να τίθεται πολλές φορές αφού η νόσος έχει ήδη φτάσει σε προχωρημένο στάδιο.(2) Επί του παρόντος δεν συστήνεται καθολικός έλεγχος του πληθυσμού για παρουσία ΜΑΛΝΗ, δεδομένου του υψηλού κόστους, της έλλειψης μη-αιματηρών διαγνωστικών μεθόδων υψηλής διαγνωστικής αξίας και της έλλειψης αποτελεσματικής θεραπείας.(97)

Η συχνότερη και συνήθως η μόνη ανωμαλία που αναδεικνύει ο εργαστηριακός έλεγχος ασθενών με ΜΑΛΝΗ, είναι η παρουσία ήπιας ή μέτριας αύξησης των αμινοτρανσφερασών και της γGT. Η αύξηση των ηπατικών ενζύμων αφορά μόλις το 30% των ασθενών με ΜΑΛΝΗ, ακόμα και σε προχωρημένα στάδια

της νόσου, και άρα δεν αποτελεί ευαίσθητο δείκτη για την ανίχνευσή της.<sup>98(98)</sup> Ανεξάρτητα από τις τιμές των ηπατικών ενζύμων, η υποψία ΜΑΛΝΗ θα πρέπει να τίθεται σε όλους τους ασθενείς με επιβεβαιωμένους παράγοντες κινδύνου. Ως τέτοιοι, θεωρούνται οι παράγοντες του μεταβολικού συνδρόμου, δηλαδή η υπέρταση, η δυσλιπιδαιμία (υψηλά τριγλυκερίδια ή/και χαμηλή HDL), η αυξημένη γλυκόζη νηστείας και η κοιλιακή παχυσαρκία (Πίνακας 16).(99)

Κριτήρια	Διαγνωστικές τιμές
<b>Αυξημένη Περιφέρεια Μέσης*</b>	Διαφορετικός ορισμός ανά πληθυσμό/χώρα
<b>Αυξημένα τριγλυκερίδια/ φαρμακευτική αγωγή για αυξημένα τριγλυκερίδια†</b>	≥150 mg/dL
<b>Μειωμένη HDL-C/ φαρμακευτική αγωγή για μειωμένη HDL-C†</b>	≤40 mg/dL στους άνδρες, ≤50 mg/dL στις γυναίκες
<b>Αυξημένη αρτηριακή πίεση/ αντιυπερτασική αγωγή</b>	Σ.Α.Π. ≥130 mm Hg και/ή Δ.Α.Π. ≥85 mm Hg
<b>Αυξημένο σάκχαρο νηστείας‡/ φαρμακευτική αγωγή για υπεργλυκαιμία</b>	≥100 mg/dL

**Πίνακας 16. Κριτήρια για την Κλινική Διάγνωση του Μεταβολικού Συνδρόμου.** (τροπ. από Alberti KGMM et al., *Circulation* 2009; 120: 1640–45).(99)

\*Για τους μη-ευρωπαϊκούς πληθυσμούς συστήνεται η χρήση των ορίων της IDF, ενώ για τα άτομα με ευρωπαϊκή καταγωγή, η χρήση των ορίων είτε της IDF είτε της AHA/NHLBI, μέχρι να υπάρχουν περισσότερα δεδομένα.

†Τα συχνότερα χρησιμοποιούμενα φάρμακα για τις αυξημένες τιμές τριγλυκεριδίων και τη μειωμένη HDL-C, είναι η φιβράτες και το νικοτινικό οξύ αντίστοιχα. Ασθενής που λαμβάνει ένα από αυτά τα φάρμακα, μπορεί να θεωρηθεί ότι έχει αυξημένα τριγλυκερίδια ή/και μειωμένη HDL-C. Η λήψη υψηλών δόσεων Ω-3 λιπαρών οξέων, συνεπάγεται αυξημένες τιμές τριγλυκεριδίων.

‡Οι περισσότεροι ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, πάσχουν από μεταβολικό σύνδρομο βάσει των προτεινόμενων κριτηρίων.

HDL-C: χοληστερόλη λιποπρωτεϊνών υψηλής πυκνότητας; Σ.Α.Π.: συστολική αρτηριακή πίεση; Δ.Α.Π.: διαστολική αρτηριακή πίεση; IDF: Παγκόσμια Οργάνωση για το Διαβήτη; AHA: Αμερικάνικη Καρδιολογική Εταιρεία; NHLBI: Εθνικό Ινστιτούτο Καρδιάς, Πνευμόνων και Αίματος.

Η διάγνωση της ΜΑΛΝΗ προϋποθέτει την ανεύρεση στεάτωσης του ήπατος και τον αποκλεισμό άλλων αιτιών χρόνια ηπατοπάθειας (Πίνακας 17). Ειδικότερα, καθώς τα ιστολογικά ευρήματα της ΜΑΛΝΗ ομοιάζουν με αυτά της αλκοολικής ηπατικής νόσου, πρέπει να αποκλειστεί η αυξημένη καθημερινή κατανάλωση οινοπνεύματος όπως και η έκθεση σε άλλους παράγοντες που προκαλούν στεάτωση (πχ παρεντερική διατροφή, φάρμακα). Στα αίτια που πρέπει να αποκλειστούν περιλαμβάνονται και άλλες χρόνιες ηπατοπάθειες, όπως οι ιογενείς ηπατίτιδες, η αυτοάνοση ηπατίτιδα και η αιμοχρωμάτωση.(100)

<b>Αίτια δευτεροπαθούς ηπατικής στεάτωσης</b>
<b>Ιογενής ηπατίτιδα (κυρίως ηπατίτιδα C-γονότυπος 3)</b>
<b>Αλκοολική νόσος του ήπατος: &gt;30 g αλκοόλ για τους άνδρες, &gt;20 g για τις γυναίκες</b>
<b>Φάρμακα: αμιωδαρόνη, κορτικοστεροειδή, μεθοτρεξάτη, ταμοξιφαίνη, συνθετικά οιστρογόνα, βαλπροϊκό οξύ, τετρακυκλίνη (IV), αναστολείς πρωτεάσης HIV</b>
<b>Άλλα νοσήματα: νόσος Wilson, αιμοχρωμάτωση, κοιλιοκάκη, υποθυρεοειδισμός</b>
<b>Μεταβολικές διαταραχές: ενδογενή μεταβολικά νοσήματα, νόσος αποθήκευσης εστέρων χοληστερόλης, έλλειψη LAL-D, έλλειψη LCAT, νόσοι αποθήκευσης γλυκογόνου, αβηταλιποπρωτεϊναιμία (νόσος Bassen-Kornzweig), σύνδρομο Reye.</b>
<b>Διατροφική κατάσταση: ασιτεία, παρεντερική σίτιση</b>
<b>Ειδικές καταστάσεις: κύηση, σύνδρομο HELLP</b>

**Πίνακας 17** Αίτια δευτεροπαθούς στεάτωσης. (τροπ. από Chalasani et al, Gastroenterology 142, no 7, 2012: 1592-609)(101)<sup>101</sup> LAL-D: λυσοσωμική όξινη λιπάση; LCAT: ακετυλοτρανσφεράση λεκιθίνης-χοληστερόλης

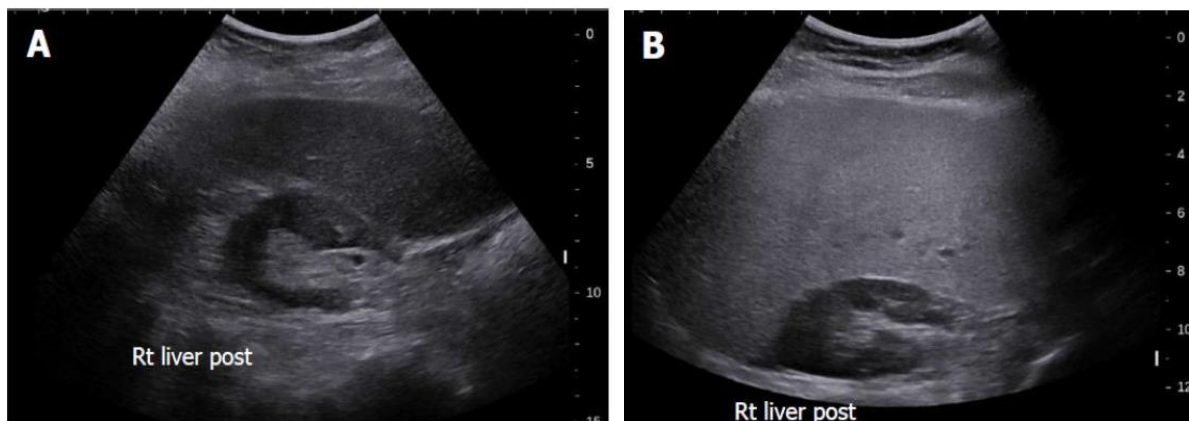
### **B 3.1 Απλή στεάτωση**

Η ιστολογική σταδιοποίηση της στεάτωσης στη ΜΑΛΝΗ, βασίζεται στην ημιποσοτική διαβάθμισή της σε 4 στάδια, από 0 έως 3 (πίνακας 18).(102) Όσον αφορά την απεικόνιση της ηπατικής στεάτωσης, η πλέον απλή και ευρέως διαθέσιμη μέθοδος θεωρείται το υπερηχογράφημα ήπατος, που χαρακτηρίζεται από 60-94% ευαισθησία και 66-97% ειδικότητα. Στο

υπερηχογράφημα, η λιπώδης διήθηση προκαλεί χαρακτηριστική αύξηση της ηχογένειας του ήπατος (λαμπρό, φωτεινό ήπαρ)(103,104) (Εικόνα 16). Πρέπει να σημειωθεί όμως, ότι η βέλτιστη ευαισθησία της μεθόδου επιτυγχάνεται όταν το ποσοστό στεάτωσης είναι τουλάχιστον 12.5%.(105)

Στάδιο	Ποσοστό στεάτωσης ηπατικού παρεγχύματος
S0	< 5 %
S1	5-33 %
S2	34-66%
S3	>66%

**Πίνακας 18: Σταδιοποίηση στεάτωσης στη ΜΑΛΝΗ κατά Brunt** (τροπ. από Brunt EM et al, Am J Gastroenterol 1999; 94: 2467-74).(102)



**Εικόνα 16: Υπερηχογράφημα ήπατος.** A: ασθενής με ΜΑΛΝΗ. Παρατηρείται αυξημένη ηχογένεια του ήπατος σε σχέση με τον (ΔΕ) νεφρό. B: υγιής μάρτυρας. Φυσιολογική ηχογένεια του ηπατικού παρεγχύματος, που διαφέρει ελάχιστα από αυτή του (ΔΕ) νεφρού. (Qian L et al, World J Hepatol 2018; 10: 530-542)(106) ΜΑΛΝΗ: μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος.

Η αξονική τομογραφία χαρακτηρίζεται από υψηλή διαγνωστική ακρίβεια όσον αφορά την ηπατική στεάτωση. Παρ' όλα αυτά, η συνοδός έκθεση σε ακτινοβολία και τα ανώτερης ποιότητας δεδομένα που λαμβάνονται με τη χρήση μεθόδων μαγνητικού συντονισμού, περιορίζουν τη χρήση της και την καθιστούν ακατάλληλη ως μέθοδο απεικόνισης της ηπατικής στεάτωσης.(107)

Η ελαστογραφία ήπατος (Fibroscan) με τη μέθοδο CAP (controlled attenuation-parameter) μπορεί να ανιχνεύσει χαμηλού βαθμού στεάτωση, χαρακτηρίζεται όμως από 72% ευαισθησία και 86% ειδικότητα.(108)

Ο συνδυασμός ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών και απλών ορολογικών δεικτών χρησιμοποιείται σε σκορ που χρησιμεύουν επίσης για την εκτίμηση της στεάτωσης. Οι Ευρωπαϊκές οδηγίες συστήνουν ως πιο έγκυρα σκορ εκτίμησης της στεάτωσης τα Fatty Liver Index (FLI)(109), SteatoTest(110) και NAFLD liver fat score(111) (Πίνακας 20).(112) Έχουν επικυρωθεί σε μελέτες γενικού πληθυσμού ή σε παχύσαρκους ασθενείς σταδίου 3 και μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την πρόβλεψη μεταβολικών, ηπατικών και καρδιαγγειακών επιπλοκών και της θνησιμότητας. Τα σκορ αυτά σχετίζονται με την ινσουλινοαντίσταση και μπορούν να προβλέψουν με αξιοπιστία την παρουσία στεάτωσης, όχι όμως τη βαρύτητά της. Λόγω της περιορισμένης διαγνωστικής τους ακρίβειας και του μεγάλου αριθμού ψευδώς θετικών διαγνώσεων, τα σκορ αυτά βρίσκουν κυρίως εφαρμογή σε μεγάλες πληθυσμιακές μελέτες.(113)

Η μαγνητική τομογραφία με πρωτόκολλο PDFF-protein density fat fraction (MRI-PDFF), αποτελεί την ακριβέστερη μέθοδο για την ποσοτική εκτίμηση της ηπατικής στεάτωσης. Παρά την υψηλή ακρίβειά της, το κόστος και η περιορισμένη διαθεσιμότητά της, εμποδίζουν τη χρήση της ως διαγνωστική μέθοδο ρουτίνας.(114)

### **B 3.2 Μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα**

Οι μη-επεμβατικές μέθοδοι επιτρέπουν τη διάγνωση της ηπατικής στεάτωσης. Δεν υπάρχουν όμως αξιόπιστοι μη-επεμβατικοί δείκτες για την αξιολόγηση της βαρύτητας της νόσου, τη διάγνωση της στεατοηπατίτιδας και κυρίως της μέτριας προς σοβαρής ίνωσης. Οι αυξημένες τιμές της ALT δεν αποτελούν

δείκτη βαρύτητας της νόσου και ακόμα και οι συγκεντρώσεις πάνω από δύο φορές της ανώτερης φυσιολογικής τιμής (>70 U/L), προβλέπουν την παρουσία στεατοηπατίτιδας με ευαισθησία μόλις 50% και ειδικότητα 61%.(115) Μεταξύ άλλων βιοδεικτών, τα επίπεδα ορού της κυτοκερατίνης-18, έχουν προταθεί ως αξιόπιστος δείκτης πρόβλεψης της παρουσίας στεατοηπατίτιδας σε ασθενείς με ΜΑΛΝΗ, έχουν όμως μέτρια διαγνωστική ακρίβεια, με 58% ευαισθησία και 68% ειδικότητα. Συνεπώς, η βιοψία ήπατος παραμένει ο μοναδικός αξιόπιστος τρόπος διάγνωσης και διάκρισης της στεατοηπατίτιδας από την απλή στεατώση.(116)

### **B 3.3 Ίνωση**

Για την ιστολογική αξιολόγηση της ίνωσης στη ΜΑΣΗ χρησιμοποιείται το σύστημα κατά NASH Clinical Research Network, ΝΙΗ, που περιλαμβάνει 5 στάδια. (Πίνακας 19).(117)

<b>Σταδιοποίηση ίνωσης</b>	
<b>F0</b>	απουσία ίνωσης
<b>F1</b>	<b>1a</b> λεπτή ΚΙ στη ζώνη 3
	<b>1b</b> πυκνή ΚΙ στη ζώνη 3
	<b>1c</b> Μόνο πυλαία ίνωση
<b>F2</b>	ΚΙ στη ζώνη 3+ πυλαία/ περιπυλαία ίνωση
<b>F3</b>	γεφυροποιός ίνωση
<b>F4</b>	κίρρωση

**Πίνακας 19: Σταδιοποίηση ίνωσης κατά NASH Clinical Research Network, ΝΙΗ.** (τροπ. από Kleiner DE et al, Hepatology 2005;41: 1313-21) ΚΙ: κολλοειδική ίνωση.(117)

Το κόστος και οι πιθανές επιπλοκές της βιοψίας ήπατος, περιορίζουν τη χρήση της. Η ίνωση παρ' όλα αυτά φαίνεται να είναι ο ισχυρότερος προγνωστικός

παράγοντας για τη θνησιμότητα από επιπλοκές της ηπατικής νόσου και άρα η σταδιοποίησή της είναι επιτακτική. Για το λόγο αυτό, έχουν αναπτυχθεί νέες, μη-επεμβατικές τεχνικές για τον προσδιορισμό της βαρύτητας της νόσου και του σταδίου της ίνωσης.(118) Έχουν προταθεί πολλοί αλγόριθμοι, βασισμένοι σε ανθρωπομετρικά στοιχεία, στη μέτρηση των τρανσαμινασών, λιπιδαιμικών παραμέτρων, των κλασμάτων της κυτοκερατίνης-18, της αδιπονεκτίνης, της ρεσιστίνης, χωρίς όμως όλοι να έχουν ευρεία εφαρμογή στην κλινική πράξη.(119) Οι ευρύτερα διαδεδομένοι δείκτες που χρησιμοποιούνται για τη σταδιοποίηση της ίνωσης είναι το NAFLD Fibrosis Score (NFS) (120) και το Fibrosis-4 Index (FIB-4) (121), που βασίζονται σε κλινικές παραμέτρους ρουτίνας και απλές βιοχημικές μετρήσεις. Οι δείκτες αυτοί έχουν ένα χαμηλό όριο διάκρισης για τον αποκλεισμό της προχωρημένης ίνωσης και ένα υψηλό, για τη διάγνωση της προχωρημένης ίνωσης, με αποτέλεσμα οι ασθενείς με ενδιάμεσες τιμές να μην δύνανται να ταξινομηθούν και να απαιτείται περαιτέρω διαγνωστική διερεύνηση. Όσων αφορά τη διάγνωση της προχωρημένης ίνωσης (στάδια F3–F4), έχουν σχετικά υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα, με μια συνολική θετική προγνωστική αξία της τάξης του 80% και αρνητική διαγνωστική αξία περίπου 90%.(97) Το ELF test (Enhanced Liver Fibrosis test), υπολογίζεται με τη μέτρηση πιο εξειδικευμένων ορολογικών δεικτών και δύναται να διαχωρίσει όλους τους βαθμούς ίνωσης (απούσα, μέτρια, προχωρημένη).(122) Στον πίνακα 20 παρατίθενται οι ευρύτερα χρησιμοποιούμενοι μη-επεμβατικοί δείκτες στεάτωσης και ίνωσης.

Δείκτες	Παράμετροι	Όρια
<b>Εκτίμηση στεάτωσης</b>		
<b>Fatty Liver Index (FLI)<sup>a</sup></b>	BMI, περίμετρος μέσης, τριγλυκερίδια, γGT	< 30 (S0) ≥ 60 (S1-S3)
<b>SteatoTest<sup>b</sup></b>	γGT, ALT, τριγλυκερίδια, ολική χοληστερόλη, BMI, ολική χολερυθρίνη, ApoA1, αποτοσφαιρίνη, α2μακροσφαιρίνη	0-0.38 (S0) 0.38-0.57 (S1) 0.57-0.69 (S2) 0.69-1.00 (S3)
<b>NAFLD Liver Fat Score<sup>c</sup></b>	ΜΣ, ΣΔ2, AST, ALT	<-0.640 (S0) ≥-0.640 (S1-S3)
<b>Εκτίμηση ίνωσης</b>		
<b>NAFLD fibrosis score (NFS)<sup>d</sup></b>	Ηλικία, BMI, διαταραχή ανοχής στη γλυκόζη/ΣΔ2, AST/ALT, ΑΜΠ, αλβουμίνη	≤-1.455 F0-F2 >0.675 F3-F4
<b>FIB-4 index<sup>e</sup></b>	Ηλικία, AST, ALT, ΑΜΠ	<1.45 αποκλεισμός προχωρημένης ίνωσης >2.67 προχωρημένη ίνωση
<b>Enhanced liver fibrosis test (ELF)<sup>f</sup></b>	Ηλικία, υαλουρονικό οξύ, προκολλαγόνο τύπου III, ιστικός αναστολέας μεταλλοπρωτεϊνών 1	<7.7 (απουσία ίνωσης) ≥9.8 (μέτρια ίνωση) >11.3 (κίρρωση)

**Πίνακας 20: Μη-επεμβατικοί δείκτες στεάτωσης (Fatty Liver Index-FLI, NAFLD Liver Fat Score, SteatoTest) και ίνωσης (NAFLD fibrosis score, FIB-4 index, Enhanced liver fibrosis test-ELF).** Παρατίθενται οι παράμετροι υπολογισμού κάθε δείκτη και τα διαγνωστικά όρια για τη στεάτωση και την ίνωση αντίστοιχα. ΑΜΠ: αιμοπετάλια; ΜΣ: μεταβολικό σύνδρομο; ΣΔ2: σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2; ALT: αλανινική αμινοτρανσφαιράση; ApoA1:



απολιποπρωτεΐνη A1; AST: ασπαρτική αμινοτρανσφεράση; BMI: δείκτης μάζας σώματος; γGT: γ-γλουταμυλ-τρανσφεράση, a: (109), b: (110), c: (111), d: (120), e: (121), f: (122)

Η ελαστογραφία ήπατος αποτελεί μια αναίμακτη μέθοδο μέτρησης της ελαστικότητας του ηπατικού ιστού και ποσοτικοποίησης της ίνωσης. Η ευρύτερα χρησιμοποιούμενη μέθοδος είναι η shear wave elastography, όπου σε μια περιοχή του ηπατικού παρεγχύματος εφαρμόζεται μηχανικό ή ηχητικό κύμα και γίνεται μέτρηση της ταχύτητας διάδοσης αυτού διαμέσου του ηπατικού ιστού. Η shear wave elastography διακρίνεται σε δύο τεχνικές: την Transient Elastography (TE) και την ARFI (Acoustic Radiation Force Impulse) με την point Shear Wave Elastography (p-SWE) και την 2-Dimensional Shear Wave elastography (2-D SWE). Από αυτές, η p-SWE θεωρείται το ίδιο ακριβής και περισσότερο αξιόπιστη από την TE, ενώ η 2D-SWE θεωρείται πιο αξιόπιστη από την TE. Τιμές κάτω των 10 KPa χρησιμοποιούνται για τον αποκλεισμό της προχωρημένης ίνωσης, ενώ τιμές πάνω από 15 KPa είναι ενδεικτικές προχωρημένης ίνωσης ή/και κίρρωσης. Λόγω της αλληλοεπικάλυψης των τιμών μεταξύ ήπιας (F1) και μέτριας (F2) ηπατικής δυσκαμψίας, η διαφοροποίηση μεταξύ αυτών των βαθμών ίνωσης είναι λιγότερο αξιόπιστη. Όποια τεχνική και αν εφαρμόζεται, απαιτείται αυστηρό πρωτόκολλο με στόχο τη λήψη όσο το δυνατόν ακριβέστερων μετρήσεων.(123,124)

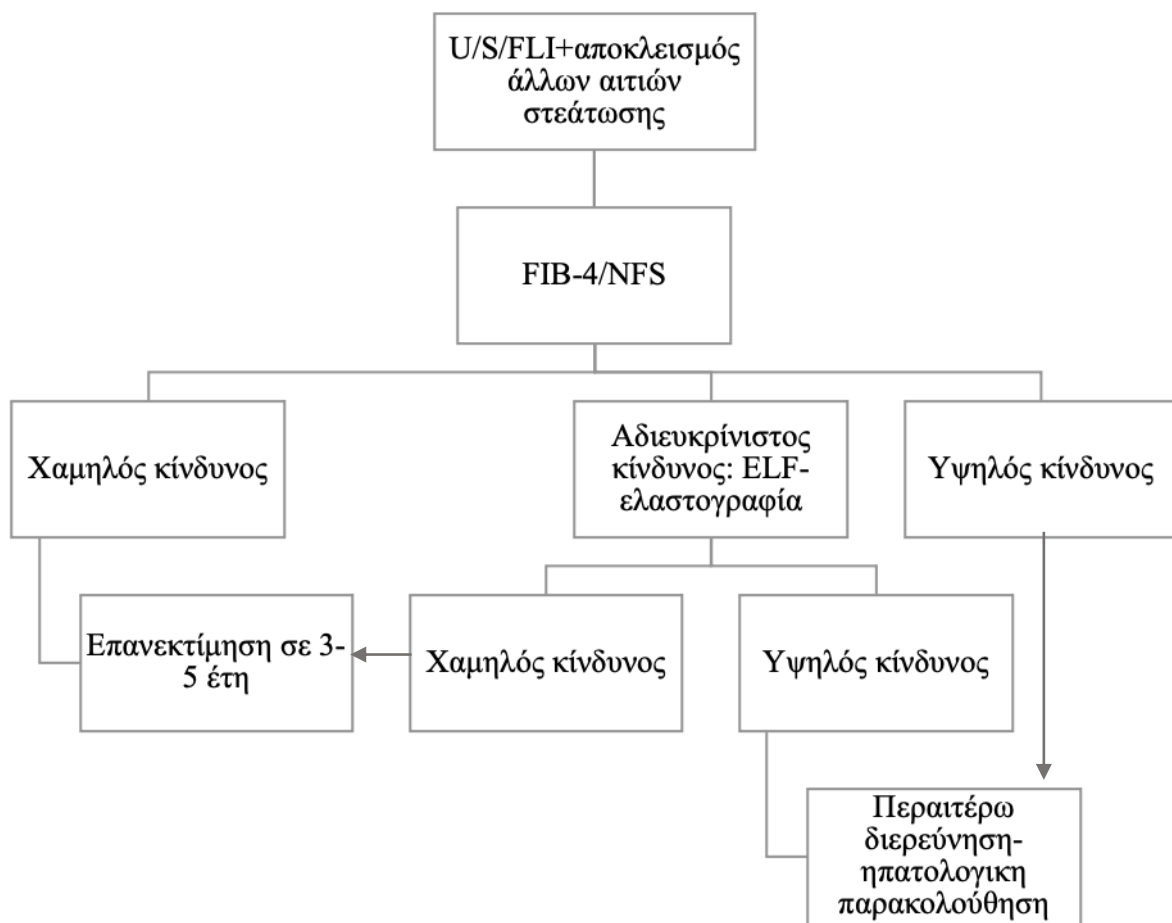
Η μαγνητική ελαστογραφία (MRE) είναι μια απεικονιστική τεχνική βασισμένη στην αρχή του μαγνητικού συντονισμού. Αποτελεί την πιο κοστοβόρα μη-επεμβατική μέθοδο εκτίμησης της ίνωσης. Έχει υψηλότερη διαγνωστική ακρίβεια από την ελαστογραφία για τη διάγνωση ήπιας ή σημαντικής ίνωσης. Άλλες μέθοδοι όπως η πολυπαραμετρική MRI και η MRI-PDFP που εκτιμά την εναπόθεση σιδήρου, την ηπατική φλεγμονή και την ηπατική στεάτωση, δεν είναι ευρέως διαθέσιμες και χρησιμοποιούνται κυρίως στα πλαίσια κλινικών μελετών.(125)

Το υπερηχογράφημα και οι υπόλοιποι μη επεμβατικοί δείκτες (σκορ και απεικονιστικές τεχνικές) δεν μπορούν να προσδιορίσουν με ακρίβεια την ιστολογική βαρύτητα και την πρόγνωση της ηπατικής βλάβης. Μόνο η βιοψία ήπατος μπορεί να προσδιορίσει με ακρίβεια το στάδιο της ΜΑΛΝΗ και της ίνωσης του ηπατικού παρεγχύματος, που αποτελεί τον πιο σημαντικό προγνωστικό παράγοντα για τη θνησιμότητα και την ανάπτυξη σοβαρής ηπατικής νόσου. Παρ' όλα αυτά, δεν αποτελεί μέθοδο πρώτης εκλογής για τη διάγνωση, λόγω πολλών περιορισμών σχετικά με το κόστος, τα λάθη στη δειγματοληψία, τη χαμηλή επαναληψιμότητα και αναπαραγωγιμότητα και τις πιθανές επιπλοκές.(2)

Συμπερασματικά, όσον αφορά τη διάγνωση της ΜΑΛΝΗ, η πιο ακριβής μη-επεμβατική μέθοδος είναι η MRE και η MRI-PDFF, παρότι η χρήση της περιορίζεται από το κόστος και τη διαθεσιμότητά της. Το υπερηχογράφημα αποτελεί τη μέθοδο εκλογής σε ασθενής που δεν είναι παχύσαρκοι, ενώ οι τεχνικές που χρησιμοποιούν μαγνητικό συντονισμό μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως μέθοδοι πρώτης εκλογής σε δύσκολες περιπτώσεις όπου η ευαισθησία του υπερήχου περιορίζεται ή όταν απαιτείται ποσοτικοποίηση της στεάτωσης. Οι βιοδείκτες μπορούν να φανούν χρήσιμοι σε περιπτώσεις μεγάλων επιδημιολογικών μελετών, όπου η χρήση των υπερήχων δεν είναι πρακτικά εφικτή.(126) Η ελαστογραφία ήπατος, θα μπορούσε να αποτελέσει σύντομα πρώτη γραμμής διαγνωστική μέθοδο, παρότι είναι λιγότερο ακριβής από την MRI-PDFF και δεν είναι σαφές αν είναι πιο ακριβής και συμφέρουσα όσον αφορά το κόστος σε σχέση με τον υπέρηχο και τους βιοδείκτες και αν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παρακολούθηση των αλλαγών στο βαθμό της στεάτωσης στους ασθενείς που πάσχουν από ΜΑΛΝΗ.(127)

Ο προτεινόμενος διαγνωστικός αλγόριθμος σε ασθενείς με υποψία ΜΑΛΝΗ περιλαμβάνει αρχικά τη διενέργεια υπερήχου ήπατος (ή χρήση του FLI για μεγάλες πληθυσμιακές μελέτες) και τον αποκλεισμό άλλων αιτιών στεάτωσης.

Εφόσον επιβεβαιωθεί η παρουσία ΜΑΛΝΗ, ακολουθεί η πρόβλεψη προχωρημένης ίνωσης με χρήση του NFS ή του FIB-4. Επί χαμηλών τιμών, συστήνεται επανεκτίμηση σε 3-5 έτη, επί υψηλών παραπομπή σε ηπατολόγο για περαιτέρω διερεύνηση και επί ενδιάμεσων τιμών διενέργεια ελαστογραφίας ή υπολογισμός του ELF score για να διευκρινιστεί εάν πρόκειται για ασθενή χαμηλού ή υψηλού κινδύνου (Σχήμα 1)(127)



**Σχήμα 1: Προτεινόμενος διαγνωστικός αλγόριθμος ασθενών με υποψία ΜΑΛΝΗ.** (τροπ από Bugianesi E et al, J Hepatol 2016; 65: 643-4.)(128)

## **B4 ΘΕΡΑΠΕΙΑ**

Ο υγιεινός τρόπος ζωής αποτελεί τη θεμελιώδη αρχή της πρόληψης και της θεραπείας της ΜΑΛΝΗ.(129) Σε όλους τους ασθενείς, πρέπει να γίνεται σύσταση για περιορισμό της ενεργειακής πρόσληψης σε συνδυασμό με αερόβια άσκηση και άσκηση με αντιστάσεις,(130) παρότι δεν υπάρχουν δεδομένα σχετικά με τη μακροπρόθεσμη επίπτωσή τους στη φυσική εξέλιξη της νόσου. Σημειώνεται, ότι η κατανάλωση οινοπνεύματος έως 30 g (άνδρες) ή 20 g (γυναίκες) δεν είναι ικανή να προκαλέσει αλκοολική στεάτωση και μπορεί να έχει προστατευτικό ρόλο έναντι της ΜΑΛΝΗ, της ΜΑΣΗ και της ίνωσης, σε σχέση με την πλήρη αποχή από το οινόπνευμα.(89)

Σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Εταιρία Μελέτης του Ήπατος, δεν μπορεί να υπάρξουν επί του παρόντος συστάσεις για τη φαρμακευτική αγωγή της ΜΑΣΗ, αφού κανένα φάρμακο δεν έχει δοκιμαστεί σε μελέτες φάσης III και δεν έχει εγκριθεί από τους κατά τόπους ρυθμιστικούς φορείς.(89) Η χορήγηση φαρμακευτικής αγωγής πρέπει να περιορίζεται σε επιλεγμένους ασθενείς, όπως αυτούς με επιδεινούμενη ΜΑΣΗ (παρουσία γεφυροποιού ίνωσης, κίρρωσης) και αυτούς με αυξημένο κίνδυνο προόδου της ίνωσης (>50 ετών, σακχαροδιαβητικοί, αυξημένες τιμές ALT (131) ή αυτούς με ενεργό ΜΑΣΗ με αυξημένη νεκροφλεγμονώδη δραστηριότητα.(132) Βασική αρχή επιλογής της φαρμακευτικής αγωγής πρέπει να είναι η ασφάλεια και η ανοχή σε αυτήν. Οι πολλαπλές συννοσηρότητες των ασθενών αυτών και η λήψη πολλών άλλων φαρμάκων, πρέπει να λαμβάνονται υπόψιν ώστε να αποφευχθούν πιθανές φαρμακευτικές αλληλεπιδράσεις.(89)

Το 2016 η Ευρωπαϊκή Εταιρία Μελέτης του Ήπατος (EASL), η Ευρωπαϊκή Εταιρία Μελέτης του Διαβήτη (EASD) και η Ευρωπαϊκή Εταιρία Μελέτης της παχυσαρκίας (EASO) εξέδωσαν από κοινού οδηγίες για την διαχείριση και τη θεραπεία ασθενών με ΜΑΛΝΗ. Σύμφωνα με αυτές, σε ασθενείς με ΜΑΣΗ προτείνεται η χορήγηση πιογλιταζόνης ή βιταμίνης E (καλό προφίλ ασφάλειας

και βραχυπρόθεσμης ανοχής) ή ο συνδυασμός τους (επίπεδο τεκμηρίωσης B2). Δεν είναι γνωστή η ιδανική διάρκεια θεραπείας, αλλά σε ασθενείς με αυξημένες τιμές ALT κατά τη διάγνωση, συστήνεται διακοπή της αγωγής μετά από έξι μήνες εφόσον δεν παρατηρηθεί μείωση των τιμών των τρανσαμινασών, ενώ δεν υπάρχουν συστάσεις για φαρμακευτική αγωγή σε ασθενείς με φυσιολογικές τιμές ALT κατά τη διάγνωση (επίπεδο τεκμηρίωσης C2). Όσον αφορά τους υπολιπιδαιμικούς παράγοντες, οι στατίνες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη μείωση της LDL χοληστερόλης και την πρόληψη του καρδιαγγειακού κινδύνου, χωρίς θετική ή αρνητική επίδραση στην ηπατική νόσο. Ομοίως τα n-3 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα μειώνουν τα λιπίδια στο πλάσμα αλλά και στο ήπαρ. Δεν υπάρχουν δεδομένα που να υποστηρίζουν τη χορήγησή τους στη ΜΑΣΗ (επίπεδο τεκμηρίωσης B1).(89)

Το ενδιαφέρον για την ανεύρεση αποτελεσματικής θεραπείας για τη ΜΑΛΝΗ είναι μεγάλο, με νέους παράγοντες να δοκιμάζονται σε τυχαιοποιημένες μελέτες, όπως παράγοντες που βοηθούν στη μείωση της ισνουλινοαντίστασης (dual PPAR $\alpha$ /d agonists, dual chemokine receptor [CCR]2/CCR5 antagonists, fatty acid/bile acid conjugates) και παράγοντες με αντιφλεγμονώδη, αντι-ινωτική δράση ή ιδιότητες (anti-lysyl oxidase-like [anti-LOXL2] monoclonal antibodies).(89) Δεδομένων των αυξημένων τιμών φερριτίνης σε πολλούς ασθενείς που πάσχουν από ΜΑΛΝΗ, έχουν γίνει μικρές μελέτες αποσιδήρωσης μέσω αφαιμάξεων, με ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Απαιτείται όμως περαιτέρω μελέτη για την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων.(133)

Η επεμβατική θεραπεία, με βαριατρικά χειρουργεία, προτείνεται σε ασθενείς που δεν ανταποκρίνονται στην αλλαγή του τρόπου ζωής και τη φαρμακευτική αγωγή. Οδηγούν σε μακροπρόθεσμη απώλεια σωματικού βάρους και μείωση των μεταβολικών επιπλοκών. Τα μέχρι τώρα δεδομένα δείχνουν θετική επίδραση των βαριατρικών χειρουργείων στην σχετιζόμενη με ΜΑΣΗ ηπατική βλάβη και στη βελτίωση της φλεγμονής και της ίνωσης του παρεγχύματος.(134)

Παρά τα ενθαρρυντικά δεδομένα, οι βαριατρικές επεμβάσεις συνδέονται με μεγάλο κίνδυνο περι/μετ-εγχειρητικών επιπλοκών.(135)

Η μεταμόσχευση ήπατος αποτελεί την τελευταία θεραπευτική επιλογή για ασθενείς με κίρρωση σχετιζόμενη με ΜΑΛΝΗ. Οι ασθενείς αυτοί, μετά τη μεταμόσχευση, συνεχίζουν να παρουσιάζουν αυξημένη θνητότητα από καρδιαγγειακά αίτια και σήψη.(136) Η θνητότητα μετά τη μεταμόσχευση σχετίζεται με το ΔΜΣ και την παρουσία διαβήτη, με 50% των ασθενών με ΔΜΣ>35 kg/m<sup>2</sup> να καταλήγουν μέσα σε 1 χρόνο μετά τη μεταμόσχευση.(137)

## Γ. ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ

### Γ1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Με τον όρο αιμόσταση περιγράφουμε το φυσιολογικό μηχανισμό άμυνας του οργανισμού, ο οποίος εμποδίζει την απώλεια αίματος μετά από τραυματισμό του αγγειακού τοιχώματος, μέσω του σχηματισμού θρόμβου ινώδους. Διασφαλίζεται έτσι η ακεραιότητα και η στεγανότητα του τοιχώματος του αγγείου. Ο θρόμβος ινώδους που σχηματίζεται, μπορεί δυνητικά να επεκταθεί προς το γειτονικό υγιές ενδοθήλιο οδηγώντας σε σχηματισμό θρόμβων σε άλλα σημεία. Η επιπλοκή αυτή αποφεύγεται μέσω του ινωδολυτικού συστήματος και διάφορων φυσικών αντιπηκτικών ουσιών που βρίσκονται στο υγιές ενδοθήλιο.(138)

Από τα αρχαία χρόνια, ο Ιπποκράτης, ο Πλάτωνας, ο Κέλσιος και ο Γαληνός, περιέγραφαν ότι το αίμα έπηξε όταν ερχόταν σε επαφή με τον αέρα.(139) Ο Γάλλος χειρουργός Jean-Louis Petit, παρατήρησε το 1730, ότι η δημιουργία θρόμβου έπαιζε σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη των ακρωτηριασμών. Το 1856, ο Γερμανός ιατρός Rudolf Virchow, περιέγραψε τη δημιουργία του θρόμβου και την τάση του να προκαλεί εμβολή.(140) Διατύπωσε τη θεωρία ότι η διαταραχή στη ροή του αίματος, η βλάβη στο ενδοθήλιο και η υπερπηκτικότητα συμβάλλουν στην παθογένεια της φλεβικής θρόμβωσης. Οι παράγοντες αυτοί είναι γνωστοί ως η τριάδα του Virchow.(141)

Παραδοσιακά οι αντιδράσεις που συνθέτουν την αιμόσταση περιγράφονται σε τρία διακριτά στάδια:

- Την πρωτογενή αιμόσταση που περιλαμβάνει τη σύσπαση του τραυματισμένου αγγείου και τη δημιουργία του «πρωτογενούς αιμοπεταλιακού θρόμβου».

- Τη δευτερογενή αιμόσταση, που περιλαμβάνει τη δημιουργία ενός πλέγματος ινώδους που σταθεροποιεί τον αιμοπεταλιακό θρόμβο.
- Την ινωδόλυση, που περιγράφει τη διαδικασία αποδόμησης του «ώριμου θρόμβου».(138)

Τα στάδια αυτά χρησιμοποιούνται για να περιγράψουν το μηχανισμό της αιμόστασης καθαρά για περιγραφικούς λόγους, αφού βοηθούν στην κατανόηση των κλασικών εργαστηριακών μεθόδων εκτίμησης της πηκτικότητας. Η *in vivo* διαδικασία ενεργοποίησης του μηχανισμού της πήξης είναι πολύ διαφορετική και θα αναλυθεί στη συνέχεια.

## **Γ2 ΠΡΩΤΟΓΕΝΗΣ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ**

Το πρώτο στάδιο της αιμόστασης οδηγεί στον σχηματισμό του προσωρινού, διαλυτού αιμοπεταλιακού θρόμβου. Ο θρόμβος αυτός δημιουργείται μέσα σε λίγα λεπτά από τη στιγμή του τραυματισμού και αποδομείται ταχύτατα αφού είναι ιδιαίτερα εύθρυπτος. Στο στάδιο αυτό βασικό ρόλο παίζουν το ενδοθήλιο και τα αιμοπετάλια.

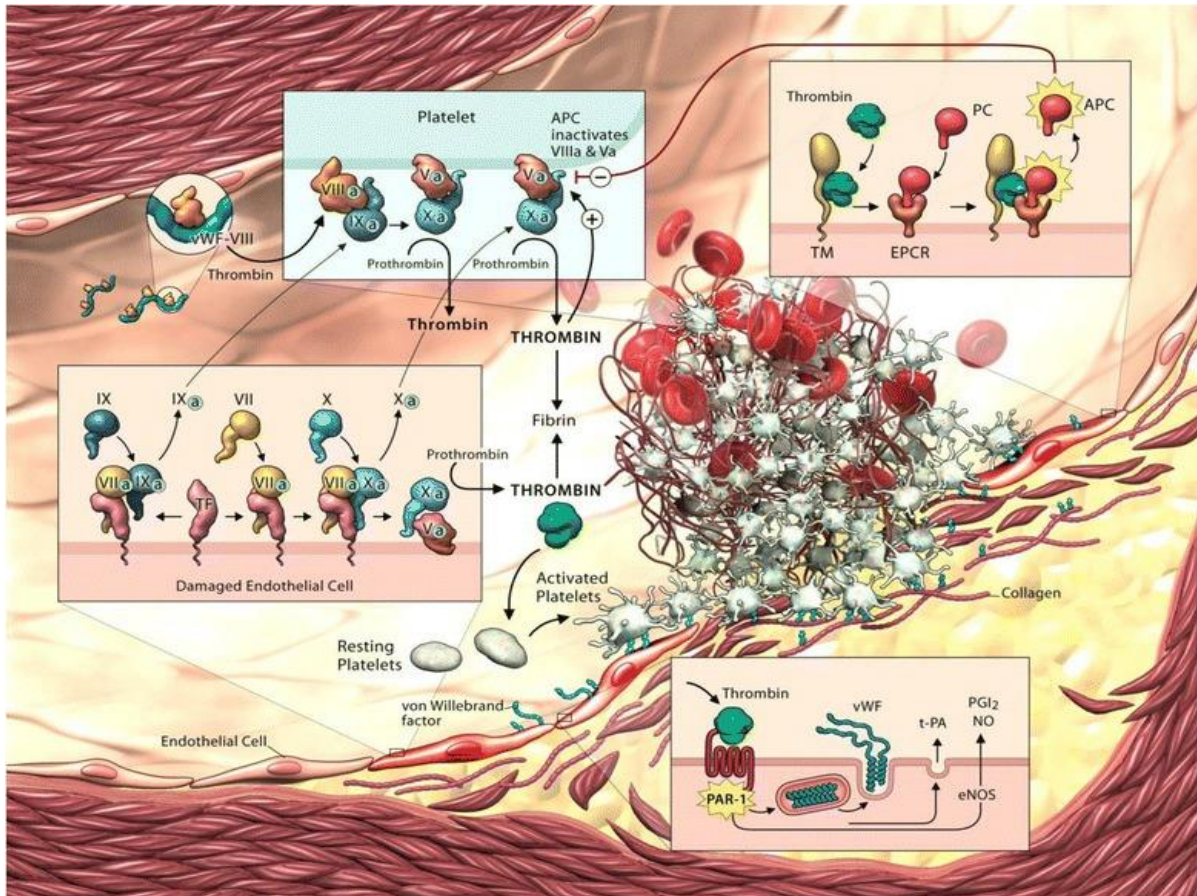
### **Γ 2.1 Το ενδοθήλιο**

Τα υγιή ενδοθηλιακά κύτταρα συνθέτουν αντιαιμοπεταλιακούς και αντιπηκτικούς παράγοντες για να αποφύγουν την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και το σχηματισμό θρόμβων ινώδους. Η ενδοθηλιακή βλάβη αντίθετα, οδηγεί άμεσα σε αγγειοσύσπαση, η οποία ρυθμίζεται από το αυτόνομο νευρικό σύστημα. Επειδή όμως η αγγειοσύσπαση από μόνη της δεν επαρκεί για την ανάσχεση της αιμορραγίας, το ενδοθήλιο συνθέτει και εκκρίνει ουσίες που οδηγούν σε πυροδότηση της διαδικασίας δημιουργίας θρόμβου, καθώς και της συγκόλλησης και συσώρευσης των αιμοπεταλίων.(142,143) Τα ενδοθηλιακά κύτταρα, εκκρίνουν επίσης προ-ινωδολυτικές ουσίες που συμμετέχουν στην έναρξη της ινωδόλυσης. Επομένως το ενδοθήλιο, ανάλογα



με τις ανάγκες του κάθε ιστού και τα τοπικά ερεθίσματα, μπορεί να έχει αντιθρομβωτικό ή προθρομβωτικό ρόλο, μέσω των ουσιών που συνθέτει και εκκρίνει (Εικόνα 17). Οι κυριότερες είναι:

- Το μονοξειδίου του αζώτου (NO), το οποίο έχει αντιθρομβωτική δράση και εμποδίζει την προσκόλληση των αιμοπεταλίων στο ενδοθήλιο
- Η προστακυκλίνη (PGI<sub>2</sub>) που προκαλεί αγγειοδιαστολή και παρεμποδίζει τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων
- Οι υποδοχείς ενεργοποιούμενοι από πρωτεάση (PAR): προκαλούν απελευθέρωση NO και PGI<sub>2</sub>, ενεργοποίηση των σωματίων Weibel-Palade και έκφραση ιστικού παράγοντα.
- Οι μιμητές της ηπαρίνης, που είναι αρνητικά φορτισμένες ουσίες και έτσι εμποδίζουν την προσκόλληση των αιμοπεταλίων. Μαζί με την αντιθρομβίνη αναστέλλουν την ενδογενή οδό της πήξεως.
- Ο παράγοντας Von Willebrand (vWF) που συμμετέχει στη συσσώρευση των αιμοπεταλίων και είναι η πρωτεΐνη- μεταφορέας του παράγοντα VIII.
- Ο αναστολέας της οδού του ιστικού παράγοντα (TFPI).
- Ο ιστικός παράγοντας (TF).
- Παράγοντες πήξης fVIII/ fVIIIa.
- Η θρομβομοντουλίνη που βρίσκεται στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων και δημιουργεί σύμπλεγμα με τη θρομβίνη, με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση της πρωτεΐνης C (αναστολέας της πήξεως).
- Ο ενδοθηλιακός υποδοχέας της πρωτεΐνης C (EPCR) που καταλύει την αντίδραση ενεργοποίησης της πρωτεΐνης C.
- Ο ιστικός ενεργοποιητής του πλασμινογόνου (t-PA) που μετατρέπει το πλασμινογόνο σε πλασμίνη.
- Ο αναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (PAI), που αναστέλλει τη δράση του t-PA.(144)



**Εικόνα 17: Η συμβολή του ενδοθηλίου στη διαδικασία της αιμόστασης.** (Jonathan W. Y et al, BMC Cardiovasc Disord 2015; 15).(144)

APC: ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C; damaged endothelial cell: κατεστραμμένο ενδοθηλιακό κύτταρο; EPCR: ενδοθηλιακός υποδοχέας της πρωτεΐνης C; fibrin: ινική; eNOS: ενδοθηλιακή συνθετάση μονοξειδίου του αζώτου; NO: μονοξείδιο του αζώτου; PC: πρωτεΐνη C; PGI: προστακυκλίνη; platelet: αιμοπετάλιο; prothrombin: προθρομβίνη; resting/ activated platelets: αιμοπετάλια σε φάση ηρεμίας/ ενεργοποίησης; thrombin: θρομβίνη; TM: θρομβομοντουλίνη; t-PA: ιστικός ενεργοποιητής του πλασμινογόνου; vonWillebrand factor: παράγοντας vonWillebrand.

## Γ 2.2 Τα αιμοπετάλια

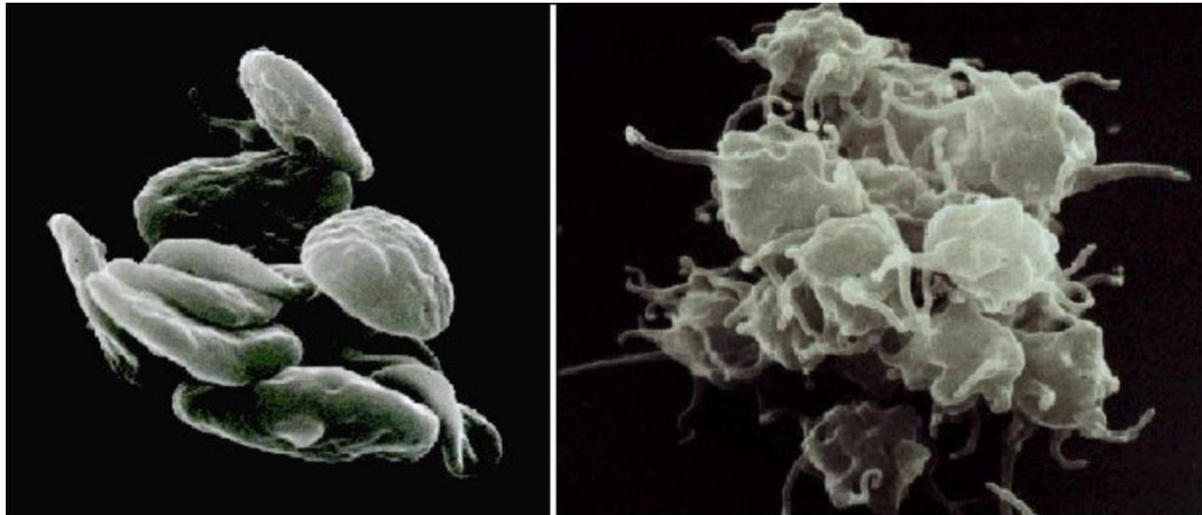
Τα αιμοπετάλια είναι μικρά, δισκοειδή, απύρρηνα κυτταρικά θραύσματα, προερχόμενα από τα μεγακαρυοκύτταρα του μυελού των οστών. Ο αριθμός τους στο περιφερικό αίμα είναι 150-400 εκατομμύρια/ml και ο χρόνος ζωής τους περίπου 10 ημέρες.(145) Σε ένα υγιές αγγείο και υπό κανονικές συνθήκες αιματικής ροής, τα αιμοπετάλια δεν προσκολλώνται σε επιφάνειες, ούτε

συσσωρεύονται μεταξύ τους. Αντίθετα, σε περίπτωση λύσης της αγγειακής ακεραιότητας, η βλάβη του ενδοθηλίου και η αποκάλυψη του κολλαγόνου της υπενδοθηλιακής στοιβάδας οδηγεί σε προσκόλληση και ενεργοποίησή τους. (Εικόνα 19)

Η προσκόλληση των αιμοπεταλίων στο ενδοθήλιο του τραυματισμένου αγγείου επιτυγχάνεται μέσω του παράγοντα Von Willebrand (VWF) και των υποδοχέων των γλυκοπρωτεϊνών Ib-IX-V (GPIb-IX-V) και VI (GPVI). Μετά τον τραυματισμό του αγγείου, το κολλαγόνο το οποίο βρίσκεται στην εκτεθειμένη υποενδοθηλιακή στοιβάδα, συνδέεται με τον υποδοχέα της GPVI.(146) Ο υποδοχέας της GPIb-IX-V, προσδένει τον ακινητοποιημένο VWF. Συγκεκριμένα, η σύνδεση αφορά το τμήμα GPIba του υποδοχέα και το τμήμα A1 του VWF. Η σύνθεση του VWF γίνεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα και στα μεγακαρυοκύτταρα και βρίσκεται πάντα σε διαλυτή μορφή στο πλάσμα.(147) Η σύνδεση του VWF με τον υποδοχέα της GPIba δεν είναι ισχυρή όταν τα μόρια του διαλυτού VWF βρίσκονται ελεύθερα στην κυκλοφορία. Αντίθετα, σε συνθήκες βλάβης του ενδοθηλίου, η υψηλή διατμητική τάση που ασκείται από τη ροή του αίματος πάνω στα μόρια του VWF που βρίσκεται ακινητοποιημένος είτε στην υποενδοθηλιακή στοιβάδα είτε στα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια, αυξάνει την ισχύ της σύνδεσής του με τον υποδοχέα της GPIba.(148)

Αμέσως μετά την προσκόλληση, τα αιμοπετάλια ενεργοποιούνται, με αποτέλεσμα την αλλαγή του σχήματός τους και την απελευθέρωση των κοκκίων τους (Εικόνα 18). Η αλλαγή του σχήματος, οδηγεί στην αλλαγή της διαμόρφωσης των ιντεγκρινών της μεμβράνης. Οι ιντεγκρίνες είναι διαμεμβρανικές γλυκοπρωτεΐνες που λειτουργούν ως μόρια προσκόλλησης, αλλά παραμένουν ανενεργείς όσο το αιμοπετάλιο βρίσκεται σε κατάσταση ηρεμίας.(149) Η σημαντικότερη από αυτές είναι η ιντεγκρίνη  $\alpha\text{IIb}\beta_3$ , που βρίσκεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στη επιφάνεια των αιμοπεταλίων. Συνδέεται με πληθώρα μορίων που επάγουν την συσσώρευση των

αιμοπεταλίων όπως το ινωδογόνο, ο VWF, το κολλαγόνο, η φιβρονεκτίνη και η βιτρονεκτίνη.(150) Οι υποδοχείς  $\alpha 2\beta 1$ ,  $\alpha \nu\beta 3$ ,  $\alpha 5\beta 1$  και  $\alpha 6\beta 1$  συνδέονται κυρίως με το κολλαγόνο, την βιτρονεκτίνη, τη φιβρονεκτίνη και τη λαμινίνη αντίστοιχα, και σε μικρότερο βαθμό με άλλα μόρια.(151)

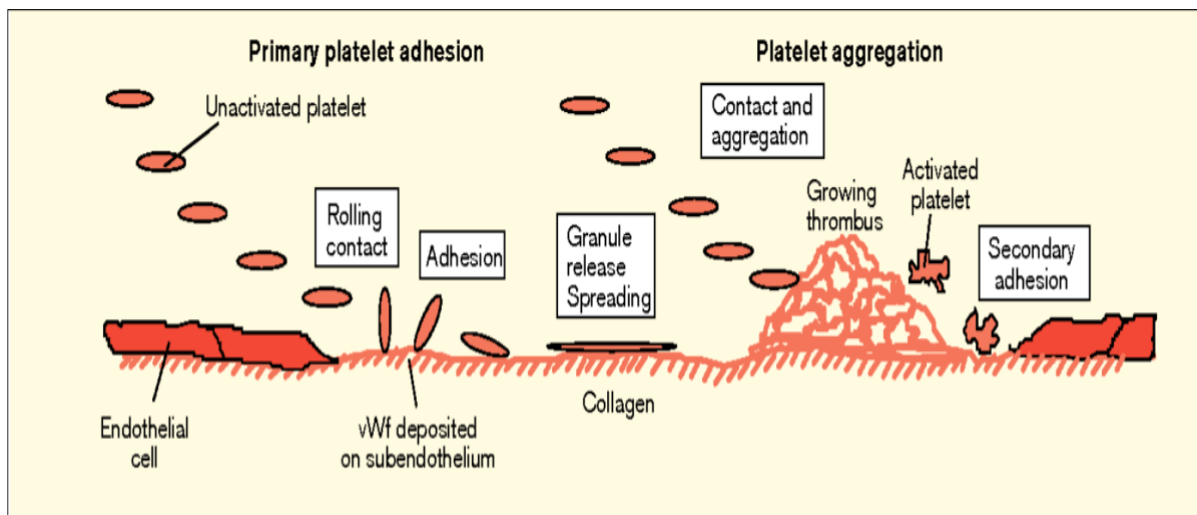


**Εικόνα 18: Αιμοπετάλια σε κατάσταση ηρεμίας και κατά την πρώτη φάση της ενεργοποίησής τους.** Εικόνα από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. (Rozman P et al, The Role of Platelet Gel in Regenerative Medicine 2011; 324)(152)

Η συσσώρευση των αιμοπεταλίων και η επέκταση του αιμοπεταλιακού θρόμβου, απαιτεί την ανατροφοδοτούμενη ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων που βρίσκονται πέριξ της βλάβης. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω της σύνδεσης αγωνιστών που απελευθερώνονται από τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια με υποδοχείς συζευγμένους με πρωτεΐνες G (GPCR). Η σύνδεση αυτή, πυροδοτεί μονοπάτια κυτταρικής σήμανσης, που οδηγούν στην αποκοκκίωση των αιμοπεταλίων, την ενεργοποίηση των ιντεγκρινών και την αναδιαμόρφωση του κυτταρικού σκελετού των αιμοπεταλίων. Το ADP απελευθερώνεται από τα πυκνά κοκκία και συνδέεται με τους υποδοχείς  $P2Y_1$  και  $P2Y_{12}$  των αιμοπεταλίων.(153) Η θρομβοβοξάνη  $A_2$  συντίθεται εξ αρχής από τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια και συνδέεται κυρίως με τον υποδοχέα της θρομβοβοξάνης και δευτερευόντως με άλλους υποδοχείς προστανοειδών.(154) Στην ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων συμμετέχει κ η σεροτονίνη, που

εκκρίνεται από τα πυκνά κοκκία. Σημαντικό ρόλο παίζει και η θρομβίνη, που όπως θα δούμε στη συνέχεια, είναι το τελικό προϊόν της δευτερογενούς αιμόστασης. Η θρομβίνη, αλλάζει τη διαμόρφωση δύο υποδοχέων ενεργοποιούμενων από πρωτεάσες (PARs), των PAR1 και PAR4. Οι PAR1 και PAR4 είναι υποδοχείς συζευγμένοι με πρωτεΐνες G και η αλλαγή της διαμόρφωσής τους από την θρομβίνη, οδηγεί στην έκθεση ενός νέου αμινοτελικού άκρου, που λειτουργεί σαν συνδέτης για την ενεργοποίηση του υποδοχέα.(155)

Συνοπτικά, η προσκόλληση των αιμοπεταλίων ξεκινά από τη σύνδεση του υποδοχέα της GPIba με τον ακινητοποιημένο VWF και τη σύνδεση του υποδοχέα της GPVI με το κολλαγόνο που βρίσκεται εκτεθειμένο λόγω της ενδοθηλιακής βλάβης. Ακολουθεί η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και η επέκταση της προσκόλλησης και ενεργοποίησης στα γειτονικά αιμοπετάλια, μέσω της δράσης των ιντεγκρινών και των αγωνιστών που εκκρίνουν τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια (Εικόνα 19).(145)



**Εικόνα 19:** Η προσκόλληση, ενεργοποίηση και συσσώρευση των αιμοπεταλίων στην υποενδοθηλιακή στιβάδα. Η διαδικασία ξεκινά από την επαφή του αιμοπεταλίου με την εκτεθειμένη επιφάνεια του ενδοθηλίου (που διαμεσολαβείτε από τη σύνδεση του υποδοχέα της GPIb με τον VWF) και συνεχίζεται με την ενεργοποίηση του αιμοπεταλίου που περιλαμβάνει την αποκοκκίωση, την ισχυρή πρόσδεση μέσω των ιντεγκρινών  $\alpha_2\beta_1$  και  $\alpha_{IIb}\beta_3$  και

την επέκταση του φαινομένου. Τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια προκαλούν την προσκόλληση άλλων αιμοπεταλίων και τελικά τη συσσώρευσή τους και τη δημιουργία του θρόμβου. (Clemetson KJ, Curr Biol 1999; 9: 110-12).(145)

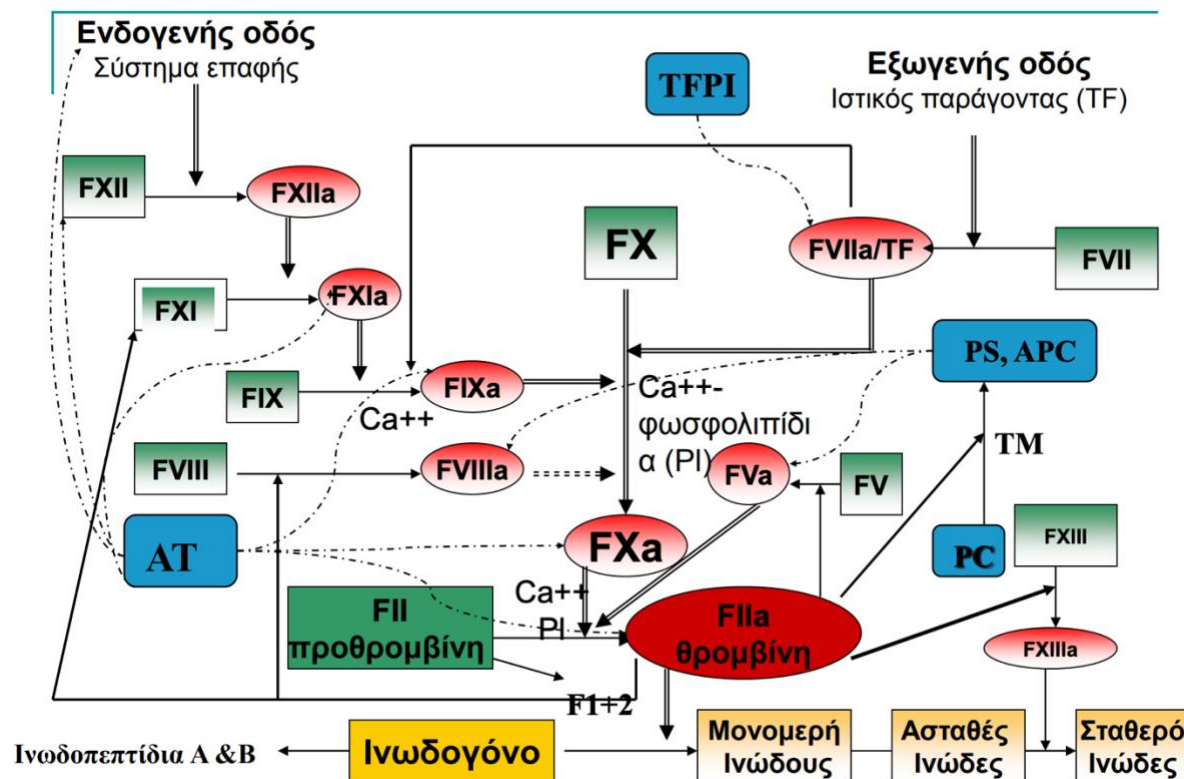
activated platelet: ενεργοποιημένο αιμοπετάλιο adhesion: προσκόλληση  
collagen: κολλαγόνο; contact and aggregation: επαφή και συσσώρευση;  
endothelial cell: ενδοθηλιακό κύτταρο; granule release spreading: επέκταση της  
αποκοκκίωσης; growing thrombus: αναπτυσσόμενος θρόμβος; platelet  
aggregation: συσσώρευση αιμοπεταλίων; primary platelet adhesion:  
πρωτογενής προσκόλληση αιμοπεταλίων; rolling contact: επαφή κύλισης;  
secondary adhesion: δευτερογενής προσκόλληση; unactivated platelet:  
αιμοπετάλιο σε φάση ηρεμίας; vWF deposited on subendothelium: παράγοντας  
vonWillebrand στο υποενδοθήλιο.

### **Γ3 ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΗΣ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ**

Η κατανόηση του μηχανισμού της δευτερογενούς αιμόστασης εξελίχθηκε με την πάροδο των χρόνων, μέσα από διάφορα μοντέλα. Για πολλές δεκαετίες, κυριάρχησε το μοντέλο του καταρράκτη της πήξης που περιλαμβάνει την ενδογενή, την εξωγενή και την κοινή οδό. Παρότι χρήσιμο για την κατανόηση της αιμόστασης, το μοντέλο αυτό δεν μπορούσε να εξηγήσει πολλές κλινικές και πειραματικές παρατηρήσεις. Σήμερα, το αποδεκτό μοντέλο του μηχανισμού της αιμόστασης είναι το κυτταρικό μοντέλο, που προτάθηκε αρχικά το 2001 από τους Hoffman et.al.(156) και αναπτύχθηκε περαιτέρω το 2006 από τους Mann et al.(157) Επειδή οι συχνότερα χρησιμοποιούμενες εργαστηριακές δοκιμασίες ελέγχου της πήξης βασίζονται στο παλιότερο μοντέλο του καταρράκτη της πήξης, κρίνεται σκόπιμη η αναφορά και κατανόησή του.

Η δευτερογενής αιμόσταση, βάσει του μοντέλου του καταρράκτη της πήξης, είναι ένα σύνολο διαδοχικών πρωτεολυτικών αντιδράσεων που οδηγούν αρχικά στην παραγωγή θρομβίνης και τελικά στη δημιουργία του πλέγματος ινώδους. Ο καταρράκτης αυτός αποτελείται από την ενδογενή οδό που ενεργοποιείται μέσω του συστήματος επαφής, και την εξωγενή οδό που ενεργοποιείται μέσω

του ιστικού παράγοντα. Οι δύο αυτές οδοί, συνδέονται και καταλήγουν στην κοινή οδό (Εικόνα 20).(158)



**Εικόνα 20: Καταρράκτης της πήξης του αίματος** (τροπ. από Macfarlane RG, Nature 1964; 202: 498–99).(158)

### Γ 3.1 Η ενδογενής οδός

Η ενδογενής οδός ονομάστηκε έτσι, διότι όλοι οι παράγοντες που συμμετέχουν στις πρωτεολυτικές αντιδράσεις βρίσκονται ελεύθεροι στο πλάσμα. Η οδός πυροδοτείται όταν ο παράγοντας XII έρχεται σε επαφή με το αρνητικά φορτισμένο κολλαγόνο της υποενδοθηλιακής στιβάδας που βρίσκεται εκτεθειμένη, μετά από λύση της αγγειακής ακεραιότητας. Ένα σύμπλεγμα που αποτελείται από την προκαλλικρεΐνη, το μεγάλο μοριακού βάρους κινινογόνο (KMMB) και από τον παράγοντα XI προάγει την μετατροπή του παράγοντα XII στην ενεργοποιημένη του μορφή, XIIa.(159) Ο fXIIa λειτουργεί σαν ένζυμο καταλύοντας τη μετατροπή του παράγοντα XI στην ενεργό μορφή του XIa. Ο παράγοντας XIa μετατρέπει, παρουσία ιόντων ασβεστίου, τον ανενεργό

παράγοντα IX σε fIXa. Ο fIXa υπό μορφή συμπλέγματος με τον fVIIIa (αντιαιμοροφιλικός παράγοντας) και τη μεσολάβηση φωσφολιπιδίων προερχόμενων από τα αιμοπετάλια και ιόντων ασβεστίου, ενεργοποιεί τον παράγοντα X σε fXa. Η εργαστηριακή αποτύπωση της ενδογενούς οδού, είναι ο ενεργοποιημένος χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης (aPTT).(160)

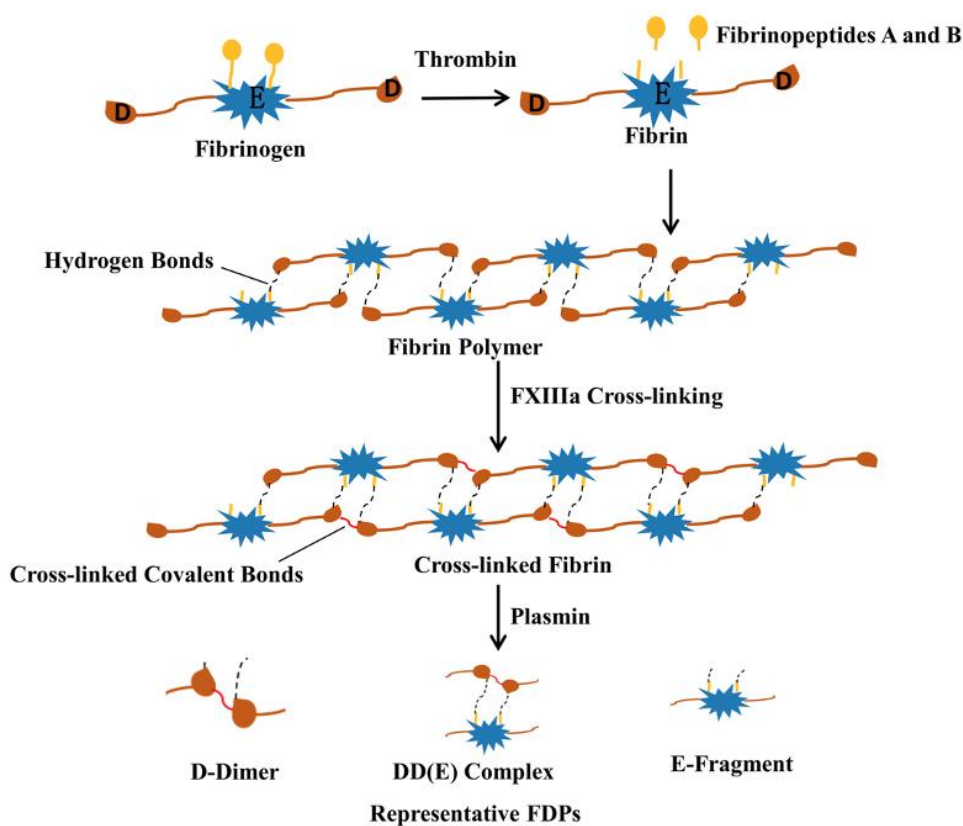
### **Γ 3.2 Η εξωγενής οδός**

Η εξωγενής οδός της πήξης, εξαρτάται από την παρουσία ιστικού παράγοντα (TF) στην υποενδοθηλιακή στιβάδα. Η οδός ενεργοποιείται όταν ο ιστικός παράγοντας που βρίσκεται εκτεθειμένος στην επιφάνεια των κυττάρων μετά από τραυματισμό του αγγείου, έρθει σε επαφή με τον παράγοντα VII στο αίμα.(157) Σχηματίζεται ένα ισχυρό σύμπλεγμα που οδηγεί στην ενεργοποίηση του fVII σε fVIIa. Το σύμπλεγμα TF/fVIIa προάγει την μετατροπή του παράγοντα X σε fXa και του παράγοντα IX σε fIXa. Η εργαστηριακή αποτύπωση της εξωγενούς οδού, είναι ο χρόνος προθρομβίνης (PT).(160)

### **Γ 3.3 Η κοινή οδός**

Στην κοινή οδό, ο παράγοντας Xa μαζί με τον παράγοντα Va, ιόντα ασβεστίου και φωσφολιπίδια προερχόμενα από τα αιμοπετάλια συνθέτουν το σύμπλοκο της προθρομβινάσης που μετατρέπει μεγάλες ποσότητες προθρομβίνης σε θρομβίνη. Η παραγόμενη θρομβίνη αποσπά δύο μόρια από το ινώδογόνο (Fp-A και Fp-B) και ενεργοποιεί τον παράγοντα XIII σε fXIIIa. Έτσι σχηματίζονται τα μονομερή D και E του ινώδους, τα οποία πολυμερίζονται και δημιουργούν ένα ασταθή θρόμβο που σταθεροποιείται με την επίδραση του fXIIIa.(161) (Εικόνα 21)





**Εικόνα 21: Ο πολυμερισμός του ινωδογόνου και τα προϊόντα λύσεως του ινώδους** (Wu Y et al, J Clin Lab Anal 2018; 33: e22687) (162) Cross-linked covalent bonds: διασυνδεδεμένοι ομοιοπολικοί δεσμοί; Cross-linked fibrin: διασυνδεδεμένα μόρια ινώδους; D-Dimer: δ-διμερή; E-Fragment: θραύσμα E; factor XIIIa Cross-linking: διασύνδεση μέσω του ενεργοποιημένου παράγοντα XIIIa; fibrin: ινώδες; fibrin polymer: πολυμερές ινώδους; fibrinogen: ινωδογόνο; fibrinopeptides A and B: ινωδοπεπτίδια Α και Β; hydrogen bonds: δεσμοί υδρογόνου; plasmin: πλασμίνη; representative FDPs: αντιπροσωπευτικά προϊόντα αποδόμησης του ινώδους; thrombin: θρομβίνη.

#### Γ4 ΤΟ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ ΤΗΣ ΠΗΞΗΣ

Το κυτταρικό μοντέλο της αιμόστασης περιγράφει καλύτερα τη διαδικασία της αιμόστασης όπως αυτή συμβαίνει στην πραγματικότητα (in vivo), σε σχέση με το μοντέλο του καταρράκτη της πήξης. Ο σχηματισμός της θρομβίνης από την προθρομβίνη είναι το κεντρικό γεγονός, που οδηγεί στην πήξη του αίματος.

Πολλές αντιδράσεις προηγούνται της παραγωγής θρομβίνης, οι οποίες συμβαίνουν ταχύτατα και δεν ακολουθούν κάποια συγκεκριμένη σειρά, όπως περιγράφεται στο μοντέλο του καταρράκτη. Για την καλύτερη κατανόηση του κυτταρικού μοντέλου, η διαδικασία της πήξης μπορεί να χωριστεί σε τρεις αλληλεπικαλυπτόμενες φάσεις, την έναρξη, την ενίσχυση και την εξάπλωση.

#### **Γ 4.1 Φάση έναρξης (Initiation phase)**

Το ερέθισμα έναρξης της διαδικασίας της πήξης είναι η απελευθέρωση του ιστικού παράγοντα (TF). Ο TF βρίσκεται φυσιολογικά εντός των λείων μυϊκών κυττάρων και των ινοβλαστών της υποενδοθηλιακής στιβάδας των αιμοφόρων αγγείων και σε μικρή συγκέντρωση στα μακροφάγα, στα ενδοθηλιακά κύτταρα και στα αιμοπετάλια.(157,159) Εκφράζεται στην επιφάνεια των κυττάρων μόνο μετά από αγγειακή ή ιστική βλάβη.(163) Μετά τον τραυματισμό, η φάση έναρξης επιτελείται στις κυτταρικές επιφάνειες που φέρουν τον TF. Ο TF συνδέεται με τον παράγοντα VII, ο οποίος σε ένα ποσοστό, κυκλοφορεί στο αίμα στην ενεργοποιημένη του μορφή.(164) Το σύμπλεγμα TF-fVIIa ενεργοποιεί τον παράγοντα X σε fXa, με αποτέλεσμα το σχηματισμό του συμπλέγματος της προθρομβινάσης (fXa/fVa) μαζί με τον συμπαράγοντα fV, καθώς και τον παράγοντα IX σε fIXa. Το σύμπλεγμα της προθρομβινάσης καταλύει τη μετατροπή της προθρομβίνης σε θρομβίνη. Στη φάση της έναρξης παράγονται μικρές μόνο ποσότητες θρομβίνης λόγω της δράσης ανασταλτικών μηχανισμών. Ο ελεύθερος παράγοντας Xa (που έχει αποσυνδεθεί από το σύμπλεγμα της προθρομβινάσης), αναστέλλεται από τον αναστολέα της οδού του ιστικού παράγοντα (TFPI) που εκκρίνεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και από την αντιθρομβίνη III (ATIII), που υπάρχει στο φυσιολογικό ενδοθήλιο. Το σύμπλοκο TFPI/fXa αναστέλλει επίσης τη λειτουργία του συμπλόκου fVIIa/TF.(163) Η μικρή ποσότητα θρομβίνης που παράγεται, είναι απαραίτητη για την έναρξη της φάσης της ενίσχυσης.

### **Γ 4.2 Φάση ενίσχυσης (Amplification phase)**

Τα πρώτα ίχνη θρομβίνης που σχηματίστηκαν στη φάση έναρξης, προκαλούν αναδραστικά την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων. Η αλλαγή του σχήματος των αιμοπεταλίων, με την εμφάνιση πολλαπλών ψευδοποδίων, αυξάνει την επιφάνεια που είναι διαθέσιμη για τη διαδικασία της πήξης.(165) Τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια απελευθερώνουν το περιεχόμενο των κοκκίων τους, προσφέροντας ενεργοποιητές της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων αλλά και παράγοντα V. Τα πρώτα ίχνη θρομβίνης ενεργοποιούν επίσης τον fVIII με αποτέλεσμα αυτός να αποσυνδέεται από τον vWF με τον οποίο κυκλοφορεί ως σύμπλεγμα, καθώς και τον παράγοντα XI. Η σύνδεση της θρομβίνης στη μεμβράνη των αιμοπεταλίων προκαλεί την αναστροφή των φωσφολιπιδίων της, με αποτέλεσμα την έκφραση υποδοχέων και σημείων σύνδεσης των πρωτεϊνών της πήξης. Η φωσφατιδιλοσερίνη (PS), που φυσιολογικά βρίσκεται επί τα εντός της κυτταρικής μεμβράνης των αιμοπεταλίων, αλλάζει θέση και προσανατολισμό, από την εσωτερική μονοστιβάδα της μεμβράνης στην εξωτερική, με εγκάρσια κίνηση, που ονομάζεται κίνηση flip-flop. Τα αρνητικά φορτισμένα μόρια της PS, προσελκύουν θετικά φορτισμένα ιόντα ασβεστίου και προσφέρουν την επιφάνεια για τον ενεργοποιημένο από τη θρομβίνη fIXa να σχηματίσει μαζί με τον συμπαράγοντά του fVIIIa το σύμπλεγμα της ενδογενούς τενάσης (fVIIIa/fIXa).(166) Οι αντιδράσεις αυτές οδηγούν στην έναρξη της φάσης της εξάπλωσης.

### **Γ 4.3 Φάση εξάπλωσης (Propagation phase)**

Στη φάση της εξάπλωσης, τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια προσελκύουν άλλα κυκλοφορούντα αιμοπετάλια στο σημείο της αγγειακής βλάβης, αυξάνοντας ακόμα περισσότερο τη διαθέσιμη επιφάνεια για την παραγωγή θρομβίνης. Το σύμπλεγμα της τενάσης, που δημιουργείται στην επιφάνεια των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων, έχει τη δυνατότητα να μετατρέπει μεγάλες

ποσότητες fX σε fXa, να ενεργοποιεί το σύμπλοκο της προθρομβινάσης και αρά να προωθεί τη δημιουργία μεγαλύτερων ποσοτήτων θρομβίνης. Η επακόλουθη έκρηξη παραγωγής θρομβίνης, οδηγεί στη μετατροπή του ινωδογόνου σε μονομερή ινώδους, τα οποία παρουσία του παράγοντα XIIIa, αλληλεπιδρούν μεταξύ τους και με τα αιμοπετάλια, σχηματίζοντας έναν σταθερό θρόμβο ινώδους που αποφράσσει την αγγειακή βλάβη και διακόπτει την αιμορραγία.(167)

## **Γ5. ΑΝΑΣΤΑΛΤΕΣ ΤΟΥ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥ ΠΗΞΗΣ**

Εάν η διαδικασία σχηματισμού του θρόμβου δεν ελεγχθεί, η θρομβίνη που παράγεται στο σημείο της βλάβης μπορεί να επεκταθεί στις γειτονικές υγιείς περιοχές. Κεντρικό ρόλο στον έλεγχο του σχηματισμού του θρόμβου, παίζει η ίδια η θρομβίνη. Η σύνδεση της με τη θρομβομοντουλίνη των ενδοθηλιακών κυττάρων, οδηγεί στην ενεργοποίηση της πρωτεΐνης C (APC).(168) Η APC, με την παρουσία του συμπαράγοντά της, της πρωτεΐνης S, απενεργοποιεί τους ενεργοποιημένους παράγοντες VIIIa and Va αναστέλλοντας το σύμπλεγμα της προθρομβινάσης και το σύμπλεγμα της τενάσης.(169)

Η παραγωγή θρομβίνης αναστέλλεται επίσης από την απενεργοποίηση των πρωτεασών της σερίνης, από αναστολείς πρωτεασών της σερίνης. Οι περισσότεροι από αυτούς ανήκουν στην οικογένεια των σερπινών.(170) Ο σημαντικότερος είναι η αντιθρομβίνη III (ATIII), η οποία αναστέλλει τη θρομβίνη και τον παράγοντα Xa, καθώς και τους παράγοντες IXa και XIa, παρουσία ηπαρίνης ή θευκής ηπαράνης.(171) Σημαντικό ρόλο στην απενεργοποίηση των πρωτεασών της σερίνης παίζουν και δύο αναστολείς που δεν ανήκουν στην οικογένεια των σερπινών: ο αναστολέας της οδού του ιστικού παράγοντα (TFPI) που αναστέλλει τον ιστικό παράγοντα και η α-2-μικροσφαιρίνη που αναστέλλει τη θρομβίνη.(172,173)

## Γ6 ΙΝΩΔΟΛΥΣΗ

Η ινωδόλυση αποτελεί το τελικό στάδιο της διαδικασίας της αιμόστασης, που ενεργοποιείται παράλληλα με τη δημιουργία του θρόμβου. Στόχο έχει την διατήρηση της αιματικής ροής και της βατότητας των αγγείων και περιλαμβάνει τη μετατροπή του πλασμινογόνου σε πλασμίνη, η οποία διασπά το σταθερό αδιάλυτο ινώδες σε διαλυτά προϊόντα.(174)

Το πλασμινογόνο είναι ένα ανενεργό προένζυμο, το οποίο μετατρέπεται στην ενεργό του μορφή, την πλασμίνη. Η μετατροπή αυτή γίνεται μέσω δύο πρωτεασών της σερίνης, του ιστικού ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (tPA) και του ενεργοποιητή τύπου ουροκινάσης (uPA). Ο tPA συντίθεται και απελευθερώνεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, ενώ ο uPA παράγεται στα μονοκύτταρα, στα μακροφάγα και στα επιθηλιακά κύτταρα του ουροποιητικού συστήματος. Και οι δύο ενεργοποιητές έχουν μικρό χρόνο ημιζωής στην κυκλοφορία (4–8 λεπτά) λόγω της παρουσίας ειδικών αναστολέων τους, σε υψηλές συγκεντρώσεις στο πλάσμα.(161) Ο uPA φαίνεται να έχει μικρότερη συγγένεια για το πλασμινογόνο, δεν απαιτεί την παρουσία ινώδους ως συμπάραγοντα και υπό φυσιολογικές συνθήκες φαίνεται να δρα κυρίως σε εξωαγγειακές θέσεις. Και οι δύο παράγοντες καθαίρονται στο ήπαρ.(175) Η πλασμίνη αυξάνει τη δραστηριότητα των ενεργοποιητών του πλασμινογόνου, μετατρέποντας τα μονής αλύσου μόρια των tPA και uPA στα αντίστοιχα μόρια διπλής αλύσου. Με τον τρόπο αυτό το πλασμινογόνο ασκεί θετική παλίνδρομη ρύθμιση στην ενεργοποίησή του.(176) Η πλασμίνη επιτυγχάνει τη λύση του θρόμβου αδρανοποιώντας τους παράγοντες Va, VIIIa και XIIIa, διασπώντας το ινωδογόνο (ινωδογονόλυση) και διασπώντας το ινώδες (ινωδόλυση). Τα προϊόντα που δημιουργούνται από τη διάσπαση του ινωδογόνου και του ινώδους ονομάζονται προϊόντα αποδόμησης του ινωδογόνου και του ινώδους (F/FDPs).

Στην εικόνα 21 παρουσιάζονται τα προϊόντα αποδόμησης του ινωδογόνου και του ινώδους. Το ινωδογόνο αποτελείται από 3 περιοχές, δύο περιοχές στην άκρη του μορίου που ονομάζονται περιοχές D και μία περιοχή στο μέσον του μορίου που ονομάζεται περιοχή E. Η ινωδογονόλυση προκαλεί τη διάσπαση του τριμερούς D-E-D σε μονομερή D και E. Αντίθετα, η ινωδόλυση, οδηγεί στην παραγωγή E μονομερών καθώς και των χαρακτηριστικών διμερών θραυσμάτων, των δ-διμερών (D-D).(162)

### **Γ 6.1 Ανασταλτές του ινωδολυτικού μηχανισμού**

Οι ανασταλτές του ινωδολυτικού μηχανισμού δρουν με στόχο την αποφυγή της υπέρμετρης δραστηριότητας της πλασμίνης και των ενεργοποιητών του πλασμινογόνου. Η πλασμίνη και οι ενεργοποιητές του πλασμινογόνου που κυκλοφορούν στο πλάσμα, απενεργοποιούνται από αναστολείς πρωτεασών της σερίνης (σερπίνες) που κυκλοφορούν σε υψηλές συγκεντρώσεις.(177) Οι σερπίνες δημιουργούν σύμπλοκα με τα ένζυμα-στόχους τους και στη συνέχεια καθαίρονται από την κυκλοφορία. Οι τρεις σημαντικότερες σερπίνες στη διαδικασία της ινωδόλυσης είναι:

- Ο αναστολέας-1 του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (PAI-1) που αδρανοποιεί τον tPA και τον uPA.(178) Παράγεται από πολλούς τύπους κυττάρων όπως τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα μεγακαρυοκύτταρα και τα λιποκύτταρα. Μετά τη σύνθεσή του είτε αποθηκεύεται στα αιμοπετάλια, είτε εναποτίθεται στην υποενδοθηλιακή θεμέλια ουσία, είτε εκκρίνεται στην κυκλοφορία.(179) Η ανεξέλεγκτη δράση του PAI-1 αναστέλλει την ινωδόλυση, οδηγώντας σε παθολογική εναπόθεση ινώδους και σε ιστική βλάβη.(180) Ο PAI-1 αλληλεπιδρά με τα ενδοθηλιακά κύτταρα και συμμετέχει στη ρύθμιση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και στην αγγειογένεση.(181) Ανήκει επίσης στις πρωτεΐνες οξείας φάσης και επηρεάζεται σημαντικά από την παρουσία προφλεγμονωδών

κυτταροκινών, του παράγοντα νέκρωσης όγκων (TNF-α) και διαφόρων ορμονών (ινσουλίνη, γλυκοκορτικοειδή, αδρεναλίνη).(182) Η συγκέντρωση του PAI-1 σχετίζεται με τη φυλή και το φύλο (183) και είναι σε ένα βαθμό γενετικά καθοριζόμενη. Συγκεκριμένα, η αυξημένη συγκέντρωσή του στο πλάσμα έχει σχετιστεί με την παρουσία του πολυμορφισμού 675 4G/5G στον εκκινητή του γονιδίου του.(184) Η σύνθεση και έκκριση του PAI-1 επηρεάζεται και από άλλους παράγοντες, όπως η παρουσία ινσουλινοαντίστασης,(185) η παχυσαρκία,(186) τα αυξημένα λιπίδια πλάσματος (187) και η προχωρημένη ηλικία.(188) Το στρες, φαίνεται να παίζει επίσης καθοριστικό ρόλο στην ενεργοποίηση του PAI-1, αφού ερεθίσματα όπως ο πυρετός, η φλεγμονή, η υποξία, η οξειδωτική βλάβη, η κόπωση και το κάπνισμα, προκαλούν αλλαγές στην έκφραση του γονιδίου του.(189)

- Ο αναστολέας-2 του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (PAI-2), που παράγεται στον πλακούντα, αδρανοποιεί την ουροκινάση και δευτερευόντως τον tPA.(161)
- Η α2 αντιπλασμίνη (A2AP) που συνδέεται στοιχειομετρικά (1:1) με την πλασμίνη, με αποτέλεσμα την απενεργοποίηση και των δύο. Όσο η πλασμίνη παραμένει συνδεδεμένη στο ινώδες, προστατεύεται από την αναστολή της από την A2AP, επιτρέποντας έτσι τη συνέχιση της διαδικασίας της ινωδόλυσης.(190)

Στην αναστολή της ινωδόλυσης συμμετέχουν και άλλοι αναστολείς της πλασμίνης, που δεν ανήκουν στην ομάδα των σερπινών, όπως η α2-μακροσφαιρίνη, ο αναστολέας της C1-εστεράσης, και ουσίες που συμμετέχουν στο σύστημα επαφής του καταρράκτη της πήξης. Ο αναστολέας της ινωδόλυσης που ενεργοποιείται από τη θρομβίνη (TAFI), δεν ανήκει στην ομάδα των σερπινών και ενεργοποιείται από τη θρομβίνη που είναι συνδεδεμένη με θρομβομοντουλίνη. Ο TAFI είναι μια καρβοξυπεπτιδάση, που

απομακρύνει C-τελικά αμινοξέα λυσίνης και αργινίνης του πλέγματος ινώδους, μειώνοντας έτσι τα διαθέσιμα σημεία πρόσδεσης του πλασμινογόνου, επιβραδύνοντας τη γένεση πλασμίνης και σταθεροποιώντας το θρόμβο.(191)

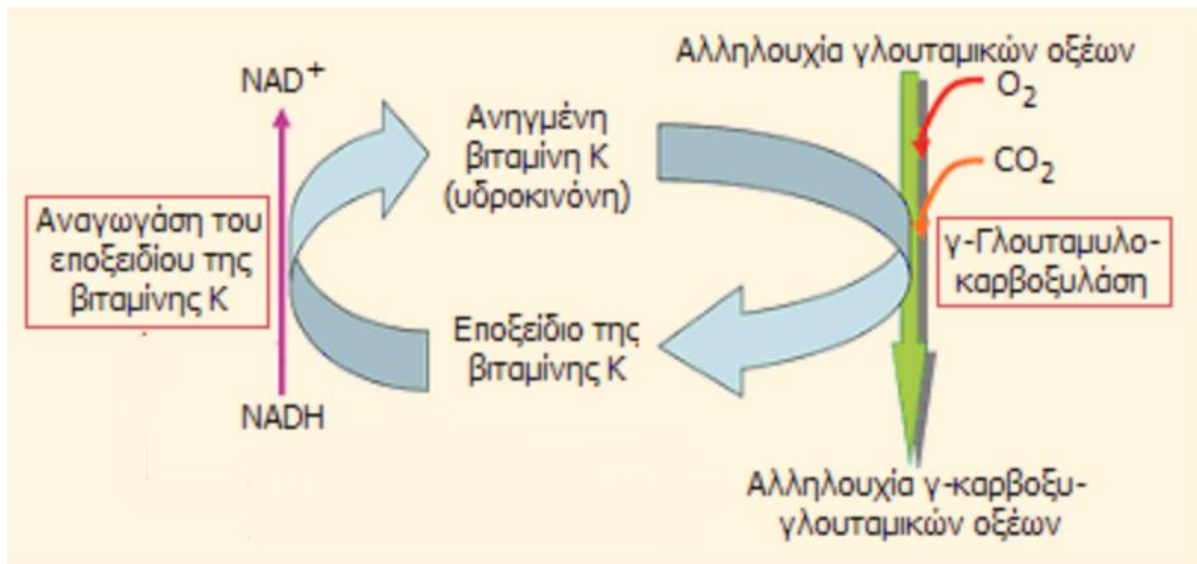
## **Γ7 Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΗΠΑΤΟΣ ΣΤΗΝ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ**

Το ήπαρ αποτελεί το όργανο παραγωγής των παραγόντων που συμμετέχουν στο μηχανισμό της πήξης (Πίνακας 14), με εξαίρεση τον παράγοντα von Willebrand και τον παράγοντα VIII που συντίθεται και σε άλλους ιστούς.(63) Οι παράγοντες II, VII, IX, X, και οι αναστολείς της πήξης πρωτεΐνες C, S, Z ονομάζονται βιταμινο-K εξαρτώμενοι παράγοντες, διότι απαιτούν την καρβοξυλίωση γλουταμινικών ομάδων τους από τη βιταμίνη K προκειμένου να ενεργοποιηθούν. Οι παράγοντες αυτοί, έχουν στο καρβοξυ-τελικό τους άκρο το δραστικό κέντρο μιας πρωτεΐνης σερίνης και στο αμινο-τελικό τους άκρο τη δομή "Gla". Η δομή "Gla" είναι χαρακτηριστική αυτών των πρωτεϊνών και συμμετέχει στην αλληλεπίδρασή τους με τα λιπίδια των κυτταρικών μεμβρανών, μέσω σύνδεσης με ιόντα ασβεστίου. Η καρβοξυλίωση των γλουταμινικών οξέων των βιταμινο-K εξαρτημένων παραγόντων, είναι μια μεταμεταγραφική τροποποίηση η οποία εξαρτάται από τη βιταμίνη-K και πραγματοποιείται από μια ειδική γ-γλουταμυλ-καρβοξυλάση στο ενδοπλασματικό δίκτυο των ηπατικών κυττάρων. (192) (Εικόνα 22)

Στο ήπαρ γίνεται επίσης η σύνθεση των παραγόντων V, XIII, του ινωδογόνου, των αναστολέων της πήξης (α1-αντιθρομβίνη), των ινωδολυτικών παραγόντων (πλασμινογόνο, t-PA), καθώς και των αναστολέων της ινωδόλυσης (α2-αντιπλασμίνη, PAI-1). Το ήπαρ επηρεάζει και την παραγωγή των αιμοπεταλίων από τα μεγακαρυοκύτταρα μέσω της σύνθεσης της θρομβοποιητίνης.(63) Εκτός από βασικό όργανο παραγωγής των παραγόντων που συμμετέχουν στο μηχανισμό της αιμόστασης, το ήπαρ αποτελεί και θέση αποδόμησης και κάθαρσης των παραγόντων αυτών, μέσω του συστήματος μονοκυττάρων-



μακροφάγων, όπου βασικό ρόλο παίζουν τα κύτταρα Kupffer. Ο ρόλος του ήπατος στη διαδικασία της πήξης είναι πολλαπλός και άρα οποιαδήποτε κατάσταση επηρεάζει τη λειτουργικότητά του, μπορεί να διαταράξει την αιμοστατική ισορροπία ανάμεσα σε προπηκτικούς και αντιπηκτικούς παράγοντες.(193) (Κεφ. Α 6.7).



**Εικόνα 22: Η δράση της βιταμίνης Κ.** Μετατροπή του γλουταμικού οξέος των παραγόντων της πήξεως σε γ-καρβοξυλιωμένο γλουταμικό οξύ, ικανό να συνδεθεί με ιόντα ασβεστίου και να προσκολληθεί στα φωσfolιπίδια της επιφάνειας των αιμοπεταλίων. (τροπ. από Furie et al, Blood 1999; 93: 1798-1808)(194)

## Γ8 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗΣ

### Γ 8.1 Συμβατικές/Κλασσικές εξετάσεις

Οι κλασσικές εργαστηριακές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται στην καθημέρα κλινική πράξη για τη διερεύνηση των διαταραχών της αιμόστασης είναι η γενική αίματος για τον προσδιορισμό του αριθμού των αιμοπεταλίων, ο χρόνος προκρομβίνης (PT), ο χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης (apTT), το ινωδογόνο και τα προϊόντα αποδομησης του ινώδους (d-dimers).

### **Γ 8.1.1 Χρόνος προθρομβίνης (PT/INR)**

Ο χρόνος προθρομβίνης (PT), αντανακλά την ακεραιότητα της εξωγενούς οδού και της κοινής οδού της αιμόστασης σύμφωνα με την παλιότερη θεώρηση του καταρράκτη της πήξης (Εικόνα 23). Πιο συγκεκριμένα, ο PT εκτιμά την επάρκεια των παραγόντων VII,II, V, X, του ιστικού παράγοντα και του ινωδογόνου, μέσω μέτρησης του χρόνου που απαιτείται για να δημιουργηθεί πήγμα από το πλάσμα μετά από προσθήκη σε αυτό ιστικής θρομβοπλαστίνης και ιόντων ασβεστίου. Λόγω των μεγάλων διαφορών στη δραστηριότητα που παρουσιάζουν οι θρομβοπλαστίνες που χρησιμοποιούνται σε κάθε εργαστήριο, έχει επικρατήσει η χρήση του INR (International Normalised Ratio), το οποίο καθορίζεται από το δείκτη ευαισθησίας του χρησιμοποιούμενου αντιδραστηρίου ISI (International Sensitivity Index), σύμφωνα με τον τύπο:

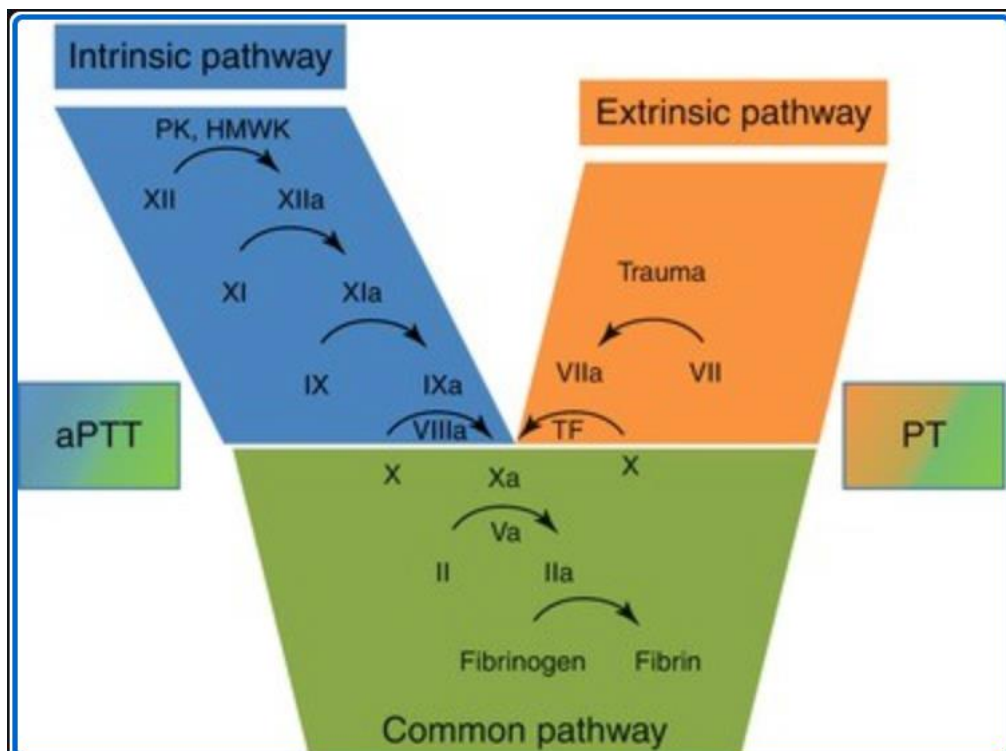
$$\text{INR} = (\text{PT ασθενούς}/\text{PT μάρτυρα})^{\text{ISI}}$$

Το INR, χρησιμοποιείται με στόχο τα αποτελέσματα των διαφόρων εργαστηρίων να είναι συγκρίσιμα. Αποτελεί την εξέταση εκλογής για την παρακολούθηση των ασθενών που λαμβάνουν αντιπηκτική αγωγή με ανταγωνιστές της βιταμίνης K (κουμαρινικά αντιπηκτικά).(196)

### **Γ 8.1.2 Χρόνος ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης (aPTT)**

Ο χρόνος ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης (aPTT), αντανακλά την ακεραιότητα της ενδογενούς και της κοινής οδού της αιμόστασης, σε αντιστοιχία με το PT (Εικόνα 23). Ελέγχεται η επάρκεια των παραγόντων VIII, IX, XI, XII, II, V, X και του ινωδογόνου, μέσω μέτρησης του χρόνου που απαιτείται για να δημιουργηθεί πήγμα από το πλάσμα μετά από προσθήκη σε αυτό καολίνης (ενεργοποιητή των παραγόντων XII και XI), ασβεστίου και φωσφολιπιδίων.

Το ΑΡΤΤ χρησιμοποιείται στην παρακολούθηση της θεραπείας ασθενών που λαμβάνουν κλασική μη-κλασματοποιημένη ηπαρίνη. Μεμονωμένες παρατάσεις του aPTT (χωρίς συνοδό παράταση του PT), παρατηρούμε σε σοβαρή έλλειψη των παραγόντων VIII (Αιμορροφιλία Α ή νόσος von Willebrand), IX (Αιμορροφιλία Β), XII, στην παρουσία επίκτητων ανασταλτών, καθώς και στην παρουσία αντιπηκτικού του λύκου (LA).(195) Η διάκριση μεταξύ έλλειψης παράγοντα και παρουσίας αναστολέα/LA, γίνεται με τη δοκιμασία ανάμειξης του υπό εξέταση πλάσματος με φυσιολογικό πλάσμα, που στην περίπτωση της έλλειψης παραγόντων, οδηγεί σε διόρθωση του aPTT.(196)



**Εικόνα 23: Παράγοντες πήξης που επηρεάζουν το PT και το aPTT** (Perioperative Hemostasis. Springer, Berlin, Heidelberg, 2015).(196) common pathway: κοινή οδός; extrinsic pathway: εξωγενής οδός; fibrin: ινώδες; fibrinogen: ινωδογόνο; HMWK: μεγάλου μοριακού βάρους κινινογόνο; intrinsic pathway: ενδογενής οδός; PK: προκαλλικρεΐνη; trauma: τραύμα.

### **Γ 8.1.3 Χρόνος θρομβίνης (TT)**

Ο χρόνος θρομβίνης αντανακλά την μετατροπή του ινωδογόνου σε ινώδες, μέσω της προσθήκης βόειας ή ανθρώπιου θρομβίνης σε πλάσμα πτωχό σε αιμοπετάλια. Μετράται ο χρόνος που απαιτείται για να δημιουργηθεί ο θρόμβος ινώδους. Είναι δοκιμασία ευαίσθητη στην παρουσία αναστολέων στο πλάσμα, όπως η ηπαρίνη.(197)

### **Γ 8.1.4 Ινωδογόνο**

Η ευρύτερα χρησιμοποιούμενη μέθοδος για τον προσδιορισμό της βιοχημικής δραστηριότητας του ινωδογόνου, είναι η μέτρηση κατά Clauss. Η μέθοδος περιλαμβάνει την αραίωση του πλάσματος του ασθενούς και στη συνέχεια την προσθήκη πυκνού διαλύματος θρομβίνης. Η μέτρηση του ινωδογόνου παρέχει σημαντικές πληροφορίες σε περιπτώσεις διερεύνησης αιμορραγίας, διάχυτης ενδοαγγειακής πήξης (ΔΕΠ) και ηπατικής ανεπάρκειας.(198) Το ινωδογόνο ανήκει στις πρωτεΐνες οξείας φάσεως, επομένως τα επίπεδα του βρίσκονται αυξημένα σε καταστάσεις όπως λοιμώξεις, κακοήθειες και στην εγκυμοσύνη.(199)

### **Γ 8.1.5 δ-διμερή**

Όπως αναφέρθηκε ανωτέρω (Κεφ. Γ6), η αποδόμηση του ινωδογόνου και του διαλυτού (μη-σταθεροποιημένου) ινώδους (ινωδογονόλυση), προκαλεί τη διάσπαση του τριμερούς D-E-D σε μονομερή D και E. Αντίθετα, η αποδόμηση του πλέγματος ινώδους (ινωδόλυση), οδηγεί στην παραγωγή E μονομερών καθώς και των χαρακτηριστικών διμερών θραυσμάτων, των δ-διμερών (d-d).(162) Επομένως, δ-διμερή παράγονται από την αποδόμηση του σταθεροποιημένου ινώδους και όχι από το μη-σταθεροποιημένο ή το ινωδογόνο. (Εικόνα 21). Το σύνολο των προϊόντων αποδόμησης του ινωδογόνου και του ινώδους, αναφέρεται ως προϊόντα αποδόμησης του ινωδογόνου και του ινώδους (F-Fdps).(162)

Η βασική αρχή μέτρησης των δ-διμερών, είναι η χρήση αντισωμάτων που συνδέονται με το νεο-επίτοπο που δημιουργείται κατά τον σχηματισμό των δ-διμερών. Συνήθως χρησιμοποιείται τεχνική ELISA.

Ακόμα και υπό φυσιολογικές συνθήκες, στον οργανισμό παρατηρείται κάποιου βαθμού σχηματισμός και αποδόμηση ινώδους, οπότε η φυσιολογική τιμή των δ-διμερών δεν είναι μηδενική (φυσιολογικές τιμές <0,5mg/l). Αυξημένα επίπεδα δ-διμερών παρατηρούνται σε θρομβοεμβολικές καταστάσεις (εν τω βάθει φλεβοθρόμβωση, πνευμονική εμβολή, εμβολή άλλων αγγείων πχ ηπατικών φλεβών), διάχυτη ενδαγγειακή πήξη (ΔΕΠ), κακοήθειες, αυτοάνοσα νοσήματα, λοιμώξεις, σήψη, τραύμα, εγκαύματα, χειρουργικές επεμβάσεις, ακινητοποίηση αλλά και σε καταστάσεις όπως η εγκυμοσύνη, το σύνδρομο HELLP (Hemolysis, Elevated Liver Enzymes, Low Platelet count/αιμόλυση, αυξημένα ηπατικά ένζυμα, θρομβοπενία), το κάπνισμα και η προχωρημένη ηλικία.

Τα δ-διμερή, χρησιμοποιούνται ευρέως για τον αποκλεισμό της εν τω βάθει φλεβοθρόμβωσης και της πνευμονικής εμβολής (ΠΕ), έχοντας υψηλή αρνητική προγνωστική αξία. Για το σκοπό αυτό, τα δ-διμερή χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με το κλινικό σκορ Wells (Πίνακας 21). Για παράδειγμα, τα αρνητικά δ-διμερή σε ασθενείς χαμηλού κινδύνου για ΠΕ (σύμφωνα με το Wells score), αποκλείουν σε ποσοστό 99% τη διάγνωση της ΠΕ.(200) Παρ' ότι τα υψηλά επίπεδα δ-διμερών φαίνεται να σχετίζονται με υψηλή θνητότητα σε ασθενείς με θρομβοεμβολική νόσο, αποτελούν ένα μη-ειδικό δείκτη και άρα είναι δύσκολη η δημιουργία κάποιου διαγνωστικού αλγορίθμου που να βασίζεται στην μέτρηση τους.(201)

Ιστορικό / κλινικά ευρήματα	Score
Συμπτώματα και σημεία ετβ φλεβοθρόμβωσης	3.0
Ταχυκαρδία >100 /min	1.5
Ακινητοποίηση στο κρεβάτι	1.5
Ιστορικό φλεβοθρόμβωσης ή ΠΕ	1.5
Αιμόπτυση	1.0
Κακοήθεις όγκοι	1.0
ΠΕ κλινικά «πιθανότερη από εναλλακτική διάγνωση» (κλινική εξέταση, ακτινογραφία θώρακα, ΗΚΓ, αέρια αίματος)	3.0

**Πίνακας 21: Wells Score: εκτίμηση της κλινικής πιθανότητας πνευμονικής εμβολής.** Ερμηνεία: <2 χαμηλή πιθανότητα ΠΕ, 2-6 ενδιάμεση, >6 υψηλή πιθανότητα. Διχοτόμηση: <4: ΠΕ απιθανή, >4 ΠΕ πιθανή (τροπ. από PS Wells, Ann Intern Med 2001;135:98-107) (200) ετβ: εν τω βάθει; ΗΚΓ: ηλεκτροκαρδιογράφημα; ΠΕ: πνευμονική εμβολή

### **Γ 8.2 Λειτουργικός έλεγχος και ποσοτικός προσδιορισμός παραγόντων πήξης και αναστολέων**

Σε περιπτώσεις παράτασης των PT ή/και aPTT, οπου υπάρχει υποψία έλλειψης ενός ή περισσότερων παραγόντων πήξης/αναστολέων, χρησιμοποιούνται μέθοδοι ποσοτικού και ποιοτικού προσδιορισμού των παραγόντων/αναστολέων. Για τη μέτρηση της δραστηριότητας των παραγόντων πήξεως, χρησιμοποιούνται χρωμογονικές μέθοδοι, που βασίζονται στην ιδιότητα των παραγόντων της πήξης να αποκόπτουν σε ένα συγκεκριμένο σημείο την πεπτιδική αλυσίδα του μορίου-υποστρώματός τους. Αυτές οι μέθοδοι, περιλαμβάνουν την προσθήκη πλάσματος με ένδεια του υπό εξέταση παράγοντα στο πλάσμα του ασθενούς. Στη συνέχεια ακολουθούνται οι αρχές μέτρησης του PT και του APTT,

αναλόγως σε ποια από τις δύο οδούς ανήκει ο υπό εξέταση παράγοντας. Οι τιμές αναφοράς των παραγόντων πήξης παρουσιάζονται στον Πίνακα 22.(202) Ο ποσοτικός προσδιορισμός των μορίων γίνεται με χρήση ανοσοενζυμικών τεχνικών.(203)

Παράγοντας	Φυσιολογικές τιμές (%)
<b>fX</b>	60-140
<b>fII</b>	60-140
<b>fV</b>	60-140
<b>fVII</b>	60-140
<b>fVIII</b>	64-233
<b>fIX</b>	69-151

**Πίνακας 22: Τιμές αναφοράς παραγόντων πήξης** (τροπ. από Mann et al, J Thromb Haemost 2004; 2:1727-34)(202)

Σε αντίθεση με τους υπόλοιπους παράγοντες πήξης, η βιολογική δραστηριότητα του παράγοντα XIII, δεν μπορεί να προσδιοριστεί με τη χρήση πλάσματος με ένδεια παράγοντα XIII. Ο παράγοντας XIII αποτελεί μια ιδιαίτερη περίπτωση παράγοντα πήξης, αφού όπως είδαμε δεν συμμετέχει στα αρχικά στάδια της παραγωγής θρομβίνης, αλλά διαδραματίζει βασικό ρόλο στη σταθεροποίηση του θρόμβου. Πρόκειται για ένα ετεροδιμερές που κυκλοφορεί στο πλάσμα ως μια προ-τρανσγλουταμινάση, αποτελούμενη από δύο καταλυτικές υποομάδες A [FXIII-A<sub>2</sub>] και δύο μη καταλυτικές υποομάδες B [FXIII-B<sub>2</sub>], συνδεδεμένες μεταξύ τους με μη-ομοιοπολικούς δεσμούς.(204)

Για την εργαστηριακή εκτίμηση του παράγοντα XIII χρησιμοποιούνται(205):

- Αντιγονικές μέθοδοι: τυποποιημένη μέθοδος ELISA για τον προσδιορισμό των υποομάδων FXIII-A and FXIII-B.
- Μέθοδοι ελέγχου δραστηριότητας:

- a. Δοκιμασία απελευθέρωσης αμμωνίας: Ο παράγοντας XIII ως τρανσγλουταμινάση, αντιδρά με ένα υπόστρωμα συνθετικού αμινοπεπτιδίου και ένα ολιγοπεπτίδιο που περιέχει γλουταμίνη, προκαλώντας την παραγωγή αμμωνίας, η οποία και ανιχνεύεται. Η δοκιμασία αυτή είναι ταχεία, αυτοματοποιημένη και με άριστη επαναληψιμότητα.
  - b. Δοκιμασία ενσωμάτωσης αμίνης: Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιεί επίσης την δραστικότητα τρανσγλουταμινάσης του παράγοντα XIII. Είναι χρονοβόρα και δύσκολα τυποποιείται, γι' αυτό και η χρήση της είναι περιορισμένη.
  - c. Δοκιμασία ισοπεπτιδάσης: σε ειδικές συνθήκες ο παράγοντας XIII έχει δραστικότητα ισοπεπτιδάσης (επάγει την απελευθέρωση αμινών συνδεδεμένων με γλουταμίνη). Η δραστικότητα αυτή μετράται με ανοσοφθορισμό.(206)
- Χρωμογονική μέθοδος που μετρά τον ενεργοποιημένο παράγοντα XIII, βασισμένη στην δραστικότητα τρανσγλουταμινάσης. Η ενσωμάτωση ενός υποστρώματος στο ινωδογόνο μέσω του ενεργοποιημένου παράγοντα XIII μετά από προσθήκη θρομβίνης, ανιχνεύεται με χρωμογονικές μεθόδους. Η αλλαγή του χρώματος είναι ανάλογη της συγκέντρωσης του ενεργοποιημένου παράγοντα XIII.(207)

Παρ' ότι η βαριά έλλειψη του παράγοντα XIII προκαλεί αιμορραγική διάθεση απειλητική για τη ζωή, έχει φανεί ότι ο ίδιος παράγοντας σχετίζεται και με θρομβωτικές διαταραχές. Τα επίπεδά του φαίνεται να συνδέονται με την αθηρωμάτωση και με τη θρομβοεμβολική νόσο.(208)



## **Γ 8.3 Έλεγχος αιμοπεταλίων**

### **Γ 8.3.1 Ποσοτικός έλεγχος**

Ο αριθμός των αιμοπεταλίων μετρείται σήμερα από τους αυτόματους αιματολογικούς αναλυτές. Οι φυσιολογικές τιμές των αιμοπεταλίων είναι 150-400 x10<sup>9</sup>/L. Εκτός από τον αριθμό των αιμοπεταλίων, οι αναλυτές προσδιορίζουν και άλλες παραμέτρους, όπως ο μέσος όγκος των αιμοπεταλίων (MPV), το εύρος κατανομής τους (PDW) και τα δικτυοαιμοπετάλια, δείκτες ιδιαίτερα χρήσιμοι, αλλά σπάνια χρησιμοποιούμενοι στην καθημέρα κλινική πράξη. Οι αυτόματοι αναλυτές, διαχωρίζουν τα κύτταρα μεταξύ τους βάσει μεγέθους, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει σε αλλοίωση των αποτελεσμάτων, όταν για παράδειγμα υπάρχουν γιγάντια αιμοπετάλια (π.χ. μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα) ή σωροί αιμοπεταλίων. Γι' αυτό το λόγο, είναι απαραίτητη η εκτίμηση του αριθμού των αιμοπεταλίων μικροσκοπικά, σε επίχρισμα περιφερικού αίματος.(209) Το επίχρισμα μπορεί να μας προσφέρει πρόσθετες πληροφορίες για την αιτία της θρομβοπενίας, όπως την παρουσία κατακερματισμένων ερυθρών στην θρομβωτική θρομβοπενική πορφύρα ή την παρουσία βλαστικών κυττάρων στην οξεία λευχαιμία.

### **Γ 8.3.2 Ποιοτικός έλεγχος**

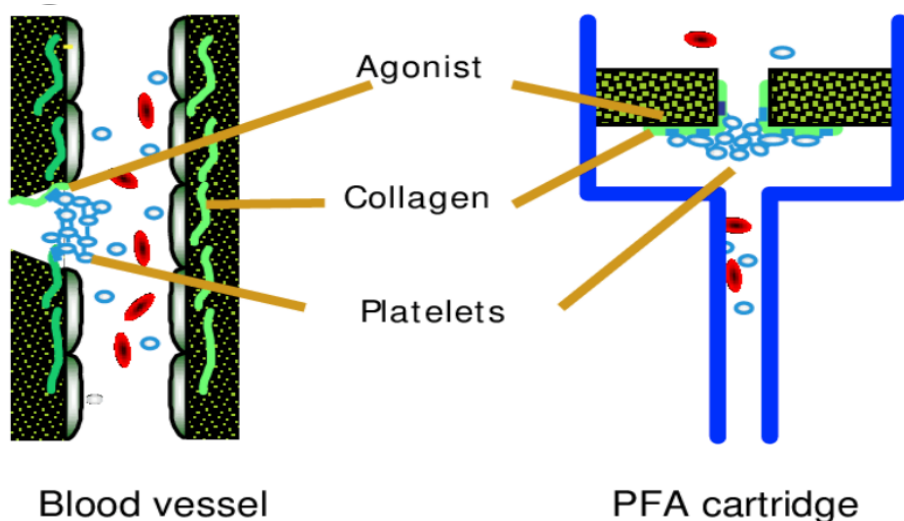
Ο φυσιολογικός αριθμός αιμοπεταλίων δεν συνεπάγεται και τη φυσιολογική λειτουργία τους. Η μελέτη του επιχρίσματος του περιφερικού αίματος μπορεί να μας δώσει πληροφορίες για μορφολογικά χαρακτηριστικά των αιμοπεταλίων που συνδέονται με συγκεκριμένες διαταραχές (πχ Gray platelet syndrome/ May Hegglin syndrome).(210) Παρακάτω παρατίθενται οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενες τεχνικές ποιοτικού ελέγχου των αιμοπεταλίων.

### **Γ 8.3.3 Ο χρόνος ροής (Μέθοδος του Ivy)**

Εφαρμόζεται μανόμετρο στο βραχίονα του ασθενούς και ασκείται πίεση 40mmHg. Στη συνέχεια γίνονται 3 τομές με ειδικό σκαρφιστήρα βάθους περίπου 9mm μήκος 1mm βάθος στο εσωτερικό μέρος του βραχίονα και μετράται ο χρόνος έως ότου να σταματήσει η αιμορραγία. Η αιμορραγία φυσιολογικά σταματάει μετά από 3-8 λεπτά. Παράταση του χρόνου ροής μπορεί να οφείλεται σε ανωμαλίες του αγγείου, σε ποσοτική ή λειτουργική διαταραχή των αιμοπεταλίων, σε λήψη αντιαιμοπεταλιακών φαρμάκων ή σε νόσο von Willebrand.(211)

### **Γ 8.3.4 PFA 100 (Platelet Function Analyser)**

Το PFA 100 προσομοιάζει την πρωτογενή αιμόσταση, μετρώντας το χρόνο που απαιτείται για να επιτευχθεί η φραγή της οπής μιας μεμβράνης από τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια του ασθενούς. Τα αιμοπετάλια ενεργοποιούνται μέσω επαφής με μια μεμβράνη εμποτισμένη με αγωνιστές των αιμοπεταλίων, όπως το κολλαγόνο, η διφωσφονική αδενοσίνη (PFA-ADP) και η επινεφρίνη (PFA-EPI). Ο χρόνος σύγκλισης της οπής (CT), αντιπροσωπεύει την προσκόλληση και συσσώρευση των αιμοπεταλίων και κατ' επέκταση την πρωτογενή αιμόσταση. Χρησιμοποιείται στον προεγχειρητικό έλεγχο ασθενών, στον έλεγχο της αποτελεσματικότητας της αντιαιμοπεταλιακής αγωγής, αλλά και στη διερεύνηση θρομβοπαθειών και της νόσου von Willebrand.(212)



**Εικόνα 24: Αρχή λειτουργίας PFA-100.** (Nemery B et al, Health effects of particulate matter in relation to physical-chemical characteristics and meteorology “Parhealth”, 2021)(213) agonist: αγωνιστής; blood vessel: αιμοφόρο αγγείο; collagen: κολλαγόνο; platelets: αιμοπετάλια; PFA cartridge: κασέτα PFA

### Γ 8.3.5 Συσσώρευση αιμοπεταλίων *in vitro* με χρήση αγωνιστών

#### Γ 8.3.5.1 Αγκρεγομετρία μετάδοσης φωτός (Light Transmission Aggregometry-LTA)

Το gold standard του λειτουργικού ελέγχου των αιμοπεταλίων είναι η αγκρεγομετρία μετάδοσης φωτός (LTA). Ο αναλυτής παρακολουθεί φωτομετρικά τη δημιουργία συσσωματωμάτων αιμοπεταλίων, μετά από την προσθήκη ενεργοποιητών τους (ADP, κολλαγόνο, επινεφρίνη, αραχιδονικό οξύ, θρομβίνη, ιόντα ασβεστίου). Χρησιμοποιείται στον έλεγχο αποτελεσματικότητας της αντιαιμοπεταλιακής αγωγής, αλλά και σε περιπτώσεις θρομβοπαθειών. Η LTA, αποτελεί σημαντικό εργαστηριακό εργαλείο για τη διάγνωση της νόσου von Willebrand μέσω της μελέτης της φάσης προσκόλλησης των αιμοπεταλίων, χρησιμοποιώντας τη ριστοσετίνη, μια ουσία που συνδέει τα αιμοπετάλια μεταξύ τους μέσω του παράγοντα vWF.(214) Στους περιορισμούς της μεθόδου σημειώνονται, ο χρόνος που απαιτείται για

την ολοκλήρωσή της, η δυνατότητα εκτέλεσής της μόνο σε εξειδικευμένο εργαστήριο και από ειδικευμένο προσωπικό, καθώς και το ότι η τεχνική μπορεί να επηρεαστεί από διάφορες προαναλυτικές (τύπος του αντιπηκτικού, αριθμός αιμοπεταλίων) και αναλυτικές μεταβλητές (παρασκεύασμα πλάσματος, χρήση διαφορετικών συγκεντρώσεων αγωνιστών).(215)

### **Γ 8.3.5.2 Multiplate analyzer**

Το multiplate analyzer (Multiplate, Dynabyte, Roche Diagnostics, Mannheim, Γερμανία), μετρά την αύξηση της ηλεκτρικής αντίστασης που παρουσιάζεται όταν τα αιμοπετάλια συσσωρεύονται, ως απάντηση στην ενεργοποίησή τους από κάποιον αγωνιστή. Ο αναλυτής αποτελείται από δύο ηλεκτρόδια, πάνω στα οποία συγκεντρώνονται τα συσσωρευμένα αιμοπετάλια και καταγράφει το βαθμό αύξησης της αντίστασης σε Ohm. Το multiplate analyzer, θεωρείται ένα έγκυρο κλινικό εργαλείο για την ταχεία και πλήρη αξιολόγηση της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων σε ασθενείς που λαμβάνουν αντιαιμοπεταλιακή αγωγή, σε κληρονομικές και επίκτητες διαταραχές, στη νόσο von Willebrand κ.α. Η τεχνική δεν απαιτεί εξειδικευμένο προσωπικό για την εκτέλεσή της.(216)

### **Γ 8.3.6 Άλλες μέθοδοι εκτίμησης της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων(217)**

- Η μέτρηση νουκλεοτιδίων με φθοριομετρία εφαρμόζεται στις διαταραχές αποθήκευσης κοκκίων (storage pool disorders).
- Η κυτταρομετρία ροής όπου σημαίνονται τα αιμοπετάλια με αντισώματα εναντίον γλυκοπρωτεϊνών της επιφάνειάς τους.
- Μοριακές μέθοδοι όπου με βάση την κλινική εικόνα, γίνεται αναζήτηση συγκεκριμένου γονιδίου π.χ MYH9 στο σύνδρομο May Hegglin.

## **Γ 8.4 Έλεγχος ινωδόλυσης**

### **Γ 8.4.1 D-διμερή (Κεφ. Γ 8.1.5)**

### **Γ 8.4.2 Χρόνος λύσης θρόμβου ευσφαιρινών πλάσματος**

Η μέθοδος περιλαμβάνει τη μίξη πλάσματος πτωχού σε αιμοπετάλια με οξύ. Η οξינוποίηση, οδηγεί στην καθίζηση των ευσφαιρινών του πλάσματος (πλασμινογόνο, ενεργοποιητές του πλασμινογόνου και ινωδογόνο). Στο τέλος της διαδικασίας, η προσθήκη ασβεστίου, οδηγεί στη δημιουργία θρόμβου, η λύση του οποίου χρονομετράται. Διάλυση του θρόμβου εντός μισής ώρας, συνηγορεί υπέρ οξείας ινωδόλυσης, ενώ η παραμονή του για πάνω από 4 ώρες υπέρ υποϊνωδόλυσης.

Λόγω του χρόνου που απαιτεί για την ολοκλήρωσή της και της μειωμένης αναπαραγωγιμότητας της, η μέθοδος έχει σχεδόν εγκαταλειφθεί και αντικατασταθεί από ειδικές λειτουργικές και ανοσολογικές δοκιμασίες, που θα αναφερθούν στη συνέχεια.(218)

### **Γ 8.4.3 $\alpha_2$ -αντιπλασμίνη ( $\alpha_2$ -AP)**

Ο προσδιορισμός της  $\alpha_2$ -AP γίνεται είτε με ανοσολογικές μεθόδους (συνήθως μέθοδος ELISA) είτε με προσδιορισμό της δραστικότητάς της με χρωμογονικές μεθόδους, χρησιμοποιώντας ως βασική αρχή τη σύνδεση της  $\alpha_2$ -AP με την πλασμίνη.

Η συγγενής έλλειψή της συνδυάζεται με αιμορραγικό φαινότυπο. Ελαττωμένα επίπεδα ανιχνεύονται επίσης στη διάχυτη ενδαγγειακή πήξη (ΔΕΠ) και σε περιπτώσεις ηπατικής ανεπάρκειας.

Τα επίπεδα αναφοράς της δραστικότητας της  $\alpha_2$ -AP είναι 0.80 - 1.20 IU/mL.(219)

#### **Γ 8.4.4 Πλασμινογόνο**

Ο προσδιορισμός του πλασμινογόνου γίνεται είτε με ανοσολογικές μεθόδους (συνήθως μέθοδος ELISA), είτε με προσδιορισμό της δραστικότητας του, με χρωμογονικές μεθόδους, χρησιμοποιώντας ως βασική αρχή την ενεργοποίηση του σε πλασμίνη μέσω της δράσης της στρεπτοκινάσης ή του u-PA.

Η έλλειψη πλασμινογόνου, κληρονομείται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τρόπο. Τα φυσιολογικά επίπεδα πλασμινογόνου παρουσιάζουν φυλετική διακύμανση και είναι υψηλότερα στους Αφρικανούς άνδρες.

Λόγω της σπανιότητας των καταγεγραμμένων περιπτώσεων, οι βιβλιογραφικές αναφορές παρουσιάζουν αντικρουόμενα αποτελέσματα για τη συσχέτιση της έλλειψης πλασμινογόνου με αυξημένο θρομβωτικό κίνδυνο.

Τα επίπεδα αναφοράς του αντιγόνου του πλασμινογόνου είναι 150-250 ng/l και της δραστικότητάς του 0.75-1.60 U/ml.(220)

#### **Γ 8.4.5 Ανασταλέας-1 του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (PAI-1)**

Για την εργαστηριακή εκτίμηση του PAI-1 χρησιμοποιούνται:

- Αντιγονικές μέθοδοι: τυποποιημένη μέθοδος ELISA.
- Μέθοδοι ελέγχου δραστικότητας:
  - a. Χρωμογονική μέθοδος γένεσης πλασμίνης: η μέθοδος επηρεάζεται από παράγοντες που λύουν το πλασμινογόνο, από την παρουσία ηπαρίνης στο υπό εξέταση δείγμα και από παράγοντες που αλληλοεπιδρούν με την πλασμίνη.
  - b. Ανοσοδοκιμασία με χρήση ενζύμων (BIA): μετρά τη δραστικότητα του PAI-1 στο υπό εξέταση δείγμα, με το αποτέλεσμα να επηρεάζεται σε μικρότερο βαθμό από άλλους παράγοντες. Είναι η περισσότερο χρησιμοποιούμενη λειτουργική μέθοδος.

Το γονίδιο του PAI-1 [*SERPINE1*] βρίσκεται στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος 7: 7q22.1. Ο πολυμορφισμός [4G/5G] στην περιοχή του

εκκινητή του γονιδίου, έχει φανεί ότι επηρεάζει τα επίπεδα του PAI-1 και οι ομοζυγώτες για την αλληλουχία 4G, έχουν την τάση να παρουσιάζουν τα υψηλότερα επίπεδα PAI-1, σε αντίθεση με τους ομοζυγώτες 5G που παρουσιάζουν τα χαμηλότερα.(221)

Διάφοροι παράγοντες, εκτός από τον πολυμορφισμό 4G/5G έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζουν τα επίπεδα του PAI-1, όπως ο ΔΜΣ, η ινσουλινοαντίσταση, ορισμένες κυτταροκίνες και ορμόνες. (Κεφ. Γ 6.1)

Τα επίπεδα αναφοράς του PAI-1:Ag είναι 5-40 ng/ml και της δραστικότητάς του <15 U/ml.(178)

#### **Γ 8.4.6 Ιστικός ενεργοποιητής του πλασμινογόνου (tPA)**

Ο εργαστηριακός προσδιορισμός των επιπέδων του t-PA είναι περίπλοκος λόγω της διακύμανσης των επιπέδων του στο πλάσμα (πρωτεΐνη οξείας φάσης), καθώς και της διακύμανσης των επιπέδων του PAI-1 (πρωτεΐνη οξείας φάσης, κirkάδια διακύμανση), ο οποίος συνδέεται και απενεργοποιεί τον t-PA.(222) Τα αίτια παθολογικών τιμών του t-PA παρουσιάζονται στον Πίνακα 23.

Για την εργαστηριακή εκτίμηση του t-PA χρησιμοποιούνται:

- Αντιγονική μέθοδος: μέθοδος ELISA που δεν επηρεάζεται από τις αλληλεπιδράσεις του t-PA με τους ανασταλτές του (π.χ. PAI-1), οι οποίες μπορεί να συνεχίζονται και μετά τη λήψη του δείγματος. Αποτελεί πολύ αξιόπιστη μέθοδο προσδιορισμού της ολικής συγκέντρωσης του t-PA. Πολύ μεγάλες ποσότητες ηπαρίνης μπορεί να επηρεάσουν το αποτέλεσμα.
- Μέθοδοι ελέγχου δραστικότητας:
  - a. χρωμογονική μέθοδος έμμεσου προσδιορισμού, που χρησιμοποιεί ως βασική αρχή την αλληλεπίδρασή του t-PA με την πλασμίνη.
  - b. ανοσοδοκιμασίες με χρήση ενζύμων (BIA): οι μέθοδοι αυτοί επηρεάζονται από πολλαπλούς παράγοντες και συνίσταται αυστηρή τυποποίηση της διαδικασίας της αιμοληψίας για αποφυγή

προαναλυτικών λαθών, καθώς και η χρήση φιαλιδίων με ειδικό αντιδραστήριο που αποτρέπει το σχηματισμό συμπλόκου του t-PA και του PAI-1 in vitro. Η παρουσία άλλων παραγόντων που λύουν το πλασμινογόνο, καθώς και της ηπαρίνης που αυξάνει τη δραστηριότητα του t-PA, επηρεάζουν το αποτέλεσμα. Οι παθολογικές τιμές πρέπει πάντα να επιβεβαιώνονται με επανάληψη.

Τα επίπεδα αναφοράς του t-PA:Ag είναι 1-20 ng/ml και της δραστηριότητάς του 0.2-2 IU/mL.(223)

t-PA Μέθοδος	Αύξηση	Μείωση
Αντιγονική	κληρονομική υπερινωδόλυση	διαιτητικοί παράγοντες
Έλεγχος δραστηριότητας	λήψη αναβολικών στεροειδών, κίρρωση, στρες, λήψη αντισυλληπτικών, φλεβική θρόμβωση, λοχεία	κατανάλωση οινοπνεύματος, κάπνισμα, εγκυμοσύνη

**Πίνακας 23:** Αίτια παθολογικών τιμών κατά τη μέτρηση του t-PA (τροπ. από Longstaff C et al, Thromb Haemost. 2015; 13: 98-105).(222)

#### **Γ 8.4.7 Αναστολέας της ινωδόλυσης που ενεργοποιείται από τη θρομβίνη (Thrombin activated fibrinolysis inhibitor-TAFI)**

Για την εργαστηριακή εκτίμηση του TAFI χρησιμοποιούνται:

- Αντιγονικές μέθοδοι: τυποποιημένη μέθοδος ELISA.



- Μέθοδοι ελέγχου δραστηριότητας:
  - a. Θολοσιμετρική μέθοδος που χρησιμοποιεί ως βασική αρχή, την ιδιότητα του TAFI να καθυστερεί τη λύση ενός θρόμβου που έχει εκτεθεί σε ανασυνδυασμένο t-PA (recombinant t-PA, rt-PA). Σε περίπτωση που ο TAFI ανεπαρκεί, ποσοτικά ή ποιοτικά, η ινωδόλυση εξελίσσεται κανονικά.
  - b. Μέθοδος κατά την οποία γίνεται ενεργοποίηση της πήξης με θρομβίνη-θρομβομοντουλίνη και διακοπή της διαδικασίας στα 10 λεπτά, με προσθήκη ειδικού αναστολέα πρωτεασών. Στη συνέχεια μετράται ο TAFI, με χρήση ειδικού υποστρώματος.

Τα φυσιολογικά επίπεδα TAFI παρουσιάζουν μεγάλη διακύμανση στο φυσιολογικό πληθυσμό. Δεν υπάρχει διαφορά μεταξύ των φύλων, ούτε διακύμανση κατά την κύηση.

Μειωμένα επίπεδα ή μειωμένη δραστηριότητα του TAFI, συμμετέχουν στην έκφραση αιμορραγικού φαινοτύπου σε ασθενείς με ανεπάρκεια παράγοντα FXI, καθώς και στη βαρύτητα των αιμορραγικών εκδηλώσεων των αιμορροφιλικών ασθενών.

Αυξημένα επίπεδα TAFI, πιθανώς συνδέονται με αυξημένο κίνδυνο φλεβοθρόμβωσης.(224)

Τα επίπεδα αναφοράς του TAFI:Ag είναι 5.8-10.0μg/ml.(225)

#### **Γ 8.4.8 Ενεργοποιητής τύπου ουροκινάσης (uPA)**

Η μέτρηση του u-PA δεν περιλαμβανόταν μέχρι πρόσφατα στον έλεγχο ασθενών με διαταραχές της αιμόστασης. Πλέον τα επίπεδά του μπορούν να προσδιοριστούν σε εξειδικευμένα εργαστήρια. Τα βιβλιογραφικά δεδομένα σχετικά με την ερμηνεία των εργαστηριακών αποτελεσμάτων είναι περιορισμένα, υπάρχει όμως ιδιαίτερο ενδιαφέρον στην περαιτέρω μελέτη του ρόλου του σε ασθενείς με διαταραχές της αιμόστασης.(226)

Για την εργαστηριακή εκτίμηση του u-PA χρησιμοποιούνται:

- Αντιγονικές μέθοδοι: τυποποιημένη μέθοδος ELISA.
- Μέθοδοι ελέγχου δραστηριότητας:
  - a. Χρωμογονική μέθοδος που χρησιμοποιεί ως βασική αρχή την ιδιότητα του u-PA να μετατρέπει το πλασμινογόνο σε πλασμίνη.
  - b. Μέθοδοι ανοσοφθορισμού που με τη χρήση υποστρώματος ειδικού για τον u-PA ποσοτικοποιούν τη δραστηριότητά του.

Αυξημένα επίπεδα u-PA μπορεί να παρατηρηθούν σε ασθενείς με ηπατική νόσο.

Τα επίπεδα αναφοράς του u-PA:Ag είναι 2-7 ng/ml.(227)

#### **Γ 8.4.9 Δοκιμασία φλεβικής συμπίεσης**

Αποτελεί δοκιμασία που έχει σχεδόν εγκαταλειφθεί, η οποία βασίζεται στην παρατήρηση ότι μετά από μία περίοδο μειωμένης φλεβικής ροής, ακολουθεί αύξηση της ινωδολυτικής δραστηριότητας του πλάσματος. Δεν είναι σαφείς οι υποκείμενοι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί, αν και θεωρείται πιθανή η απελευθέρωση t-PA από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, ως απάντηση στη μειωμένη φλεβική ροή ή η συσσώρευσή του στην περιοχή της στάσης.

Ένα σφυγμομανόμετρο εφαρμόζεται στο βραχίονα για 10-20 λεπτά, στη μέση τιμή μεταξύ συστολικής και διαστολικής πίεσης. Γίνεται αιμοληψία πριν και μετά την φλεβική συμπίεση και μελετάται η διαφορά των τιμών των μετρούμενων παραγόντων της ινωδόλυσης στο πλάσμα.(228)

#### **Γ 8.4.10 Δοκιμασία ελέγχου ολικής ινωδολυτικής ικανότητας (GFC)**

Είναι μια αυτοματοποιημένη, φωτομετρική μέθοδος, κατά την οποία προκαλείται η δημιουργία θρόμβου στο υπό εξέταση πλάσμα και καταγράφεται η διάλυσή του σε σχέση με το χρόνο. Οι τιμές αναφοράς του χρόνου λύσης είναι 30-60 λεπτά, με μέση τιμή τα 45 λεπτά.(229)

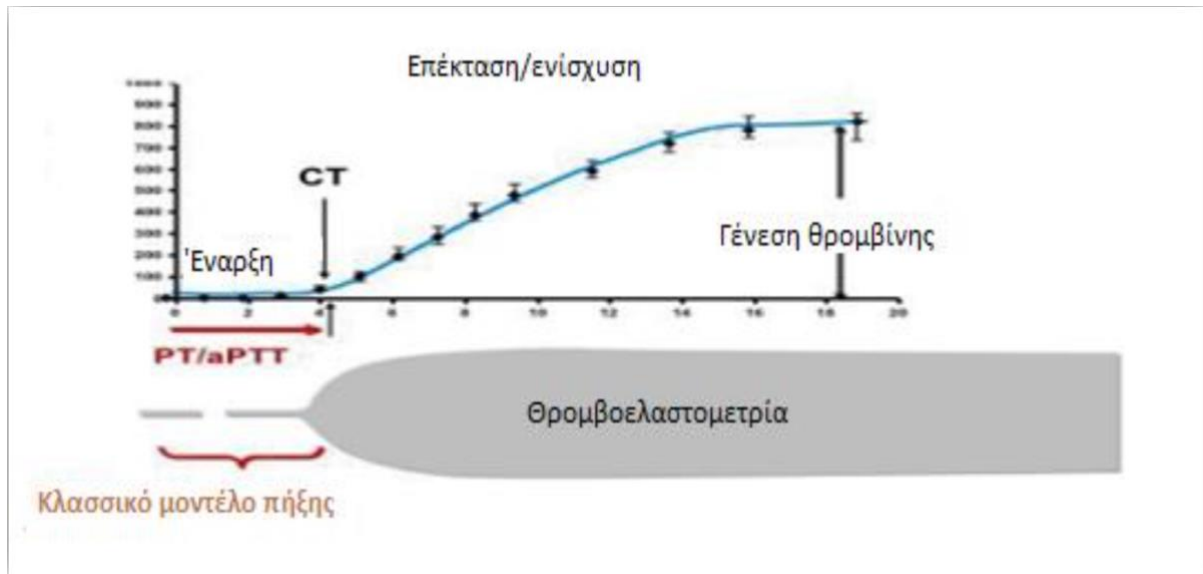
### **Γ 8.5 Μοριακός έλεγχος γονιδίων που σχετίζονται με διαταραχές της αιμόστασης**

Ο τομέας της διερεύνησης της μοριακής βάσης των διαταραχών της αιμόστασης, εξελίσσεται ταχέως, για την αναζήτηση γονιδίων που σχετίζονται τόσο με αιμορραγικές, όσο και με θρομβωτικές παθήσεις. Ο μοριακός έλεγχος βασίζεται στη τεχνική της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) και τις τροποποιήσεις αυτής (π.χ. RT-PCR). Σήμερα είναι δυνατός ο ταυτόχρονος έλεγχος πολλών μεταλλάξεων/ πολυμορφισμών. Σε άτομα με υποψία κληρονομικής αιμορραγικής νόσου ελέγχονται μεταλλάξεις του μορίου του vWf, του παράγοντα VIII και IX (αιμορροφιλία), ενώ σε άτομα με υποψία κληρονομικής θρομβοφιλίας, οι συχνότερες μεταλλάξεις που σήμερα ελέγχονται είναι οι μεταλλάξεις στα μόρια του παράγοντα V [1691 G→A(V Leiden), 4070 A→G] και της προθρομβίνης (20210 G→A). Μοριακός έλεγχος μπορεί να πραγματοποιηθεί και σε περιπτώσεις υποψίας δυσινωδογοναιμίας, με ανάλυση των μεταλλάξεων του ινωδογόνου καθώς και στα μόρια του ινωδολυτικού συστήματος (PAI-1).(230)

### **Γ 8.6 Σφαιρικές δοκιμασίες της αιμόστασης**

Οι δοκιμασίες ελέγχου της αιμόστασης που αναφέρθηκαν στις προηγούμενες ενότητες, αντιμετωπίζουν την αιμόσταση σαν μια στατική κατάσταση, βασιζόμενες στο παλιό μοντέλο της ενδογενούς και εξωγενούς οδού της πήξης. Η εκτέλεση των περισσότερων από αυτές απαιτεί την προσθήκη μη-φυσιολογικών ενεργοποιητών της πήξης και συχνά πραγματοποιούνται σε πλάσμα πτωχό σε αιμοπετάλια. Η αιμόσταση όμως, βάσει της σύγχρονης θεώρησής της, αποτελεί μια σύνθετη διεργασία που εξαρτάται από την αλληλεπίδραση μεταξύ των κυττάρων και συστατικών του πλάσματος. Αυτή την πολύπλοκη διαδικασία προσπαθούν να προσεγγίσουν και να αξιολογήσουν οι σφαιρικές δοκιμασίες της αιμόστασης. Στόχος αυτών των δοκιμασιών είναι η

αναγνώριση των ασθενών που μπορεί να βρίσκονται σε αυξημένο θρομβωτικό ή αιμορραγικό κίνδυνο καθώς και η αξιόπιστη παρακολούθηση της αποτελεσματικότητας της φαρμακευτικής αγωγής που μπορεί να λαμβάνουν.(231) Οι ευρύτερα χρησιμοποιούμενες μέθοδοι, είναι η δοκιμασία γένεσης θρομβίνης και η θρομβοελαστογραφία.

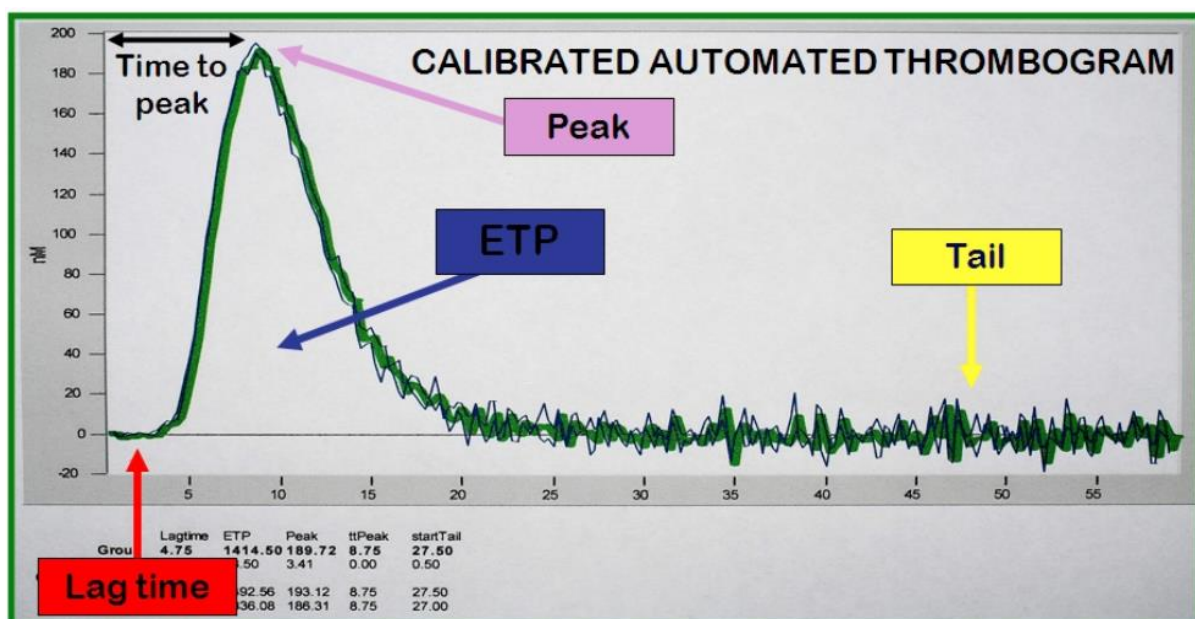


**Εικόνα 25: Διαφορές μεταξύ συμβατικών και σφαιρικών δοκιμασιών ελέγχου της αιμόστασης.** (τροπ. από Saner FH et al, Visc Med 2016; 32: 241-48) (231)

Η δοκιμασία γένεσης θρομβίνης ανακαλύφθηκε στη σημερινή μορφή της από την ομάδα του Coenraad Hemker στο Πανεπιστήμιο του Μάαστριχτ.(231) Η δοκιμασία πραγματοποιείται σε πλάσμα φτωχό σε αιμοπετάλια, μετά από προσθήκη φωσφολιπιδίων, αν και η χρήση πλάσματος πλούσιου σε αιμοπετάλια είναι επίσης δυνατή. Ως εκκινητής χρησιμοποιείται συνήθως μικρή ποσότητα ιστικού παράγοντα. Η μέθοδος χρησιμοποιεί ένα χρωμογονικό ή φθορίζον υπόστρωμα, ευαίσθητο στη θρομβίνη. Με βάση την ταχύτητα με την ενεργοποιείται η θρομβίνη, μέσω της αποκοπής τμήματος της πεπτιδικής της αλυσίδας, υπολογίζεται η συγκέντρωση της θρομβίνης σε σχέση με το χρόνο. Συνήθως η καμπύλη αυτή έχει ένα χαρακτηριστικό σχήμα καμπάνας. Οι

συχνότερα εκτιμώμενες παράμετροι κατά τη μελέτη της δοκιμασίας γένεσης θρομβίνης είναι: (Εικόνα 26)

- Ο χρόνος που μεσολαβεί από την προσθήκη του αντιδραστηρίου (trigger) μέχρι το σχηματισμό του θρόμβου (lag time)
- Η μέγιστη ποσότητα θρομβίνης που μπορεί να παραχθεί (peak)
- Ο χρόνος που απαιτείται για να παραχθεί η μέγιστη ποσότητα θρομβίνης (time to peak), δηλαδή η ταχύτητα σχηματισμού της
- Ο δείκτης ταχύτητας (velocity index)
- Το ενδογενές δυναμικό θρομβίνης (ETP- endogenous thrombin potential), που αντιπροσωπεύει τη συνολική ποσότητα θρομβίνης που μπορεί να παραχθεί από το συγκεκριμένο δείγμα πλάσματος, κάτω από την επίδραση των προπηκτικών και αντιπηκτικών παραγόντων που αυτό περιέχει.(232)



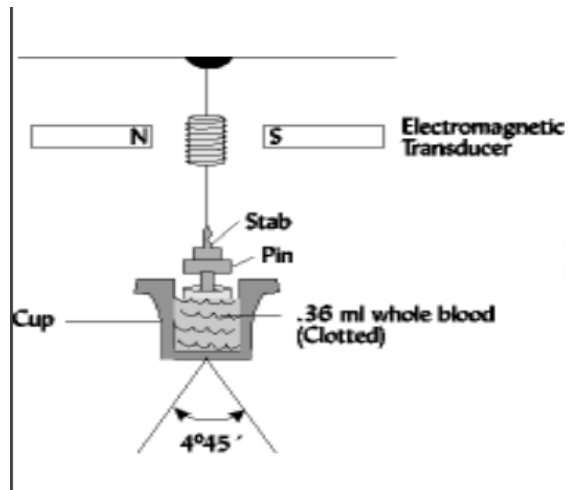
**Εικόνα 26: Διάγραμμα δοκιμασίας γένεσης θρομβίνης.** ([www.practical-haemostasis.com/Miscellaneous/Global%20Assays/etp\\_assays.html](http://www.practical-haemostasis.com/Miscellaneous/Global%20Assays/etp_assays.html))(233) calibrated automated thrombogram: αυτόματο βαθμονομημένο θρομβογράφημα; ETP: ενδογενές δυναμικό θρομβίνης; lag time: χρόνος έως το σχηματισμό θρόμβου; peak: μέγιστη ποσότητα θρομβίνης; tail: ουρά; time to peak: ταχύτητα σχηματισμού.

Η δοκιμασία γένεσης θρομβίνης βρίσκει κλινική εφαρμογή στη μελέτη θρομβοφιλικών καταστάσεων (ανεπάρκεια αντιθρομβίνης, ανεπάρκεια πρωτεΐνης C, S, αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο) αλλά και αιμορραγικών παθήσεων (αιμορροφιλία A, B, επίκτητες ανεπάρκειες παραγόντων, θεραπεία με αντιπηκτικά). Τα κύρια μειονεκτήματα της μεθόδου είναι η διενέργειά της σε πλάσμα φτωχό ή πλούσιο σε αιμοπετάλια, που την καθιστά χρονοβόρα, καθώς και η δυνατότητα εκτέλεσης της μόνο από εκπαιδευμένο προσωπικό.(234)

Οι ινοελαστικές μέθοδοι ελέγχου του αίματος ανιχνεύουν σε πραγματικό χρόνο τις αλλαγές στο ιξώδες του αίματος κατά τα στάδια σχηματισμού και διάλυσης του θρόμβου. Η μέθοδος της θρομβοελαστομετρίας αναπτύχθηκε το 1948, στο πανεπιστήμιο της Χαϊδελβέργης στη Γερμανία, από τον Hellmut Hartert και αποτελεί την παλαιότερη σφαιρική δοκιμασία της αιμόστασης. Σήμερα χρησιμοποιούνται οι δύο αυτοματοποιημένες μορφές, η θρομβοελαστογραφία (TEG) και η θρομβοελαστομετρία (ROTEM), με τις οποίες είναι δυνατή η συνεχής παρακολούθηση και η απόδοση σε διάγραμμα της κινητικής σχηματισμού του θρόμβου σε όλα τα στάδια (έναρξη, ενίσχυση, εξάπλωση, διάλυση).(235)

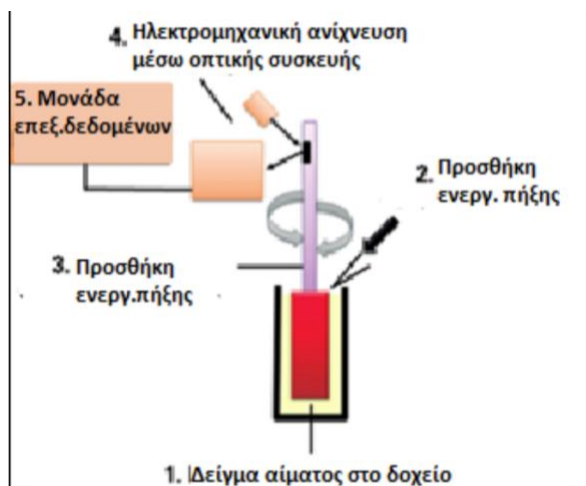
Η αρχή λειτουργίας της θρομβοελαστογραφίας (TEG) βασίζεται στην περιστροφή μιας ειδικής θερμαινόμενης κυψελίδας που περιέχει δείγμα ολικού αίματος, υπό γωνία  $4^{\circ}45'$ , με περιοδικότητα 5 δευτερολέπτων. Μια ακίδα συνδεδεμένη με ένα περιελισσόμενο μεταλλικό σύρμα, βυθίζεται εντός της κυψελίδας, οπότε καθώς σχηματίζεται ο θρόμβος, η ινική που παράγεται συνδέει μηχανικά την ακίδα με την κυψελίδα. Όσο η σύνδεση ενδυναμώνεται, η

περιστροφή της κυψελίδας μεταδίδεται στην ακίδα και καταγράφεται το αντίστοιχο διάγραμμα από το ενισχυμένο σήμα που δίνει το σύρμα σε έναν ηλεκτρομαγνητικό μετατροπέα. (Εικόνα 27) (236)



**Εικόνα 27: Σχηματική απεικόνιση της μεθόδου της θρομβοελαστογραφίας-TEG** (Maha O. et al, Methods Mol Biol 2017; 1646: 533-543) (236) cup: κυψελίδα; electromagnetic transducer: ηλεκτρομαγνητικός μετατροπέας; pin-stab: ακίδα συνδεδεμένη με μεταλλικό σύρμα; whole blood (clotted): ολικό αίμα (με θρόμβο).

Η θρομβοελαστομετρία (ROTEM), αποτελεί παραλλαγή της μεθόδου και χρησιμοποιείται συχνότερα στην Ευρώπη. Στο ROTEM η κυψελίδα είναι σταθερή και η ακίδα περιστρέφεται. Η ακίδα είναι συνδεδεμένη με έναν οπτικό ανιχνευτή και όχι με περιελισσόμενο μεταλλικό σύρμα όπως στην περίπτωση της TEG (Εικόνα 28). Η διαφορά αυτή καθιστά το ROTEM λιγότερο ευαίσθητο σε παράσιτα από δονήσεις ή κινήσεις.(237)



**Εικόνα 28: Σχηματική απεικόνιση της μεθόδου της θρομβοελαστομετρίας (ROTEM).** (τροπ. από Zamper RPa et al, Einstein (Sao Paulo) 2017; 15: 243-246)(238)

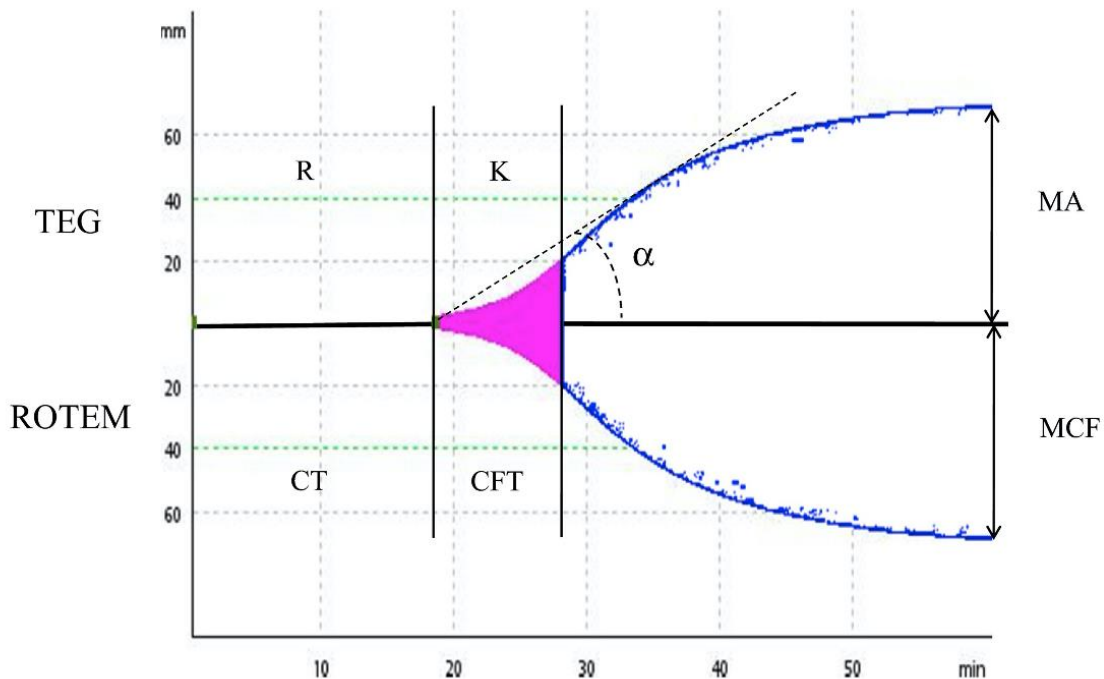
Παρότι αρχικά για την TEG χρησιμοποιούταν ολικό αίμα (χωρίς προσθήκη κιτρικού νατρίου), πλέον χρησιμοποιείται αίμα με κιτρικό νάτριο στο οποίο προστίθεται ασβέστιο για την έναρξη της πήξης. Χρησιμοποιούνται επίσης ενεργοποιητές τόσο για την τυποποίηση της μεθόδου όσο και για την επιτάχυνση της διαδικασίας. Και οι δύο συσκευές παρέχουν τη δυνατότητα ταυτόχρονης ανάλυσης πολλαπλών δειγμάτων.(239)

Οι βασικές παράμετροι που λαμβάνουμε από τις δύο μεθόδους είναι: (Εικόνα 29)

- Το R-time (Reaction time, χρόνος αντίδρασης)-TEG ή CT (Clotting Time, χρόνος πήξης)-ROTEM αντιστοιχεί στο χρόνο που απαιτείται για τον αρχικό σχηματισμό ινώδους. Αντανακλά τα επίπεδα των παραγόντων πήξης και την επίδραση των ανασταλτών.
- Ο K-time-TEG ή CFT (Clot Formation Time, χρόνος σχηματισμού θρόμβου)-ROTEM, αντιστοιχεί στο χρόνο που απαιτείται ώστε το γράφημα να φτάσει ένα προκαθορισμένο επίπεδο (20mm) ανθεκτικότητας του θρόμβου.



- Η  $\alpha$ -angle ( $\alpha$ - γωνία, εφαπτομένη της κινητικής ανάπτυξης του θρόμβου) μετρά σε μοίρες τον ρυθμό ενίσχυσης του θρόμβου μέσω πολυμερισμού του ινώδους. Τόσο το K-time/ CFT, όσο και η  $\alpha$ - angle επηρεάζονται από τη διαθεσιμότητα του ινωδογόνου, τον παράγοντα XIII, και σε μικρότερο βαθμό από τα αιμοπετάλια.
- Το MA (Maximum Amplitude, Μέγιστη Μεγέθυνση)-TEG ή MCF (Maximal Clotting Firmness, Μέγιστη Αντοχή Θρόμβου)-ROTEM, αντιστοιχεί στη μεγαλύτερη διάσταση που απέκτησε ο θρόμβος πριν την έναρξη της ινωδόλυσης. Επηρεάζεται από την παραγωγή ινώδους και τη λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων.
- Η σταθερότητα του θρόμβου εκτιμάται μέσω του ποσοστού μείωσης της μεγέθυνσης του γραφήματος σε 30 και 60 λεπτά και εκφράζεται από τις παραμέτρους λύσης (LY 30/60-TEG ή LI 30/60-ROTEM).
- Ο CI (coagulation index, δείκτης πήκτικότητας), αποτελεί συνολικό δείκτη εκτίμησης της πήξης.



**Εικόνα 29: Διάγραμμα θρομβοελαστογραφίας/ θρομβοελαστομετρίας και των αντίστοιχων παραμέτρων.** (Nogami K, Br J Haematol 2016; 174: 503-14)(240) α: γωνία α; CFT: χρόνος σχηματισμού θρόμβου; CT: χρόνος πήξης; K: χρόνος κινητικής; MA: μέγιστη μεγένθυση, MCF: μέγιστη αντοχή θρόμβου; R: χρόνος αντίδρασης; ROTEM: θρομβοελαστομετρία; TEG: θρομβοελαστογραφία.

Στην περίπτωση του ROTEM υπάρχουν 4 τύποι ανάλυσης που μπορούν να εκτελούνται ταυτόχρονα στο ίδιο δείγμα και βοηθούν στη μελέτη των διαφορετικών σταδίων της πήξης. Αυτοί είναι:

- EXTEM: χρησιμοποιείται ιστικός παράγοντας ως ενεργοποιητής και μας δίνει πληροφορίες για την εξωγενή οδό.
- INTEM: χρησιμοποιείται ελαγικό οξύ ως ενεργοποιητής και μας δίνει πληροφορίες για την ενδογενή οδό.
- FIBTEM: χρησιμοποιείται κυτοχλασίνη-D, η οποία αναστέλλει τα αιμοπετάλια και αναδεικνύεται μόνο η συνεισφορά του ινωδόγονου στο σχηματισμό του θρόμβου.
- APTEM: χρησιμοποιείται απρωτινίνη, η οποία αναστέλλει την ινωδόλυση.

Η συνδυαστική ερμηνεία των αποτελεσμάτων των 4 αυτών τύπων ανάλυσης, βοηθά στη διάγνωση και αντιμετώπιση διάφορων καταστάσεων. Η θρομβοελαστογραφία και η θρομβοελαστομετρία βρίσκουν κλινική εφαρμογή σε επεμβάσεις (τραύμα, μεταμόσχευση ήπατος, γυναικολογικά χειρουργεία, καρδιοχειρουργικές επεμβάσεις), που συνήθως απαιτούν μαζικές μεταγγίσεις αίματος και παραγώγων. Η χρήση τους στόχο έχει τη στοχευμένη μετάγγιση και έχει επιτύχει δραματική μείωση των μεταγγίσεων συμπυκνωμένων ερυθρών, φρέσκου καταψυγμένου πλάσματος και αιμοπεταλίων.(241)

## **Δ. ΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗΣ ΣΤΟ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΚΑΙ ΣΤΗ ΜΑΛΛΗ**

### **Δ1 ΠΡΟΦΛΕΓΜΟΝΩΔΕΣ/ΠΡΟΘΡΟΜΒΩΤΙΚΟ ΣΤΑΔΙΟ ΣΤΟ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ**

Το μεταβολικό σύνδρομο αποτελεί ένα σύνολο αλληλοσυνδεόμενων μεταβολικών διαταραχών που περιλαμβάνουν την κεντρικού τύπου παχυσαρκία, την ινσουλινοαντίσταση (σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2, διαταραχή ανοχής στη γλυκόζη ή διαταραχή γλυκόζης νηστείας), την υπερτριγλυκεριδαιμία, την αρτηριακή υπέρταση και τα χαμηλά επίπεδα λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας (HDL).(242) Η συσχέτιση αυτών των παραγόντων κινδύνου ήταν γνωστή από παλαιότερα, τα τελευταία χρόνια όμως το μεταβολικό σύνδρομο συγκεντρώνει το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας λόγω της παγκόσμιας αύξησης του επιπολασμού του, που συνδέεται κυρίως με τα αυξανόμενα ποσοστά παχυσαρκίας και με τον καθιστικό τρόπο ζωής.(243) Αποτελεί πλέον ένα παγκόσμιο πρόβλημα δημόσιας υγείας με τον επιπολασμό του να φτάνει το 25% των ενηλίκων στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής (Η.Π.Α.) Η αύξηση αυτή δεν περιορίζεται στις χώρες της Δύσης αλλά αφορά και χώρες της Ασίας όπως η Κίνα, η Ινδία και η Νότια Κορέα.(244)

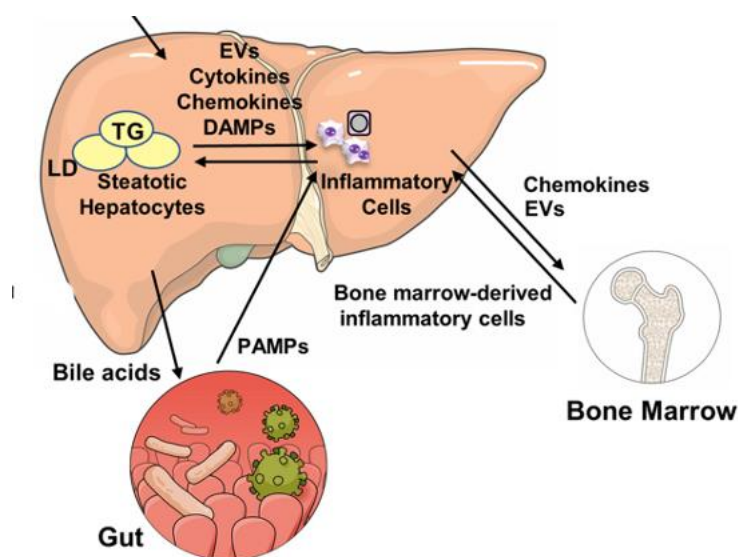
Το μεταβολικό σύνδρομο συνοδεύεται συχνά από έναν υπερπηκτικό φαινότυπο. Συγκεκριμένα ο μηχανισμός της πήξης στρέφεται προς μια προθρομβωτική κατάσταση που οφείλεται σε ενεργοποίηση του καταρράκτη της πήξης, στην παρουσία διαταραχών του ινωδολυτικού μηχανισμού, του ενδοθηλίου και κυρίως στην υπεραντιδραστικότητα των αιμοπεταλίων.(245) Η πλέον αποδεδειγμένη διαταραχή που συνδέεται με το μεταβολικό σύνδρομο είναι η αυξημένη έκφραση του αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (PAI-

1).(246)

Οι διαταραχές της αιμόστασης στους ασθενείς με μεταβολικό σύνδρομο φαίνεται να συνδέονται με την ινσουλινοαντίσταση και την παρουσία κοιλιακής παχυσαρκίας.(247) Το σπλαγγικό λίπος δεν αποτελεί απλά μία λιπαροθήκη, αλλά και ένα ενδοκρινές όργανο που εκκρίνει ελεύθερα λιπαρά οξέα, ορμόνες, αδιπνεκτίνη και προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες που παίζουν ενεργό ρόλο στην παθοφυσιολογία των αιμοστατικών διαταραχών που παρατηρούνται στους ασθενείς αυτούς.(248)

## Δ2 ΠΡΟΦΛΕΓΜΟΝΩΔΕΣ/ΠΡΟΘΡΟΜΒΩΤΙΚΟ ΣΤΑΔΙΟ ΣΤΗ ΜΑΛΝΗ/ΜΑΣΗ

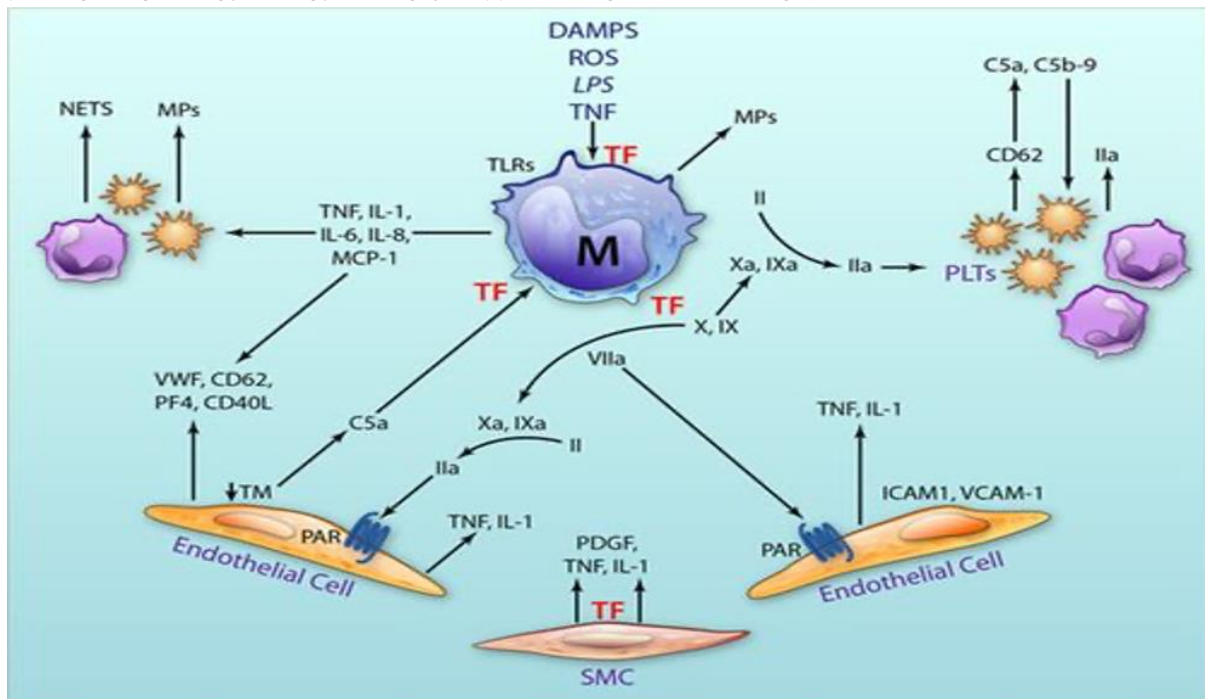
Η συσχέτιση μεταξύ ΜΑΛΝΗ/ΜΑΣΗ και ενός προφλεγμονώδους/προθρομβωτικού φαινοτύπου έχει βασιστεί τόσο σε επιδημιολογικά δεδομένα όσο και στο παθοφυσιολογικό υπόβαθρο της νόσου, την ενεργοποίηση δηλαδή του μηχανισμού της φλεγμονής (Εικόνα 30). (249)



**Εικόνα 30: Μεσολαβητές της φλεγμονής στο ήπαρ που οδηγούν στην εμφάνιση ΜΑΣΗ και ίνωσης.** Λιποτοξικά είδη λιπιδίων οδηγούν σε ηπατικό στρες και απελευθέρωση εξωκυττάρων σωματιδίων (EVs), κυτταροκινών,

χημειοκινών και μοριακών προτύπων σχετιζόμενων με βλάβη (DAMPs) από τα ηπατοκύτταρα. Αυτό οδηγεί στην επιστράτευση φλεγμονωδών κυττάρων από τον μυελό των οστών. Χολικά οξέα από το ήπαρ, μοριακά πρότυπα σχετιζόμενα με παθογόνα (PAMPs) από το έντερο, και αδιποκίνες από το λιπώδη ιστό επηρεάζουν επίσης πολλά βήματα στη διαδικασία. (τροπ. από Parthasarathy G et al, *HepatoL Commun.* 2020; 4: 478-92)(249) bile acids: χολικά οξέα; bone marrow: μυελός των οστών; bone marrow derived inflammatory cells: φλεγμονώδη κύτταρα προερχόμενα από το μυελό των οστών; chemokines: χημειοκίνες; cytokines: κυτταροκίνες; gut: παχύ έντερο; inflammatory cells: φλεγμονώδη κύτταρα LD: σταγονίδιο λίπους; steatotic hepatocytes: στεατωτικά ηπατοκύτταρα; TG: τριγλυκερίδια.

Οι μηχανισμοί της φλεγμονής και της αιμόστασης είναι αποδεδειγμένα συνδεδεμένοι, αφού η φλεγμονή οδηγεί σε ενεργοποίηση της αιμόστασης που με τη σειρά της ενισχύει τη φλεγμονώδη κατάσταση (Εικόνα 31).(250,251)



**Εικόνα 31: Σύνδεση μεταξύ των μηχανισμών της αιμόστασης και της φλεγμονής.** Σε καταστάσεις φλεγμονής, κυκλοφορούνται μονοκύτταρα (M) και υποενδοθηλιακά κύτταρα (πχ λεία μυϊκά κύτταρα, SMC) ενεργοποιούνται από δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS), κυτταροκίνες και ενδοτοξίνες (LPS) και από μοριακά πρότυπα σχετιζόμενα με βλάβη (DAMPs) μέσω υποδοχέων αναγνώρισης παθογόνων, όπως οι υποδοχείς Toll-like (TLRs). Ο ιστικός παράγοντας (TF) εκτίθεται στο αίμα, με τη συγκέντρωσή του να διατηρείται σταθερή μέσω της έκκρισης προφλεγμονωδών κυτταροκινών, χημειοκινών και φλεγμονωδών/προπηκτικών μικροσωματιδίων (MPs) από τα λευκοκύτταρα, τα αιμοπετάλια, τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα περιαγγειακά κύτταρα. Ο TF

πυροδοτεί την εμφάνιση του παράγοντα VIIa, του παράγοντα Xa και της θρομβίνης (IIa) που ενεργοποιεί τα αιμοπετάλια και προκαλεί σηματοδότηση μέσω υποδοχέων ενεργοποιούμενων από πρωτεάσες (PAR) που οδηγεί σε απελευθέρωση περισσότερων φλεγμονωδών κυτταροκινών, εμφάνιση μορίων προσκόλλησης των λευκοκυττάρων-1 (ICAM-1), μορίων προσκόλλησης των αγγειακών κυττάρων-1 (VCAM-1), και καταστολή των αγγειοπροστατευτικών μορίων, όπως η θρομβομοντουλίνη (TM). Η απελευθέρωση P-σελεκτίνης (CD62), παράγοντα von Willebrand (VWF), αιμοπεταλιακού παράγοντα 4 (PF4), και CD40 συνδέτη, προάγουν την επιστράτευση, την προσκόλληση και την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και των λευκοκυττάρων με σχηματισμό εξωκυττάρων ουδετεροφιλικών δικτύων χρωματίνης (NETs). Μετά την έκθεση σε παθογόνα ή σε τραυματισμένα κύτταρα, μέσω της μεσολάβησης της θρομβίνης, μπορούν επίσης να παραχθούν τα κλάσματα του συμπληρώματος C5a και C5b-9. Αυτά τα μόρια συμβάλλουν περαιτέρω στην επιστράτευση φλεγμονωδών λευκοκυττάρων και προάγουν τη θρόμβωση και την απελευθέρωση κυτταροκινών. Στην εικόνα δεν παρουσιάζονται άλλες αλληλεπιδράσεις, όπως τα ινωδολυτικά μονοπάτια και τα μονοπάτια αρνητικής ρύθμισης. (Foley JH et al, Circ Res. 2016; 118:1392-1408) (252) endothelial cell: ενδοθηλιακό κύτταρο; IL: ιντερλευκίνη; MCP-1: πρωτεΐνη χημειοπροσέλκυσης μονοκυττάρων-1; PDGF: αυξητικός παράγοντας προερχόμενος από τα αιμοπετάλια; PLTS: αιμοπετάλια; TNF: παράγοντας νέκρωσης των όγκων.

Παρόλαυτα οι βιβλιογραφικές αναφορές σχετικά με τον προπηκτικό φαινότυπο της ΜΑΛΝΗ παρουσιάζουν αντικρουόμενα αποτελέσματα.(253)

Το 2009 οι Targher et al. (254), συγκέντρωσαν σε μία ανασκόπηση της βιβλιογραφίας, τις κύριες συγχρονικές μελέτες για τη συσχέτιση μεταξύ ΜΑΛΝΗ και ποικίλων βιοδεικτών του πλάσματος που συμμετέχουν στους μηχανισμούς της αιμόστασης και της φλεγμονής. Τα αποτελέσματα αυτών των μελετών συνηγορούσαν υπέρ μιας στενής συσχέτισης μεταξύ ΜΑΛΝΗ/ΜΑΣΗ και της παρουσίας μιας συστηματικής προφλεγμονώδους/προθρομβωτικής κατάστασης, ανεξάρτητα από την παρουσία παχυσαρκίας ή άλλων υποκείμενων μεταβολικών ανωμαλιών. Οι μελέτες αυτές περιέλαβαν σχετικά μικρό αριθμό ασθενών ενώ στις περισσότερες, η μέτρηση του κοιλιακού λίπους και της ινσουλινοαντίστασης δεν έγινε με τις πλέον αξιόπιστες μεθόδους. Η χρήση πιο αξιόπιστων μεθόδων θα μπορούσε να οδηγήσει σε ισχυρότερη συσχέτιση

μεταξύ ΜΑΛΝΗ/ΜΑΣΗ και μεταβολικών ανωμαλιών. Σε καμία από τις μελέτες που συμπεριέλαβε η ανασκόπηση δεν συμμετείχαν άτομα σε προχωρημένα στάδια ΜΑΛΝΗ, όπως για παράδειγμα ασθενείς με μη-αντιρροπούμενη κίρρωση, στους οποίους θα αναμενόταν να παρατηρηθεί αυξημένος αιμορραγικός κίνδυνος, δεδομένης της μειωμένης ηπατικής σύνθεσης των περισσότερων παραγόντων της πήξης.(255) Σημειώνεται ότι ασθενείς με αντιρροπούμενη κίρρωση σε έδαφος ΜΑΛΝΗ φαίνεται να βρίσκονται σε αυξημένο κίνδυνο αθηροθρομβωτικών συμβαμάτων. Η παρατήρηση αυτή υποστηρίζεται από τη μελέτη των Sanyal et al,(256) που συνέκριναν την εξέλιξη ασθενών με κίρρωση σε έδαφος ΜΑΛΝΗ σε σχέση με αυτούς με κίρρωση σε έδαφος ιογενούς ηπατίτιδας C και κατέληξαν ότι η κίρρωση σε έδαφος ΜΑΛΝΗ σχετίζεται με λιγότερους θανάτους οποιασδήποτε αιτιολογίας αλλά ότι η θνητότητα από καρδιαγγειακά αίτια είναι μεγαλύτερη. Σε αντίθεση με αυτή την παρατήρηση, το 2019 οι Bos et al,(257) μελετώντας την πρωτογενή και δευτερογενή αιμόσταση σε ομάδα ασθενών με κίρρωση σταδίου A/B κατά Child–Pugh (πίνακας 14) (84), δεν παρατήρησαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στο αιμοστατικό προφίλ ανάμεσα στις διάφορες αιτιολογίες κίρρωσης και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι ασθενείς με αντιρροπούμενη κίρρωση, παρουσιάζουν αυξημένο κίνδυνο θρόμβωσης, ανεξάρτητα από την αιτιολογία της κίρρωσης.

Το 2014 οι Tripodi et al.(258), μελέτησαν ένα δείγμα 113 ασθενών με διαφορετικά στάδια ιστολογικής βλάβης του ήπατος σε έδαφος ΜΑΛΝΗ/ΜΑΣΗ [στεάτωση (n = 32), στεατοηπατίτιδα (n = 51), μεταβολική κίρρωση (n = 30)], 54 ασθενών με κίρρωση αλκοολικής/ιογενούς αιτιολογίας και 179 υγείων μαρτύρων. Στο πλάσμα των συμμετεχόντων μετρήθηκαν, επίπεδα προπηκτικών και αντιπηκτικών παραγόντων και το δυναμικό γένεσης θρομβίνης (δοκιμασία γένεσης θρομβίνης) που εκτιμήθηκε με βάση το ενδογενές δυναμικό παραγόμενης θρομβίνης (ETP) με/χωρίς

θρομβομοντουλίνη. Οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η ΜΑΛΝΗ χαρακτηρίζεται από έναν προπηκτικό φαινότυπο, ο οποίος επιδεινώνεται κατά την εξέλιξη της νόσου (ήπιες διαταραχές στις λιγότερο βαριές μορφές-στεάτωση, σοβαρότερες στα τελικά στάδια της νόσου-μεταβολική κίρρωση). Η διαταραχή της αιμοστατικής ισορροπίας προς ένα προπηκτικό προφίλ, φαίνεται να οφείλεται στα αυξημένα επίπεδα παράγοντα VIII και στα μειωμένα επίπεδα πρωτεΐνης C και θα μπορούσε να συμμετέχει στον αυξημένο κίνδυνο θρόμβωσης και ανάπτυξης ίνωσης του ήπατος που συχνά παρουσιάζουν οι ασθενείς με ΜΑΛΝΗ. Η μελέτη δεν ανέδειξε διαφορές στο αιμοστατικό προφίλ μεταξύ της κίρρωσης μεταβολικής αιτιολογίας και κίρρωσης αλκοολικής/ιογενούς αιτιολογίας, γεγονός που δεν εξηγεί τον αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο των ασθενών με μεταβολική κίρρωση.(259)

Μια εις βάθος ανάλυση του αιμοστατικού προφίλ των ασθενών με ΜΑΛΝΗ διενεργήθηκε το 2016 από τους Potze et al.(260) Συμμετείχαν 68 ασθενείς με ΜΑΛΝΗ διαπιστωμένη με βιοψία ήπατος (απλή στεάτωση n=24, ΜΑΣΗ n=22, μεταβολική κίρρωση n=22), 30 μάρτυρες με φυσιολογικό βάρος σώματος, 30 υπέρβαροι μάρτυρες ( $\Delta\text{ΜΣ} >25\text{kg/m}^2$ ), και 15 ασθενείς με κίρρωση αλκοολικής αιτιολογίας, στους οποίους έγινε μελέτη της πρωτογενούς και της δευτερογενούς αιμόστασης καθώς και της ινωδόλυσης. Ο λειτουργικός έλεγχος των αιμοπεταλίων, τα επίπεδα ενεργοποιητών των αιμοπεταλίων στο πλάσμα και τα επίπεδα παράγοντα von Willebrand και ADAMTS13 ήταν συγκρίσιμα μεταξύ των ασθενών με μη-κίρρωτική ΜΑΛΝΗ και των μαρτύρων. Η συσσώρευση των αιμοπεταλίων με προσθήκη ενεργοποιητών ήταν μειωμένη σε ασθενείς με κίρρωση. Τα αποτελέσματα της δοκιμασίας γένεσης θρομβίνης με προσθήκη θρομβομοντουλίνης, ήταν όμοια μεταξύ ασθενών και μαρτύρων, παρότι οι κίρρωτικοί ασθενείς είχαν μειωμένη αντιπηκτική απάντηση στη θρομβομοντουλίνη. Τα αποτελέσματα της θρομβοελαστογραφίας ήταν συγκρίσιμα μεταξύ μη-κίρρωτικών ασθενών και μαρτύρων, αλλά ανέδειξαν



μέτρια υποπηκτικότητα σε ασθενείς με κίρρωση. Το ινωδολυτικό δυναμικό του πλάσματος ήταν μειωμένο σε ασθενείς με μη-κίρρωτική ΜΑΛΝΗ και στους υπέρβαρους μάρτυρες, ενώ σε ασθενείς με κίρρωση αλκοολικής αιτιολογίας παρατηρήθηκε επιταχυνόμενη ινωδόλυση. Η διαπερατότητα του θρόμβου ήταν μειωμένη στους υπέρβαρους μάρτυρες και στους ασθενείς με ΜΑΛΝΗ. Βάσει αυτών των αποτελεσμάτων, οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι το αιμοστατικό προφίλ των ασθενών με μη-κίρρωτική ΜΑΛΝΗ είναι όμοιο με αυτό των υγείων μαρτύρων. Φάνηκε επίσης ότι η παρουσία προθρομβωτικών στοιχείων (η υποϊνωδόλυση και η προθρομβωτική σύσταση του θρόμβου του ινώδους) σχετίζεται περισσότερο με την παχυσαρκία και λιγότερο με την ίδια τη ΜΑΛΝΗ. Το ίδιο υποστηρίζεται και από μελέτη των Lallukka et al.(261) σύμφωνα με την οποία το προπηκτικό προφίλ των ασθενών με ΜΑΛΝΗ δεν οφείλεται στην ίδια τη λιπώδη διήθηση αλλά στην παχυσαρκία και την ισουλινοαντίσταση που αυτοί οι ασθενείς παρουσιάζουν. Συνολικά, η μελέτη των Potze et al.(260) υποδεικνύει έναν περιορισμένο ρόλο του αιμοστατικού μηχανισμού στον αυξημένο θρομβωτικό κίνδυνο που παρουσιάζουν οι ασθενείς με ΜΑΛΝΗ. Παρ' όλα αυτά σημειώνονται κάποια στοιχεία που συνηγορούν με ένα προπηκτικό προφίλ των ασθενών με ΜΑΛΝΗ, κυρίως όσων αφορά τη δομή του θρόμβου του σταθεροποιημένου ινώδους.

Με βάση τα ανωτέρω, δεν μπορούν να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα για τη σύνδεση μεταξύ μη αλκοολικής νόσου του ήπατος, παχυσαρκίας και κινδύνου θρόμβωσης. Το αιμοστατικό προφίλ των ασθενών με ΜΑΛΝΗ παραμένει ασαφές και χρήζει περαιτέρω μελέτης.

## **II. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

### **A.ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ**

Με βάση τη βιβλιογραφική ανασκόπηση που παρουσιάστηκε προηγουμένως, δεν μπορούν να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα για τη σύνδεση μεταξύ μη αλκοολικής νόσου του ήπατος, παχυσαρκίας και κινδύνου θρόμβωσης. Το αιμοστατικό προφίλ των ασθενών με ΜΑΛΝΗ παραμένει ασαφές και χρήζει περαιτέρω μελέτης.

Λαμβάνοντας υπόψιν στοιχεία των προηγούμενων μελετών, που υποδεικνύουν την ύπαρξη διαταραχών στο επίπεδο του θρόμβου σταθεροποιημένου ινώδους που θα μπορούσε να συνδέεται με το προπηκτικό προφίλ των ασθενών με ΜΑΛΝΗ,(260) αποφασίστηκε αυτή η μελέτη να εστιάσει στις διαταραχές της ινωδύλωσης σε ασθενείς που πάσχουν από ΜΑΛΝΗ και στη συσχέτιση αυτών των διαταραχών με τα χαρακτηριστικά των ασθενών.

### **B.ΑΣΘΕΝΕΙΣ-ΜΕΘΟΔΟΙ**

Η μελέτη ήταν προοπτική μελέτη παρακολούθησης και πραγματοποιήθηκε σε δείγμα 50 ασθενών με υπερηχογραφικά διαπιστωμένη ΜΑΛΝΗ, που παρακολουθούνται στο εξωτερικό Ηπατολογικό Ιατρείο της Β' Πανεπιστημιακής Παθολογικής Κλινικής του Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών «Ιπποκράτειο». Ο εργαστηριακός έλεγχος διενεργήθηκε στο Αιματολογικό τμήμα-Σταθμό Αιμοδοσίας του Νοσοκομείου «Αρεταίειο». Η μελέτη διενεργήθηκε σύμφωνα με τις αρχές της Διακήρυξης του Ελσίνκι και εγκρίθηκε από την Επιστημονική Επιτροπή του Νοσοκομείου, ενώ όλοι οι ασθενείς έδωσαν την ενυπόγραφη συγκατάθεσή τους προκειμένου να συμπεριληφθούν σε αυτή.

Από τη μελέτη αποκλείσθηκαν ασθενείς με ιστορικό κατάχρησης οινόπνεύματος (περισσότερο από 20 g/ημέρα για τις γυναίκες και περισσότερο από 40 g/ημέρα για τους άνδρες), ιογενή ή άλλη δευτεροπαθή ηπατίτιδα, ιστορικό συγγενούς ή επίκτητης θρομβοφιλίας (μετάλλαξη προθρομβίνης, παράγοντας V Leiden, έλλειψη αντιθρομβίνης III, έλλειψη πρωτεΐνης C, έλλειψη πρωτεΐνης S, αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο, παροξυντική νυχτερινή αιμοσφαιρινουρία, ενεργός νεοπλασματική νόσος), λήψη αντιπηκτικής αγωγής (μη κλασματοποιημένη ηπαρίνη, ηπαρίνη χαμηλού μοριακού βάρους, fondaparinux ανταγωνιστές της βιταμίνης K, άμεσα από το στόμα αντιπηκτικά), έγκυες γυναίκες, ασθενείς με ιστορικό λοίμωξης από τον ιό της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV), με ενεργό οξεία ή χρόνια λοίμωξη ή φλεγμονή, με αυτοάνοσα νοσήματα και ασθενείς προσφάτως χειρουργηθέντες κατά την έναρξη της μελέτης, νοσηλεύόμενοι ασθενείς και ασθενείς που είχαν λάβει προσφάτως (<7 ημέρες) μετάγγιση αίματος/παραγώγων.

Λόγω της σχετικής συμφωνίας της βιβλιογραφίας σε σχέση με το αιμοστατικό προφίλ των ασθενών με μη αντιρροπούμενη κίρρωση οποιασδήποτε αιτιολογίας (συμπεριλαμβανομένης της ΜΑΛΝΗ) (259), οι ασθενείς αυτοί εξαιρέθηκαν από τη μελέτη.

Καταγράφηκαν τα επιδημιολογικά και βιομετρικά στοιχεία των ασθενών, οι έξεις, το ατομικό και οικογενειακό ιστορικό με έμφαση στην παρουσία παραγόντων μεταβολικού κινδύνου και η λαμβανόμενη φαρμακευτική αγωγή.

Καταγράφηκαν σε όλους τους ασθενείς πρόσφατες (εντός του τελευταίου μήνα), εργαστηριακές εξετάσεις (ηπατική βιοχημεία, τιμές αιμοπεταλίων) και τα πορίσματα των απεικονιστικών εξετάσεων που επιβεβαίωναν την παρουσία ΜΑΛΝΗ. Για κάθε ασθενή της μελέτης υπολογίστηκε το σκορ Fibrosis-4 (FIB-4) (121), ενώ όπου ήταν δυνατό (βάσει των εργαστηριακού ελέγχου που έφεραν οι ασθενείς), υπολογίστηκε και το NAFLD fibrosis score (120).

Μετά τη συμπλήρωση του ερωτηματολογίου, διενεργηθήκαν οι παρακάτω εργαστηριακές εξετάσεις στους συμμετέχοντες:

- PT/INR, aPTT, ινωδογόνο (μέθοδος Clauss), δ-διμερή
- φερριτίνη ορού
- παράγοντας XIII
- PAI-1

Οι συμβατικές εξετάσεις της πήξης (PT, INR, aPTT, δ-διμερή, ινωδογόνο), καθώς και η μέτρηση φερριτίνης διενεργηθήκαν την ημέρα της αιμοληψίας και εντός 2 ωρών από αυτή, ενώ οι μετρήσεις του παράγοντα XIII και του PAI-1, πραγματοποιηθήκαν σε δεύτερο χρόνο. Τα δείγματα αίματος που λήφθηκαν για υπολογισμό φερριτίνης τοποθετήθηκαν σε φιαλίδιο χωρίς αντιπηκτικό (Wasserman). Τα δείγματα αίματος που λήφθηκαν για τις δοκιμασίες αιμόστασης, τοποθετήθηκαν σε σωληνάριο με αντιπηκτικό 0,109M trisodium citrate και φυγοκεντρήθηκαν άμεσα στις 3500 στροφές/λεπτό για 10 λεπτά, για λήψη PPP (πλάσμα φτωχό σε αιμοπετάλια). Ένα μέρος του PPP που προοριζόταν για τη μέτρηση σε δεύτερο χρόνο του fXIII και του PAI-1 καταψύχθηκε στους  $-80^{\circ}\text{C}$ . Οι μετρήσεις PT/INR, aPTT, ινωδογόνου και δ-διμερών διενεργήθηκαν αυθημερόν στον αναλυτή BCS® XP System Hemostasis Analyzer (Siemens Healthcare Diagnostics, Marburg, Germany) με τιμές αναφοράς του εργαστηρίου 11,0-15,5 sec, 24-40 sec, 180-450 mg/dl και 0-0,5 mg/l αντίστοιχα. Το αντιδραστήριο Thromborel S (Siemens Healthcare Diagnostics, Marburg, Germany) χρησιμοποιήθηκε για τον καθορισμό του PT και το αντιδραστήριο Pathromtin SL (Siemens Healthcare Diagnostics, Marburg, Germany) για τον καθορισμό του aPTT. Οι συγκεντρώσεις του ινωδογόνου του πλάσματος μετρήθηκαν με παραλλαγή της μεθόδου Clauss και με αντιδραστήριο Multifibren U (Siemens Healthcare Diagnostics, Marburg, Germany). Οι συγκεντρώσεις των δ-διμερών μετρήθηκαν με την ενισχυμένη ανοσοθολοσιμετρική μέθοδο Innovance D-Dimer assay (Siemens Healthcare

Diagnostics, Marburg, Germany). Η μέτρηση του fXIII και του PAI-1 πραγματοποιήθηκαν με χρωμογονικές μεθόδους στον αναλυτή BCS-XP System Hemostasis Analyzer, μετά από απόψυξη PPP που είχε καταψυχθεί στους -80°C, με χρήση των αντιδραστηρίων Berichrom Factor XIII και Berichrom PAI αντίστοιχα (Siemens Healthcare Diagnostics, Marburg, Germany). Οι τιμές αναφοράς του εργαστηρίου για τον fXIII ήταν 60-130% και για τον PAI-1 2-15U/ml. Η μέτρηση της φερριτίνης πραγματοποιήθηκε με θολοσιμετρική μέθοδο στον αναλυτή Abbott Alinity ci-series (Abbott, Abbott Park, Illinois, U.S.A.) με τιμές αναφοράς 12-300ng/ml για τους άνδρες και 12-150ng/ml για τις γυναίκες.

## **Γ.ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ**

Για τη στατιστική ανάλυση των δεδομένων χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα IBM ® SPSS ® Statistics, version 26. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέση τιμή και σταθερή απόκλιση. Η στατιστική σημαντικότητα της διαφοράς μεταξύ των μέσων τιμών συνεχών μεταβλητών υπολογίστηκε με τη δοκιμασία student's t-test για ανεξάρτητα δείγματα. Ο έλεγχος ανεξαρτησίας μεταξύ ποιοτικών μεταβλητών έγινε με χρήση του κριτηρίου Fischer's Exact Test. Οι συσχετίσεις μεταξύ των διάφορων μεταβλητών υπολογίστηκαν με τη μέθοδο Pearson και το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ήταν το  $p < 0,05$ . Με τη μέθοδο της πολυπαραγοντικής γραμμικής παλινδρόμησης καταγράφηκε η επίδραση του εκάστοτε παράγοντα κινδύνου (ή/και συνδυασμού αυτών) στην υπό εξέταση μεταβλητή. Στα πλαίσια της παλινδρόμησης έγινε χρήση της μεθόδου ANOVA (Analysis Of Variance - ANOVA).

## Δ.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### Δ1. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΣΘΕΝΩΝ

Τα επιδημιολογικά και βιομετρικά στοιχεία των ασθενών, καθώς και οι έξι παρουσιάζονται στον Πίνακα 24.

Σημειώνεται ότι οι ασθενείς χωρίστηκαν βάσει δείκτη μάζας σώματος σε τρεις κατηγορίες σύμφωνα με τον ορισμό του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας: (262)<sup>262</sup>

- φυσιολογικό βάρος (18.5-24.9)
- υπέρβαροι (25-29.9)
- παχύσαρκοι (>30)

Αντίστοιχα χωρίστηκαν βάσει περιμέτρου μέσης σε τρεις κατηγορίες, σύμφωνα με την κυρίαρχα χρησιμοποιούμενη ταξινόμηση: (262)

- φυσιολογική κατανομή λίπους
- μετρίου βαθμού κεντρική συσσώρευση λίπους (άρρεν $\geq$ 94cm, θήλυ $\geq$ 80cm)
- υψηλού βαθμού κεντρική συσσώρευση λίπους (άρρεν $\geq$ 102cm, θήλυ $\geq$ 88cm)

Η μέτρηση έγινε από τον εξεταστή ιατρό σύμφωνα με τις ισχύουσες οδηγίες.(263)

Ως επαρκής άσκηση ορίστηκαν τα 150 λεπτά/ εβδομάδα μέτριας έντασης αερόβιας άσκησης ή τα 75 λεπτά/ εβδομάδα έντονης αερόβιας άσκησης, σύμφωνα με τις οδηγίες της Αμερικάνικης Εταιρίας Καρδιολογίας.(264)

Η ποσοτικοποίηση του καπνίσματος πραγματοποιήθηκε με τη μέτρηση σε πακέτα/έτη (P.Y.), που υπολογίζεται πολλαπλασιάζοντας το μέσο όρο των πακέτων που καπνίζει κάποιος κάθε ημέρα επί τα έτη καπνίσματος.(265)

<b>Φύλο</b>	<b>n (%)</b>	<b>άρρεν</b>	<b>24 (48)</b>
		θήλυ	26 (52%)
<b>Ηλικία</b>	<b>Md(range)</b>		56 (22-76)
<b>ΔΜΣ</b>	<b>n (%)</b>	18.5-24.9	9 (18%)
		25-29.9	27 (54%)
		>30	14 (28%)
<b>ΔΜΣ</b>	<b>μ+/-SD</b>		28.27+/- 3.95
<b>Περίμετρος μέσης</b>	<b>n (%)</b>	Φυσιολογική κατανομή λίπους	1 (2%)
		Μετρίου βαθμού κεντρική συσσώρευση λίπους (άρρεν $\geq$ 94cm, θήλυ $\geq$ 80cm)	16 (32%)
		Υψηλού βαθμού κεντρική συσσώρευση λίπους (άρρεν $\geq$ 102cm, θήλυ $\geq$ 88cm)	33 (66%)
<b>Άσκηση</b>	<b>n (%)</b>	Ναι	27 (54%)
		Όχι	23 (46)
<b>Κάπνισμα/P.Y.</b>	<b>n (%) / μ+/-SD</b>	Ναι/P.Y.	12 (24) / 20.5+/- 7.6
		Όχι	31 (62)
		Διακοπή P.Y.	7 (14) / 17.7+/- 4.7

**Πίνακας 24: Επιδημιολογικά, βιομετρικά στοιχεία και έξεις των ασθενών.** ΔΜΣ: δείκτης μάζας σώματος; μ: μέση τιμή; Md: διάμεσος; P.Y: πακέτα/έτη; range: εύρος; SD: τυπική απόκλιση.

Οι συννοσηρότητες των ασθενών, οι παράγοντες του μεταβολικού συνδρόμου βασικές εργαστηριακές εξετάσεις και το υπολογιζόμενο σκορ FIB-4 παρουσιάζονται στον Πίνακα 25.

Ως σακχαρώδης διαβήτης ορίζεται η τιμή γλυκόζης νηστείας  $\geq$  126 mg/dL (7.0 mmol/L), επίπεδα σακχάρου 2 ώρες μετά από δοκιμασία ανοχής γλυκόζης  $\geq$  200 mg/dL (11.1 mmol/L), HbA1c  $\geq$  6.5% (48 mmol/mol) ή τυχαία μέτρηση γλυκόζης πλάσματος  $\geq$  200 mg/dL (11.1 mmol/L) μαζί με συμπτώματα υπεργλυκαιμίας.(266)

Ως διαταραχή ανοχής στη γλυκόζη ή προδιαβήτης ορίζεται η κατάσταση ενδιάμεσης υπεργλυκαιμίας που χαρακτηρίζεται από διαταραχή γλυκόζης

νηστείας με τιμές 110 to 125 mg/dL (6.1-6.9 mmol/L) και τιμές γλυκόζης 140-200 mg/dL (7.8-11.0 mmol/L) 2 ώρες μετά από δοκιμασία ανοχής γλυκόζης 75 g, σύμφωνα με τον ορισμό του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας.(267)

Ως αρτηριακή υπέρταση ορίζονται οι τιμές συστολικής αρτηριακής πίεσης $\geq$ 140mmHg ή/και διαστολικής αρτηριακής πίεσης $\geq$ 90mmHg ή η λήψη αντιυπερτασικής αγωγής, σύμφωνα με τον ορισμό της Ευρωπαϊκής Εταιρείας Καρδιολογίας.(268)

Ως δυσλιπιδαιμία ορίζονται αυξημένες τιμές LDL $>$ 130mg/dl (269), μειωμένες τιμές HDL $<$ 40 mg/dl για τους άνδρες και  $<$ 50mg/dl για τις γυναίκες (99) και η υπερτριγλυκεριδαιμία  $>$ 150mg/dl (99).

Το μεταβολικό σύνδρομο ορίζεται ως η παρουσία 3 από τους 5 παράγοντες: υπέρταση, δυσλιπιδαιμία (υψηλά τριγλυκερίδια ή/και χαμηλή HDL), αυξημένη γλυκόζη νηστείας, κοιλιακή παχυσαρκία. Τα κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου περιγράφονται στον Πίνακα 16. (99)

Ως παθολογικές τιμές ηπατικών ενζύμων ορίστηκαν οι τιμές AST $>$ 35 U/L και ALT $>$ 36 U/L (SI units) (270)

Ο αριθμός των αιμοπεταλίων ορίστηκε ως φυσιολογικός εφόσον ήταν εντός των ορίων  $150-400 \times 10^9/L$ (271)



<b>Σακχαρώδης διαβήτης/ Διαταραχή ανοχής στη γλυκόζη</b>	n (%)	<b>Ναι</b>	<b>14(28%)</b>
		<b>Όχι</b>	<b>36(72%)</b>
<b>Αρτηριακή υπέρταση</b>	n (%)	<b>Ναι</b>	<b>17 (34)</b>
		<b>Όχι</b>	<b>33 (66)</b>
<b>Δυσλιπιδαιμία</b>	n (%)	<b>Υψηλή LDL</b>	<b>25 (50)</b>
		<b>Χαμηλή HDL</b>	<b>13 (26)</b>
		<b>Υπερτριγλυκεριδαιμία</b>	<b>15 (30)</b>
<b>Μεταβολικό σύνδρομο</b>	n (%)	<b>Ναι</b>	<b>16 (32)</b>
		<b>Όχι</b>	<b>34 (68)</b>
<b>Παθολογικά αυξημένα ηπατικά ένζυμα</b>	n (%)	<b>Ναι</b>	<b>28 (55)</b>
		<b>Όχι</b>	<b>22 (44)</b>
<b>Αιμοπετάλια</b>	n	mean: 238.56	50
<b>FIB-4</b>	n (%)	<b>&lt;1.45</b>	<b>36 (72)</b>
		<b>1.45-3.25</b>	<b>14 (28)</b>
		<b>&gt;3.25</b>	<b>0 (0)</b>

**Πίνακας 25: Χαρακτηριστικά ασθενών.** Παράγοντες μεταβολικού κινδύνου, παθολογικά αυξημένα ηπατικά ένζυμα, τιμές αιμοπεταλίων και σκορ Fib-4. HDL: χοληστερόλη λιποπρωτεϊνών υψηλής πυκνότητας; LDL: χοληστερόλη λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας. mean: μέση τιμή.

## **Δ2. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ**

### **Δ 2.1 Φερριτίνη ορού**

2/50 ασθενείς παρουσίαζαν τιμές φερριτίνης πάνω από τα φυσιολογικά όρια και 4 ασθενείς παρουσίαζαν τιμές κάτω από τα φυσιολογικά όρια του εργαστηρίου.

### **Δ 2.2 Κλασσικοί παράμετροι της πήξης**

Ως προς τις κλασσικές παραμέτρους της πήξης (PT και APTT), οι ασθενείς δεν εμφάνιζαν παράταση των χρόνων. Παρατηρήθηκαν τιμές PT κάτω από τα

φυσιολογικά όρια του εργαστηρίου. Ως προς το ινωδογόνο, οι ασθενείς βρίσκονταν εντός των φυσιολογικών ορίων του εργαστηρίου.

### Δ 2.3 Παράγοντες ινωδόλυσης

Ως προς τους παράγοντες ινωδόλυσης, οι ασθενείς δεν παρουσίαζαν χαμηλές τιμές του παράγοντα XIII. Όσον αφορά τη μέτρηση του PAI-1, 9/50 ασθενείς παρουσίαζαν χαμηλές τιμές, ενώ κανένας δεν παρουσίαζε αύξηση του παράγοντα. 11/50 ασθενείς παρουσίαζαν αυξημένες τιμές d-διμερών. Τα αποτελέσματα των εργαστηριακών μετρήσεων παρατίθενται στον Πίνακα 26.

Παράμετροι	Φυσιολογικές τιμές	Μέση τιμή	SD
PT (%)	80-120	117.44	11.85
INR		0.95	0.06
APTT (sec)	24-20	28.63	2.97
ινωδογόνο (mg/dl)	180-450	329.22	68.96
δ-διμερή	0-0.50	0.46	0.44
XIII (%)	60-150	144	16.49
PAI-1 (U/ml)	2-15	2.37	1.46
φερριτίνη ορού (ng/ml)	Άνδρες: 12-300	111.17	68.58
	Γυναίκες 12-150	61.46	48.56

**Πίνακας 26: Αποτελέσματα εργαστηριακών μετρήσεων. SD: τυπική απόκλιση**

## Δ3 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

### Δ 3.1 Μελέτη συνολικού πληθυσμού

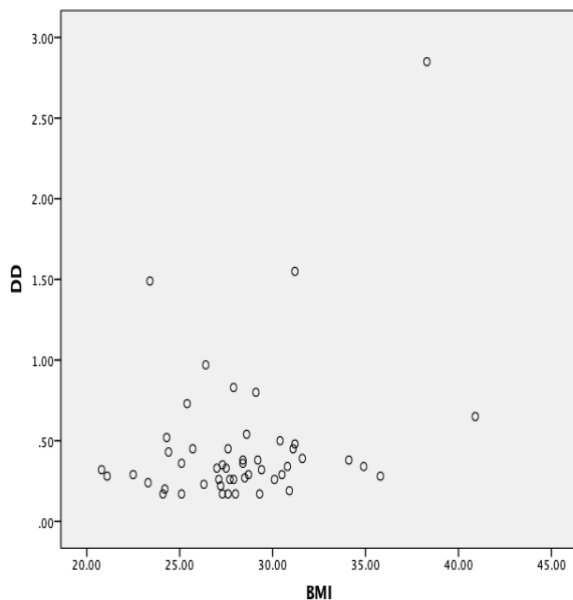
Μελετήθηκε η συσχέτιση των δ-διμερών με τα χαρακτηριστικά των ασθενών, με χρήση του Pearson correlation test, με επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας το  $p < 0.05$ . Στον πίνακα 27 φαίνονται τα αποτελέσματα της συσχέτισης.

δ-διμερή	Φύλο	ΔΜΣ	Κάπνισμα	Άσκηση	ΑΥ	ΑΜΠ	Φερ/νη	FIB-4
Pearson correlation	0.19	0.32	-0.27	-0.16	-0.16	-0.30	-0.22	0.25
Sig.(2-tailed)	0.18	0.02	0.05	0.26	0.26	0.03	0.11	0.08

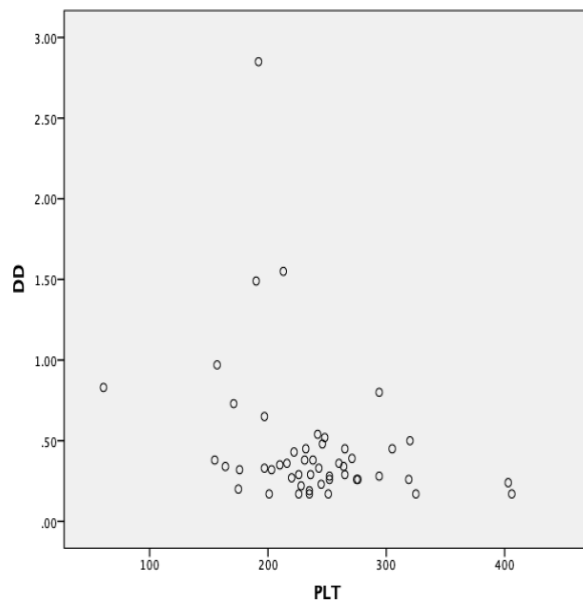
**Πίνακας 27: Συσχέτιση δ-διμερών με τα χαρακτηριστικά των ασθενών (p<0.05).** ΑΜΠ: αιμοπετάλια; ΑΥ: αρτηριακή υπέρταση; ΔΜΣ: δείκτης μάζας σώματος; φερ/νη: φερριτίνη

Διαπιστώθηκε συσχέτιση του ΔΜΣ, των αιμοπεταλίων και του καπνίσματος με τα δ-διμερή σε στατιστικά σημαντικό βαθμό (p<0.05), καθώς και τάση συσχέτισης του σκορ FIB-4 (p=0.08).

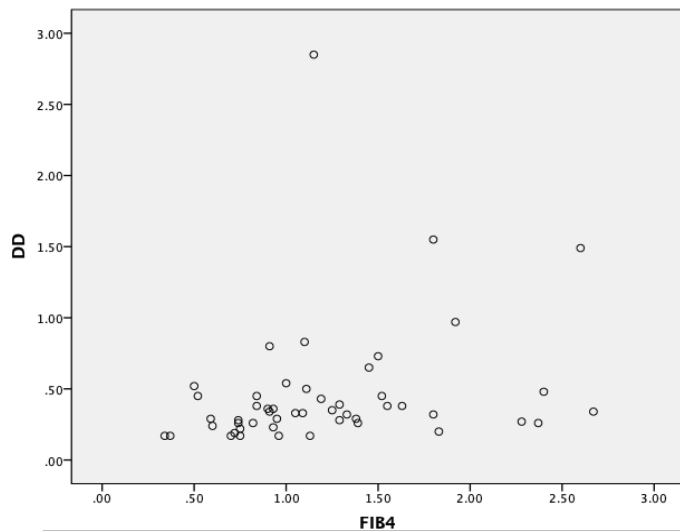
Στα παρακάτω διαγράμματα φαίνεται η συσχέτιση των επιπέδων των δ-διμερών με το ΔΜΣ (Διάγραμμα 1), τις τιμές των αιμοπεταλίων (Διάγραμμα 2) και το σκορ FIB-4 (Διάγραμμα 3).



**Διάγραμμα 1: Συσχέτιση δ-διμερών και δείκτη μάζας σώματος.**  
DD: δ-διμερή; BMI: δείκτης μάζας σώματος



**Διάγραμμα 2: Συσχέτιση δ-διμερών και αιμοπεταλίων.**  
DD: δ-διμερή; PLT: αιμοπετάλια



**Διάγραμμα 3: Συσχέτιση δ-διμερών και σκορ FIB-4.**  
DD: δ-διμερή

Βάσει των συσχετίσεων που αναδείχθηκαν, στα πλαίσια ενός μοντέλου γραμμικής παλινδρόμησης, πραγματοποιήθηκε ανάλυση διακύμανσης (ANOVA). Κατασκευάστηκε ένας έλεγχος υποθέσεων με μηδενική υπόθεση  $H_0$  ότι η τιμή των δ-διμερών σχετίζεται με το άρρεν φύλο, το κάπνισμα, την παρουσία αρτηριακής υπέρτασης, τις τιμές των αιμοπεταλίων, της φερριτίνης, του ΔΜΣ και του σκορ FIB-4.

#### Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.555 <sup>a</sup>	.308	.193	.40401

a. Predictors: (Constant), PLT, FER, SMOKE\_CAT, BMI, AY\_PER\_CAT, SEX1, FIB4

Το  $R^2 = 0.308$  υποδεικνύει ότι το μοντέλο της υπόθεσης εξηγεί το 30.8% του εξεταζόμενου δείγματος.

#### ANOVA<sup>a</sup>

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	3.050	7	.436	2.669	.022 <sup>b</sup>
	Residual	6.855	42	.163		
	Total	9.905	49			

a. Dependent Variable: DD

b. Predictors: (Constant), PLT, FER, SMOKE\_CAT, BMI, AY\_PER\_CAT, SEX1, FIB4

Οι υψηλές τιμές βαθμών ελευθερίας (df) ενισχύουν τον ισχυρισμό ότι η τιμή των δ-διμερών σχετίζεται με τις υπό μελέτη μεταβλητές. Στο μοντέλο, οι μέσες τιμές των μεταβλητών παρουσιάζουν μια κανονική κατανομή διασποράς, όπως φαίνεται από το mean square=0.436.

**Coefficients<sup>a</sup>**

Model	Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
	B	Std. Error	Beta		
1 (Constant)	.568	.710		.800	.428
BMI	.025	.016	.216	1.492	.143
FIB4	.086	.118	.109	.734	.467
SMOKE_CAT	-.296	.140	-.284	-2.124	.040
SEX1	.112	.131	.126	.854	.398
FER	-.001	.001	-.135	-.958	.343
AY_PER_CAT	.014	.135	.014	.100	.920
PLT	-.002	.001	-.272	-1.810	.077

a. Dependent Variable: DD

Η ανάλυση των συντελεστών αναδεικνύει θετική συσχέτιση των δ-διμερών με το ΔΜΣ, το σκορ fib-4, το αρσενικό φύλο και την αρτηριακή υπέρταση. Αντίθετα, η συσχέτιση είναι αρνητική για το κάπνισμα, τη φερριτίνη και τα αιμοπετάλια.

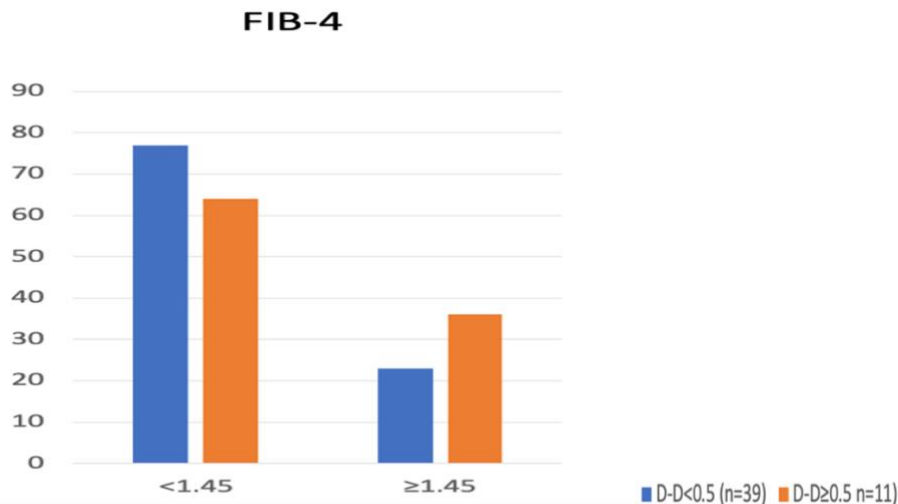
### Δ 3.2 Μελέτη υποπληθυσμού με παθολογικά δ-διμερή

Στη συνέχεια έγινε μελέτη του υποπληθυσμού με παθολογικά δ-διμερή (>0.5). Στον Πίνακα 28 φαίνονται τα χαρακτηριστικά αυτών των ασθενών, σε σύγκριση με τον υπόλοιπο πληθυσμό. Έγινε έλεγχος ανεξαρτησίας των δύο ομάδων με χρήση του κριτηρίου Fischer's Exact Test (λόγω του μικρού αριθμητικά δείγματος δεν χρησιμοποιήθηκε το κριτήριο  $\chi^2$ ). Ο έλεγχος δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντική εξάρτηση μεταξύ των τιμών των δ-διμερών και των υπό εξέταση μεταβλητών.

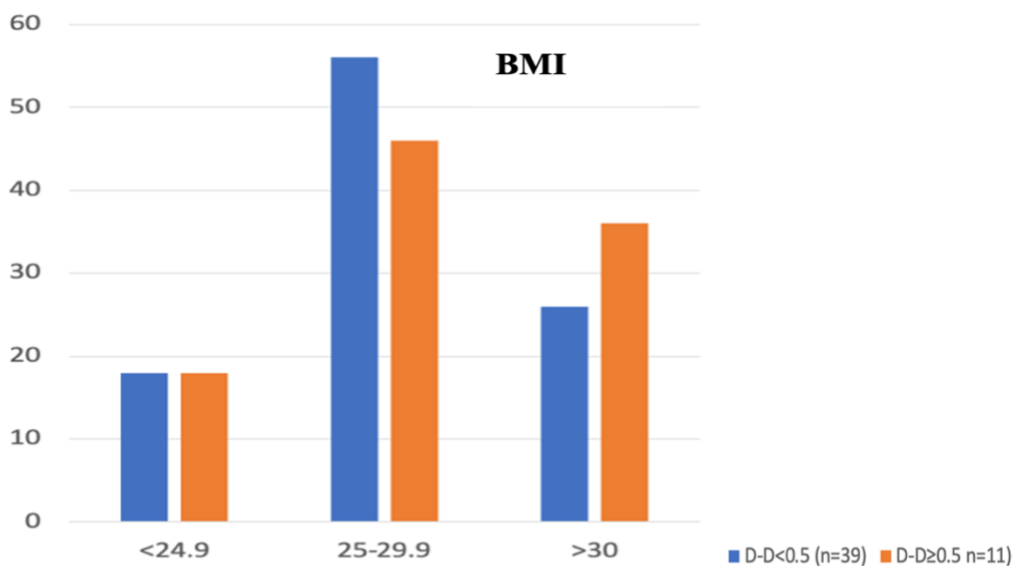
Χαρ/στικά			δ-δ<0.50	δ-δ>0.50	p
<b>Φύλο</b>	n(%)	άρρεν	19(49)	6 (55)	0.84
		θήλυ	20(51)	5 (45)	
<b>Ηλικία</b>	Md(range)		57 (22-76)	58 (38-70)	
<b>ΔΜΣ</b>	n (%)	<24.9	7 (18)	2 (18)	1
		25-29.9	22 (56)	5 (46)	
		>30	10 (26)	3 (36)	
<b>ΔΜΣ</b>	μ(SD)		27.88 (3.38)	29.62 (5.52)	
<b>Περίμετρος μέσης</b>	n(%)	Φυσιολογική	1 (3)	0	1
		Μετρίου βαθμού κ.σ.λ.	12 (31)	4 (36)	
		Υψηλού βαθμού κ.σ.λ.	27 (69)	7 (64)	
<b>Άσκηση</b>	n(%)	Ναι	22 (56)	5 (45)	0.73
		Όχι	17 (44)	6 (55)	
<b>Κάπνισμα</b>	n(%)	Ναι	7 (18)	5 (45)	0.13
		Όχι	25 (64)	6 (55)	
		Διακοπή	7 (18)	0	

**Πίνακας 28: Χαρακτηριστικά υποπληθυσμού με παθολογικά δ-διμερή, σε σύγκριση με τον υπόλοιπο πληθυσμό.** δ-δ: δ-διμερή; ΔΜΣ: δείκτης μάζας σώματος; κ.σ.λ.: κεντρική συσσώρευση λίπους; μ: μέση τιμή; Md: διάμεσος; P.Y: πακέτα/έτη; range: εύρος; SD: τυπική απόκλιση

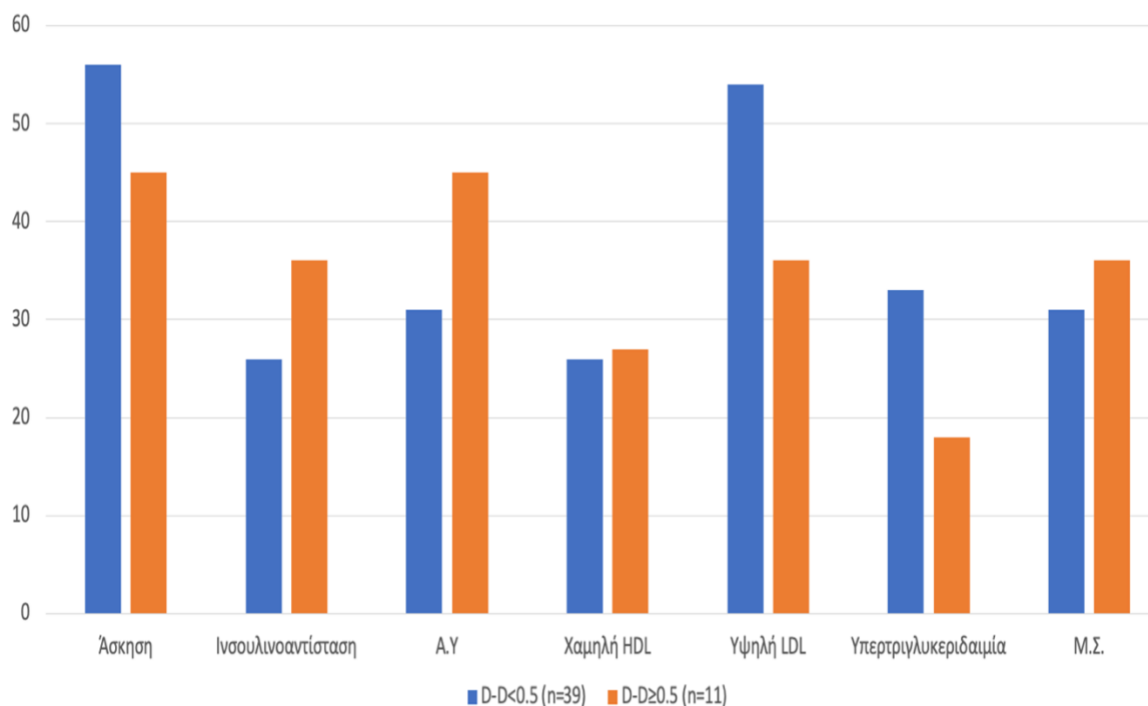
Στα διαγράμματα 4-6, φαίνεται σχηματικά η σύγκριση των πληθυσμών με φυσιολογικά δ-διμερή κ αυτών με παθολογικά δ-διμερή για κάποια από τα εξεταζόμενα χαρακτηριστικά.



**Διάγραμμα 4:** Σύγκριση πληθυσμού με φυσιολογικά δ-διμερή (μπλε) και πληθυσμού με αυξημένα δ-διμερή (πορτοκαλί) ως προς το σκορ FIB-4



**Διάγραμμα 5:** Σύγκριση πληθυσμού με φυσιολογικά δ-διμερή (μπλε) και πληθυσμού με αυξημένα δ-διμερή (πορτοκαλί) ως προς το δείκτη μάζας σώματος. BMI: δείκτης μάζας σώματος



**Διάγραμμα 6:** Σύγκριση πληθυσμού με φυσιολογικά δ-διμερή (μπλε) και πληθυσμού με αυξημένα δ-διμερή (πορτοκαλί) ως προς διάφορα χαρακτηριστικά. ΑΥ: αρτηριακή υπέρταση; ΜΣ: μεταβολικό σύνδρομο; HDL: χοληστερόλη λιποπρωτεϊνών υψηλής πυκνότητας; LDL: χοληστερόλη λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας.

Στη συνέχεια μελετήθηκε η συσχέτιση των αυξημένων δ-διμερών με τα χαρακτηριστικά των ασθενών, με χρήση του Pearson correlation test, με επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας το  $p < 0.05$ . Στον Πίνακα 29 φαίνονται τα αποτελέσματα της συσχέτισης.

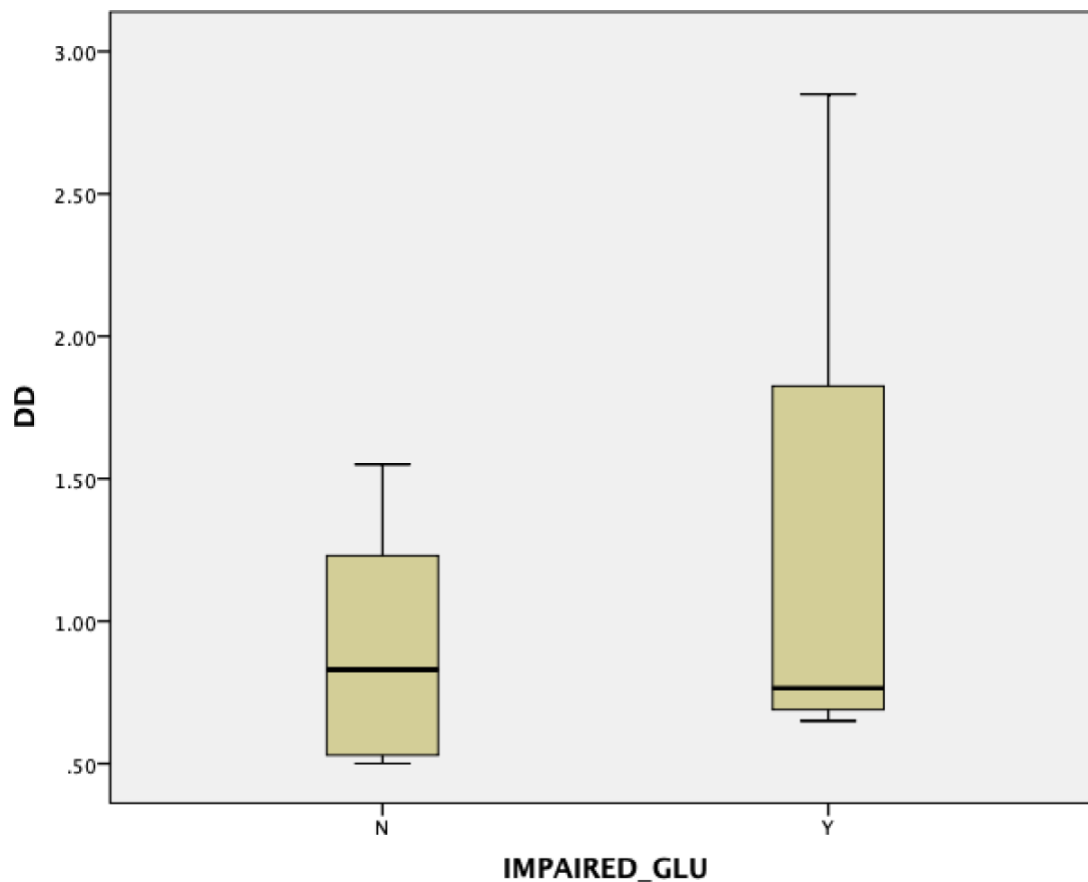
δ-διμερή	Φύλο	ΔΜΣ	Κάπνισμα	Άσκηση	ΑΥ	Διατ.Γλ υκ.	Φερ/νη	FIB-4
Pearson correlation	0.44	0.36	-0.29	-0.49	0.18	0.24	-0.39	0.30
Sig. (2- tailed)	0.16	0.26	0.24	0.12	0.59	0	0.22	0.37

**Πίνακας 29:** Συσχέτιση αυξημένων δ-διμερών με τα χαρακτηριστικά των ασθενών ( $p < 0.05$ ). ΑΥ: αρτηριακή υπέρταση; Διατ. Γλυκ.: διαταραχή ανοχής στη γλυκόζη; ΔΜΣ: δείκτης μάζας σώματος; Φερ/νη: φερριτίνη

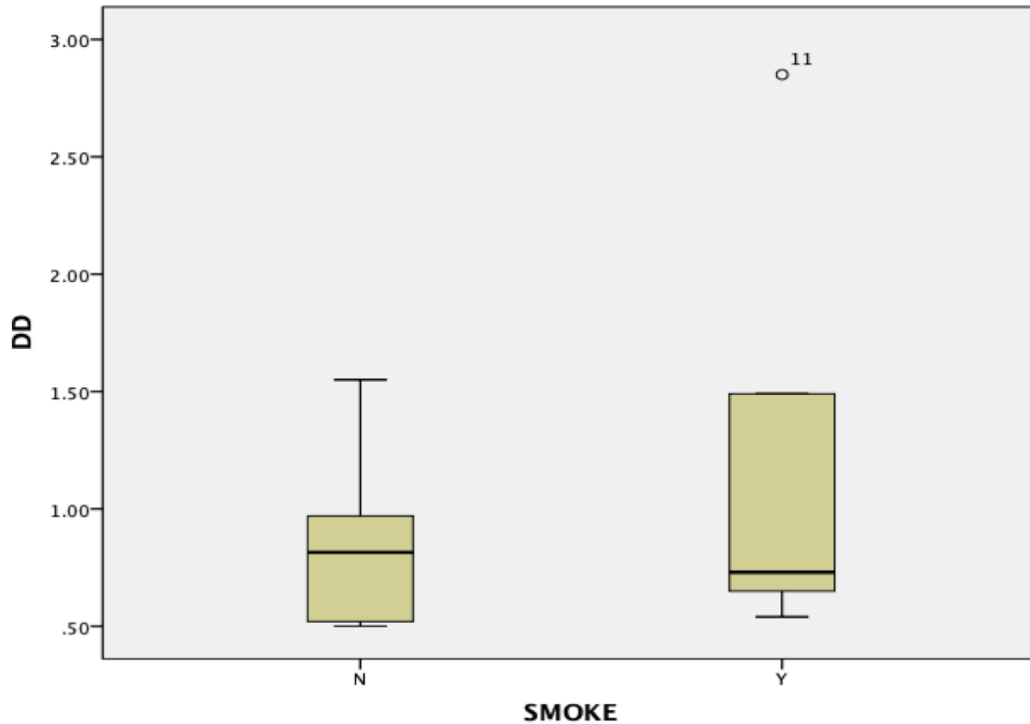


Διαπιστώθηκε ισχυρή συσχέτιση του φύλου, του ΔΜΣ, της άσκησης και της φερριτίνης με τα αυξημένα δ-διμερή, χωρίς όμως οι συσχετίσεις αυτές να είναι στατιστικά σημαντικές ( $p>0.05$ ).

Στα διαγράμματα 7 και 8 παρουσιάζεται το εύρος τιμών των δ-διμερών αναλόγως της παρουσίας ή όχι διαταραχής ανοχής στη γλυκόζη και της καπνιστικής συνήθειας.

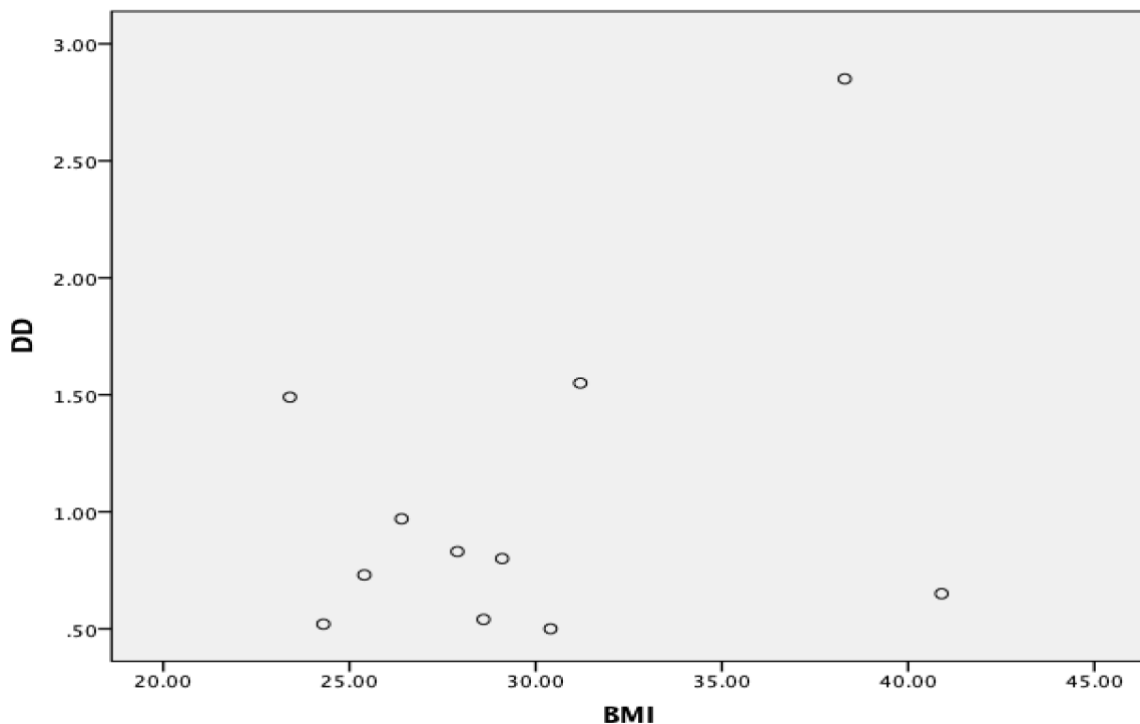


**Διάγραμμα 7: Εύρος τιμών των δ-διμερών αναλόγως της παρουσίας ή όχι διαταραχής ανοχής στη γλυκόζη. DD: δ-διμερή; IMPAIRED\_GLU: διαταραχή ανοχής στη γλυκόζη.**

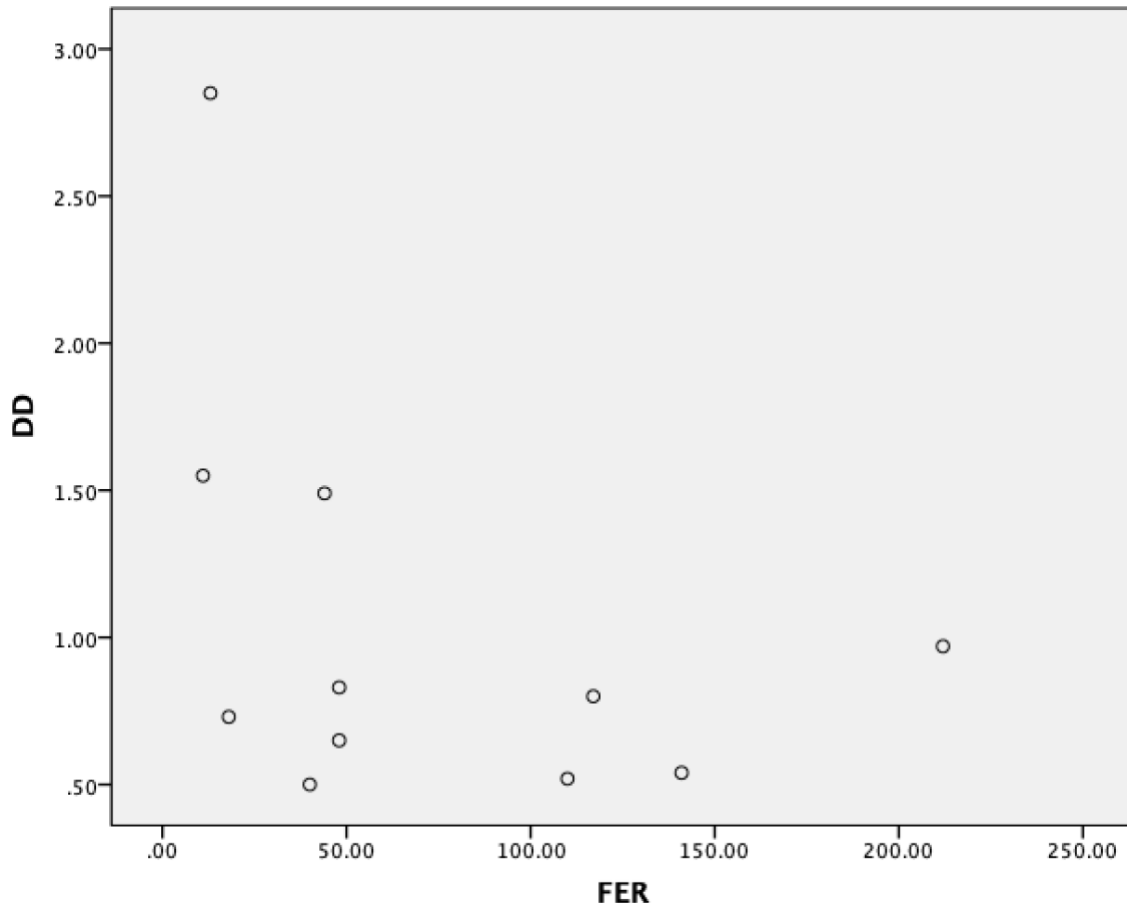


**Διάγραμμα 8:** Εύρος τιμών των δ-διμερών αναλόγως της καπνιστικής συνήθειας. DD: δ-διμερή; SMOKE: κάπνισμα.

Στα διαγράμματα 9 και 10 παρουσιάζεται η συσχέτιση των επιπέδων των δ-διμερών με το δείκτη μάζας σώματος και τη φερριτίνη.



**Διάγραμμα 9:** Συσχέτιση των επιπέδων των δ-διμερών με το δείκτη μάζας σώματος. DD: δ-διμερή; BMI: δείκτης μάζας σώματος.



**Διάγραμμα 10:** Συσχέτιση των επιπέδων των δ-διμερών με τις τιμές της φερριτίνης. DD: δ-διμερή; FER: φερριτίνη.

Βάσει των συσχετίσεων που αναδείχθηκαν, πραγματοποιήθηκε γραμμική παλινδρόμηση. Κατασκευάστηκε ένας έλεγχος υποθέσεων για τις ποσοτικές μεταβλητές, με μηδενική υπόθεση  $H_0$  ότι η αυξημένες τιμές των δ-διμερών σχετίζονται με τις τιμές της γGT, της φερριτίνης, του ΔΜΣ και του FIB-4.

#### Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.561 <sup>a</sup>	.315	-.141	.74824

a. Predictors: (Constant), GGT, FER, FIB4, BMI

Το  $R^2 = 0.315$  υποδεικνύει ότι το μοντέλο της υπόθεσης εξηγεί το 31.5% του εξεταζόμενου δείγματος.

ANOVA<sup>a</sup>

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	1.546	4	.387	.691	.625 <sup>b</sup>
	Residual	3.359	6	.560		
	Total	4.905	10			

a. Dependent Variable: DD

b. Predictors: (Constant), GGT, FER, FIB4, BMI

Οι υψηλές τιμές βαθμών ελευθερίας (df) ενισχύουν τον ισχυρισμό ότι η τιμή των δ-διμερών σχετίζεται με τις υπό μελέτη μεταβλητές. Στο μοντέλο, οι μέσες τιμές των μεταβλητών παρουσιάζουν μια κανονική κατανομή διασποράς, όπως φαίνεται από το  $\text{mean square} > 0.30$ .

Coefficients<sup>a</sup>

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	-.424	2.110		-.201	.847
	BMI	.040	.052	.314	.772	.469
	FIB4	.375	.446	.308	.840	.433
	FER	-.003	.004	-.243	-.664	.532
	GGT	-.001	.006	-.041	-.104	.920

a. Dependent Variable: DD

Η ανάλυση των συντελεστών αναδεικνύει θετική συσχέτιση των δ-διμερών με το ΔΜΣ, το σκορ fib-4 ενώ η συσχέτιση είναι ισχυρά αρνητική για τη φερριτίνη και όσο για τη γGT φαίνεται να επηρεάζει λιγότερο με αρνητικό πρόσημο.

Στη συνέχεια στα πλαίσια ενός δευτέρου μοντέλου γραμμικής παλινδρόμησης, πραγματοποιήθηκε ανάλυση διακύμανσης (ANOVA), με έναν έλεγχο υποθέσεων για τις ποιοτικές μεταβλητές που φάνηκε να έχουν ισχυρή συσχέτιση με τα δ-διμερή, με μηδενική υπόθεση  $H_0$  ότι η αυξημένες τιμές των δ-διμερών σχετίζονται με την διαταραχή ανοχής στη γλυκόζη, το αρσενικό φύλο, την άσκηση και το κάπνισμα.

### Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.846 <sup>a</sup>	.715	.525	.48282

a. Predictors: (Constant), IMPAIRED\_GLU\_CAT, SEX1, EXERCISE\_CAT, SMOKE\_CAT

Το  $R^2 = 0.715$  υποδεικνύει ότι το μοντέλο της υπόθεσης εξηγεί το 71.5% του εξεταζόμενου δείγματος.

### ANOVA<sup>a</sup>

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	3.507	4	.877	3.761	.073 <sup>b</sup>
	Residual	1.399	6	.233		
	Total	4.905	10			

a. Dependent Variable: DD

b. Predictors: (Constant), IMPAIRED\_GLU\_CAT, SEX1, EXERCISE\_CAT, SMOKE\_CAT

Οι υψηλές τιμές βαθμών ελευθερίας (df) ενισχύουν τον ισχυρισμό ότι η τιμή των δ-διμερών σχετίζεται με τις υπό μελέτη μεταβλητές. Στο μοντέλο, οι μέσες τιμές των μεταβλητών παρουσιάζουν μια κανονική κατανομή διασποράς, όπως φαίνεται από το  $\text{mean square} > 0.30$ . Στο συγκεκριμένο μοντέλο, η στατιστική σημαντικότητα είναι 0.073.

### Coefficients<sup>a</sup>

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	3.159	1.059		2.984	.025
	SEX1	.486	.299	.362	1.627	.155
	SMOKE_CAT	-.655	.364	-.488	-1.800	.122
	EXERCISE_CAT	-1.014	.341	-.730	-2.970	.025
	IMPAIRED_GLU_CAT	-.291	.341	-.210	-.853	.427

a. Dependent Variable: DD

Η ανάλυση των συντελεστών αναδεικνύει θετική συσχέτιση των αυξημένων δ-διμερών με το αρσενικό φύλο και αρνητική συσχέτιση με το κάπνισμα και με τη διαταραχή ανοχής στη γλυκόζη.

## Ε.ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η παρούσα μελέτη συμπεριέλαβε 50 ασθενείς με υπερηχογραφικά διαπιστωμένη μη κίρρωτική ΜΑΛΝΗ, με όμοια αναλογία ανδρών (48%) και γυναικών (52%). Η μέση ηλικία των ασθενών ήταν τα 56 έτη. Οι περισσότεροι από αυτούς είχαν αυξημένο ΔΜΣ (54% υπέρβαροι και 28% παχύσαρκοι) και αυξημένη κεντρική συσσώρευση λίπους (98%). Περίπου οι μισοί ασθενείς ασκούνταν, ενώ οι περισσότεροι (76%) δεν ήταν καπνιστές. Το 34% πληρούσε τα κριτήρια διάγνωσης του μεταβολικού συνδρόμου (99), ενώ περίπου οι μισοί είχαν αυξημένες τιμές ηπατικών ενζύμων. Όλοι οι ασθενείς είχαν φυσιολογικές τιμές αιμοπεταλίων. Βάσει του FIB-4 σκορ, οι περισσότεροι από τους ασθενείς της μελέτης (72%), έπασχαν από ήπια νόσο με  $FIB-4 < 1.45$ , αποτέλεσμα που μπορεί να αποκλείσει με ασφάλεια (αρνητική διαγνωστική αξία περίπου 90%) την προχωρημένη ίνωση (στάδια F3–F4).(121) Τα χαρακτηριστικά αυτά αναδεικνύουν ένα ομοιογενές δείγμα, που συνάδει με το σύνηθες προφίλ των ασθενών με ΜΑΛΝΗ, όπως περιεγράφηκε στο γενικό μέρος. Παρ' όλα αυτά πρέπει να τονιστεί η απουσία ασθενών με προχωρημένη νόσο, γεγονός που πιθανώς να έχει αντίκτυπο στα αποτελέσματα των μετρήσεων που διενεργήθηκαν.

Από τις εργαστηριακές εξετάσεις που διενεργήθηκαν (Πίνακας 26), 2/50 ασθενείς παρουσίαζαν τιμές φερριτίνης πάνω από τα φυσιολογικά όρια. Η αυξημένη τιμή φερριτίνης σε αυτούς τους ασθενείς δεν συσχετίστηκε με ταυτόχρονη αύξηση των d-διμερών, ή άλλων δεικτών. 4/50 ασθενείς παρουσίαζαν τιμές φερριτίνης κάτω από τα φυσιολογικά όρια του εργαστηρίου. Και οι 4 αυτοί ασθενείς παρουσίαζαν χαμηλή τιμή αιμοσφαιρίνης, υποχρωμία και μικροκυττάρωση στον εργαστηριακό έλεγχο τον οποίο προσκόμιζαν κατά την ένταξή τους στη μελέτη, οπότε η χαμηλή τιμή φερριτίνης σχετίστηκε με πιθανή υποκείμενη σιδηροπενική αναιμία.

Ως προς τις κλασσικές παραμέτρους της πήξης (PT και APTT), οι ασθενείς δεν εμφάνιζαν παράταση των χρόνων. 10 ασθενείς παρουσίασαν τιμές PT κάτω από τα φυσιολογικά όρια του εργαστηρίου, εύρημα που δεν συσχετίζεται με κάποια συγκεκριμένη παθολογία. Ως προς το ινωδογόνο, οι ασθενείς βρίσκονταν επίσης εντός των φυσιολογικών ορίων του εργαστηρίου, με εξαίρεση έναν ασθενή που παρουσίαζε τιμή πάνω από τα φυσιολογικά όρια, χωρίς συσχέτισή του με παθολογικές τιμές από τον λοιπό έλεγχο.

Βασικός σκοπός της μελέτης ήταν η μέτρηση παραγόντων της ινωδόλυσης και η μελέτη της συσχέτισής τους με τη ΜΑΛΝΗ. Οι τιμές του PAI-1 ήταν εντός φυσιολογικών ορίων για 41/50 ασθενείς. 9/50 ασθενείς παρουσίαζαν χαμηλές τιμές, εύρημα που δεν αξιολογείται αφού οι εργαστηριακές μέθοδοι εκτίμησης της δραστηριότητας (όπως αυτή που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη), είναι σχεδιασμένες για να ανιχνεύουν την αυξημένη δραστηριότητα και όχι μία κατάσταση ένδειας του παράγοντα. Συνεπώς δεν είναι επαρκώς ευαίσθητες όσων αφορά τις χαμηλές τιμές.(272)<sup>272</sup> Κανένας ασθενείς δεν παρουσίαζε αυξημένες τιμές PAI-1. Αυτό το αποτέλεσμα έρχεται σε αντίθεση με προηγούμενες μελέτες όπου οι ασθενείς με ΜΑΛΝΗ παρουσίαζαν αυξημένα επίπεδα του παράγοντα αυτού. Τα επίπεδα του PAI-1, έχει βρεθεί ότι αυξάνονται όσο επιδεινώνεται το στάδιο της ίνωσης (260). Παρ' ότι η τιμή του PAI-1 συνδέεται με την παρουσία παχυσαρκίας (187), στο παρόν δείγμα ασθενών με αυξημένο ΔΜΣ (54% υπέρβαροι και 28% παχύσαρκοι), η συσχέτιση αυτή δεν επιβεβαιώθηκε. Για την ερμηνεία αυτού του ευρήματος, οφείλουμε αρχικά να αποκλείσουμε κάποιο σφάλμα κατά την προαναλυτική και αναλυτική διαδικασία. Συγκεκριμένα, εφόσον η εργαστηριακή μέτρηση δεν γίνει αμέσως μετά την αιμοληψία, το δείγμα μετά την φυγοκέντρηση μπορεί να παραμείνει μέχρι 2 ώρες στους 2-8°C αλλιώς πρέπει να καταψύχεται. Το δείγμα παραμένει σταθερό για 1 μήνα στους -20°C ή για 6-9 μήνες στους -80°C, όπως έγινε στην παρούσα μελέτη. Δείγματα αιμολυμένα ή λιπαιμικά μπορεί να

επηρεάσουν το αποτέλεσμα και δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται. Στην περίπτωση των ασθενών της μελέτης, 1/50 δείγματα παρουσίαζε αιμόλυση, ενώ 2/50 ήταν λιπαιμικά. Ακόμα και αν θεωρηθεί ότι υπήρχε σφάλμα στη μέτρηση των 3/50 δείγματα, ο αριθμός είναι ιδιαίτερα μικρός και δεν επηρεάζει το συμπέρασμα σχετικά με τις τιμές του PAI-1 στην παρούσα ομάδα ασθενών. Επιπρόσθετα, κανείς από τους ασθενείς δεν λάμβανε αντινωδολυτικά φάρμακα (αμινοκαπροϊκό οξύ, τρανεξαμικό οξύ), μη κλασματοποιημένη ηπαρίνη ή ηπαρίνη χαμηλού μοριακού βάρους, που μπορεί να επηρεάσουν τα αποτελέσματα της μέτρησης.(270) Δεδομένης της ορθότητας της προαναλυτικής και αναλυτικής μεθόδου μέτρησης του PAI-1, η έλλειψη αυξημένων τιμών PAI-1 στον υπό μελέτη πληθυσμό δεν μπορεί να αποδοθεί σε εργαστηριακό σφάλμα.

Πιθανώς, το συγκεκριμένο εύρημα να αποδίδεται στην ήπια νόσο που παρουσίαζαν οι ασθενείς της μελέτης, βάσει του FIB-4 σκορ. Μπορεί να υποθεθεί ότι οι φυσιολογικές τιμές PAI-1 δικαιολογούνται από την ύπαρξη απλής στεάτωσης και όχι προχωρημένης ίνωσης στον υπό μελέτη πληθυσμό. Το εύρημα αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό, αφού **αναδεικνύει την προχωρημένη ίνωση ως τον βασικό παράγοντα που επηρεάζει τη διαδικασία της ινωδόλυσης και προσδίδει στους ασθενείς με ΜΑΛΝΗ τον προπηκτικό φαινότυπο.** Η μέτρηση του PAI-1 σε μεγαλύτερο αριθμό ασθενών με ΜΑΛΝΗ (υπέρβαρων και παχύσαρκων) με χαμηλού σταδίου ίνωση σε σύγκριση με ασθενείς με σοβαρότερη ίνωση, θα μπορούσε δυνητικά να επιβεβαιώσει τον παραπάνω ισχυρισμό. Κάτι τέτοιο θα υποδείκνυε ότι **η παχυσαρκία από μόνη της δεν αρκεί για να προκαλέσει τη διαταραχή του ινωδολυτικού συστήματος, αλλά απαιτείται η παρουσία ηπατικής ίνωσης για την αύξηση των τιμών του PAI-1.**



Σε συνέχεια της μελέτης των παραγόντων της ινωδύλωσης, έγινε μέτρηση του παράγοντα XIII. Ο παράγοντας XIII, έχει φανεί ότι σχετίζεται με θρομβωτικές διαταραχές. Τα επίπεδά του φαίνεται να συνδέονται με την αθηρωμάτωση και πολλές μελέτες βρίσκονται σε εξέλιξη σε αυτό το πεδίο. Φαίνεται ότι σχετίζεται επίσης με τη θρομβοεμβολική νόσο και μάλιστα, σε αντίθεση με ότι θα αναμενόταν, έχει βρεθεί ότι στην οξεία φάση της θρόμβωσης τα επίπεδά του είναι μειωμένα και οι τιμές αυτές επηρεάζουν την έκβαση των θρομβοεμβολικών επιπλοκών. Τα μειωμένα επίπεδα του παράγοντα, απουσία οξέος θρομβοεμβολικού συμβάματος, μπορεί να συνδέονται με αυξημένο κίνδυνο θρόμβωσης, ενώ τα αυξημένα επίπεδά του να λειτουργούν προστατευτικά. Παρ' όλα αυτά απαιτείται μεγαλύτερος αριθμός μελετών για την επιβεβαίωση αυτών των ευρημάτων.(209) Από την ανασκόπηση της σχετικής βιβλιογραφίας, στις περισσότερες μελέτες της αιμόστασης σε ασθενείς με ΜΑΛΝΗ, δεν είχε γίνει μέτρηση του παράγοντα XIII, με εξαίρεση τη μελέτη των Lallukka et al (261). Στη μελέτη αυτή μετρήθηκε η συγκέντρωση του mRNA του F13A1 γονιδίου, που κωδικοποιεί την A υποομάδα του παράγοντα XIII, σε ασθενείς με ΜΑΛΝΗ με και χωρίς συνυπάρχουσα ινσουλινοαντίσταση. Η μελέτη δεν ανέδειξε διαφορά στην ηπατική έκφραση της A υποομάδας του παράγοντά XIII μεταξύ των ασθενών που εξετάστηκαν και κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η δραστηριότητα του παράγοντα XIII δεν ελέγχεται αποκλειστικά από την ηπατική έκφραση του F13A1. Οι Korpec AK et al,(273) πραγματοποίησαν μία έρευνα σε παχύσαρκα ποντίκια, με στόχο τη μελέτη της φλεγμονής και της προθρομβωτικής κατάστασης που συνοδεύει την παχυσαρκία. Οι μετρήσεις τους ανέδειξαν την επίδραση του παράγοντα XIII στις παθολογίες που συνδέονται με την αυξημένη πρόσληψη λίπους, μέσω ενός μηχανισμού όπου το σταθεροποιημένα μόρια ινώδους (μέσω της δράσης του παράγοντα XIII), προκαλούν ισχυρότερη προφλεγμονώδη απάντηση και έχουν μεγαλύτερη επίδραση στη λειτουργία των μακροφάγων του λιπώδους ιστού σε σχέση με τα μόρια διαλυτού (μη συνδεδεμένου) ινώδους. Παρόλα αυτά, οι

ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι απαιτείται περαιτέρω διερεύνηση για να καθοριστεί η σχέση μεταξύ του ινωδογόνου, του ινώδους και του παράγοντα XIII με τα αποτελέσματα της παχυσαρκίας, συμπεριλαμβανομένης της ινσουλινοαντίστασης και της ΜΑΛΝΗ.

Βάσει αυτών των δεδομένων, η μέτρηση του παράγοντα XIII, θεωρήθηκε χρήσιμη, στην παρούσα μελέτη. Κανένας ασθενής δεν παρουσίαζε χαμηλά επίπεδα παράγοντα XIII, ενώ οι ελαφρώς αυξημένες τιμές που παρατηρήθηκαν σε 15/50 δείγματα, δεν είναι αξιολογήσιμες (αξιολογούνται μόνο οι μειωμένες τιμές ως παθολογικές). Δεδομένου ότι δεν υπάρχουν συγκριτικά στοιχεία από τις πιο εκτεταμένες μελέτες της αιμόστασης σε ασθενείς με ΜΑΛΝΗ, σχετικά με τα επίπεδα του παράγοντα XIII, δεν μπορούν να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα για το ρόλο του παράγοντα XIII στη νόσο. Οι φυσιολογικές τιμές στην περίπτωση των ασθενών της μελέτης μας, θα μπορούσαν να οφείλονται είτε στη μη συμμετοχή του στην εκδήλωση του προπηκτικού φαινοτύπου των ασθενών με ΜΑΛΝΗ, είτε όπως και στην περίπτωση του PAI-1, στην απουσία από τη μελέτη, μεγάλου αριθμού ασθενών με προχωρημένη νόσο. Ο προσδιορισμός πολυμορφισμών του fXIII που έχει βρεθεί ότι μπορεί να σχετίζονται με προστασία από θρομβοεμβολική νόσο (FXIII-A Leu34) αλλά και με αυξημένο θρομβωτικό κίνδυνο (FXIII-B Arg95) (274), θα μπορούσε να προσθέσει πληροφορίες και στην περίπτωση της παρούσας μελέτης.

Η μέτρηση των επιπέδων των δ-διμερών, ανέδειξε παθολογικά αυξημένες τιμές σε 11/50 ασθενείς. Αυξημένες τιμές δ-διμερών, παρατηρούνται σε μία σειρά από καταστάσεις όπως σε θρομβοεμβολικά συμβάματα, ενεργείς κακοήθειες, αυτοάνοσα νοσήματα, λοιμώξεις, τραύμα, χειρουργικές επεμβάσεις, ακινητοποίηση.(202) Οι καταστάσεις αυτές, ανήκαν στα κριτήρια αποκλεισμού των ασθενών της μελέτης, όπως περιγράφηκαν στο Κεφάλαιο Β του Ειδικού Μέρους. Επομένως μπορούμε να πούμε με σχετική ασφάλεια ότι οι ασθενείς

δεν παρουσίαζαν άλλες καταστάσεις στις οποίες θα μπορούσε να αποδοθεί η αύξηση των δ-διμερών, στο βαθμό βέβαια που αυτές μπορούσαν να αποκλειστούν (δεν έγινε για παράδειγμα, ενδεδεγμένος έλεγχος προς αποκλεισμό κακοήθειας στους ασθενείς). Βάσει των ανωτέρω, μπορεί να υποτεθεί, ότι **στη συγκεκριμένη ομάδα ασθενών, η αύξηση των δ-διμερών συνδέεται με την παρουσία ΜΑΛΝΗ**. Πρέπει να σημειωθεί ότι στις έρευνες που έχουν γίνει για τη μελέτη της αιμόστασης σε ασθενείς με ΜΑΛΝΗ (254,258,260) και αναλύθηκαν στο Κεφάλαιο Δ2 του Γενικού Μέρους, μόνο σε εκείνη των Potze et al. (260) πραγματοποιήθηκε μέτρηση των δ-διμερών. Τα επίπεδά τους βρέθηκαν ιδιαίτερα αυξημένα στους ασθενείς με μεταβολική κίρρωση, ενώ παρατηρήθηκαν αυξημένες τιμές και σε μη-κίρρωτικούς ασθενείς με ΜΑΛΝΗ σε σχέση με υγιείς μάρτυρες, χωρίς όμως η διαφορά να είναι στατιστικά σημαντική.

Με αυτά τα δεδομένα, η στατιστική μελέτη επικεντρώθηκε στην ανάλυση των χαρακτηριστικών που θα μπορούσαν να συνδέονται με τις αυξημένες τιμές δ-διμερών και στην αναζήτηση συσχετίσεων μεταξύ αυτών. Αρχικά πραγματοποιήθηκε μελέτη συσχέτισης των δ-διμερών με τα χαρακτηριστικά των ασθενών και τα εργαστηριακά ευρήματα. Διαπιστώθηκε συσχέτιση του ΔΜΣ, των αιμοπεταλίων και του καπνίσματος με τα δ-διμερή σε στατιστικά σημαντικό βαθμό ( $p < 0.05$ ). Η συσχέτιση του καπνίσματος με τις τιμές των δ-διμερών, επιβεβαιώνεται από τη βιβλιογραφία.(275) Όσον αφορά τις τιμές των αιμοπεταλίων, δεν υπάρχουν βιβλιογραφικές αναφορές που να συσχετίζουν τα επίπεδά τους με αυτά των δ-διμερών σε διαταραχές της αιμόστασης. Η παχυσαρκία αποτελεί κατάσταση που συνδέεται με διαταραχές της αιμόστασης και μάλιστα, τα επίπεδα των δ-διμερών φαίνεται να αυξάνονται αναλογικά με τις κατηγορίες του ΔΜΣ.(276) Το διάγραμμα 3, όπου απεικονίζεται η συσχέτιση των τιμών των δ-διμερών και του σκορ FIB-4, αναδεικνύει μια τάση συσχέτισης μεταξύ των δύο μεταβλητών, που δεν ήταν όμως στατιστικά

σημαντική ( $p=0.08$ ). Η παρατήρηση αυτή έχει ιδιαίτερη κλινική σημασία, αφού δείχνει ότι **η βαρύτητα της ίνωσης συνδέεται με αύξηση των προϊόντων της ινωδόλυσης** και θα μπορούσε εφόσον επαληθευτεί σε μεγαλύτερο δείγμα ασθενών, να φανεί δυνητικά χρήσιμη στη σταδιοποίηση των ασθενών.

Η ανάλυση διακύμανσης στο μοντέλο γραμμικής παλινδρόμησης, επιβεβαίωσε θετική συσχέτιση των δ-διμερών με το ΔΜΣ, το σκορ fib-4, το αρσενικό φύλο και την αρτηριακή υπέρταση και αρνητική για το κάπνισμα, τη φερριτίνη και τα αιμοπετάλια. Η συσχέτιση αυτή επαληθεύεται για το 30.8% του δείγματος που εξετάστηκε βάσει του  $R^2= 0.308$ . Η συσχέτιση των δ-διμερών με το αρσενικό φύλο δεν φαίνεται να επιβεβαιώνεται από τη βιβλιογραφία, (277) ενώ δεν περιγράφονται συσχετίσεις τους με τις τιμές της φερριτίνης.

Στα διαγράμματα 4-5-6, φαίνεται σχηματικά η σύγκριση των πληθυσμών με φυσιολογικά δ-διμερή κ αυτών με παθολογικά δ-διμερή για κάποια από τα εξεταζόμενα χαρακτηριστικά. Από τη μελέτη των διαγραμμάτων είναι εμφανής μια τάση οι ασθενείς με αυξημένα δ-διμερή να έχουν υψηλότερο ΔΜΣ κ πιο προχωρημένη ίνωση. Τα ευρήματα αυτά συνηγορούν με τα αποτελέσματα των συσχετίσεων που αναλύθηκαν ανωτέρω. Παρ' όλα αυτά, μετά τον έλεγχο ανεξαρτησίας των δύο ομάδων με χρήση του κριτηρίου Fischer's Exact Test, τα αποτελέσματα της συσχέτισης δεν ήταν στατιστικά σημαντικά. Η έλλειψη στατιστικής σημαντικότητας πιθανώς αποδίδεται στο μικρό αριθμητικά δείγμα.

Από την μελέτη του υποπληθυσμού με αυξημένα δ-διμερή διαπιστώθηκε ισχυρή συσχέτιση του φύλου, του ΔΜΣ, της άσκησης και της φερριτίνης με τα αυξημένα δ-διμερή, χωρίς όμως οι συσχετίσεις αυτές να είναι στατιστικά σημαντικές ( $p>0.05$ ). Τα μη στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα στην ανάλυση αυτή, οφείλονται πιθανώς στο μικρό αριθμό του υπό ανάλυση

δείγματος (11 ασθενείς). Πιθανώς ένα μεγαλύτερο δείγμα ασθενών θα επιβεβαίωνε τις συσχετίσεις αυτές.

Η γραμμική παλινδρόμηση ανέδειξε συσχέτιση των αυξημένων τιμών των δ-διμερών με τις τιμές της γGT, της φερριτίνης, του ΔΜΣ και του FIB-4. Το μοντέλο της υπόθεσης επιβεβαιώνεται για το 31.5% του δείγματος. Η συσχέτιση ήταν θετική για το ΔΜΣ, το σκορ fib-4 και αρνητική για τη φερριτίνη και σε μικρότερο βαθμό για τη γgt. Η θετική συσχέτιση με το ΔΜΣ και το σκορ fib-4, έχει επιβεβαιωθεί και στις προηγούμενες δοκιμασίες. Η αρνητική συσχέτιση με τη φερριτίνη και τη γgt, δεν αναφέρεται στη βιβλιογραφία. Παρ' όλα αυτά η απουσία φλεγμονής συνάδει με την απουσία ενεργοποίησης του μηχανισμού της πήξης, επομένως οι φυσιολογικές τιμές φερριτίνης, ως πρωτεΐνη οξείας φάσης και γgt ως δείκτη ηπατικής βλάβης, μπορεί να συνδέονται με μειωμένη φλεγμονώδη διεργασία στο ήπαρ. Παρά δηλαδή τη παρουσία στεάτωσης, οι ασθενείς με χαμηλές τιμές φερριτίνης και γgt δεν παρουσιάζουν ενεργοποίηση του μηχανισμού της πήξης, δεν έχουν αυξημένες τιμές δ-διμερών και αυτή η παρατήρηση επαληθεύεται για το 31.5% του υπό μελέτη πληθυσμού.

Στον υποπληθυσμό με αυξημένα δ-διμερή, στα πλαίσια ενός δεύτερου μοντέλου γραμμικής παλινδρόμησης, πραγματοποιήθηκε επίσης ανάλυση διακύμανσης, με έλεγχο υποθέσεων για τις ποιοτικές μεταβλητές που φάνηκε να έχουν ισχυρή συσχέτιση με τα αυξημένα δ-διμερή, βάσει των αποτελεσμάτων του Pearson correlation test. Φάνηκε ότι για το 71.5% του δείγματος οι αυξημένες τιμές των δ-διμερών σχετίζονται με την διαταραχή ανοχής στη γλυκόζη, το αρσενικό φύλο και το κάπνισμα. Η ανάλυση των συντελεστών ανέδειξε θετική συσχέτιση των αυξημένων δ-διμερών με το αρσενικό φύλο γεγονός που όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, δεν φαίνεται να επιβεβαιώνεται από τη βιβλιογραφία, θα μπορούσε όμως να οφείλεται σε

χαρακτηριστικά που είχαν οι άνδρες της υποομάδας σε σχέση με τις γυναίκες. Τα αυξημένα δ-διμερή συσχετίστηκαν αρνητικά με το κάπνισμα και με τη διαταραχή ανοχής στη γλυκόζη. Η αρνητική συσχέτιση με το κάπνισμα είναι επιβεβαιωμένη βιβλιογραφικά (275) αλλά και από τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης. Η διαταραχή ανοχής στη γλυκόζη συνδέεται αποδεδειγμένα με διαταραχή της ινωδόλυσης και αύξηση των δ-διμερών σύμφωνα με τους Lalluka et al. (261) Ως παράδειγμα της συσχέτισης αυτής θα μπορούσαμε να πούμε ότι **ένας άνδρας που καπνίζει και έχει διαταραχή ανοχής στη γλυκόζη έχει 71.5% πιθανότητα να έχει αυξημένα δ διμερή.** Η στατιστική σημαντικότητα ήταν 0.073, ενισχύοντας την υπόθεση ότι το συγκεκριμένο μοντέλο θα επιβεβαιώνεται και σε μεγαλύτερο αριθμό ασθενών.

Και στα τρία μοντέλα γραμμικής παλινδρόμησης που παρουσιάστηκαν παραπάνω, οι υψηλές τιμές βαθμών ελευθερίας (df) ενισχύουν τον ισχυρισμό ότι η τιμή των δ-διμερών σχετίζεται με τις υπό μελέτη μεταβλητές. Οι τιμές αυτές αποτελούν ένδειξη ότι παρ' ότι στο συγκεκριμένο μικρό δείγμα ασθενών, οι αναλύσεις δεν ανέδειξαν στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα, η αύξηση του αριθμού των ασθενών ή η χρήση του δείγματος αυτού στα πλαίσια μετανάλυσης, θα οδηγήσουν σε επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων σε στατιστικά σημαντικό επίπεδο.

Η πρακτική σημασία της μελέτης αφορά πρωταρχικά τη διαλεύκανση του τοπίου σχετικά με την αιτιολογία του προπηκτικού προφίλ των ασθενών με ΜΑΛΝΗ. Όπως είδαμε στο Κεφάλαιο Δ2 του Γενικού Μέρους, με βάση τη βιβλιογραφική ανασκόπηση, δεν μπορούν να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα για τη σύνδεση μεταξύ μη αλκοολικής νόσου του ήπατος και του κινδύνου θρόμβωσης. Το αιμοστατικό προφίλ των ασθενών με ΜΑΛΝΗ παραμένει ασαφές και χρήζει περαιτέρω μελέτης. **Τα δικά μας αποτελέσματα αναδεικνύουν μεν διαταραχές του ινωδολυτικού μηχανισμού, αλλά όχι τόσο**

**εκσεσημασμένες ώστε να δύνανται να στοιχειοθετήσουν έναν βασικό ρόλο των διαταραχών της ινωδόλυσης στην έκφραση του προπηκτικού φαινοτύπου.** Παρ' όλα αυτά οι παρατηρήσεις μας για τη συσχέτιση των αυξημένων τιμών δ-διμερών με τον δείκτη μάζας σώματος, τη διαταραχή ανοχής στη γλυκόζη και το σκορ FIB-4, αποτελούν χρήσιμο δεδομένο, που εφόσον επαληθευτεί σε μεγαλύτερο δείγμα ασθενών και σε ασθενείς με βαρύτερη νόσο, όσων αφορά το στάδιο της ίνωσης, θα μπορούσε να χρησιμεύσει ως εργαλείο για τη σταδιοποίηση των ασθενών. Πρέπει να τονιστεί βέβαια ότι τα δ-διμερή, παρότι αποτελούν εξέταση ρουτίνας που είναι εύκολα προσβάσιμη στην πλειονότητα των εργαστηρίων, λόγω της αύξησής τους σε πολλές άλλες καταστάσεις (202), αποτελούν ένα μη-ειδικό δείκτη και πρέπει πάντοτε να αξιολογούνται εξατομικευμένα για τον κάθε ασθενή. Επομένως η δημιουργία ενός διαγνωστικού αλγορίθμου που να βασίζεται στην μέτρηση τους είναι αρκετά δυσχερής.

Η ανεύρεση των διαταραχών της αιμόστασης που παίζουν το βασικότερο ρόλο στην περίπτωση αυτών των ασθενών με ΜΑΛΝΗ, έχει ιδιαίτερη σημασία. Εάν οι ασθενείς με ΜΑΛΝΗ θεωρούνται ομάδα αυξημένου θρομβωτικού κινδύνου, είναι σημαντικό να γνωρίζουμε ποιο στάδιο της αιμόστασης πάσχει, ώστε να μπορούμε να χορηγήσουμε την κατάλληλη προφυλακτική ή θεραπευτική αγωγή, όταν και εφόσον ενδείκνυται.

## **ΣΤ. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ**

Στη μελέτη υπήρχαν κάποιοι περιορισμοί, όπως ο μικρός αριθμός δείγματος και η έλλειψη ομάδας υγείων μαρτύρων. Η συμμετοχή υγείων μαρτύρων, θα προϋπέθετε την ανεύρεση ατόμων με παρόμοια χαρακτηριστικά με αυτά των ασθενών με ΜΑΛΝΗ, κυρίως όσων αφορά το ΔΜΣ και την ηλικία, με

υπερηχογραφικά διαπιστωμένη απουσία ΜΑΛΝΗ. Η συγκέντρωση ενός τέτοιου πληθυσμού είναι ιδιαίτερα δυσχερής, αφού τα άτομα με αυξημένο ΔΜΣ παρουσιάζουν σε ποσοστό μεταξύ 50-90% υπερηχογραφικά ευρήματα ΜΑΛΝΗ.(278)

Ένας άλλος περιορισμός της μελέτης αφορά στην πιθανή υπερδιάγνωση της ΜΑΛΝΗ με το απλό υπερηχογράφημα ήπατος. Η αξιοπιστία της διάγνωσης αυξάνεται με τη χρήση της ελαστογραφίας και ακόμα περισσότερο με τη βιοψία ήπατος. Η ελαστογραφία είναι μία μέθοδος που δεν αποζημιώνεται από τα ασφαλιστικά ταμεία και επομένως η χρήση της περιορίζεται σημαντικά. Πρέπει να σημειωθεί επίσης, ότι στην περίπτωση που χρησιμοποιείται η Transient Elastography (TE), που είναι ιδιαίτερα διαδεδομένη στη χώρα μας, το ποσοστό αποτυχίας της εξέτασης φτάνει το 15.8%.(279) Το ποσοστό αυτό οφείλεται κυρίως στην παρουσία παχυσαρκίας (που αφορά την πλειοψηφία των ασθενών με ΜΑΛΝΗ). Επομένως ακόμα και αν ο ασθενής είναι διατεθειμένος να καλύψει ο ίδιος το κόστος της εξέτασης, θα πρέπει να παραπεμφθεί σε ειδικό κέντρο που χρησιμοποιεί την τεχνική ARFI (Acoustic Radiation Force Impulse), ώστε να μειωθεί η πιθανότητα αποτυχίας της εξέτασης. Η βιοψία ήπατος είναι όπως είδαμε και προηγουμένως, μία αιματηρή διαδικασία, με σοβαρές πιθανές επιπλοκές. Η απόφαση για διενέργειά της αφορά τις περιπτώσεις εκείνες όπου οι υπόλοιπες απεικονιστικές μέθοδοι δεν επαρκούν για να θέσουν τη διάγνωση της υποκείμενης ηπατικής νόσου και δεν αποτελεί μέρος του βασικού διαγνωστικού αλγορίθμου για τη διάγνωση της ΜΑΛΝΗ (Σχήμα 1).

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, το μεγαλύτερο ποσοστό των ασθενών της μελέτης έπασχαν από ήπιας μορφής ΜΑΛΝΗ. Αυτό επιβεβαιώνεται τόσο από το FIB-4 σκορ, όπου 72% των συμμετεχόντων είχαν σκορ < 1.45, αποτέλεσμα που μπορεί να αποκλείσει με ασφάλεια την προχωρημένη ίνωση (στάδια F3–



F4) (121), καθώς και από το μικρό ποσοστό που παρουσίαζε διαταραχή ηπατικής βιοχημείας (44%). Οι μετρήσεις σε μια ομάδα ασθενών με πιο προχωρημένη ΜΑΛΝΗ, μπορεί να αναδείκνυαν βαρύτερες διαταραχές της ινωδόλυσης. Επιπρόσθετα, ένα περισσότερο ετερογενές δείγμα όσων αφορά τη βαρύτητα της νόσου, θα μπορούσε να μας οδηγήσει σε περισσότερα συμπεράσματα σχετικά με τη διακύμανση των τιμών όσο εξελίσσεται η νόσος.

Όσων αφορά τον εργαστηριακό έλεγχο που διενεργήθηκε, έγιναν μετρήσεις βασικών παραγόντων που συμμετέχουν στο μηχανισμό της ινωδόλυσης, και έχουν σχετιστεί βιβλιογραφικά με διαταραχές της αιμόστασης σε ασθενείς με ΜΑΛΝΗ. Περαιτέρω εργαστηριακές εξετάσεις εκτίμησης της ινωδόλυσης, μπορεί να προσθέσουν στοιχεία στο αποτέλεσμα της μελέτης μας, όπως η μέτρηση του πλασμινογόνου, της α-2 αντιπλασμίνης, της πρωτεΐνης Z, του TAFI, του u-PA και του t-PA. Συγκεκριμένα για τον TAFI, έχει παρατηρηθεί ότι τα υψηλά επίπεδά του στο πλάσμα συνδέονται με αυξημένο κίνδυνο θρομβοεμβολικής νόσου.<sup>(280)</sup> Η μέτρησή του σε ασθενείς με ΜΑΛΝΗ θα είχε ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Η επέκταση της εργαστηριακής διερεύνησης της ινωδόλυσης και σε μοριακό επίπεδο, θα μπορούσε να περιλάβει τον προσδιορισμό πολυμορφισμών του fXIII (FXIII-A Leu34 και FXIII-B Arg95) καθώς και των πολυμορφισμών [4G/5G] στην περιοχή του εκκινητή του γονιδίου του PAI-1. Η μελέτη του χρόνου λύσης θρόμβου ευσφαιρινών πλάσματος θα προσέφερε επίσης στοιχεία σχετικά με την ινωδόλυση, παρ' ότι η διενέργεια της έχει συγκεκριμένους περιορισμούς, λόγω του χρόνου που απαιτεί για την ολοκλήρωσή της και της μειωμένης αναπαραγωγιότητάς της. Τέλος, ιδιαίτερο ενδιαφέρον θα είχε η μελέτη της σταθερότητας του θρόμβου με χρήση θρομβοελαστομετρίας, που όμως απαιτεί τη διενέργεια της μέσα σε 30 λεπτά έως 4 ώρες από την αιμοληψία. Επί του παρόντος δεν υπάρχουν σαφείς αναφορές για τη σταθερότητα και αναπαραγωγιότητα των μετρήσεων

μετά από φυγοκέντρωση και ψύξη του πλάσματος, όπως στην περίπτωση των δειγμάτων της δικής μας μελέτης.(281)<sup>281</sup>

## **Z.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ**

Η παρούσα μελέτη εξέτασε τη συμμετοχή του ινωδολυτικού συστήματος στον προπηκτικό φαινότυπο των ασθενών με μη κίρρωτική ΜΑΛΝΗ. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων μας έδειξαν ότι **σε ασθενείς με ΜΑΛΝΗ και περιορισμένη ίνωση το ινωδολυτικό σύστημα δεν φαίνεται να επηρεάζεται σημαντικά και συμβάλλει, αλλά σε μικρότερο βαθμό, στην εκδήλωση του προπηκτικού φαινοτύπου.** Η συμβολή του αυτή υποδεικνύεται από τις αυξημένες τιμές δ-διμερών. Η ΜΑΛΝΗ αποτελεί μια νοσολογική οντότητα που συνδέεται έντονα με χαρακτηριστικά των ασθενών και με τον τρόπο ζωής, παρατήρηση που επιβεβαιώθηκε από τις συσχετίσεις των δ-διμερών με το δείκτη μάζας σώματος, τη διαταραχή ανοχής στη γλυκόζη και το κάπνισμα.

Οι ασθενείς της μελέτης ήταν στην πλειοψηφία τους υπέρβαροι και παχύσαρκοι και δεν παρουσίαζαν προχωρημένη ηπατική ίνωση. Η απουσία παθολογικών τιμών του PAI-1 στο δείγμα αυτό, θέτει την υποψία τα υψηλά επίπεδα του παράγοντα που έχουν παρατηρηθεί στον ορό των παχύσαρκων ασθενών σε προηγούμενες μελέτες, να μην συνδέονται μόνο με τον αυξημένο δείκτη μάζας σώματος αλλά και με την παρουσία προχωρημένης ίνωσης του ήπατος. Υποδεικνύει δηλαδή την προχωρημένη ίνωση ως τον βασικό παράγοντα που επηρεάζει τη διαδικασία της ινωδόλυσης και προσδίδει στους ασθενείς με ΜΑΛΝΗ τον προπηκτικό φαινότυπο.

Βάσει της βιβλιογραφίας, η παρούσα μελέτη, είναι η δεύτερη στην οποία έχει πραγματοποιηθεί μέτρηση των επιπέδων των δ-διμερών σε ασθενείς με ΜΑΛΝΗ και η μόνη στην οποία έγινε αναλυτική συσχέτιση των παθολογικών

επιπέδων με τα χαρακτηριστικά των ασθενών. Η μελέτη μας είναι επίσης η μόνη στην οποία έχει πραγματοποιηθεί προσδιορισμός του παράγοντα XIII, χωρίς ανάδειξη παθολογικών τιμών.

Παρά την αδυναμία ανάδειξης στατιστικά σημαντικών αποτελεσμάτων λόγω του μικρού αριθμού των ασθενών της μελέτης, το μοντέλο γραμμικής παλινδρόμησης το οποίο επαληθεύεται για το 71.5% του δείγματος και συσχετίζει το κάπνισμα και τη διαταραχή ανοχής στη γλυκόζη με την παρουσία αυξημένων δ-διμερών σε ασθενείς με μη-κιρρωτική ΜΑΛΝΗ, με υψηλούς βαθμούς ελευθερίας και στατιστική σημαντικότητα της τάξης του 0.073, αποτελεί σημαντικό εύρημα.

Καταλήγοντας, το ινωδολυτικό σύστημα συμμετέχει στον προπηκτικό φαινότυπο των ασθενών με ΜΑΛΝΗ, χωρίς όμως ο ρόλος του να είναι ξεκάθαρος. Καθώς ο επιπολασμός της ΜΑΛΝΗ αυξάνεται αλματωδώς στον ανεπτυγμένο κόσμο, η αποσαφήνιση αυτού του φαινοτύπου έχει ιδιαίτερη σημασία. Εάν αποδειχτεί ότι η ΜΑΛΝΗ ανήκει στις επίκτητες θρομβοφιλικές διαταραχές, τότε αυτοί οι ασθενείς θα πρέπει να αντιμετωπίζονται ανάλογα όταν βρίσκονται σε καταστάσεις αυξημένου θρομβοεμβολικού κινδύνου. Απαιτούνται, ωστόσο μελέτες με μεγάλο αριθμό ασθενών και εκτεταμένο εργαστηριακό έλεγχο ώστε να προσδιοριστούν με ακρίβεια οι διαταραχές του αιμοστατικού μηχανισμού.

### III. ΓΛΩΣΣΑΡΙ

ΑΜΠ: αιμοπετάλια

ΑΦΤ: ανώτερη φυσιολογική τιμή

ΔΑΠ: Διαστολική αρτηριακή πίεση

ΔΕΠ: διάχυτης ενδοαγγειακής πήξης

ΗΕΓ: ηλεκτροεγκεφαλογράφημα

ΗΚΚ: ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα

ΗΕ: Ηπατική Εγκεφαλοπάθεια

ΙΦΝΕ: ιδιοπαθείς φλεγμονώδεις νόσους του εντέρου

μ: μέση τιμή

ΜΑΛΝΗ: μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος

ΜΑΣΗ: μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα

ΜΣ: μεταβολικό σύνδρομο

ΜΣΑΦ: μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα

ΠΕ: πνευμονική εμβολή

ΣΑΠ: Συστολική αρτηριακή πίεση

ΣΔ2: σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2

$\alpha$ 2-AP:  $\alpha$ 2-Antiplasmin/  $\alpha$ -2 αντιπλασμίνη

ADP: adenosine diphosphate/ διφωσφονική αδενοσίνη

AFP: alpha-fetoprotein/  $\alpha$ -εμβρυϊκή σφαιρίνη

AHA: American Heart Association/ Αμερικάνικη Καρδιολογική Εταιρεία

AIH: Autoimmune hepatitis/ αυτοάνοση ηπατίτιδα

ALT: alanine aminotransferase/ αλανινική αμινοτρανσφαιράση

AMA: antimitochondrial antibody/ αντιμιτοχονδριακά αντισώματα

ANA: antinuclear antibody/ αντιπυρηνικά αντισώματα

APC: activated protein C/ πρωτεΐνη C

ApoA1: apoprotein A1/ απολιποπρωτεΐνη A1

APTT: activated partial thromboplastin time/ χρόνος ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης

AST: aspartate aminotransferase/ ασπαρτική αμινοτρανσφεράση

AT: antithrombin/ αντιθρομβίνη

BIA: bio-immunoassay/ ανοσοδοκιμασία με χρήση ενζύμων

BMI: body mass index/ δείκτης μάζας σώματος

CT: closure time/ χρόνος σύγκλισης της οπής

D-D: D-Dimers/ δ-διμερή

EASD: European Association for the Study of Diabetes/ Ευρωπαϊκή εταιρεία μελέτης του διαβήτη

EASL: European Association for the Study of the Liver/ Ευρωπαϊκή εταιρεία μελέτης του ήπατος

EASO: European Association for the Study of Obesity/ Ευρωπαϊκή εταιρεία μελέτης της παχυσαρκίας

EPI: epinephrine/ επινεφρίνη

EPCR: endothelial protein C receptor/ ενδοθηλιακός υποδοχέας της πρωτεΐνης C

GFC: global fibrinolysis capacity/ δοκιμασία ελέγχου ολικής ινωδολυτικής ικανότητας

GGT/γGT: gamma-glutamyl transferase/ γ-γλουταμυλ-τρανσφεράση

GPCR: G protein-coupled receptors/ υποδοχείς συζευγμένοι με πρωτεΐνες G

HAV: hepatitis A virus/ ιός της ηπατίτιδας A

HBeAg: hepatitis B e-antigen/ e αντιγόνου του ιού της ηπατίτιδας B

HBsAg: hepatitis B surface antigen/ αντιγόνο επιφανείας του ιού της ηπατίτιδας B

HBV: hepatitis B virus ιός της ηπατίτιδας B

HCV: hepatitis C virus ιός της ηπατίτιδας C

HDL-C: high density lipoprotein cholesterol / χοληστερόλη λιποπρωτεϊνών υψηλής πυκνότητας

HDV: hepatitis D virus/ ιός της ηπατίτιδας δ

HELLP: hemolysis, elevated liver enzymes, low platelet/ αιμόλυση, αυξημένα ηπατικά ένζυμα, θρομβοπενία

HIV: human immunodeficiency virus/ ιός της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας

ICAM-1: intercellular adhesion molecule-1/ ενδοκυττάρια μόρια προσκόλλησης των λευκοκυττάρων-1

IDF: International Diabetes Federation/ Παγκόσμια Οργάνωση για το Διαβήτη

IG: immunoglobulin/ ανοσοσφαιρίνη

LAL-D: lysosomalacidlipase/ λυσοσωμική όξινη λιπάση

LCAT: lecithin-cholesterol acyltransferase/ ακετυλοτρανσφεράση λεκιθίνης-χοληστερόλης

LKM1: liver kidney microsomal antibody type 1/ αντισώματα έναντι των μικροσωμάτων ήπατος / νεφρού τύπου 1

LTA: light transmittion aggregometry/ αγκρεγομετρία μετάδοσης φωτός

Md: median/διάμεσος

MHC: Major Histocompatibility Complex/ μείζον σύστημα ιστοσυμβατότητας

MRI-PDFF: magnetic resonance imaging- protein density fat fraction/  
μαγνητική τομογραφία με πρωτόκολλο PDFF

MPV: mean platelet volume/ μέσος όγκος αιμοπεταλίων

NAFLD: non-alcoholic fatty liver disease

NAFLD: non-alcoholic fatty liver disease/ μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος

NASH: non-alcoholic steatohepatitis

NETs: neutrophil extracellular traps/εξωκυττάρια ουδετεροφιλικά δίκτυα χρωματίνης

NHLBI: National Heart, Lung, and Blood Institute/ Εθνικό Ινστιτούτο Καρδιάς, Πνευμόνων και Αίματος.

NO: nitric oxide/ μονοξείδιο του αζώτου

OCA: obeticholic acid/ ομπετιχολικό οξύ

PAI-1: plasminogen activator inhibitor-1/ αναστολέας-1 του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου

PARs: protease activated receptors/ υποδοχείς ενεργοποιούμενοι από πρωτεάσες

PBC: primary biliary cirrhosis/ πρωτοπαθής χολική χολαγγειίτιδα

PCR: polymerase chain reaction/ αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης

PDW: platelet distribution width/ εύρος κατανομής αιμοπεταλίων

PF4: platelet factor 4/ αιμοπεταλιακός παράγων 4

PGI2: prostaglandin I2/ προσταγλανδίνη I2

PPP: platelet poor plasma/ πλάσμα φτωχό σε αιμοπετάλια

PS: phosphatidyl serine/ φωσφατιδιλοσερίνη

PSC: primary sclerosing cholangitis/ πρωτοπαθής σκληρυντική χολαγγειίτιδα

PT: prothrombin time/ χρόνος προθρομβίνης

P.Y: pack-years/ πακέτα-έτη

RT-PCR: real time polymerase chain reaction/ αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης πραγματικού χρόνου

SAAG: serum ascites albumin gradient/ κλίσης αλβουμίνης

SD: standard deviation /τυπική απόκλιση

SLA: soluble liver antigen antibody/ αντισώματα έναντι του διαλυτού αντιγόνου του ήπατος

SMA: smooth muscle antibody/ αντισώματα έναντι λείων μυϊκών ινών

SVR: sustained virological response/ εμμένουσα ιολογική ανταπόκριση

TAFI: thrombin activated fibrinolysis inhibitor/ αναστολέας της ινωδόλυσης που ενεργοποιείται από τη θρομβίνη

TF: tissue factor/ ιστικός παράγοντας

TIPS: transjugular intrahepatic portosystemic shunt/ ενδοηπατική πυλαιοσυστηματική ενδοπρόθεση

TFPI: Tissue factor pathway inhibitor/ αναστολέας της οδού του ιστικού παράγοντα

TNF- $\alpha$ : Tumor necrosis factor alpha/ παράγοντας νέκρωσης όγκων  $\alpha$

tPA: tissue plasminogen activator/ ιστικός ενεργοποιητής του πλασμινογόνου

UDCA: ursodeoxycholic acid/ αρκτο-δεοξυχολικό οξύ

uPA: urokinase plasminogen activator/ ενεργοποιητής τύπου ουροκινάσης

VCAM-1: vascular cell adhesion molecule-1/ μόρια προσκόλλησης των αγγειακών κυττάρων-1

VWF: von Willebrand factor/ παράγοντας von Willebrand



## IV. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- <sup>1</sup> "Sherlock's Diseases of the Liver and Biliary System, 13th Edition | Wiley," Wiley.com, accessed November 8, 2020, <https://www.wiley.com/en-us/Sherlock%27s+Diseases+of+the+Liver+and+Biliary+System%2C+13th+Edition-p-9781119237648>.
- <sup>2</sup> Ashish Sharma and Shivaraj Nagalli, "Chronic Liver Disease," in StatPearls (Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2020), <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554597/>.
- <sup>3</sup> Sumeet K. Asrani et al., "Burden of Liver Diseases in the World," *Journal of Hepatology* 70, no. 1 (2019): 151–71, <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.09.014>.
- <sup>4</sup> Mark Benedict and Xuchen Zhang, "Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: An Expanded Review," *World Journal of Hepatology* 9, no. 16 (June 8, 2017): 715–32, <https://doi.org/10.4254/wjh.v9.i16.715>.
- <sup>5</sup> Ibrahim M et al., "NASH: The Hepatic Injury of Metabolic Syndrome: A Brief Update," *International Journal of Health Sciences* 3, no. 2 (July 2009): 265–70.
- <sup>6</sup> "Ηπατίτιδα Β - Εθνικός Οργανισμός Δημόσιας Υγείας," accessed January 25, 2021, <https://eody.gov.gr/disease/ipatitida-b/>.
- <sup>7</sup> "Hepatitis B Virus Infection | Nature Reviews Disease Primers," accessed January 25, 2021, <https://www.nature.com/articles/nrdp201835#citeas>.
- <sup>8</sup> Pietro Lampertico et al., "EASL 2017 Clinical Practice Guidelines on the Management of Hepatitis B Virus Infection," *Journal of Hepatology* 67, no. 2 (August 1, 2017): 370–98, <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.03.021>.
- <sup>9</sup> David H. Nguyen, Laurie Ludgate, and Jianming Hu, "Hepatitis B Virus-Cell Interactions and Pathogenesis," *Journal of Cellular Physiology* 216, no. 2 (August 2008): 289–94, <https://doi.org/10.1002/jcp.21416>.
- <sup>10</sup> Don Ganem and Alfred M. Prince, "Hepatitis B Virus Infection--Natural History and Clinical Consequences," *The New England Journal of Medicine* 350, no. 11 (March 11, 2004): 1118–29, <https://doi.org/10.1056/NEJMra031087>.
- <sup>11</sup> Href Web Team- href.gr, "Κατευθυντήριες Οδηγίες Αντιμετώπισης Ασθενών με Λοίμωξη από τον ιό της Ηπατίτιδας Β," Ελληνική Εταιρία Μελέτης Ήπατος, May 22, 2018, [hvb\\_keelpno\\_guidelines.aspx](http://hvb_keelpno_guidelines.aspx).
- <sup>12</sup> Lydia S. Y. Tang et al., "Chronic Hepatitis B Infection: A Review," *JAMA* 319, no. 17 (May 1, 2018): 1802–13, <https://doi.org/10.1001/jama.2018.3795>.
- <sup>13</sup> Wai-Kay Seto et al., "Chronic Hepatitis B Virus Infection," *The Lancet* 392, no. 10161 (November 24, 2018): 2313–24, [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)31865-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)31865-8).
- <sup>14</sup> Vladimir Alexei Morozov and Sylvie Lagaye, "Hepatitis C Virus: Morphogenesis, Infection and Therapy," *World Journal of Hepatology* 10, no. 2 (February 27, 2018): 186–212, <https://doi.org/10.4254/wjh.v10.i2.186>.
- <sup>15</sup> Polaris Observatory HCV Collaborators, "Global Prevalence and Genotype Distribution of Hepatitis C Virus Infection in 2015: A Modelling Study," *The Lancet. Gastroenterology & Hepatology* 2, no. 3 (March 2017): 161–76, [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(16\)30181-9](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(16)30181-9).
- <sup>16</sup> Michael P. Manns et al., "Hepatitis C Virus Infection," *Nature Reviews Disease Primers* 3, no. 1 (March 2, 2017): 1–19, <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.6>.
- <sup>17</sup> Philipp Leuw and Christoph Stephan, "Protease Inhibitors for the Treatment of Hepatitis C Virus Infection," *GMS Infectious Diseases* 5 (November 28, 2017), <https://doi.org/10.3205/id000034>.
- <sup>18</sup> C. Wendy Spearman et al., "Hepatitis C," *The Lancet* 394, no. 10207 (October 19, 2019): 1451–66, [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)32320-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)32320-7).
- <sup>19</sup> Patrizia Farci and Grazia Anna Niro, "Current and Future Management of Chronic Hepatitis D," *Gastroenterology & Hepatology* 14, no. 6 (June 2018): 342–51.
- <sup>20</sup> Kalliopi Zachou et al., "Quantitative HBsAg and HDV-RNA Levels in Chronic Delta Hepatitis," *Liver International: Official Journal of the International Association for the Study of the Liver* 30, no. 3 (March 2010): 430–37, <https://doi.org/10.1111/j.1478-3231.2009.02140.x>.
- <sup>21</sup> Nathalie Mentha et al., "A Review on Hepatitis D: From Virology to New Therapies," *Journal of Advanced Research* 17 (March 29, 2019): 3–15, <https://doi.org/10.1016/j.jare.2019.03.009>.
- <sup>22</sup> Ellen L. Mitchell and Zahida Khan, "Liver Disease in Alpha-1 Antitrypsin Deficiency: Current Approaches and Future Directions," *Current Pathobiology Reports* 5, no. 3 (2017): 243–52, <https://doi.org/10.1007/s40139-017-0147-5>.
- <sup>23</sup> Brian K. Crownover and Carlton J. Covey, "Hereditary Hemochromatosis," *American Family Physician* 87, no. 3 (February 1, 2013): 183–90.
- <sup>24</sup> Robert E. Fleming et al., "Pathophysiology of Hereditary Hemochromatosis," *Seminars in Liver Disease* 25, no. 4 (November 2005): 411–19, <https://doi.org/10.1055/s-2005-923313>.

- <sup>25</sup> Shyamal K. Das and Kunal Ray, "Wilson's Disease: An Update," *Nature Clinical Practice. Neurology* 2, no. 9 (September 2006): 482–93, <https://doi.org/10.1038/ncpneuro0291>.
- <sup>26</sup> Oliver Bandmann, Karl Heinz Weiss, and Stephen G. Kaler, "Wilson's Disease and Other Neurological Copper Disorders," *The Lancet. Neurology* 14, no. 1 (January 2015): 103–13, [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70190-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70190-5).
- <sup>27</sup> Anna Czlonkowska et al., "Nature Reviews Disease Primers Article: Wilson Disease," *Nature Reviews. Disease Primers* 4, no. 1 (September 6, 2018): 21, <https://doi.org/10.1038/s41572-018-0018-3>.
- <sup>28</sup> Fernanda Q. Onofrio, Gideon M. Hirschfield, and Aliya F. Gulamhusein, "A Practical Review of Primary Biliary Cholangitis for the Gastroenterologist," *Gastroenterology & Hepatology* 15, no. 3 (March 2019): 145–54.
- <sup>29</sup> European Association for the Study of the Liver. Electronic address: [easloffice@easloffice.eu](mailto: easloffice@easloffice.eu) and European Association for the Study of the Liver, "EASL Clinical Practice Guidelines: The Diagnosis and Management of Patients with Primary Biliary Cholangitis," *Journal of Hepatology* 67, no. 1 (July 2017): 145–72, <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.03.022>.
- <sup>30</sup> David Maxwell Hunter Chascsa and Keith Douglas Lindor, "Emerging Therapies for PBC," *Journal of Gastroenterology* 55, no. 3 (2020): 261–72, <https://doi.org/10.1007/s00535-020-01664-0>.
- <sup>31</sup> James H. Tabibian and Keith D. Lindor, "Primary Sclerosing Cholangitis: A Review and Update on Therapeutic Developments," *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology* 7, no. 2 (February 2013): 103–14, <https://doi.org/10.1586/egh.12.80>.
- <sup>32</sup> Tom H. Karlsen et al., "Primary Sclerosing Cholangitis - a Comprehensive Review," *Journal of Hepatology* 67, no. 6 (December 2017): 1298–1323, <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.07.022>.
- <sup>33</sup> "Aintrahepaticandextrahepaticstricturesinapatientwithprimaryscler.Ashx (461×359)," accessed February 1, 2021, <https://www.hopkinsmedicine.org/health/conditions-and-diseases/-/media/ksw-images/aintrahepaticandextrahepaticstricturesinapatientwithprimaryscler.ashx>.
- <sup>34</sup> Palak J. Trivedi et al., "Grand Round: Autoimmune Hepatitis," *Journal of Hepatology* 70, no. 4 (April 1, 2019): 773–84, <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.11.006>.
- <sup>35</sup> Elke M. Hennes et al., "Simplified Criteria for the Diagnosis of Autoimmune Hepatitis," *Hepatology* (Baltimore, Md.) 48, no. 1 (July 2008): 169–76, <https://doi.org/10.1002/hep.22322>.
- <sup>36</sup> Giordina Mieli-Vergani et al., "Autoimmune Hepatitis," *Nature Reviews Disease Primers* 4, no. 1 (April 12, 2018): 1–21, <https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.17>.
- <sup>37</sup> Andrew Smith, Katrina Baumgartner, and Christopher Bositis, "Cirrhosis: Diagnosis and Management," *American Family Physician* 100, no. 12 (December 15, 2019): 759–70.
- <sup>38</sup> Sadaf G. Sepanlou et al., "The Global, Regional, and National Burden of Cirrhosis by Cause in 195 Countries and Territories, 1990–2017: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study 2017," *The Lancet Gastroenterology & Hepatology* 5, no. 3 (March 1, 2020): 245–66, [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(19\)30349-8](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(19)30349-8).
- <sup>39</sup> Joel J. Heidelbaugh and Michael Bruderly, "Cirrhosis and Chronic Liver Failure: Part I. Diagnosis and Evaluation," *American Family Physician* 74, no. 5 (September 1, 2006): 756–62.
- <sup>40</sup> Thierry Poynard et al., "A Comparison of Fibrosis Progression in Chronic Liver Diseases," *Journal of Hepatology* 38, no. 3 (March 2003): 257–65, [https://doi.org/10.1016/s0168-8278\(02\)00413-0](https://doi.org/10.1016/s0168-8278(02)00413-0).
- <sup>41</sup> E. E. Powell et al., "Host Genetic Factors Influence Disease Progression in Chronic Hepatitis C," *Hepatology* (Baltimore, Md.) 31, no. 4 (April 2000): 828–33, <https://doi.org/10.1053/he.2000.6253>.
- <sup>42</sup> Ramón Bataller, Kari E. North, and David A. Brenner, "Genetic Polymorphisms and the Progression of Liver Fibrosis: A Critical Appraisal," *Hepatology* (Baltimore, Md.) 37, no. 3 (March 2003): 493–503, <https://doi.org/10.1053/jhep.2003.50127>.
- <sup>43</sup> Takuma Tsuchida and Scott L. Friedman, "Mechanisms of Hepatic Stellate Cell Activation," *Nature Reviews. Gastroenterology & Hepatology* 14, no. 7 (July 2017): 397–411, <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.38>.
- <sup>44</sup> Scott L. Friedman, "Liver Fibrosis – from Bench to Bedside," *Journal of Hepatology* 38 (January 1, 2003): 38–53, [https://doi.org/10.1016/S0168-8278\(02\)00429-4](https://doi.org/10.1016/S0168-8278(02)00429-4).
- <sup>45</sup> David E. Kleiner and Hala R. Makhlof, "Histology of NAFLD and NASH in Adults and Children," *Clinics in Liver Disease* 20, no. 2 (May 2016): 293–312, <https://doi.org/10.1016/j.cld.2015.10.011>.
- <sup>46</sup> Giacomo Germani et al., "Assessment of Fibrosis and Cirrhosis in Liver Biopsies: An Update," *Seminars in Liver Disease* 31, no. 1 (February 2011): 82–90, <https://doi.org/10.1055/s-0031-1272836>.
- <sup>47</sup> Mehdi Mohamadnejad et al., "S2068 Histopathological Study of Chronic Hepatitis B: A Comparative Study of Ishak and Metavir Scoring Systems," *Gastroenterology* 134, no. 4 (April 1, 2008): A, [https://doi.org/10.1016/S0016-5085\(08\)61438-9](https://doi.org/10.1016/S0016-5085(08)61438-9).

- <sup>48</sup> Regina C. Lo and Haeryoung Kim, "Histopathological Evaluation of Liver Fibrosis and Cirrhosis Regression," *Clinical and Molecular Hepatology* 23, no. 4 (December 2017): 302–7, <https://doi.org/10.3350/cmh.2017.0078>.
- <sup>49</sup> M. Isabel Fiel, "Pathology of Chronic Hepatitis B and Chronic Hepatitis C," *Clinics in Liver Disease* 14, no. 4 (November 2010): 555–75, <https://doi.org/10.1016/j.cld.2010.07.001>.
- <sup>50</sup> Jason Lewis, "Pathological Patterns of Biliary Disease," *Clinical Liver Disease* 10, no. 5 (2017): 107–10, <https://doi.org/10.1002/cld.667>.
- <sup>51</sup> Douglas A. Simonetto, Mengfei Liu, and Patrick S. Kamath, "Portal Hypertension and Related Complications: Diagnosis and Management," *Mayo Clinic Proceedings* 94, no. 4 (April 1, 2019): 714–26, <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2018.12.020>.
- <sup>52</sup> Andrew H. Talal, Charles S. Venuto, and Islam Younis, "Assessment of Hepatic Impairment and Implications for Pharmacokinetics of Substance Use Treatment," *Clinical Pharmacology in Drug Development* 6, no. 2 (March 2017): 206–12, <https://doi.org/10.1002/cpdd.336>.
- <sup>53</sup> Yeon Seok Seo, "Prevention and Management of Gastroesophageal Varices," *Clinical and Molecular Hepatology* 24, no. 1 (March 2018): 20–42, <https://doi.org/10.3350/cmh.2017.0064>.
- <sup>54</sup> Christopher M Moore and David H Van Thiel, "Cirrhotic Ascites Review: Pathophysiology, Diagnosis and Management," *World Journal of Hepatology* 5, no. 5 (May 27, 2013): 251–63, <https://doi.org/10.4254/wjh.v5.i5.251>.
- <sup>55</sup> Chathur Acharya and Jasmohan Bajaj, "Current Management of Hepatic Encephalopathy," *American Journal of Gastroenterology* 113, no. 11 (November 2018): 1600–1612, <https://doi.org/10.1038/s41395-018-0179-4>.
- <sup>56</sup> Peter Ferenci, "Hepatic Encephalopathy," *Gastroenterology Report* 5, no. 2 (May 2017): 138–47, <https://doi.org/10.1093/gastro/gox013>.
- <sup>57</sup> Hendrik Vilstrup et al., "Hepatic Encephalopathy in Chronic Liver Disease: 2014 Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases and the European Association for the Study of the Liver," *Hepatology (Baltimore, Md.)* 60, no. 2 (August 2014): 715–35, <https://doi.org/10.1002/hep.27210>.
- <sup>58</sup> Denis Dissegna et al., "Morbidity and Mortality after Transjugular Intrahepatic Portosystemic Shunt Placement in Patients with Cirrhosis," *European Journal of Gastroenterology & Hepatology* 31, no. 5 (May 2019): 626–32, <https://doi.org/10.1097/MEG.0000000000001342>.
- <sup>59</sup> Matthew V. Fargo, Scott P. Grogan, and Aaron Saguil, "Evaluation of Jaundice in Adults," *American Family Physician* 95, no. 3 (February 1, 2017): 164–68.
- <sup>60</sup> A Koulaouzidis et al., "Spontaneous Bacterial Peritonitis," *Postgraduate Medical Journal* 83, no. 980 (June 2007): 379–83, <https://doi.org/10.1136/pgmj.2006.056168>.
- <sup>61</sup> "Gynecomastia and Cirrhosis of the Liver - PubMed," accessed January 26, 2021, <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2310274/>.
- <sup>62</sup> Juan G Acevedo and Matthew E Cramp, "Hepatorenal Syndrome: Update on Diagnosis and Therapy," *World Journal of Hepatology* 9, no. 6 (February 28, 2017): 293–99, <https://doi.org/10.4254/wjh.v9.i6.293>.
- <sup>63</sup> Cynthia R. L. Webster, "Hemostatic Disorders Associated with Hepatobiliary Disease.," *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 2017, <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2016.11.009>.
- <sup>64</sup> Ton Lisman and Robert J. Porte, "Pathogenesis, Prevention, and Management of Bleeding and Thrombosis in Patients with Liver Diseases," *Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis* 1, no. 2 (October 2017): 150–61, <https://doi.org/10.1002/rth2.12028>.
- <sup>65</sup> Patrick Northup and Bethany Reutemann, "Management of Coagulation and Anticoagulation in Liver Transplantation Candidates," *Liver Transplantation* 24, no. 8 (2018): 1119–32, <https://doi.org/10.1002/lt.25198>.
- <sup>66</sup> Filippo Schepis et al., "Prevention and Management of Bleeding Risk Related to Invasive Procedures in Cirrhosis," *Seminars in Liver Disease* 38, no. 3 (August 2018): 215–29, <https://doi.org/10.1055/s-0038-1660523>.
- <sup>67</sup> Gennaro D'Amico et al., "Clinical States of Cirrhosis and Competing Risks," *Journal of Hepatology* 68, no. 3 (March 2018): 563–76, <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.10.020>.
- <sup>68</sup> Edoardo G. Giannini et al., "Incidence of Bleeding Following Invasive Procedures in Patients with Thrombocytopenia and Advanced Liver Disease," *Clinical Gastroenterology and Hepatology: The Official Clinical Practice Journal of the American Gastroenterological Association* 8, no. 10 (October 2010): 899–902; quiz e109, <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2010.06.018>.
- <sup>69</sup> Laura Turco et al., "Anticoagulation in the Cirrhotic Patient," *JHEP Reports* 1, no. 3 (September 1, 2019): 227–39, <https://doi.org/10.1016/j.jhepr.2019.02.006>.
- <sup>70</sup> Shivaraj Gowda et al., "A Review on Laboratory Liver Function Tests," *The Pan African Medical Journal* 3 (November 22, 2009), <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2984286/>.

- <sup>71</sup> J Limdi and G Hyde, "Evaluation of Abnormal Liver Function Tests," *Postgraduate Medical Journal* 79, no. 932 (June 2003): 307–12, <https://doi.org/10.1136/pmj.79.932.307>.
- <sup>72</sup> Lin-Lin Huang, Harry Hua-Xiang Xia, and Sen-Lin Zhu, "Ascitic Fluid Analysis in the Differential Diagnosis of Ascites: Focus on Cirrhotic Ascites," *Journal of Clinical and Translational Hepatology* 2, no. 1 (March 2014): 58–64, <https://doi.org/10.14218/JCTH.2013.00010>.
- <sup>73</sup> Shian-Yang Peng et al., "High  $\alpha$ -Fetoprotein Level Correlates with High Stage, Early Recurrence and Poor Prognosis of Hepatocellular Carcinoma: Significance of Hepatitis Virus Infection, Age, P53 and  $\beta$ -Catenin Mutations," *International Journal of Cancer* 112, no. 1 (2004): 44–50, <https://doi.org/10.1002/ijc.20279>.
- <sup>74</sup> Yuko Kono and Robert F. Mattrey, "Ultrasound of the Liver," *Radiologic Clinics of North America* 43, no. 5 (September 2005): 815–26, vii, <https://doi.org/10.1016/j.rcl.2005.05.007>.
- <sup>75</sup> "Liver – International Contrast Ultrasound Society," accessed February 3, 2021, <http://icus-society.org/liver/>.
- <sup>76</sup> Manish Dhyani, Arash Anvari, and Anthony E. Samir, "Ultrasound Elastography: Liver," *Abdominal Imaging* 40, no. 4 (April 2015): 698–708, <https://doi.org/10.1007/s00261-015-0373-4>.
- <sup>77</sup> Giovanna Ferraioli, "Review of Liver Elastography Guidelines," *Journal of Ultrasound in Medicine: Official Journal of the American Institute of Ultrasound in Medicine* 38, no. 1 (January 2019): 9–14, <https://doi.org/10.1002/jum.14856>.
- <sup>78</sup> M. P. Federle and A. Blachar, "CT Evaluation of the Liver: Principles and Techniques," *Seminars in Liver Disease* 21, no. 2 (May 2001): 135–45, <https://doi.org/10.1055/s-2001-15341>.
- <sup>79</sup> Henrique Donato et al., "Liver MRI: From Basic Protocol to Advanced Techniques," *European Journal of Radiology* 93 (August 2017): 30–39, <https://doi.org/10.1016/j.ejrad.2017.05.028>.
- <sup>80</sup> "Diffuse Liver Disease | Radiology Key," accessed February 3, 2021, <https://radiologykey.com/diffuse-liver-disease-4/>.
- <sup>81</sup> Nyree Griffin, Geoff Charles-Edwards, and Lee Alexander Grant, "Magnetic Resonance Cholangiopancreatography: The ABC of MRCP," *Insights into Imaging* 3, no. 1 (September 28, 2011): 11–21, <https://doi.org/10.1007/s13244-011-0129-9>.
- <sup>82</sup> Piero Amodio and Sara Montagnese, "Clinical Neurophysiology of Hepatic Encephalopathy," *Journal of Clinical and Experimental Hepatology* 5, no. Suppl 1 (March 2015): S60–68, <https://doi.org/10.1016/j.jceh.2014.06.007>.
- <sup>83</sup> Deepak Amarapurkar and Anjali Amarapurkar, "Indications of Liver Biopsy in the Era of Noninvasive Assessment of Liver Fibrosis," *Journal of Clinical and Experimental Hepatology* 5, no. 4 (December 2015): 314–19, <https://doi.org/10.1016/j.jceh.2015.08.005>.
- <sup>84</sup> R. N. Pugh et al., "Transection of the Oesophagus for Bleeding Oesophageal Varices," *The British Journal of Surgery* 60, no. 8 (August 1973): 646–49, <https://doi.org/10.1002/bjs.1800600817>.
- <sup>85</sup> Patrick S. Kamath, W. Ray Kim, and Advanced Liver Disease Study Group, "The Model for End-Stage Liver Disease (MELD)," *Hepatology (Baltimore, Md.)* 45, no. 3 (March 2007): 797–805, <https://doi.org/10.1002/hep.21563>.
- <sup>86</sup> Florencia I. Aiello et al., "Model for End-Stage Liver Disease (MELD) Score and Liver Transplant: Benefits and Concerns," *AME Medical Journal* 2, no. 11 (November 18, 2017), <https://amj.amegroups.com/article/view/4162>.
- <sup>87</sup> Patrick G. Northup et al., "Hypercoagulation and Thrombophilia in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Mechanisms, Human Evidence, Therapeutic Implications, and Preventive Implications," *Seminars in Liver Disease* 32, no. 1 (February 2012): 39–48, <https://doi.org/10.1055/s-0032-1306425>.
- <sup>88</sup> Giovanni Targher and Christopher D. Byrne, "Diagnosis and Management of Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Its Hemostatic/Thrombotic and Vascular Complications," *Seminars in Thrombosis and Hemostasis* 39, no. 2 (March 2013): 214–28, <https://doi.org/10.1055/s-0033-1334866>.
- <sup>89</sup> Norbert Stefan, Hans-Ulrich Häring, and Kenneth Cusi, "Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Causes, Diagnosis, Cardiometabolic Consequences, and Treatment Strategies," *The Lancet Diabetes & Endocrinology* 7, no. 4 (April 1, 2019): 313–24, [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(18\)30154-2](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(18)30154-2).
- <sup>90</sup> Zobair M. Younossi et al., "Global Epidemiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease-Meta-Analytic Assessment of Prevalence, Incidence, and Outcomes," *Hepatology (Baltimore, Md.)* 64, no. 1 (2016): 73–84, <https://doi.org/10.1002/hep.28431>.
- <sup>91</sup> Jeffrey B. Schwimmer et al., "Prevalence of Fatty Liver in Children and Adolescents," *Pediatrics* 118, no. 4 (October 2006): 1388–93, <https://doi.org/10.1542/peds.2006-1212>.
- <sup>92</sup> G. Vernon, A. Baranova, and Z. M. Younossi, "Systematic Review: The Epidemiology and Natural History of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Non-Alcoholic Steatohepatitis in Adults," *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 34, no. 3 (August 2011): 274–85, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2011.04724.x>.

- <sup>93</sup> Zobair Younossi et al., "Global Perspectives on Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis," *Hepatology* 69, no. 6 (2019): 2672–82, <https://doi.org/10.1002/hep.30251>.
- <sup>94</sup> Etsuko Hashimoto, Makiko Taniai, and Katsutoshi Tokushige, "Characteristics and Diagnosis of NAFLD/NASH," *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 28 Suppl 4 (December 2013): 64–70, <https://doi.org/10.1111/jgh.12271>.
- <sup>95</sup> Mehmet Sayiner et al., "Epidemiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis in the United States and the Rest of the World," *Clinics in Liver Disease* 20, no. 2 (May 2016): 205–14, <https://doi.org/10.1016/j.cld.2015.10.001>.
- <sup>96</sup> Suzanne E. Mahady and Leon A. Adams, "Burden of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Australia," *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 33 Suppl 1 (June 2018): 1–11, <https://doi.org/10.1111/jgh.14270>.
- <sup>97</sup> Naga Chalasani et al., "The Diagnosis and Management of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Practice Guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases," *Hepatology* (Baltimore, Md.) 67, no. 1 (2018): 328–57, <https://doi.org/10.1002/hep.29367>.
- <sup>98</sup> Nimantha Mark Wilfred de Alwis and Christopher Paul Day, "Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: The Mist Gradually Clears," *Journal of Hepatology* 48 Suppl 1 (2008): S104–112, <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2008.01.009>.
- <sup>99</sup> Alberti K.G.M.M. et al., "Harmonizing the Metabolic Syndrome," *Circulation* 120, no. 16 (October 20, 2009): 1640–45, <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.109.192644>.
- <sup>100</sup> J. Ludwig et al., "Nonalcoholic Steatohepatitis: Mayo Clinic Experiences with a Hitherto Unnamed Disease," *Mayo Clinic Proceedings* 55, no. 7 (July 1980): 434–38.
- <sup>101</sup> Naga Chalasani et al., "The Diagnosis and Management of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Practice Guideline by the American Gastroenterological Association, American Association for the Study of Liver Diseases, and American College of Gastroenterology," *Gastroenterology* 142, no. 7 (June 2012): 1592–1609, <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2012.04.001>.
- <sup>102</sup> E. M. Brunt et al., "Nonalcoholic Steatohepatitis: A Proposal for Grading and Staging the Histological Lesions," *The American Journal of Gastroenterology* 94, no. 9 (September 1999): 2467–74, <https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.1999.01377.x>.
- <sup>103</sup> B. Palmentieri et al., "The Role of Bright Liver Echo Pattern on Ultrasound B-Mode Examination in the Diagnosis of Liver Steatosis," *Digestive and Liver Disease: Official Journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver* 38, no. 7 (July 2006): 485–89, <https://doi.org/10.1016/j.dld.2006.03.021>.
- <sup>104</sup> S H Saverymuttu, A E Joseph, and J D Maxwell, "Ultrasound Scanning in the Detection of Hepatic Fibrosis and Steatosis.," *British Medical Journal (Clinical Research Ed.)* 292, no. 6512 (January 4, 1986): 13–15.
- <sup>105</sup> Fernando Bril et al., "Clinical Value of Liver Ultrasound for the Diagnosis of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Overweight and Obese Patients," *Liver International: Official Journal of the International Association for the Study of the Liver* 35, no. 9 (September 2015): 2139–46, <https://doi.org/10.1111/liv.12840>.
- <sup>106</sup> Qian Li et al., "Current Status of Imaging in Nonalcoholic Fatty Liver Disease," *World Journal of Hepatology* 10, no. 8 (August 27, 2018): 530–42, <https://doi.org/10.4254/wjh.v10.i8.530>.
- <sup>107</sup> Seung Soo Lee et al., "Non-Invasive Assessment of Hepatic Steatosis: Prospective Comparison of the Accuracy of Imaging Examinations," *Journal of Hepatology* 52, no. 4 (April 2010): 579–85, <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2010.01.008>.
- <sup>108</sup> Thomas Karlas et al., "Individual Patient Data Meta-Analysis of Controlled Attenuation Parameter (CAP) Technology for Assessing Steatosis," *Journal of Hepatology* 66, no. 5 (May 2017): 1022–30, <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2016.12.022>.
- <sup>109</sup> Giorgio Bedogni et al., "The Fatty Liver Index: A Simple and Accurate Predictor of Hepatic Steatosis in the General Population," *BMC Gastroenterology* 6 (November 2, 2006): 33, <https://doi.org/10.1186/1471-230X-6-33>.
- <sup>110</sup> Thierry Poynard et al., "The Diagnostic Value of Biomarkers (SteatoTest) for the Prediction of Liver Steatosis," *Comparative Hepatology* 4 (December 23, 2005): 10, <https://doi.org/10.1186/1476-5926-4-10>.
- <sup>111</sup> Anna Kotronen et al., "Prediction of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Liver Fat Using Metabolic and Genetic Factors," *Gastroenterology* 137, no. 3 (September 2009): 865–72, <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.06.005>.
- <sup>112</sup> "EASL–EASD–EASO Clinical Practice Guidelines for the Management of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease," *Journal of Hepatology* 64, no. 6 (June 1, 2016): 1388–1402, <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2015.11.004>.

- <sup>113</sup> L. Fedchuk et al., "Performance and Limitations of Steatosis Biomarkers in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease," *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 40, no. 10 (2014): 1209–22, <https://doi.org/10.1111/apt.12963>.
- <sup>114</sup> Benjamin Wildman-Tobriner et al., "Association Between Magnetic Resonance Imaging-Proton Density Fat Fraction and Liver Histology Features in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease or Nonalcoholic Steatohepatitis," *Gastroenterology* 155, no. 5 (2018): 1428-1435.e2, <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2018.07.018>.
- <sup>115</sup> Siddharth Verma et al., "Predictive Value of ALT Levels for Non-Alcoholic Steatohepatitis (NASH) and Advanced Fibrosis in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD)," *Liver International: Official Journal of the International Association for the Study of the Liver* 33, no. 9 (October 2013): 1398–1405, <https://doi.org/10.1111/liv.12226>.
- <sup>116</sup> Kenneth Cusi et al., "Limited Value of Plasma Cytokeratin-18 as a Biomarker for NASH and Fibrosis in Patients with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease," *Journal of Hepatology* 60, no. 1 (January 2014): 167–74, <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2013.07.042>.
- <sup>117</sup> David E. Kleiner et al., "Design and Validation of a Histological Scoring System for Nonalcoholic Fatty Liver Disease," *Hepatology (Baltimore, Md.)* 41, no. 6 (June 2005): 1313–21, <https://doi.org/10.1002/hep.20701>.
- <sup>118</sup> Elliot B. Tapper and Anna S.-F. Lok, "Use of Liver Imaging and Biopsy in Clinical Practice," *The New England Journal of Medicine* 377, no. 8 (August 24, 2017): 756–68, <https://doi.org/10.1056/NEJMra1610570>.
- <sup>119</sup> Zobair M. Younossi et al., "Diagnostic Modalities for Nonalcoholic Fatty Liver Disease, Nonalcoholic Steatohepatitis, and Associated Fibrosis," *Hepatology (Baltimore, Md.)* 68, no. 1 (July 2018): 349–60, <https://doi.org/10.1002/hep.29721>.
- <sup>120</sup> Paul Angulo et al., "The NAFLD Fibrosis Score: A Noninvasive System That Identifies Liver Fibrosis in Patients with NAFLD," *Hepatology (Baltimore, Md.)* 45, no. 4 (April 2007): 846–54, <https://doi.org/10.1002/hep.21496>.
- <sup>121</sup> Amy G. Shah et al., "Comparison of Noninvasive Markers of Fibrosis in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease," *Clinical Gastroenterology and Hepatology: The Official Clinical Practice Journal of the American Gastroenterological Association* 7, no. 10 (October 2009): 1104–12, <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2009.05.033>.
- <sup>122</sup> William M. C. Rosenberg et al., "Serum Markers Detect the Presence of Liver Fibrosis: A Cohort Study," *Gastroenterology* 127, no. 6 (December 2004): 1704–13, <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2004.08.052>.
- <sup>123</sup> Robert P. Myers et al., "Controlled Attenuation Parameter (CAP): A Noninvasive Method for the Detection of Hepatic Steatosis Based on Transient Elastography," *Liver International: Official Journal of the International Association for the Study of the Liver* 32, no. 6 (July 2012): 902–10, <https://doi.org/10.1111/j.1478-3231.2012.02781.x>.
- <sup>124</sup> Thomas Karlas et al., "Individual Patient Data Meta-Analysis of Controlled Attenuation Parameter (CAP) Technology for Assessing Steatosis," *Journal of Hepatology* 66, no. 5 (May 2017): 1022–30, <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2016.12.022>.
- <sup>125</sup> Rajarshi Banerjee et al., "Multiparametric Magnetic Resonance for the Non-Invasive Diagnosis of Liver Disease," *Journal of Hepatology* 60, no. 1 (January 2014): 69–77, <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2013.09.002>.
- <sup>126</sup> Pierre Bedossa and Keyur Patel, "Biopsy and Noninvasive Methods to Assess Progression of Nonalcoholic Fatty Liver Disease," *Gastroenterology* 150, no. 8 (2016): 1811-1822.e4, <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2016.03.008>.
- <sup>127</sup> Margarita Papatheodoridi and Evangelos Cholongitas, "Diagnosis of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD): Current Concepts," *Current Pharmaceutical Design* 24, no. 38 (2018): 4574–86, <https://doi.org/10.2174/1381612825666190117102111>.
- <sup>128</sup> E. Bugianesi, C. Rosso, and H. Cortez-Pinto, "How to Diagnose NAFLD in 2016," *Journal of Hepatology* 65, no. 3 (September 2016): 643–44, <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2016.05.038>.
- <sup>129</sup> Vincent Wai-Sun Wong, "Current Prevention and Treatment Options for NAFLD," *Advances in Experimental Medicine and Biology* 1061 (2018): 149–57, [https://doi.org/10.1007/978-981-10-8684-7\\_12](https://doi.org/10.1007/978-981-10-8684-7_12).
- <sup>130</sup> Benjamin Rodriguez, Dawn M. Torres, and Stephen A. Harrison, "Physical Activity: An Essential Component of Lifestyle Modification in NAFLD," *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 9, no. 12 (December 2012): 726–31, <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2012.200>.
- <sup>131</sup> Leon A. Adams et al., "The Histological Course of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Longitudinal Study of 103 Patients with Sequential Liver Biopsies," *Journal of Hepatology* 42, no. 1 (January 2005): 132–38, <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2004.09.012>.
- <sup>132</sup> Arun J. Sanyal et al., "Challenges and Opportunities in Drug and Biomarker Development for Nonalcoholic Steatohepatitis: Findings and Recommendations from an American Association for the Study of Liver Diseases-

U.S. Food and Drug Administration Joint Workshop," *Hepatology* (Baltimore, Md.) 61, no. 4 (April 2015): 1392–1405, <https://doi.org/10.1002/hep.27678>.

<sup>133</sup> Luca Valenti et al., "A Randomized Trial of Iron Depletion in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Hyperferritinemia," *World Journal of Gastroenterology* 20, no. 11 (March 21, 2014): 3002–10, <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i11.3002>.

<sup>134</sup> Tea L Laursen et al., "Bariatric Surgery in Patients with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease - from Pathophysiology to Clinical Effects," *World Journal of Hepatology* 11, no. 2 (February 27, 2019): 138–49, <https://doi.org/10.4254/wjh.v11.i2.138>.

<sup>135</sup> Jeffrey I. Mechanick et al., "Clinical Practice Guidelines for the Perioperative Nutritional, Metabolic, and Nonsurgical Support of the Bariatric Surgery Patient—2013 Update: Cosponsored by American Association of Clinical Endocrinologists, The Obesity Society, and American Society for Metabolic & Bariatric Surgery," *Obesity* (Silver Spring, Md.) 21, no. 0 1 (March 2013): S1–27, <https://doi.org/10.1002/oby.20461>.

<sup>136</sup> Xiaofei Wang et al., "Outcomes of Liver Transplantation for Nonalcoholic Steatohepatitis: A Systematic Review and Meta-Analysis," *Clinical Gastroenterology and Hepatology: The Official Clinical Practice Journal of the American Gastroenterological Association* 12, no. 3 (March 2014): 394–402.e1, <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2013.09.023>.

<sup>137</sup> Matthias Heuer et al., "Liver Transplantation in Nonalcoholic Steatohepatitis Is Associated with High Mortality and Post-Transplant Complications: A Single-Center Experience," *Digestion* 86, no. 2 (2012): 107–13, <https://doi.org/10.1159/000339344>.

<sup>138</sup> Andrew J. Gale, "Current Understanding of Hemostasis," *Toxicologic Pathology* 39, no. 1 (2011): 273–80, <https://doi.org/10.1177/0192623310389474>.

<sup>139</sup> James P. Riddell et al., "Theories of Blood Coagulation," *Journal of Pediatric Oncology Nursing: Official Journal of the Association of Pediatric Oncology Nurses* 24, no. 3 (June 2007): 123–31, <https://doi.org/10.1177/1043454206298693>.

<sup>140</sup> Owen CA Jr, "Historical Account of Tests of Hemostasis.," *American Journal of Clinical Pathology* 93, no. 4 Suppl 1 (April 1, 1990): S3–8.

<sup>141</sup> Jonathan Stone et al., "Deep Vein Thrombosis: Pathogenesis, Diagnosis, and Medical Management," *Cardiovascular Diagnosis and Therapy* 7, no. Suppl 3 (December 2017): S276–84, <https://doi.org/10.21037/cdt.2017.09.01>.

<sup>142</sup> Isabel Drake et al., "A Western Dietary Pattern Is Prospectively Associated with Cardio-Metabolic Traits and Incidence of the Metabolic Syndrome," *The British Journal of Nutrition* 119, no. 10 (May 2018): 1168–76, <https://doi.org/10.1017/S000711451800079X>.

<sup>143</sup> Carine Michiels, "Endothelial Cell Functions," *Journal of Cellular Physiology* 196, no. 3 (2003): 430–43, <https://doi.org/10.1002/jcp.10333>.

<sup>144</sup> Jonathan W. Yau, Hwee Teoh, and Subodh Verma, "Endothelial Cell Control of Thrombosis," *BMC Cardiovascular Disorders* 15 (October 19, 2015), <https://doi.org/10.1186/s12872-015-0124-z>.

<sup>145</sup> K. J. Clemetson, "Primary Haemostasis: Sticky Fingers Cement the Relationship," *Current Biology: CB* 9, no. 3 (February 11, 1999): R110–112, [https://doi.org/10.1016/s0960-9822\(99\)80063-3](https://doi.org/10.1016/s0960-9822(99)80063-3).

<sup>146</sup> B. Nieswandt et al., "Glycoprotein VI but Not Alpha2beta1 Integrin Is Essential for Platelet Interaction with Collagen," *The EMBO Journal* 20, no. 9 (May 1, 2001): 2120–30, <https://doi.org/10.1093/emboj/20.9.2120>.

<sup>147</sup> Zaverio M. Ruggeri and G. Loredana Mendolicchio, "Adhesion Mechanisms in Platelet Function," *Circulation Research* 100, no. 12 (June 22, 2007): 1673–85, <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000267878.97021.ab>.

<sup>148</sup> Tadayuki Yago et al., "Platelet Glycoprotein Ibalph Forms Catch Bonds with Human WT VWF but Not with Type 2B von Willebrand Disease VWF," *The Journal of Clinical Investigation* 118, no. 9 (September 2008): 3195–3207, <https://doi.org/10.1172/JCI35754>.

<sup>149</sup> Bing-Hao Luo and Timothy A. Springer, "Integrin Structures and Conformational Signaling," *Current Opinion in Cell Biology* 18, no. 5 (October 2006): 579–86, <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2006.08.005>.

<sup>150</sup> David Varga-Szabo, Irina Pleines, and Bernhard Nieswandt, "Cell Adhesion Mechanisms in Platelets," *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 28, no. 3 (March 2008): 403–12, <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.107.150474>.

<sup>151</sup> J. Emsley et al., "Structural Basis of Collagen Recognition by Integrin Alpha2beta1," *Cell* 101, no. 1 (March 31, 2000): 47–56, [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80622-4](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80622-4).

<sup>152</sup> Primoz Rozman, Danijela Semenič, and Dragica Smrke, "The Role of Platelet Gel in Regenerative Medicine," 2011, <https://doi.org/10.5772/26130>.

<sup>153</sup> D. C. Mills, "ADP Receptors on Platelets," *Thrombosis and Haemostasis* 76, no. 6 (December 1996): 835–56.

- <sup>154</sup> K. Hanasaki and H. Arita, "Characterization of Thromboxane A<sub>2</sub>/Prostaglandin H<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>/PGH<sub>2</sub>) Receptors of Rat Platelets and Their Interaction with TXA<sub>2</sub>/PGH<sub>2</sub> Receptor Antagonists," *Biochemical Pharmacology* 37, no. 20 (October 15, 1988): 3923–29, [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(88\)90075-5](https://doi.org/10.1016/0006-2952(88)90075-5).
- <sup>155</sup> M. L. Kahn et al., "A Dual Thrombin Receptor System for Platelet Activation," *Nature* 394, no. 6694 (August 13, 1998): 690–94, <https://doi.org/10.1038/29325>.
- <sup>156</sup> M. Hoffman and D. M. Monroe, "A Cell-Based Model of Hemostasis," *Thrombosis and Haemostasis* 85, no. 6 (June 2001): 958–65.
- <sup>157</sup> Kenneth G. Mann et al., "Models of Blood Coagulation," *Blood Cells, Molecules & Diseases* 36, no. 2 (April 2006): 108–17, <https://doi.org/10.1016/j.bcmed.2005.12.034>.
- <sup>158</sup> R. G. Macfarlane, "An Enzyme Cascade in the Blood Clotting Mechanism, and Its Function as a Biochemical Amplifier," *Nature* 202, no. 4931 (May 1964): 498–99, <https://doi.org/10.1038/202498a0>.
- <sup>159</sup> Henri H. Versteeg et al., "New Fundamentals in Hemostasis," *Physiological Reviews* 93, no. 1 (January 2013): 327–58, <https://doi.org/10.1152/physrev.00016.2011>.
- <sup>160</sup> B. Lämmle et al., "Thromboembolism and Bleeding Tendency in Congenital Factor XII Deficiency--a Study on 74 Subjects from 14 Swiss Families," *Thrombosis and Haemostasis* 65, no. 2 (February 12, 1991): 117–21.
- <sup>161</sup> John C. Chapin and Katherine A. Hajjar, "Fibrinolysis and the Control of Blood Coagulation," *Blood Reviews* 29, no. 1 (January 2015): 17–24, <https://doi.org/10.1016/j.blre.2014.09.003>.
- <sup>162</sup> Ying Wu et al., "What Makes D-Dimer Assays Suspicious--Heterophilic Antibodies?," *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 33, no. 2 (2019): e22687, <https://doi.org/10.1002/jcla.22687>.
- <sup>163</sup> Steven P. Grover and Nigel Mackman, "Tissue Factor: An Essential Mediator of Hemostasis and Trigger of Thrombosis," *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 38, no. 4 (2018): 709–25, <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.117.309846>.
- <sup>164</sup> B. Dahlbäck, "Blood Coagulation," *Lancet (London, England)* 355, no. 9215 (May 6, 2000): 1627–32, [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(00\)02225-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(00)02225-X).
- <sup>165</sup> Johan W. M. Heemskerk, Edouard M. Bevers, and Theo Lindhout, "Platelet Activation and Blood Coagulation," *Thrombosis and Haemostasis* 88, no. 2 (August 2002): 186–93.
- <sup>166</sup> Edouard M. Bevers and Paul Comfurius, "The Nature of the Binding Site for Prothrombinase at the Platelet Surface as Revealed by Lipolytic Enzymes," *European Journal of Biochemistry* 122, no. 1 (1982): 81–85, <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1982.tb05850.x>.
- <sup>167</sup> Maureane Hoffman, "Remodeling the Blood Coagulation Cascade," *Journal of Thrombosis and Thrombolysis* 16, no. 1–2 (October 2003): 17–20, <https://doi.org/10.1023/B:THRO.0000014588.95061.28>.
- <sup>168</sup> C. T. Esmon and W. G. Owen, "Identification of an Endothelial Cell Cofactor for Thrombin-Catalyzed Activation of Protein C," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 78, no. 4 (April 1981): 2249–52, <https://doi.org/10.1073/pnas.78.4.2249>.
- <sup>169</sup> Dahlbäck, "Blood Coagulation."
- <sup>170</sup> J. C. Rau et al., "Serpins in Thrombosis, Hemostasis and Fibrinolysis," *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH* 5 Suppl 1 (July 2007): 102–15, <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2007.02516.x>.
- <sup>171</sup> Noelene S. Quinsey et al., "Antithrombin: In Control of Coagulation," *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 36, no. 3 (March 2004): 386–89, [https://doi.org/10.1016/s1357-2725\(03\)00244-9](https://doi.org/10.1016/s1357-2725(03)00244-9).
- <sup>172</sup> G. J. Broze et al., "The Lipoprotein-Associated Coagulation Inhibitor That Inhibits the Factor VII-Tissue Factor Complex Also Inhibits Factor Xa: Insight into Its Possible Mechanism of Action," *Blood* 71, no. 2 (February 1988): 335–43.
- <sup>173</sup> K. James, F. B. Taylor, and H. H. Fudenberg, "The Effect of Alpha-2-Macroglobulin in Human Serum on Trypsin, Plasmin, and Thrombin Activities," *Biochimica Et Biophysica Acta* 133, no. 2 (February 21, 1967): 374–76, [https://doi.org/10.1016/0005-2795\(67\)90080-3](https://doi.org/10.1016/0005-2795(67)90080-3).
- <sup>174</sup> Dale C. Baker and Jacqueline Brassard, "Review of Continuing Education Course on Hemostasis," *Toxicologic Pathology* 39, no. 1 (January 2011): 281–88, <https://doi.org/10.1177/0192623310389476>.
- <sup>175</sup> G. Bu, I. Warshawsky, and A. L. Schwartz, "Cellular Receptors for the Plasminogen Activators," *Blood* 83, no. 12 (June 15, 1994): 3427–36.
- <sup>176</sup> Gabriela Cesarman-Maus and Katherine A. Hajjar, "Molecular Mechanisms of Fibrinolysis," *British Journal of Haematology* 129, no. 3 (May 2005): 307–21, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2005.05444.x>.
- <sup>177</sup> J. Travis and G. S. Salvesen, "Human Plasma Proteinase Inhibitors," *Annual Review of Biochemistry* 52 (1983): 655–709, <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.52.070183.003255>.
- <sup>178</sup> E. D. Sprengers and C. Kluft, "Plasminogen Activator Inhibitors," *Blood* 69, no. 2 (February 1987): 381–87.
- <sup>179</sup> Matteo Cesari, Marco Pahor, and Raffaele Antonelli Incalzi, "PLASMINOGEN ACTIVATOR INHIBITOR-1 (PAI-1): A KEY FACTOR LINKING FIBRINOLYSIS AND AGE-RELATED SUBCLINICAL AND CLINICAL CONDITIONS,"



---

Cardiovascular Therapeutics 28, no. 5 (October 2010): e72–91, <https://doi.org/10.1111/j.1755-5922.2010.00171.x>.

<sup>180</sup> Yoshimasa Aso, “Plasminogen Activator Inhibitor (PAI)-1 in Vascular Inflammation and Thrombosis,” *Frontiers in Bioscience: A Journal and Virtual Library* 12 (May 1, 2007): 2957–66, <https://doi.org/10.2741/2285>.

<sup>181</sup> P. Rossignol et al., “Plasminogen Activation: A Mediator of Vascular Smooth Muscle Cell Apoptosis in Atherosclerotic Plaques,” *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH* 4, no. 3 (March 2006): 664–70, <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2005.01765.x>.

<sup>182</sup> D. J. Loskutoff and F. Samad, “The Adipocyte and Hemostatic Balance in Obesity: Studies of PAI-1,” *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 18, no. 1 (January 1998): 1–6, <https://doi.org/10.1161/01.atv.18.1.1>.

<sup>183</sup> P. L. Lutsey et al., “Plasma Hemostatic Factors and Endothelial Markers in Four Racial/Ethnic Groups: The MESA Study,” *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH* 4, no. 12 (December 2006): 2629–35, <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2006.02237.x>.

<sup>184</sup> H. P. Kohler and P. J. Grant, “Plasminogen-Activator Inhibitor Type 1 and Coronary Artery Disease,” *The New England Journal of Medicine* 342, no. 24 (June 15, 2000): 1792–1801, <https://doi.org/10.1056/NEJM200006153422406>.

<sup>185</sup> J. P. Bastard, L. Piéroni, and B. Hainque, “Relationship between Plasma Plasminogen Activator Inhibitor 1 and Insulin Resistance,” *Diabetes/Metabolism Research and Reviews* 16, no. 3 (June 2000): 192–201, [https://doi.org/10.1002/1520-7560\(200005/06\)16:3<192::aid-dmrr114>3.0.co;2-g](https://doi.org/10.1002/1520-7560(200005/06)16:3<192::aid-dmrr114>3.0.co;2-g).

<sup>186</sup> K. Landin et al., “Abdominal Obesity Is Associated with an Impaired Fibrinolytic Activity and Elevated Plasminogen Activator Inhibitor-1,” *Metabolism: Clinical and Experimental* 39, no. 10 (October 1990): 1044–48, [https://doi.org/10.1016/0026-0495\(90\)90164-8](https://doi.org/10.1016/0026-0495(90)90164-8).

<sup>187</sup> A. Festa et al., “Low-Density Lipoprotein Particle Size Is Inversely Related to Plasminogen Activator Inhibitor-1 Levels. The Insulin Resistance Atherosclerosis Study,” *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 19, no. 3 (March 1999): 605–10, <https://doi.org/10.1161/01.atv.19.3.605>.

<sup>188</sup> Daniela Mari, Raffaella Coppola, and Rita Provenzano, “Hemostasis Factors and Aging,” *Experimental Gerontology* 43, no. 2 (February 2008): 66–73, <https://doi.org/10.1016/j.exger.2007.06.014>.

<sup>189</sup> Koji Yamamoto et al., “Plasminogen Activator Inhibitor-1 Is a Major Stress-Regulated Gene: Implications for Stress-Induced Thrombosis in Aged Individuals,” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99, no. 2 (January 22, 2002): 890–95, <https://doi.org/10.1073/pnas.022608799>.

<sup>190</sup> Mark Schneider and Michael Nesheim, “A Study of the Protection of Plasmin from Antiplasmin Inhibition within an Intact Fibrin Clot during the Course of Clot Lysis,” *The Journal of Biological Chemistry* 279, no. 14 (April 2, 2004): 13333–39, <https://doi.org/10.1074/jbc.M313164200>.

<sup>191</sup> L. Bajzar, “Thrombin Activatable Fibrinolysis Inhibitor and an Antifibrinolytic Pathway,” *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 20, no. 12 (December 2000): 2511–18, <https://doi.org/10.1161/01.atv.20.12.2511>.

<sup>192</sup> J. Stenflo et al., “Vitamin K Dependent Modifications of Glutamic Acid Residues in Prothrombin,” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 71, no. 7 (July 1974): 2730–33, <https://doi.org/10.1073/pnas.71.7.2730>.

<sup>193</sup> Ton Lisman and Robert J. Porte, “Rebalanced Hemostasis in Patients with Liver Disease: Evidence and Clinical Consequences,” *Blood* 116, no. 6 (August 12, 2010): 878–85, <https://doi.org/10.1182/blood-2010-02-261891>.

<sup>194</sup> Bruce Furie, Beth A. Bouchard, and Barbara C. Furie, “Vitamin K-Dependent Biosynthesis of  $\gamma$ -Carboxyglutamic Acid,” *Blood* 93, no. 6 (March 15, 1999): 1798–1808, [https://doi.org/10.1182/blood.V93.6.1798.406k22\\_1798\\_1808](https://doi.org/10.1182/blood.V93.6.1798.406k22_1798_1808).

<sup>195</sup> W. J. Chng, C. Sum, and P. Kuperan, “Causes of Isolated Prolonged Activated Partial Thromboplastin Time in an Acute Care General Hospital,” *Singapore Medical Journal* 46, no. 9 (September 2005): 450–56.

<sup>196</sup> Fanny Bonhomme and Pierre Fontana, “Laboratory Testing of Hemostasis,” in *Perioperative Hemostasis: Coagulation for Anesthesiologists*, ed. Carlo Enrique Marcucci and Patrick Schoettker (Berlin, Heidelberg: Springer, 2015), 13–24, [https://doi.org/10.1007/978-3-642-55004-1\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-642-55004-1_2).

<sup>197</sup> T. C. Abshire et al., “The Prolonged Thrombin Time of Nephrotic Syndrome,” *Journal of Pediatric Hematology/Oncology* 17, no. 2 (May 1995): 156–62, <https://doi.org/10.1097/00043426-199505000-00010>.

<sup>198</sup> Liqun Xiang et al., “Combined Use of Clauss and Prothrombin Time-Derived Methods for Determining Fibrinogen Concentrations: Screening for Congenital Dysfibrinogenemia,” *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 32, no. 4 (May 2018): e22322, <https://doi.org/10.1002/jcla.22322>.

- <sup>199</sup> A. H. Henschen, "Human Fibrinogen--Structural Variants and Functional Sites," *Thrombosis and Haemostasis* 70, no. 1 (July 1, 1993): 42–47.
- <sup>200</sup> P. S. Wells et al., "Excluding Pulmonary Embolism at the Bedside without Diagnostic Imaging: Management of Patients with Suspected Pulmonary Embolism Presenting to the Emergency Department by Using a Simple Clinical Model and d-Dimer," *Annals of Internal Medicine* 135, no. 2 (July 17, 2001): 98–107, <https://doi.org/10.7326/0003-4819-135-2-200107170-00010>.
- <sup>201</sup> Rim Halaby et al., "D-Dimer Elevation and Adverse Outcomes," *Journal of Thrombosis and Thrombolysis* 39, no. 1 (January 1, 2015): 55–59, <https://doi.org/10.1007/s11239-014-1101-6>.
- <sup>202</sup> K. G. Mann et al., "Does the Genotype Predict the Phenotype? Evaluations of the Hemostatic Proteome," *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2, no. 10 (2004): 1727–34, <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2004.00958.x>.
- <sup>203</sup> Ian Janssen, Peter T. Katzmarzyk, and Robert Ross, "Body Mass Index, Waist Circumference, and Health Risk: Evidence in Support of Current National Institutes of Health Guidelines," *Archives of Internal Medicine* 162, no. 18 (October 14, 2002): 2074–79, <https://doi.org/10.1001/archinte.162.18.2074>.
- <sup>204</sup> László Muszbek et al., "Factor XIII: A Coagulation Factor With Multiple Plasmatic and Cellular Functions," *Physiological Reviews* 91, no. 3 (July 1, 2011): 931–72, <https://doi.org/10.1152/physrev.00016.2010>.
- <sup>205</sup> "Factor XIII Assays," accessed February 27, 2021, [https://practical-haemostasis.com/Factor%20Assays/factor\\_XIII\\_assays.html](https://practical-haemostasis.com/Factor%20Assays/factor_XIII_assays.html).
- <sup>206</sup> Kai Oertel et al., "A Highly Sensitive Fluorometric Assay for Determination of Human Coagulation Factor XIII in Plasma," *Analytical Biochemistry* 367, no. 2 (August 15, 2007): 152–58, <https://doi.org/10.1016/j.ab.2007.05.011>.
- <sup>207</sup> Kiyotaka Hitomi et al., "A Specific Colorimetric Assay for Measuring Transglutaminase 1 and Factor XIII Activities," *Analytical Biochemistry* 394, no. 2 (November 15, 2009): 281–83, <https://doi.org/10.1016/j.ab.2009.07.039>.
- <sup>208</sup> Zsuzsanna Bereczky and László Muszbek, "Factor XIII and Venous Thromboembolism," *Seminars in Thrombosis and Hemostasis* 37 (April 1, 2011): 305–14, <https://doi.org/10.1055/s-0031-1273094>.
- <sup>209</sup> S. R. Jackson and J. M. Carter, "Platelet Volume: Laboratory Measurement and Clinical Application," *Blood Reviews* 7, no. 2 (June 1993): 104–13, [https://doi.org/10.1016/s0268-960x\(05\)80020-7](https://doi.org/10.1016/s0268-960x(05)80020-7).
- <sup>210</sup> A. T. Nurden, "Qualitative Disorders of Platelets and Megakaryocytes," *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 3, no. 8 (2005): 1773–82, <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2005.01428.x>.
- <sup>211</sup> P. Peterson et al., "The Preoperative Bleeding Time Test Lacks Clinical Benefit: College of American Pathologists' and American Society of Clinical Pathologists' Position Article," *Archives of Surgery (Chicago, Ill.: 1960)* 133, no. 2 (February 1998): 134–39, <https://doi.org/10.1001/archsurg.133.2.134>.
- <sup>212</sup> Paul Harrison, "The Role of PFA-100 Testing in the Investigation and Management of Haemostatic Defects in Children and Adults," *British Journal of Haematology* 130, no. 1 (July 2005): 3–10, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2005.05511.x>.
- <sup>213</sup> Ben Nemery et al., "HEALTH EFFECTS OF PARTICULATE MATTER IN RELATION TO PHYSICAL-CHEMICAL CHARACTERISTICS AND METEOROLOGY 'PARHEALTH,'" March 5, 2021.
- <sup>214</sup> A. T. Nurden, "Qualitative Disorders of Platelets and Megakaryocytes," *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 3, no. 8 (2005): 1773–82, <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2005.01428.x>.
- <sup>215</sup> M. Cattaneo et al., "Results of a Worldwide Survey on the Assessment of Platelet Function by Light Transmission Aggregometry: A Report from the Platelet Physiology Subcommittee of the SSC of the ISTH," *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH* 7, no. 6 (June 2009): 1029, <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2009.03458.x>.
- <sup>216</sup> Morten Würtz et al., "Rapid Evaluation of Platelet Function Using the Multiplate® Analyzer," *Platelets* 25, no. 8 (2014): 628–33, <https://doi.org/10.3109/09537104.2013.849804>.
- <sup>217</sup> Paul Harrison et al., "Guidelines for the Laboratory Investigation of Heritable Disorders of Platelet Function," *British Journal of Haematology* 155, no. 1 (October 2011): 30–44, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2011.08793.x>.
- <sup>218</sup> J. Borawski and M. Myśliwiec, "Plasma Fibrinogen Level Is an Important Determinant of Prolonged Euglobulin Clot Lysis Time in Hemodialysis Patients," *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis: Official Journal of the International Academy of Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis* 7, no. 4 (October 2001): 296–99, <https://doi.org/10.1177/107602960100700408>.
- <sup>219</sup> S. L. Carpenter and P. Mathew, "Alpha2-Antiplasmin and Its Deficiency: Fibrinolysis out of Balance," *Haemophilia: The Official Journal of the World Federation of Hemophilia* 14, no. 6 (November 2008): 1250–54, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2516.2008.01766.x>.

- <sup>220</sup> D. Schott et al., "Therapy with a Purified Plasminogen Concentrate in an Infant with Ligneous Conjunctivitis and Homozygous Plasminogen Deficiency," *The New England Journal of Medicine* 339, no. 23 (December 3, 1998): 1679–86, <https://doi.org/10.1056/NEJM199812033392305>.
- <sup>221</sup> B. Wiman, "Plasminogen Activator Inhibitor 1 (PAI-1) in Plasma: Its Role in Thrombotic Disease," *Thrombosis and Haemostasis* 74, no. 1 (July 1995): 71–76.
- <sup>222</sup> C. Longstaff and K. Kolev, "Basic Mechanisms and Regulation of Fibrinolysis," *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH* 13 Suppl 1 (June 2015): S98-105, <https://doi.org/10.1111/jth.12935>.
- <sup>223</sup> D. C. Rijken and H. R. Lijnen, "New Insights into the Molecular Mechanisms of the Fibrinolytic System," *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH* 7, no. 1 (January 2009): 4–13, <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2008.03220.x>.
- <sup>224</sup> Mirjam E. Meltzer et al., "Venous Thrombosis Risk Associated with Plasma Hypofibrinolysis Is Explained by Elevated Plasma Levels of TAFI and PAI-1," *Blood* 116, no. 1 (July 8, 2010): 113–21, <https://doi.org/10.1182/blood-2010-02-267740>.
- <sup>225</sup> Predrag Miljčić et al., "Thrombin Activatable Fibrinolysis Inhibitor (TAFI): A Molecular Link between Coagulation and Fibrinolysis," *Srpski Arhiv Za Celokupno Lekarstvo* 138 Suppl 1 (January 2010): 74–78, <https://doi.org/10.2298/sarh10s1074m>.
- <sup>226</sup> Niaz Mahmood, Catalin Mihalciou, and Shafaat A. Rabbani, "Multifaceted Role of the Urokinase-Type Plasminogen Activator (UPA) and Its Receptor (UPAR): Diagnostic, Prognostic, and Therapeutic Applications," *Frontiers in Oncology* 8 (2018): 24, <https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00024>.
- <sup>227</sup> H. Ge, "UPA, a Universal Protein Array System for Quantitative Detection of Protein-Protein, Protein-DNA, Protein-RNA and Protein-Ligand Interactions," *Nucleic Acids Research* 28, no. 2 (January 15, 2000): e3, <https://doi.org/10.1093/nar/28.2.e3>.
- <sup>228</sup> K. A. Lacroix et al., "A Study of the Fibrinolytic Response in Healthy Men and Women Following a Brief Exposure to Venous Occlusion," *Thrombosis Research* 81, no. 1 (January 1, 1996): 133–43, [https://doi.org/10.1016/0049-3848\(95\)00221-9](https://doi.org/10.1016/0049-3848(95)00221-9).
- <sup>229</sup> Jean Amiral, Maxime Laroche, and Jerard Seghatchian, "A New Assay for Global Fibrinolysis Capacity (GFC): Investigating a Critical System Regulating Hemostasis and Thrombosis and Other Extravascular Functions," *Transfusion and Apheresis Science: Official Journal of the World Apheresis Association: Official Journal of the European Society for Haemapheresis* 57, no. 1 (February 2018): 118–26, <https://doi.org/10.1016/j.transci.2018.02.020>.
- <sup>230</sup> Kate Downes et al., "Diagnostic High-Throughput Sequencing of 2396 Patients with Bleeding, Thrombotic, and Platelet Disorders," *Blood* 134, no. 23 (December 5, 2019): 2082–91, <https://doi.org/10.1182/blood.2018891192>.
- <sup>231</sup> Fuat H. Saner and Carmen Kirchner, "Monitoring and Treatment of Coagulation Disorders in End-Stage Liver Disease," *Visceral Medicine* 32, no. 4 (2016): 241–48, <https://doi.org/10.1159/000446304>.
- <sup>232</sup> Armando Tripodi, "Thrombin Generation Assay and Its Application in the Clinical Laboratory," *Clinical Chemistry* 62, no. 5 (2016): 699–707, <https://doi.org/10.1373/clinchem.2015.248625>.
- <sup>233</sup> "Thrombin Generation Assays," accessed March 6, 2021, [https://www.practical-haemostasis.com/Miscellaneous/Global%20Assays/etp\\_assays.html](https://www.practical-haemostasis.com/Miscellaneous/Global%20Assays/etp_assays.html).
- <sup>234</sup> Marcus D. Lancé, "A General Review of Major Global Coagulation Assays: Thrombelastography, Thrombin Generation Test and Clot Waveform Analysis," *Thrombosis Journal* 13 (2015), <https://doi.org/10.1186/1477-9560-13-1>.
- <sup>235</sup> Kareem Abdelfattah and Michael W. Cripps, "Thromboelastography and Rotational Thromboelastometry Use in Trauma," *International Journal of Surgery, Trauma: Current Practice and Cutting Edge Technology*, 33 (September 1, 2016): 196–201, <https://doi.org/10.1016/j.ijssu.2015.09.036>.
- <sup>236</sup> Maha Othman and Harmanpreet Kaur, "Thromboelastography (TEG)," *Methods in Molecular Biology* (Clifton, N.J.) 1646 (2017): 533–43, [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7196-1\\_39](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7196-1_39).
- <sup>237</sup> R. J. Luddington, "Thrombelastography/Thromboelastometry," *Clinical and Laboratory Haematology* 27, no. 2 (April 2005): 81–90, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2257.2005.00681.x>.
- <sup>238</sup> Zamper Rpc et al., "The Role of Thromboelastometry in the Assessment and Treatment of Coagulopathy in Liver Transplant Patients.," *Einstein (Sao Paulo, Brazil)* 15, no. 2 (April 20, 2017): 243–46, <https://doi.org/10.1590/s1679-45082017md3903>.
- <sup>239</sup> M. Chitlur et al., "Standardization of Thromboelastography: A Report from the TEG-ROTEM Working Group," *Haemophilia: The Official Journal of the World Federation of Hemophilia* 17, no. 3 (May 2011): 532–37, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2516.2010.02451.x>.

- <sup>240</sup> Keiji Nogami, "The Utility of Thromboelastography in Inherited and Acquired Bleeding Disorders," *British Journal of Haematology* 174, no. 4 (2016): 503–14, <https://doi.org/10.1111/bjh.14148>.
- <sup>241</sup> M. Franchini et al., "The Use of Viscoelastic Haemostatic Assays in Non-Cardiac Surgical Settings: A Systematic Review and Meta-Analysis," *Blood Transfusion = Trasfusione Del Sangue* 16, no. 3 (May 2018): 235–43, <https://doi.org/10.2450/2018.0003-18>.
- <sup>242</sup> Helen H. Wang et al., "Novel Insights into the Pathogenesis and Management of the Metabolic Syndrome," *Pediatric Gastroenterology, Hepatology & Nutrition* 23, no. 3 (May 2020): 189–230, <https://doi.org/10.5223/pghn.2020.23.3.189>.
- <sup>243</sup> Isabel Drake et al., "A Western Dietary Pattern Is Prospectively Associated with Cardio-Metabolic Traits and Incidence of the Metabolic Syndrome," *The British Journal of Nutrition* 119, no. 10 (May 2018): 1168–76, <https://doi.org/10.1017/S000711451800079X>.
- <sup>244</sup> Argo and Caldwell, "Epidemiology and Natural History of Non-Alcoholic Steatohepatitis."
- <sup>245</sup> Marie-Christine Alessi and Irène Juhan-Vague, "Metabolic Syndrome, Haemostasis and Thrombosis," *Thrombosis and Haemostasis* 99, no. 6 (June 2008): 995–1000, <https://doi.org/10.1160/TH07-11-0682>.
- <sup>246</sup> Alessi Marie-Christine and Juhan-Vague Irène, "PAI-1 and the Metabolic Syndrome," *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 26, no. 10 (October 1, 2006): 2200–2207, <https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000242905.41404.68>.
- <sup>247</sup> Christopher J. Lyon, Ronald E. Law, and Willa A. Hsueh, "Minireview: Adiposity, Inflammation, and Atherogenesis," *Endocrinology* 144, no. 6 (June 2003): 2195–2200, <https://doi.org/10.1210/en.2003-0285>.
- <sup>248</sup> Massimo Franchini et al., "The Metabolic Syndrome and the Risk of Arterial and Venous Thrombosis," *Thrombosis Research* 122, no. 6 (2008): 727–35, <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2007.09.010>.
- <sup>249</sup> Gopanandan Parthasarathy, Xavier Revelo, and Harmeet Malhi, "Pathogenesis of Nonalcoholic Steatohepatitis: An Overview," *Hepatology Communications* 4, no. 4 (2020): 478–92, <https://doi.org/10.1002/hep4.1479>.
- <sup>250</sup> Massimo Franchini, Dino Veneri, and Giuseppe Lippi, "Inflammation and Hemostasis: A Bidirectional Interaction," *Clinical Laboratory* 53, no. 1–2 (2007): 63–67.
- <sup>251</sup> Sandra Margetic, "Inflammation and Hemostasis," *Biochemia Medica* 22, no. 1 (February 15, 2012): 49–62, <https://doi.org/10.11613/BM.2012.006>.
- <sup>252</sup> Jonathan H. Foley and Edward M. Conway, "Cross Talk Pathways Between Coagulation and Inflammation," *Circulation Research* 118, no. 9 (April 29, 2016): 1392–1408, <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.306853>.
- <sup>253</sup> Jonathan G. Stine et al., "Nonalcoholic Fatty Liver Disease, Portal Vein Thrombosis and Coagulation: More Questions Than Answers?," *Transplantation* 101, no. 8 (2017): e281–82, <https://doi.org/10.1097/TP.0000000000001807>.
- <sup>254</sup> Giovanni Targher et al., "Nonalcoholic Fatty Liver Disease as a Contributor to Hypercoagulation and Thrombophilia in the Metabolic Syndrome," *Seminars in Thrombosis and Hemostasis* 35, no. 3 (April 2009): 277–87, <https://doi.org/10.1055/s-0029-1222606>.
- <sup>255</sup> P. G. Northup et al., "Hypercoagulation and Thrombophilia in Liver Disease," *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH* 6, no. 1 (January 2008): 2–9, <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2007.02772.x>.
- <sup>256</sup> Arun J. Sanyal et al., "Similarities and Differences in Outcomes of Cirrhosis Due to Nonalcoholic Steatohepatitis and Hepatitis C," *Hepatology (Baltimore, Md.)* 43, no. 4 (April 2006): 682–89, <https://doi.org/10.1002/hep.21103>.
- <sup>257</sup> Sarah Bos et al., "Haemostatic Profiles Are Similar across All Aetiologies of Cirrhosis," *Thrombosis and Haemostasis* 119, no. 2 (February 2019): 246–53, <https://doi.org/10.1055/s-0038-1676954>.
- <sup>258</sup> Armando Tripodi et al., "Procoagulant Imbalance in Patients with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease," *Journal of Hepatology* 61, no. 1 (July 2014): 148–54, <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2014.03.013>.
- <sup>259</sup> Wilma Potze, M. Shadab Siddiqui, and Arun J. Sanyal, "Vascular Disease in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease," *Seminars in Thrombosis and Hemostasis* 41, no. 05 (July 2015): 488–93, <https://doi.org/10.1055/s-0035-1550433>.
- <sup>260</sup> Wilma Potze et al., "Preserved Hemostatic Status in Patients with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease," *Journal of Hepatology* 65, no. 5 (2016): 980–87, <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2016.06.001>.
- <sup>261</sup> Susanna Lallukka et al., "Obesity/Insulin Resistance Rather than Liver Fat Increases Coagulation Factor Activities and Expression in Humans," *Thrombosis and Haemostasis* 117, no. 02 (2017): 286–94, <https://doi.org/10.1160/TH16-09-0716>.

- <sup>262</sup> Ian Janssen, Peter T. Katzmarzyk, and Robert Ross, "Body Mass Index, Waist Circumference, and Health Risk: Evidence in Support of Current National Institutes of Health Guidelines," *Archives of Internal Medicine* 162, no. 18 (October 14, 2002): 2074–79, <https://doi.org/10.1001/archinte.162.18.2074>.
- <sup>263</sup> Robert Ross et al., "Waist Circumference as a Vital Sign in Clinical Practice: A Consensus Statement from the IAS and ICCR Working Group on Visceral Obesity," *Nature Reviews Endocrinology* 16, no. 3 (March 2020): 177–89, <https://doi.org/10.1038/s41574-019-0310-7>.
- <sup>264</sup> Katrina L. Piercy et al., "The Physical Activity Guidelines for Americans," *JAMA* 320, no. 19 (November 20, 2018): 2020–28, <https://doi.org/10.1001/jama.2018.14854>.
- <sup>265</sup> Surya P. Bhatt et al., "Smoking Duration Alone Provides Stronger Risk Estimates of Chronic Obstructive Pulmonary Disease than Pack-Years," *Thorax* 73, no. 5 (May 1, 2018): 414–21, <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2017-210722>.
- <sup>266</sup> Akram T Kharroubi and Hisham M Darwish, "Diabetes Mellitus: The Epidemic of the Century," *World Journal of Diabetes* 6, no. 6 (June 25, 2015): 850–67, <https://doi.org/10.4239/wjd.v6.i6.850>.
- <sup>267</sup> Nidhi Bansal, "Prediabetes Diagnosis and Treatment: A Review," *World Journal of Diabetes* 6, no. 2 (March 15, 2015): 296–303, <https://doi.org/10.4239/wjd.v6.i2.296>.
- <sup>268</sup> Bryan Williams et al., "2018 ESC/ESH Guidelines for the Management of Arterial Hypertension: The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Society of Hypertension (ESH)," *European Heart Journal* 39, no. 33 (September 1, 2018): 3021–3104, <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehy339>.
- <sup>269</sup> Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults, "Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III)," *JAMA* 285, no. 19 (May 16, 2001): 2486–97, <https://doi.org/10.1001/jama.285.19.2486>.
- <sup>270</sup> "Pagana KD, Pagana TJ, Pagana TN. *Mosby's Diagnostic and Laboratory Test Reference*. 14th Ed. St. Louis, MO: Elsevier; 201," n.d.
- <sup>271</sup> "Normal Ranges for Common Laboratory Tests. Available at [Http://Rml.Rush.Edu/Pages/RMLRanges.Aspx](http://Rml.Rush.Edu/Pages/RMLRanges.Aspx)," n.d.
- <sup>272</sup> R. Mehta and A. D. Shapiro, "Plasminogen Activator Inhibitor Type 1 Deficiency," *Haemophilia* 14, no. 6 (2008): 1255–60, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2516.2008.01834.x>.
- <sup>273</sup> Anna K. Kopec et al., "Thrombin Promotes Diet-Induced Obesity through Fibrin-Driven Inflammation," *The Journal of Clinical Investigation* 127, no. 8 (August 1, 2017): 3152–66, <https://doi.org/10.1172/JCI92744>.
- <sup>274</sup> L. Muszbek et al., "The Involvement of Blood Coagulation Factor XIII in Fibrinolysis and Thrombosis," *Cardiovascular & Hematological Agents in Medicinal Chemistry* 6, no. 3 (July 2008): 190–205, <https://doi.org/10.2174/187152508784871990>.
- <sup>275</sup> Cecile C. King et al., "Longitudinal Impact of Smoking and Smoking Cessation on Inflammatory Markers of Cardiovascular Disease Risk," *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 37, no. 2 (February 2017): 374–79, <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.116.308728>.
- <sup>276</sup> Sabine Eichinger et al., "Overweight, Obesity, and the Risk of Recurrent Venous Thromboembolism," *Archives of Internal Medicine* 168, no. 15 (August 11, 2008): 1678–83, <https://doi.org/10.1001/archinte.168.15.1678>.
- <sup>277</sup> Christopher Kabrhel et al., "Factors Associated With Positive D-Dimer Results in Patients Evaluated for Pulmonary Embolism," *Academic Emergency Medicine : Official Journal of the Society for Academic Emergency Medicine* 17, no. 6 (June 2010): 589–97, <https://doi.org/10.1111/j.1553-2712.2010.00765.x>.
- <sup>278</sup> Rosa Divella et al., "Obesity, Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Adipocytokines Network in Promotion of Cancer," *International Journal of Biological Sciences* 15, no. 3 (January 1, 2019): 610–16, <https://doi.org/10.7150/ijbs.29599>.
- <sup>279</sup> Bingqing Xia et al., "Feasibility and Efficacy of Transient Elastography Using the XL Probe to Diagnose Liver Fibrosis and Cirrhosis," *Medicine* 97, no. 39 (September 28, 2018), <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000011816>.
- <sup>280</sup> Mirjam E. Meltzer et al., "The Impact of the Fibrinolytic System on the Risk of Venous and Arterial Thrombosis," *Seminars in Thrombosis and Hemostasis* 35, no. 5 (July 2009): 468–77, <https://doi.org/10.1055/s-0029-1234142>.
- <sup>281</sup> Christian Schoergenhofer et al., "The Use of Frozen Plasma Samples in Thromboelastometry," *Clinical and Experimental Medicine* 17, no. 4 (2017): 489–97, <https://doi.org/10.1007/s10238-017-0454-5>.