

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ-ΤΟΜΕΑΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ
ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΟ ΤΜΗΜΑ: Δ/ντής Αν. Καθηγητής Κ.Λ. Μπουραντάς.
ΡΕΥΜΑΤΟΛΟΓΙΚΟ ΤΜΗΜΑ: Δ/ντής Αν. Καθηγητής Α.Α. Δρόσος.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΘΡΟΜΒΟΠΕΝΙΑΣ
ΣΤΑ ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ**

ΣΤΑΥΡΟΥΛΑ Ν. ΤΣΙΑΡΑ
ΙΑΤΡΟΣ ΠΑΘΟΛΟΓΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

5

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 1997



ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ



826008345889



Από το Αιματολογικό και Ρευματολογικό Τμήμα
του Τομέα Παθολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιατρικής
Διπλής Αιματολογικής Αντιστάσεως Καθηγητής Κ. Σπυριδίου
Διπλής Ρευματολογικής Αντιστάσεως Καθηγητής Α.Α. Δρόσος

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΘΡΟΜΒΟΠΕΝΙΑΣ ΣΤΑ ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

Συγγραφέας Ν. Τσιόρα
Ιατρός - Παθολόγος

Επιστημονική Επιτροπή που υποβλήθηκε στην Ιατρική Σχολή
του Πανεπιστημίου Ιατρικής

Εκδόσεις 1997



Από το Αιματολογικό και Ρευματολογικό Τμήμα
του Τομέα Παθολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Δ/ντής Αιματολογικού: Αναπληρωτής Καθηγητής Κ. Μπουραντάς
Δ/ντής Ρευματολογικού: Αναπληρωτής Καθηγητής Α.Α. Δρόσος

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΘΡΟΜΒΟΠΕΝΙΑΣ ΣΤΑ ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

Σταυρούλα Ν. Τσιάρα
Ιατρός - Παθολόγος

Διδακτορική Διατριβή που υποβλήθηκε στην Ιατρική Σχολή
του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Γιάννινα 1997



Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα (Νόμος 5343, άρθρο 202, §2).



ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Μπουραντάς Κωνσταντίνος, Αναπληρωτής Καθηγητής Αιματολογικού, επιβλέπων
Δρόσος Αλέξανδρος, Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογίας/Ρευματολογίας, μέλος
Σιαμοπούλου Αντιγόνη, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παιδιατρικής, μέλος

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Αντωνιάδης Γρηγόριος, Καθηγητής Μικροβιολογίας, μέλος
Αγνάντη Νίκη, Καθηγητής Παθολογικής Ανατομίας, μέλος
Κωνσταντόπουλος Σταύρος, Καθηγητής Παθολογίας/Πνευμονολογίας, μέλος
Τσιάνος Επαμεινώνδας, Καθηγητής Παθολογίας/Γαστρεντερολογίας, μέλος
Μπουραντάς Κωνσταντίνος, Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογίας/Αιματολογίας, επιβλέπων
Δρόσος Αλέξανδρος, Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογίας/Ρευματολογίας, μέλος
Σιαμοπούλου Αντιγόνη, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παιδιατρικής, μέλος



Η εκπόνηση της παρούσης διατριβής οφείλεται σε μεγάλο βαθμό στον Καθηγητή Χ.Μ. Μουτσόπουλο που μου έκανε την τιμή να μου αναθέσει το θέμα της δίνοντάς μου την ευκαιρία να ανακαλύψω και να γνωρίσω τον υπέροχο κόσμο του πειράματος και του εργαστηρίου.

Εκφράζω επίσης τις θερμές μου ευχαριστίες στον Αναπληρωτή Καθηγητή Κ. Μπουραντά, το δάσκαλό μου και επιβλέποντα αυτής της μελέτης που με υπομονή μου δίδαξε την αγάπη για τον άρρωστο και την κοινωνική προσφορά, το κέφι για δουλειά και συνεχή μάθηση και που με μύησε στα μυστικά της σύγχρονης Ιατρικής Επιστήμης.

Τον ευχαριστώ επιπλέον για τις πολύτιμες συμβουλές που οδήγησαν στην ολοκλήρωση αυτής της διατριβής.

Τον Αναπληρωτή Καθηγητή Α. Δρόσο θερμότατα ευχαριστώ για τη συμβολή του στο σχεδιασμό της παρούσας μελέτης και την κριτική επεξεργασία των αποτελεσμάτων.

Την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Α. Σιαμοπούλου ευχαριστώ για τις εύστοχες παρατηρήσεις της.

Είμαι επίσης ευγνώμων στην κα Ελ. Ζερβού, Διευθύντρια του Σταθμού Αιμοδοσίας για τις πολύτιμες οδηγίες της για την πραγματοποίηση του πειραματικού μέρους της μελέτης και στον συνάδελφο Μ. Γαλανάκη, Επιμελητή της Παιδιατρικής Κλινικής, για τη βοήθεια του στην στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων.

Για την επιμέλεια της δομής και της εμφάνισης θερμά ευχαριστώ την κα. Ελένη Χόρτη.



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Σελ.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

A. Αιμοπετάλια

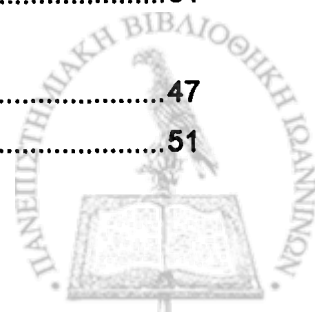
Θρομβοποίηση	1
Θρομβοποιητίνη	3
Δομή των αιμοπεταλίων	5
Κυτταρική μεμβράνη των αιμοπεταλίων.....	6
Λιπίδια της μεμβράνης.....	7
Πρωτεΐνες	7
Δράση των αιμοπεταλίων	10
Κινητική των αιμοπεταλίων.....	13

B. Παθοφυσιολογία διαταραχών αιμοπεταλίων

Ταξινόμηση και γενικά	17
Ποσοτικές διαταραχές αιμοπεταλίων.....	17
Ιδιοπαθής θρομβοπενική πορφύρα.....	23
Συστηματικός ερυθηματώδης λύκος.....	34
Σύνδρομο Sjogren	37
Λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα.....	37

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Σκοπός της μελέτης	1
Υλικό	1
Μέθοδοι	6
Έμμεσος ανοσοφθορισμός.....	7
Μέθοδος στερεάς φάσεως	10
Εξέταση.....	11
Αποτελέσματα.....	12
Συγκρίσεις μεταξύ ασθενών και μαρτύρων	17
Συζήτηση - Συμπεράσματα	21
Βιβλιογραφία	31
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	47
SUMMARY	51



ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



A. ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ

ΘΡΟΜΒΟΠΟΙΗΣΗ

Τα αιμοπετάλια (ΑΜΠ) αποτελούν έμμορφα, στοιχεία του αίματος που δεν περιέχουν πυρήνα και έχουν περιορισμένη ικανότητα της αλλαγής της βιοχημικής τους δομής και λειτουργίας. Το 1906 ο Wright πρώτος ανακάλυψε ότι τα μεγακαρυοκύτταρα παράγουν ΑΜΠ, τα οποία διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην αιμόσταση.

Οι περισσότερες ποιοτικές και ποσοτικές διαταραχές των ΑΜΠ οφείλονται σε διαταραχή των μεγακαρυοκυττάρων (Jara J 1943, Hoffman 1981). Μέχρι πρόσφατα ήταν δύσκολο να μελετηθούν οι διαφοροποιήσεις και οι αλλαγές στα μεγακαρυοκύτταρα (Handin RJ 1978). Σήμερα με τις καλλιέργειες κυττάρων, την μελέτη των κυτταροκινών και την μεταμόσχευση του μυελού των οστών αξιολογείται καλύτερα τόσο ο τύπος και ο τρόπος παραγωγής των ΑΜΠ όσο και ο ρόλος τους στην λειτουργία της πήξης των ΑΜΠ όσο και ο ρόλος τους στην λειτουργία της πήξης (Levine RF 1977, Levine RF 1980).

Τα μεγακαρυοκύτταρα προέρχονται από τα πολυδύναμα αρχικά κύτταρα του μυελού των οστών (CFU-Meg) από τα οποία παράγονται οι μεγακαρυοβλάστες οι οποίοι ωριμάζουν σε ώριμα μεγακαρυοκύτταρα. Από το πρωτόπλασμα των ώριμων μεγακαρυοκυττάρων παράγονται τα ΑΜΠ (Vaincher W 1979).



Η παραγωγή των μεγακαρυοκυττάρων επηρεάζεται άμεσα τόσο από τις ιντερλευκίνες και τους αυξητικούς παράγοντες όσο και από το περιβάλλον (π.χ. κύτταρα του στρώματος, αυξητικούς παράγοντες, εξωκυττάρια μόρια). Καθημερινά παράγονται 2×10^{11} ΑΜΠ (Harker LA 1969).

Περίπου 19 αιμοποιητικοί αυξητικοί παράγοντες όπως IL-3, GM-CSF, G-CSF, M-CSF, ερυθροποιητίνη, leukemia inhibitory factor (LIF), C-Kit ligand, ιντερφερόνες, TNF, TGF- β (transforming growth factor), IL-3, IL-6, IL-9, IL-11, διεγείρουν ή αναστέλλουν την αιμοποίηση (Wicha MS, Gospodarowicz D 1980, Cambeli A 1985, Tablin F 1990).

Η παραγωγή μεγακαρυοκυττάρων και η εξ αυτών παραγωγή ΑΜΠ γίνεται κυρίως στο μυελό των οστών. Είναι γνωστό όμως ότι άωρα μεγακαρυοκύτταρα ευρίσκονται και στην κυκλοφορία και πιθανόν να ωριμάζουν και σε περιοχές έξω από τον μυελό όπως ο σπλήνας, και ο πνεύμονας όπου και είναι δυνατό να παράγονται ΑΜΠ (Groul V 1980, Kaufman MM 1965).

Υπάρχουν τρία στάδια εξέλιξης των μεγακαρυοκυττάρων: α) τα αρχικά πολυδύναμα κύτταρα του μυελού (CFU-Meg), β) τα άωρα μεγακαρυοκύτταρα, οι προμεγακαρυοβλάστες και γ) τα ώριμα μεγακαρυοκύτταρα από τα οποία παράγονται τα ΑΜΠ. Τα ώριμα μεγακαρυοκύτταρα είναι ευμεγέθη πολυπύρρηνα κύτταρα που δεν πολλαπλασιάζονται πλέον, αλλά έχουν την ικανότητα να συνεχίζουν και να αυξάνουν την σύνθεση DNA, χωρίς μίτωση (Metcal D 1975, Burstein 1981).

Οι προμεγακαρυοβλάστες φέρουν υποδοχείς για την υπεροξειδάση των ΑΜΠ, τις γλυκοπρωτεΐνες IIb/IIIa και τον παράγοντα von-Willebrand. Επηρεάζονται από θρομβοποιητικούς παράγοντες όπως η IL-3 και η IL-6, αυξάνουν σε καταστάσεις θρομβοπενίας και ελαττώνονται σε καταστάσεις θρομβοκυττάρωσης (Rabellino EM 1981, Ishibashi T 1986, Stahl CP 1991).



Τα ώριμα μεγακαρυοκύτταρα εμφανίζουν τέσσερα στάδια ωρίμανσης:

Στο *στάδιο I* η μεγακαρυοβλάστη χαρακτηρίζεται από βασεόφιλο πρωτόπλασμα και ευμεγέθη πυρήνα.

Στο *στάδιο II* το προμεγακαρυοκύτταρο χαρακτηρίζεται από αυξημένη παραγωγή πρωτοπλάσματος και κοκκία ειδικά για τα ΑΜΠ.

Στα *στάδια III και IV* που είναι τα στάδια του ωρίμου κυττάρου, τα μεγακαρυοκύτταρα χαρακτηρίζονται από παραγωγή άφθονων ΑΜΠ και από το αιμοπεταλιοπαραγωγό νέφος που υπάρχει γύρω τους (Briddeli RA 1992, Williams N 1978, Kimura H 1990).

Μια κυτταροκίνη η IL-6 φαίνεται ότι παίζει σημαντικό ρόλο στην παραγωγή των ΑΜΠ μέσω της δράσης της στα μεγακαρυοκύτταρα και βρέθηκε αυξημένη σε δευτεροπαθή θρομβοκυττάρωση. Πρόσφατα όμως έχει βρεθεί ότι και η θρομβοποιητίνη κατέχει σημαντικό ρόλο στη θρομβοποίηση και φαίνεται ότι παίζει πρωταρχικό ρόλο στην παραγωγή των ΑΜΠ (McDonald TP 1988, Wendling F 1995).

ΘΡΟΜΒΟΠΟΙΗΤΙΝΗ

Πάνω από 30 χρόνια επικρατούσε η αντίληψη ότι ένας χυμικός αυξητικός παράγων, η θρομβοποιητίνη, παίζει ρυθμιστικό ρόλο στην παραγωγή των ΑΜΠ (de Gabriele G 1967).

Έχει παρατηρηθεί ότι πλάσμα από ζώα που έχουν γίνει θρομβοπενικά από ακτινοβολία, αιμοπεταλιοαφαίρεση, φάρμακα ή άλλους παράγοντες, χορηγούμενο σε φυσιολογικά άτομα αυξάνει την παραγωγή των ΑΜΠ (Mc Donald TP 1977). Από την άλλη μεριά έχουν βρεθεί χαμηλά επίπεδα θρομβοποιητίνης σε ασθενείς με χρόνια θρομβοπενία (Schulman I 1969).



Πρόσφατα έχει βρεθεί ένας υποδοχέας της θρομβοποιητίνης, το c-mpl πρωτοογκογονίδιο. Τώρα πιστεύεται ότι οι κυτταροκίνες IL-3, GM-CSF και stem cell factor δρουν στις άωρες μορφές των μεγακαρυοκυττάρων, ενώ άλλες κυτταροκίνες όπως η IL-6, η IL-11, ο leukemia inhibitor factor και ερυθροποιητίνη, αλλά κυρίως η θρομβοποιητίνη, δρουν στις πιο ώριμες μορφές των μεγακαρυοκυττάρων από τις οποίες παράγονται τα ΑΜΠ.

Πρόσφατα έχει απομονωθεί και κλωνοποιηθεί η θρομβοποιητίνη, από ποντικούς με μυελοϋπερπλαστικά σύνδρομα.

Το πρωτοογκογονίδιο c-mpl διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην παραγωγή των μεγακαρυοκυττάρων (Wendling F 1995, Debili N 1995).

Στον άνθρωπο, το mRNA του πρωτοογκογονιδίου c-mpl εκφράζεται στον εμβρυϊκό μυελό των οστών και στο εμβρυϊκό ήπαρ και περιορίζεται στα CD₃₄ κύτταρα, στα μεγακαρυοκύτταρα, τα ΑΜΠ και τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Η ανίχνευση του γίνεται με μονοκλωνικά αντισώματα. Το γονίδιο της θρομβοποιητίνης στον άνθρωπο βρίσκεται στο χρωμόσωμα 3 στη θέση 3q26-27. Συχνά διαταραχές του χρωμοσώματος αυτού συνοδεύονται από ανώμαλη παραγωγή ΑΜΠ. (Gurney AL 1995).

Το γένωμα της θρομβοποιητίνης έχει κοινά στοιχεία με το γένωμα της ερυθροποιητίνης (Boissel JP 1992).

Η θρομβοποιητίνη του ανθρώπου και του ποντικίου κωδικοποιούνται από ένα mRNA 1,8 Kb. Στους ποντικούς ανιχνεύεται στο ήπαρ και τα νεφρά και σε ελάχιστες ποσότητες στους σκελετικούς μυς, καθώς και στον εγκέφαλο, τους όρχεις, τους ινοβλάστες του μυελού των οστών και τα ενδοθηλιακά κύτταρα του ομφάλιου λώρου (Lok S 1994).

Η in vitro χορήγηση θρομβοποιητίνης ευνοεί την ανάπτυξη των κυτταρικών καλλιεργειών των μεγακαρυοκυττάρων. Κλινικές μελέτες με χορήγηση



θρομβοποιητίνης σε ποντίκια είχαν θετικά αποτελέσματα και φαίνεται ότι η χορήγηση της σε συνδυασμό και με άλλους αυξητικούς παράγοντες θα βοηθήσει στην βελτίωση της θρομβοπενίας που οφείλεται σε φάρμακα. (Zeigler FC 1994).

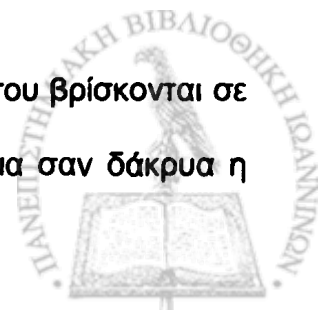
ΔΟΜΗ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ

Τα ώριμα ΑΜΠ έχουν σχήμα δισκοειδές διαμέτρου 2-3 μ, είναι κύτταρα χωρίς πυρήνα με κοκκιώδες πυρήνιο, με σκελετό από ακτίνη και χρωματίζονται με την χρωστική Wright αγνά μπλέ. Τα άωρα ΑΜΠ έχουν πιο μεγάλο σχήμα από τα ώριμα και γενικά σε ασθενείς με θρομβοπενία τα ΑΜΠ έχουν πιο μεγάλο σχήμα (Frojmonic MM). Επίσης, τα ΑΜΠ των ασθενών που πάσχουν από μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο έχουν υαλώδες πρωτόπλασμα χωρίς κοκκία (Frojmonic MM 1982). Στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο τα ΑΜΠ αποτελούνται από το πυρήνιο, από τα κοκκία γλυκογόνου, από μιτοχόνδρια, από κενοτόπια και κοκκία. Το παραπάνω σύστημα χρησιμεύει στην απορρόφηση και την ενσωμάτωση των παραγόντων πήξης και την απελευθέρωση ουσιών από τα κοκκία (Zucker-Franklin D 1970).

Τα κοκκία είναι τριών ειδών:

1. τα λυσοσωμάτια που περιέχουν υδρολυτικά ένζυμα,
2. τα α-κοκκία που περιέχουν πρωτεΐνες πήξης όπως ινωδογόνο, παράγοντα von Willebrand, fibronectin και thrombospodin, καθώς επίσης παράγοντα V, αιμοπεταλιακό παράγοντα 4 και PDGF (platelet-derived growth factor) και
3. τα πυκνά κοκκία που περιέχουν σεροτονίνη, ασβέστιο και νουκλεοτίδια όπως το ADP.

Το πρωτόπλασμα των ΑΜΠ περιέχει μονομερή της ακτίνης που βρίσκονται σε ισορροπία με τα πολυμερή της ακτίνης, και δίνουν στα ΑΜΠ σχήμα σαν δάκρυα η



δισκοειδές ώστε να καθίστανται ικανά να προσκολλώνται σε διάφορες επιφάνειες όπως οι επιφάνειες των αγγείων και οι κυτταρικές μεμβράνες (Abramowitz JW 1975, Adelstein RS 1978, Adelstein RS 1975, Cooley MH 1967, Coligan JE 1984, Holmsen H 1977).

ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΜΕΜΒΡΑΝΗ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ

Τα ΑΜΠ μοιάζουν με σπόγγους γιατί έχουν την ικανότητα να προσρροφούν διάφορες ουσίες από το πλάσμα όπως αμινοξέα, φάρμακα, ισταμίνη (Mustard JF 1970).

Η μεμβράνη των ΑΜΠ περιέχει κανάλια και συνιστάται από λιποπρωτεΐνες, υδατάνθρακες και γλυκοπρωτεΐνες. Διαδραματίζει ενεργό ρόλο στην πήξη μέσω ενεργοποίησης της φωσφολιπάσης A_2 , που μπορεί να ελευθερώνει αραχιδονικό οξύ, για την σύνθεση προσταγλανδινών και συμπλεγμάτων γλυκοπρωτεϊνών όπως τα GPIIb/IX, GPIIb/IIIa και GPIIb/IV τα οποία δρουν ως υποδοχείς για τον παράγοντα von Willebrand και το ινωδογόνο (Holmsen H 1977, Nachman RL 1970, De Marco 1986, Schick PK 1979, Schmaier 1985).

Επειδή οι πρωτεΐνες πήξης υπάρχουν στο αίμα πιστεύεται ότι οι υποδοχείς της μεμβράνης υπάρχουν ως αδρανείς μορφές που ενεργοποιούνται με την διέγερση της μεμβράνης των ΑΜΠ (Doery IGG 1970, Tuszyski GP 1982, Zwaal RF 1982).

Η πλασματική μεμβράνη των ΑΜΠ παίζει σημαντικό ρόλο στην αιμόσταση μέσω δύο μηχανισμών: α) μέσω αντίδρασης κύτταρο προς κύτταρο και προς διάφορα υλικά και β) μέσω των μηχανισμών των παραγόντων της πήξης.



Τα ΑΜΠ αποτελούν το υπόστρωμα για τον μηχανισμό της πήξης. Ειδικότερα υπάρχει συσχέτιση μεταξύ του συμπλέγματος GPIb/IX και του παράγοντος von Willebrand, του συμπλέγματος GPIa/IIa (VIA-2)-κολλαγόνο, GPIc/IIa (De Marco 1986).

Γενικότερα η κυτταρική μεμβράνη των ΑΜΠ περιέχει λιπίδια, γλυκοπρωτεΐνες και υδατάνθρακες (Zieve PD 1969, 1970, Peper DS 1969, 1970 Tuszynski GP 1985).

Λιπίδια της μεμβράνης

Αποτελούν το 3% του ξηρού βάρους των ΑΜΠ και από αυτά το 80% είναι φωσφολιπίδια και το 20% ουδέτερα λιπίδια. Τα ουδέτερα λιπίδια αποτελούνται κυρίως από χοληστερόλη (85%) που είναι υπεύθυνη για την διαβατότητα και την απόκριση των ΑΜΠ και μαζί με την βιταμίνη Ε αποτελούν κυριο συστατικό της μεμβράνης (Zieve PD 1969, 1967, Schick PK 1979).

Πρωτεΐνες

Πρωτεΐνες ειδικές των ΑΜΠ

Οι πρωτεΐνες των ΑΜΠ είναι μοναδικές και υπάρχουν στο πλάσμα. Μεταξύ αυτών τέσσερις έχουν σπουδαία δράση:

- ο αιμοπεταλιακός παράγων 4 (PF4),
- ο παράγων που σχηματίζει ΑΜΠ (PDGF),
- η β-θρομβοσφαιρίνη και
- η θρομβοσπονδίνη (Nossel HL 1978).



Πρωτεΐνες δομής

Είναι η ακτομοοσίνη (θρομβοσθενίνη) που αποτελείται από την ακτίνη (θρομβοσθενίνη Α) και την μυοσίνη (θρομβοσθενίνη Β) (Pollard 1977).

Γλυκοπρωτεΐνες

Οι γλυκοπρωτεΐνες αποτελούν βασικά συστατικά της κυτταρικής μεμβράνης των ΑΜΠ. (Clemetson K 1977).

Υπάρχουν 30 είδη γλυκοπρωτεϊνών (GP) αλλά 7 είναι οι πιο σπουδαίες. Έχουν μια περιοχή ενδοκυτταρική και μια εξωκυτταρική. Οι σπουδαιότερες γλυκοπρωτεΐνες δρουν σαν υποδοχείς.

Δύο από αυτές οι GPIIb και GPIIIa οι οποίες είναι διαταραγμένες σε οξείες αιμορραγικές νόσους όπως την θρομβασθένεια Glanzmann και το σύνδρομο Bernard-Soulier. Ακόμη τα συμπλέγματα των γλυκοπρωτεϊνών IIb/IIIa και Ib/IX αποτελούν τους δύο κοινότερους τύπους σύνδεσης με αντισώματα του ορού στην ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα (Solomon NO 1985).

Γλυκοπρωτεΐνη Ia

Παίζει ρόλο στην ενεργοποίηση του μηχανισμού πήξης σε αιμορραγική διάθεση και στην αντίδραση των ΑΜΠ με το κολλαγόνο των ιστών (Solomon NO 1985).

Γλυκοπρωτεΐνη Ib

Αποτελείται από δύο πεπτίδια Iba και Ibβ και συνδέεται με τον παράγοντα von Willebrand, με αντισώματα προς την κινιδίνη, αντισώματα κατά ριτοσεΐνης και θρομβίνη (Berndt MC 1978).

Γλυκοπρωτεΐνη IIb

Αποτελείται από τα πεπτίδια IIba και IIbβ βρίσκεται εντός και προεξέχει και επί τα εκτός της μεμβράνης των ΑΜΠ. Συμμετέχει στον σχηματισμό του συμπλέγματος γλυκοπρωτεϊνών GPIIb/IIIa.



Γλυκοπρωτεΐνη IIIa

Αποτελείται από μια πεπτιδική αλυσίδα.

Σύμπλεγμα Γλυκοπρωτεϊνών Ib/IX

Αποτελεί υποδοχέα για τον παράγοντα von-Willebrand και χρησιμεύει για την προσκόλληση των ΑΜΠ στο ενδοθήλιο. Η θρομβίνη ενώνεται με την GPIb σε φυσιολογικά ΑΜΠ όταν ενεργοποιείται ο μηχανισμός της πήξης. (Fox JE 1988).

Σύμπλεγμα Γλυκοπρωτεϊνών IIb-IIIa

Το σύμπλεγμα IIb/IIIa είναι το πιο συχνά απαντώμενο σύμπλεγμα και βρίσκεται στη μεμβράνη των ΑΜΠ κυρίως όμως στα α-κοκκία της μεμβράνης. Το παραπάνω σύμπλεγμα αποτελεί την κύρια θέση για την δέσμευση των αντισωμάτων του ορού στην ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα, αλλά και σε άλλες καταστάσεις που υπάρχει καταστροφή των ΑΜΠ μέσω αντισωμάτων.

Η κάθε γλυκοπρωτεΐνη έχει διαφορετική αρχική δομή και γονίδιο παραγωγής.

Η GPIIb αποτελεί την -κεφαλή του συμπλέγματος και η GPIIIa την ουρά. Τα ιόντα ασβεστίου διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στο να κρατούν το σύμπλεγμα σε διαλυτή μορφή μέσα στο ΑΜΠ. Επίσης το σύμπλεγμα είναι συνδεδεμένο με την ακτίνη που αποτελεί τον βασικό κυτταρικό σκελετό του ΑΜΠ. (Bernadt MC 1984).

Το σύμπλεγμα GPIIb και GPIIIa αποτελεί υποδοχέα για τον παράγοντα VWF, το ινωδογόνο, την φιβρονεκτίνη και την θρομβοσπονδίνη στα διεγερμένα ΑΜΠ και είναι διαταραγμένο στην θρομβασθένεια (Glanzmann Philips DR 1977, DeMarco 1986).

Γλυκοπρωτεΐνη V

Είναι διαταραγμένη ή ελαττωμένη στο σύνδρομο Bernard-Soulier (Bernadt MC 1984).



Γλυκοπρωτεΐνες IIa, IV και VI.

Δεν έχουν γνωστή δράση πιθανόν αποτελούν τόπους δέσμευσης αντισωμάτων του ορού ασχέτων με την ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα (Fox JE 1988).

Υποδοχείς κυτταρικής μεμβράνης των Αιμοπεταλίων.

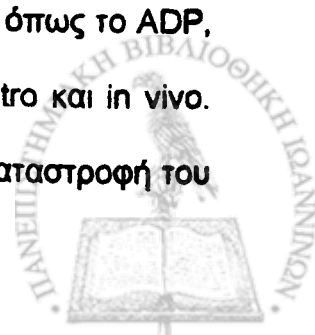
Η κυτταρική μεμβράνη των ΑΜΠ φέρει επ' αυτής υποδοχείς που ενισχύουν την διέγερση αλλά και την καταστολή των ΑΜΠ. Η θρομβίνη, η ανδρεναλίνη και το κολλαγόνο προωθούν την διέγερση των ΑΜΠ, ενώ η ADP, η σεροτονίνη, η βαζοπρεσσίνη, οι προσταγλανδίνες και η αδενοσίνη έχουν άλλοτε διεγερτική και άλλοτε ανασταλτική δράση επί των ΑΜΠ.

ΔΡΑΣΗ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ

Τα ΑΜΠ αποτελούν την πρώτη γραμμή άμυνας εναντίον της απώλειας αίματος στα αιμορραγικά επεισόδια. Προσκολλώνται στο τοίχωμα των αγγείων στη θέση της βλάβης μέσω του παράγοντα VWF και δημιουργούν τον πρωτοπαθή θρόμβο και το κατάλληλο υπόστρωμα για την ανάπτυξη του σταθερού δευτεροπαθούς θρόμβου που σχηματίζεται από την μετατροπή του ινωδογόνου σε ινική (Zucker MB 1980).

Ο πρωτοπαθής θρόμβος γίνεται από την προσκόλληση των ΑΜΠ στο τοίχωμα των αγγείων και την απελευθέρωση ουσιών από τα ΑΜΠ που προκαλούν την συσσώρευση αυτών.

Η συσσώρευση των ΑΜΠ ενισχύεται από μερικούς παράγοντες όπως το ADP, η θρομβίνη και το κολλαγόνο και έχει διαπιστωθεί η δράση τους *in vitro* και *in vivo*. Πιστεύεται ακόμη ότι με την βλάβη στο τοίχωμα των αγγείων και την καταστροφή του



ενδοθηλίου, το κολλαγόνο, η fibronectin και ο παράγων von-Willebrand, ενεργοποιούν τα ΑΜΠ και απελευθερώνεται η γλυκοπρωτεΐνη Ib που χρησιμεύει για σύνδεση του υποενδοθηλιακού παράγοντα von-Willebrand με τα ΑΜΠ. Η παραπάνω προσκόλληση προκαλεί απελευθέρωση ιόντων Ca^{+} και ADP που αυξάνουν την παραγωγή της ακτίνης και της μυσίνης και ευνοούν την περαιτέρω συσσώρευση και συγκόλληση των ΑΜΠ (Solomon NO 1985, McDouald 1986).

Επίσης απελευθερώνονται υποδοχείς για το ινωδογόνο και το συμπλέγμα γλυκοπρωτεΐνης IIb/IIIa, ευνοώντας έτσι την συσσώρευση των ΑΜΠ και τον σχηματισμό του αιμοπεταλιακού θρόμβου (Fox E 1988).

Στη διαδικασία ενεργοποίησης του μηχανισμού της πήξης in vitro διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη συσσώρευση των ΑΜΠ το ADP, ενώ in vivo φαίνεται ότι παίζει πιο σημαντικό ρόλο η θρομβοξάνη A_2 η οποία και είναι κυρίως υπεύθυνη για την δευτεροπαθή συσσώρευση. Η θρομβοξάνη A_2 παράγεται από το αραχιδονικό οξύ και ελευθερώνεται μέσω της φωσφολιπάσης A_2 , η οποία φαίνεται ότι ενεργοποιείται από το κολλαγόνο ή τον παράγοντα von-Willebrand.

Η θρομβίνη σχηματίζεται στην μεμβράνη των ΑΜΠ από τον παράγοντα V, ενώ σε ελάχιστες ποσότητες δρα σαν συσσωρευτικός παράγοντας.

Η συσσώρευση σταματά από την ροή του αίματος που καθαρίζει το τοίχωμα των αγγείων από τα συσσωρευθέντα ΑΜΠ.

Επίσης η προσταγλανδίνη (PG/2) δρα ανασταλτικά στην συσσώρευση (Smith JB 1976, Harker LA 1969, Legrand YJ 1983, Smith JB 1976, Smith JB 1971).

Εκτός της επικάλυψης των βλαβών του τοιχώματος των αγγείων, τα ΑΜΠ διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο και στη διατήρηση της ακεραιότητας του τοιχώματος αυτών.

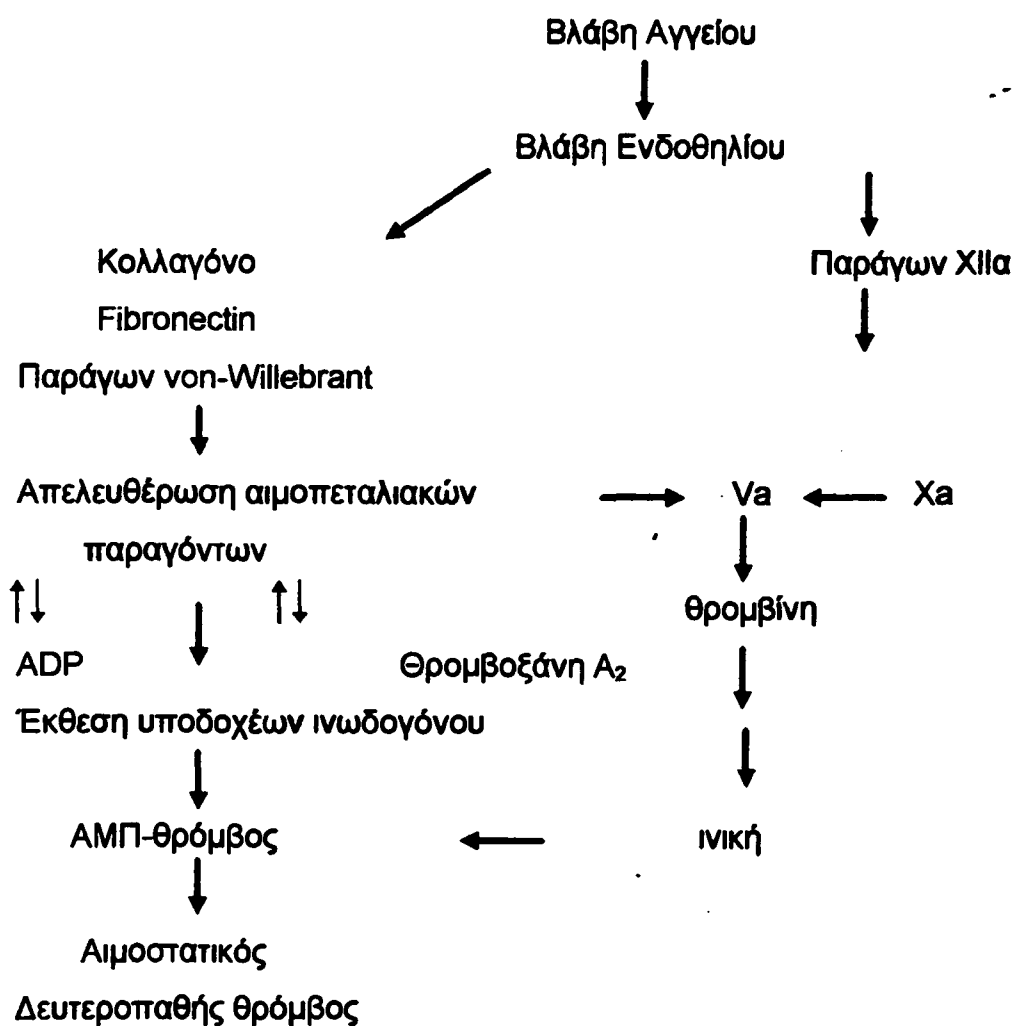
Ασθενείς με θρομβοπενία έχουν ελαττωμένη ανθεκτικότητα τριχοειδών και με επιπόλαια τραύματα ή ήπιες αλλαγές της πίεσης εμφανίζουν πετέχειες.



Άλλωστε μια από τις άμεσες δράσεις των κορτικοστεροειδών στην ΙΤΡ είναι η αύξηση της αντοχής και η στεγανοποίηση του τοιχώματος των αγγείων, ώστε να σταματούν άμεσα οι αιμορραγίες πριν ακόμη αποκατασταθεί ο αριθμός των ΑΜΠ.

Τα ΑΜΠ ενοχοποιούνται ακόμη για την φλεγμονώδη αντίδραση που συμβαίνει γύρω από τους νεοσχηματισθέντες θρόμβους (Deykin D 1974, George JN 1984, Peerschke EJ 1980).

Γενικά τα ΑΜΠ αποτελούν απαραίτητο στοιχείο για την πήξη του αίματος. Σχηματικά η δράση των ΑΜΠ στη πήξη φαίνεται στην Εικόνα 1 και κάθε διαταραχή ποσοτική ή ποιοτική προδιαθέτει στην εμφάνιση αιμορραγικής διάθεσως.



Εικόνα 1. Δράση αιμοπεταλίων στην πήξη.



ΚΙΝΗΤΙΚΗ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ

Η παραγωγή των ΑΜΠ γίνεται από τα μεγακαρυοκύτταρα μέσω δράσης αυξητικών παραγόντων, όπως η IL-3 και η θρομβοποιητίνη και πιθανόν η IL-6 (Ishibashi T 1986, Stahl CP 1991).

Σε απώλεια αίματος όπως και σε αιμόλυση συχνά έχουμε αύξηση των ΑΜΠ που πιθανόν να δείχνει κάποια σχέση μεταξύ των αρχικών πολυδύναμων κυττάρων του μυελού. Έχει βρεθεί ότι ο φυσιολογικός μυελός περιέχει 15×10^6 μεγακαρυοκύτταρα/Kg και το καθένα παράγει 2000-7000 ΑΜΠ.

Η ολική μάζα των μεγακαρυοκυττάρων αποτελεί το 1/5 της μάζας των εμπύρηνων κυττάρων του μυελού. Η ημερήσια παραγωγή ΑΜΠ είναι 2.5×10^9 /Kg σε σχέση με τα ερυθρά που είναι 3.1×10^9 /Kg (Medoff HS 1964, Gill GV 1979).

Τα ΑΜΠ μετά την απελευθέρωσή τους από τα μεγακαρυοκύτταρα κυκλοφορούν για 8-10 ημέρες και καταστρέφονται από τα μακροφάγα του δικτυοενδοθηλιακού συστήματος κυρίως στο ήπαρ και τον σπλήνα.

Το 1/3 του αριθμού των ΑΜΠ βρίσκονται στον σπλήνα από τον οποίο μπορεί να αποδοθούν στη κυκλοφορία μετά από μια ένεση επινεφρίνης ή οποιοδήποτε stress (Aster RH 1966).

Σε άτομα με σπληνεκτομή ο αριθμός των ΑΜΠ είναι μεγαλύτερος απ' ό,τι στους υγιείς.

Σε άτομα με σπληνομεγαλία μεγάλος αριθμός ΑΜΠ υπάρχει διαμερισματοποιημένος στον σπλήνα με την μορφή της αποθήκευσης και είναι δυνατό να έχουμε θρομβοπενία στην περιφέρεια.

Διαφορετική κατάσταση υπάρχει στον υπερσπληνισμό όπου τα ΑΜΠ καταστρέφονται στον σπλήνα, πιθανόν από αυτοαντισώματα, όπως επίσης συμβαίνει και με τα λευκά και με τα ερυθρά αιμοσφαίρια.



Η θρομβοπενία από σπληνομεγαλία σπάνια είναι βαριά όπως στον υπερσπληνισμό, πάντως σε εκσεσημασμένη σπληνομεγαλία μπορεί να παρατηρηθεί βαρεία θρομβοπενία με επιπτώσεις και στην αιμόσταση (Karpatkin S 1978).

Αφού τα ΑΜΠ καταναλίσκονται κατά την ενεργοποίηση του μηχανισμού της πήξης είναι ευνόητο ότι η επιβίωση των ΑΜΠ επηρεάζεται όπως και η ηλικία τους, και συνήθως δεν προλαβαίνουν να γηράσουν, αν και μερικές φορές έχει βρεθεί με ραδιενεργά σεσημασμένα ΑΜΠ ότι πολλά έχουν φυσιολογικό χρόνο ζωής (Prentice CRM 1972).

Η χρήση αντιπηκτικών φαρμάκων φαίνεται ότι δεν επηρεάζει τον χρόνο ζωής των ΑΜΠ (Schmaier AH 1979).

Σε φυσιολογικές καταστάσεις η μάζα των ΑΜΠ παραμένει σταθερά και δείχνει ότι υπάρχει ισορροπία μεταξύ παραγωγής και καταστροφής ΑΜΠ, αν και υπάρχουν αντιδραστικές θρομβοκυτταρώσεις μετά από θρομβοπενία ή και το αντίθετο, χωρίς όμως να αποκλείονται οι αποκλίσεις από τον κανόνα. Τα μεγακαρυοκύτταρα σε καταστάσεις θρομβοπενίας εμφανίζουν πρόσθετες ενδομιτωτικές διαιρέσεις, αυξάνουν τον όγκο τους και παράγουν περισσότερα ΑΜΠ ενώ συγχρόνως αυξάνουν και σε αριθμό. Επίσης είναι πιθανόν μειώνεται ο χρόνος ωρίμανσης των μεγακαρυοκυττάρων (Weintranb AH 1974, Levine RF 1980, MacPerson GG 1974).

Έχει βρεθεί, όπως ήδη αναφέρθηκε, ότι σημαντικό ρόλο για την παραγωγή των ΑΜΠ παίζει η θρομβοποιητίνη, ουσία που κυκλοφορεί στον ορό σε καταστάσεις θρομβοπενίας.

Χρησιμοποιήθηκε ένα ραδιενεργό ισότοπο, το σελήνιο 75, το οποίο προσροφήθηκε από το πρωτόπλασμα των μεγακαρυοκυττάρων. Μετά από έγχυση ορού από ασθενείς με θρομβοπενία παρατηρήθηκε αυξημένη παραγωγή ΑΜΠ που ήταν σεσημασμένα, ενώ δεν υπήρχε ανάλογη αύξηση με χορήγηση ορού ατόμων με φυσιολογικό αριθμό ΑΜΠ. Η διαφορά υπήρξε πιο σημαντική, όταν η ενδογενής



θρομβοποίηση των δοτών καταστέλλονταν με την χορήγηση ΑΜΠ. Αν και τα παραπάνω έχουν την ίδια αρχή με την ερυθροποιητίνη, η διαδικασία της θρομβοποίησης φαίνεται ότι είναι διαφορετική από την ερυθροποίηση. (Wendling F 1995 1995, Gurney et al 1995).

Σε *in vitro* μελέτες που έγιναν σε κυτταροκαλλιέργειες χορηγήθηκε θρομβοποιητίνη σε αρχικά πολυδύναμα κύτταρα μεγακαρυοκυττάρων (CFU-Mega). Η απάντηση ήταν συγκεχυμένη και απρόβλεπτη. Η θρομβοποιητίνη αύξησε τα ΑΜΠ αλλά βρέθηκε ότι διεγείρει και τα κύτταρα BFU-E και GM-CFU (Debili N 1995).

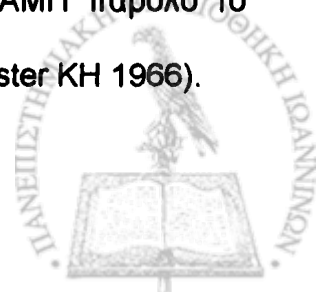
Τελευταία πιστεύεται ότι η θρομβοποιητίνη που παράγεται με τρόπο όχι ανοσολογικό δεν διεγείρει κάθε αρχέγονο πολυδύναμο κύτταρο, αλλά προκαλεί διπλασιασμό μόνο των μεγακαρυοκυττάρων, που ελέγχουν το μέγεθος και τον αριθμό των ΑΜΠ (Lok S 1994).

Εάν πράγματι η θρομβοποιητίνη επιδρά στην παραγωγή ΑΜΠ, η παραγωγή της δεν είναι απολύτως γνωστό από τι ακριβώς ελέγχεται.

Επειδή είναι γνωστό ότι τα ΑΜΠ χρειάζονται για να διατηρούν σε ισορροπία την αιμόσταση, πρέπει η ανεπαρκής αιμόσταση να προκαλεί ελευθέρωση θρομβοποιητίνης, όπως η ανεπαρκής οξυγόνωση των νεφρών προκαλεί έκκριση ερυθροποιητίνης, αυτό όμως δεν έχει αποδειχθεί πλήρως.

Πάντως, έχει βρεθεί ότι η ηλικία πολλών ΑΜΠ είναι ανεξάρτητη από διαταραχές της αιμόστασης και ακόμη ότι η αιμοστατική δράση παραμένει φυσιολογική και σε μεγαλύτερη ελάττωση ΑΜΠ από εκείνη που αρχίζει η αυξημένη παραγωγή αυτών (Wendling F 1995).

Ασθενείς με συμφορητική σπληνομεγαλία όπου το 80% των ΑΜΠ κατακρατείται στον σπλήνα δεν εμφανίζουν αύξηση παραγωγής ΑΜΠ παρόλο το χαμηλό αριθμό ΑΜΠ στη περιφέρεια και την ανεπαρκή αιμόσταση (Aster KH 1966).



Τα παραπάνω δείχνουν ότι για την απελευθέρωση θρομβοποιητίνης παίζει ρόλο η μάζα των ΑΜΠ μάλλον, παρά ο αριθμός τους (Wendling F 1996).

Επίσης για την παραγωγή των ΑΜΠ εκτός του αριθμού και της μάζας αυτών φαίνεται ότι παίζει ρόλο και η επιφάνεια των ΑΜΠ, που δρά σαν σπόγγος και απορροφά παράγοντες πήξης (Mustard SF 1970).

Οι de Gabriele και Pentington 1967 έδειξαν ότι η θρομβοποιητική δράση του πλάσματος εξαλείφεται όταν ξαναεπωασθεί με φυσιολογικά ΑΜΠ. Πρόσφατα πιστεύεται ότι υπάρχει μηχανισμός feedback μεταξύ δράσης ΑΜΠ, μάζας και επιφάνειας αυτών με πρόσθετα την μάζα και τον αριθμό των μεγακαρυοκυττάρων.



Β. ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΔΙΑΤΑΡΑΧΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΚΑΙ ΓΕΝΙΚΑ

Οι νόσοι των ΑΜΠ ταξινομούνται συνήθως ανάλογα με τον αριθμό και την δράση σε "ποσοτικές διαταραχές", "ποιοτικές διαταραχές" και σε "μυελοϋπερπλαστικές νόσους" (Cardamone JM, Harker LA, Harker LA) (Πίνακας 1).

Πίνακας 1. Διαταραχές των Αιμοπεταλίων

I. Ποσοτικές Διαταραχές

1. Θρομβοπενία
2. Θρομβοκυττάρωση

II. Ποιοτικές διαταραχές

III. Μυελοϋπερπλαστικά Σύνδρομα

ΠΟΣΟΤΙΚΕΣ ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ

Θρομβοπενία

Διακρίνεται σε ψευδοθρομβοπενία και αληθή θρομβοπενία.

Ελαττωμένη παραγωγή ΑΜΠ έχουμε σε συγγενείς και επίκτητες νόσους. Σε πολλές περιπτώσεις θρομβοπενίας η εξήγηση είναι δύσκολη, συχνά υπάρχει δυσλειτουργία των μεγακαρυοκυττάρων (Πίνακας 2).



Πίνακας 2. Αίτια θρομβοπενίας

I. Ανεπαρκής παραγωγή αιμοπεταλίων

α. Υποπλασία μεγακαρυοκυττάρων

1. Φυσικοί και χημικοί παράγοντες
2. Μυελόφθιση
3. Απλαστική αναιμία και σχετικές νόσοι

β. Ανεπαρκής θρομβοποίηση

1. Έλλειψη B₁₂ ή φυλικού οξέος
2. Μυελούπερπλαστικές νόσοι και μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα
3. Παροξυσμική νυκτερινή αιμοσφαιρινουρία

II. Αυξημένη καταστροφή

α. Με αυτοάνοσο μηχανισμό

1. Αυτοαντισώματα (ιδιοπαθής θρομβοπενική πορφύρα, Χρόνια Λεμφογενής Λευχαιμία, Λεμφώματα, Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος, κ.α.).
2. Ισοαντισώματα (πορφύρα μεθαμορραγική, νεογνική αυτοάνοσος θρομβοπενική πορφύρα)
3. Φάρμακα
4. Νόσοι ανοσοσυμπλεγμάτων

β. Μη αυτοάνοσοι μηχανισμοί

1. Διάχυτη ενδαγγειακή πήξη
2. Θρομβωτική θρομβοπενική πορφύρα/ουραιμικό αιμολυτικό σύνδρομο
3. Αραιώση

III. Σπληνομεγαλία και υπερσπληνισμός



Ψευδοθρομβοπενία

Χαμηλό αριθμό ΑΜΠ έχουμε στην ψευδοθρομβοπενία, όπου έχουμε συγκόλληση των ΑΜΠ και ενώ είναι φυσιολογικά σε αριθμό, μετρούνται ελαττωμένα. Η λήψη αίματος απ' ευθείας από το δάκτυλο του ασθενούς χωρίς να χρησιμοποιηθεί ως αντιπηκτικό EDTA και η μελέτη επιχρίσματος λύνει το πρόβλημα, γιατί εκεί φαίνεται ότι ο αριθμός των ΑΜΠ είναι φυσιολογικός. Αίτια που προκαλούν συγκόλληση είναι τα αντιπηκτικά (κυρίως EDTA), αυτοσυγκολλητίνες τύπου IgA, IgM, και IgG, διαταραχές στο σύμπλεγμα GPIIb/IIIa, ψυχροσυγκολλητίνες και συγκόλληση στην επιφάνεια των μονοκυττάρων και ουδετεροφίλων (Watkins SP Jr 1970, Onder O 1980).

Αληθής θρομβοπενία

Τη διακρίνουμε σε συγγενή και επίκτητη.

Ασθενείς με ποσοτικές ή ποιοτικές διαταραχές των ΑΜΠ έχουν συνήθως πετέχειες, αιμορραγίες, παρατεταμένο χρόνο ροής, και ανεπαρκή συστολή θρόμβου. Οι πετέχειες είναι η χαρακτηριστική βλάβη όταν υπάρχει διαταραχή τόσο του αριθμού όσο και της λειτουργικότητας των ΑΜΠ και των τριχοειδών, ενώ οι αιμορραγίες απαντώνται κυρίως σε διαταραχή των παραγόντων πήξης.

Αριθμός ΑΜΠ $\approx 50.000/\text{mm}^3$ αποτελεί το χαμηλότερο όριο για την επίτευξη ικανοποιητικής αιμόστασης αν και αυτόματες αιμορραγίες σπάνια παρουσιάζονται ακόμη και όταν τα ΑΜΠ είναι κάτω από $20.000/\text{mm}^3$ αριθμό που αποτελεί και τα όρια για μετάγγιση ΑΜΠ μετά χημειοθεραπεία ή σε κακοήθεις αιματολογικές νόσους. Επίσης σήμερα είναι γενικά παραδεκτό να μη χορηγείται θεραπεία σε ασθενείς με ΑΜΠ πάνω από $50.000/\text{mm}^3$ (George JN 1994). Παρατηρήσεις από τον Karpatkin και άλλους έδειξαν ότι η αιμόσταση είναι πιο αποτελεσματική όταν τα ΑΜΠ είναι νέα σε



σχέση με τα πιο γηρασμένα, γεγονός που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι τα αιμορραγικά προβλήματα είναι ολιγότερα όταν η θρομβοπενία οφείλεται σε αυξημένη καταστροφή (αυτοάνοσος θρομβοπενία) παρά όταν οφείλεται σε μειωμένη παραγωγή (λευχαιμία η μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα) (Hamington WS 1951).

Επίσης έχει βρεθεί ότι ασθενείς με χαμηλά ΑΜΠ που εμφανίζουν λοίμωξη όπως λ.χ. ασθενείς με λευχαιμία, έχουν αυξημένη πιθανότητα για εμφάνιση αιμορραγίας παρά όταν δεν υπάρχει λοίμωξη (de Gabride 1967, Gewitz AM 1983).

Ο αυξημένος αριθμός των ΑΜΠ σε ασθενείς με μυελοϋπερπλαστικά σύνδρομα είναι συνήθως καλά ανεκτός, αλλά μπορεί να συνοδεύεται από θρομβώσεις ή αιμορραγική διάθεση. Η θρόμβωση προκαλείται από αυξημένη αιμόσταση σε μικρές βλάβες αγγείων, αλλά η αιμορραγία δύσκολα εξηγείται (Cardamone JM 1972).

Ο Shulman και συν. περιγράφουν παιδί με βαριά συγγενή θρομβοπενία που απεκαταστάθη με χορήγηση πλάσματος που αύξησε τα ΑΜΠ. Στον παράγοντα του πλάσματος δόθηκε το όνομα θρομβοποιητίνη και πιστεύεται ότι προκαλεί ωρίμανση των μεγακαρουκυττάρων. Πιθανόν όμως να επρόκειτο και για ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα.

Συγγενείς θρομβοπενίες

1) Απλαστική Αναιμία Fanconi.

Στην αναιμία Fanconi υπάρχει θρομβοπενία που συνοδεύει την πανκυτταροπενία (Gordon Smith EC 1991).

2) Μη παραγωγή μεγακαρουκυττάρων με συγγενείς δυσπλασίες.

Η συγγενής έλλειψη μεγακαρουκυττάρων συνοδεύεται από συγγενείς διαταραχές που αφορούν τον σκελετό, τα νεφρά, και την καρδιά, και εμφανίζεται στα νεογνά. Η θρομβοπενία είναι βαριά και στο μυελό των οστών υπάρχουν πολύ λίγα



μεγακαρυοκύτταρα. Η πρόγνωση είναι βαριά και το 50% των παιδιών πεθαίνει το πρώτο εξάμηνο της ζωής (Hall JC 1987).

Επίκτητη θρομβοπενία

1) Ελαττωμένη παραγωγή AMΠ

Επίκτητες διαταραχές των μεγακαρυοκυττάρων (μεγακαρυοκυτταροπενία) που προκαλούν μέσης βαρύτητας θρομβοπενία από μη παραγωγή AMΠ απαντάται σε ασθενείς με έλλειψη B₁₂ ή φυλικό οξύ. Επίσης σε διάφορες νόσους με διήθηση του μυελού δεν γίνεται παραγωγή AMΠ. Η τοξική επίδραση ουσιών στον μυελό οδηγεί σε ανεπαρκή παραγωγή AMΠ.

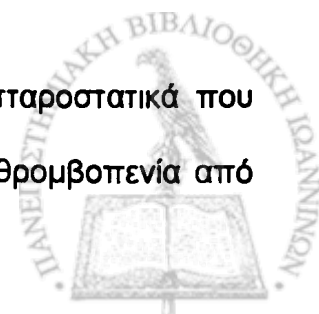
Ασθενείς με χρόνια αλκοολισμό έχουν επίσης, εκτός της ανεπαρκούς παραγωγής, πρόβλημα ωρίμανσης εμπύρηνων κυττάρων και μεγακαρυοκυττάρων αλλά είναι δύσκολο να προσδιορίσει κανείς τα αίτια γιατί υπάρχει συνοδός έλλειψη μεγάλου αριθμού βιταμινών. Οι Post και Des Forges αποδίδουν την θρομβοπενία στο αλκοόλ που προκαλεί ανεπαρκή λειτουργία μεγακαρυοκυττάρων.

Ιώσεις και φάρμακα (Miescher PA 1973, Oski FA 1966) προκαλούν θρομβοπενία μέσω καταστολής της δράσης των μεγακαρυοκυττάρων με συνέπεια μειωμένη παραγωγή AMΠ.

Κατά την διάρκεια της κύησης μπορεί να έχουμε θρομβοπενία από τις ίδιες αιτίες μικράς όμως διάρκειας. Σε προσβολή του μυελού των οστών έχουμε μεγακαρυοκυτταραιμία μαζί με δυσλειτουργία καρδιάς, με επακόλουθο θρομβοπενία σε μητέρα και νεογνό.

Οι ιογενείς λοιμώξεις που είναι συνήθως αυτοιώμενα νοσήματα με ήπια κλινική πορεία, μπορεί να προκαλέσουν παροδική θρομβοπενία.

Τα φάρμακα είναι συχνή αιτία θρομβοπενίας, όπως τα κυτταροστατικά που δρουν κατασταλτικά στο μυελό των οστών. Πιο ανεξήγητη είναι η θρομβοπενία από



τα διουρητικά τύπου θειαζίδης. Πιθανολογείται ανοσολογική δράση στα μεγακαρυοκύτταρα όπως και στα κύτταρα της ερυθράς σειράς σε περιπτώσεις απλασίας της ερυθράς σειράς (pure red cell, aplasia). Πάντως πιο συχνή είναι η θρομβοπενία που προκαλείται από φάρμακα που καταστρέφουν τα ΑΜΠ μέσω ανοσολογικού μηχανισμού. (Meischer PH 1973).

2) Αυξημένη κατακράτηση στον σπλήνα

Η σπληνομεγαλία προκαλεί θρομβοπενία είτε λόγω κατακράτησης ΑΜΠ στον σπλήνα είτε από υπερσπληνισμό.

3) Αυτοάνοσος θρομβοπενία.

Αυξημένη καταστροφή ΑΜΠ προκαλείται κυρίως από αυτοαντισώματα σε κάθε ηλικία. Στα νεογνά τα αντισώματα προέρχονται από την μητέρα, διέρχονται στον πλακούντα και καταστρέφουν τα ΑΜΠ του νεογνού. Κατά την διάρκεια την εγκυμοσύνης ΑΜΠ από το έμβρυο περνούν στην κυκλοφορία της μητέρας και εάν περιέχουν διαφορετικά αντιγόνα προκαλούν την γένεση αντισωμάτων, αυτά μεταφέρονται μέσω του πλακούντα και προκαλούν καταστροφή ΑΜΠ και θρομβοπενία στο νεογνό. Τα ΑΜΠ της μητέρας είναι ασφαλή και δεν καταστρέφονται από τα αντισώματα. Η παραπάνω αυτοάνοσος θρομβοπενία δεν έχει σχέση με το σύστημα ABO ή Rh αλλά με το HLA σύστημα ιστοσυμβατότητας (Shulman NR 1964). Επειδή είναι δύσκολη η διάγνωση, γίνεται εξ αποκλεισμού. Κατ' αρχάς αποκλείεται η θρομβοπενία από λοιμώξεις. Ιαίμια της μητέρας από κυτταρομεγαλοϊό και ερυθρά είναι δυνατό να προκαλεί διαταραχές στη παραγωγή των ΑΜΠ καθώς και καταστροφή αυτών. Βακτηριαίμια στα νεογνά μπορεί να προκαλέσει διάχυτη ενδαγγειακή πήξη και θρομβοπενία και πρέπει να διαφοροδιαγνωσθεί από την περιφερική ή καταστροφή αιμοπεταλίων. Άλλες λοιμώξεις που πρέπει να αποκλεισθούν είναι η σύφιλις και η τοξοπλάσμωση. Επίσης πρέπει να γίνει διαφορική διάγνωση από την ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα της μητέρας καθώς και από την λήψη φαρμάκων που δρουν



ως απτίνη και προκαλούν την γένεση αντισωμάτων στα ευαισθητοποιημένα άτομα (Freedman J 1986, Fenton V 1977).

Τα αντισώματα μαζί με το φαρμακο-απτίνη συνδέονται με την μεμβράνη των ΑΜΠ. Ακόμη πιστεύεται ότι τα φάρμακα ενώνονται με την μεμβράνη και μετά με τα αντισώματα του ορού. Η παραπάνω επικάλυψη της μεμβράνης προκαλεί συγκόλληση των ΑΜΠ, ενεργοποίηση του συμπληρώματος και καταστροφή των ΑΜΠ. Πολλά φάρμακα ενοχοποιούνται για την ανοσολογική καταστροφή των ΑΜΠ αλλά ο Miescher (1973) έδειξε ότι μικρός αριθμός από αυτά επιβεβαιώθηκε σε in vitro και in vivo μελέτες όπως κινιδίνη, διγοξίνη, μεθυλδόπα, σουλφοναμίδες, stibophen, sedormid και ο χρυσός (Rosse WF 1984, Schloesser IL 1968, King DJ 1984).

Η εμφάνιση θρομβοπενίας μετά λήψη ασπιρίνης ή αντισυλληπτικών είναι μάλλον συνύπαρξη παρά αιτιολογία (Roth G 1975).

Η ηπαρίνη προκαλεί επίσης θρομβοπενία. Η πιθανότερη εξήγηση είναι ότι δρα σαν αντιγόνο και ενισχύοντας έτσι την συσσώρευση των ΑΜΠ, οδηγώντας σε τοπική ή συστηματική ενεργοποίηση του μηχανισμού της πήξης (King and Kelton 1984). Η ανεύρεση του φαρμάκου που προκαλεί θρομβοπενία γίνεται με τον προσδιορισμό της ανεπάρκειας των ΑΜΠ όταν προστεθεί το φάρμακο και γίνεται είτε με αναστολή συγκόλλησης, αναστολή συστολής θρόμβου, δράση συμπληρώματος ή προσδιορισμού IgG αντισώματος στην επιφάνεια των ΑΜΠ.

α) Ιδιοπαθής θρομβοπενική πορφύρα

Η ιδιοπαθής θρομβοπενική πορφύρα είναι επίκτητη αυτοάνοσος νόσος όπου τα ΑΜΠ αποτελούν στόχο ειδικών αντισωμάτων και καταστρέφονται στο δικτυοενδοθηλιακό σύστημα κυρίως δε το ήπαρ και τον σπλήνα. Αποτελεί την κύρια αιτία επίκτητης θρομβοπενίας στα παιδιά και τα ενήλικα άτομα. Η αιτία ανάπτυξης των



αντισωμάτων αυτών τόσο σε υγιή άτομα όσο και σε πάσχοντα από διάφορες νόσους παραμένει αδιευκρίνιστη. Θρομβοπενία απαντάται και στα ζώα.

Διακρίνεται σε οξεία, που απαντάται συνηθέστερα στα παιδιά, και χρόνια που απαντάται συνηθέστερα στους ενήλικους. Χαρακτηριστικά της νόσου είναι η ανάπτυξη αντισταμοπεταλιακών αυτοαντισωμάτων, συνήθως IgG. Ο σπλήνας παίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεια της νόσου διότι αποτελεί τον τόπο καταστροφής των ΑΜΠ (Hayward 1993).

Στα παιδιά συνήθως η ιδιοπαθής θρομβοπενική πορφύρα είναι οξεία και αυτοϊώμενη νόσος και συχνά ακολουθεί ιογενείς λοιμώξεις.

Στους ενήλικες συνηθέστερη είναι η χρόνια μορφή της νόσου, σπάνια αυτοϊάται και παρόλο που πιστεύεται ότι είναι αυτοάνοσος, η αιτιολογία της παραμένει ακόμη άγνωστη. Όταν ενοχοποιηθούν αντισώματα μπορούμε να την ονομάζουμε αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα. Οξεία θρομβοπενία συνήθως συνοδεύει ιώσεις όπως, ερυθρά, ανεμοευλογιά, και ιλαρά, αλλά συχνά συνυπάρχει και με λοιμώξεις του αναπνευστικού αλλά και του γαστρεντερικού συστήματος. Η θρομβοπενία εμφανίζεται συχνά μετά από τα συμπτώματα της ιώσης και αυτό συνηγορεί ότι η βλάβη του ΑΜΠ προέρχεται από τα αντισώματα παρά από τον ιό. Πιστεύεται ότι η παραγωγή των αντισωμάτων κατά των ΑΜΠ διεγείρεται από τις αντιγονικές αλλοιώσεις της κυτταρικής μεμβράνης των ΑΜΠ που οφείλονται στην προσκόλληση ιικών σωματιδίων. Πάντως όπως και στην θρομβοπενία από φάρμακα, το ΑΜΠ φαίνεται ότι αποτελεί το θύμα της θανατηφόρου αντίδρασης του συμπλέγματος αντιγόνου αντισώματος. Η ιδιοπαθής θρομβοπενική πορφύρα ομοιάζει προς την αυτοάνοσο αιμολυτική αναιμία και φαίνεται ότι έχουν παρόμοια παθογένεση. Σε ορισμένες περιπτώσεις η διάρκεια της νόσου εξαρτάται από τα κυκλοφορούντα αντιγόνα των ιών. Η σπληνεκτομή βοηθά σε ποσοστό 80%, αποφεύγεται όμως στα παιδιά.



Η χρόνια ιδιοπαθής θρομβοπενική πορφύρα συνήθως είναι νόσος των ενηλίκων, οφείλεται σε αυτοάνοσο μηχανισμό και πρέπει να γίνεται έλεγχος για υποκείμενο αυτοάνοσο νόσημα όπως συστηματικός ερυθματώδης λύκος, λεμφοϋπερπλαστική νόσος (χρόνια λεμφογενής λευχαιμία, λέμφωμα) ή και μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο. Παλαιότερα (Frank Williams) πίστευαν ότι η ιδιοπαθής θρομβοπενική πορφύρα οφείλεται σε ανεπαρκή ωρίμανση των μεγακαρυοκυττάρων. Ο Minot Williams πίστευε ότι τα ΑΜΠ καταστρέφονται μόλις παραχθούν.

Πρώτοι οι Harrington και συν. (1951) προσδιόρισαν ως αιτία της νόσου την καταστροφή των ΑΜΠ από αυτοάνοσους μηχανισμούς βρίσκοντας ότι οι γ-σφαιρίνες των ασθενών με χρόνια ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα προκαλούσαν νόσο και σε φυσιολογικά άτομα όταν εχορηγούντο εξωγενώς. Επίσης τα νεογνά από μητέρες με ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα είχαν και τα ίδια θρομβοπενία κατά την γένεση. Ο Maerby βρήκε ότι τα ΑΜΠ είναι καλυμμένα με μονοκλωνικά IgG αντισταμοπεταλιακά αυτοαντισώματα. Έτσι φαίνεται ότι το αντίσωμα δρα σε όλα τα ΑΜΠ εναντίον ενός κοινού στοιχείου του ΑΜΠ παρά σε ένα ειδικό αντιγόνο. Οι γλυκοπρωτείνες της μεμβράνης των ΑΜΠ, IIb/IIIa και Ib/IX, φαίνεται ότι είναι οι πιο συχνές θέσεις σύνδεσης των αντισταμοπεταλιακών αντισωμάτων του ορού. Επίσης έχει βρεθεί ότι οι θέσεις των γλυκοπρωτεϊνών VI, IV, Ia, αποτελούν μη ειδικά αντιγόνα των ΑΜΠ. Με ειδικά αντιγόνα προσδιορίστηκαν οι θέσεις αντίδρασης αντισωμάτων τόσο μέσα στο κύτταρο των ΑΜΠ όσο και εξωκυτάρια (Fujisaawa K 1992, Nomura S 1991, Kiepel 1992).

Τα τελευταία χρόνια έχει βρεθεί ότι οι PAIg (platelet associated immunoglobulins) όπως η PAIgG, η PAIgM και η PAIgA κυρίως όμως οι δύο πρώτες και από αυτές πιο συχνά η PAIgG είναι αυξημένες στο μεγαλύτερο ποσοστό των ασθενών με χρόνια ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα αλλά ανευρίσκονται και σε άλλης αιτιολογίας θρομβοπενίες (Sinha RK 1990, Kelton JG 1989).



Αυξημένα επίπεδα συμπληρώματος C₃ και C₄ και των υποπροϊόντων τους έχουν βρεθεί επίσης σε ασθενείς με ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα (Shulman NR).

Περίπου 4fg μη ειδικής IgG υπάρχουν φυσιολογικά στα κοκκία των ΑΜΠ και μπορεί να εκκρίνονται με κάθε διέγερση. Όταν χρησιμοποιηθεί μέθοδος που δεν δύναται να διακρίνει την IgG των α κοκκίων από την IgG της επιφάνειας των ΑΜΠ μπορεί να έχουμε λανθασμένα αποτελέσματα. Λάθη επίσης υπάρχουν από την αλβουμίνη των ΑΜΠ που μπορεί να δώσει λανθασμένες πληροφορίες καθώς και από αντιδράσεις ανοσοσυμπλεγμάτων.

Ο προσδιορισμός των αντισταμοπεταλιακών αντισωμάτων στον ορό μπορεί να αποδώσει θετικά αποτελέσματα στο 27 έως 95% των ασθενών (Fujisawa K 1991). Η μέτρηση των λεμφοκυττάρων έχει ποικίλα αποτελέσματα στην ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα όπου έχει βρεθεί αυξημένος αριθμός Τ κατασταλτικών κυττάρων, ελαττωμένη ή φυσιολογική σχέση βοηθητικών προς κατασταλτικά κύτταρα, αυξημένα T₄⁺, T₈⁺, κ.λ.π. (Semple JW 1991).

Ο σπλήνας είναι πλούσιος σε μονοκύτταρα και μακροφάγα με Fc υποδοχείς που έχουν την ικανότητα να φαγοκυτταρώνουν το σύμπλεγμα ΑΜΠ-αντισωμάτων. Επίσης τα λεμφοκύτταρα του σπληνός παράγουν μεγάλες ποσότητες IgG αντισωμάτων. Σε μερικές μελέτες περιγράφεται ακόμη γενετική προδιάθεση για την χρόνια ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα.

Η παραγωγή των ΑΜΠ και η διακίνηση αυτών έχει περιγραφεί αυξημένη ή φυσιολογική. Επίσης έχουν βρεθεί αυτοαντισώματα ακόμη και έναντι των μεγακαρυοκυττάρων. Τα αντισώματα αυτά προκαλούν αναστολή των αποικιών ωρίμανσης και πολλαπλασιασμού των μεγακαρυοκυττάρων και πιθανολογείται η ύπαρξη αυτοαντισωμάτων που αναστέλλουν την παραγωγή ΑΜΠ από τα μεγακαρυοκύτταρα.



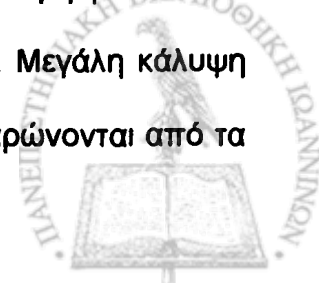
Τόπος καταστροφής των ΑΜΠ είναι κυρίως ο σπλήνας όπως φαίνεται με ανίχνευση με ραδιοσημασμένα ΑΜΠ (Najeau Y 1991, Cohen P 1961). Σε ασθενείς με οξεία νόσο βρέθηκε ότι υπάρχει καταστροφή και στο ήπαρ. Πάντως πρέπει να γίνεται αν είναι δυνατόν προσδιορισμός του τόπου καταστροφής των ΑΜΠ γιατί σε περίπτωση καταστροφής στο ήπαρ, η σπληνεκτομή είναι χωρίς αποτέλεσμα.

Τα οιστρογόνα και άλλες ορμόνες παίζουν σημαντικό ρόλο, γι' αυτό πιο συχνή είναι η ιδιοπαθής θρομβοπενική πορφύρα σε έφηβους και νεαρές γυναίκες, καθώς και κατά την διάκρεια της εγκυμοσύνης, ενώ σπάνια παρατηρείται μετά την εμμηνόπαυση. Η ποιοτική δράση των ΑΜΠ μπορεί επίσης να επηρεασθεί στην ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα και να αυξηθεί η αιμορραγική διάθεση.

Η ιδιοπαθής θρομβοπενική πορφύρα μπορεί να είναι δευτεροπαθής σε λοίμωξη από τον ιό HIV 1, σε αιμορροφιλία, κύηση, σαρκοείδωση, λέμφωμα, χρόνια λεμφογενή λευχαιμία συστηματικό ερυθματώδη λύκο, θυρεοτοξίκωση και πιο σπάνια σε σκληρόδερμα, θυροειδίτιδα Hashimoto, ελκώδη κολίτιδα, νόσο του Gaucher, χολική κίρρωση, αιμοχρωμάτωση, μυασθένεια καθώς και σε καρκίνο (Hall S 1985, McCarty DJ 1986).

Επίσης σε άτομα που έχουν υποστεί μεταμόσχευση μυελού των οστών ή συμπαγών οργάνων μπορεί να εμφανισθεί σποραδικά ιδιοπαθής θρομβοπενική πορφύρα. Οι παραπρωτεΐνες μπορεί να αντιδρούν με ΑΜΠ και να προκαλούν θρομβοπενία. Τέλος το σύνδρομο Evans χαρακτηρίζεται από την συνύπαρξη αυτοάνοσης αιμολυτικής αναιμίας και αυτοάνοσης θρομβοπενίας (Degels IG 1982).

Ο παράγοντας που είναι υπεύθυνος για την παραγωγή των αυτοαντισωμάτων είναι άγνωστος, πιθανολογείται όμως και εδώ η ιογενής προέλευση. Η βαρύτητα της ιδιοπαθούς θρομβοπενικής πορφύρας και η απόκριση στην σπληνεκτομή φαίνεται ότι εξαρτάται από το ποσό των αντισωμάτων που καλύπτουν τα ΑΜΠ. Μεγάλη κάλυψη προκαλεί σημαντικού βαθμού καταστροφή των ΑΜΠ που φαγοκυτταρώνονται από τα



μακροφάγα και η σπληνεκτομή βοηθά μόνο μερικώς στην αποκατάσταση του αριθμού των ΑΜΠ. Ήπια κάλυψη δεν προκαλεί αξιοσημείωτη συγκόλληση των ΑΜΠ και φαγοκυττάρωση από τα μακροφάγα παρά μόνο κατακράτηση και καταστροφή στο σπλήνα. Σ' αυτή την περίπτωση η σπληνεκτομή αποτελεί πιο αποτελεσματική θεραπεία. Σε μερικές περιπτώσεις η σπληνεκτομή μειώνει τον τίτλο των αντισταμοπεταλιακών αντισωμάτων και αυτό υποδηλώνει την παραγωγή αντισωμάτων από τον σπλήνα (Mc Millan 1974).

Σήμερα πιστεύεται ότι ο σπλήνας παράγει Β λεμφοκύτταρα (CD_5^+) τα οποία είναι υπεύθυνα για την παραγωγή αντισωμάτων έναντι των ΑΜΠ. Μετά από σπληνεκτομή πολλές φορές γίνεται η διάγνωση λεμφώματος ή συστηματικού ερυθρηματώδους λύκου.

Τα μεγακαρυοκύτταρα στην ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα συνήθως είναι αυξημένα σε αριθμό ή είναι φυσιολογικά (Mizutani H 1991). Ένα από τα περισσότερο αμφισβητούμενα ευρήματα στην ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα είναι η παρουσία μεγακαρυοκυττάρων με ασυνήθη μορφολογική εμφάνιση. Τα μεγακαρυοκύτταρα δεν είναι μόνο αυξημένα, έχουν λιγότερη κοκκίωση, είναι πιο βασεόφιλα, πολλά είναι άωρα και είναι διασπασμένα σε ενδοκυτταροπλασματικούς σχηματισμούς και δεν εμφανίζουν παραγωγή ΑΜΠ. Η εξέταση μύελου των οστών αποκλείει λευχαιμία και άλλες κακοήθειες αιματολογικές νόσους ή διήθηση του μυελού από ξένα κύτταρα. Φαίνεται ότι τα αντισώματα δρούν ακόμη και εναντίον των μεγακαρυοκυττάρων και εμποδίζουν την παραγωγή ΑΜΠ.

Πάντως, από την διακίνηση των ΑΜΠ φαίνεται ότι υπάρχει αυξημένη τιμή παραγωγής ΑΜΠ και απελευθέρωση ενωρίτερα των ΑΜΠ από τα άωρα μεγακαρυοκύτταρα. Η παρουσία ευμεγέθων ΑΜΠ επίσης υποδηλώνει πρωϊμότερη παραγωγή με απελευθέρωση μεγάλων τεμαχίων μεγακαρυοκυττάρων (Pisciotta AV 1953, Queisser V 1971).



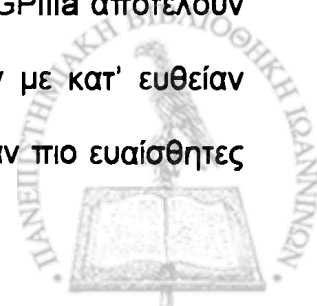
Τα ΑΜΠ στην ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα κυμαίνονται από $5-75 \times 10^9/L$. Στη χρόνια ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα είναι ευμεγέθη, συχνά δε ανευρίσκονται γιγαντιαία ΑΜΠ και θραύσματα μεγακαρυοκυττάρων. Αντισώματα εναντίον των ΑΜΠ ανευρίσκονται σε υψηλό ποσοστό ασθενών.

Αν και από δεκαετίες έχει γίνει παραδεκτό ότι οι περισσότερες αιτίες της ιδιοπαθούς θρομβοπενικής πορφύρας οφείλονται σε αυτοαντισώματα εναντίον των ΑΜΠ, η κλινική αξιολόγηση των ορολογικών αντιδράσεων ποτέ μέχρι σήμερα δεν μπόρεσε να προσδιορισθεί ακριβώς. Η αξιολόγηση και η διάγνωση της ιδιοπαθούς θρομβοπενικής πορφύρας πρέπει να γίνει με όσο το δυνατόν περισσότερα εργαστηριακά και κλινικά ευρήματα, γιατί ως γνωστό είναι μια διάγνωση εξ αποκλεισμού. Σε πολλούς ασθενείς η διάγνωση στηρίζεται στα κλινικά ευρήματα της νόσου (Harrington WJ 1953, Kelton JG 1995, Brighton TA 1996).

Σήμερα, αντισώματα έναντι των συμπλεγμάτων των γλυκοπρωτεϊνών, IIb/IIIa, και IIb/IX, έχουν βρεθεί στα ΑΜΠ και στο πλάσμα. Συχνά σε ασθενείς υπάρχουν αντισώματα που στρέφονται εναντίον και άλλων μη ειδικών γλυκοπρωτεϊνών. Τα αντισώματα εναντίον των γλυκοπρωτεϊνικών συμπλεγμάτων IIb/IIIa και IIb/IX μπορεί να είναι διαφόρων μορφών ανοσοσφαιρίνες και να στρέφονται προς ενδοκυττάρια και εξωκυττάρια επιτόπους των γλυκοπρωτεϊνών και όπως αναφέρθηκε δεν είναι όλα παθογενετικά της νόσου (Jones CD 1990, George JN 1990, George JN 1996).

Τα παραπάνω αντισώματα συχνά ελαττώνονται ή εξαφανίζονται κατά την κλινική ύφεση της νόσου, πιθανόν από την δράση των κορτικοστεροειδών, ενώ τα μη παθογενετικά αντισώματα δεν μεταβάλλονται (Jones CD 1990).

Αντισώματα εναντίον των γλυκοπρωτεϊνών έχουν βρέθει τα τελευταία 10 έτη. Πρώτα οι Van-Leewen και συν. βρήκαν ότι οι πρωτεΐνες GPIIb και GPIIIa αποτελούν ισχυρούς αντιγονικούς στόχους. Οι Woods και συν. προσδιόρισαν με κατ' ευθείαν μέθοδο αντισώματα κατά των πρωτεϊνών αυτών. Αργότερα βρέθηκαν πιο ευαίσθητες



μέθοδοι, όπως ανοσολογικές μέθοδοι και μέθοδοι με μονοκλωνικά αντισώματα, που ακινητοποιούν τα αντιγόνα των ΑΜΠ (ΜΑΙΡΑ) (Kiefel 1992, Lind SE 1991).

Τα αντισώματα εναντίον των GPIIb/IIIa αποτελούν τα πιο συχνά αντισώματα στη χρόνια ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα και ακολουθούν τα GPIb/IX. Προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει συχνότητα IgG αντισωμάτων στο ορό από 10 μέχρι 76%. Οι μέθοδοι immunoprecipitation και ELISA προσδιόρισαν συχνότητα μέχρι 50%.

Η κλινική και παθογενετική αξιολόγηση των ειδικών αντισωμάτων εναντίον των γλυκοπρωτεϊνών δεν είναι καλά κατανοητή (Kelton JG 1989).

Χρησιμοποιώντας ανοσοκαθήλωση βρέθηκαν αντισώματα έναντι των γλυκοπρωτεϊνών πιο συχνά ($P < 0.01$) σε ασθενείς με ενεργό νόσο και μη σπληνεκτομηθέντες ασθενείς με ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα, σε σχέση με ασθενείς με ύφεση ($ΑΜΠ > 150 \times 10^9/L$) και σε σπληνεκτομηθέντες ασθενείς. Αυτό συνηγορεί ότι τα αυτοαντισώματα είναι σχετικά με την ενεργότητα της νόσου και έχουν σχέση με την παθογένεση της ιδιοπαθούς θρομβοπενικής πορφύρας (Najean Y 1991).

Ο προσδιορισμός των επιτόπων μπορεί να καθορίσει την βαρύτητα της ιδιοπαθούς θρομβοπενικής πορφύρας και ότι αντισώματα εναντίον GPIb/IX ανευρίσκονται κυρίως σε βαριά νόσο καθώς και σε αποφρακτική μορφή (Nomura). Πάντως, αυτό αντικρούεται από τον Kiefel και τους συνεργάτες του.

Η θεραπεία παραμένει εμπειρική και στοχεύει σε μη ειδική ανοσοκαταστολή ή αναστολή δράσης του δικτυοενδοθηλιακού συστήματος. Αυτόλογοι ή περιβαλλοντικοί παράγοντες παίζουν σημαντικό ρόλο στην αυτοανοσία.

Σε λοιμώξεις υπάρχει συχνά θρομβοπενία μη ανοσολογικής αιτιολογίας (σηψαιμία). Πάντως σε λοιμώδη μονοπυρήνωση, ιστοπλάσμωση, τοξοπλάσμωση, φυματίωση, κυτταρομεγαλοϊό, λοιμώδη ηπατίτιδα, ελονοσία, λεπτόσπειρωση, και



νόσο του Lyme μπορεί να συνυπάρξει ιδιοπαθής θρομβοπενική πορφύρα, που αποδίδεται σε ύπαρξη αντισωμάτων εναντίον κρυπτοαντιγόνων λόγω αντίδρασης ανοσοσυμπλεγμάτων με τα ΑΜΠ ή στην ύπαρξη αληθινών αυτοαντισωμάτων έναντι των ΑΜΠ που σχηματίζονται από αντίδραση εναντίον των οργανισμών που προκαλούν την λοίμωξη (Kappers-Klunne MC 1984, Karpatkin S 1972).

Κλινική εικόνα της ιδιοπαθούς θρομβοπενικής πορφύρας

Η χρόνια ΙΤΡ εμφανίζεται συνήθως στις ηλικίες μεταξύ 20 και 50 χρονών αλλά μπορεί να εμφανισθεί και σε πολύ νεαρότερα καθώς και σε πολύ ηλικιωμένα άτομα. Πιο συχνά εμφανίζεται στις γυναίκες απ' ό,τι στους άντρες, σε συχνότητα 3/1.

Η κλινική εικόνα ποικίλει και μπορεί να προηγείται της διάγνωσης για αρκετό χρονικό διάστημα. Συνήθως η νόσος εκδηλώνεται με πετέχειες, εκχυμώσεις ή αιμορραγίες όπως ρινορραγία, αιμορραγία από τα ούλα, μηνορραγία, γαστρορραγία και πιο σπάνια αιμορραγία από το ΚΝΣ. Συνήθως η αιμορραγία εμφανίζεται όταν ο αριθμός των ΑΜΠ είναι πολύ χαμηλός, κάτω και από $10 \times 10^9/L$ (Bernard J 1962, McMillan R 1981).

Διαφορική Διάγνωση

Η διαφορική διάγνωση της ιδιοπαθούς θρομβοπενικής πορφύρας πρέπει να γίνει από όλες τις νόσους που προαναφέραμε αλλά κυρίως από σηψαιμία, αντίδραση σε φάρμακα, διάχυτη ενδαγγειακή πήξη και θρομβωτική θρομβοπενική πορφύρα. Οι δύο τελευταίες χαρακτηρίζονται από σπασμένα ερυθρά. Επίσης πρέπει να αποκλείεται η ύπαρξη συστηματικού ερυθρηματώδους λύκου, λεμφώματος, φυματίωσης, θυρεοτοξίκωσης συνήθως, σπανιότερα υποθυρεοειδισμού και σαρκοείδωσης (Miescher PA 1973, Colman KW 1979, Machin SL 1984).



Θεραπεία

Περίπου 10% των ασθενών με χρόνια ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα μπορεί να αυτοϊαθούν.

Θεραπεία χορηγείται σε ασθενείς που εμφανίζουν αιμορραγική διάθεση. Σήμερα γενική αρχή είναι να μη χορηγείται θεραπεία σε ασθενείς με ΑΜΠ μέχρι $50 \times 10^9/L$ όταν δεν υπάρχει αιμορραγική διάθεση. Η θεραπεία της ιδιοπαθούς θρομβοπενικής πορφύρας συνιστάται κυρίως σε χορήγηση ΑΜΠ. Συμπυκνωμένα ΑΜΠ χορηγούνται μόνο σε βαριές αιμορραγίες και αιμορραγία από το ΚΝΣ. Η κύρια θεραπευτική αγωγή για τη νόσο είναι η χορήγηση κορτικοειδών και υπεράνοσης γ σφαιρίνης (SVIG) σε διάφορα θεραπευτικά σχήματα. Σε περίπτωση αστοχίας της αγωγής γίνεται σπληνεκτομή. Σε υποτροπή ή αποτυχία μετά την σπληνεκτομή ή σε ασθενείς με ανθεκτική στη θεραπεία νόσο μπορούν να χορηγηθούν, ανδρογόνα, ανοσοκατασταλτικά και κυτταροστατικά φάρμακα όπως κυκλοφωσφαμίδη ή βινηριστίνη, χωρίς όμως θεαματική ανταπόκριση (Hayward C 1993, Manotharan A 1991).

Κορτικοστεροειδή

Η δράση των κορτικοστεροειδών στην ΙΤΡ οφείλεται κυρίως στη καταστολή της φαγοκυτταρικής ικανότητας των μονοπύρηνων - φαγοκυττάρων και δευτερευόντως του σπλήνα και αυξάνεται έτσι ο χρόνος ζωής των καλυμμένων με αντισώματα ΑΜΠ.

Επίσης αναστέλλεται η παραγωγή των αντισωμάτων τα οποία παύουν να υπάρχουν σε ασθενείς με ανταπόκριση στη θεραπεία. Ξεχωριστή δράση των κορτικοστεροειδών προκαλεί αύξηση της παραγωγής των ΑΜΠ καθώς και ελάττωση της ευθραυστότητας των τριχοειδών χωρίς το τελευταίο να αποδεικνύεται πλήρως (Kitchens CS 1977, Luscher JM 1966, Handin KI 1978).



Σπληνεκτομή

Η σπληνεκτομή βοηθά στη θεραπεία της ιδιοπαθούς θρομβοπενικής πορφύρας γιατί η αφαίρεση του σπλήνα απαλλάσσει τον ασθενή από την κύρια εστία καταστροφής των ΑΜΠ και ακόμη γιατί ο σπλήνας αποτελεί τόπο παραγωγής αντισωμάτων.

Πρέπει να γίνεται έλεγχος πάντα για παρακείμενα παρασπληνίδια που μπορεί μετά την σπληνεκτομή να λειτουργήσουν ως επικουρικοί σπλήνες και να αποτελέσουν τόπο καταστροφής των ΑΜΠ.

Η ανταπόκριση στη σπληνεκτομή κυμαίνεται από 70-90% και η αύξηση των ΑΜΠ μπορεί να επισυμβεί το πρώτο 24ωρο αν και πολλές φορές απαιτείται χρονικό διάστημα 2-3 εβδομάδων. Στους ασθενείς στους οποίους η σπληνεκτομή αποτυγχάνει να βελτιώσει τον αριθμό των ΑΜΠ, συνήθως η θρομβοπενία διορθώνεται με δόσεις κορτικοστεροειδών πολύ χαμηλότερες από ό,τι προηγουμένως. Η ανίχνευση αντισωμάτων στον ορό συνήθως αποβαίνει αρνητική όταν υπάρχει πλήρης ύφεση της νόσου. Δεν υπάρχει απόλυτος τρόπος για να ελεγχθούν οι ασθενείς που θα απαντήσουν στη σπληνεκτομή. Συνήθως άτομα ηλικίας μικρότερης των 50 χρόνων απαντούν καλύτερα στην σπληνεκτομή. Η χρήση ραδιενεργά σσημασμένων ΑΜΠ για να δείξουν τον τόπο καταστροφής τους, δεν είναι πάντα αποτελεσματική. Πολλές φορές ασθενείς με συστηματικό ερυθματώδη λύκο εμφανίζουν την νόσο ή οδηγούνται σε έξαρσή της μετά την σπληνεκτομή για αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα, και έτσι είναι αμφιλεγόμενα τα αποτελέσματα της σπληνεκτομής στους ασθενείς (Orringer E 1970, Block GE 1966).

Ανοσοσφαιρίνες

Η χορήγηση ανοσοσφαιρινών σε αρκετά υψηλές δόσεις (400 mg/Kgr βάρους σώματος για 4-5 ημέρες σε κύκλους 21 ημερών) αποδείχθηκε ευεργετική όσον αφορά



την αύξηση των ΑΜΠ κυρίως για άτομα κάτω των 50 ετών. Έχει βρεθεί ότι η χορήγηση καθαρής IgG ανοσοσφαιρίνης είναι πιο αποτελεσματική όταν οι ασθενείς δεν έχουν μακράς διάρκειας νόσο. Ο αριθμός των ΑΜΠ κατά τον χρόνο της θεραπείας δεν έχει σχέση με την ανταπόκριση, και η διάρκεια του θεραπευτικού αποτελέσματος είναι μεγαλύτερη σε ασθενείς που επιτυγχάνουν μεγάλη αύξηση των ΑΜΠ ενωρίς.

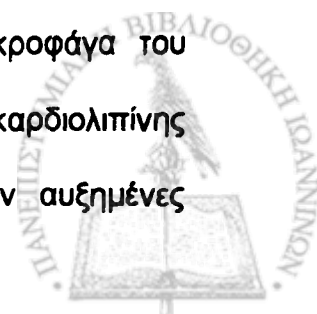
Στην μεγάλη πλειονότητα των ασθενών όμως εμφανίζεται εκ νέου θρομβοπενία μετά πάροδο 7-9 ημερών, γι' αυτό πρέπει να δίνεται σε οξείες καταστάσεις ή σε συνδυασμό με κορτικοστεροειδή. Η δράση της IgG ανοσοσφαιρίνης εξασκείται πάνω στα μονοπύρρηνα-μακροφάγα και εμποδίζει την δράση τους. Επίσης ρυθμίζει την παραγωγή αντισωμάτων και αναστέλλει την σύνδεση των αυτοαντισωμάτων με τα ΑΜΠ (Uchino H 1984, Wamier I 1984).

β) Συστηματικός ερυθματώδης λύκος

Ο συστηματικός ερυθματώδης λύκος υπάγεται στα αυτοάνοσα νοσήματα. Στα νοσήματα αυτά υπάρχει δυσλειτουργία του ανοσολογικού συστήματος με παρουσία διαταραχών της κυτταρικής ανοσίας και ισχυρή τάση για σχηματισμό αυτοαντισωμάτων.

Συχνά υπάρχουν αιματολογικές διαταραχές με πιο συχνό εύρημα την αναιμία και λιγότερο συχνά ευρήματα την λευκοπενία και την θρομβοπενία. Η αυτοάνοσος θρομβοπενική πορφύρα αποτελεί συχνό εύρημα στον συστηματικό ερυθματώδη λύκο και θεωρείται κακός προγνωστικός παράγοντας (Maier WP 1990).

Η θρομβοπενία στον συστηματικό ερυθματώδη λύκο είναι πολυπαραγοντική και μπορεί να οφείλεται σε υπερσπληνισμό, σε ανεπαρκή παραγωγή ΑΜΠ αλλά και σε παραγωγή αυτοαντισωμάτων που καταστρέφουν τα ΑΜΠ στα μακροφάγα του δικτυοενδοθηλιακού συστήματος. Επίσης ασθενείς με αντισώματα κατά καρδιολιπίνης ή με αντιπηκτικό του λύκου (αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα) έχουν αυξημένες



πιθανότητες να αναπτύξουν βαρεία θρομβοπενία, επανειλημμένες αποβολές, θρομβώσεις και νευρολογικές επιπλοκές. Ιδιαίτερα ασθενείς με υψηλό τίτλο IgG προς τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα έχουν μεγαλύτερο ποσοστό θρομβοπενίας.

Η αυτοάνοσος θρομβοπενία στον συστηματικό ερυθματώδη λύκο μοιάζει με την ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα αν και υπάρχουν σημαντικές διαφορές όπως:

- i) Οι ασθενείς με συστηματικό ερυθματώδη λύκο δεν εμφανίζουν βαριά θρομβοπενία. Αιμορραγική διάθεση είναι σπάνια.
- ii) Πολλοί απαντούν σε θεραπεία με danazol.
- iii) Η σπληνεκτομή δεν βοηθά όπως στην ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα (Hayward C 1993).

Γενικά περίπου το 10-15% των ασθενών με συστηματικό ερυθματώδη λύκο εμφανίζουν αυτοάνοσο θρομβοπενία κατά την πορεία της νόσου, ενώ το 5-10% χρειάζεται θεραπεία. Σε μεγάλο ποσοστό από τους παραπάνω ασθενείς μπορεί η θρομβοπενία να προηγείται για μεγάλο χρονικό διάστημα πριν την κλινική εμφάνιση της νόσου.

Με ευαίσθητες τεχνικές μπορεί να γίνει ανίχνευση αντισωμάτων μέχρι 78% των ασθενών με συστηματικό ερυθματώδη λύκο και σε πολλούς μάλιστα από αυτούς δεν υπάρχει θρομβοπενία.

Ο μυελός των οστών είναι γενικά υπερπλαστικός όσον αφορά την μεγακαρυοκυτταρική σειρά και με παραγωγή AMΠ αρκετές φορές μεγαλύτερη από την φυσιολογική (Hyde P 1987).

Μερικές φορές η παραγωγή AMΠ είναι μικρότερη λόγω καταστροφής από αντισώματα και το μέγεθος των AMΠ είναι μεγαλύτερο. Γενικά το μεγάλο μέγεθος των AMΠ αντισταθμίζει, όπως και στην ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα, τον μειωμένο αριθμό των AMΠ. Στον συστηματικό ερυθματώδη λύκο η λειτουργικότητα των AMΠ είναι διαταραγμένη.



Αν και οι ασθενείς με συστηματικό ερυθματώδη λύκο έχουν υψηλούς τίτλους αντισταθμιστικών αντισωμάτων, η πλειονότητα των ασθενών με ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα και θετικά αντιπυρηνικά αντισώματα σε χαμηλούς τίτλους δεν αναπτύσσουν συστηματικό ερυθματώδη λύκο. Η πρόγνωση της θρομβοπενίας στους ασθενείς με συστηματικό ερυθματώδη λύκο εξαρτάται από την γενική συμπεριφορά της νόσου. Αποτελεί αξιοσημείωτο εύρημα ότι οι ασθενείς με συστηματικό ερυθματώδη λύκο που ανέπτυξαν θρομβοπενία δεν εμφάνισαν σε μεγάλο βαθμό επιδείνωση της νόσου. Αντίθετα, η εμφάνιση θρομβοπενίας σε αγγειίτιδα έχει χειρότερη πρόγνωση για την νόσο. Η εμφάνιση θρομβοπενίας σε ασθενείς με αντισώματα κατά καρδιολιπίνης προδιαθέτει σε εμφάνιση θρομβώσεων και καθ' ἑξιν αποβολών σε ἔγκυες. Η μη παραγωγή μεγακαρυοκυττάρων αποτελεί ξεχωριστή οντότητα.

Η θεραπεία της αυτοάνοσης θρομβοπενίας σε ασθενείς με συστηματικό ερυθματώδη λύκο γίνεται με κορτικοστεροειδή, ανοσοσφαιρίνες και πολύ σπάνια σπληνεκτομή. Έχουν αναφερθεί καλά αποτελέσματα με την χορήγηση Danazol και ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων.

Επειδή οι ασθενείς με θρομβοπενία στον συστηματικό ερυθματώδη λύκο εμφανίζουν συχνά επεισόδια υποτροπών, πρέπει να γίνεται θεραπεία μόνο όταν υπάρχουν αιμορραγικά φαινόμενα και να αποφεύγεται η υπερβολική χρήση των κορτικοστεροειδών. Τέλος, η σπληνεκτομή πρέπει να αποφασίζεται με μεγάλη προσοχή γιατί πολλές φορές δεν υπάρχει η αναμενόμενη ανταπόκριση στη θεραπεία και θα χρειασθεί οι ασθενείς αυτοί να λάβουν κορτικοστεροειδή εκ νέου μετά την σπληνεκτομή (Hall S 1985).



γ) Σύνδρομο Sjogren

Το σύνδρομο Sjogren αποτελεί ανοσολογικής αρχής πολυσυστηματική ασθένεια που χαρακτηρίζεται από προοδευτική καταστροφή των εξωκρινών αδένων που οδηγεί στη ξηρότητα των βλενογόνων και των επιπεφυκώτων (sicca syndrome) και συνοδεύεται από ποικιλία αυτοάνοσων φαινομένων. Η νόσος μπορεί να είναι πρωτοπαθής ή δευτεροπαθής οπότε ακολουθεί άλλα αυτοάνοσα νοσήματα. Συχνά η νόσος οδηγείται σε μετάπτωση σε λεμφοϋπερπλαστικό νόσημα. Ένα ποσοστό 10% εμφανίζει πολυσυστηματικές βλάβες και εκδηλώσεις και συχνά υπάρχει αγγειίτιδα. Οι ασθενείς μπορεί να εμφανίσουν δύο τύπων ανοσολογικές διαταραχές. Η πρώτη περιλαμβάνει διαταραχές της κυτταρικής ανοσίας με ανιχνεύσιμα ενεργοποιημένα T και B λεμφοκύτταρα και η δεύτερη χαρακτηρίζεται από ολιγοκλωνική υπεργαμμασφαιριναιμία, μονοκλωνική γαμμαπάθεια, κυκλοφορία ανοσοσυμπλεγμάτων και παραγωγή αυτοαντισωμάτων. Από τα εργαστηριακά ευρήματα μπορεί να εμφανισθεί λευκοπενία, πιο συχνά θρομβοκυττάρωση παρά θρομβοπενία, η οποία ανευρίσκεται όταν υπάρχουν anti-Ro (SSA) αντισώματα (Alexander EL 1983, Talal N 1987).

δ) Λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα

Χρόνια λεμφογενής λευχαιμία

Η χρόνια λεμφογενής λευχαιμία είναι μία αιματολογική κακοήθεια που χαρακτηρίζεται από αυξημένο αριθμό μικρών, ωρίμων λεμφοκυττάρων στο περιφερικό αίμα αλλά και διήθηση του μυελού, των λεμφαδένων, του ήπατος, του σπλήνα αλλά και άλλων οργάνων.



Η θρομβοπενία αποτελεί συχνό σχετικά αιματολογικό εύρημα στους ασθενείς που πάσχουν από χρόνια λεμφογενή λευχαιμία και μπορεί το ποσοστό της να ανέρχεται μέχρι και στο 40% όπως περιγράφεται από αρκετούς συγγραφείς.

Η θρομβοπενία μπορεί να υπάρχει τόσο κατά τη διάγνωση του νοσήματος αλλά να εμφανιστεί και στη διάρκεια της παρακολούθησης και της θεραπείας.

Η θρομβοπενία είναι συνήθως ήπια, ο αριθμός των ΑΜΓ σπάνια κατέρχεται κάτω από 50.000 κκχ και αποτελεί και δείκτη προγνώσεως για τη νόσο διότι ασθενείς με θρομβοπενία έχουν μειωμένο προσδόκιμο επιβίωσης σε σχέση με εκείνους που δεν εμφανίζουν θρομβοπενία (Wintrobe's Clinical Hematology).

Η αιτιολογία της θρομβοπενίας σε ασθενείς που πάσχουν από χρόνια λεμφογενή λευχαιμία είναι πολλαπλή.

Κυρίως οφείλεται σε διήθηση του μυελού από τον νεοπλασματικό κλώνο των λεμφοκυττάρων, σε αύξηση του μεγέθους του σπλήνα που οφείλεται και αυτή σε διήθηση από τα παθολογικά λεμφοκύτταρα, ή εμφανίζεται μετά από τη χορήγηση χημειοθεραπείας. Σε ένα μικρό ποσοστό ασθενών είναι πιθανό στην παθογένεια της θρομβοπενίας να ενέχονται ανοσολογικοί μηχανισμοί.

Η ιδιοπαθής θρομβοπενική πορφύρα είναι δυνατό να προηγείται ή και να εμφανίζεται κατά τη διάρκεια του νοσήματος. Συχνά μπορεί να συνοδεύεται από αιμολυτική αναιμία με την αντίδραση coombs θετική. Σπανιότερα η αυτοάνοση θρομβοπενία μπορεί να συνδυάζεται και με Pure red cell aplasia.

Η αιτιολογία των αυτοάνοσων διαταραχών στη χρόνια λεμφογενή λευχαιμία δεν έχει διευκρινισθεί. Είναι πολύ πιθανό στη δημιουργία των αυτοάνοσων αυτών φαινομένων να ενέχεται ο λευχαιμικός κλώνος που εκφράζει στην επιφάνειά του αντιγόνα τόσο Β κυττάρου, όπως τα CD₁₉, CD₂₀, CD₂₁, CD₂₄, όσο και Τ κυττάρου όπως τα CD₅.



Σε πολλές περιπτώσεις στην επιφάνεια των νεοπλασματικών κυττάρων μπορεί να εμφανίζονται μονοκλωνικές ανοσοσφαιρίνες IgM και σπανιότερα IgD και IgG. Μικρό ποσό αυτών των ανοσοσφαιρινών έχει καταστεί δυνατό να προσδιοριστεί με πολύ ευαίσθητες τεχνικές στον ορό των ασθενών που πάσχουν από χρόνια λεμφογενή λευχαιμία.

Στη βιβλιογραφία γίνεται πολύς λόγος για το αν τα έστω και μικρά αυτά ποσά ανοσοσφαιρινών ενέχονται στην δημιουργία των αυτοανόσων φαινομένων που απαντώνται στη χρόνια λεμφογενή λευχαιμία.

Η αποτελεσματικότερη θεραπεία της αυτοάνοσης θρομβοπενίας και των άλλων αυτοάνοσων διαταραχών που συναντώνται στη χρόνια λεμφογενή λευχαιμία φαίνεται ότι είναι τα κορτικοειδή και όχι τα σκευάσματα της υπεράνοσης γ-σφαιρίνης, όπως συμβαίνει στην ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα.

Όταν η θεραπεία με κορτικοειδή δεν αποβαίνει αποτελεσματική για την αντιμετώπιση τόσο της αυτοάνοσης θρομβοπενίας όσο και των άλλων αυτοάνοσων διαταραχών που αφορούν την ερυθρά σειρά έχει ένδειξη η σπληνεκτομή.

ε) Ασθενείς με αντισώματα κατά καρδιολιπίνης αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο

Η παρουσία αντισωμάτων κατά καρδιολιπίνης ή αντισωμάτων κατά των φωσφολιπιδίων, προκαλεί μία ποικιλία κλινικών συμπτωμάτων, που περιλαμβάνουν υποτροπιάζονται επεισόδια θρομβώσεων, ήπια θρομβοπενία, επανειλημμένες αυτόματες αποβολές εμβρύων, που χαρακτηρίζουν το σύνδρομο των αντισωμάτων κατά καρδιολιπίνης ή αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο, ή το σύνδρομο αντιπηκτικού του λύκου.

Πολλοί από αυτούς τους ασθενείς, οι οποίοι είναι κυρίως γυναίκες, εμφανίζουν συμπτώματα όπως στον συστηματικό ερυθρεματώδη λύκο, αλλά δεν πληρούν τα διαγνωστικά κριτήρια για να θεωρηθεί ότι εκδράζουν πλήρως τη νόσο.



Το αντιπηκτικό του λύκου είναι ένα αντίσωμα κατά των φωσφολιπιδίων, το οποίο παρεμβαίνει στην δοκιμασία ενεργοποίησης του συμπληρώματος. Είναι μία IgG ή IgM ανοσοσφαιρίνη η οποία προκαλεί παράταση του PTT επειδή δεσμεύεται στα φωσφολιπίδια που χρησιμοποιούνται στη μέθοδο αυτή. Βέβαια η *in vitro* αντιπηκτική δράση του παράγοντα αυτού δεν συσχετίζεται κατ' ανάγκη με κλινικά φαινόμενα θρομβώσεων και αιμορραγιών και δεν χαρακτηρίζει ειδικά το συστηματικό ερυθματώδη λύκο αφού είναι δυνατό να ανιχνεύεται σε μια ποικιλία άλλων αυτοάνοσων καταστάσεων όπως και σε λοιμώξεις, νεοπλασίες, τη χρόνια χορήγηση φαρμάκων όπως οι φαινοθειαζίνες, αλλά και σε υγιή ηλικιωμένα άτομα (Morgan SH 1985).

Στους ασθενείς με σύνδρομο κατά των φωσφολιπιδίων εκτός από την παράταση του PTT που δεν διορθώνεται με την προσθήκη πλάσματος από υγιές άτομο σε αναλογία 1:1 σπάνια παρατηρείται άλλη διαταραχή της πηκτικότητας. Ο χρόνος προθρομβίνης PT μπορεί να είναι απολύτως φυσιολογικός ή ελαφρότατα παρατεταμένος. Τα επίπεδα του ινωδογόνου και ο χρόνος θρομβίνης είναι απολύτως φυσιολογικά. Η παρουσία αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων ή αντιπηκτικού του λύκου προκαλεί ψευδώς θετική αντίδραση VDRL για τη σύφιλη. Την παρουσία αντιπηκτικού του λύκου πρέπει να υποπτεύεται κανείς όταν υπάρχει παράταση του PTT χωρίς να υπάρχουν συνοδές αιμορραγικές εκδηλώσεις.

Θεραπεία ειδική για την κατάσταση αυτή δεν απαιτείται, δεδομένου ότι υγιή άτομα παρουσιάζουν χαμηλούς τίτλους αντισωμάτων και δεν εμφανίζουν συμπτώματα. Θεραπεία με κορτικοειδή, ανοσοκατασταλτικά ή αντιπηκτικά θα λάβουν ασθενείς που εμφανίζουν καθ' ἑξιν αποβολές και άτομα στα οποία υπάρχει το αντίσωμα στα πλαίσια και άλλης συνυπάρχουσας ανοσολογικής διαταραχής και η ύπαρξή του ή η αύξησή του μπορεί να δείχνει ανοσολογική υπερενεργότητα.



ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

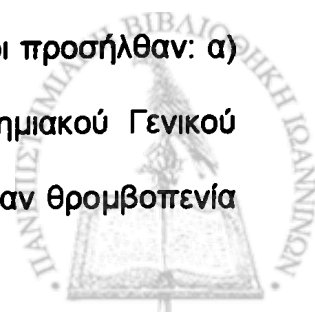
Τα τελευταία χρόνια έγιναν πολλές μελέτες σε χώρες της Ευρώπης της Αμερικής και της Ιαπωνίας που είχαν στόχο τη διερεύνηση σε βάθος τόσο της αιτιολογίας όσο και της παθογένειας της θρομβοπενίας σε νοσήματα ή ομάδες νοσημάτων για τα οποία υπήρχε υπόνοια ότι ενέχεται η συμμετέχει ανοσολογικός μηχανισμός.

Στην παρούσα μελέτη ετέθησαν προς απάντηση τα εξής ζητήματα:

1. Ενέχεται η ύπαρξη αντισταθμιστικών αντισωμάτων στην δημιουργία της θρομβοπενίας σε νοσήματα όπου υποθέτουμε ότι υπάρχει ανοσολογικός μηχανισμός περιφερικής καταστροφής των αιμοπεταλίων (ΑΜΠ);
2. Συσχετίζεται η κλινική και εργαστηριακή εικόνα του νοσήματος με την ύπαρξη αντισταθμιστικών αντισωμάτων;
3. Αποτελεί η ύπαρξη αντισταθμιστικών αντισωμάτων δείκτη ενεργότητας των νοσημάτων τα οποία ελέγχονται;
4. Η ανεύρεση αντισταθμιστικών αντισωμάτων αποτελεί τον μοναδικό αιτιολογικό παράγοντα για τη δημιουργία θρομβοπενίας σε αυτοάνοσες καταστάσεις;
5. Σύγκριση μεταξύ των μεθόδων μελέτης των αντισταθμιστικών αντισωμάτων.

ΥΛΙΚΟ

Η μελέτη πραγματοποιήθηκε στο Ανοσολογικό Εργαστήριο του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Το υλικό της μελέτης αποτέλεσαν 127 ασθενείς οι οποίοι προσήλθαν: α) στο Εξωτερικό Αιματολογικό Ιατρείο του Περιφερειακού Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Ιωαννίνων για διερεύνηση θρομβοπενίας ή β) εμφάνισαν θρομβοπενία



κατά τη διάρκεια της παρακολούθησής τους για αυτοάνοσο νόσημα στο Ρευματολογικό Ιατρείο του ίδιου Νοσοκομείου.

Οι ασθενείς αυτοί έπασχαν από τα εξής νοσήματα:

1. Ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα (45 ασθενείς).
2. Συστηματικό ερυθρηματώδη λύκο (17 ασθενείς).
3. Σύνδρομο Sjogren (5 ασθενείς).
4. Αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο (15 ασθενείς).
5. Θρομβοπενία κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης (15 ασθενείς).
6. Νεογνική θρομβοπενία (15 νεογνά).
7. Λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα (15 ασθενείς).

Ως ομάδα ελέγχου χρησιμοποιήσαμε:

- α) Τριάντα ασθενείς που προσήλθαν διαδοχικά στο Εξωτερικό Ρευματολογικό Ιατρείο για προγραμματισμένη εξέταση και οι οποίοι έπασχαν από διάφορα αυτοάνοσα ρευματικά νοσήματα, κυρίως όμως από ρευματοειδή αρθρίτιδα και δεν εμφάνιζαν θρομβοπενία.
- β) Ογδόντα υγιείς μάρτυρες οι οποίοι προσήλθαν στο νοσοκομείο για εθελοντική αιμοδοσία ή ήταν υγιείς συνοδοί ασθενών.

Αναλυτικότερα σε όλους τους ασθενείς κατά την είσοδό τους στη μελέτη έγινε ανασκόπηση του ατομικού αναμνηστικού, αποκλεισμός της λήψης φαρμάκων που ενέχονται στην δημιουργία θρομβοπενίας στο πρόσφατο παρελθόν.

Τέτοια φάρμακα είναι τα χημειοθεραπευτικά, τα θειαζιδικά διουρητικά, μερικά αντιβιοτικά και οι αναστολείς του μετατροπτικού ενζύμου.

Αποκλείσθηκε η έκθεση σε ραδιενεργό ακτινοβολία και η μετάγγιση αίματος εντός των προηγούμενων δύο τουλάχιστον εβδομάδων, ώστε να αποκλεισθεί η μετάγγιση πορφύρα, (post-transfusion purpura).



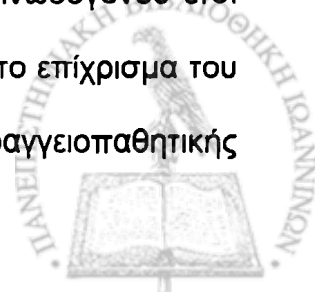
Σε όλους τους ασθενείς έγινε πλήρης αντικειμενική εξέταση και ακτινογραφία θώρακα. Όπου ήταν απαραίτητο διενεργείτο υπολογιστική τομογραφία θώρακα ή και υπερηχογράφημα κοιλίας.

Σε όλους τους ασθενείς διενεργήθηκε πλήρης αιματολογικός και ορολογικός έλεγχος για τον αποκλεισμό καταστάσεων που θα μπορούσαν να προκαλέσουν θρομβοπενία.

Στον αιματολογικό έλεγχο περιλαμβανόταν μέτρηση των ΑΜΠ του περιφερικού αίματος τόσο με αυτόματο αναλυτή όσο και σε επίχρισμα περιφερικού αίματος που είχε ληφθεί χωρίς αντιπηκτικό για να αποκλεισθεί η ψευδοθρομβοπενία. Στην ψευδοθρομβοπενία υπάρχει ένα αντίσωμα που είναι δραστικό μόνο *in vitro* και εξαρτάται από το EDTA που χρησιμοποιείται ως αντιπηκτικό στις γενικές αίματος που πρόκειται να μελετηθούν σε αυτόματο αιματολογικό αναλυτή. Το αντίσωμα αυτό είναι IgG ή IgM και αντιδρά με κρυπτικά αντιγόνα που βρίσκονται στο σύμπλεγμα GP IIb/IIIa τα οποία εμφανίζονται όταν δεσμεύεται το ασβέστιο από το EDTA (Pegels J, Blood). Το αντίσωμα προκαλεί συγκόλληση των ΑΜΠ τα οποία δημιουργούν σωρούς ή συγκεντρώνονται γύρω από τα ουδετερόφιλα σε επίχρισματα περιφερικού αίματος προκαλώντας έτσι ψευδή εικόνα θρομβοπενίας. Αυτό το φαινόμενο εκλείπει αν χρησιμοποιηθεί ως αντιπηκτικό τα κιτρικά άλατα, ή γίνει επίχρισμα περιφερικού αίματος χωρίς αντιπηκτικό.

Για να συμπεριληφθεί ένας ασθενής στη μελέτη έπρεπε ο αριθμός των ΑΜΠ του να είναι χαμηλότερος από 100.000 κκχ. τόσο σε γενική αίματος όσο και σε επίχρισμα ληφθέν χωρίς αντιπηκτικό.

Απαραίτητες εξετάσεις κρίθηκαν ο έλεγχος του χρόνου μερικής θρομβοπλαστίνης (aPTT), του χρόνου προθρομβίνης (PT), και του ινωδογόνου έτσι ώστε σε συνδυασμό με την απουσία κατακερματισμένων ερυθρών στο επίχρισμα του περιφερικού αίματος να αποκλείονται οι περιπτώσεις μικροαγγειοπαθητικής



αιμολυτικής αναιμίας όπως η διαχυτη ενδαγγειακή πήξη (ΔΕΠ), η θρομβωτική θρομβοκυττοπενική πορφύρα (ΤΤΡ), και το σύνδρομο αιμολύσεως και ουραιμίας (HUS).

Στον βιοχημικό έλεγχο περιλαμβανόταν μελέτη των παραμέτρων που αφορούσαν την νεφρική, την ηπατική και τη θυρεοειδική λειτουργία ως επίσης και πλήρης έλεγχος των ηλεκτρολυτών και των ιχνοστοιχείων.

Σε όλους τους ασθενείς έγινε μελέτη του σιδήρου του ορού της βιταμίνης B₁₂ και του φυλλικού οξέος.

Σε όλους τους ασθενείς έγινε πλήρης ανοσολογικός έλεγχος, μέτρηση της CRP των κλασμάτων του συμπληρώματος C₃ και C₄ των αντιπυρηνικών αντισωμάτων, ANA, και των αντισωμάτων κατά διπλής έλικος DNA, anti ds DNA αν τα ANA ήταν θετικά.

Έγινε επίσης προσδιορισμός των αντισωμάτων κατά φωσφολιπιδίων, όπως επίσης και προσδιορισμός των μικροσωματικών και αντιθυρεοσφαιρινικών αντιθυρεοειδικών αντισωμάτων.

Με τον γενόμενο ορολογικό έλεγχο αποκλείσθηκε η ύπαρξη χρονίων λοιμώξεων που προκαλούν θρομβοπενία όπως οι λοιμώξεις από τον κυτταρομεγαλοϊό το τοξόπλασμα τον ιό Epstein Barr και τον ιό της επίκτητης ανοσολογικής ανεπάρκειας HIV.

Ελήφθη επίσης έλεγχος για όλους τους ιούς της ηπατίτιδος A, B, C και τον παράγοντα δ, όπως και για άλλους ηπατοτρόπους μικροοργανισμούς όπως η λεπτόσπαιρα.

Σε όλους τους ασθενείς έγινε μυελικό επίχρισμα και οστεομυελική βιοψία ώστε να αποκλεισθούν διηθητικά νοσήματα του μυελού και του οστού και να επιβεβαιωθεί η περιφερική καταστροφή των ΑΜΓ.



Μυελικό επίχρισμα και βιοψία δεν έγινε στους μάρτυρες, τόσο τους υγιείς όσο και τους πάσχοντες από αυτοάνοσο νόσημα χωρίς να συνυπάρχει θρομβοπενία, όπως επίσης και στις έγκυες και τα νεογνά.

Για να μελετηθούν ως πάσχοντες από ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα, οι ασθενείς μας έπρεπε να εμφανίζουν θρομβοπενία και αρνητικό όλο τον υπόλοιπο έλεγχο που προαναφέραμε, το δε μυελικό επίχρισμα να συνηγορεί υπέρ περιφερικής καταστροφής των ΑΜΠ.

Οι ασθενείς με συστηματικό ερυθματώδη λύκο και σύνδρομο Sjogren ταξινομήθηκαν ως πάσχοντες σύμφωνα με τα κριτήρια της Αμερικανικής Ρευματολογικής Εταιρίας.

Οι ασθενείς που μελετήθηκαν ως πάσχοντες από αντιφωσfolιπιδικό σύνδρομο έπρεπε να έχουν θρομβοπενία, με ή χωρίς συνοδό παράταση του aPTT να μην πληρούν όμως διαγνωστικά κριτήρια ώστε να ταξινομηθούν ως πάσχοντες από συστηματικό ερυθματώδη λύκο ή άλλο ανοσολογικό νόσημα.

Συνολικά λοιπόν συμπεριλήφθηκαν στην μελέτη 127 ασθενείς και 110 μάρτυρες. Σε όλους προσδιορίστηκαν αντιαιμοπεταλιακά αντισώματα στο Αιματολογικό Τμήμα του νοσοκομείου μας και το Ανοσολογικό Εργαστήριο του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων με δύο διαγνωστικές μεθόδους: α) την μέθοδο του εμμέσου ανοσοφθορισμού και β) μια μέθοδο ανίχνευσης των αντιαιμοπεταλιακών αντισωμάτων στερεάς φάσεως όπως περιγράφεται παρακάτω.

Στον πρώτο πίνακα φαίνεται αναλυτικά η κατανομή των ασθενών κατά νόσημα και ο αριθμός τους ενώ στον δεύτερο πίνακα η κατανομή των μαρτύρων.



Πίνακας Ασθενών

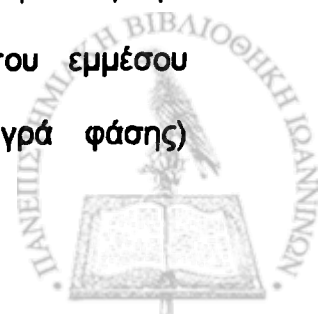
Νοσήματα	Αριθμός ασθενών
Ιδιοπαθής θρομβοπενική πορφύρα	45
Συστηματικός ερυθματώδης λύκος	17
Σύνδρομο Sjogren	5
Αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο	15
Έγκυες με θρομβοπενία	15
Νεογνά θρομβοπενικών εγκύων	15
Λεμφούπερπλαστικά νοσήματα	15
Σύνολο	127

Πίνακας Μαρτύρων

Μάρτυρες	Αριθμός μαρτύρων
Ασθενείς με ρευματικό νόσημα χωρίς θρομβοπενία	30
Υγιείς	80
Σύνολο	110

ΜΕΘΟΔΟΙ

Επειδή και διεθνώς δεν υπάρχει μία και μόνη αποδεκτή μέθοδος η οποία να απομονώνει όλους τους τύπους αντιαιμοπεταλιακών αντισωμάτων, χρησιμοποιήσαμε κατά τα διεθνώς παραδεκτά ως βασική μέθοδο την μέθοδο του εμμέσου ανοσοφθορισμού, της ανίχνευσης δηλαδή σε ορό ασθενών (υγρά φάσης)



κυκλοφορούντων αντισωμάτων κατά των ΑΜΠ, και μία εμπορική μέθοδο μικροτεχνολογίας στερεάς φάσης, με σκοπό να ενισχύσουμε την ανίχνευση των ασθενώς θετικών αντισταμοπεταλιακών αντισωμάτων τα αποτελέσματα της οποίας και συγκρίναμε με τη βασική μέθοδο.

Περιγράφουμε διεξοδικά τις δύο μεθόδους παρακάτω.

Το υλικό στο οποίο προσδιορίστηκαν τα αντισταμοπεταλιακά αντισώματα ήταν ορός αίματος ασθενών και υγιών μαρτύρων.

Έμμεσος ανοσοσφθορισμός

Η μέθοδος με την οποία προσδιορίστηκαν τα αντισταμοπεταλιακά αντισώματα περιγράφηκε από τους Von dem Borne και συν. (1978) και εφαρμόστηκε ελαφρά τροποποιημένη.

Για το έμμεσο ανοσοσφθορισμό απαιτούνται:

1. Ορός του προς εξέταση ασθενούς

Ο ορός αυτός συλλέγεται με τον ακόλουθο τρόπο: πραγματοποιείται αιμοληψία από τον ασθενή, λαμβάνονται 5-6 ml αίματος το οποίο φυγοκεντρείται στις 3.000 στροφές για 10 min. Ο υπερκείμενος ορός κατανέμεται σε μικρότερα σωληνάρια και φυλάσσεται σε θερμοκρασία -20°C μέχρι να πραγματοποιηθεί η εξέταση. Αν η εξέταση πραγματοποιηθεί σε μακρό χρονικό διάστημα πρέπει να προστεθεί στον αποθηκευθέντα ορό DMSO ως κρυοπροστατευτικό.

Πρό της εξέτασως ο ορός πρέπει να τοποθετηθεί σε υδατόλουτρο με θερμοκρασία 56°C για 30 min ώστε να αδρανοποιηθεί το συμπλήρωμα.

2. Εναιώρημα αιμοπεταλίων δότη ομάδας αίματος 0

Παρασκευάζεται ως εξής: Συλλέγονται 10 ml αίματος άρρενος δότη ομάδος αίματος 0, ο οποίος δεν έχει υποστεί μεταγγίσεις αίματος, σε σωληνάρια που



περιέχουν 1 ml EDTA-Na₂ 5% (ως αντιπηκτικό). Φυγοκεντρούμε στις 800 στροφές για 10 min. Λαμβάνουμε το υπερκείμενο πλάσμα πλούσιο σε AMΠ και το τοποθετούμε σε νέο δοκιμαστικό σωληνάριο.

Προσθέτουμε διπλάσιο όγκο PBS-EDTA 1%, από τον όγκο του προηγούμενου διαλύματος και φυγοκεντρούμε στις 1.500 στροφές/min για 15 min. Αφαιρούμε το υπερκείμενο υγρό και επαναδιαλύουμε το πλούσιο σε AMΠ ίζημα σε 500 μl PBS-EDTA 1%. Φυγοκεντρούμε στις 1.500 στροφές για 15 min, το αμέσως προηγούμενο στάδιο επαναλαμβάνεται ακόμη μια φορά.

Ακολούθως το ίζημα των AMΠ διαλύεται σε 50 μl PBS-EDTA 1% και προστίθενται 200 μl διαλύματος παραφορμαλδεύδης (PFA) 1%. Ακολουθεί επώαση του διαλύματος επί 5 min στους 37 °C.

Προσθέτουμε 500 μl min PBS-EDTA 1% πλένουμε τρεις φορές ομοίως με 500 μl και φυγοκεντρούμε στις 1500 στροφές επί 15 min. Έτσι έχουμε ένα διάλυμα AMΠ έτοιμο για τη δοκιμασία της εμμέσου ανοσοσφθορισμού, το οποίο περιέχει αριθμό AMΠ 250-500.000 κκχ.

3. Οροί ελέγχου

Ως αρνητικούς μάρτυρες χρησιμοποιούμε ορούς αρρένων ατόμων ομάδας αίματος AB που δεν έχουν υποστεί ποτέ μετάγγιση.

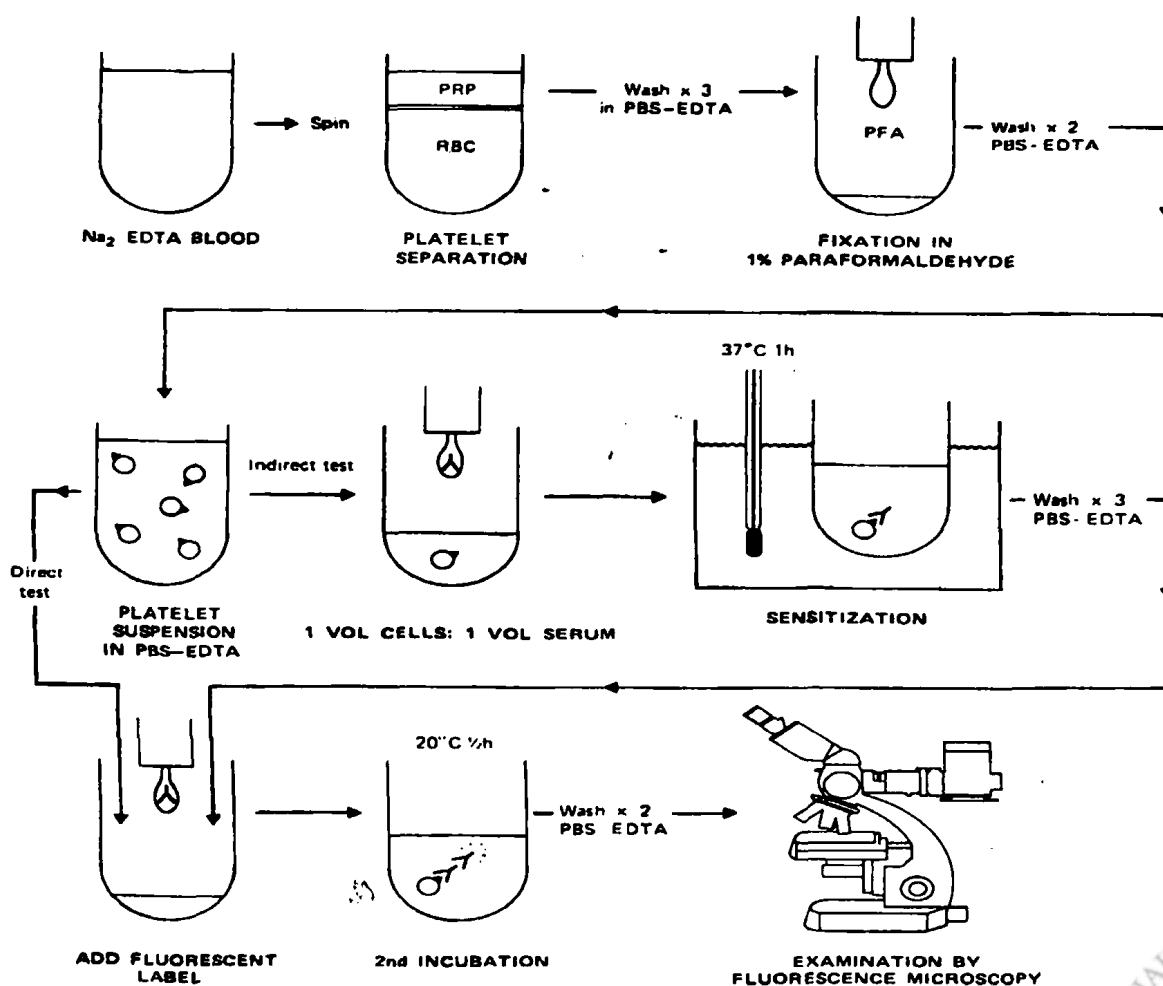
Ως θετικούς μάρτυρες χρησιμοποιούμε ορούς που βεβαιωμένα είναι θετικοί.

4. Έμμεσος ανοσοσφθορισμός

- Σε δοκιμαστικά σωληνάρια 7x50 mm αναμειγνύουμε 100 μl διαλύματος AMΠ με 100 μl ορού των προς εξέταση ασθενών, του θετικού μάρτυρα και του αρνητικού μάρτυρα.
- Επωάζουμε σε θερμοκρασία 37 °C επί 30 min.
- Πλένουμε τα κύτταρα τρεις φορές με 500 μl PBS-EDTA 1% και φυγοκεντρούμε στις 1500 στροφές επί 5 min.



- Προσθέτουμε 100 μl φθορίζουσας χρωστικής που δεσμεύεται από τις ανοσοσφαιρίνες FITC-labeled goat anti-human IgG, αναδεύουμε και επωάζουμε σε θερμοκρασία δωματίου επί 30 min.
- Πλένουμε τρεις φορές, φυγοκεντρούμε σίς 1500 στροφές επί 15' και απορρίπτουμε τα υπερκείμενα.
- Αναμειγνύουμε με 500 μl PBS-EDTA και τοποθετούμε μία σταγόνα του διαλύματος σε πλακίδιο με καλυπτρίδα.
- Εξετάζουμε χρησιμοποιώντας μεγέθυνση στον προσοφθάλμιο φακό x40 σε μικροσκόπιο οπτικό και φθορισμού ταυτόχρονα για να αποφύγουμε να θεωρήσουμε φθορίζοντα AMΠ συντρίμματα που μπορεί να προσλαμβάνουν χρωστική και δεν είναι φθορίζοντα AMΠ (Εικόνα 1).



Εικόνα 1. Σχηματική απεικόνιση της μεθόδου του ανοσοφθορισμού

5. Βαθμολόγηση και εξαγωγή των αποτελεσμάτων

Τα αποτελέσματα αξιολογούνται ως θετικά και αρνητικά.

Θετικά θεωρούνται τα αποτελέσματα όταν η διαφορά του ποσοστού του εξεταζομένου με το ποσοστό του αρνητικού μάρτυρα είναι ≥ 15 .

Μέθοδος στερεάς φάσεως για την απομόνωση αντισωμάτων κατά των αιμοπεταλίων

Η μέθοδος αυτή είναι εμπορική και διατίθεται με την ονομασία Capture P Ready Screen.

Για την εξέταση αυτή απαιτούνται:

- Ορός ασθενούς ο οποίος συλλέγεται όπως και στην προηγούμενη μέθοδο.
- Δεκαέξι "Wells" με επίστρωση ΑΜΠ από διαφορετικούς δότες ομάδος αίματος 0, για κάθε ασθενή. Κάθε τέτοιο σύστημα περιέχει ένα βεβαιωμένα ισχυρά θετικό και ένα βεβαιωμένα αρνητικό μάρτυρα όπως επίσης και ένα ασθενώς θετικό μάρτυρα.
- Ένα διάλυμα γλυκίνης και ιώδους χρωστικής 0.001% που περιέχει συντηρητικό.
- Διάλυμα ερυθροκυττάρων καλυμμένων με rabbit anti human- IgG.
- Ορούς ελέγχου:
 - Ορό που περιέχει αντ αιμοπεταλιακά αντισώματα σε υψηλή συγκέντρωση (Strong positive control).
 - Ορό που περιέχει αντ αιμοπεταλιακά αντισώματα σε μικρότερη συγκέντρωση (week positive control).
 - Ορό που δεν περιέχει αντ αιμοπεταλιακά αντισώματα (negative control).



Εξέταση

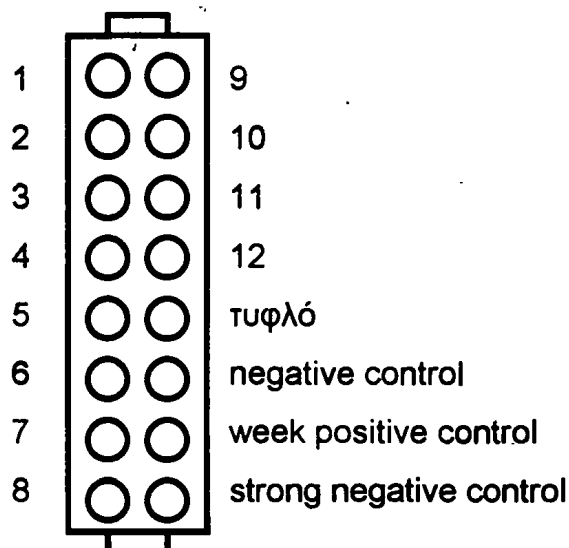
Σε μια σειρά από Wells 2x8 προσθέτουμε 100 μl διαλύματος γλυκίνης-χρωστικής όπως φαίνεται στην Εικόνα 2.

Στο Well No 13 δεν προσθέτουμε τίποτε, στο Well 14 προσθέτουμε 50 μl ορού negative control, στο Well 15 προσθέτουμε 50 μl ορού Weak positive στο Well 16 προσθέτουμε 50 μl ορού Strong positive. Στα Wells 1-12 προσθέτουμε 50 μl ορού ασθενούς στο καθένα. Ακολουθεί επώαση για 30 min σε θερμοκρασία 37 °C. Μετά την επώαση πλένουμε τα παρασκευάσματα 8 φορές με διάλυμα φυσιολογικού ορού για να απομακρύνουμε την περίσσεια των αδέσμευτων ανοσοσφαιρινών.

Προσθέτουμε 50 μl διαλύματος ερυθροκυττάρων και anti-human rabbit IgG σε όλα τα Wells πλην του 13 το οποίο χρησιμεύει ως τυφλό και φυγοκεντρούμε στις 2.300 στροφές για 1 min.

Παρατηρούμε σε φωτισμένη επιφάνεια τα Wells για καθορισμό των θετικών και των αρνητικών ευρημάτων.

Θετικά θεωρούνται τα ευρήματα όταν υπάρχει ροδόχροη άλως σε όλο το Well. Αρνητικά θεωρούνται τα ευρήματα όταν υπάρχει ζωηρή κοκκίδα ερυθρών στο κέντρο του Well.



Εικόνα 2. Capture-P Ready screen Strip Well



ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1. Ασθενείς με ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα

Μελετήθηκαν 45 ασθενείς από τους οποίους 25 ήταν γυναίκες και 20 άνδρες. Οι ηλικίες τους κυμαινόταν από 14 έως 76 ετών. Κατά την προσέλευσή τους στο νοσοκομείο όλοι εμφάνιζαν αιμορραγικές διαταραχές με τη μορφή ουλорραγιών πετεχειών και εκχυμώσεων. Ένας ασθενής ηλικίας 48 ετών εμφάνισε ένα ευμέγεθες αιμάτωμα στο μηρό, μια ασθενής μηνορραγία και δύο μέλαινες.

Οι ασθενείς μας εμφάνισαν αντ αιμοπεταλιακά αντισώματα θετικά ως εξής:

	Θετικά (%)	Αρνητικά
Έμμεσος ανοσοφθορισμός	24 (55%)	21
Μέθοδος στερεάς φάσεως	28 (60%)	17

2. Ασθενείς με συστηματικό ερυθρηματώδη λύκο

Οι ασθενείς αυτοί μελετήθηκαν και μετά χορήγησης κορτικοειδών και υπεράνοσης γ σφαιρίνης. Οι ασθενείς που είχαν θετικά αντ αιμοπεταλιακά απάντησαν στις δύο αυτές θεραπείες και αρνητικοποίησαν τα αντισώματα.

Από τους 17 ασθενείς που μελετήσαμε, 15 ήταν γυναίκες και 2 άνδρες. Οι ηλικίες τους κυμαινόταν από 14 έως 63 ετών. Σε 5 ασθενείς η θρομβοπενία αποτέλεσε αρχική εκδήλωση της νόσου, ενώ στους υπολοίπους εμφανίστηκε κατά τη διαδρομή του νοσήματος.



Τα αντισταθμιστικά αντισώματα ήταν θετικά ως εξής:

	Θετικά (%)	Αρνητικά
Έμμεσος ανοσοφθορισμός	12 (75%)	5
Μέθοδος στερεάς φάσεως	12 (75%)	5

Οι ασθενείς αυτοί κατά τον χρόνο μελέτης εμφάνιζαν υψηλούς τίτλους ANA και DNA αντισωμάτων ως και ελαττωμένο συμπλήρωμα.

Κατά τον χρόνο της μελέτης κανείς εκ των ασθενών δεν είχε νεφρική προσβολή. Η θρομβοπενία ανταποκρίθηκε στη θεραπεία με κορτικοειδή αλλά η ύπαρξη αντισταθμιστικών αντισωμάτων ήταν ανεξάρτητη της θεραπείας.

3. Ασθενείς με σύνδρομο Sjogren

Μελετήσαμε 5 ασθενείς οι οποίες ήταν όλες γυναίκες. Τρεις εμφάνισαν αντισταθμιστικά αντισώματα θετικά και με τις δύο μεθόδους, δηλαδή ποσοστό 60%.

	Θετικά (%)	Αρνητικά
Έμμεσος ανοσοφθορισμός	3 (60%)	2
Μέθοδος στερεάς φάσης	3 (60%)	2

Δύο από τις ασθενείς που είχαν αντισταθμιστικά αντισώματα θετικά κατά τον χρόνο της μελέτης παρουσίαζαν και Ro θετικά αντισώματα.



2. ANALISIS DE INVESTIGACIONES REALIZADAS

Como consecuencia de las investigaciones realizadas en el presente estudio se han obtenido los siguientes resultados:

Los resultados de las investigaciones realizadas en el presente estudio se muestran a continuación:

[Redacted text block]

El número de investigaciones realizadas es de 15 (85%) 2

El número de investigaciones realizadas es de 12 (72%) 3

En consecuencia, los resultados de las investigaciones realizadas en el presente estudio se muestran a continuación:

3. ANALISIS DE INVESTIGACIONES REALIZADAS EN EL PRESENTE ESTUDIO

El presente estudio se ha realizado con el fin de determinar el número de investigaciones realizadas en el presente estudio.

Los resultados de las investigaciones realizadas en el presente estudio se muestran a continuación:

[Redacted text block]

El número de investigaciones realizadas es de 11 (66%) 11

El número de investigaciones realizadas es de 11 (66%) 11

Los resultados de las investigaciones realizadas en el presente estudio se muestran a continuación:

Los resultados de las investigaciones realizadas en el presente estudio se muestran a continuación:



6. Νεογνά που εμφάνισαν θρομβοπενία

Αντισταμοπεταλιακά αντισώματα απομονώθηκαν και με τις δύο μεθόδους σε ένα μόνο νεογνό, ποσοστό 6.6%

	Θετικά (%)	Αρνητικά
Έμμεσος ανοσοφθορισμός	1 (6.6%)	14
Μέθοδος στερεάς φάσης	1(6.6%)	14

7. Ασθενείς με λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα και θρομβοπενία

Οι ασθενείς αυτοί έπασχαν από χρόνια λεμφογενή λευχαιμία, νόσο του Hodgkin, και μη Hodgkin λεμφώματα. Δέκα ασθενείς ήταν άνδρες και 5 γυναίκες ηλικιών από 42 έως 67 ετών. Οι ασθενείς αυτοί εμφάνισαν μεμονωμένη θρομβοπενία και από το μυελικό επίχρισμα και τη βιοψία οστού δεν τεκμηριώθηκε διήθηση από λεμφωμα τικά κύτταρα.

Τα αποτελέσματά μας ήταν τα εξής:

	Θετικά (%)	Αρνητικά
Έμμεσος ανοσοφθορισμός:	7 ασθενείς, (46%)	8
Μέθοδος στερεάς φάσης:	6 ασθενείς (40%)	9

Ομάδες ελέγχου

8. Ασθενείς με αυτοάνοσα νοσήματα χωρίς θρομβοπενία

Μελετήθηκαν 30 ασθενείς, 19 γυναίκες και 11 άνδρες. Οι ασθενείς αυτοί έπασχαν από διάφορα ρευματικά νοσήματα, κυρίως όμως ρευματοειδή αρθρίτιδα. Αντιαιμοπεταλιακά αντισώματα ανευρέθησαν σε 2 ασθενείς και με τις δύο μεθόδους ήτοι ποσοστό 6.6%.

	Θετικά (%)	Αρνητικά
Έμμεσος ανοσοφθορισμός	2 (6.6%)	28
Μέθοδος στερεάς φάσης	2 (6.6%)	28

9. Υγιείς μάρτυρες

Μελετήθηκαν 80 υγιείς μάρτυρες από τους οποίους 48 ήταν γυναίκες και 32 άνδρες. Αντιαιμοπεταλιακά αντισώματα εννευρέθησαν θετικά σε 5 ασθενείς, ποσοστό 6.25%.

	Θετικά (%)	Αρνητικά
Έμμεσος ανοσοφθορισμός	5 (6.25%)	75
Μέθοδος στερεάς φάσης	5 (6.25%)	75



ΣΥΓΚΡΙΣΕΙΣ ΜΕΤΑΞΥ ΑΣΘΕΝΩΝ ΚΑΙ ΜΑΡΤΥΡΩΝ

Στατιστική επεξεργασία

Συγκρίναμε τα αποτελέσματα της ανεύρεσης αντιαιμοπεταλιακών αντισωμάτων μεταξύ των ομάδων ασθενών και μαρτύρων, όπως επίσης και τις δύο μεθόδους μεταξύ τους, όπου υπήρχε διαφορά αποτελεσμάτων μεταξύ τους.

1. Σύγκριση μεταξύ ασθενών πασχόντων από ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα και υγιών μαρτύρων:

α) Έμμεσος ανοσοφθορισμός.

Η δοκιμασία $\chi^2=35,83$ ($p=0,0001$) ήταν στατιστικά σημαντική.

β) Μέθοδος στερεάς φάσεως.

Η δοκιμασία $\chi^2=46,64$, ($p=0,0001$) ήταν ομοίως στατιστικά σημαντική.

2. Σύγκριση μεταξύ ασθενών πασχόντων από ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα και ασθενών με ρευματικά νοσήματα χωρίς θρομβοπενία:

α) Έμμεσος ανοσοφθορισμός.

Τα αποτελέσματα της δοκιμασίας $\chi^2=17,31$ ($p=0,0001$) ήταν στατιστικά σημαντικά.

β) Μέθοδος στερεάς φάσεως.

Τα αποτελέσματα της δοκιμασίας $\chi^2=23,15$ ($p=0,0001$) ήταν ομοίως στατιστικά σημαντική.

3. Σύγκριση μεταξύ ασθενών με συστηματικό ερυθρηματώδη λύκο και υγιών μαρτύρων:

Η διαφορά των αποτελεσμάτων και με τις δύο μεθόδους που εξετάστηκαν οι ασθενείς μας ήταν στατιστικά σημαντική $\chi^2=40,15$ ($p=0,0001$).



4. Ομοίως στατιστικά σημαντική απέβη και η σύγκριση μεταξύ ασθενών με συστηματικό ερυθρηματώδη λύκο και πασχόντων από διάφορα αυτοάνοσα χωρίς όμως θρομβοπενία $\chi^2=21,20$ ($p=0,001$).
5. Σύγκριση ασθενών με σύνδρομο Sjogren και υγιών μαρτύρων:
Η σύγκριση των αποτελεσμάτων που απέδωσαν και οι δύο μέθοδοι σε σύγκριση με τους υγιείς ήταν στατιστικά σημαντική με $\chi^2=15,95$ ($p<0,0002$).
6. Σύγκριση ασθενών με σύνδρομο Sjogren και ασθενών με αυτοάνοσα νοσήματα χωρίς θρομβοπενία:
Και εδώ η σύγκριση ήταν στατιστικά σημαντική με $\chi^2=9,96$ ($p<0,002$).
7. Σύγκριση ασθενών με αντιφωσfolιπιδικό σύνδρομο και υγιών μαρτύρων:
Η σύγκριση των αποτελεσμάτων και με τις δύο μεθόδους που μελετήθηκαν ήταν στατιστικά σημαντική για τη μέθοδο του ανοσοφθορισμού $\chi^2=53,19$ ($p<0,0001$) και για τη μέθοδο της στερεάς φάσης $\chi^2=46,76$ ($p<0,0001$).
8. Σύγκριση των ασθενών με αντιφωσfolιπιδικό σύνδρομο και των ασθενών με αυτοάνοσα νοσήματα χωρίς θρομβοπενία:
Τα αποτελέσματα ήταν στατιστικά σημαντικά τόσο με τη μέθοδο του εμμέσου ανοσοφθορισμού $\chi^2=28,8$ ($p<0,0001$) όσο και με τη μέθοδο της στερεάς φάσης, $\chi^2=25,09$ ($p<0,0001$).
9. Οι ασθενείς με λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα είχαν στατιστικά σημαντικό υψηλότερο ποσοστό θετικών αντισταμοπεταλιακών αντισωμάτων και με τις δύο μεθόδους: $\chi^2=18,7$ ($p<0,0001$) και ($\chi^2=7,6$ ($p<0,006$)).
10. Οι έγκυες διέφεραν από τις δύο ομάδες μαρτύρων σε βαθμό στατιστικά σημαντικό και με τις δύο μεθόδους: $\chi^2=6,14$ ($p<0,01$) για την ομάδα των υγιών και $\chi^2=3,6$ ($p<0,05$) για την ομάδα των ασθενών χωρίς θρομβοπενία αντίστοιχα.
11. Οι συγκρίσεις ανάμεσα στις λοιπές ομάδες, δηλαδή των νεογνών σε σχέση με τις δύο ομάδες μαρτύρων και των δύο ομάδων μαρτύρων μεταξύ τους ήταν στατιστικά



μη σημαντικές, ήτοι για τα νεογνά $\chi^2=2$ ($p<0,1$) για τούς υγιείς και $\chi^2=0$ ($p<1$) για τους ασθενείς μάρτυρες χωρίς θρομβοπενία και $\chi^2=0,01$ ($p<0,8$) για τις ομάδες ελέγχου όταν συγκρίθηκαν μεταξύ τους.



ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η θρομβοπενία στα αυτοάνοσα νοσήματα είναι πολυπαραγοντική. Ανάμεσα στα αίτια της σημαντική μερίδα κατέχει η περιφερική καταστροφή αιμοπεταλίων. Η περιφερική καταστροφή αιμοπεταλίων απαντάται σε μία πλειάδα νοσημάτων ποικίλης αιτιολογίας. Στα νοσήματα αυτά πλην των αυτοανόσων (συστηματικός ερυθηματώδης λύκος, σύνδρομο Sjogren, ιδιοπαθής θρομβοπενική πορφύρα) συμπεριλαμβάνονται η χρόνια λεμφογενής λευχαιμία, το αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο, η νεογνική θρομβοπενία και η θρομβοπενία που αναπτύσσεται κατά τη διάρκεια της κύησης.

Στην παρούσα μελέτη διερευνήθηκε αν συμμετέχουν στο μηχανισμό περιφερικής καταστροφής ΑΜΠ τα αντ αιμοπεταλιακά αντισώματα συμβάλλοντας έτσι στη δημιουργία θρομβοπενίας.

Έγινε επίσης προσπάθεια να συσχετισθεί η ύπαρξη αντ αιμοπεταλιακών αντισωμάτων με το βαθμό της ενεργότητας της νόσου όπως επίσης και να ανιχνευθεί η επίπτωση της ύπαρξης αυτοαντισωμάτων κατά των ΑΜΠ σε υγιείς ενήλικους μάρτυρες αλλά και σε πάσχοντες από αυτοάνοσα νοσήματα που δεν εμφανίζουν θρομβοπενία.

Συγκρίθηκαν δε τα αποτελέσματα δύο μεθόδων με τις οποίες εκτιμήθηκε η θρομβοπενία (Stöckelberg D, 1996).



Ασθενείς με ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα

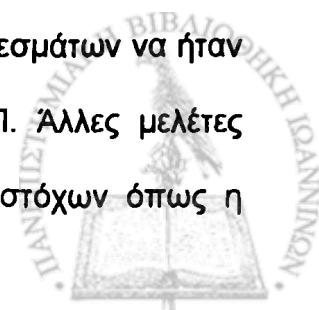
Από 40 και περισσότερα έτη ήταν γνωστό ότι υπάρχουν διαταραχές όπως η ιδιοπαθής θρομβοπενική πορφύρα στις οποίες υπήρχε ένας παράγοντας που κυκλοφορούσε στο πλάσμα και προκαλούσε θρομβοπενία αλλά δεν ήταν δυνατό να προσδιορισθεί. Αυτό αποτέλεσε το έναυσμα για την πραγματοποίηση ποικίλων και μερικές φορές αντικρουόμενων μελετών (Kelton, 1995). Το φαινόμενο αυτό πιθανότατα αποτελούσε αντανάκλαση του γεγονότος ότι η μεμβράνη των ΑΜΠ εμφανίζει σημαντική πολυμορφία όσον αφορά την προσκόληση επ' αυτής των συμπλεγμάτων των αντισωμάτων που επικάθονται επάνω σ' αυτήν (Mc Millan R, 1990). Μία μέθοδος μελέτης της ύπαρξης των αντισταμοπεταλιακών αντισωμάτων, η οποία αποτέλεσε την μέθοδο αναφοράς στη διεθνή βιβλιογραφία και την οποία χρησιμοποιήσαμε και εμείς, ήταν ο ανοσοφθορισμός που περιγράφηκε για πρώτη φορά από τους von dem Borne και συν., στο British Journal of Haematology το 1980. Με την μέθοδο αυτή ανιχνεύονται αντισώματα IgG που κυκλοφορούν στον ορό ασθενών με θρομβοπενία και προσκολλώνται στη μεμβράνη διαλύματος αιμοπεταλίων που παρασκευάζονται από φυγοκέντρηση αίματος υγιών δοτών. Έτσι προσδιορίζεται η PAIgG (Platelets associated IgG). Η μέθοδος αυτή συγκρίθηκε σε πολλές μελέτες με άλλες μεθόδους όπως η ELISA και η κυτταρομετρία ροής και βρέθηκαν να έχουν παρόμοια αποτελέσματα χωρίς καμία να υπερέχει της άλλης σαφώς. Επομένως, όταν μελετάται η αιτιολογία μια αυτοάνοσης θρομβοπενίας στην οποία ενοχοποιείται περιφερική καταστροφή ΑΜΠ, πρέπει να εφαρμόζονται σε συνδυασμό όλες οι μέθοδοι ώστε να αποφεύγεται η ανεύρεση ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων (Stockelberg D, 1996).

Στη δική μας μελέτη τα αποτελέσματα και των δύο μεθόδων ήταν παρόμοια σε όλες τις ομάδες των ασθενών που μελετήθηκαν και η διαφορά των αποτελεσμάτων, όπου υπήρχε, δεν αποδείχθηκε στατιστικά σημαντική. Επομένως, οποιαδήποτε και



από τις δύο μεθόδους αν χρησιμοποιηθεί θεωρείται αξιόπιστη. Βέβαια, η μέθοδος του έμμεσου ανοσοφθορισμού η οποία θεωρείται μέθοδος αναφοράς, είναι αρκετά χρονοβόρα για να πραγματοποιηθεί, η εκτίμηση των αποτελεσμάτων απαιτεί ταχύτητα, μικροσκόπιο οπτικό και ανοσοφθορισμού, είναι ημιποσοτική και το κυριότερο υποκειμενική. Σε αντίθεση με τον ανοσοφθορισμό η μέθοδος της στερεάς φάσης (Capture P Ready Screen) απαιτεί μικρότερο χρόνο για να πραγματοποιηθεί και επαναλαμβάνεται εύκολα. Τα αποτελέσματά της, όπως προαναφέραμε, είναι παρόμοια με την μέθοδο του έμμεσου ανοσοφθορισμού και οι μικρές διαφορές δεν εμφανίζουν στατιστικά σημαντική υπεροχή.

Σε ασθενείς με ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα υπήρχαν παλαιότερες μελέτες οι οποίες αναφέρονταν στο σημαντικό ρόλο που πιθανότατα διαδραματίζουν τα αντιαιμοπεταλιακά αντισώματα στον αυξημένο ρυθμό καταστροφής αιμοπεταλίων που χαρακτηρίζει τη νόσο (Shulman NR, 1965). Οι μελέτες που αναφέρονται στην μέτρηση της Platelet associated IgG αναφέρουν ποσοστά θετικότητας τα οποία ποικίλουν και κυμαίνονται από 60-90% των ασθενών που εμφανίζουν θρομβοπενία (Karpatkin S, 1980). Στη δική μας μελέτη οι ασθενείς με ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα ανευρέθησαν να έχουν θετικά αντιαιμοπεταλιακά αντισώματα με τη μέθοδο του έμμεσου ανοσοφθορισμού, δηλαδή κυκλοφορούσης IgG που επικάθητο στα αιμοπετάλια σε ποσοστό 55% και σε ποσοστό 60% με την μέθοδο της στερεάς φάσεως. Τα αποτελέσματά μας όταν συγκρίθηκαν με το ποσοστό των ασθενών που έπασχαν από οποιαδήποτε άλλη αυτοάνοση νόσο χωρίς συνοδό θρομβοπενία και με αυτά των υγιών μαρτύρων βρέθηκε ότι είχαν στατιστικά σημαντική διαφορά. Βέβαια όπως στις άλλες μελέτες, έτσι και εδώ αντιγόνο θεωρήθηκε ολόκληρο το ΑΜΠ και ίσως η ευαισθησία της μεθόδου και το ποσοστό των θετικών αποτελεσμάτων να ήταν μεγαλύτερο αν το αντιγόνο ήταν μέρος της μεμβράνης του ΑΜΠ. Άλλες μελέτες προτείνουν να μετρηθούν αντισώματα κατά ειδικών αντιγονικών στόχων όπως η



GP1Ib/IIIa για να επιτύχουν μεγαλύτερη ευαισθησία απομόνωσης θετικών αντισταμοπεταλιακών αντισωμάτων (Van Leeuwen EF, 1982, Woods VL, 1984).

Τα επόμενα έτη ίσως απαιτηθούν περισσότερες μελέτες για να διευκρινίσουν τον ρόλο των πρωτεϊνών αυτών όπως και το ρόλο του συμπληρώματος στην αυξημένη καταστροφή των αιμοπεταλίων αλλά και για να μετρηθούν ποσοτικά τα αντισώματα κατά αντιγονικών στόχων της μεμβράνης των ΑΜΠ, έτσι ώστε με μόνες αυτές τις εξετάσεις να μπορεί να γίνει διάγνωση της ιδιοπαθούς θρομβοπενικής πορφύρας από άλλες καταστάσεις μη ανοσολογικής καταστροφής ΑΜΠ.

Ασθενείς με συστηματικό ερυθματώδη λύκο

Είναι γνωστό ότι ο ΣΕΛ θεωρείται η νόσος πρότυπο για την ανάπτυξη αυτοανοσίας και χαρακτηρίζεται από ποικιλία κυκλοφορούντων αυτοαντισωμάτων που κατευθύνονται κατά πυρηνικών, κυτταροπλασματικών και ποικίλων άλλων αντιγόνων. Η αναιμία και η θρομβοπενία μπορεί να είναι από τα πρώτα ευρήματα της νόσου ή μπορεί να εμφανισθεί σε οποιαδήποτε φάση κατά τη διαδρομή της νόσου. Ο μηχανισμός καταστροφής των έμμορφων στοιχείων του αίματος μπορεί να οφείλεται σε αντισώματα που κατευθύνονται κατά αντιγονικών στοιχείων των μεμβρανών τόσο των ερυθρών όσο και των ΑΜΠ. Τελικά τα κύτταρα που φέρουν επί αυτών το σύμπλεγμα αντιγόνου αντισώματος φαγοκυτταρώνονται από τα μακροφάγα κύτταρα του δικτυοενδοθηλιακού συστήματος και καταστρέφονται. Επιπρόσθετα, στο μηχανισμό αυτό καταστροφή των ΑΜΠ από αυτοαντισώματα φαίνεται ότι υπάρχει και άλλος μηχανισμός καταστροφής που είναι δυνατό να οφείλεται στην κυκλοφορία θρομβοφιλικών αντισωμάτων στον ορό (Mc Millan 1983).

Όλες αυτές οι σκέψεις που έχουν κατά καιρούς διατυπωθεί οδηγούν στην ιδέα να διερευνηθεί κατά πόσο η ύπαρξη αντισταμοπεταλιακών αντισωμάτων ευθύνεται για την εμφάνιση θρομβοπενίας σε ασθενείς με συστηματικό ερυθματώδη λύκο.



Στην μελέτη μας με τη μέθοδο του έμμεσου ανοσοφθορισμού και τη μέθοδο στερεάς φάσης μελετήθηκαν ασθενείς με συστηματικό ερυθηματώδη λύκο και θρομβοπενία. Στους ασθενείς αυτούς είχε προηγουμένως αποκλειστεί κάθε άλλο αίτιο θρομβοπενίας (διήθηση του μυελού, υπερσπληνισμός, αντισώματα κατά φωσφολιπιδίων). Ανευρέθηκαν θετικά αντιαιμοπεταλιακά αντισώματα σε υψηλό ποσοστό 75% και με τις δύο μεθόδους μελέτης, τον έμμεσο ανοσοφθορισμό και τη μέθοδο στερεάς φάσεως, ευρήματα που συμφωνούν και με άλλους συγγραφείς (Misericordia Pujol 1993). Η παρουσία αντιαιμοπεταλιακών αντισωμάτων δεν συσχετίζεται με κάποια άλλη ιδιαίτερη εκδήλωση της νόσου. Οι ασθενείς που μελετήθηκαν και ανευρέθησαν να έχουν θετικά αντιαιμοπεταλιακά αντισώματα εμφάνιζαν ποικιλία εκδηλώσεων του νοσήματος. Ως προς τις λοιπές ορολογικές εξετάσεις, οι ασθενείς που είχαν ισχυρά θετικά αντιαιμοπεταλιακά αντισώματα είχαν χαμηλά επίπεδα συμπληρώματος και υψηλούς τίτλους αντιπυρηνικών αντισωμάτων. Βέβαια, αρκετοί ασθενείς με αρνητικά αντιαιμοπεταλιακά αντισώματα εμφάνιζαν υψηλή ενεργότητα της νόσου και ως προς τις κλινικές εκδηλώσεις αλλά και ως προς τα ορολογικά ευρήματα, άρα τα αντιαιμοπεταλιακά αντισώματα δεν εμφανίζουν υψηλή ειδικότητα για τη διάγνωση της ενεργότητας της νόσου.

Με την μελέτη μας δεν κατέστη δυνατό να προσδιοριστεί αν η ύπαρξη αντιαιμοπεταλιακών αντισωμάτων είναι ο μοναδικός αιτιολογικός παράγοντας για την θρομβοπενία ή αποτελούν τα αντισώματα αυτά μία ακόμη ανοσολογική διαταραχή στη σωρεία ορολογικών ανωμαλιών που παρατηρείται στο νόσημα αυτό.

Σύνδρομο Sjogren

Στους ασθενείς με σύνδρομο Sjogren το ποσοστό θετικότητας αντιαιμοπεταλιακών αντισωμάτων ήταν 60% και με τις δύο μεθόδους.



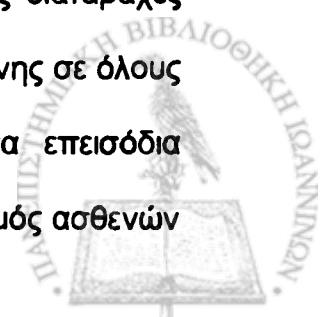
Οι ασθενείς που μελετήθηκαν εμφάνιζαν θρομβοπενία, ήπιες αιμορραγικές διαταραχές, ξηροστομία, ξηροφθαλμία, υπεργαμμασφαιριναιμία και αγγειοπδικό εξάνθημα 2 ασθενείς. Όλοι σχεδόν οι ασθενείς εμφάνιζαν αντισώματα anti Ro(SSA) θετικά.

Τα ευρήματά μας συμφωνούν με αυτά της διεθνούς βιβλιογραφίας στην οποία αναφέρεται ότι οι έχοντες προσβολή του αίματος και αγγειίτιδα εμφανίζουν υψηλό ποσοστό θετικότητας στο αντίσωμα αυτό. Η διαφορά των ποσοστών θετικότητας μεταξύ των ασθενών με σύνδρομο Sjogren και των ασθενών με αυτοάνοσα νοσήματα χωρίς θρομβοπενία που χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες, ήταν στατιστικά σημαντική. Επίσης στατιστικά σημαντική ανευρέθη και η διαφορά τους από τους υγιείς μάρτυρες.

Ασθενείς με αντιφωσfolιπιδικό σύνδρομο

Στην μελέτη μας ανιχνεύσαμε την ύπαρξη αντιαιμοπεταλιακών αντισωμάτων σε ασθενείς που είχαν θετικά αντισώματα κατά καρδιολιπίνης χωρίς να υπάρχει εμφανές υποκείμενο νόσημα.

Οι ασθενείς είχαν ταξινομηθεί ως πάσχοντες από νόσημα με βάση την ήπια θρομβοπενία, την παράταση του χρόνου μερικής θρομβοπλαστίνης, τις υποτροπιάζουσες θρομβώσεις παρά την θρομβοπενία κατά επανειλημμένα επεισόδια αποβολών εμβρύων (Harris EN 1983, Love RE 1990, Asherson RA 1989). Οι ασθενείς αυτοί ανευρέθησαν να έχουν θετικά αντιαιμοπεταλιακά αντισώματα σε ποσοστό αρκετά υψηλό 75% και με τις δύο μεθόδους που μελετήθηκαν. Στους ασθενείς που ανευρέθησαν θετικά αντιαιμοπεταλιακά αντισώματα άλλες διαταραχές που παρατηρήθηκαν ήταν παράταση του χρόνου μερικής θρομβοπλαστίνης σε όλους σχεδόν τους ασθενείς, επεισόδια καθ' ἑξιν αποβολών και ελάχιστα επεισόδια θρομβώσεων, RPR εμφάνιζε θετική μία ασθενής και περιορισμένος αριθμός ασθενών

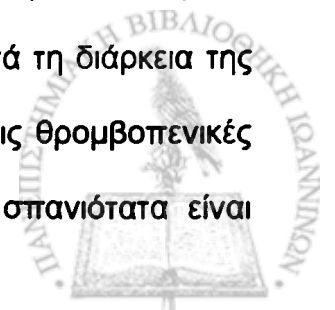


εμφάνιζε αντίδραση Coombs θετική. Το υψηλό ποσοστό θετικότητας των αντισταμοπεταλιακών αντισωμάτων στη νόσο αυτή δεν είναι εύκολο να εξηγηθεί. Μία πιθανή ερμηνεία είναι να πρόκειται για διασταυρούμενη αντίδραση της κυκλοφορούσης IgG κατά των φωσφολιπιδίων των μεμβρανών συμπεριλαμβανομένων και των στοιχείων της μεμβράνης των ΑΜΠ. Στην βιβλιογραφία δεν αναφέρονται μελέτες για τον επιπολασμό των αντισταμοπεταλιακών αντισωμάτων. Το εύρημα αυτό είναι απαραίτητο να επιβεβαιωθεί με περισσότερο εκτεταμένες μελέτες που να αφορούν μεγαλύτερο αριθμό ατόμων.

Έγκυες με θρομβοπενία - Θρομβοπενία νεογνών θρομβοπενικών μητέρων

Στις έγκυες που μελετήσαμε το ποσοστό ανεύρεσης αντισταμοπεταλιακών αντισωμάτων ήταν 26% και με τις δύο μεθόδους που μελετήθηκαν και ευρίσκεται σε συμφωνία με άλλες μελέτες. Άρα ο μηχανισμός καταστροφής των ΑΜΠ κατά τη διάρκεια της κύησης είναι πιθανότατα ανεξάρτητος της ύπαρξης αντισταμοπεταλιακών αντισωμάτων. Οι παράγοντες που ενέχονται στην παθογένεια της θρομβοπενίας είναι άλλοι που δεν σχετίζονται με την φαγοκυττάρωση ανοσοσυμπλεγμάτων ΑΜΠ και ανοσοσφαιρινών. Έχουν γίνει σημαντικές αναφορές στη βιβλιογραφία για τον τόπο και το τρόπο καταστροφής των αιμοπεταλίων. Πολλοί θεωρούν ότι ο τόπος καταστροφής είναι η δαιδαλώδης πλακουντιακή κυκλοφορία. Δεδομένου του χαμηλού επιπολασμού των αντισταμοπεταλιακών αντισωμάτων στις έγκυες θεωρείται επιβεβλημένο να ανευρεθούν και να μελετηθούν άλλοι αιτιολογικοί παράγοντες ενοχοποιούμενοι στην πρόκληση θρομβοπενίας κατά τη διάρκεια της κύησης.

Ο επιπολασμός των αντισταμοπεταλιακών αντισωμάτων ανευρίσκεται εξίσου χαμηλός και στα νεογνά μητέρων που εμφάνισαν θρομβοπενία κατά τη διάρκεια της κύησης. Το ποσοστό θετικότητας κυμαίνεται στο 26% όπως και στις θρομβοπενικές μητέρες. Η θρομβοπενία εμφανίζεται αμέσως μετά τη γέννηση, σπανιότατα είναι



βαρειά ώστε να προκαλεί αιμορραγικά επεισόδια και υφίεται αφ' εαυτής στο πρώτο τρίμηνο της ζωής χωρίς θεραπεία (Karpatkin S 1981).

Μία πιθανή εξήγηση της αιτιολογίας της θρομβοπενίας των νεογνών αυτών είναι ότι αυτά παρήχθησαν στον οργανισμό της μητέρας και εισήλθαν στην κυκλοφορία του νεογνού από την εμβρυοπλακουντιακή κυκλοφορία και δεν παρήχθησαν από το ίδιο το έμβρυο. Συνηγορητικό αυτής της άποψης είναι το γεγονός ότι η θρομβοπενία του εμβρύου είναι ήπια συχνά ασυμπτωματική και σπάνια απαιτεί ειδική θεραπεία (κορτικοειδή ή υπεράνοσο γ σφαρίνη) και απαντάται με την ίδια συχνότητα σε θρομβοπενικές μητέρες.

Λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα

Οι ασθενείς που πάσχουν από λεμφοϋπερπλασματικά νοσήματα μπορεί να εμφανίσουν θρομβοπενία είτε από διήθηση από τον παθολογικό κλώνο είτε ως αποτέλεσμα της χορηγούμενης θεραπείας είτε και των δύο σε συνδυασμό.

Για μία μεγάλη μερίδα ασθενών με θρομβοπενία αιτιοπαθογενετικός μηχανισμός θεωρείται η καταστροφή των ΑΜΠ επειδή φαγοκυτταρώνονται από κύτταρα του ΔΕΣ όταν έχουν επικαθήσει επ' αυτών αντισώματα IgG. Υπάρχουν αρκετές ενδείξεις ότι για την παραγωγή των αντισωμάτων αυτών ευθύνονται τα CD5+ κύτταρα που υπάρχουν στη νόσο. Τα ποσοστά θετικότητας στην βιβλιογραφία αναφέρονται μέχρι 60% το πολύ. Στις δικές μας μελέτες τα ποσοστά θετικότητας ήταν 46% και 40% για τον ανοσοσθορισμό και την μέθοδο στερεάς φάσης αντίστοιχα. Η διαφορά τους τόσο σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες που χρησιμοποιήθηκαν, όσο και με τους πάσχοντες από ανοσολογικό νοσήματα χωρίς θρομβοπενία ανευρέθηκε να είναι στατιστικά σημαντική. Η ανεύρεση κυκλοφορούντων αντιαιμοπεταλιακών αντισωμάτων στον ορό των ασθενών ήταν ανεξάρτητη του σταδίου στον οποίο ευρίσκεται η νόσος όπως επίσης και της διήθησης από ξένα κύτταρα.



Παραθέτουμε συνοπτικά τα αποτελέσματα μας σε δύο πίνακες. Ο πρώτος αναφέρεται στα αποτελέσματα που αφορούν τους ασθενείς και ο δεύτερος στους μάρτυρες χωρίς θρομβοπενία και στους υγιείς. Ακολουθεί σχηματική παράσταση των αποτελεσμάτων μας κατά ομάδα εξετασθέντων.

Πίνακας 1. Συνοπτικά αποτελέσματα ασθενών

Ομάδες ασθενών	Ν*	Έμμ. ανοσοφθορισμός	Μέθ. στερεάς φάσης
Ιδιοπαθής θρομβοπενική πορφύρα	45	24 (55%)	28 (60%)*
Συστηματικός Ερυθματώδης Λύκος	17	12 (75%)	12 (75%)
Σύνδρομο Sjogren	5	3 (60%)	3 (60%)
Αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο	15	13 (86%)	12 (80%)
Έγκυες με θρομβοπενία	15	4 (26%)	4 (26%)
Θρομβοπενικά νεογνά	15	1 (6,2%)	1 (6,2%)
Λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα	15	7 (46%)	6 (40%)
Σύνολο	121	54	66

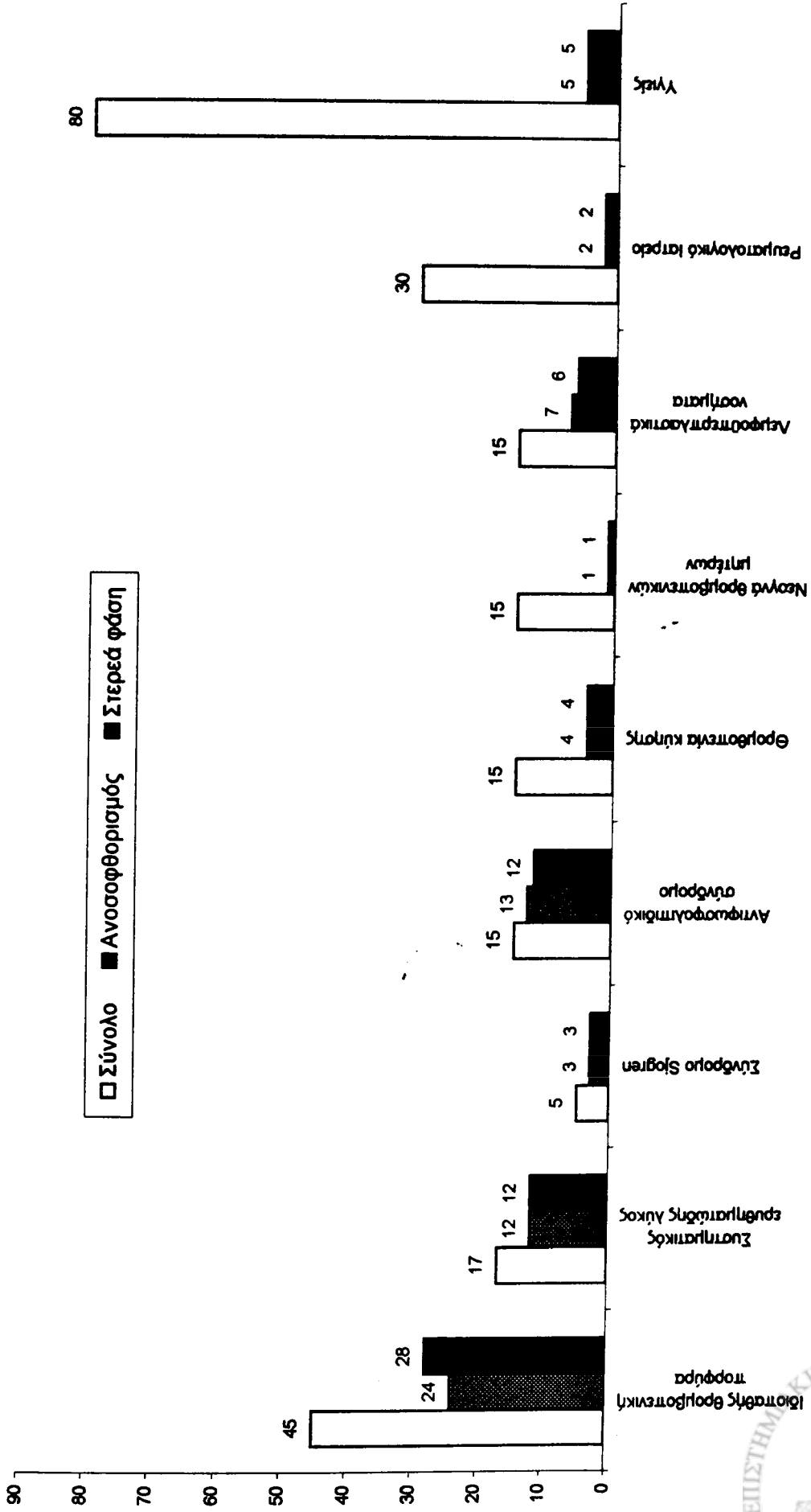
* Αριθμός ασθενών

Πίνακας 2. Συνοπτικά αποτελέσματα για τις δύο ομάδες των μαρτύρων

Ομάδες ελέγχου	Ν*	Έμμ. Ανοσοφθορισμός	Μέθ. Στερεάς φάσης
Ασθενείς χωρίς θρομβοπενία	30	2 (6,6%)	2 (6,6%)
Υγιείς μάρτυρες	80	5 (6,2%)	5 (6,2%)
Σύνολο	110	7	7

* Αριθμός ασθενών





Εικόνα. Συχνότητα αντιιμμοπεταλιακών αντισωμάτων κατά ομάδα εξετασθέντων



BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Abrahamsen AF. Platelet survival studies in man-with special reference to thrombosis and atherosclerosis. *Scand J Haematol* 3: 7, 1968.
2. Abramowitz JW. A second form of actin: Platelet microfilaments depolymerized by ATP and divalent cations. *Arch Biochem Biophys* 157:230, 1975.
3. Adelstein RS, Pollard TD. Platelet contractile proteins. *Prog Hemost Thromb* 4:37, 1978.
4. Adelstein RS, et al. The interaction of platelet actin, myosin, light chain kinase. In CIBA Foundation Symposium on Biochemistry and Pharmacology of Blood Platelets, eds K Elliott, J Knight. Amsterdam: Elsevier-Excerpta Medica, 1975.
5. Alexander EL, Arnett FC, Provost TT, Stevens MB. Sjogren's syndrome: association of anti Ro(SSA) Ab with vasculitis, hematologic abnormalities and serologic hyperreactivity. *Ann Int Med* 98(2): 155-159, 1983.
6. Alexander EL, et al. Sjogren syndrome: association of anti-Ro (SS-A) antibodies with vasculitis hematological abnormalities and serologic hyperreactivity. *Inter Med* 91:2, 1983.
7. Aster RH. Pooling of platelets in the spleen: Role in the pathogenesis of "hypersplenic" thrombocytopenia. *J Clin Invest* 45: 645, 1966.



8. Bernard J, Caen J. Purpura thrombopenique et megakaryocytopenia cycliques mensuels. *Nouv Rev Fr Hematol* 2: 378, 1962.
9. Berndt MC, Caen JP. Platelet glycoproteins. *Prog Hemost Thromb* 7:111, 1984.
10. Biossel LP, et al. Erythropoietin structure function relationships: mutant proteins that test a model of tertiary structure. *J Biol Chem* 268:15983, 1992.
11. Block GE, et al. Splenectomy for idiopathic thrombocytopenic purpura. *Arch Surg* 92:484, 1966.
12. Boumpas DI, Austin HA, Kessler BJ, Balow JE. Systemic Lupus Erythematosus: emerging concepts. *Ann Int Med* 122(12): 970-950, 1995.
13. Briddell, RA et al. Role of cytokines in sustaining long-term human megakaryocytopoiesis in vitro. *Blood* 79: 552, 1992.
14. Bukowski RM, et al: Therapy of thrombotic-thrombocytopenic purpura. An overview. *Semin Thromb Hemost* 7:1,1981.
15. Burstein SA, et al: Megakaryocytopoiesis in the mouse:response to varying platelet demand. *J Cell Physiol* 109:333, 1981.
16. Campbell A, et al: Extracellular matrix promotes the growth cells and differentiation of murine hematopoietic cells in vitro. *J Clin Invest* 78:2085, 1985.
17. Cardamone JM, Edison JR, McArthur JR, and Jacob HS. Abnormalities of platelet function in the myeloproliferative disorders. *JAMA* 221:270, 1972.
18. Clemetson K, et al: Isolation of some platelet membrane glycoproteins. *Thromb Haemost* 38:199, 1977; *Biochim Biophys Acta* 464:493, 1977.



19. Cohen P, Gardner FH and Barnett GO. Reclassification of the thrombocytopenias by the ⁵¹-Cr-labeling method for measuring platelet lifespan. *N Engl J Med* 264:1294, 1961.
20. Coligan JE, Slayter HS. Structure of thrombospondin. *J Biol Chem* 259:3944, 1984.
21. Colman RW, Robboy SJ and Minna JD. Disseminated intravascular coagulation: A reappraisal. *Ann Rev Med* 30: 359, 1979.
22. Cooley MH, Cohen P. Potassium transport in human blood platelets. *J Lab Clin Med* 70:69, 1967.
23. Debili N, Wendling F. The mpl receptor is expressed in the megakaryocytic lineage from late progenitors to platelets. *Blood* 85:391, 1995.
24. deGabriele G and Penington DG. Regulation of platelet production "Trombopoietin" *Br J Haematol* 13:21, 1967.
25. Degels ICG, et al. The Evans syndrome: Characterization of the responsible autoantibodies. *Br J Haematol* 51:445, 1982.
26. DeMarco L, et al: von Willebrand factor interaction with the glycoprotein IIb/IIIa complex: Its role in platelet function as demonstrated in patients with congenital afibrinogenemia. *J Clin Invest* 77:1272, 1986.
27. Deykin D. Emerging concepts of platelet function. *N Engl J Med* 290:144, 1974.
28. Dixon R, Rosi W, Ebbert L. Quantitative determination of antibody in ITP. *N Engl J Med* 292-230, 1975.



29. Doery JCG, et al. Energy metabolism in human platelets: Interrelationship between glycolysis and oxidative metabolism. *Blood* 36:159, 1970
30. Evatt BL and Levin J. Measurements of thrombopoiesis in rabbits using ⁷⁵Selenomethionine. *J Clin Invest* 48:1615, 1969.
31. Fcuton V, et al. The platelet count in pregnancy. *J Clin Pathol* 30:68, 1977.
32. Fox JEB and Philips DR. Polymerization and organization of actin filaments within platelets. *Semin Hematol* 20:243, 1983.
33. Fox JE, et al. Structure of glycoprotein Ib/IX complex from platelet membranes. *J Biol Chem* 263:4882, 1988.
34. Freedman J, et al. Unexplained peripartum thrombocytopenia. *Am J Hematol* 21: 397, 1986.
35. Frojmovic MM, Milton JG. Human platelet size, shape, and related functions in health and disease. *Physiol Rev* 62:185, 1982.
36. Frojmovic MM, Panjani R. Geometry of normal mammalian platelets by quantitative microscopic studies. *Biophys J* 16:1071, 1976.
37. Garber F H. Platelet kinetics and lifespan. *Clin Haematol* 1:307, 1972.
38. George JN, Nurden AT and Philips DR. Molecular defects in interaction of platelets with the vessel wall. *N Engl J Med* 311:1084, 1984.
39. George JN. The origin and significance of platelet IgG in Kunicki, George JN *Platelet Immunobiology, molecular and clinical aspects*. Philadelphia, Lippincott 436-453, 1989.



40. George JN, et al. Chronic thrombocytopenic purpura N Engl J Med 351: 1207, 1994.
41. Gerrard JM, et al. Biochemical studies of two patients with the gray platelets syndrome. J Clin Invest 66:102, 1980.
42. Gewitz AM, et al. In vitro studies of megakaryocytosis in thrombocytosis disorders of man. Blood 61: 384, 1983.
43. Gill GV, et al. Low platelet counts in Zambians. Trans R Soc Trop Med Hyg 73:111, 1979.
44. Gordon-Smith EC, Rutherford TR. Fanconi anemia, constituting aplastic anemia. Semin Hematol 28: 1041991.
45. Gospodazowicz D. Extracellular matrix and control of proliferation of vascular endothelial cells. J Clin Invest 65: 1351, 1980.
46. Groul SV, et al. Megakaryocytopoiesis in the spleen of growing rats Am J Anat 157:429,1980.
47. Gurney AL, Kung WJ, et al. Genomic structure chromosomal localization and conserved alternative splice forms of thrombopoietin. Blood 85:981, 1995.
48. Hall S, McCormick JL, Greipp PR, et al. Splenectomy does not cure the thrombocytopenia of systemic lupus erythematosus. Ann. Int Med 102:325, 1985.
49. Hall JG. Thrombocytopenia and absent rabins (TRR) Syndrome. J Med Genet 28:79, 1987.



50. Handin RJ and Stossel TP. Effect of corticosteroid therapy on the phagocytosis of antibody-coated platelets by human leukocytes. *Blood* 51:771, 1978.
51. Harker LA. Thrombokinetics in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 19:95, 1970.
52. Harris EN, Asherson RA, Charavi AE, Morgan SH, Derue G, Hughen CRV. Thrombocytopenia in SLE and related autoimmune disorders: association with anticardiolipin antibodies. *British Journal of Haematology* 59: 227-230, 1985.
53. Harker LA and Finch CA. Thrombokinetics in man. *J Clin Invest* 48:963, 1969.
54. Harker LA. Thrombokinetics in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 1970.
55. Harrington WJ, Minnich V, Hollingworth JW and Moore CV. Demonstration of a thrombocytopenic factor in the blood of patients with thrombocytopenic purpura. *J Lab Clin Med* 38:1, 1951.
56. Hassan NMR, Neiman RS. The pathology of the spleen in steroid-treated immune thrombocytopenic purpura. *Am J Clin Pathol* 84:433, 1985.
57. Hayward C, et al. Immune thrombocytopenia. *Current Opin in Hematol* 265, 1993. Bierling et al: Acquired autoimmune thrombocytopenia after allogeneic bone marrow transplantation. *Br J Haematol* 59: 643, 1985.
58. Hoffman R, et al. Assay of an activity in the serum of patients with disorders of thrombopoiesis that stimulates formation of megakaryocytic colonies. *N Engl J Med* 305:533, 1981.



59. Holmsen H, et al. Platelet behaviour and biochemistry. In Haemostasis: Biochemistry Physiology and Pathology, eds D Ogston, B Bennett. London: Wiley & Sons, 1977.
60. Horowitz HJ. Uremic toxins and platelet fuction. Arch Intern Med 126:823, 1970.
61. Idem Platelet and grannule proteins Biochemical and Pathological aspects. Platelet Physiology and Pharmacology Academic Press 1985.
62. Ishibashi T, et al: Interleukin 3 promotes the differentiation of isolated single megakaryocytes. Blood 67:1512, 1986.
63. Japa J. A study of the morphology and development of the megakaryocytes. Br J Exp Pathol 24:73, 1943.
64. Kanfman MK, et al. Origin of pulmonary megakaryocytes. Blood 25:767, 1965.
65. Kappers-Klunne Mc, van Vliet HHDM. IgM and IgG platelet antibodies in a case of infections mononucleosis and severe thrombocytopenia. Scand Haematol 32:145, 1984.
66. Karpatkin S. Heterogeneity of human platelets. II J Clin Invest 48:1083, 1969.
67. Karpatkin S, et al. Cumulative experience in the detection of antiplatelet antibody in 234 patients with idiopathic thrombocytopenic purpura, systemic lupus erythematosus and other clinical disorders. Am J Med 52:776, 1972.
68. Karpatkin S, et al. Heterogeneity of platelet function. Am J Med 64:542, 1978.
69. Karpatkin S. Autoimmune thrombocytopenic purpura. Blood 56: 329-343, 1980.



70. Karpatkin S, Porges R, Karpatkin M. Platelet counts in infants of women with autoimmune thrombocytopenic. *N Engl J Med* 305: 936-939, 1981.
71. Kelton JG. The serological investigation of patients with immune thrombocytopenic. *Thrombosis and Haemostasis* 74: 228-233, 1995.
72. Kimura H, et al. Interleukin 6 is a differentiation factor for human megakaryocytes in vitro. *Eur J Immunol* 20:1927,1990.
73. King DJ and Kelton JG. Heparin-associated thrombocytopenia. *Ann Intern Med* 100:535, 1984.
74. Kitchens CS. Amelioration of endothelial abnormalities by prednisolone in experimental thrombocytopenia in the rabbit. *J Clin Invest* 60: 1129, 1977.
75. Leeuwen EF, Ven JT, Engelfriet CP and von dem Borne. Specificity of autoantibodies in autoimmune thrombocytopenia. *Blood* 59, 23-26,1982.
76. Legrand YJ, et al. The molecular interaction between platelet and vascular wall. *Blood Cells* 9:263, 1983.
77. Levin J. Murine megakaryocytopoiesis, in vitro: An analysis of culture systems used for the study of megakaryocyte colony-forming cells and the characteristics of megakaryocytic colonies. *Blood* 61:617, 1983.
78. Levin J and Bessman JD. The inverse relation between platelet volume and platelet number. *J Lab Clin Med* 101:295, 1983.
79. Levine RF. Culture in vitro of isolated guinea pig megakaryocytes: Recovery, survival, morphologic changes and maturation. *Blood* 50:713, 1977.



80. Levine RF. Isolation and characterization of normal human megakaryocytes. *Br J Haematol* 45:487, 1980.
81. Levine RF, et al: The significance of megakaryocyte size. *Blood* 60: 1122, 1982.
82. Lok S, et al. Cloning and expression of murine thrombopoietin and stimulation of platelet production in vivo. *Nature* 369:565, 1994.
83. Machin SJ. Thrombotic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 56:191, 1984.
84. MacPherson GG. Changes in megakaryocyte development following thrombocytopenia. *Br J Haematol* 26:105, 1974.
85. Marchasin S, Wallerstein RD and Aggeler PM. Variation of the platelet count in disease. *Calif Med* 101:95,1964.
86. McCarty DJ. Arthritis and allied conditions. Philadelphia Lea & Febiger, 1965, 1985.
87. McDonald TP. Assays for thrombopoietin. *Scand J Haematol* 18:5, 1977.
88. McDonald TP. Thrombopoietin: its biology, purification and characterization. *Exp. Hematol*, 16:201,1988.
89. McMillan R, Longnire RL, Yelenosky R. Quantitation of platelet-binding IgG produced in vitro by spleens from patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med* 291:812, 1974.
90. Mc Millan R. Chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med* 304: 1135-1147, 1981.



91. **Mc Millan R. Immune thrombocytopenia. Clinics in Haematology 12: 64-88, 1983.**
92. **Mc Millan R. Antigen specific assays in immune thrombocytopenia. Trans Med Rev 4: 136-143, 1990.**
93. **Medoff HS. Platelet count in premature infants. J Pediatr 64: 287, 1964.**
94. **Metcalf D, et al. Growth of mouse megakaryocyte colonies in vitro. Proc Natl Acad Sci USA 72: 1744, 1975.**
95. **Miescher PA. Drugs - induced thrombocytopenia. Semin Hematol 10:311,1973.**
96. **Moncada S, Gryglewski S, Bunting S and Vane JR. An enzyme isolated from articles transforms prostaglandin endoperoxides to an unstable substance that inhibits platelet aggregation. Nature 263:663, 1976.**
97. **Mueller-Eckhardt C, Kiefel V. Laboratory methods for the detection of platelet antibodies and identification of antigens In Kunicki TJ, George JN. Platelet immunobiology, molecular and clinical aspects. Philadelphia: Lippincott 436-453, 1989.**
98. **Murphy SL. In search of a platelet Coomb's test. N Engl J Med 309:490, 1983.**
99. **Mustard JF, Packham MA. Factors influencing platelet function - adhesion, release and aggregation. Pharmacol Res 22:97, 1970.**
100. **Nachman RL, Ferris B. Human platelet membrane protein. Biochemistry 9:200, 1970.**
101. **Niewiarowski S. Proteins secreted by the platelet Thrombosis and haemostasis 38:924,1997.**



102. Nossel HL: Secreted platelet proteins. *Thromb Haemost* 40:1, 1978.
103. Odell TT Jr, Jackson CW and Reiter RS. Depression of the megakaryocyte platelet system in rats by transfusion of platelet. *Acta Haemtol* 38:34, 1967.
104. Odell TT Jr, McDonald TP and Asano M. Response of rat megakaryocytes to bleeding. *Acta Haemtol* 27:171, 1962.
105. Onder O, et al. Pseudothrombopenia caused by platelet agglutinins that are reactive in blood anticoagulated with chelating agents. *Blood* 56:477, 1980.
106. Orringer E, et al. Splenectomy in chronic thrombocytopenic purpura. *J Chronic Dis* 23:117, 1970.
107. Oski FA and Naiman JLL. Effect of live measles vaccine on the platelets count. *N Engl J Med* 275:352, 1966.
108. Pepper DS, Jamiesson GA. Studies on platelet glycoproteins. *Biochemistry* 8:3362, 1969; 9:3706, 1970.
109. Phillips DR, Agin PP. Platelet plasma membrane glycoproteins. *J Biol Chem* 252:2121, 1977.
110. Pisciotta AV, et al. Morphologic characteristics of megakaryocytes by phase contrast microscopy in normal and in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood* 8:703, 1953.
111. Pollard TD, et al. Contractile protein in platelet activation and contraction. *Ann NY Acad Sci* 283:218, 1977.



112. Post RM and Des Forges JF. Thrombocytopenia and alcoholism. *Ann Intern Med* 68:1230, 1968.
113. Prentice CRM, et al. Studies on blood coagulation, fibrinolysis and platelet function following exercise in normal and splenectomized people. *Br J Haematol* 23:541, 1972.
114. Queisser U, et al. Polyploidization of megakaryocytes in normal humans, in patients with idiopathic thrombocytopenia and with pernicious anemia. *Br J Haematol* 20: 489, 1971.
115. Rabellino EM, Levene RB, Leung LLK, Nachman RL. Human megakaryocytes: II. Expression of platelet proteins in early marrow megakaryocytes. *J Exp Med* 154: 88, 1981.
116. Recrschke EJ, et al. Correlation between fibrinogen binding to human platelets and platelet aggregability. *Blood* 55:811, 1980.
117. Rosse WF. Whatever happened to vinca-loaded platelets? *N Engl J Med* 310:1051, 1984.
118. Roth G and Majerus P. The mechanism of the effect of aspirin on human platelets. I. Acetylation of a particulate fraction protein. *J Clin Invest* 56:624, 1975.
119. Schick PK. The role of platelet membrane lipids in platelet hemostatic activities. *Semin Hematol* 16:221, 1979.
120. Schloesser LL, Kipp MA and Wenzel FJ. Thrombocytosis in iron-deficiency anemia. *J Lab Clin Med* 66:107, 1965



121. Schmaier AH. Platelet forms of plasma proteins: Plasma cofactors/substrates and inhibitors contained within platelets. *Semin Hematol* 22: 187, 1985.
122. Schulman I, et al. A factor in normal plasma required for platelet production; Chronic thrombocytopenia due to its deficiency. *Blood* 16:943, 1969.
123. Schwartz KA. Platelet antibody: Review of detection methods. *Am J Haematology* 29: 106-114, 1988.
124. Screiner DP and Levin J. Detection of thrombopoietic activity in plasma by stimulation of suppressed thrombopoiesis. *J Clin Invest* 49:1709, 1970.
125. Shulman L, Pierce M, Lukens A and Currinibhoy Z. Studies on thrombopoiesis. A factor in normal human plasma required for platelet production; chronic thrombocytopenia due to its deficiency. *Blood* 16: 943, 1960.
126. Shulman NR, et al. Immunoreactions involving platelets. *J Clin Invest* 40:1597, 1961.
127. Shulman NR. A mechanism of cell destruction in individuals sensitized to foreign antigens and its implications in autoimmunity. *Ann Intern Med* 60:506, 1964.
128. Smith JB and Willis AL. Aspirin selectivity inhibits prostaglandin production in human platelets. *Nature*, 231:235,1971.
129. Smith JB and Silver MJ. Prostaglandin synthesis by platelets and its biologic significance. In Cordon, J, L. (Ed.) : *Platelets in Biology and Pathology*. Amsterdam, Elsevier, p. 331, 1976.
130. Solum NO: Platelet membrane proteins. *Semin Hematol* 22:289, 1985.



131. Stahl CP, et al: Effects of human interleukin-6 on megakaryocyte development and thrombocytopoiesis in primates. *Blood* 78:1467, 1991.
132. Stockelbery D, Hou M, Jacobsson S, Kutti J, Wadenvik H. Detection of platelet autoantibodies in chronic ITP. A comparative study using flow cytometry, a whole platelet ELISA and an antigen capture ELISA. *Eur J Haematol* 56: 72-77, 1996.
133. Tablin F, et al. Blood platelet formation in vitro. The role of the cytoskeleton in megakaryocytes fragmentation. *J Cell Sci* 95:59, 1990.
134. Talal N, et al (eds). *Sjogren's Syndrome Clinical and Immunological Aspects*. *New York Med* 103:334, 1987
135. Tan EM, Cohen AS, Fries JF, Masi AT, Mc Shane, Talal N and Winchester RJ. The 1982 revised criteria for the classification of SLE. *Arthritis and Rheumatism* 25: 1271-1277, 1982.
136. Tranum BL and Haut A. Thrombocytosis: platelet kinetics in neoplasia. *J Lab Clin Med* 84:615, 1974.
137. Tuszynski GP, et al. Factor XI antigen and activity in human platelets. *Blood* 59:1148, 1982.
138. Tuszynski GP, et al. Associated of proteins with the platelet cytoskeleton. *Semin Hematol* 22:303, 1985.
139. Uchino H, et al. A cooperative clinical trial of high-dose immunoglobulin therapy in 177 cases of idiopathic thrombocytopenic purpura. *Thromb Haemost* 51: 182, 1984.



140. Vainchenker W, et al. Megakaryocyte colony formation from human bone marrow precursors. *Blood* 54:940, 1979.
141. Van Leeuwen EF, et al. Specificity of autoantibodies in autoimmune thrombocytopenia. *Blood* 59:23, 1982.
142. Von Dem Borne AEC, Helmerhorst, Leeuwen EF, Regels JG. Autoimmune thrombocytopenia detection of platelet autoantibodies with the suspension immunofluorescence test. *Br J Haematol* 45: 319-323, 1980.
143. Warrier I, Lusher JM. Intravenous gamma globulin treatment for chronic idiopathic thrombocytopenic purpura in children. *Symposium on Intravenous Gamma Globulin. Am J Med* 76(3): 193, 1984.
144. Watkis SPJr, Shulman NR. Platelet cold agglutinins. *Blood* 36:155, 1970.
145. Weintraub AH, Karpatkin S. Heterogeneity of rabbit platelets. II. Use of the megathrombocyte to demonstrate a thrombopoietic stimulus. *J Lab Clin Med* 83:896, 1974.
146. Wendling F, Vainchenker W. Thrombopoietin and its receptor, the proto-oncogene c-mpl. *Current Opinion in Hematology* 2: 331, 1995.
147. Wicho MS, et al: Extracellular matrix promotes mammary epithelial growth differentiation in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 79:3212, 1982.
148. Williams N, et al. Regulation of the proliferation and partial characterization of a megakaryocyte colony-stimulating factor from human plasma *J Clin Invest* 75: 1174, 1985.



149. Woods VL, et al. Autoantibodies against the platelet glycoproteins IIb/IIIa complex in patients with chronic ITP. *Blood* 63:368, 1984.
150. Wright JH. The mitogenesis of the blood platelets. *J Morphol* 21:263, 1910.
151. Zeigler FC, et al. In vitro megakaryocytopoietic and thrombopoietic activity of c-mpl ligand (TPO) on purified murine hematopoietic stem cells. *Blood* 84: 4045, 1994.
152. Zieve PD, Schmukler M. Fatty acids synthesis by human platelets. *Fed Proc* 28:575, 1969; *Am J Physiol* 219:1009, 1970.
153. Zucker MB. The functioning of blood platelets. *Sci Am* 242:86, 1980.
154. Zwaal RF, Hemker HC. Blood cell membranes and haemostasis. *Haemostasis* 11:12, 1982.



ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η θρομβοπενία είναι μία αιματολογική διαταραχή που απαντάται από μόνη της ή συνοδεύει άλλα νοσήματα. Μπορεί να οφείλεται είτε σε διήθηση του μυελού από παθολογικά κύτταρα ώστε να έχουμε μειωμένη παραγωγή ΑΜΓ.

Μερικές φορές ενώ υπάρχει ικανοποιητική ή και αυξημένη παραγωγή ΑΜΓ από τον μυελό των οστών, παρατηρείται σημαντική περιφερική καταστροφή.

Σκοπός της μελέτης μας ήταν η διερεύνηση της συμμετοχής ανοσολογικών μηχανισμών στην παθογένεια της περιφερικής καταστροφής των ΑΜΓ σε διάφορα νοσήματα, κυρίως αυτοάνοσα.

Υλικό: Μελετήσαμε 127 ασθενείς που έπασχαν από τα κάτωθι νοσήματα αντιστοίχως: ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα (ITP) 45 ασθενείς, συστηματικό ερυθματώδη λύκο (ΣΕΛ) 17 ασθενείς, σύνδρομο Sjogren (SS) 5 ασθενείς, αντιφωσfolιπιδικό σύνδρομο 15 ασθενείς, 15 έγκυες με θρομβοπενία όπως επίσης και τα 15 θρομβοπενικά νεογνά τους και τέλος 15 ασθενείς με λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα.

Ως ομάδες ελέγχου μελετήσαμε 110 ασθενείς, 80 υγιείς μάρτυρες και 30 ασθενείς χωρίς θρομβοπενία που προσήλθαν διαδοχικά στο Εξωτερικό Ρευματολογικό Ιατρείο για προγραμματισμένο έλεγχο επειδή έπασχαν από διάφορα αυτοάνοσα νοσήματα.



Μέθοδοι: Προσδιορίσαμε τα αντισταθμιστικά αντισώματα στον ορό ασθενών και μαρτύρων με δύο μεθόδους. Την μέθοδο του έμμεσου ανοσοφθορισμού, μία διεθνώς παραδεκτή μέθοδο αναφοράς, και μία εμπορική μέθοδο, τη μέθοδο στερεάς φάσης (Capture P Ready Screen).

Αποτελέσματα: Θετικά αντισταθμιστικά αντισώματα απομονώσαμε ως κατωτέρω περιγράφεται:

	Ανοσοφθορισμός	Μέθοδος στερεάς φάσης
Ασθενείς με ITP	24 (55%)	28 (60%)
Ασθενείς με ΣΕΛ	12 (75%)	12 (75%)
Ασθενείς με SS	3 (60%)	3 (60%)
Θρομβοπενικές έγκυες	4 (26%)	4 (26%)
Θρομβοπενικά νεογνά	1 (6,2%)	1 (6,2%)
Ασθενείς με λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα	7 (46%)	6 (40%)
Ασθενείς με αντιφωσfolιπιδικό σύνδρομο	13 (86%)	12 (80%)
Υγιείς μάρτυρες	5 (6,2%)	5 (6,2%)
Μη θρομβοπενικοί ασθενείς	2 (6,6%)	2 (6,6%)

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έδειξε ότι ο επιπολασμός των αντισταθμιστικών αντισωμάτων είναι στατιστικά σημαντικά υψηλότερος σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες και τους διαδοχικούς μη θρομβοπενικούς ρευματολογικούς ασθενείς, σε όλες τις ομάδες των ασθενών, πλην των νεογνών όπου η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική.



Συζήτηση Συμπεράσματα

Τα αποτελέσματά μας συμφωνούν με αυτά της βιβλιογραφίας όσον αφορά τον επιπολασμό των αντιαμοπεταλιακών αντισωμάτων στις διάφορες ομάδες ασθενών. Η θετικότητα τους ενισχύει την άποψη ότι υπάρχει ανοσολογικός μηχανισμός καταστροφής των ΑΜΠ. Η θετικότητα για τον συστηματικό ερυθματώδη λύκο είναι ανεξάρτητη της προσβολής συγκεκριμένου οργάνου και δεν είναι ενδεικτική της βαρύτητας της νόσου.

Οι δύο μέθοδοι ήταν ισότιμες στην τεκμηρίωση της ύπαρξης αντιαμοπεταλιακών αντισωμάτων. Καμία δεν υπερείχε της άλλης, αντίθετα η μία αλληλοσυμπληρώνει την άλλη μειώνοντας την πιθανότητα ανεύρεσης ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων.



SUMMARY

Thrombopenia is a coagulation disorder which is often seen alone or in combination with other disorders, immunologic and haematologic. Thrombopenia occurs due to infiltration of the bone marrow by neoplastic cells, or due to destruction of the platelets by immunologic mechanisms.

The aim of the study was to determine if there is an immunological process in the disorders where thrombopenia is observed.

Patients: We studied 127 thrombocytopenic patients, 45 with idiopathic thrombocytopenic purpura, 17 with systemic lupus erythematosus, 5 with Sjogren's syndrome, 15 with antiphospholipid syndrome, 15 pregnant women with thrombopenia and their 15 thrombopenic neonates, and 15 patients with lymphoproliferative disorders.

The control group consisted of 110 patients. Thirty consecutive patients with rheumatic diseases without thrombopenia and 80 healthy volunteers.

Methods: We tested the patients serum with two methods in order to detect antiplatelet antibodies. The first method was a modified indirect immunofluorescence test (PSIFT) first described by Von dem Born et al in the British Journal of Haematology, and the second a quick and easy method of solid phase (Capture P Ready Screen).



Results: Antiplatelet antibodies detected in 55 and 60% of the ITP patients respectively by the indirect immunofluorescence test and the solid phase method, in 75% of the SLE patients, in 60% of the patients with SS, in 86 and 80%, respectively by the two methods, of the patients with antiphospholipid syndrome, in 26% of the thrombopenic pregnant women in 6.6% of their thrombopenic neonates and in 46% of the patients with lymphoproliferative disorders. In the control groups antiplatelet antibodies were detected as follows:

Positive antiplatelet antibodies detected in 6.6% of 30 consecutive patients with rheumatic diseases without thrombopenia, and in 6.2% of the healthy volunteers.

Conclusions: Our results about antiplatelet antibodies prevalence are in agreement with the literature. The high prevalence of the platelet autoantibodies in all groups of patients indicates that there is an immunologic mechanism responsible for platelet destruction.

There is not correlation of the presence of antiplatelet antibodies and the severity of the disease. The two methods were comparable in detecting antiplatelet antibodies.

