



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ
Α΄ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**ΜΕΛΕΤΗ ΔΙΑΤΑΡΑΧΩΝ ΠΗΞΗΣ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ
ΜΕ ΗΠΑΤΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ**

**ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ-ΝΙΚΗ ΟΙΚΟΝΟΜΟΥ
ΝΟΣΗΛΕΥΤΡΙΑ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2015



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ
Α΄ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**ΜΕΛΕΤΗ ΔΙΑΤΑΡΑΧΩΝ ΠΗΞΗΣ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ
ΜΕ ΗΠΑΤΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ**

**ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ-ΝΙΚΗ ΟΙΚΟΝΟΜΟΥ
ΝΟΣΗΛΕΥΤΡΙΑ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2015

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υπωδηλώνει αποδοχή των γνωμών του συγγραφέα Ν.5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2 (νομική κατοχήρωση του Ιατρικού Τμήματος)

Ημερομηνία αίτησης της κ. Οικονόμου Αικατερίνης-Νίκης: 3-11-2009

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 674^α/12-1-2010

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επιβλέπων

Χρήστου Λεωνίδας Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογίας

Μέλη

Τσιάνος Επαμεινώνδας Καθηγητής Παθολογίας

Μπαλταγιάννης Γεράσιμος Λέκτορας Γαστρεντερολογίας

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 29-4-2010

«Μελέτη διαταραχών πήξης του αίματος σε ασθενείς με ηπατικά νοσήματα».

ΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ : 780^α/2-7-2015

1. Τσιάνος Επαμεινώνδας Καθηγητής Παθολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Παν/μίου Ιωαννίνων
2. Τσιάρα Σταυρούλα Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παθολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Παν/μίου Ιωαννίνων
3. Χρήστου Λεωνίδας Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Παν/μίου Ιωαννίνων
4. Χριστοδούλου Δημήτριος Αναπληρωτής Καθηγητής Γαστρεντερολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Παν/μίου Ιωαννίνων
5. Καλαμπόκης Γεώργιος Επίκουρος Καθηγητής Παθολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Παν/μίου Ιωαννίνων
6. Κατσάνος Κωνσταντίνος Επίκουρος Καθηγητής Γαστρεντερολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Παν/μίου Ιωαννίνων
7. Μπαλταγιάννης Γεράσιμος Επίκουρος Καθηγητής Γαστρεντερολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Παν/μίου Ιωαννίνων

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 7-7-2015

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

Πασχόπουλος Μηνάς

Καθηγητής Μαιευτικής-Γυναικολογίας

Η Υπογραφέας του Τμήματος

ΚΑΠΙΤΟΠΟΥΛΟΥ ΜΑΡΙΑ



στον πατέρα μου Ευστάθιο Κ.Οικονόμου

στο γιο μου Ευάγγελο – Μάριο Σ.Τζίμα

στο μέντορα μου Νικόλαο Κολαΐτη

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Σ' αυτό το σημείο θέλω να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στο Καθηγητή Παθολογίας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, Ιατρικής, κ. Επαμεινώνδα Τσιάνο για την εμπιστοσύνη που έδειξε στις δυνατότητες μου .Η επιλογή του υπήρξε αφορμή για να διευρύνω τις γνώσεις μου και να θέσω καινούργιους στόχους.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Επιβλέποντα Καθηγητή Παθολογίας κ.Χρήστου Λεωνίδα για την καθοδήγηση του και την υποστήριξη του κατά τη διαδικασία ολοκλήρωσης της παρούσας έρευνας.

Ευχαριστώ επίσης θερμά τον Γεράσιμο Μπαλταγιάννη Επίκουρο Καθηγητή της Γαστρεντερολογίας για τη βοήθεια στο σχεδιασμό και προγραμματισμό της αλλά κυρίως για τη συμπαράσταση και τις πολύτιμες συμβουλές του.

Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Νικόλαο Κολαίτη Διευθυντή του Αιματολογικού Εργαστηρίου για την σημαντική βοήθεια του και τις πολύτιμες συμβουλές του. Χωρίς την σημαντική συμβολή του θα ήταν αδύνατη η πραγμάτωση του εργαστηριακού τμήματος αυτής της μελέτης. Επίσης τον ευχαριστώ για την ενθάρρυνση και τη συμπαράσταση του.

Τη βαθιά μου ευγνωμοσύνη και τις θερμές μου ευχαριστίες εκφράζω στο Επίκουρο Καθηγητή Παθολογίας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων Τμήματος Ιατρικής κ.Καλαμπόκη Γεώργιο που με την πολύτιμη βοήθεια του και τη διάθεση προσωπικού χρόνου πραγματοποιήθηκε το στατιστικό κομμάτι της έρευνας .

Ευχαριστώ την επταμελή επιτροπή Τσιάρα Σταυρούλα Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παθολογίας του Τμηματός Ιατρικής Παν/μίου Ιωαννίνων, Χριστοδούλου Δημήτριος Αναπληρωτής Καθηγητής Γαστρεντερολογίας του Τμηματός Ιατρικής Παν/μίου Ιωαννίνων, Κατσάνος Κωσταντίνος Επίκουρος Καθηγητής Γαστρεντερολογίας του Τμηματός Ιατρικής Παν/μίου Ιωαννίνων.

Επιπλέον θέλω να ευχαριστήσω όλους τους εργαζόμενους στο Αιματολογικό εργαστήριο του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων χωρίς τη βοήθεια τους και την υποστήριξη τους δεν θα ήταν δυνατή η ολοκλήρωση της έρευνας, την Ά Παθολογική κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων ιατρούς και νοσηλευτές.

Ευχαριστώ την αγαπημένη μου οικογένεια που με ενέπνευσαν, μοιράστηκαν την αγωνία μου και με στήριξαν στη προσπάθεια για την επίτευξη των στόχων μου .

Θα ήθελα τέλος να ευχαριστήσω την φίλη μου Λεοντάρη Μαρία, για την ακούραστη και αμέριστη ψυχολογική υποστήριξη, για την συμπαράσταση, την ανεκτίμητη βοήθεια που μου πρόσφερε καθ' όλη τη διάρκεια της έρευνας .

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η κίρρωση χαρακτηρίζεται από σημαντικές αιμοστατικές διαταραχές. Μία αιτιολογική συσχέτιση μεταξύ της παράτασης των συμβατικών δοκιμασιών πήκτικότητας, όπως ο χρόνος προθρομβίνης ή το INR και ο χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης (APTT) με τον αιμορραγικό κίνδυνο σε ασθενείς με κίρρωση είχε για πολλά έτη θεωρηθεί δεδομένη αν και δεν αποδείχτηκε ποτέ. Κατά συνέπεια, έγινε ευρέως αποδεκτό ότι οι κίρρωτικοί ασθενείς αυτοπροστατεύονται από θρομβωτικά γεγονότα.

Πολλά στοιχεία, ωστόσο, τα τελευταία έτη δείχνουν ότι η κίρρωση δεν θα πρέπει να θεωρείται πλέον μία υποπηκτική κατάσταση. Πράγματι, η συνθετική διαταραχή του ήπατος στην κίρρωση οδηγεί σε παράλληλη μείωση όχι μόνο των προπηκτικών παραγόντων αλλά και των φυσικών αντιπηκτικών παραγόντων, όπως αντιθρομβίνη, πρωτεΐνη C, και πρωτεΐνη S.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Εισαγωγή: Παθοφυσιολογία της αιμόστασης	7
2. Αιμόσταση στην χρόνια ηπατική νόσο	11
2.1 Γενικές παραδοχές	11
2.2 Πρωτοπαθής αιμόσταση στην χρόνια ηπατική νόσο	12
2.3 Πηκτικότητα στην χρόνια ηπατική νόσο	13
3. Υπερπηκτικότητα στην κίρρωση	17
3.1 Αιμοστατική ισορροπία σε ασθενείς με κίρρωση	17
3.2 Αίτια υπερπηκτικότητας	18
3.3 Θρομβωτικές επιπλοκές στην κίρρωση	20
3.3.1 Θρόμβωση της πυλαίας φλέβας	20
3.3.2 Εν τω βάθει φλεβική θρομβοεμβολική νόσος	22
4. Συσχέτιση της υπερπηκτικότητας με την ηπατική ινογένεση	25
5. Κλινική συσχέτιση της υπερπηκτικότητας με τις επιπλοκές της πυλαίας υπέρτασης	29
6. Σκοπός	31

B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

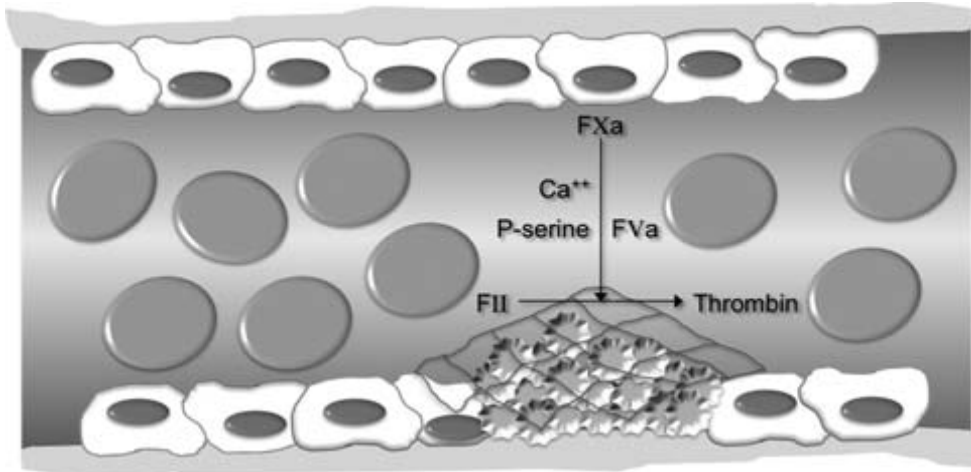
1. Ασθενείς και μέθοδοι	35
1.1 Ασθενείς	35
1.2 Μέθοδοι	36
1.2.1 Συλλογή δειγμάτων αίματος και προετοιμασία πλάσματος	36
1.2.2 Προπηκτικοί παράγοντες	37
1.2.3 Δείκτες υπερπηκτικότητας	37
1.2.4 Άλλοι παράγοντες αιμόστασης	38
1.2.5 Λοιπές εργαστηριακές εξετάσεις	38
1.3 Πρωτόκολλα μελέτης αιμόστασης	39
1.3.1 Πρωτόκολλο Α	39
1.3.2 Πρωτόκολλο Β	39
2. Στατιστική ανάλυση	41
3. Αποτελέσματα	43
4. Συζήτηση	81
5. Συμπεράσματα	89

6. Περίληψη	91
7. Περίληψη στην Αγγλική γλώσσα	95
Γ. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	99
Δημοσιεύσεις	113

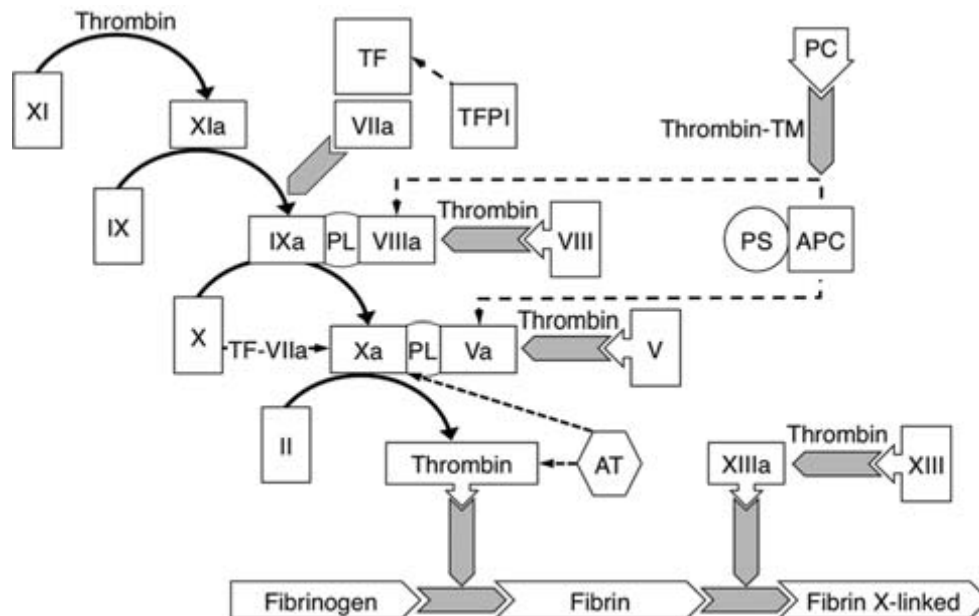
A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Εισαγωγή: Παθοφυσιολογία της αιμόστασης

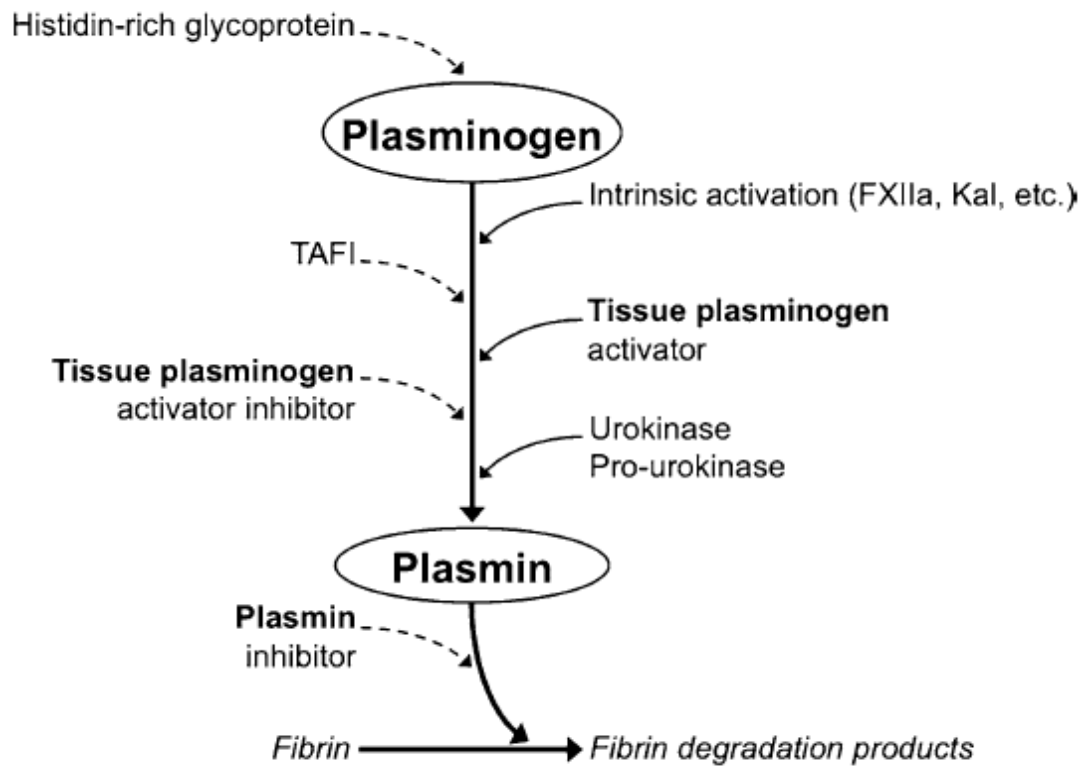
Η επαρκής αιμόσταση σε φυσιολογικές συνθήκες διασφαλίζεται από την σωστή αλληλεπίδραση μεταξύ πρωτοπαθούς αιμόστασης, πηκτικότητας και ινωδόλυσης. Η πρωτοπαθής αιμόσταση ξεκινάει από την προσκόλληση των αιμοπεταλίων στο υπενδοθήλιο στο σημείο της βλάβης μέσω του παράγοντα von Willebrand (vWF) και ειδικών αιμοπεταλιακών υποδοχέων. Μετά την προσκόλληση, τα αιμοπετάλια τείνουν να συναθροίζονται μέσω του ινωδογόνου ή του vWF με ουσίες που εκκρίνονται από το αιμοπετάλιο ενεργώντας σαν αγωνιστές. Τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια μέσα στον πρωταρχικό θρόμβο παρουσιάζουν αρνητικά φορτισμένα φωσφολιπίδια στην μεμβράνη τους που συνδέουν παράγοντες της πήξης εξαρτώμενους από την βιταμίνη Κ (**Σχήμα 1**), ξεκινώντας έτσι την αλυσίδα των γεγονότων που οδηγούν στην παραγωγή θρομβίνης και τελικά στην μετατροπή του ινωδογόνου σε ινώδες (**Σχήμα 2**). Το ινώδες στην συνέχεια σταθεροποιείται από τον ενεργοποιημένο παράγοντα XIII. Ακολούθως μέσω της ινωδόλυσης γίνεται η αποδόμηση του ινώδους μέσω ενός σύμπλοκου μηχανισμού από προ- και αντι-ενεργοποιητές, που ρυθμίζουν την δημιουργία της πλασμίνης (**Σχήμα 3**). Απώλεια ή υπερλειτουργία κάποιου από τους ανωτέρω μηχανισμούς μπορεί να οδηγήσουν σε αιμορραγία ή θρόμβωση.



Σχήμα 1. Σχηματική αναπαράσταση του ρόλου των αιμοπεταλίων στην πρωτογενή αιμόσταση. Τα αιμοπετάλια προσκολλώνται στο υπενδοθήλιο στο σημείο της βλάβης, συναθροίζονται και παρουσιάζουν στην επιφάνειά τους φωσφατιδυλσερίνη (P-serine), η οποία προάγει την μετατροπή του παράγοντα II σε θρομβίνη μέσω των παραγόντων Xa και Va, και ιόντων ασβεστίου.



Σχήμα 2. Τα συμπαγή βέλη υποδηλώνουν διεργασίες ενεργοποίησης και τα διακεκομμένα βέλη ανασταλτικές διεργασίες.



Σχήμα 3. Σχηματική αναπαράσταση ινωδόλυσης. Τα συμπαγή βέλη υποδηλώνουν διεργασίες ενεργοποίησης και τα διακεκομμένα βέλη ανασταλτικές διεργασίες.

2. Αιμόσταση στην χρόνια ηπατική νόσο

2.1 Γενικές παραδοχές

Το ήπαρ είναι η θέση σύνθεσης για τους περισσότερους από τους παράγοντες πήξης και ινωδόλυσης [1]. Ακόμη περισσότερο, για διάφορους λόγους [2], οι ασθενείς με χρόνια ηπατική νόσο είναι θρομβοπενικοί. Δυσλειτουργία των αιμοπεταλίων έχει επίσης αναφερθεί σε ένα αριθμό μελετών, η οποία μπορεί επίσης να συμμετέχει σε ελαττωματική προσκόλληση και συγκέντρωση των αιμοπεταλίων [3-11]. Αυτές οι παρατηρήσεις οδήγησαν στο συμπέρασμα για πολλά έτη ότι η χρόνια ηπατική νόσος είναι ένα κλασσικό παράδειγμα επίκτητης διαταραχής της αιμόστασης λόγω διαταραχών της πρωτοπαθούς αιμόστασης, της πηκτικότητας και της ινωδόλυσης. Μέχρι πρόσφατα λοιπόν ήταν ευρέως αποδεκτή η αιτιολογική συσχέτιση μεταξύ των σύνθετων διαταραχών της αιμόστασης στην κίρρωση και των αιμορραγικών εκδηλώσεων. Η αιτιολογική αυτή συσχέτιση γίνεται αντιληπτή από την κοινή πρακτική για πάρα πολλά έτη να ελέγχονται οι ασθενείς με κίρρωση για διαταραχές πηκτικότητας με συμβατικές αιμοστατικές δοκιμασίες, όπως ο χρόνος προθρομβίνης (ή του INR [international normalized ratio]) ή του χρόνου μερικής θρομβοπλαστίνης (APTT, activated partial thromboplastin time) και από την προσπάθεια διόρθωσης αυτών των διαταραχών πριν από την βιοψία ήπατος ή άλλες δυνητικά αιμορραγικές επεμβατικές πράξεις. Με το πέρασμα των ετών, οι ανωτέρω γενικές δοκιμασίες αιμόστασης καθιερώθηκαν ως εξετάσεις ρουτίνας στην διαχείριση των ασθενών με κίρρωση οδηγώντας στην αξιοσημείωτη κατάσταση στην οποία οι αριθμητικές τιμές των ανωτέρω δοκιμασιών (παρά την έλλειψη

στοιχείων) να σχετίζονται άμεσα με τον βαθμό του αιμορραγικού κινδύνου. Αυτή η αβάσιμη πρακτική σταδιακά ισχυροποιήθηκε ώστε να διαμορφωθούν κλινικές οδηγίες υποδεικνύοντας συγκεκριμένες τιμές ως στόχους διόρθωσης σε ασθενείς με χρόνια ηπατική νόσο [12]. Ωστόσο, σύγχρονα βιβλιογραφικά δεδομένα αμφισβητούν αυτήν την παγιωμένη αντίληψη.

2.2 Πρωτοπαθής αιμόσταση στην χρόνια ηπατική νόσο

Η χρόνια ηπατική νόσος χαρακτηρίζεται από ποικίλου βαθμού θρομβοπενία και θρομβοπάθεια. Λόγω αυτών των διαταραχών, ο χρόνος δερματικής αιμορραγίας, η οποία είχε θεωρηθεί για μεγάλο διάστημα ως η βασική δοκιμασία πρωτοπαθούς αιμόστασης, είναι παρατεταμένος έως το 40% των ασθενών [13]. Ωστόσο, διάφορες παρατηρήσεις προερχόμενες από την κλινική πρακτική και την βιβλιογραφία εγείρουν αμφιβολίες για το αν αυτή η παράταση έχει κάποια κλινική σημασία. Μία προηγούμενη μελέτη ανέφερε ότι η παράταση του χρόνου δερματικής αιμορραγίας >12 λεπτά πενταπλασιάζει τον κίνδυνο αιμορραγίας μετά από βιοψία του ήπατος αλλά στη συγκεκριμένη μελέτη δεν έγινε συσχέτιση με την κλινική αιμορραγία [14].

Άλλες μελέτες ανέφεραν ότι η θεραπεία με δεσμοπρεσσίνη (ενδοφλέβια ή υποδόρια) μπορεί να μειώνει την παράταση του χρόνου δερματικής αιμορραγίας σε ασθενείς με κίρρωση [15-17], διατυπώνοντας έτσι την υπόθεση ότι ο χρόνος δερματικής αιμορραγίας μπορεί να παίζει κάποιο ρόλο στην αύξηση του κινδύνου αιμορραγίας. Ωστόσο, επόμενες μελέτες έδειξαν ότι η προσθήκη δεσμοπρεσσίνης δεν μειώνει την βαρύτητα της κίρρωσης [18] ούτε την ανάγκη για μεταγγίσεις αίματος σε ασθενείς που υποβάλλονται σε ηπατεκτομή [19], και συνεπώς αμφισβήτησαν το

προγνωστικό ρόλο του του χρόνου δερματικής αιμορραγίας στον αιμορραγικό κίνδυνο. Τέλος, μία πρόσφατη μελέτη σχετικά με την συγκόλληση των αιμοπεταλίων σε ασθενείς με κίρρωση έδειξε ότι οι εν λόγω ασθενείς παρουσιάζουν υψηλά επίπεδα του vWF, τα οποία αντιρροπούν τον μειωμένο αριθμό και την δυσλειτουργία των αιμοπεταλίων διατηρώντας καταυτόν τον τρόπο την πρωτοπαθή αιμόσταση [20].

Με βάση τα ανωτέρω ευρήματα θα μπορούσε κάποιος να συμπεράνει ότι αν και η διαταραχή της πρωτογενούς αιμόστασης μπορεί να έχει ένα αιτιολογικό ρόλο στην εμφάνιση αιμορραγίας στους κίρρωτικούς ασθενείς, ο χρόνος δερματικής αιμορραγίας, ο οποίος θεωρείτο κάποτε εξέταση εκλογής για την εκτίμηση της πρωτογενούς αιμόστασης, δεν έχει προγνωστικό ρόλο. Η λογική προσέγγιση είναι ότι αν κάποιος επιθυμεί να βασιστεί σε εργαστηριακές δοκιμασίες της πρωτογενούς αιμόστασης για την πρόγνωση της αιμορραγίας σε ασθενείς με κίρρωση, εναλλακτικές δοκιμασίες, όπως η δοκιμασία ελέγχου της αιμοπεταλιακής λειτουργίας [21], θα πρέπει να αναζητηθούν και να εκτιμηθούν σε κλινικές μελέτες.

2.3 Πηκτικότητα στην χρόνια ηπατική νόσο

Η διαταραχή της πηκτικότητας στην χρόνια ηπατική νόσο έχει ιστορικά εκτιμηθεί με την μέτρηση των επιπέδων των πηκτικών παραγόντων ή μέσω της παράτασης γενικών δοκιμασιών, όπως ο χρόνος προθρομβίνης ή το INR και ο χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης. Είναι, ωστόσο, γνωστό ότι οι γενικές δοκιμασίες δεν είναι προγνωστικές του αιμορραγικού κινδύνου σε ασθενείς με κίρρωση [22]. Πρόσφατα, έχει διατυπωθεί η άποψη ότι ο χρόνος προθρομβίνης και ο χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης μπορεί να είναι

ανεπαρκείς να εκφράσουν την πραγματική *in vivo* ισορροπία, όπως συμβαίνει ειδικά σε εκείνες τις καταστάσεις οι οποίες χαρακτηρίζονται από επίκτητη διαταραχή της πήξεως, όπως η κίρρωση, μία κατάσταση στην οποία οι φυσικώς παραγόμενοι αντιπηκτικοί παράγοντες πρωτεΐνη C, πρωτεΐνη S, και αντιθρομβίνη μειώνονται παράλληλα με τους προπηκτικούς παράγοντες. Ακόμη περισσότερο, η πρωτεΐνη C ενεργοποιείται σε μικρότερο βαθμό στην απουσία του ενδοθηλιακού υποδοχέα θρομβομοδουλίνη, και συνεπώς δεν μπορεί να εξασκήσει την πλήρη αντιπηκτική του δραστηριότητα [23]. Από την άλλη, το πλάσμα και τα αντιδραστήρια που χρειάζονται για να πραγματοποιηθεί η εκτίμηση του χρόνου προθρομβίνης και του χρόνου μερικής θρομβοπλαστίνης δεν περιέχουν επαρκείς ποσότητες θρομβομοδουλίνης και, συνεπώς, θα μπορούσε να υποτεθεί ότι αυτές οι δοκιμασίες ανταποκρίνονται περισσότερο στην θρομβίνη που παράγεται ως λειτουργία των προπηκτικών παραγόντων, αλλά λιγότερο στην αναστολή της θρομβίνης η οποία σχετίζεται με τους αντιπηκτικούς παράγοντες. Συνεπώς, οι χρόνοι προθρομβίνης και μερικής θρομβοπλαστίνης θα μπορούσαν να είναι χρήσιμα διαγνωστικά εργαλεία για την διερεύνηση συγγενών ελλείψεων προπηκτικών παραγόντων, αλλά πολύ λιγότερο για την διερεύνηση επίκτητων διαταραχών των προ- και αντιπηκτικών παραγόντων όπως συμβαίνει στην χρόνια ηπατική νόσο [24] και άλλες παρόμοιες καταστάσεις [25].

Η ισορροπία που προκύπτει από τους προ- και αντιπηκτικούς παράγοντες σε ασθενείς με κίρρωση πράγματι ανευρίσκεται φυσιολογική όταν εκτιμάται ως παραγωγή θρομβίνης μετρώμενη με την παρουσία θρομβομοδουλίνης παρά το γεγονός ότι οι χρόνοι προθρομβίνης και μερικής θρομβοπλαστίνης είναι παρατεταμένοι [26].

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, τα αιμοπετάλια συνεισφέρουν στην παραγωγή θρομβίνης [27]. Γιαυτό το λόγο, η παρουσία θρομβοπενίας ή θρομβοπάθειας σε ασθενείς με κίρρωση μπορεί, τουλάχιστο μερικώς, να επηρεάσει την παραγωγή θρομβίνης. Ωστόσο, μία πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι η παραγωγή θρομβίνης, εκτιμώμενη στην παρουσία θρομβομοδουλίνης και πλάσματος εμπλουτισμένου με αιμοπετάλια είναι παρόμοια σε ασθενείς με κίρρωση και φυσιολογικά άτομα, με την προϋπόθεση ο αριθμός των αιμοπεταλίων να είναι $>56 \times 10^9/L$ [28].

Το συνολικό συμπέρασμα από τις παραπάνω μελέτες είναι ότι η πήκτικότητα σε ασθενείς με χρόνια ηπατική νόσο είναι φυσιολογική αν ο αριθμός των αιμοπεταλίων είναι ικανοποιητικά υψηλός ώστε να υποστηρίζεται η παραγωγή θρομβίνης από το πλάσμα. Αυτά τα ευρήματα μπορεί να δικαιολογούν την σχετικά φτωχή αποτελεσματικότητα του ενεργοποιημένου παράγοντα VII όταν χρησιμοποιήθηκε για τον έλεγχο της αιμορραγίας σε ασθενείς με κίρρωση [29-31]. Επιπρόσθετα, τα ανωτέρω ευρήματα δικαιολογούν τον σχεδιασμό μελετών που θα εκτιμήσουν αν η χορήγηση αιμοπεταλίων ή αγωνιστών της θρομβοποιητίνης (eltrombopag) [32] είναι αποτελεσματικά σε ασθενείς με σοβαρή θρομβοπενία όταν αιμορραγούν ή όταν υποβάλλονται σε αιμορραγικές επεμβατικές διαδικασίες όπως χειρουργείο ή βιοψία ήπατος.

Τέλος, ο χρόνος προθρομβίνης και το INR που για δεκαετίες χρησιμοποιήθηκαν ως δείκτες αιμορραγικού κινδύνου σε ασθενείς με κίρρωση θα πρέπει να αντικατασταθεί από πιο κατάλληλες δοκιμασίες που πραγματικά να αντιπροσωπεύουν την ισορροπία της πήκτικότητας. Γιαυτό το σκοπό κλινικές μελέτες πρέπει να εστιάσουν για τον ρόλο αυτό σε δοκιμασίες

εκτίμησης της παραγωγής θρομβίνης ή την θρομβοελαστογραφία [33]. Μέχρι τότε ο κίνδυνος αιμορραγίας σε αυτή την κατηγορία ασθενών θα πρέπει να εκτιμάται με κλινικά παρά με εργαστηριακά κριτήρια.

3. Υπερπηκτικότητα στην κίρρωση

3.1 Αιμοστατική ισορροπία σε ασθενείς με κίρρωση

Θρομβοπενία και μειωμένα επίπεδα των περισσότερων προπηκτικών παραγόντων [1] και [2] είναι οι κυριότερες αιμοστατικές διαταραχές, οι οποίες σχετίζονται με την χρόνια ηπατική νόσο. Ως επακόλουθο, όπως προαναφέρθηκε, αυτή η κατάσταση θεωρείτο μέχρι πρόσφατα κλασσικό παράδειγμα επίκτητης διαταραχής πηκτικότητας. Ωστόσο, καθώς η διαταραχή της συνθετικής ικανότητας στην σοβαρή ηπατική νόσο οδηγεί σε μείωση των παραγόμενων στο ήπαρ πρωτεϊνών, τα επίπεδα των αντιπηκτικών παραγόντων, αντιθρομβίνη, πρωτεΐνη C και πρωτεΐνη S, ελαττώνονται παράλληλα με τους προπηκτικούς παράγοντες [1]. Στα φυσιολογικά άτομα, υπάρχει σημαντικό πλεόνασμα των προπηκτικών παραγόντων στο πλάσμα πάνω από το ελάχιστο όριο που απαιτείται για να διατηρηθεί η αιμοστατική λειτουργία. Μία σχετικά ισορροπημένη μείωση της προπηκτικής και της αντιπηκτικής δραστηριότητας δεν οδηγεί σε μία έκδηλη υπερ- ή υποπηκτική κατάσταση έως ότου η απώλεια της συνθετικής ικανότητας είναι σημαντική. Ωστόσο, η ισορροπία μεταξύ αιμορραγίας και θρόμβωσης γίνεται πιο εύθραυστη όσο η πρωτεϊνική συνθετική ικανότητα μειώνεται [34,35]. Από αυτή την άποψη, γίνεται αντιληπτό το προφανές παράδοξο όσον αφορά την τάση που υπάρχει στην κίρρωση και προς τις δύο κατευθύνσεις, την αιμορραγία και την θρόμβωση. Ειδικότερα, η πιθανότητα ότι μία ανατροπή της ισορροπίας του πηκτικού μηχανισμού θα μπορούσε να λάβει χώρα στην χρόνια ηπατική νόσο είχε αγνοηθεί για πολλά έτη. Επιπρόσθετα, ο ρόλος της ενδοθηλιακής λειτουργίας στην διατήρηση της αιμοστατικής ισορροπίας είναι επίσης σημαντικός, γεγονός που σημαίνει ότι η τοπική ενδοθηλιακή

δυσλειτουργία μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη μίας υπερπηκτικής κατάστασης σε μία ανατομική θέση, ακόμη και με την ύπαρξη μιας συστηματικής υποπηκτικής κατάστασης [1].

3.2 Αίτια υπερπηκτικότητας

Πρόσφατα δεδομένα δείχνουν ότι στο πλάσμα ασθενών με κίρρωση παράγονται ίσες ή μεγαλύτερες ποσότητες θρομβίνης συγκριτικά με τα υγιή άτομα, με την προϋπόθεση ότι η παραγωγή θρομβίνης εκτιμάται σε περιβάλλον με θρομβομοδουλίνη [26,28,36,37]. Ο ενδοθηλιακός υποδοχέας θρομβομοδουλίνη επιταχύνει την επαγόμενη από την θρομβίνη μετατροπή της πρωτεΐνης C στην ενεργοποιημένη μορφή της [38], η οποία είναι υπεύθυνη για την αναστολή της παραγωγής θρομβίνης. Πράγματι, έχει αναφερθεί ότι η προσθήκη της θρομβομοδουλίνης είναι ικανή να αναστείλει την παραγωγή θρομβίνης σε φυσιολογικό πλάσμα αλλά όχι σε πλάσμα κίρρωτικών ασθενών. Όπως προαναφέρθηκε, λόγω του σχεδιασμού τους, οι κλασσικές δοκιμασίες πηκτικότητας, όπως χρόνος προθρομβίνης και χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης, δεν είναι κατάλληλα να αξιολογήσουν την ισορροπία του πηκτικού μηχανισμού. Οι δοκιμασίες αυτές συμβαίνουν σε περιβάλλον όπου απουσιάζει η θρομβομοδουλίνη και εκτιμούν την μείωση των προπηκτικών παραγόντων αλλά όχι την παράλληλη μείωση των αντιπηκτικών παραγόντων, η οποία επίσης συμβαίνει στην κίρρωση [39]. Αν το θρομβωτικό ερέθισμα είναι ισχυρό, η παραγωγή θρομβίνης θα πραγματοποιηθεί παρά το χαμηλό επίπεδο των προπηκτικών παραγόντων. Η προθρομβίνη, το πρόδρομο μόριο της θρομβίνης, όπως και η αντιθρομβίνη είναι μειωμένα στην κίρρωση, αλλά οι συγκεντρώσεις προθρομβίνης πλάσματος είναι υψηλότερες και η

ενεργοποίηση μπορεί γρήγορα να οδηγήσει σε κατανάλωση της υπόλοιπης αντιθρομβίνης [39].

Ο βαθμός αντίστασης στην θρομβομοδουλίνη αυξάνεται σημαντικά με την αύξηση της βαρύτητας της ηπατικής νόσου [37,40] και συσχετίζεται άμεσα με τα επίπεδα του παράγοντα VIII και αντιστρόφως με τα επίπεδα της πρωτεΐνης C. Επιπλέον, ο βαθμός της αντίστασης συσχετίζεται άμεσα με τον λόγο παράγοντας VIII/πρωτεΐνη C. Ο παράγοντας VIII στην κίρρωση αυξάνεται σημαντικά με την σοβαρότητα της ηπατικής νόσου. Αντιθέτως, τα επίπεδα της πρωτεΐνης C μειώνονται σημαντικά όσο αυξάνεται η βαρύτητα της ηπατικής νόσου [40,41]. Είναι ενδιαφέρον ότι ο παράγοντας VIII είναι πρωτεΐνη στόχος για την ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C και παίζει κομβικό ρόλο στην γένεση της θρομβίνης [42] ενώ η πρωτεΐνη C είναι ένας από τους πιο σημαντικούς αναστολείς της γένεσης θρομβίνης [38]. Για τον λόγο αυτό, ο λόγος παράγοντας VIII/πρωτεΐνη C θεωρείται ως δείκτης προπνηκτικής ισορροπίας. Οι ασθενείς με κίρρωση έχουν αυξημένο λόγο παράγοντα VIII/πρωτεΐνη C, ο οποίος αυξάνει σημαντικά με την αύξηση της βαρύτητας της ηπατικής νόσου [40,41].

Ο ρόλος της θρομβοπενίας στην αιμορραγική διάθεση της κίρρωσης τείνει να αμφισβητείται πρόσφατα με βάση παρατηρήσεις που δείχνουν ότι η *in vitro* προσκόλληση των αιμοπεταλίων σε συνθήκες χαμηλής αιματικής ροής μπορεί να είναι φυσιολογική λόγω των αυξημένων επιπέδων του παράγοντα vWF [20]. Τα επίπεδα του vWF αυξάνονται σημαντικά με την αύξηση της βαρύτητας της κίρρωσης [20, 43-48] και φαίνεται να παίζουν σημαντικό ρόλο στην διατήρηση της πρωτοπαθούς αιμόστασης ακόμη και σε συνθήκες θρομβοπενίας [20,48].

Τέλος, μελέτες *in vitro* έχουν δείξει ότι τα μονοκύτταρα ασθενών με κίρρωση και ενδοτοξιναιμία εκφράζουν ιστικό παράγοντα που μπορεί να διεγείρει τον πηκτικό μηχανισμό [49]. Σχετικά με αυτό, σημαντική αύξηση της δραστηριότητας του vWF παρατηρήθηκε σε ασθενείς με κίρρωση και λοίμωξη συγκριτικά με αυτούς που δεν είχαν λοίμωξη.

3.3 Θρομβωτικές επιπλοκές στην κίρρωση

3.3.1 Θρόμβωση της πυλαίας φλέβας

Η θρόμβωση της πυλαίας φλέβας (ΘΠΦ) είναι μία ασυνήθης κατάσταση χωρίς συνυπάρχουσα κίρρωση ή πυλαία υπέρταση [50]. Οι κλινικές εκδηλώσεις της οξείας ΘΠΦ σχετίζονται με την έκταση του θρόμβου. Επέκταση της θρόμβωσης προς τα άνω οδηγεί σε αντιρροπιστική αρτηριακή αγγειοδιαστολή και διατήρηση της αιμάτωσης του ήπατος και σε δεύτερο χρόνο αυτοί οι ασθενείς αναπτύσσουν παράπλευρη ροή αίματος προς το ήπαρ και σηραγγώδη αναδιαμόρφωση της πυλαίας φλέβας [51]. Αντιθέτως, μία επέκταση του θρόμβου στις μεσεντέριες φλέβες μπορεί να εμποδίσει την δημιουργία παράπλευρου δικτύου κι έτσι να οδηγήσει σε εντερική ισχαιμία (περίπου 35% των ασθενών). Στην τελευταία περίπτωση, μπορεί να συμβεί έμφρακτο του εντέρου (10% όλων των περιπτώσεων οξείας ΘΠΦ) [52] και να οδηγήσει σε εντερεκτομή και σύνδρομο βραχέος εντέρου. Κλινικά, η οξεία ΘΠΦ παρουσιάζεται με σημεία εντερικής συμφόρησης και ισχαιμίας: κοιλιακό άλγος, διάρροια, αιμορραγία από το ορθό, ασκίτη και ειδικά σε ασθενείς με κίρρωση, οξεία κίρροραγία ή επιδείνωση του ασκίτη. Σημεία εντερικού εμφράκτου, όπως πυρετός, γαλακτική οξέωση και σήψη μπορεί να υπάρχουν. Όταν έχει συμβεί ανάπτυξη παράπλευρου δικτύου, η χρόνια ΘΠΦ μπορεί να

είναι σχεδόν ασυμπτωματική εκτός από επίμονους οισαφαγικούς κισσούς, υποδόριο παράπλευρο δίκτυο (κεφαλή μέδουσας) και ασκίτη.

Ο ρόλος πολλών συνυπαρχόντων παραγόντων ως προδιαθεσικοί παράγοντες για ΘΠΦ έχει μελετηθεί από τους Denninger et al [53]. Συγκεκριμένα, εκτιμήθηκε η συμμετοχή πολλών επίκτητων και κληρονομούμενων προθρομβωτικών διαταραχών, όπως μυελουπερπλαστικές διαταραχές, αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο, ανεπάρκεια πρωτεΐνης C, S, και αντιθρομβίνης, οι παράγοντες V Leiden και II και μεταλλάξεις της τετραυδροφολικής ρεδοκτάσης του μεθυλενίου. Εικοσιέξι από τους 36 ασθενείς με ΘΠΦ οι οποίοι εκτιμήθηκαν είχαν μία ή περισσότερες προθρομβωτικές διαταραχές και στους δέκα ασθενείς με τοπικό προδιαθεσικό παράγοντα, μία προθρομβωτική διαταραχή υπήρχε στις οκτώ περιπτώσεις [53]. Είναι συνεπώς προφανές ότι στους περισσότερους ασθενείς με ΘΠΦ υπάρχει τουλάχιστο ένας προδιαθεσικός παράγοντας.

Όσον αφορά την διαχείριση των ασθενών με κίρρωση και ΘΠΦ, εκτός από την αποφυγή των συνεπειών της πυλαίας υπέρτασης και την αντιμετώπιση της κισσορραγίας, ένα σημαντικό ζήτημα είναι η χρήση αντιπηκτικών παραγόντων. Παράγοντες όπως η πρόσφατη ή η παλαιά θρόμβωση και η παρουσία προθρομβωτικής διαταραχής ή θρομβοφιλικής κατάστασης λαμβάνονται υπόψη για την έναρξη αντιπηκτικής θεραπείας, η οποία μπορεί να είναι βραχείας ή μακράς διάρκειας. Σε ασθενείς με πρόσφατη θρόμβωση λόγω μίας μη θρομβοφιλικής κατάστασης, συνιστάται αντιπηκτική αγωγή 6 μηνών [54]. Επανασηραγοποίηση της πυλαίας φλέβας έχει επανειλημμένα παρατηρηθεί με αυτή την στρατηγική [55]. Ο ρόλος της ενδοηπατικής πυλαιοσυστηματικής αναστόμωσης μπορεί να είναι σημαντικός

σε ασθενείς που πρόκειται να υποβληθούν σε μεταμόσχευση ήπατος [56]. Σε ασθενείς με χρόνια ΘΠΦ, μελέτες παρατήρησης έδειξαν ότι η αντιπηκτική θεραπεία ήταν ασφαλής τόσο όσον αφορά την κίρρωση όσο και την σοβαρότητα της αιμορραγίας αν η τελευταία συμβεί. Τα αποτελέσματα αυτά έχουν αξιολογηθεί σε μακροπρόθεσμες μελέτες στις οποίες δεν παρατηρήθηκαν θάνατοι από κίρρωση κατά την διάρκεια της αντιπηκτικής αγωγής, και ακόμη περισσότερο, νέα θρομβωτικά επεισόδια αποφεύχθηκαν [57]. Άλλες μελέτες έδειξαν όφελος της αντιπηκτικής αγωγής σε χρόνια θρόμβωση της μεσεντερίου φλέβας [58] αλλά με σημαντικό κίνδυνο κίρρωσης.

3.3.2 Εν τω βάθει φλεβική θρομβοεμβολική νόσος

Συστηματικά φλεβικά θρομβοεμβολικά επεισόδια, όπως φλεβοθρόμβωση κάτω άκρων και πνευμονική εμβολή είναι συχνά στο γενικό πληθυσμό χωρίς ηπατική νόσο και κυμαίνονται από 4-12% σε νοσηλευόμενους ασθενείς [59,60] όπου η προφύλαξη για εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση αποτελεί βασική φροντίδα. Οι ασθενείς με κίρρωση έχουν κοινούς παράγοντες κινδύνου για εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση, όπως παρατεταμένη κατάκλιση, παχυσαρκία, πρόσφατες χειρουργικές επεμβάσεις και κακοήθειες. Θρομβοεμβολικά επεισόδια συμβαίνουν σε ασθενείς με κίρρωση παρά την φαινομενική ύπαρξη υποπηκτικότητας. Η επίπτωση και ο επιπολασμός της εν τω βάθει φλεβικής θρόμβωσης σε διάφορες μελέτες ασθενών με κίρρωση έχει εκτιμηθεί ως 0.5%-6.3% και 0.6-2.7%, αντίστοιχα [59-67]. Σε μία μελέτη η οποία συμπεριέλαβε 100.000 ασθενείς με εν τω βάθει φλεβοθρόμβωση και 500.000 άτομα ως ομάδα ελέγχου έδειξε περίπου διπλάσιο κίνδυνο ανάπτυξης εν τω

βάθει φλεβικής θρόμβωσης σε ασθενείς με κίρρωση ή χρόνιες ηπατοπάθειες [68]. Επιπρόσθετα, σε πιο πρόσφατη μελέτη η οποία συμπεριέλαβε 650.000 νοσηλευόμενους ασθενείς με κίρρωση και 575.000 ασθενείς χωρίς ηπατοπάθεια, ο κίνδυνος ανάπτυξης εν τω βάθει φλεβικής θρόμβωσης ήταν 21% υψηλότερος σε ασθενείς με αντιρροπούμενη κίρρωση και 39% υψηλότερος σε ασθενείς με μη αντιρροπούμενη κίρρωση συγκριτικά με νοσηλευόμενους ασθενείς χωρίς ηπατοπάθεια [64].

4. Συσχέτιση της υπερπηκτικότητας με την ηπατική ινογένεση

Η ανάπτυξη της ίνωσης μετά από χρόνια βλάβη του ήπατος, ανεξάρτητα από την αιτιολογία, θεωρείται μία σύνθετη διεργασία η οποία μπορεί να επηρεάζεται από γενετικούς παράγοντες και το περιβάλλον. Τα νεότερα δεδομένα δείχνουν ότι ένας τέτοιος παράγοντας μπορεί να είναι η πηκτικότητα [69]. Είναι γνωστό ότι οι διαταραχές πηκτικότητας που σχετίζονται με την χρόνια ηπατική νόσο, και ειδικότερα η υπερπηκτικότητα στην κίρρωση, μπορούν να προκαλέσουν περαιτέρω βλάβη του ήπατος, η οποία αποκαλείται παρεγχυματική εξάλειψη. Οι Wanless et al κατέδειξαν ιστολογικά την δευτερογενή ηπατική βλάβη σε ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια που προκλήθηκε από διαταραχές της αιματικής ροής λόγω μικροεμφράκτων προερχόμενων από θρόμβους στους κλάδους των ηπατικών φλεβών και της πυλαίας φλέβας σε περιοχές γειτονικές φλεγμονής. Τα μικροέμφρακτα της ενδοηπατικής μικροκυκλοφορίας προκαλούσαν ισχαιμία και κυτταρικό θάνατο. Ως εκ τούτου οι συγγραφείς διατύπωσαν την υπόθεση ότι οι ισχαιμικές περιοχές εξελίχθηκαν σε περιοχές εξάλλειψης του παρεγχύματος και ακολούθως αντικαταστάθηκαν από περιοχές ίνωσης με τελικό επακόλουθο την ανάπτυξη κίρρωσης [70,71]. Τα ανωτέρω ευρήματα δείχνουν ότι η παρεγχυματική εξάλλειψη είναι μία πρωταρχική αιτία καρδιογενούς κίρρωσης και μπορεί να είναι ένας σημαντικός παράγοντας στην εξέλιξη της κίρρωσης από άλλες αιτίες. Τα αιμοπετάλια, ένα βασικό στοιχείο του θρόμβου που προκαλεί τις ενδοηπατικές διαταραχές της μικροκυκλοφορίας, μειώνονται σε ασθενείς με κίρρωση. Η θρομβοπενία έχει αποδοθεί στην αυξημένη καταστροφή των αιμοπεταλίων λόγω του υπερσπληνισμού, και σε μικρότερο βαθμό στην μειωμένη παραγωγή θρομβοποιητίνης από το πάσχον ήπαρ [72].

Αντιθέτως, η έννοια της παρεγχυματικής εξάλειψης περιλαμβάνει την κατανάλωση των αιμοπεταλίων μέσα στο κίρρωτικό ήπαρ. Η συνάθροιση των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων συνδέεται στενά με ιστική καταστροφή σε αρκετές φλεγμονώδεις παθήσεις του γαστρεντερικού [73] και μία παρόμοια διαδικασία μπορεί να συμβεί στο κίρρωτικό ήπαρ.

Ο ρόλος της πηκτικότητας στην ινογένεση υποστηρίζεται από μελέτες οι οποίες δείχνουν επιταχυνόμενη εξέλιξη της ίνωσης στην παρουσία υπερπηκτικότητας. Αυτές περιλαμβάνουν, χρόνια ιογενή ηπατίτιδα και μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα όπου οι ασθενείς με προχωρημένη ίνωση είναι πολύ πιο πιθανό να έχουν θρομβοφιλία από ότι οι ασθενείς με ηπιότερη νόσο. Πράγματι, η ύπαρξη μετάλλαξης του παράγοντα V Leiden συνοδεύεται από τριπλάσιο και πλέον κίνδυνο γρήγορης εξέλιξης της ίνωσης σε πειραματόζωα και ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C [74], ενώ σε άλλη μελέτη [75] διαπιστώθηκε ότι είναι ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας για την εξέλιξη της ίνωσης. Άλλες μελέτες έδειξαν επίσης την σύνδεση της έλλειψης πρωτεΐνης C, της αυξημένης έκφρασης του παράγοντα VIII και της υπερομοκυστεϊναιμίας με την ύπαρξη μεγαλύτερου βαθμού ίνωσης [76]. Είναι επίσης αξιοσημείωτο ότι οι ασθενείς με αιμορροφιλία και χρόνια ηπατίτιδα C παρουσιάζουν αργή εξέλιξη της ηπατικής νόσου και πιθανώς της ίνωσης [77].

Παθογενετικά, η υπόθεση της άμεσης ενεργοποίησης του αστεροειδούς κυττάρου που συνδέει την υπερπηκτικότητα με την ηπατική ινογένεση έχει ισχυρότερη βάση, σαφείς βιολογικούς μηχανισμούς και υποστηρίζεται από ερευνητικές μελέτες που αφορούν διάφορα όργανα, όπως ο πνεύμονας και το ήπαρ. Η ενεργοποίηση των αστεροειδών κυττάρων είναι μία διεργασία μεταμόρφωσης κατά την οποία τα αδρανή αστεροειδή κύτταρα μετατρέπονται

σε μυοινοβλάστες με σημαντική προφλεγμονώδη και προινογενετική δραστηριότητα [78,79]. Οι ινοβλάστες και τα αστεροειδή κύτταρα εκφράζουν υποδοχείς ενεργοποιημένης πρωτεάσης (PAR), μεταξύ των οποίων οι PAR-1 και PAR-3 έχουν υψηλή συγγένεια για την θρομβίνη [80,81]. Επιπρόσθετα, ο παράγοντας Χα μπορεί να ενεργοποιήσει τους υποδοχείς PAR-1 και PAR-2 [82-84]. Ενεργώντας στους υποδοχείς PAR-1, η θρομβίνη είναι χημειοτακτική για τα μονοκύτταρα και μιτογόνος για τα λεία μυϊκά κύτταρα, τους ινοβλάστες και τα αστεροειδή κύτταρα.

Μελέτες *in vitro*, χρησιμοποιώντας PAR-1 αγωνιστές και θρομβίνη έδειξαν ότι αυτοί οι παράγοντες προκαλούν ταχεία ενεργοποίηση των αστεροειδών κυττάρων, έκκριση πρωτεϊνών του εξωκυττάριου σκελετού, αναδιαμόρφωση των ιστών και ινογένεση [80,81,85]. Αρκετές μελέτες έχουν αποδείξει ότι η έκφραση των ηπατικών PAR-1 υποδοχέων αυξάνεται σε ηπατική βλάβη, ευαισθητοποιώντας τα αστεροειδή κύτταρα σε ενεργοποίηση από την θρομβίνη [80,81]. Ο ιστικός παράγοντας και η έκφραση του PAR-1 επίσης αυξάνονται σε ασθενείς με χολοστατική ηπατική νόσο, συμπεριλαμβανομένων της πρωτοπαθούς χολικής κίρρωσης και της σκληρυντικής χολαγγειίτιδας. Συνεπώς, η υπερπηκτικότητα χαρακτηρίζεται από αύξηση της παραγωγής θρομβίνης στην συστηματική κυκλοφορία, η οποία μπορεί να συμμετέχει στην θρομβογένεση μέσω της άμεσης ενεργοποίησης των αστεροειδών κυττάρων. Με αυτό τον τρόπο, νοσήματα που προδιαθέτουν σε αυξημένη δράση της θρομβίνης, όπως η μετάλλαξη του παράγοντα V Leiden, σε συνέργεια με τα υψηλά επίπεδα του παράγοντα VIII, ενισχύουν την διέγερση του PAR-1 υποδοχέα. Ο ρόλος της Χα/PAR-2 σύνδεσης στην ηπατική ινογένεση είναι λιγότερο μελετημένος, ωστόσο είναι

γνωστό ότι συμμετέχει στην εξέλιξη της ίνωσης σε διάφορες ινωτικές διεργασίες [37,86,87].

Μία σημαντική απόρροια της σύνδεσης μεταξύ της υπερπηκτικότητας και της επαγωγής ίνωσης είναι ότι η παρέμβαση στον πηκτικό μηχανισμό μέσω της παραγωγής θρομβίνης ή των PAR υποδοχέων μπορεί να μειώσει την ινογένεση. Πράγματι, μείωση του βαθμού ή της εξέλιξης της ηπατικής ίνωσης έχει αναφερθεί μετά από χορήγηση ανταγωνιστών της βιταμίνης K [88], ηπαρίνης χαμηλού μοριακού βάρους [89,90] ή PAR-1 ανταγωνιστών [80], συνθετικών ανταγωνιστών της θρομβίνης [91] και την αναστολή του παράγοντα Χα με Rivaroxaban [92] σε πειραματικά μοντέλα ίνωσης. Σε κλινικό επίπεδο, μία μικρή μελέτη ανέφερε αποτελεσματικότητα της χορήγησης πρωτεΐνης χαμηλού μοριακού βάρους ως αντιινωτικό παράγοντα σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β [93].

Συμπεραίνεται λοιπόν ότι η υπερπηκτικότητα μπορεί να συσχετιστεί με γρήγορη εξέλιξη σε κίρρωση τόσο σε πειραματικό όσο και κλινικό επίπεδο, πιθανώς λόγω άμεσης ενεργοποίησης των αστεροειδών κυττάρων από την θρομβίνη και τον παράγοντα Χα μέσω των PAR υποδοχέων. Συνεπώς, η τροποποίηση του πηκτικού μηχανισμού θα μπορούσε να αποτελέσει ένα καινοτόμο θεραπευτικό στόχο για την ανάπτυξη αντιινωτικών παραγόντων.

5. Κλινική συσχέτιση της υπερπηκτικότητας με τις επιπλοκές της πυλαίας υπέρτασης

Η υπερπηκτικότητα παίζει ένα σημαντικό αλλά υποτιμημένο ρόλο σε πολλές κλινικές συνέπειες της οξείας και της χρόνιας ηπατικής νόσου. Όπως αναφέρθηκε, οι ασθενείς με διαταραχή της ηπατικής επάρκειας παρουσιάζουν συχνά ένα συνδυασμό αιμορραγικής διάθεσης και υπερπηκτικότητας [1]. Το τελικό κλινικό αποτέλεσμα (αιμορραγία ή θρόμβωση) καθορίζεται από το ποιος από αυτούς τους σύνθετους αιμοστατικούς μηχανισμούς επικρατεί. Η αιμορραγία είναι η πιο προφανής κλινική εκδήλωση, ωστόσο η έλλειψη ελέγχου των ενζυματικών αντιδράσεων του πηκτικού μηχανισμού μπορεί να οδηγήσει σε εκσεσημασμένη θρόμβωση, ιδίως ενδοηπατικά, η οποία θα διέδραμε πιθανώς υποκλινικά [34,35].

Πράγματι, πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι ο vWF μπορεί να είναι ένας σημαντικός δείκτης για την βαρύτητα της κίρρωσης και την παρουσία πυλαίας υπέρτασης σε ασθενείς με κίρρωση [43-48]. Τα επίπεδα του vWF-antigen βρέθηκαν να σχετίζονται με την κλινικά σημαντική πυλαία υπέρταση (>10mmHg), την παρουσία ασκίτη και κίρσων οισοφάγου, καθώς και την ρήξη αντιρρόπησης [43-45,48]. Επιπρόσθετα, η αύξηση των επιπέδων του vWF σχετίστηκαν με μειωμένη επιβίωση των ασθενών με κίρρωση [43-45]. Η ADAMTS 13 είναι μία μεταλλοπρωτεϊνάση η οποία καθαίρει τα πολυμερή συμπλέγματα του vWF. Σε συγγενή έλλειψη ή ανάπτυξη αυτοαντισωμάτων έναντι της ADAMTS 13 μεγάλα πολυμερή μόρια vWF συγκεντρώνονται στο πλάσμα και οδηγούν σε συνάθροιση των αιμοπεταλίων και μικροθρομβώσεις. Η ADAMTS 13 παράγεται αποκλειστικά στα αστεροειδή κύτταρα του ήπατος και η δραστηριότητά της μειώνεται σημαντικά όσο αυξάνεται η βαρύτητα της

κίρρωσης [94]. Σε πρόσφατη μελέτη, η μείωση της δραστηριότητας της ADAMTS13 σε ασθενείς με κίρρωση σχετίστηκε με σημαντικά μειωμένη επιβίωση καθώς και σημαντικά μεγαλύτερη συχνότητα κλινικών επιπλοκών, όπως ανθεκτικός ασκίτης, κίρσοι οισοφάγου, εγκεφαλοπάθεια, ηπατονεφρικό σύνδρομο και ΘΠΦ [45]. Δεδομένης της σημασίας του vWF στην πρωτοπαθή αιμόσταση σε ασθενείς με κίρρωση, οι ανωτέρω παρατηρήσεις δείχνουν ότι τα αυξημένα επίπεδα vWF σε αυτούς τους ασθενείς μπορεί να σχετίζεται με υπερπηκτικότητα, η οποία θα μπορούσε να οδηγήσει σε μικροθρομβώσεις των ενδοηπατικών αγγείων, επιτάχυνση της εξέλιξης της ηπατικής ίνωσης και επιδείνωση της πυλαίας υπέρτασης. Πράγματι, πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι η προφυλακτική χορήγηση ηπαρίνης χαμηλού μοριακού βάρους σε ασθενείς με κίρρωση όχι μόνο μείωσε σημαντικά τον κίνδυνο ΘΠΦ αλλά σε ακόμη μεγαλύτερο βαθμό μείωσε σημαντικά τον κίνδυνο εμφάνισης επιπλοκών της πυλαίας υπέρτασης και της ρήξης αντιρρόπησης [95].

6. Σκοπός

Οι σκοποί της παρούσας μελέτης ήταν να διερευνηθούν σε ασθενείς με κίρρωση του ήπατος:

1. Η βαρύτητα των αιμοστατικών διαταραχών σε συσχέτιση με την βαρύτητα της ηπατικής νόσου.
2. Η συσχέτιση δεικτών υπερπηκτικότητας με την ανάπτυξη επιπλοκών σχετιζόμενων με την πυλαία υπέρταση.
3. Η συσχέτιση δεικτών υπερπηκτικότητας με την εμφάνιση ΘΠΦ.
4. Η συσχέτιση δεικτών υπερπηκτικότητας με την επιβίωση.

B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Ασθενείς και μεθοδολογία

1.1 Ασθενείς

Ενενήντα τρεις ενήλικες ασθενείς με κίρρωση που προσήλθαν διαδοχικά στο Εξωτερικό Παθολογικό Ιατρείο το χρονικό διάστημα από τον Σεπτέμβριο του 2010 έως και τον Σεπτέμβριο του 2013 συμμετείχαν στην μελέτη αιμόστασης των ασθενών με κίρρωση. Η κίρρωση αποδείχτηκε ιστολογικά ή με συμβατά κλινικά και απεικονιστικά ευρήματα. Η βαρύτητα της κίρρωσης εκτιμήθηκε με την κατάταξη κατά Child-Pugh [96] και το μοντέλο για την ηπατική νόσο τελικού σταδίου (model for end-stage-liver disease [MELD]) [97]. Οι ασθενείς κατατάχθηκαν προοπτικά σε κάθε βαθμίδα κατά Child-Pugh (A, B, C) έως ότου μία ισότιμη κατανομή επιτεύχθηκε. Στην συνέχεια οι ασθενείς εντάχθηκαν μετά από γραπτή συναίνεσή τους σε δύο Πρωτόκολλα (αναφέρονται στην συνέχεια). Κριτήρια αποκλεισμού κατά την λήψη των δειγμάτων αίματος ήταν: 1) προηγούμενη ή συνεχιζόμενη θεραπεία η οποία επηρεάζει την πηκτικότητα ή την λειτουργία των αιμοπεταλίων, 2) γνωστές αιμοστατικές διαταραχές εκτός της κίρρωσης, 3) αριθμός αιμοπεταλίων <15000/μL και >60000/μL για τους ασθενείς που συμμετείχαν στο Πρωτόκολλο A και αριθμός αιμοπεταλίων <15000/μL για τους ασθενείς που συμμετείχαν στο Πρωτόκολλο B, 4) θρόμβωση πυλαίας, σπληνικής, μεσεντέριας ή περιφερικών φλεβών εκτιμώμενη υπερηχογραφικά ή με αξονική τομογραφία, 5) απουσία αιμορραγίας σχετιζόμενης με την πυλαία υπέρταση, 6) ενεργός βακτηριακή λοίμωξη, 7) ηπατοκυτταρικός καρκίνος ή άλλη ηπατική ή εξωηπατική κακοήθεια, 8) αποχή από το αλκοόλ για λιγότερο από 6 μήνες, 9) σακχαρώδης διαβήτης, 10) υπέρταση, 11) νεφρική ανεπάρκεια σύμφωνα με τα τρέχοντα κριτήρια [98]. Όλοι οι ασθενείς απείχαν από την κατανάλωση

αλκοόλ σε όλη την διάρκεια της μελέτης κι ελάμβαναν την ενδεδειγμένη προφυλακτική και θεραπευτική αγωγή. Οι ασθενείς παρακολουθούνταν κάθε 3 μήνες εκτός αν η κλινική τους κατάσταση απαιτούσε πιο συχνή παρακολούθηση. Επιπλοκές σχετιζόμενες με την πυλαία υπέρταση, όπως ασκίτης και κίρσοι κατά την ένταξη, εμφάνιση νέου ασκίτη και το πρώτο επεισόδιο κίρσορραγίας στην διάρκεια της παρακολούθησης, ΘΠΦ, ηπατοκυτταρικός καρκίνος, μεταμόσχευση ήπατος και θάνατος καταγράφηκαν. Σχετικά με τον νεοεμφανιζόμενο ασκίτη και την κίρσορραγία, εκτιμήθηκαν μόνο περιστατικά που δεν οφείλονταν σε ΘΠΦ. Όσον αφορά την μελέτη επιβίωσης, ως τελικά γεγονότα εκτιμήθηκαν η μεταμόσχευση ήπατος, η διάγνωση ηπατοκυτταρικού καρκίνου και ο θάνατος. Σαράντα ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα (HBV, HCV) και 40 υγιή άτομα χρησιμοποιήθηκαν ως ομάδα ελέγχου και τα κριτήρια αποκλεισμού ήταν παρόμοια με την ομάδα των ασθενών.

1.2 Μέθοδοι

1.2.1 Συλλογή δειγμάτων αίματος και προετοιμασία πλάσματος

Δείγματα αίματος νηστείας (15ml) ελήφθησαν από κάθε ασθενή και υγιές άτομο και συλλέχθηκαν σε ειδικά φιαλίδια (Becton and Dickinson, Meylan, France) που περιείχαν 109 mmol/L trisodium citrate ως αντιπηκτικό μέσο σε αναλογία 1:9 μέρη αντιπηκτικού:αίματος. Δείγματα πλάσματος χωρίς αιμοπετάλια ετοιμάστηκαν μετά από διπλή φυγοκέντρηση στις 2000 xg για 10 λεπτά. Τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε πλαστικά φιαλίδια, καταψύχθηκαν αμέσως και φυλάχθηκαν στους -80 °C μέχρι την επεξεργασία τους.

1.2.2 Προπηκτικοί παράγοντες

Η μέτρηση της ενεργότητας των παραγόντων II, V, VII, VIII, IX, X, XI, XII έγινε με θρομβομετρικές μεθόδους σε ανθρώπινο πλάσμα με τα διαθέσιμα στο εμπόριο διαγνωστικά αντιδραστήρια (Siemens, Marburg, Germany). Η μέτρηση της ενεργότητας του παράγοντα XIII έγινε με φωτομετρική μέθοδο σε ανθρώπινο πλάσμα με το διαθέσιμο στο εμπόριο διαγνωστικό BC αντιδραστήριο (Siemens, Marburg, Germany). Το επίπεδο ενεργότητας καθενός από τους ανωτέρω παράγοντες στο φυσιολογικό πλάσμα ορίστηκε ως 100%.

1.2.3 Δείκτες υπερπηκτικότητας

Η παραγωγή θρομβίνης εκτιμήθηκε ως συμπλέγματα θρομβίνης-αντιθρομβίνης (thrombin-antithrombin complexes [TAT]) με ELISA (Enzygnost TAT Micro, Behringwerke AG, Marburg, Germany [φυσιολογικές τιμές: 1-4.1 ng/ml]). Τα επίπεδα των D-διμερών εκτιμήθηκαν επίσης με ELISA (Dimer test Gold, Agen Biomedical, Brisbane, Australia [φυσιολογικές τιμές: 0-110 ng/ml]) ως δείκτης ινωδόλυσης. Οι ενεργότητες της αντιθρομβίνης, της πρωτεΐνη C και της πρωτεΐνης S ανιχνεύτηκαν χρησιμοποιώντας Berichrom AT, PC και PS kits (Siemens Healthcare Diagnostics Inc. Newark USA), αντίστοιχα, και τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως εκατοστιαία ποσοστά. Το επίπεδο ενεργότητας καθενός από τους 3 παράγοντες στο φυσιολογικό πλάσμα ορίστηκε ως 100%. Ο vWF προσδιορίστηκε με ανοσοθολοσιμετρική μέθοδος ενισχυμένη με latex (LIA). Οι φυσιολογικές τιμές είναι 50-160%. Η δραστικότητα ριστοσεΐνης (vWF:Rco) προσδιορίστηκε με το αντιδραστήριο BC vWF ως ακολούθως: εν τη παρουσία ριστοσεΐνης, ο vWF

(συμπαράγοντας ριστοσεΐνη) στο δείγμα προκαλεί συγκόλληση των σταθεροποιημένων αιμοπεταλίων που περιέχονται στο αντιδραστήριο vWF. Η διαδικασία συγκόλλησης μειώνει τη θολερότητα στην έναρξη της αντίδρασης. Ένας αναλυτής πήξης μετρά την μεταβολή στην οπτική πυκνότητα και προσδιορίζει αυτόματα τη δραστικότητα του συμπαράγοντα ριστοσεΐνη στο δείγμα σε % επί του φυσιολογικού. Οι φυσιολογικές τιμές είναι 58-172%.

1.2.4 Άλλοι παράγοντες αιμόστασης

Ο χρόνος προθρομβίνης εκτιμήθηκε με το Thromborel[®] S Reagent (DADE Behring, Germany). Ο διεθνής χρόνος ομαλοποίησης (International Normalized Ratio [INR]) εκτιμήθηκε μέσω του χρόνου προθρομβίνης και του διεθνούς δείκτη ευαισθησίας. Ο χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης (activated partial thromboplastin time [APTT]) εκτιμήθηκε με το Actin[®] FSL Reagent (DADE Behring, Germany). Τα επίπεδα ινωδογόνου (fibrinogen) μετρήθηκαν με το Multifibren[®] U Reagent (Siemens Healthcare Diagnostics Inc. Newark USA (normal values: 180-350 mg/dL).

1.2.5 Λοιπές εργαστηριακές εξετάσεις

Άλλες εργαστηριακές εξετάσεις, συμπεριλαμβανομένου του αριθμού των αιμοπεταλίων, της κρεατινίνης ορού, και δεικτών της ηπατικής βιοχημείας πραγματοποιήθηκαν στα πλαίσια του συνήθους ελέγχου.

1.3 Πρωτόκολλα μελέτης αιμόστασης

1.3.1 Πρωτόκολλο Α

Στο Πρωτόκολλο Α, βάση των κριτηρίων εισόδου, εντάχθηκαν οι ασθενείς με αριθμό των αιμοπεταλίων $>60.000/\mu\text{L}$ και $<150.000/\mu\text{L}$). Το κατώτερο όριο των αιμοπεταλίων επιλέχθηκε ώστε, βάση των βιβλιογραφικών δεδομένων, να εξασφαλίζεται η φυσιολογική παραγωγή θρομβίνης [26]. Στο Πρωτόκολλο Α εκτιμήθηκε η συσχέτιση των γενικών δοκιμασιών πήκτικότητας (INR, APTT, ινωδογόνο), των φυσικών αντιπηκτικών παραγόντων (αντιθρομβίνη, πρωτεΐνη C και πρωτεΐνη S), και δεικτών υπερπηκτικότητας (συμπλέγματα TAT, D-διμερή) με την βαρύτητα της ηπατικής νόσου (εκτιμώμενη με την κατάταξη κατά Child-Pugh και το MELD score) και κλινικές επιπλοκές της κίρρωσης (αναφέρθηκαν παραπάνω).

1.3.2 Πρωτόκολλο Β

Το σύνολο των ασθενών που συμμετείχε στην μελέτη της αιμόστασης σε ασθενείς με κίρρωση εντάχθηκε στο Πρωτόκολλο Β. Βάση των κριτηρίων εισόδου στο Πρωτόκολλο Β, όλοι οι ασθενείς είχαν θρομβοπενία (αριθμός των αιμοπεταλίων ήταν $<150000/\mu\text{L}$). Στο Πρωτόκολλο Β εκτιμήθηκε η συσχέτιση του vWF, των προπηκτικών παραγόντων II, V, VIII (ως σημαντικότεροι δείκτες της προπηκτικής ισορροπίας βάση βιβλιογραφικών δεδομένων), των αντιπηκτικών παραγόντων αντιθρομβίνη και πρωτεΐνη C (ως σημαντικότεροι αντιπηκτικοί δείκτες βάση βιβλιογραφικών δεδομένων) και του λόγου παράγοντας VIII/πρωτεΐνη C (ως σημαντικός δείκτης υπερπηκτικότητας βάση βιβλιογραφικών δεδομένων) με την βαρύτητα της ηπατικής νόσου (εκτιμώμενη

με την κατάταξη κατά Child-Pugh και το MELD score) και κλινικές επιπλοκές της κίρρωσης (αναφέρθηκαν παραπάνω).

2. Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με το στατιστικό πρόγραμμα SPSS 19.0 (SPSS Inc., Chicago, IL). Συνεχόμενες μεταβλητές εκφράστηκαν ως μέσες τιμές±σταθερή απόκλιση και συγκρίθηκαν με το Student's test. Συσχετίσεις μεταξύ διαφορετικών μεταβλητών πραγματοποιήθηκαν με την ανάλυση συσχέτισης κατά Spearman και τα αποτελέσματα εκφράστηκαν με τον συντελεστή συσχέτισης. Η μονοπαραγοντική ανάλυση παλινδρόμησης χρησιμοποιήθηκε για να εκτιμήσει την επίδραση παραμέτρων σχετιζόμενων με την βαρύτητα της ηπατικής νόσου (κατάταξη κατά Child-Pugh and MELD score) στους παράγοντες αιμόστασης και να αναγνωρίσει την σχέση των παραγόντων αιμόστασης με συμβάματα σχετιζόμενα με την πυλαία υπέρταση, την ΘΠΦ και την επιβίωση. Οι παράγοντες INR, APTT, ινωδογόνο, αντιθρομβίνη, πρωτεΐνη C, πρωτεΐνη S, TAT συμπλέγματα, D-διμερή και MELD score στο Πρωτόκολλο A και οι παράγοντες vWF, παράγοντας II, παράγοντας V, παράγοντας VIII, αντιθρομβίνη, πρωτεΐνη C, ο λόγος παράγοντας VIII/πρωτεΐνη C και το MELD score στο Πρωτόκολλο B εξετάστηκαν στην μονοπαραγοντική ανάλυση. Ακολούθως, συνεχείς μεταβλητές με στατιστικό επίπεδο σημαντικότητας (p value) <0.1 στην μονοπαραγοντική ανάλυση χρησιμοποιήθηκαν στην πολυπαραγοντική λογιστική παλινδρόμηση για να εκτιμηθεί η ανεξαρτησία των προγνωστικών παραγόντων. Δύο πολυπαραγοντικά μοντέλα εφαρμόστηκαν: το ένα δεν συμπεριέλαβε το MELD score (μοντέλο 1) και το δεύτερο συμπεριέλαβε το MELD score (μοντέλο 2). Στο Πρωτόκολλο A το INR αποκλείστηκε από την πολυπαραγοντική ανάλυση που συμπεριέλαβε το MELD score για την αποφυγή του φαινομένου της συγγραμικότητας. Καμπύλες χαρακτηριστικού

λειτουργικού δέκτη (Receiver operator characteristic [ROC] curves) χρησιμοποιήθηκαν για να καθορίσουν το διαχωριστικό όριο του ύψους του MELD score ως προγνωστικό δείκτη θνητότητας και των επιπέδων TAT, vWF και του λόγου παράγοντας VIII/πρωτεΐνη C ως προγνωστικό δείκτη νεοεμφανιζόμενου ασκίτη, κίρσορραγίας, ΘΠΦ, και θνητότητας. Η τιμή με την μεγαλύτερη ευαισθησία και ειδικότητα στην επιφάνεια κάτω από την καμπύλη (δείκτης Youden) επιλέχθηκε για περαιτέρω ανάλυση. Μοντέλα εξάρτησης αναλογικών κινδύνων (Cox proportional hazard models) χρησιμοποιήθηκαν για να αναγνωρίσουν παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση νέου ασκίτη, κίρσορραγίας, ΘΠΦ, και θανάτου. Τα αποτελέσματα των μοντέλων Cox εκφράστηκαν σαν αναλογία κινδύνου (hazard ratio [HR]) και διαστήματα εμπιστοσύνης (95% confidence intervals [CI]). Παράγοντες με p value <0.1 στην μονοπαραγοντική ανάλυση αξιολογήθηκαν στα πολυπαραγοντικά μοντέλα 1 και 2 (όπως περιγράφηκε ανωτέρω). Οι αθροιστικές πιθανότητες για εμφάνιση νέου ασκίτη, κίρσορραγίας, ΘΠΦ και επιβίωσης εκτιμήθηκαν με την μέθοδο Kaplan-Mayer και οι διαφορές συγκρίθηκαν με το long-rank test. P values <0.05 θεωρήθηκαν στατιστικά σημαντικές.

3. Αποτελέσματα

3Χαρακτηριστικά ασθενών και συσχέτιση των υπό μελέτη παραγόντων

Ενενήντα τρεις ασθενείς με κίρρωση εκτιμήθηκαν στην μελέτη αιμόστασης. Η κίρρωση σχετιζόταν με το αλκοόλ (65 περιπτώσεις), ιογενείς ηπατίτιδες (15 περιπτώσεις), άλλες αιτίες (7 περιπτώσεις), ενώ ήταν κρυψιγενής (6 περιπτώσεις). Στο Πρωτόκολλο Α συμπεριλήφθησαν 81 από τους 93 ασθενείς (65 άνδρες και 16 γυναίκες με μέση ηλικία 55.8 ± 6.4 έτη και μέσο MELD score 12 ± 5). Ο μέσος χρόνος παρακολούθησης ήταν 25.6 μήνες (εύρος: 6-44 μήνες). Δύο ασθενείς υπεβλήθησαν σε μεταμόσχευση ήπατος (2.4%). Στο Πρωτόκολλο Β εντάχθηκε το σύνολο των ασθενών (74 άντρες και 19 γυναίκες με μέση ηλικία 56.3 ± 6.9 έτη και μέσο MELD score 12 ± 6). Ο μέσος χρόνος παρακολούθησης ήταν 25.3 μήνες (εύρος: 6-44 μήνες). Δύο ασθενείς υπεβλήθησαν σε μεταμόσχευση ήπατος (2.1%). Δεν διαπιστώθηκαν σημαντικές διαφορές αναφορικά με το φύλο και την ηλικία σε όλες τις συγκρινόμενες ομάδες ασθενών και στα δύο πρωτόκολλα.

Η ομάδα ελέγχου αποτελείτο από 40 ασθενείς με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα (HBV/HCV: 25/15) χωρίς κίρρωση (22 άντρες και 18 γυναίκες με μέση ηλικία 51.5 ± 8.2 έτη) και 40 υγιή άτομα (25 άντρες και 15 γυναίκες με μέση ηλικία 59.2 ± 5.7 έτη).

Οι παράγοντες αιμόστασης στους 93 ασθενείς που μελετήθηκαν και τις ομάδες ελέγχου φαίνονται στον **Πίνακα 1**. Στατιστικά σημαντικές διαφορές παρατηρήθηκαν μόνο μεταξύ των ασθενών με κίρρωση και των ασθενών με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα όπως επίσης μεταξύ των ασθενών με κίρρωση και των υγιών ατόμων σε όλους τους υπό εξέταση παράγοντες.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1. Παράγοντες αιμόστασης σε ασθενείς με κίρρωση, χρόνια ιογενή ηπατίτιδα χωρίς κίρρωση, και υγιή άτομα			
Παράμετρος	Κίρρωση (n=93)	Χρόνια ιογενή ηπατίτιδα χωρίς κίρρωση (n=40)	Υγιή άτομα (n=40)
International normalized ratio	1.3±0.55	0.98±0.16	0.95±0.26
Activated partial thromboplastin time (sec)	36.9±6.2	29.5±1.9	27.5±2.1
Fibrinogen (mg/dL)	225±55.8	333±32	323±45
Thrombin-antithrombin complexes (ng/ml)*	9.72±2.6	1.25±0.27	1.19±0.21
D-dimers (ng/ml)	162±35.9	37.5±18.7	35.5±18.2
Factor II (%)	55.5±33.5	118±31.5	120±21.2
Factor V (%)	63.3±29.1	109±17.3	112±18.1
Factor VII (%)	59±24.7	115±18.4	110±24.8
Factor VIII (%)	162.3±36.4	101.4±32.4	98.4±18.6
Factor IX (%)	80.2±27.6	110±26.8	115±16.8
Factor X (%)	72.7±20.8	128±27.4	118±19.6
Factor XI (%)	75.3±28.5	120±25.2	113±20.4
Factor XII (%)	85.7±28.2	98±15.5	104±12.9
Factor XIII (%)	93.6±36.9	130±30.2	124±26.8
Antithrombin (%)	47.5±17.2	110±8.8	103±7.8
Protein C (%)	49.1±24.6	106±13.3	112±15.8
Protein S (%)	73.3±25.1	99±15.8	108±14.3
Factor VIII/protein C ratio	3.27±1.36	0.87±0.3	0.81±0.23
Von Willebrand factor (vWF)- antigen (%)	327±150	108.5±26.3	99.2±30.6
vWF-activity (%)	238±131	88.8±27.4	84.8±33.8
vWF-activity:vWF-antigen ratio	0.7±0.14	0.88±0.26	0.83±0.18

*Τα thrombin-antithrombin complexes εκτιμήθηκαν σε 81 ασθενείς με κίρρωση

Όλες οι διαφορές στους εκτιμώμενους παράγοντες μεταξύ των ασθενών με κίρρωση και των ασθενών με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα καθώς και των υγιών ατόμων ήταν στατιστικά σημαντικές ($p < 0.05$). Μεταξύ των ασθενών με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα και των υγιών ατόμων δεν σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά σε κανένα παράγοντα.

Οι τιμές εκφράζονται ως μέση τιμή \pm σταθερή απόκλιση

Δεν παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ των ασθενών με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα και των υγιών ατόμων σε κανένα από τους παράγοντες που εκτιμήθηκαν. Ειδικότερα στους ασθενείς του Πρωτοκόλλου A, τα επίπεδα των TAT συμπλεγμάτων δεν συσχετίστηκαν με τον χρόνο προθρομβίνης, τον χρόνο μερικής θρομβοπλαστίνης, τα επίπεδα του ινωδογόνου ή της αλβουμίνη του ορού. Αντιθέτως τα επίπεδα των TAT συμπλεγμάτων σχετίστηκαν σημαντικά θετικά με τα επίπεδα των D-διμερών ($r=0.546$, $p < 0.001$) και αρνητικά με τα επίπεδα αντιθρομβίνης ($r=-0.478$, $p < 0.001$). Καμία σημαντική συσχέτιση δεν παρατηρήθηκε στις ομάδες ελέγχου. Η περαιτέρω στατιστική ανάλυση θα αφορά μόνο τους ασθενείς με κίρρωση.

Παράγοντες αιμόστασης και βαρύτητα της κίρρωσης

Όπως φαίνεται στον **Πίνακα 2**, όλοι οι εκτιμώμενοι παράγοντες πλην της πρωτεΐνης S και του λόγου vWF-activity:vWF-antigen, παρουσίαζαν σημαντική συσχέτιση με την βαρύτητα της ηπατικής νόσου όπως εκτιμήθηκε με την κατάταξη κατά Child-Pugh στην μονοπαραγοντική ανάλυση για το σύνολο των 93 ασθενών που μελετήθηκαν.

Ειδικότερα για τους ασθενείς του Πρωτοκόλλου A, τα επίπεδα των TAT συμπλεγμάτων ($p < 0.001$) και ο συνδυασμός των επιπέδων των TAT

συμπλεγμάτων ($p=0.001$) και της αντιθρομβίνης ($p=0.01$) έδειξαν ανεξάρτητη συσχέτιση με την βαρύτητα της ηπατικής νόσου, όπως εκτιμήθηκε, αντίστοιχα, με την κατάταξη κατά Child-Pugh ή το όριο 12 του MELD score, το οποίο έδειξε την μεγαλύτερη προγνωστική αξία όσον αφορά την θνητότητα στην AUC ανάλυση (ευαισθησία 72%, ειδικότητα 84%) (Πίνακας 3).

ΠΙΝΑΚΑΣ 2. Μεταβολές αιμοστατικών παραγόντων ανάλογα με την βαρύτητα της κίρρωσης εκτιμώμενη με την κατάταξη κατά Child-Pugh				
Παράμετρος	Child-Pugh A (n=31)	Child-Pugh B (n=31)	Child-Pugh C (n=31)	p
International normalized ratio	1.16±0.34	1.3±0.54	1.44±0.52	0.01
Activated partial thromboplastin time (sec)	31.8±3.6	35.6±3.9	43.1±9.7	0.02
Fibrinogen (mg/dL)	275±32.3	226±48.3	189±58.6	0.02
*Thrombin-antithrombin complexes (ng/ml)	3.7±1.1	9.2±2.2	16.4±3.7	<0.001
D-dimers (ng/ml)	89.9±11.9	134±28	268±24.1	0.03
Factor II (%)	71.1±40.2	55.8±28.3	39.1±21.3	<0.001
Factor V (%)	79.8±31.9	58.5±22.6	50.8±24.1	<0.001
Factor VII (%)	74.9±24.4	57.8±22.7	43.7±15.9	<0.001
Factor VIII (%)	140±30.8	156±33.3	190±26.2	<0.001
Factor IX (%)	100±22.4	73±23.1	65.8±24.1	<0.001
Factor X (%)	77.1±18.2	76.2±22.1	64.8±20.7	0.03
Factor XI (%)	98.7±28.6	65.8±19.9	60.1±18.7	<0.001
Factor XII (%)	103±30.4	77.6±24.5	75±19.9	<0.001
Factor XIII (%)	109±40.1	86.9±35.9	83.7±29.7	0.01
Antithrombin (%)	76±23.6	61.1±16.5	40.9±12.8	0.008

Protein C (%)	66.1±23.2	47.8±22.7	36.9±15.4	0.003
Protein S (%)	83.2±28.4	74.3±26.2	73.5±13.7	0.08
Factor VIII/protein C ratio	1.98±0.78	3.44±1.17	4.47±1.48	<0.001
Von Willebrand factor (vWF)-antigen (%)	194±49.3	325±119	468±117	<0.001
vWF-activity (%)	131±51.4	220±89.4	366±113	<0.001
vWF-activity:vWF-antigen ratio	0.66±0.15	0.67±0.14	0.76±0.09	0.1
<p>*Τα thrombin-antithrombin complexes εκτιμήθηκαν σε 81 ασθενείς με κίρρωση Η στατιστική διαφορά μεταξύ των ομάδων εκτιμήθηκε με univariate linear regression analysis Οι τιμές εκφράζονται ως μέση τιμή ± σταθερή απόκλιση</p>				

ΠΙΝΑΚΑΣ 3. Μεταβολές αιμοστατικών παραγόντων ανάλογα με την βαρύτητα της κίρρωσης εκτιμώμενη με την κατάταξη κατά Child-Pugh και το MELD score (Πρωτόκολλο A)					
	Child-Pugh class				
	A (n=27)	B (n=27)	C (n=27)	p*	p**
TAT (ng/mL)	3.7±1.1	9.2±2.2	16.4±3.7	<0.001	<0.001
DD (ng/mL)	87.6±11.4	128.2±23.3	262±18.1	<0.001	0.5
AT (%)	78±23.1	59.3±17.1	41.4±10.6	0.008	0.06
PC (%)	68.1±25.2	45.6±20.9	34.7±13.8	0.003	0.1
PS (%)	79.2±21.1	75.3±22.4	72.2±15.9	0.08	0.8
INR	1.15±0.32	1.29±0.4	1.42±0.53	0.01	0.2
APTT (sec)	31.4±3.8	35.3±4.2	42.8±9	0.02	0.8
Fibrinogen (mg/dL)	268.5±30.3	228.5±49.5	193.7±59.2	0.03	0.1
	MELD score				
	<12.5 (n=43)	≥12.5 (n=38)	p*	p**	
TAT (ng/mL)	6.9±2	14.7±3.1	<0.001	0.001	
DD (ng/mL)	132.8±25.5	289.4±23.7	<0.001	0.2	
AT (%)	65±33.2	46.5±26.8	<0.001	0.04	
PC (%)	57.9±24.1	39.2±24.8	<0.001	0.2	
PS (%)	76.9±21.8	73.4±35.2	0.1		
INR	1.21±0.33	1.37±0.61	0.01	0.4	
APTT (sec)	33.8±4.2	39.7±7.9	0.01	0.6	
Fibrinogen (mg/dL)	232.2±74.5	202.8±70.8	0.04	0.09	
*univariate analysis					
**multivariate analysis					
Συντομογραφίες: MELD, model of end-stage liver disease; TAT, thrombin-antithrombin complexes; DD, D-dimer; AT, antithrombin; PC, protein C; PS, protein S; INR, international normalized ratio; APTT, activated partial thromboplastin time.					
Το όριο 12.5 του MELD score ήταν αυτό που έδειξε την μεγαλύτερη ευαισθησία και ειδικότητα για την πρόβλεψη της θνητότητας στην AUC ανάλυση.					
Οι τιμές εκφράζονται ως μέση τιμή ± σταθερή απόκλιση					

Παράγοντες αιμόστασης και επιπλοκές σχετιζόμενες με την πυλαία υπέρταση κατά την ένταξη στην μελέτη

Σαράντα πέντε ασθενείς (55.5%) είχαν ασκίτη και 42 (51.8%) είχαν κίρσους κατά την ένταξη στο Πρωτόκολλο Α. Αντίστοιχα, 53 ασθενείς (56.9%) είχαν ασκίτη και 50 (53.7%) είχαν γαστροισοφαγικούς κίρσους κατά την ένταξη στο Πρωτόκολλο Β.

Ανεξάρτητη συσχέτιση με την παρουσία ασκίτη και κίρσων κατά την ένταξη στο Πρωτόκολλο Α διαπιστώθηκε για τα επίπεδα TAT ($p < 0.001$) στο μοντέλο 1 και τα επίπεδα TAT ($p = 0.002$ και $p < 0.001$, αντίστοιχα) και MELD score ($p = 0.009$ και $p = 0.02$, αντίστοιχα) στο μοντέλο 2 (**Πίνακες 4 και 5**). Στο Πρωτόκολλο Β και το μοντέλο 1 της πολυπαραγοντικής Cox ανάλυσης, ανεξάρτητη συσχέτιση με την παρουσία ασκίτη διαπιστώθηκε για τα επίπεδα vWF ($p = 0.001$), τον παράγοντα VIII ($p = 0.003$) και τον λόγο παράγοντας VIII/πρωτεΐνη C ($p = 0.008$). Στο μοντέλο 2, η παρουσία ασκίτη συσχετίστηκε ανεξάρτητα με τον vWF ($p = 0.004$), τον λόγο παράγοντας VIII/πρωτεΐνη C ($p = 0.01$) και το MELD score ($p = 0.02$). (**Πίνακας 6**). Για την παρουσία κίρσων, ο vWF ($p = 0.002$), ο παράγοντας VIII ($p = 0.01$) και ο λόγος παράγοντας VIII/πρωτεΐνη C ($p = 0.004$) είχαν ανεξάρτητη προγνωστική αξία στο μοντέλο 1. Στο μοντέλο 2, η παρουσία σκίτη συσχετίστηκε ανεξάρτητα με τον vWF ($p = 0.009$) και τον λόγο παράγοντας VIII/πρωτεΐνη C ($p = 0.01$) (**Πίνακας 7**).

ΠΙΝΑΚΑΣ 4. Αιμοστατικοί παράγοντες και MELD score σε ασθενείς χωρίς και με ασκίτη κατά την ένταξη στο Πρωτόκολλο Α.

	Ασκίτης		p*	p**	p***
	Όχι (n=36)	Ναι (n=45)			
Thrombin-antithrombin complexes (ng/ml)	4.9±3.4	13.6±7	<0.001	<0.001	0.002
D-dimers (ng/ml)	0.522±0.234	0.797±0.243	<0.001	0.062	0.3
Antithrombin (%)	84.3±24.4	69.1±26.1	0.01	0.107	0.3
Protein C (%)	86.3±33.7	71.4±32	0.04	0.523	0.2
Protein S (%)	76±19.4	66.8±26.2	0.09	0.845	0.9
International normalized ratio	1.11±0.15	1.2±0.2	0.13		
Activated partial thromboplastin time (sec)	32.8±4.6	34.6±7.6	0.2		
Fibrinogen (mg/dl)	367±134	358±112	0.7		
MELD score	8.7±2.8	14.4±4.8	<0.001		0.009

*univariate linear regression analysis

**multivariate linear regression analysis: χωρίς συνεκτίμηση του MELD score

***multivariate linear regression analysis: με συνεκτίμηση του MELD score

Συντομογραφίες: MELD, model of end-stage liver disease

Οι τιμές εκφράζονται ως μέση τιμή ± σταθερή απόκλιση

ΠΙΝΑΚΑΣ 5. Αιμοστατικοί παράγοντες και MELD score σε ασθενείς χωρίς ή με γαστροοισοφαγικούς κίρσους κατά την ένταξη στο Πρωτόκολλο Α.

	Κίρσοι οισοφάγου/στομάχου		p*	p**	p***
	Όχι (n=39)	Ναι (n=42)			
Thrombin-antithrombin complexes (ng/ml)	5.52±4.04	13.72±7.29	<0.001	<0.001	<0.001
D-dimers (ng/ml)	0.573±0.239	0.77±0.274	0.001	0.3	0.2
Antithrombin (%)	83.9±24.5	68.3±25.9	0.008	0.1	0.2
Protein C (%)	88.1±37	68.5±26.6	0.009	0.5	0.7
Protein S (%)	75.8±23.2	66.3±23.1	0.08	0.5	0.9
International normalized ratio	1.1±0.1	1.21±0.3	0.008	0.8	
Activated thromboplastin time (sec)	32.2±4.4	35.3±7.7	0.001	0.8	0.8
Fibrinogen (mg/dl)	384±126	341±116	0.1		
MELD score	9±2.5	14.6±5.2	<0.001		0.02

*univariate linear regression analysis
 **multivariate linear regression analysis: χωρίς συνεκτίμηση του MELD score
 ***multivariate linear regression analysis: με συνεκτίμηση του MELD score
 Συντομογραφίες: MELD, model of end-stage liver disease
 Οι τιμές εκφράζονται ως μέση τιμή ± σταθερή απόκλιση

ΠΙΝΑΚΑΣ 6. Αιμοστατικοί παράγοντες και MELD score σε ασθενείς χωρίς και με ασκίτη κατά την ένταξη στο Πρωτόκολλο Β.

	Ασκίτης		p*	p**	p***
	Όχι (n=40)	Ναι (n=53)			
von Willebrand factor (%)	221±82.9	413±138	<0.001	0.001	0.004
Factor II (%)	70.9±39.3	43.1±21.1	<0.001	0.1	0.3
Factor V (%)	75.3±31.6	53.6±22.9	0.001	0.1	0.9
Factor VIII (%)	144±34.2	176±31.7	<0.001	0.003	0.08
Antithrombin (%)	67.1±21.4	51.1±15.8	0.01	0.08	0.2
Protein C (%)	57.5±32.5	43.1±22.2	0.03	0.2	0.3
Factor VIII/Protein C ratio	2.48±0.85	4.13±1.48	<0.001	0.008	0.01
MELD score	9±4	14±5	<0.001		0.02

*univariate linear regression analysis
 **multivariate linear regression analysis: χωρίς συνεκτίμηση του MELD score
 ***multivariate linear regression analysis: με συνεκτίμηση του MELD score
 Συντομογραφίες: MELD, model of end-stage liver disease
 Οι τιμές εκφράζονται ως μέση τιμή ± σταθερή απόκλιση

ΠΙΝΑΚΑΣ 7. Αιμοστατικοί παράγοντες και MELD score σε ασθενείς χωρίς ή με γαστροοισοφαγικούς κίρσους κατά την ένταξη στο Πρωτόκολλο Β.					
	Γαστροοισοφαγικοί κίρσοι		p*	p**	p***
	Όχι (n=43)	Ναι (n=50)			
von Willebrand factor (%)	239±98.8	411±143	<0.001	0.002	0.009
Factor II (%)	63.1±36.2	48.3±29.3	0.05		
Factor V (%)	71.2±29.5	55.8±26.9	0.01	0.5	0.8
Factor VIII (%)	142±31.3	180±31.1	0.001	0.01	0.02
Antithrombin (%)	65.1±26.6	46.8±17.5	0.009	0.1	0.1
Protein C (%)	60.6±27.9	39.3±15.6	0.01	0.2	0.3
Factor VIII/Protein C ratio	2.35±1.18	4.58±1.37	<0.001	0.004	0.01
MELD score	9±3	14±6	<0.001		0.05
*univariate linear regression analysis					
**multivariate linear regression analysis: χωρίς συνεκτίμηση του MELD score					
***multivariate linear regression analysis: με συνεκτίμηση του MELD score					
Συντομογραφίες: MELD, model of end-stage liver disease					
Οι τιμές εκφράζονται ως μέση τιμή ± σταθερή απόκλιση					

Παράγοντες αιμόστασης και ρήξη αντιρρόπησης στην διάρκεια της παρακολούθησης

Το 38.4% των ασθενών του Πρωτοκόλλου Α που δεν είχε ασκίτη κατά την ένταξη στην μελέτη, παρουσίασαν ασκίτη στην διάρκεια της παρακολούθησης. Αντίστοιχα, 12 ασθενείς (33.3%) στο Πρωτόκολλο Β παρουσίασαν ασκίτη στην διάρκεια της παρακολούθησης.

Οι ασθενείς του Πρωτοκόλλου Α, οι οποίοι παρουσίασαν ασκίτη στην διάρκεια της παρακολούθησης είχαν σημαντικά υψηλότερες τιμές TAT συμπλεγμάτων (7.5±2ng.mL έναντι 3.7±1.4ng/mL, p=0.001) και χαμηλότερες τιμές αντιθρομβίνης (60.6±26.2% έναντι 68.7±22.7%, p=0.04) κατά την ένταξη. Στο μοντέλο 1 της Cox ανάλυσης, μόνο τα επίπεδα των TAT συμπλεγμάτων (p=0.001) συνδέθηκαν ανεξάρτητα με υψηλότερο κίνδυνο ανάπτυξης ασκίτη.

Τα επίπεδα των TAT συμπλεγμάτων ($p=0.004$) και το MELD score ($p=0.001$) ήταν οι πιο σημαντικοί προγνωστικοί παράγοντες για πρωτοεμφανιζόμενο ασκίτη στο μοντέλο 2 **(Πίνακας 8)**. Στην Kaplan-Mayer καμπύλη, η πιθανότητα να μην εμφανιστεί νέος ασκίτης ήταν σημαντικά μεγαλύτερη σε ασθενείς με επίπεδα TAT συμπλεγμάτων χαμηλότερα από το όριο των 5.35ng/ml (ευαισθησία 73%, ειδικότητα 83%) **(Σχήμα 1)**.

Οι ασθενείς του Πρωτοκόλλου Β που παρουσίασαν ασκίτη στην διάρκεια της παρακολούθησης είχαν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα αντιθρομβίνης ($p=0.04$) και σημαντικά υψηλότερες τιμές vWF ($p<0.001$), του παράγοντα VIII ($p=0.02$) και του λόγου παράγοντας VIII/πρωτεΐνη C ($p<0.001$) **(Πίνακας 9)**.

ΠΙΝΑΚΑΣ 8. Προγνωστικός ρόλος των αιμοστατικών παραγόντων για νεοεμφανιζόμενο ασκίτη στην Cox ανάλυση (Πρωτόκολλο Α).

Εκτιμώμενο I παραγόντες	Μονοπαραγοντική ανάλυση		Πολυπαραγοντική ανάλυση*		Πολυπαραγοντική ανάλυση**	
	HR (95% CI)	P	HR (95% CI)	P	HR (95% CI)	P
TAT (ng/mL)	1.214 (1.062- 1.388)	0.001	1.188 (1.033-1.366)	0.001	1.283 (1.081-1.523)	0.004
DD (ng/mL)	1.222 (0.972- 1.531)	0.09	1.216 (0.906-1.558)	0.3	1.209 (0.802-1.623)	0.9
AT (%)	0.978 (0.954- 1.003)	0.02	0.988 (0.936-1.015)	0.2	1.002 (0.976-1.029)	0.8
PC (%)	0.998 (0.981- 1.016)	0.8				
PS (%)	1.019 (0.991- 1.047)	0.1				
INR	2.424 (0.614- 9.066)	0.2				
APTT (sec)	0.978 (0.851- 1.123)	0.7				
Fibrinogen (mg/dL)	0.999 (0.994- 1.004)	0.6				
MELD score	1.396 (1.151- 1.693)	0.001			1.523 (1.179-1.967)	0.001

*χωρίς συνεκτίμηση MELD score

**με συνεκτίμηση MELD score

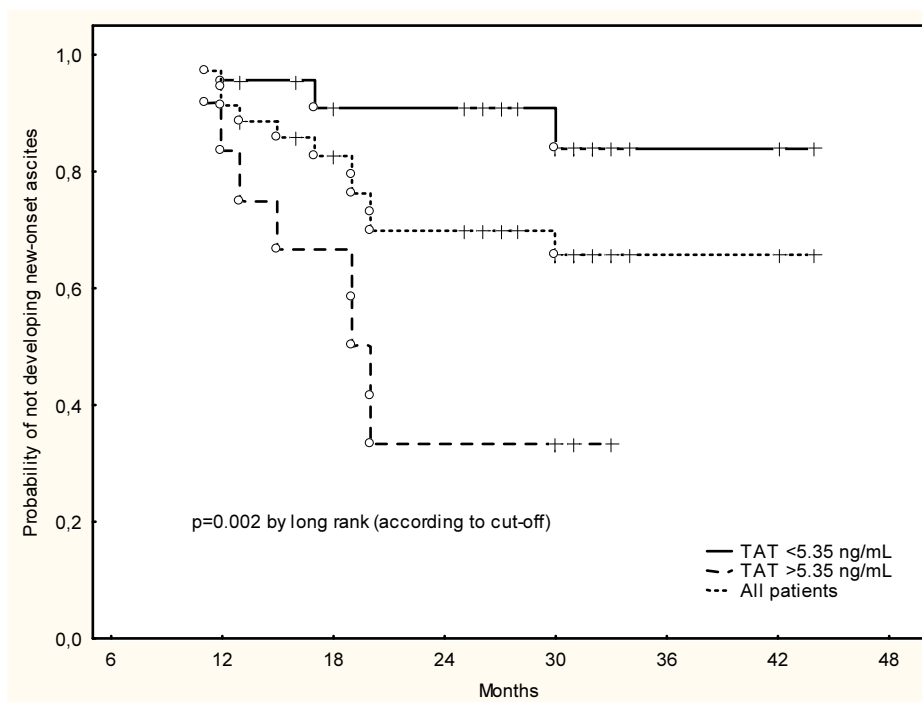
Συντομογραφίες: MELD, model of end-stage liver disease; TAT, thrombin-antithrombin complexes; DD, D-dimer; AT, antithrombin; PC, protein C; PS, protein S; INR, international normalized ratio; APTT, activated partial thromboplastin time. Οι τιμές εκφράζονται ως μέση τιμή ± σταθερή απόκλιση

ΠΙΝΑΚΑΣ 9. Τιμές αιμοστατικών παραγόντων και MELD score κατά την είσοδο στην μελέτη σε ασθενείς που εμφάνισαν και αυτούς που δεν εμφάνισαν ασκίτη στην διάρκεια της παρακολούθησης (Πρωτόκολλο Β).

	Ασθενείς χωρίς νεοεμφανιζόμενο ασκίτη (n=27)	Ασθενείς με νεοεμφανιζόμενο ασκίτη (n=12)	p
vWF (%)	182±39.7	308±88.1	<0.001
FII (%)	81.5±40.6	47.8±24.8	0.01
FV (%)	80±30.4	64.9±33.2	0.1
FVIII (%)	135±30.3	163±35	0.02
AT (%)	73.7±26.6	55.6±25.5	0.04
PC (%)	61.5±32.7	51.3±18.8	0.08
FVIII/PC ratio	2.17±0.65	3.21±0.75	<0.001
MELD score	8±3	10±4	0.2

Συνομογραφίες: MELD, model of end-stage liver disease; FII, factor II; FV, factor V; FVIII, factor VIII; AT, antithrombin; PC, protein C.

Οι τιμές εκφράζονται ως μέση τιμή ± σταθερή απόκλιση



Σχήμα 1. Πιθανότητα να μην εμφανιστεί ασκίτης σε ασθενείς χωρίς ασκίτη κατά την ένταξη στο Πρωτόκολλο Α με βάση το όριο TAT συμπλεγμάτων 5.35ng/mL.

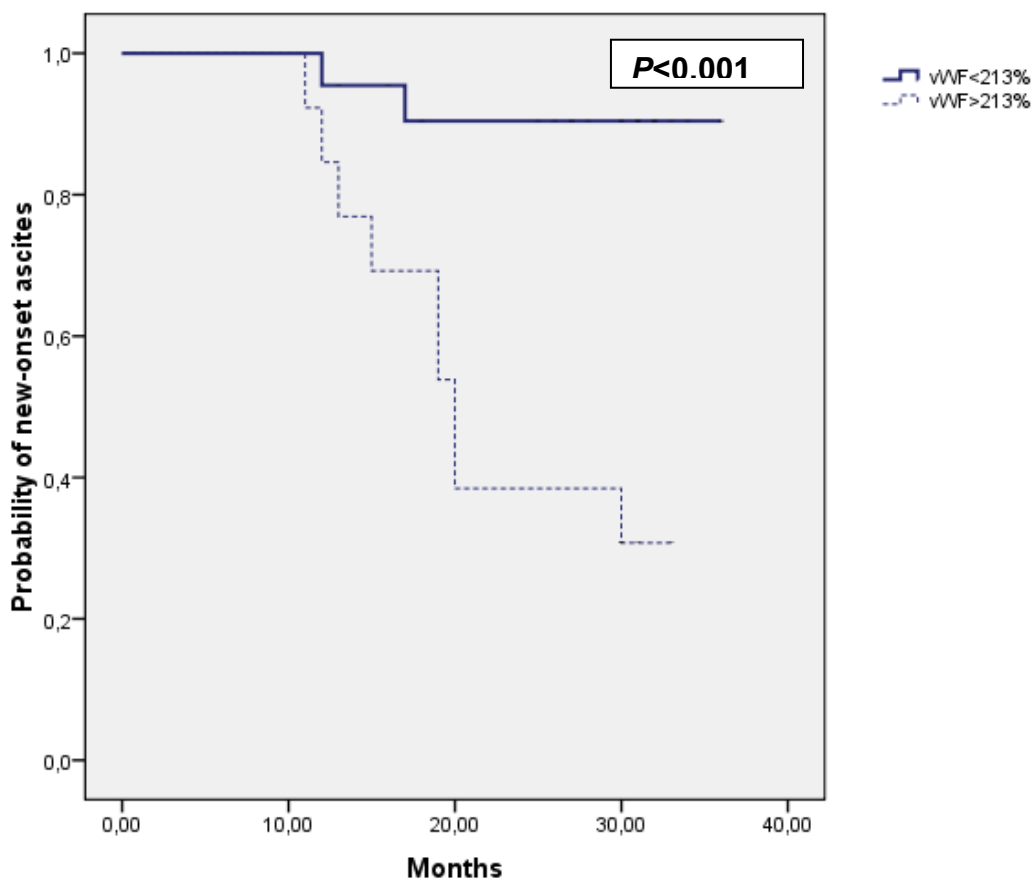
Στο μοντέλο 1 της Cox ανάλυσης, ο vWF ($p=0.001$) και η τιμή του λόγου παράγοντας VIII/πρωτεΐνη C ($p=0.003$) ήταν ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες νεοεμφανιζόμενου ασκίτη. Στο μοντέλο 2 της Cox ανάλυσης, ο vWF ($p=0.009$) και η τιμή του λόγου παράγοντας VIII/πρωτεΐνη C ($p=0.02$) παρέμειναν οι πιο σημαντικοί προγνωστικοί παράγοντες για πρωτοεμφανιζόμενο ασκίτη (**Πίνακας 10**). Στην Kaplan-Meier καμπύλη, η πιθανότητα νεοεμφανιζόμενου ασκίτη ήταν σημαντικά μεγαλύτερη σε ασθενείς με επίπεδα vWF>213% (ευαισθησία 81.8% και ειδικότητα 83.3% στην AUC ανάλυση)

ΞΠΙΝΑΚΑΣ 10. Προγνωστικός ρόλος των αιμοστατικών παραγόντων και του MELD score για νεοεμφανιζόμενο ασκίτη στην Cox ανάλυση (Πρωτόκολλο Β).						
Εκτιμώμενοι παράγοντες	Μονοπαραγοντική ανάλυση		Πολυπαραγοντική ανάλυση*		Πολυπαραγοντική ανάλυση**	
	HR (95% CI)	P	HR (95% CI)	P	HR (95% CI)	P
vWF (%)	1.012 (1.007-1.018)	<0.001	1.008 (1.001-1.015)	0.001	1007 (1001-1014)	0.009
FII (%)	0.978 (0.958-0.999)	0.03	0.996 (0.970-1.023)	0.7		
FV (%)	0.984 (0.961-1.007)	0.1				
FVIII (%)	1.012 (0.995-1.028)	0.1				
AT (%)	0.963 (0.941-1.014)	0.04	0.975 (0.926-1.022)	0.2	1009 (0.971-1034)	0.4
PC (%)	0.972 (0.935-0.992)	0.1				
FVIII/PC ratio	5.080 (2.073-12.450)	<0.001	2.944 (1.095-7.914)	0.003	2.256 (1014-6.349)	0.02
MELD score	1.123 (0.923-1.366)	0.01			1.103 (0.885-1.376)	0.3
*χωρίς συνεκτίμηση MELD score						
**με συνεκτίμηση MELD score						
Συντομογραφίες: MELD, model of end-stage liver disease; FII, factor II; FV, factor V; FVIII, factor VIII; AT, antithrombin; PC, protein C.						
Οι τιμές εκφράζονται ως μέση τιμή ± σταθερή απόκλιση						

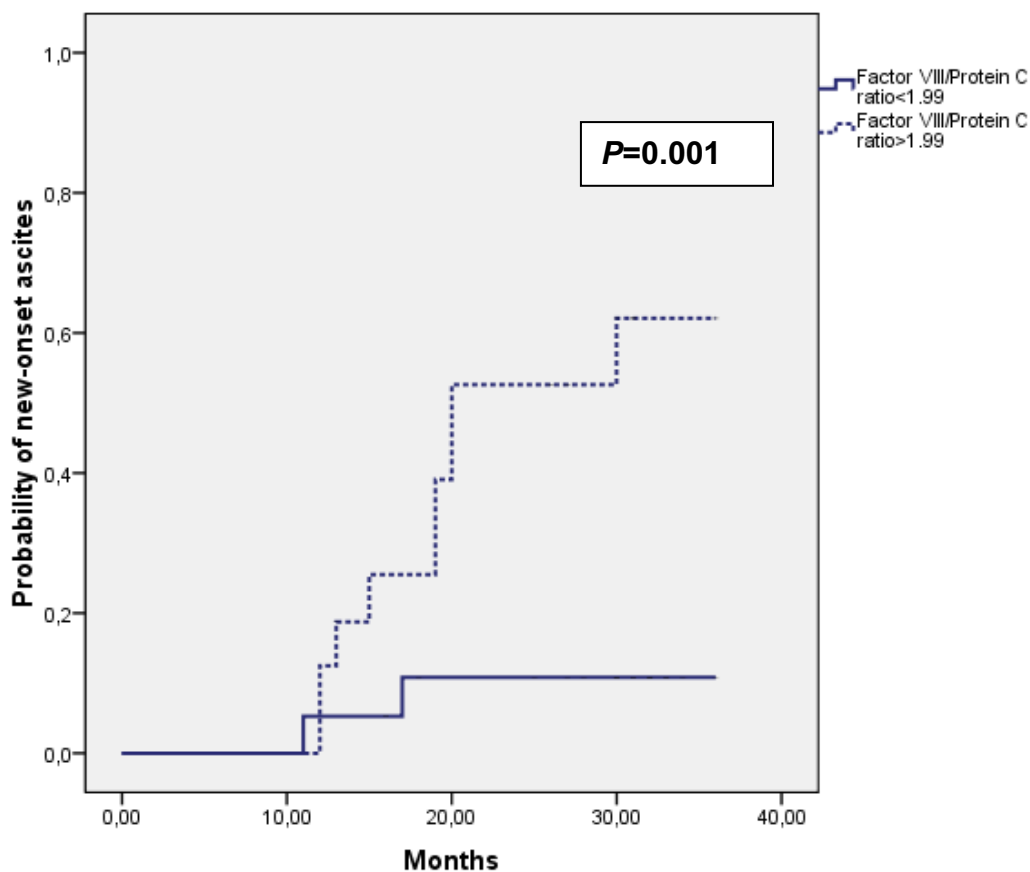
(**Σχήμα 2**) και λόγο παράγοντας VIII/πρωτεΐνη C >1.99 (ευαισθησία 80.1% και ειδικότητα 72.8% στην AUC ανάλυση) (**Σχήμα 3**).

Κιρσορραγία συνέβη στο 24% των ασθενών με κιρσούς που μελετήθηκαν στο Πρωτόκολλο Α. Αντίστοιχα, κιρσορραγία συνέβη στο 26.1% των ασθενών που είχαν κιρσούς κατά την ένταξη στο Πρωτόκολλο Β. Οι ασθενείς του Πρωτοκόλλου Α που παρουσίασαν επεισόδιο κιρσορραγίας

είχαν σημαντικά υψηλότερες τιμές TAT συμπλεγμάτων ($17.7 \pm 4.4 \text{ ng/mL}$ έναντι $11.3 \pm 3.1 \text{ ng/mL}$, $p=0.01$) και χαμηλότερες τιμές αντιθρομβίνης ($41.8 \pm 15\%$ έναντι $51.1 \pm 17.6\%$, $p=0.003$) και πρωτεΐνης C ($36.5 \pm 21.7\%$ έναντι $44 \pm 25.7\%$, $p=0.03$) κατά την ένταξη στην μελέτη συγκριτικά με αυτούς που δεν αιμορράγησαν. Το MELD score ήταν επίσης σημαντικά υψηλότερο στους



Σχήμα 2. Πιθανότητα νεοεμφανιζόμενου ασκίτη σε ασθενείς χωρίς ασκίτη κατά την ένταξη στο Πρωτόκολλο Β με βάση το όριο vWF 213%.



Σχήμα 3. Πιθανότητα νεοεμφανιζόμενου ασκίτη σε ασθενείς χωρίς ασκίτη κατά την ένταξη στο Πρωτόκολλο Β με βάση το όριο Factor VIII/Protein C 1.99.

ασθενείς που εμφάνισαν κίρσορραγία ($17\pm 4\%$ έναντι $13\pm 5\%$, $p=0.03$). Στο μοντέλο 1 της πολυπαραγοντικής Cox ανάλυσης, τα επίπεδα TAT συμπλεγμάτων και αντιθρομβίνης ήταν ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες για κίρσορραγία ($p=0.003$ και $p=0.03$, αντίστοιχα) ενώ στο μοντέλο 2, ο μόνος ανεξάρτητος παράγοντας ήταν τα επίπεδα TAT συμπλεγμάτων ($p=0.02$) (**Πίνακας 11**). Η καμπύλη Kaplan-Meier έδειξε σημαντικά αυξημένη πιθανότητα μη εμφάνισης κίρσορραγίας σε ασθενείς με

ΠΙΝΑΚΑΣ 11. Προγνωστικός ρόλος των αιμοστατικών παραγόντων για κίρσορραγία στην Cox ανάλυση (Πρωτόκολλο Α).

	Univariate analysis		Multivariate analysis*		Multivariate analysis**	
	HR (95% CI)	P	HR (95% CI)	P	HR (95% CI)	P
TAT (ng/mL)	1.128 (1.044-1.220)	0.002	1.129 (1.043- 1.221)	0.003	1.107 (1.015- 1.208)	0.02
DD (ng/mL)	1.006 (0.998-1.022)	0.07	1.255 (0.860- 1.714)	0.7	1.066 (0.906- 1.107)	0.9
AT (%)	0.970 (0.945-0.996)	0.02	0.968 (0.941- 0.997)	0.03	0.972 (0.943- 1.002)	0.06
PC (%)	0.977 (0.947-1.007)	0.1				
PS (%)	0.992 (0.96-1.024)	0.6				
INR	2.443 (0.488-12.240)	0.2				
APTT (sec)	1.044 (0.975-1.117)	0.2				
Fibrinogen (mg/dL)	0.996 (0.99-1.001)	0.1				
MELD score	1.214 (1.042-1.415)	0.01			1.081 (0.891- 1.312)	0.4

*χωρίς συνεκτίμηση MELD

**με συνεκτίμηση MELD

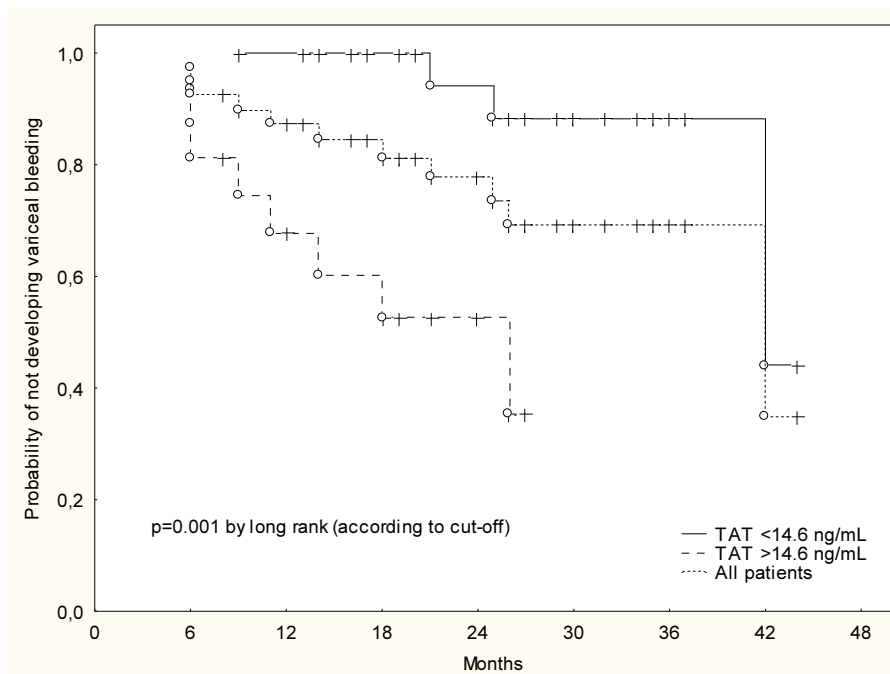
Συντομογραφίες: MELD, model of end-stage liver disease; TAT, thrombin-antithrombin complexes; DD, D-dimer; AT, antithrombin; PC, protein C; PS, protein S; INR, international normalized ratio; APTT, activated partial thromboplastin time.

Οι τιμές εκφράζονται ως μέση τιμή ± σταθερή απόκλιση

επίπεδα TAT υψηλότερα από το όριο των 14.6ng/mL (ευαισθησία 73%, ειδικότητα 72%) **(Σχήμα 4)**.

Οι ασθενείς του Πρωτοκόλλου Β που παρουσίασαν επεισόδιο κίρσορραγίας είχαν σημαντικά χαμηλότερες τιμές αντιθρομβίνης ($p=0.004$) και πρωτεΐνης C ($p=0.03$) και σημαντικά υψηλότερες τιμές vWF ($p<0.001$), VIII ($p=0.02$) και του λόγου παράγοντας VIII/ πρωτεΐνη C ($p<0.001$) (**Πίνακας 12**). Στο μοντέλο 1 της πολυπαραγοντικής Cox ανάλυσης, ο vWF ($p=0.008$) και ο λόγος παράγοντας VIII/πρωτεΐνη C ($p=0.001$) ήταν ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες για κίρσορραγία. Ο vWF ($p=0.01$) και ο λόγος παράγοντας VIII/πρωτεΐνη C ($p=0.03$) παρέμειναν ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες στο μοντέλο 2 της Cox ανάλυσης (**Πίνακας 13**). Η καμπύλη Kaplan-Mayer

Σχήμα 4. Πιθανότητα μη εμφάνισης κίρσορραγίας σε ασθενείς με γαστροοισοφαγικούς κίρσους κατά την ένταξη στο Πρωτόκολλο Α με βάση το όριο TAT 14.6ng/mL.



ΠΙΝΑΚΑΣ 12 .Τιμές αιμοστατικών παραγόντων και MELD score κατά την είσοδο στην μελέτη σε ασθενείς με γαστροοισοφαγικούς κίρσους που εμφάνισαν και αυτούς που δεν εμφάνισαν κίρσορραγία στην διάρκεια της μελέτης (Πρωτόκολλο Β).			
	Ασθενείς που δεν εμφάνισαν κίρσορραγία (n=38)	Ασθενείς που εμφάνισαν κίρσορραγία (n=12)	p
vWF (%)	360±122	548±100	<0.001
FII (%)	51.6±31.6	39.7±21	0.2
FV (%)	57.7±27.5	51±26.2	0.4
FVIII (%)	174±32.3	198±20	0.02
AT (%)	52.1±28.5	41.4±22.1	0.004
PC (%)	45.1±16.1	35.7±19.8	0.03
FVIII/PC ratio	3.84±0.88	5.46±1.44	<0.001
MELD score	13±5	17±5	0.05
<p>Συντομογραφίες: MELD, model of end-stage liver disease; FII, factor II; FV, factor V; FVIII, factor VIII; AT, antithrombin; PC, protein C.</p> <p>Οι τιμές εκφράζονται ως μέση τιμή ± σταθερή απόκλιση</p>			

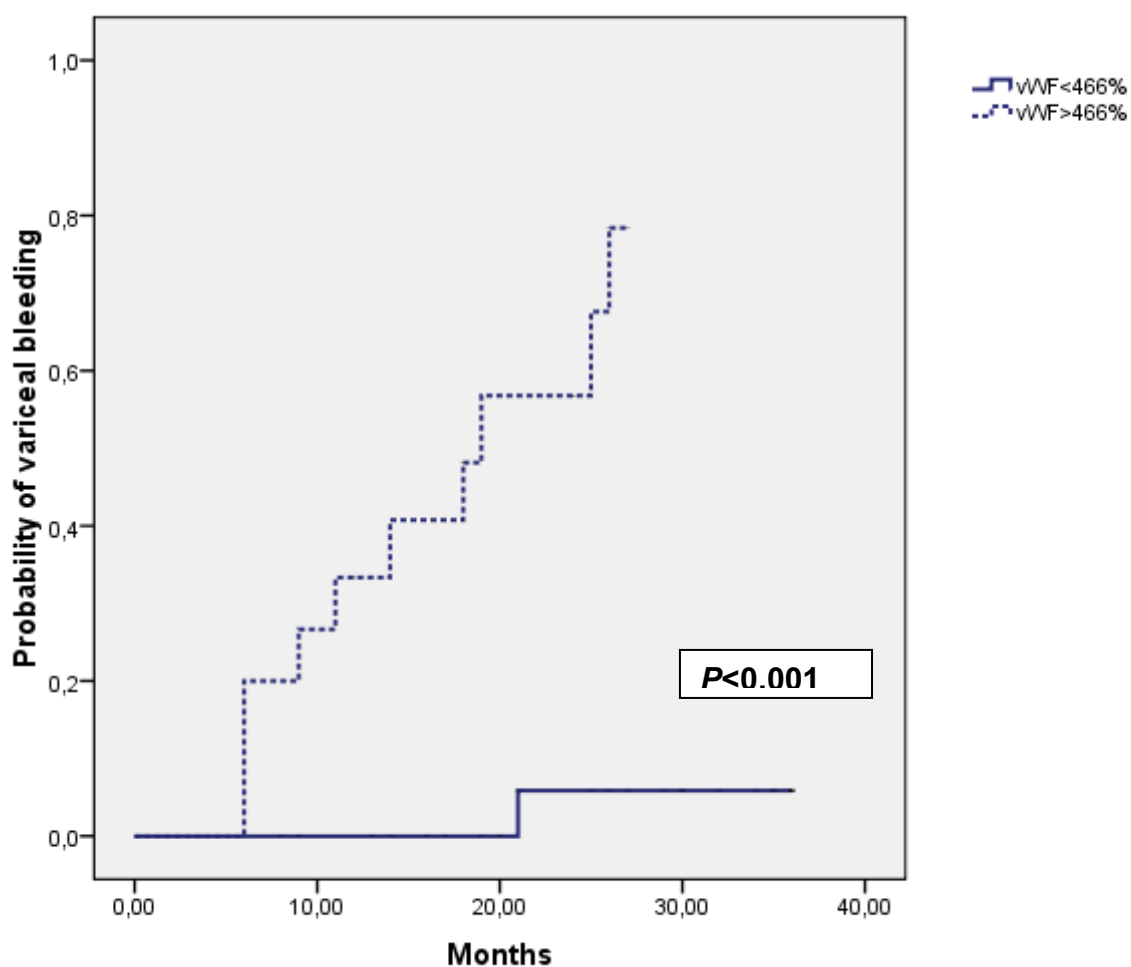
ΠΙΝΑΚΑΣ 13. Προγνωστικός ρόλος των αιμοστατικών παραγόντων και του MELD score για κίρσορραγία στην Cox ανάλυση (Πρωτόκολλο Β).						
Εκτιμώμενοι παράγοντες	Μονοπαραγοντική ανάλυση		Πολυπαραγοντική ανάλυση*		Πολυπαραγοντική ανάλυση**	
	HR (95% CI)	P	HR (95% CI)	P	HR (95% CI)	P
vWF (%)	1.011 (1.005-1.016)	<0.001	1.008 (1.002-1.014)	0.008	1.006 (1.001-1.010)	0.01
FII (%)	0.985 (0.961-1.010)	0.2				
FV (%)	0.994 (0.970-1.018)	0.6				
FVIII (%)	1.028 (1.007-1.050)	0.009	1.011 (0.982-1.041)	0.4	1.015 (0.988-1.043)	0.2
AT (%)	0.998 (0.975-1.021)	0.02	0.985 (0.963-1.015)	0.1	0.973 (0.955-1.006)	0.2
PC (%)	0.955 (0.921-0.989)	0.08				
FVIII/PC ratio	2.192 (1.470-3.269)	<0.001	1.575 (0.990-2.504)	0.001	1.281 (0.944-1.747)	0.03
MELD score	1.105 (0.969-1.260)	0.01			1.122 (0.912-1.380)	0.2
*χωρίς συνεκτίμηση MELD score						
**με συνεκτίμηση MELD score						
Συντομογραφίες: MELD, model of end-stage liver disease; FII, factor II; FV, factor V; FVIII, factor VIII; AT, antithrombin; PC, protein C.						
Οι τιμές εκφράζονται ως μέση τιμή ± σταθερή απόκλιση						

έδειξε σημαντικά αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης κίρσορραγίας σε ασθενείς με επίπεδα vWF>466% (ευαισθησία 83.5% και ειδικότητα 79.3% στην AUC ανάλυση) (**Σχήμα 5**) και του λόγου παράγοντας VIII/πρωτεΐνη C>3.29 (ευαισθησία 82.2% και ειδικότητα 75.6% στην AUC ανάλυση) (**Σχήμα 6**).

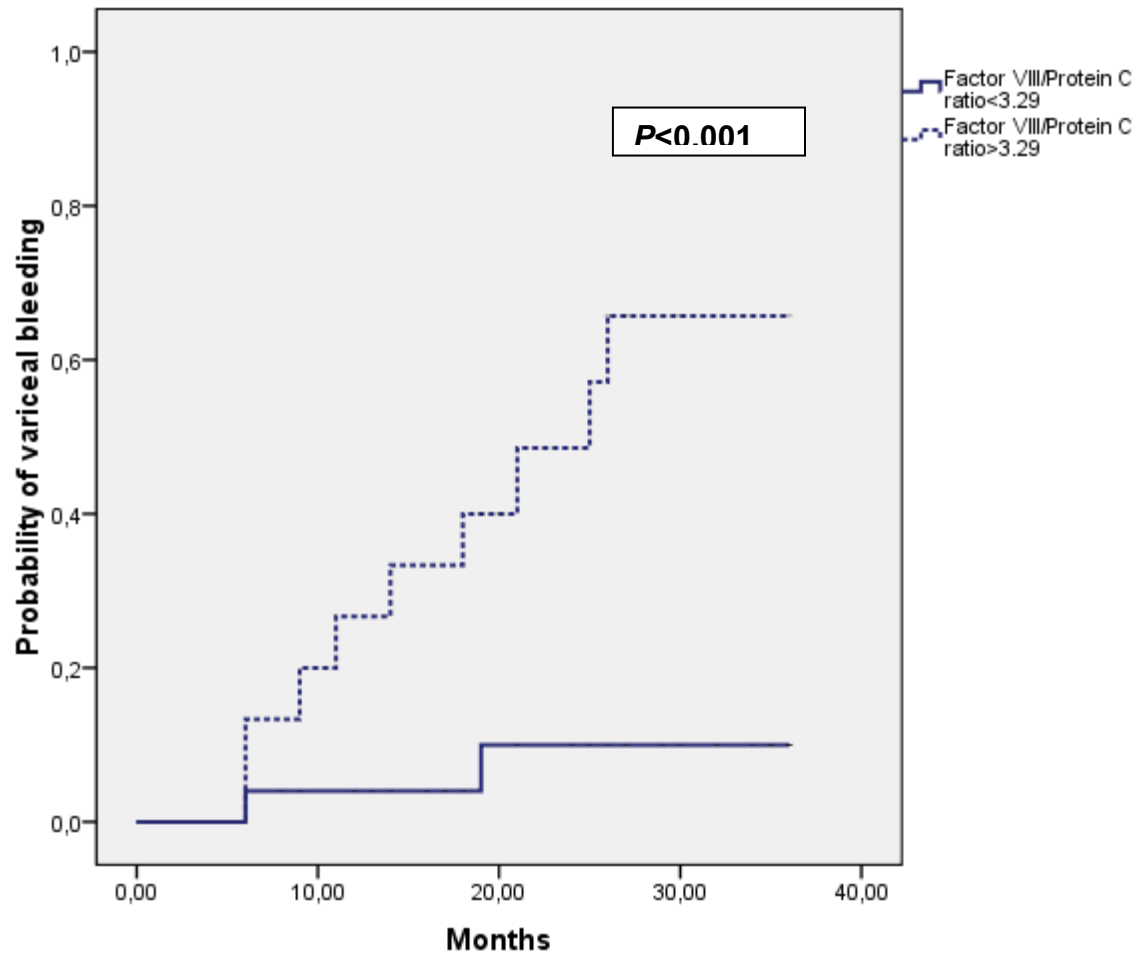
Παράγοντες αιμόστασης και ΘΠΦ στην διάρκεια της παρακολούθησης

ΘΠΦ συνέβη στο 13.9% των ασθενών του Πρωτοκόλλου Α στη διάρκεια της παρακολούθησης. Αντίστοιχα, ΘΠΦ παρατηρήθηκε στο 13.5% των ασθενών που συμπεριλήφθησαν στο Πρωτόκολλο Β.

Σχήμα 5. Πιθανότητα εμφάνισης κίρσοραγίας σε ασθενείς με γαστροοισοφαγικούς κίρσους κατά την ένταξη στο Πρωτόκολλο Β με βάση το όριο vWF 466%.



Σχήμα 6. Πιθανότητα εμφάνισης κίρσορραγίας σε ασθενείς με γαστροοισοφαγικούς κίρσους κατά την ένταξη στο Πρωτόκολλο Β με βάση το όριο Factor VIII/Protein C 3.29.



Σημαντικά υψηλότερες τιμές TAT συμπλεγμάτων ($18.15 \pm 5.24 \text{ ng/mL}$ έναντι $8.04 \pm 2.93 \text{ ng/mL}$, $p < 0.001$) και D-διμερών (188.4 ± 30.5 έναντι $101.2 \pm 27.3 \text{ ng/mL}$, $p = 0.006$) και χαμηλότερες τιμές αντιθρομβίνης ($52.6 \pm 14.6\%$ έναντι $69.3 \pm 19.9\%$, $p = 0.008$) παρατηρήθηκαν κατά την ένταξη στο Πρωτόκολλο Α στους ασθενείς που παρουσίασαν ΘΠΦ συγκριτικά με αυτούς που δεν εμφάνισαν. Το MELD score ήταν επίσης υψηλότερο στους ασθενείς που εμφάνισαν ΘΠΦ ($15 \pm 4\%$ έναντι $11 \pm 4\%$, $p = 0.006$). Στα μοντέλα 1 και 2 της Cox παλίνδρομης ανάλυσης, τα επίπεδα TAT ($p < 0.001$) και αντιθρομβίνης ($p = 0.03$ και $p = 0.04$, αντίστοιχα) ήταν ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες για την εμφάνιση ΘΠΦ (**Πίνακας 14**). Ασθενείς με επίπεδα TAT συμπλεγμάτων υψηλότερα από το όριο των 13.5 ng/mL (ευαισθησία 77%, ειδικότητα 82%), παρουσίασαν σημαντικά υψηλότερη πιθανότητα εμφάνισης ΘΠΦ στην Kaplan-Mayer ανάλυση (**Σχήμα 7**).

Οι ασθενείς του Πρωτοκόλλου Β που παρουσίασαν ΘΠΦ είχαν σημαντικά χαμηλότερες τιμές αντιθρομβίνης ($p = 0.009$) και σημαντικά υψηλότερες τιμές vWF ($p < 0.001$), παράγοντα VIII ($p = 0.003$), του λόγου παράγοντας VIII/πρωτεΐνη C ($p < 0.001$), και MELD score ($p = 0.004$) (**Πίνακας 15**). Στα μοντέλα 1 και 2 της πολυπαραγοντικής Cox ανάλυσης, ο vWF ($p = 0.001$ και $p = 0.003$, αντίστοιχα) και ο λόγος παράγοντας VIII/πρωτεΐνη C ($p = 0.004$ και $p = 0.03$, αντίστοιχα) ήταν ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες για ΘΠΦ (**Πίνακας 16**). Η καμπύλη Kaplan-Mayer ανέδειξε σημαντικά υψηλότερη πιθανότητα ΘΠΦ για τους ασθενείς με επίπεδα $\text{vWF} > 392\%$ (ευαισθησία 84.6% και ειδικότητα 76.9% στην AUC ανάλυση) (**Σχήμα 8**) και τιμές του λόγου παράγοντας VIII/πρωτεΐνη C > 2.92 (ευαισθησία 76.9% και ειδικότητα 75.8% στην AUC ανάλυση) (**Σχήμα 9**).

ΠΙΝΑΚΑΣ 14. Προγνωστικός ρόλος των αιμοστατικών παραγόντων για θρόμβωση της πυλαίας φλέβας στην Cox ανάλυση (Πρωτόκολλο A).

	Univariate analysis		Multivariate analysis*		Multivariate analysis**	
	HR (95% CI)	P	HR (95% CI)	P	HR (95% CI)	P
TAT (ng/mL)	1.236 (1.139-1.342)	<0.001	1.228 (1.127- 1.338)	<0.001	1.234 (1.112-1.368)	<0.001
DD (ng/mL)	0.978 (0.963-1.002)	0.003	0.856 (0.830- 1.439)	0.7	0.970 (0.935-1.016)	0.7
AT (%)	0.970 (0.949-0.991)	0.006	0.969 (0.942- 0.997)	0.03	0.968 (0.937-1000)	0.04
PC (%)	0.987 (0.969-1.005)	0.1				
PS (%)	0.982 (0.954-1.011)	0.2				
INR	1.651 (0.225-12.109)	0.6				
APTT (sec)	1.055 (0.984-1.132)	0.1				
Fibrinogen (mg/dL)	1.002 (0.997-1.006)	0.4				
MELD score	1.200 (1.076-1.338)	0.001			0.984 (0.811-1.195)	0.8

*χωρίς συνεκτίμηση MELD

**με συνεκτίμηση MELD

Συντομογραφίες: MELD, model of end-stage liver disease; TAT, thrombin-antithrombin complexes; DD, D-dimer; AT, antithrombin; PC, protein C; PS, protein S; INR, international normalized ratio; APTT, activated partial thromboplastin time.

Οι τιμές εκφράζονται ως μέση τιμή ± σταθερή απόκλιση

ΠΙΝΑΚΑΣ 15. Τιμές αιμοστατικών παραγόντων και MELD score κατά την είσοδο στην μελέτη σε ασθενείς που εμφάνισαν και αυτούς που δεν εμφάνισαν θρόμβωση της πυλαίας φλέβας στην διάρκεια της μελέτης (Πρωτόκολλο Β).

	Ασθενείς που δεν εμφάνισαν ΘΠΦ (n=80)	Ασθενείς που εμφάνισαν ΘΠΦ (n=13)	p
vWF (%)	294±133	494±122	<0.001
FII (%)	58.2±35.5	42.2±15.3	0.1
FV (%)	65.1±30.1	54.6±22.4	0.2
FVIII (%)	156±36.1	189±23.9	0.003
AT (%)	70.8±22.7	51.3±15.8	0.009
PC (%)	54.3±24.9	43.2±18	0.08
FVIII/PC ratio	2.83±0.95	4.41±1.22	<0.001
MELD score	15±4	11±5	0.007

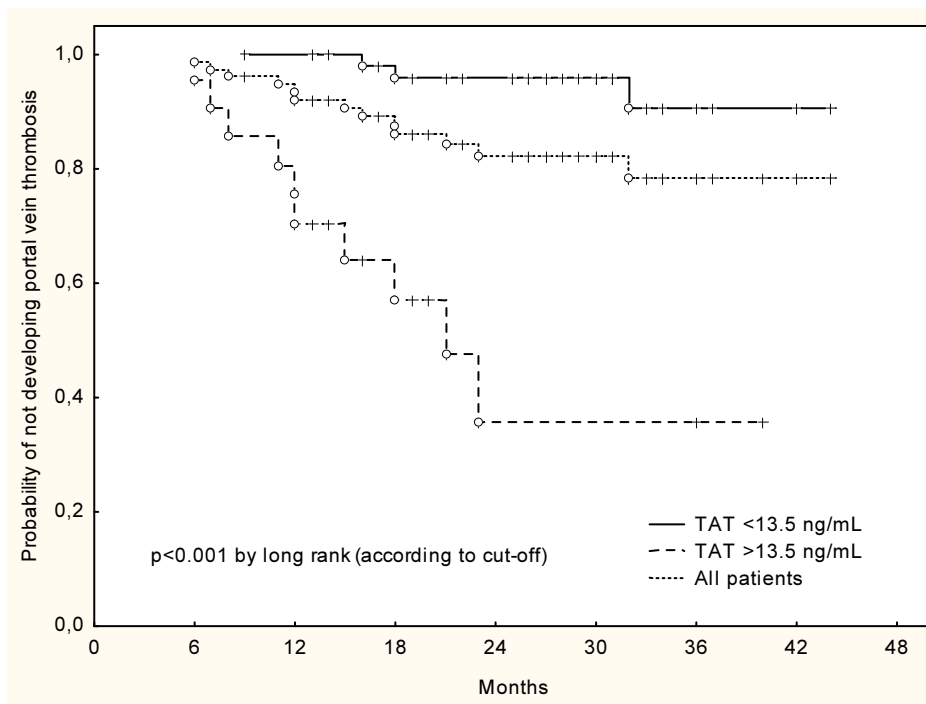
Συντομογραφίες: MELD, model of end-stage liver disease; FII, factor II; FV, factor V; FVIII, factor VIII; AT, antithrombin; PC, protein C.

Οι τιμές εκφράζονται ως μέση τιμή ± σταθερή απόκλιση

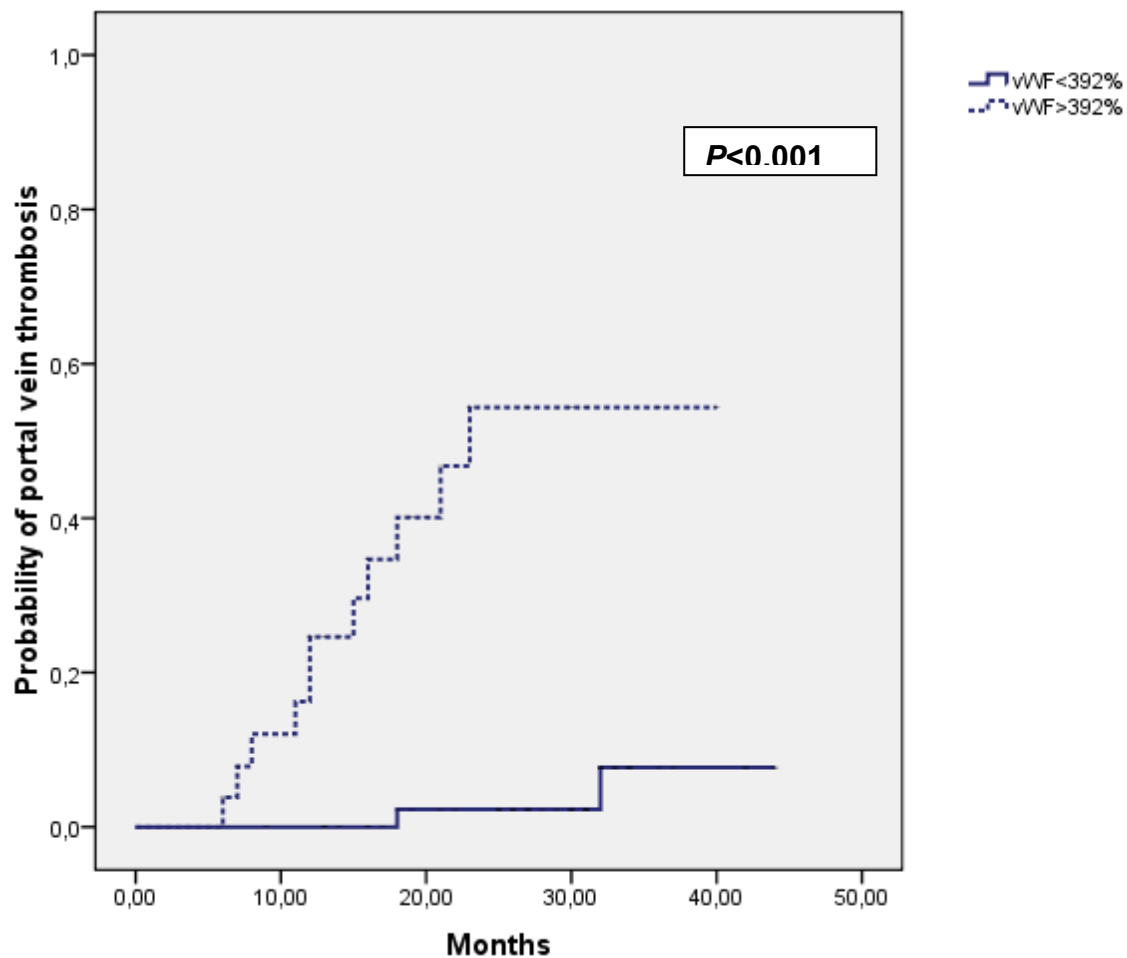
ΠΙΝΑΚΑΣ 16. Προγνωστικός ρόλος των αιμοστατικών παραγόντων και του MELD score για θρόμβωση της πυλαίας φλέβας στην Cox ανάλυση (Πρωτόκολλο Β).						
Εκτιμώμενο I παραγόντες	Μονοπαραγοντική ανάλυση		Πολυπαραγοντική ανάλυση*		Πολυπαραγοντική ανάλυση**	
	HR (95% CI)	P	HR (95% CI)	P	HR (95% CI)	P
vWF (%)	1.008 (1.005-1.012)	<0.001	1.007 (1.003- 1.011)	0.001	1.006 (1.002- 1.010)	0.003
FII (%)	0.983 (0.962-1004)	0.1				
FV (%)	0.984 (0.961-1007)	0.1				
FVIII (%)	1027 (1010-1043)	0.002	1012 (0.992- 1042)	0.1	1017 (0.982- 1.051)	0.1
AT (%)	0.971 (0.950-0.992)	0.008	0.986 (0.950- 1.024)	0.1	0.990 (0.953- 1.029)	0.3
PC (%)	0.988 (0.970-1006)	0.09				
FVIII/PC ratio	2.128 (1.518-2.982)	<0.001	1.821 (1.213- 1.734)	0.004	1.601 (0.943- 2.717)	0.03
MELD score	1.238 (1107-1385)	0.001			1.078 (0.927- 1.253)	0.3

*χωρίς συνεκτίμηση MELD score
**με συνεκτίμηση MELD score
Συντομογραφίες: MELD, model of end-stage liver disease; FII, factor II; FV, factor V; FVIII, factor VIII;
AT, antithrombin; PC, protein C.
Οι τιμές εκφράζονται ως μέση τιμή ± σταθερή απόκλιση

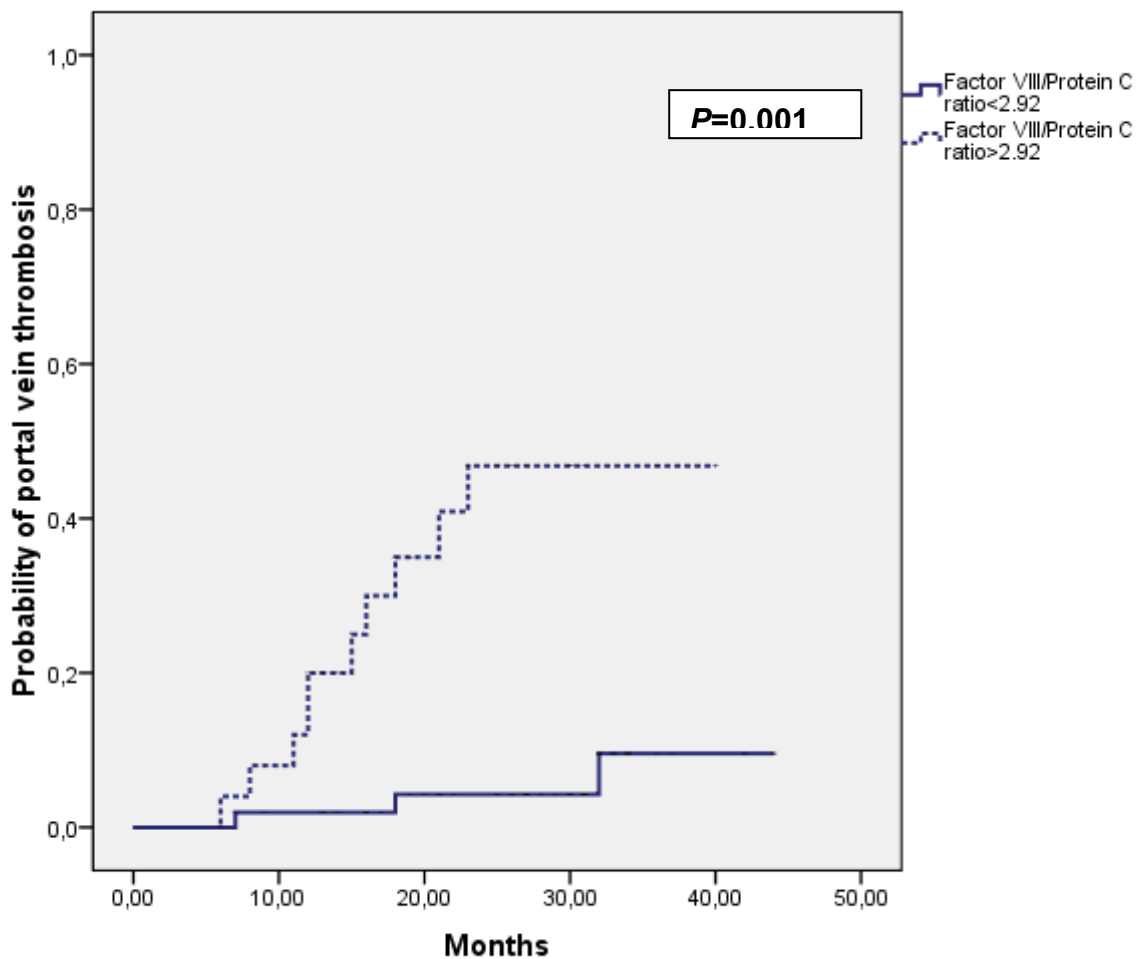
Σχήμα 7. Πιθανότητα μη εμφάνισης θρόμβωσης της πυλαίας φλέβας σε ασθενείς με γαστροοισοφαγικούς κισσούς κατά την ένταξη στο Πρωτόκολλο Α με βάση το όριο TAT 13.5ng/mL



Σχήμα 8. Πιθανότητα εμφάνισης θρόμβωσης της πυλαίας φλέβας σε ασθενείς με γαστροοισοφαγικούς κίρσους κατά την ένταξη στο Πρωτόκολλο Β με βάση το όριο vWF 392%



Σχήμα 9. Πιθανότητα εμφάνισης θρόμβωσης της πυλαίας φλέβας σε ασθενείς με γαστροοισοφαγικούς κισσούς κατά την ένταξη στο Πρωτόκολλο Β με βάση το όριο Factor VIII/Protein C 2.92



Παράγοντες αιμόστασης και επιβίωση

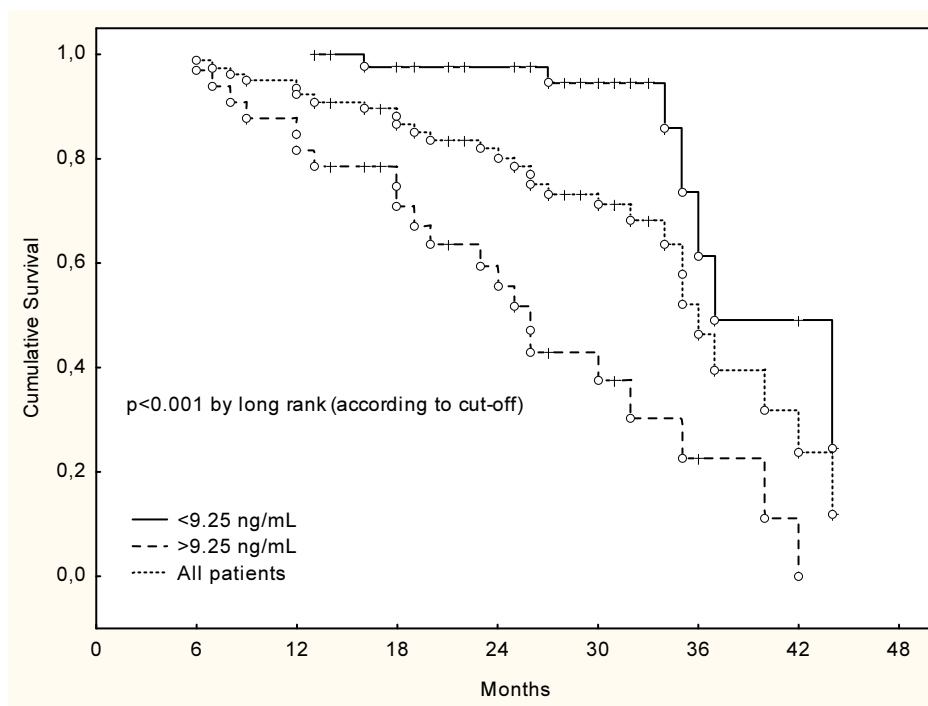
Συνολικά 32 (34.4%) ασθενείς του Πρωτοκόλλου A απεβίωσαν στην διάρκεια της παρακολούθησης. Οι αιτίες θανάτου στο σύνολο των 93 ασθενών ήταν σηψαιμία (9 ασθενείς), ηπατική ανεπάρκεια (13 ασθενείς), κίρσοραγία (2 ασθενείς), ηπατονεφρικό σύνδρομο (4 ασθενείς), και ηπατοκυτταρικός καρκίνος (4 ασθενείς). Αντίστοιχα, το 34.5% των ασθενών που συμπεριελήφθησαν στο Πρωτόκολλο B απεβίωσαν. Οι αιτίες θανάτου ήταν σηψαιμία (7 ασθενείς), ηπατική ανεπάρκεια (11 ασθενείς), κίρσοραγία (2 ασθενείς), ηπατονεφρικό σύνδρομο (4 ασθενείς), και ηπατοκυτταρικός καρκίνος (4 ασθενείς).

Συγκριτικά με τους ασθενείς του Πρωτοκόλλου A που ήταν εν ζωή στο τέλος της παρακολούθησης, εκείνοι που απεβίωσαν είχαν σημαντικά υψηλότερες τιμές επιπέδων TAT συμπλεγμάτων (14.7 ± 5.65 έναντι 6.93 ± 3.2 ng/mL, $p < 0.001$), D-διμερών (178 ± 31.8 έναντι 95 ± 17.3 ng/mL, $p < 0.001$), INR (1.33 ± 0.37 έναντι 1.22 ± 0.19 , $p = 0.003$), APTT (36.2 ± 8 έναντι 32.5 ± 5.1 , $p = 0.01$), και σημαντικά χαμηλότερες τιμές αντιθρομβίνης ($55.6 \pm 28\%$ έναντι $71.6 \pm 23.7\%$, $p = 0.009$) και πρωτεΐνης C ($51.9 \pm 20.6\%$ έναντι $63 \pm 31.4\%$, $p = 0.01$) κατά την είσοδο στην μελέτη. Επιπρόσθετα, οι ασθενείς που απεβίωσαν είχαν σημαντικά υψηλότερο MELD score (15 ± 5 έναντι 9 ± 3 , $p < 0.001$). Τα επίπεδα TAT ($p < 0.001$) στο μοντέλο 1 της Cox ανάλυσης και τα επίπεδα TAT ($p < 0.001$) σε συνδυασμό με το MELD score ($p = 0.004$) ήταν ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες για την επιβίωση (**Πίνακας 17**). Η καμπύλη Kaplan-Mayer ανέδειξε σημαντικά υψηλότερη θνητότητα για τους ασθενείς με επίπεδα TAT υψηλότερα από το όριο των 9.25ng/mL (ευαισθησία 76% και ειδικότητα 75% στην AUC ανάλυση) (**Σχήμα 10**).

ΠΙΝΑΚΑΣ 17. Προγνωστικός ρόλος των αιμοστατικών παραγόντων και του MELD score για επιβίωση στην Cox ανάλυση (Πρωτόκολλο Α).						
	Univariate	Multivariate*			Multivariate**	
	HR (95% CI)	P	HR (95% CI)	P	HR (95% CI)	P
TAT (ng/mL)	1.169 (1.110-1.232)	<0.001	1.215 (1.107-1.334)	<0.001	1.182 (1.079-1.295)	<0.001
DD (ng/mL)	1.487 (1.350-1950)	<0.001	1.526 (1.042-1.723)	0.1	1.309 (0.995-1.533)	0.5
AT (%)	0.981 (0.967-0.995)	0.006	0.996 (0.975-1.017)	0.2	1.002 (0.982-1.022)	0.8
PC (%)	0.985 (0.973-0.998)	0.02	0.998 (0.984-1.012)	0.4	1.003 (0.988-1.019)	0.6
PS (%)	0.979 (0.960-0.998)	0.1				
INR	3.021 (0.505-12661)	0.01	3.204 (0.408-8.754)	0.5		
APTT (sec)	1.074 (1.021-1129)	0.05	0.894 (0.797-1.003)	0.7	0.917 (0.830-1.014)	0.09
Fibrinogen (mg/dL)	0.998 (0.995-1.001)	0.1				
MELD score	1.303 (1.191-1427)	<0.001			1.260 (1.077-1.473)	0.004

*χωρίς συνεκτίμηση MELD score
 **με συνεκτίμηση MELD score
 Συντομογραφίες: MELD, model of end-stage liver disease; TAT, thrombin-antithrombin complexes; DD, D-dimer; AT, antithrombin; PC, protein C; PS, protein S; INR, international normalized ratio; APTT, activated partial thromboplastin time.
 Οι τιμές εκφράζονται ως μέση τιμή ± σταθερή απόκλιση

Σχήμα 10. Πιθανότητα επιβίωσης σε ασθενείς που εντάχθηκαν στο Πρωτόκολλο Α με βάση το όριο TAT 9.25ng/mL



Συγκριτικά με τους ασθενείς του Πρωτοκόλλου Α που ήταν εν ζωή στο τέλος της παρακολούθησης, εκείνοι που απεβίωσαν είχαν σημαντικά χαμηλότερες τιμές παραγόντων II ($p=0.02$), V ($p=0.03$), αντιθρομβίνης ($p=0.009$) και πρωτεΐνης C ($p=0.009$), και σημαντικά υψηλότερες τιμές του vWF ($p<0.001$), του παράγοντα VIII ($p=0.006$), του λόγου παράγοντας VIII/πρωτεΐνη C ($p<0.001$) και του MELD score ($p<0.001$) (**Πίνακας 18**). Ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες για την επιβίωση ήταν τα επίπεδα vWF ($p=0.007$) και η τιμή του λόγου παράγοντας VIII/πρωτεΐνη C ($p=0.001$) στο μοντέλο 1 και τα επίπεδα vWF ($p=0.002$), η τιμή του λόγου παράγοντας VIII/πρωτεΐνη C ($p=0.01$) και το MELD ($p=0.02$) στο μοντέλο 2 της Cox παλίνδρομης ανάλυσης (**Πίνακας 19**). Η καμπύλη Kaplan-Meier ανέδειξε σημαντικά υψηλότερη θνητότητα για τους ασθενείς με επίπεδα vWF>321% (ευαισθησία 75% και

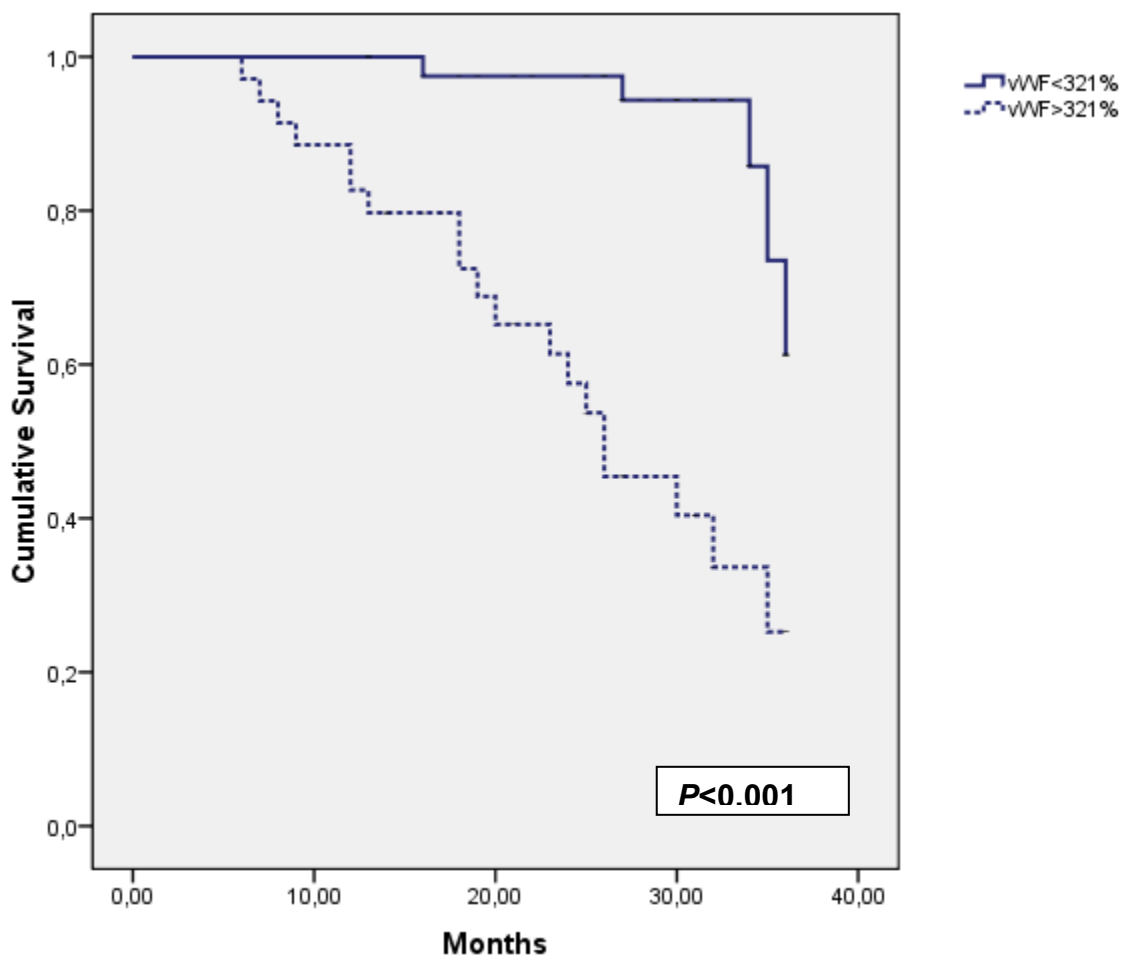
ειδικότητα 76% στην AUC ανάλυση) (**Σχήμα 11**) και τιμές του λόγου παράγοντας VIII/πρωτεΐνη C >2.36 (ευαισθησία 72.9% και ειδικότητα 71.1% στην AUC ανάλυση) (**Σχήμα 12**).

ΠΙΝΑΚΑΣ 18. Τιμές αιμοστατικών παραγόντων και MELD score κατά την είσοδο στην μελέτη σε ασθενείς που επιβίωσαν και ασθενείς που δεν επιβίωσαν στο τέλος της παρακολούθησης (Πρωτόκολλο Α).			
	Ασθενείς που επιβίωσαν	Ασθενείς που δεν επιβίωσαν	p
vWF (%)	273±125	424±144	<0.001
FII (%)	62.1±37	43.8±22	0.02
FV (%)	68.4±31.2	54.2±22.6	0.03
FVIII (%)	153±34.5	177±35.4	0.006
AT (%)	70.4±21.8	56.2±26.4	0.009
PC (%)	63.9±29.5	51.3 22.3	0.009
FVIII/PC ratio	2.06±0.9	3.5±1.5	<0.001
MELD score	16±5	10±3	<0.001
Συντομογραφίες: MELD, model of end-stage liver disease; FII, factor II; FV, factor V; FVIII, factor VIII; AT, antithrombin; PC, protein C. Οι τιμές εκφράζονται ως μέση τιμή ± σταθερή απόκλιση			

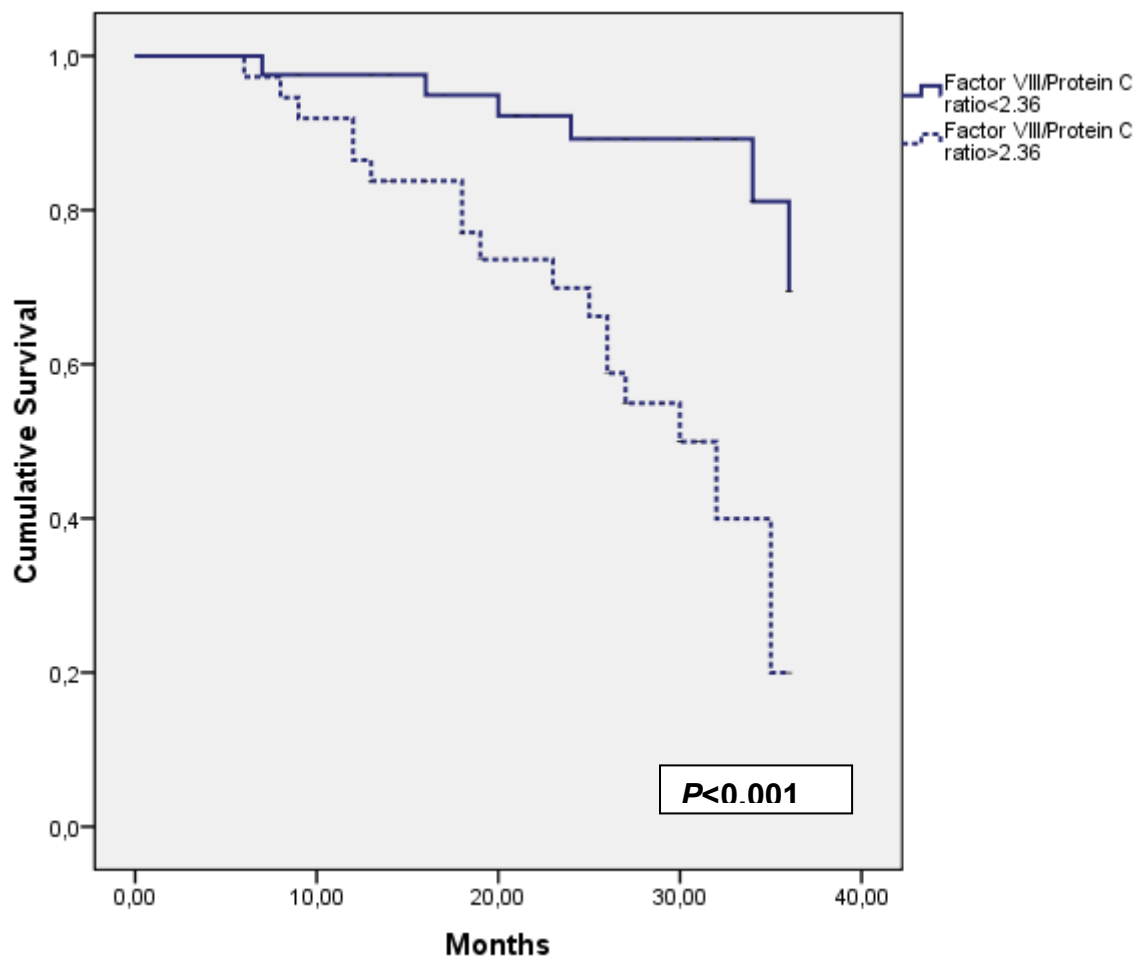
ΠΙΝΑΚΑΣ 19. Προγνωστικός ρόλος των αιμοστατικών παραγόντων και του MELD score για επιβίωση στην Cox ανάλυση (Πρωτόκολλο Β).						
Εκτιμώμενοι παράγοντες	Μονοπαραγοντική ανάλυση		Πολυπαραγοντική ανάλυση*		Πολυπαραγοντική ανάλυση**	
	HR (95% CI)	P	HR (95% CI)	P	HR (95% CI)	P
vWF (%)	1.007 (1.004-1.010)	<0.00 1	1.055 (1.001-1.008)	0.00 7	1.006 (1.002-1.010)	0.00 2
FII (%)	0.985 (0.971-1.000)	0.04	1.015 (0.994-1.036)	0.1	1.009 (0.980-1.038)	0.5
FV (%)	0.980 (0.962-0.997)	0.02	0.977 (0.950-1.005)	0.1	1.004 (0.973-1.036)	0.8
FVIII (%)	1.026 (1.014-1.039)	<0.00 1	1.023 (1.004-1.041)	0.07	1.018 (0.999-1.037)	0.09
AT (%)	0.975 (0.962-1.002)	0.005	0.988 (0.968-1.024)	0.4	0.990 (0.966-1.031)	0.6
PC (%)	0.978 (0.963-0.992)	0.03	0.994 (0.981-1.006)	0.1	1.013 (0.996-1.031)	0.3
FVIII/PC ratio	1.677 (1.343-2.095)	<0.00 1	1.720 (1.387-2.593)	0.00 1	1.702 (1.405-2.412)	0.01
MELD score	1.295 (1.187-1.432)	<0.00 1			1.361 (1.174-1.579)	0.02

*χωρίς συνεκτίμηση MELD
**με συνεκτίμηση MELD
Συντομογραφίες: MELD, model of end-stage liver disease; FII, factor II; FV, factor V; FVIII, factor VIII; AT, antithrombin; PC, protein C.
Οι τιμές εκφράζονται ως μέση τιμή ± σταθερή απόκλιση

Σχήμα 11. Πιθανότητα επιβίωσης σε ασθενείς που εντάχθηκαν στο Πρωτόκολλο Β με βάση το όριο vWF 321%.



Σχήμα 12. Πιθανότητα επιβίωσης σε ασθενείς που εντάχθηκαν στο Πρωτόκολλο Β με βάση το όριο Factor VIII/Protein C 2.36.



4. Συζήτηση

Οι κλινικές εκδηλώσεις των αιμοστατικών διαταραχών της κίρρωσης έχουν παραδοσιακά σχετιστεί με αιμορραγία λόγω των πολλαπλών προπηκτικών διαταραχών, της σημαντικής ινωδόλυσης και της θρομβοπενίας [34,35]. Τα πρόσφατα έτη, ωστόσο, υπάρχει αυξανόμενη αναγνώριση ότι η υπερπηκτικότητα, σχετιζόμενη με την μειωμένη παραγωγή των φυσικών αντιπηκτικών παραγόντων ή τα αυξημένα επίπεδα του vWF, μπορεί να παίζει ένα σημαντικό πλην υποτιμημένο ρόλο σε πολλές κλινικές εκδηλώσεις της κίρρωσης [1,99].

Οι δοκιμασίες πήκτικότητας ρουτίνας, όπως ο χρόνος προθρομβίνης και ο χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης, δεν μπορούν να εκτιμήσουν την τάση θρόμβωσης στην κίρρωση [1,34,35]. Αντιθέτως, υπάρχουν πολλές ενδείξεις ότι η εκτίμηση της παραγωγής θρομβίνης θα μπορούσε να αξιολογήσει την συνολική πήκτολογική κατάσταση και να ανιχνεύσει την ύπαρξη υπερπηκτικότητας σε ασθενείς με κίρρωση [26,28,36,37,41]. Η δραστηριότητα της θρομβίνης είναι απαραίτητη για την επιτάχυνση της διαδικασίας πήξεως. Η θρομβίνη απενεργοποιείται από διάφορους αναστολείς με την αντιθρομβίνη να είναι ο πιο σημαντικός. Η τελευταία σχηματίζει ισομοριακά συμπλέγματα με την θρομβίνη [100]. Η μέθοδος μέτρησης των συμπλεγμάτων TAT [100] έχει χρησιμοποιηθεί στην βιβλιογραφία ως δείκτης παραγωγής θρομβίνης σε ασθενείς με κίρρωση [101-104]. Μία σημαντική αύξηση της παραγωγής θρομβίνης σε συνδυασμό με μείωση της αντιπηκτικής δραστηριότητας παρατηρήθηκε σε ασθενείς με κίρρωση συγκριτικά με τα υγιή άτομα. Επιπρόσθετα, η αύξηση των συμπλεγμάτων TAT και η μείωση της αντιθρομβίνης ήταν οι μόνοι παράγοντες που συνδέθηκαν ανεξάρτητα με την

διαταραχή της ηπατικής λειτουργίας στους ασθενείς του Πρωτοκόλου Α της αιμοστατικής μελέτης. Τα ευρήματά μας είναι παρόμοια με αυτά που αναφέρθηκαν από άλλους ερευνητές **[37,41,101-104]**.

Ο vWF είναι μία πολυμερής γλυκοπρωτεΐνη η οποία παράγεται κυρίως στα ενδοθηλιακά κύτταρα **[105]** και παίζει σημαντικό ρόλο στην προσκόλληση και την συνάθροιση των αιμοπεταλίων **[20]**. Αύξηση των επιπέδων του vWF έχουν αναφερθεί σε ασθενείς με κίρρωση παράλληλα με την αύξηση της βαρύτητας της ηπατικής νόσου **[43-48]**. Ο λόγος παράγοντας VIII/πρωτεΐνη C έχει επίσης παρατηρηθεί να αυξάνει σημαντικά με την αύξηση της βαρύτητας της ηπατικής νόσου λόγω της μειωμένης παραγωγής της αντιθρομβίνης σε συνδυασμό με την αύξηση του παράγοντα VIII και έχει θεωρηθεί ως δείκτης υπερπηκτικότητας **[106]**. Σε αντίθεση με τους άλλους παράγοντες πήξης, ο παράγοντας VIII αυξάνεται παράλληλα με την αύξηση της βαρύτητας της κίρρωσης **[41,105]**. Ο παράγοντας VIII παράγεται στο ήπαρ **[105]** αλλά και σε άλλα όργανα **[107]**. Η αύξηση των επιπέδων του έχει κυρίως σχετιστεί με την αύξηση του vWF, την μείωση του υποδοχέα για τις χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες, και την αυξημένη ενδοθηλιακή σύνθεση ως συνέπεια της υψηλής διατμητικής τάσης λόγω της πυλαίας υπέρτασης **[105]**. Τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης του Πρωτοκόλλου Β επιβεβαιώνουν τις ανωτέρω παρατηρήσεις σχετικά με τον vWF και τον λόγο παράγοντας VIII/πρωτεΐνη C όσον αφορά την βαρύτητα της κίρρωσης. Συνολικά, τα αποτελέσματα και των δύο Πρωτοκόλλων ενισχύουν την ύπαρξη υπερπηκτικής κατάστασης σε ασθενείς με κίρρωση. Είναι αξιοσημείωτο ότι η τάση υπερπηκτικότητας αφορά μόνο ασθενείς με κίρρωση και όχι ασθενείς με

χρόνια ιογενή ηπατίτιδα χωρίς κίρρωση, οι οποίοι, όσον αφορά τον πηκτικό μηχανισμό, προσομοιάζουν τα υγιή άτομα.

Τα επίπεδα των TAT συμπλεγμάτων, του vWF και του λόγου παράγοντας VIII/πρωτεΐνη C σχετίστηκαν ισχυρά με την παρουσία επιπλοκών της πυλαίας υπέρτασης, όπως ασκίτης και γαστροοισοφαγικοί κίρσοι, κατά την ένταξη στην μελέτη, όπως επίσης έδειξαν ανεξάρτητη προγνωστική αξία για την ανάπτυξη ασκίτη για την εμφάνιση κίρσορραγίας στην διάρκεια της παρακολούθησης. Επιπρόσθετα, στο **Πρωτόκολλο Α** παράλληλα με τα επίπεδα συμπλεγμάτων TAT, η μείωση των επιπέδων αντιθρομβίνης ήταν επίσης ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας κίρσορραγίας. Άλλοι ερευνητές έδειξαν επίσης ότι οι ασθενείς με κίρρωση και ασκίτη **[108]** ή κίρσορραγία **[101,109]** παρουσιάζουν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα συμπλεγμάτων TAT και D-διμερών από ότι εκείνοι χωρίς αυτές τις επιπλοκές, υποθέτοντας ότι η ενεργοποίηση της αιμόστασης θα μπορούσε να συμμετέχει στην παθογένεσή τους. Τα ευρήματά μας υποστηρίζουν προηγούμενες μελέτες που ανέφεραν επίσης σημαντική συσχέτιση των αυξημένων επιπέδων vWF με την παρουσία κίρσων και τον βαθμό τους **[44,48]** καθώς και την ρήξη αντιρρόπησης. Είναι ενδιαφέρον ότι δύο πληθυσμοί ασθενών με εντελώς διαφορετική πιθανότητα ανάπτυξης νέου ασκίτη και κίρσορραγίας προσδιορίστηκαν με βάση συγκεκριμένα όρια επιπέδων των TAT συμπλεγμάτων (5.35ng/mL και 14.6ng/mL, αντίστοιχα), του vWF (213% και 466%, αντίστοιχα) και του λόγου παράγοντας VIII/πρωτεΐνη C (1.99 και 3.29, αντίστοιχα). Οι παρατηρήσεις μας συμβαδίζουν με πρόσφατη μελέτη η οποία έδειξε ότι η χορήγηση αντιπηκτικής θεραπείας μειώνει σημαντικά την ρήξη αντιρρόπησης σε ασθενείς με κίρρωση **[98]**.

Οι ασθενείς με κίρρωση είναι πιθανό να εμφανίσουν ΘΠΦ, η οποία με την σειρά της μπορεί να επιδεινώσει την κλινική πορεία. Η αναφερόμενη επίπτωση της ΘΠΦ είναι περίπου 11% σε προχωρημένα στάδια κίρρωσης [110], ένα ποσοστό που πλησιάζει αυτό που διαπιστώθηκε στην παρούσα μελέτη. Μία σχετική υπερπηκτικότητα στην πυλαία φλέβα, όπως φάνηκε από την αυξημένη παραγωγή θρομβίνης σε δείγματα αίματος από την πυλαία φλέβα [111], φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεση της ΘΠΦ στην κίρρωση. Σε συμφωνία με τις παραπάνω παρατηρήσεις, τα συμπλέγματα TAT και η αντιθρομβίνη ήταν ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες για ΘΠΦ στους ασθενείς του Πρωτοκόλλου A της παρούσας αιμοστατικής μελέτης. Επιπρόσθετα, όπως διαπιστώθηκε στο Πρωτόκολλο B για πρώτη φορά στην βιβλιογραφία, ο vWF και ο λόγος παράγοντας VIII/πρωτεΐνη C έδειξαν ανεξάρτητη συσχέτιση με την εμφάνιση ΘΠΦ στην διάρκεια της αιμοστατικής μελέτης. Είναι αξιοσημείωτο ότι συγκεκριμένα όρια συμπλεγμάτων TAT (13.5ng/mL), επιπέδων vWF (392%) και του λόγου παράγοντας VIII/πρωτεΐνη C (2.92) καθόρισαν δύο ομάδες ασθενών με εντελώς διαφορετική πιθανότητα ΘΠΦ. Τα αποτελέσματά μας συμφωνούν με αυτά της μελέτης των Villa et al που έδειξε σημαντική μείωση της εμφάνισης ΘΠΦ σε ασθενείς με προχωρημένη κίρρωση μετά την χορήγηση ηπαρίνης χαμηλού μοριακού βάρους [98].

Η παραγωγή θρομβίνης ήταν επίσης ο πιο σημαντικός προγνωστικός παράγοντας αρνητικής έκβασης στους ασθενείς με κίρρωση που μελετήθηκαν στο Πρωτόκολλο A ενώ ο vWF ο λόγος παράγοντας VIII/πρωτεΐνη C σχετίστηκαν ανεξάρτητα με την επιβίωση στους ασθενείς του Πρωτοκόλλου B. Επίπεδα TAT συμπλεγμάτων >9.25ng/mL καθόρισαν μία ομάδα ασθενών με

σημαντικά αυξημένη θνητότητα. Είναι σημαντικό, όπως φάνηκε από τα αποτελέσματα του Πρωτοκόλλου Β, ότι ο vWF και ο λόγος παράγοντας VIII/πρωτεΐνη C είναι επίσης ανεξάρτητοι παράγοντες θνητότητας σε ασθενείς με κίρρωση. Όσον αφορά τον vWF, τα αποτελέσματα της παρούσας αιμοστατικής μελέτης επιβεβαιώνουν προηγούμενες παρατηρήσεις [43,44] ενώ για την συσχέτιση του λόγου παράγοντας VIII/πρωτεΐνη C με την θνητότητα σε κίρρωτικούς ασθενείς δεν υπάρχει άλλη αναφορά στην βιβλιογραφία. Τα αποτελέσματά μας είναι σύμφωνα με πρόσφατα ευρήματα τα οποία έδειξαν υψηλότερους δείκτες επιβίωσης σε κίρρωτικούς ασθενείς που έλαβαν αντιπηκτική θεραπεία [98].

Συνολικά, τα ευρήματα της παρούσας αιμοστατικής μελέτης υποστηρίζουν τρέχουσες απόψεις ότι η υπερπηκτικότητα είναι μείζονα αιμοστατική διαταραχή σε κίρρωτικούς ασθενείς, δείχνοντας μία σημαντική συσχέτιση της υπερπηκτικότητας με την κλινική έκβασή τους. Πραγματικά, ένας μεγάλος όγκος δεδομένων δείχνει ότι η ενεργοποίηση των αστεροειδών κυττάρων από την θρομβίνη καθώς και η αυξημένη δραστηριότητα του πήκτικού μηχανισμού, όπως διαπιστώθηκε στην παρούσα αιμοστατική μελέτη, μπορεί να προάγει την ηπατική ινογένεση [1,69], η οποία με την σειρά της θα μπορούσε να επηρεάσει το βαθμό της πυλαίας υπέρτασης και την σοβαρότητα των σχετιζόμενων με αυτή επιπλοκές. Επιπρόσθετα, όπως έδειξαν οι Wanless et al, η ενεργοποίηση του μηχανισμού πήξης ενδοηπατικά μπορεί να συμβαίνει ως απάντηση στην ινωτική διαδικασία με δημιουργία ενδοηπατικών μικροθρομβώσεων, οι οποίες με την σειρά τους επιταχύνουν την ινογένεση προκαλώντας τοπική ισχαιμία. Είναι ενδιαφέρον ότι η έκταση των μικροθρόμβων σχετίστηκε σημαντικά με προηγούμενο ιστορικό

κίρσορραγίας [70,71]. Ακολούθως, διαπιστώθηκε ότι προπηκτικές διαταραχές, όπως η φορεία παράγοντα V Leiden και ελλείψεις της αντιθρομβίνης και της πρωτεΐνης C συνδέονται με πιο προχωρημένη ηπατική ίνωση ενώ η αντιπηκτική θεραπεία επιβραδύνει την ηπατική ινογένεση σε πειραματικά μοντέλα και ασθενείς με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα [1,69]. Σε πρόσφατη επίσης δημοσίευση παρατηρήθηκε ότι η εξέλιξη του βαθμού της ίνωσης σε ασθενείς με στεάτωση έως την ανάπτυξη κίρρωσης συνοδεύεται από αύξηση του λόγου παράγοντας VIII/πρωτεΐνη C [112].

Η προγνωστική δυνατότητα των TAT συμπλεγμάτων όσον αφορά την εμφάνιση νέου ασκίτη και την επιβίωση ήταν παρόμοια με το MELD score στο Πρωτόκολλο A. Είναι αξιοσημείωτο ότι στους ασθενείς του ίδιου Πρωτοκόλλου τα επίπεδα των TAT συμπλεγμάτων αλλά όχι του MELD score συνδέθηκαν ανεξάρτητα με κίρσορραγία και ΘΠΦ. Όσον αφορά το Πρωτόκολλο B, το MELD score ήταν ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας μόνο για την επιβίωση αλλά μικρότερης στατιστικής σημαντικότητας συγκριτικά με τον VIII και τον λόγο παράγοντας VIII/πρωτεΐνη C. Μπορεί να υποτεθεί ότι η υπερπηκτικότητα ασκεί σημαντικότερη επίδραση από την διαταραχή της ηπατικής λειτουργίας, ιδιαίτερα όσον αφορά την εμφάνιση κίρσορραγίας και ΘΠΦ, δεδομένου ότι και οι δύο χαρακτηρίστηκαν από τα υψηλότερα επίπεδα TAT συμπλεγμάτων, vWF και μεγαλύτερες τιμές του λόγου παράγοντας VIII/πρωτεΐνη C. Είναι σημαντικό να αναφέρουμε ότι στο Πρωτόκολλο A της παρούσας αιμοστατικής μελέτης δεν διαπιστώθηκε συσχέτιση των συμβατικών χρόνων πήξεως με καμία παράμετρο κλινικής έκβασης των ασθενών με κίρρωση. Οι παρατηρήσεις μας συμφωνούν με αυτές των Villa et al [98] και δείχνουν ότι το INR μπορεί να έχει προγνωστική αξία μόνο ως

στοιχείο του MELD score. Τα ευρήματά μας είναι επίσης σημαντικά όσον αφορά την κίρρωση λαμβάνοντας υπόψη ότι το INR έχει σχετιστεί με αιμορραγική διάθεση.

Ένα ερώτημα που μπορεί να διατυπωθεί είναι σχετικά με το τι διεγείρει την παραγωγή θρομβίνης και του vWF σε ασθενείς με κίρρωση ωθώντας την ασταθή αιμοστατική ισορροπία της κίρρωσης προς την θρομβωτική κατάσταση. Αν και τα επίπεδα ενδοτοξίνης δεν μετρήθηκαν στην παρούσα μελέτη, η ενδοτοξιναιμία της κίρρωσης θα μπορούσε να αντιπροσωπεύει ένα υποκείμενο μηχανισμό καθώς μπορεί να διεγείρει την παραγωγή θρομβίνης [99,113] και vWF [114] και αυξάνεται με την επιδείνωση της ηπατικής νόσου [115]. Είναι αξιοσημείωτο ότι το 25% των θανάτων οφείλονταν σε λοίμωξη, γεγονός που δείχνει ότι μία επιπλέον αύξηση της ενδοτοξιναιμίας θα μπορούσε να επηρεάσει δυσμενώς την πρόγνωση ασθενών με υψηλότερη τάση θρόμβωσης κατά την ένταξη στην μελέτη μέσω επιδείνωσης της υπερπηκτικότητας. Επιπρόσθετα, η αύξηση των επιπέδων του vWF θα μπορούσε να οφείλεται στην ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, η οποία είναι καθοριστικός παράγοντας για την αύξηση των ενδοηπατικών αντιστάσεων [116].

Η μελέτη μας έχει κάποιους περιορισμούς. Πρώτον, παρά τα πλεονεκτήματα της μεθόδου που χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση της παραγωγής θρομβίνης όσον αφορά την ευαισθησία και την ειδικότητά της [100], τα συμπλέγματα TAT αφορούν εξολοκλήρου την θρομβίνη που αναστέλεται από την αντιθρομβίνη και όχι αυτή που δεσμεύεται από την θρομβομοδουλίνη. Ωστόσο, σε αντίθεση με τον προσδιορισμό των συμπλεγμάτων TAT, οι μέθοδοι που χρησιμοποιούν θρομβομοδουλίνη

χρειάζονται εμπειρία και ειδικό εργαστηριακό εξοπλισμό που δεν είναι εύκολα διαθέσιμος στα περισσότερα εργαστήρια [26]. Ένας άλλος περιορισμός είναι η πιθανή συμμετοχή της μειωμένης κάθαρσης των TAT συμπλεγμάτων ως λειτουργία του ήπατος στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων μας. Ωστόσο, είναι γνωστό ότι η ικανότητα του ήπατος για απομάκρυνση διαφόρων ουσιών από την κυκλοφορία είναι σε σημαντική αναλογία με την συνθετική του ικανότητα [117,118]. Στην μελέτη μας καθώς και σε μία προηγούμενη μελέτη [104], δεν παρατηρήθηκε καμία συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων των TAT συμπλεγμάτων και δεικτών της συνθετικής λειτουργίας του ήπατος, όπως οι χρόνοι πήξεως και η αλβουμίνη. Οι παρατηρήσεις αυτές δείχνουν ότι η ενεργοποίηση της αιμόστασης και όχι η διαταραχή της ηπατικής λειτουργίας είναι ο κύριος παράγοντας που καθορίζει την αύξηση των TAT συμπλεγμάτων. Παρόλαυτά, τα αποτελέσματά μας χρήζουν επιβεβαίωσης σε μελλοντικές μελέτες με μεθόδους εκτίμησης παραγωγής θρομβίνης με θρομβομοδουλίνη. Τέλος, μία θετική συσχέτιση των επιπέδων των TAT συμπλεγμάτων με την ηλικία και το θηλυκό φύλο έχει αναφερθεί [119]. Ωστόσο, σύμφωνα με τα αποτελέσματα της δικής μας και άλλων μελετών [37], οι τελευταίοι παράγοντες δεν φαίνεται να επηρεάζουν τα επίπεδα TAT συμπλεγμάτων σε ασθενείς με κίρρωση.

5. Συμπεράσματα

1. Οι παρατηρήσεις μας επιβεβαιώνουν αρχικά ευρήματα τα οποία δείχνουν μία αναδιαμόρφωση της αιμοστατικής ισορροπίας της σε ασθενείς με κίρρωση με ροπή προς την υπερπηκτικότητα.
2. Οι ασθενείς με κίρρωση και υψηλά επίπεδα TAT συμπλεγμάτων και vWF και υψηλές τιμές του λόγου παράγοντας VIII/πρωτεΐνη C είναι πιο πιθανό να αναπτύξουν κλινικές επιπλοκές, όπως ασκίτη, γαστροοισοφαγικούς κισσούς, κισσορραγία και ΘΠΦ. Επιπρόσθετα, οι ασθενείς αυτοί έχουν υψηλότερη θνητότητα.
3. Η εκτίμηση του σχηματισμού θρομβίνης με τα επίπεδα TAT συμπλεγμάτων ή πιθανόν και με άλλες μεθόδους όπως επίσης των επιπέδων του vWF και των τιμών του λόγου παράγοντας VIII/πρωτεΐνη C θα μπορούσε να συμβάλλει σημαντικά στον προσδιορισμό της αιμόσταστικής ισορροπίας σε ασθενείς με κίρρωση προσδιορίζοντας ταυτόχρονα την κλινική τους έκβαση.
4. Οι γενικές δοκιμασίες αιμόστασης, όπως INR και APTT, δεν συσχετίζονται με τις ανωτέρω κλινικές επιπλοκές σε ασθενείς με κίρρωση. Αυτό έχει ιδιαίτερη σημασία όσον αφορά την κισσορραγία, η επίπτωση της οποίας σχετίστηκε σημαντικά με δείκτες υπερπηκτικότητας.
5. Η περαιτέρω έρευνα της σχετιζόμενης με την κίρρωση υπερπηκτικότητας και των επιπλοκών αυτής θα μπορούσε να οδηγήσει σε προφυλακτικές θεραπείες που θα βελτίωναν την κλινική έκβαση αυτών των ασθενών με κίρρωση.

Περίληψη

Η κίρρωση χαρακτηρίζεται από σημαντικές αιμοστατικές διαταραχές. Μία αιτιολογική συσχέτιση μεταξύ της παράτασης των συμβατικών δοκιμασιών πήκτικότητας, όπως ο χρόνος προθρομβίνης ή το INR και ο χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης (APTT) με τον αιμορραγικό κίνδυνο σε ασθενείς με κίρρωση είχε για πολλά έτη θεωρηθεί δεδομένη αν και δεν αποδείχτηκε ποτέ. Κατά συνέπεια, έγινε ευρέως αποδεκτό ότι οι κίρρωτικοί ασθενείς αυτοπροστατεύονται από θρομβωτικά γεγονότα.

Πολλά στοιχεία, ωστόσο, τα τελευταία έτη δείχνουν ότι η κίρρωση δεν θα πρέπει να θεωρείται πλέον μία υποπηκτική κατάσταση. Πράγματι, η συνθετική διαταραχή του ήπατος στην κίρρωση οδηγεί σε παράλληλη μείωση όχι μόνο των προπηκτικών παραγόντων αλλά και των φυσικών αντιπηκτικών παραγόντων, όπως αντιθρομβίνη, πρωτεΐνη C, και πρωτεΐνη S. Επιπρόσθετα, πρόσφατα ευρήματα δείχνουν ότι η παραγωγή θρομβίνης διατηρείται πλήρως ή αυξάνεται σε κίρρωτικούς ασθενείς εφόσον ο αριθμός των αιμοπεταλίων είναι $>60 \times 10^9/L$ καθώς άνω αυτού του ορίου το πλάσμα υποστηρίζει επαρκώς την παραγωγή θρομβίνης. Έχει επίσης δημοσιευτεί ότι οι κίρρωτικοί ασθενείς παρουσιάζουν διαταραχή της προπηκτικής ισορροπίας υπέρ της υπερπηκτικότητας όπως φαίνεται από τα χαμηλά επίπεδα των παραγόντων II, V, VII, της αντιθρομβίνης και της πρωτεΐνης C και τις υψηλές τιμές του παράγοντα VIII και του λόγου παράγοντας VIII/πρωτεΐνη C. Είναι αξιοσημείωτο ότι υψηλά επίπεδα του παράγοντα von Willebrand (vWF) έχουν βρεθεί σε ασθενείς με κίρρωση τα οποία μπορούν να αντιρροπήσουν τον μειωμένο αριθμό και την διαταραχή λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων. Αυτά τα ευρήματα συμβαδίζουν με παρατηρήσεις των τελευταίων ετών ότι οι

κίρρωτικοί ασθενείς δεν προστατεύονται από υπερπηκτικά γεγονότα, όπως θρόμβωση της πυλαίας φλέβας (ΘΠΦ) ή άλλες εν τω βάθει φλεβικές θρομβώσεις παρά την σημαντική παράταση των συμβατικών χρόνων πήξεως. Σχετικά με αυτό, αναφέρθηκε πρόσφατα ότι η προφύλαξη με ενοξαπαρίνη σε ασθενείς με προχωρημένη κίρρωση όχι μόνο ήταν αποτελεσματική στην πρόληψη ΘΠΦ αλλά επίσης μείωσε σημαντικά τον κίνδυνο ρήξης αντιρρόπησης και αύξησε την επιβίωση χωρίς αιμορραγικές επιπλοκές. Τα ευρήματα αυτά δείχνουν μία πιθανή σύνδεση της υπερπηκτικότητας και της πυλαίας υπέρτασης. Ωστόσο, η άμεση συσχέτιση του θρομβωτικού δυναμικού με την κλινική έκβαση σε κίρρωτικούς ασθενείς δεν έχει έως τώρα μελετηθεί. Συνεπώς, στην παρούσα αιμοστατική μελέτη διερευνήσαμε τον βαθμό της υπερπηκτικότητας σε θρομβοπενικούς ασθενείς με κίρρωση διαβαθμούμενης βαρύτητας και ασθενείς με χρόνια ηπατική νόσο χωρίς κίρρωση, όπως επίσης την συσχέτιση της υπερπηκτικότητας με επιπλοκές σχετιζόμενες με την πυλαία υπέρταση, την ΘΠΦ και την θνητότητα.

Ενενήντα-τρεις ασθενείς με κίρρωση (Child-Pugh class A/B/C: 31/31/31) και θρομβοπενία (αριθμός αιμοπεταλίων $<150 \times 10^9/L$), 40 ασθενείς με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα χωρίς κίρρωση και 40 υγιή άτομα μελετήθηκαν. Σε όλους τους ασθενείς και τα υγιή άτομα εκτιμήθηκαν τα εξής: INR, APTT, ινωδογόνο, προπηκτικοί παράγοντες (II, V, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII), παράγοντες που ευνοούν την αιμόσταση όπως συμπλέγματα θρομβίνης-αντιθρομβίνης (TAT) ως δείκτη παραγωγής θρομβίνης, D-διμερή, φυσικοί αντιπηκτικοί παράγοντες (αντιθρομβίνη, πρωτεΐνη C, πρωτεΐνη S), ο vWF και ο λόγος VIII/πρωτεΐνη C. Η βαρύτητα της κίρρωσης εκτιμήθηκε με την κατάταξη κατά Child-Pugh και το model for end-stage liver disease (MELD). Ογδόνταέννας από τους 93

ασθενείς με αριθμός αιμοπεταλίων $>60 \times 10^9/L$ (Child-Pugh class A/B/C: 27/27/27) μελετήθηκαν στο Πρωτόκολλο A το οποίο ανέλυσε την συμμετοχή των εξής παραγόντων στην κλινική έκβαση: INR, APTT, ινωδογόνο, συμπλέγματα TAT, D-διμερή, αντιθρομβίνη, πρωτεΐνη C, πρωτεΐνη S, και MELD. Όλοι οι ασθενείς (93) μελετήθηκαν στο Πρωτόκολλο B το οποίο ανέλυσε την συμμετοχή των εξής παραγόντων στην κλινική έκβαση: παράγοντες II, V, και VIII, αντιθρομβίνη, πρωτεΐνη C, vWF, τον λόγο VIII/πρωτεΐνη C και το MELD. Δύο μοντέλα πολυπαραγοντικής ανάλυσης εφαρμόστηκαν και στα δύο πρωτόκολλα: το μοντέλο 1, το οποίο δεν συμπεριέλαβε το MELD, και το μοντέλο 2 το οποίο συμπεριέλαβε το MELD. Στο Πρωτόκολλο A, το INR δεν συμμετείχε στην πολυπαραγοντική ανάλυση ταυτόχρονα με το MELD.

Όλοι οι παράγοντες που εκτιμήθηκαν ήταν σημαντικά διαφορετικοί μεταξύ των ασθενών με κίρρωση και των μη κίρρωτικών ασθενών με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα ή των υγιών ατόμων. Οι δείκτες υπερπηκτικότητας, όπως συμπλέγματα TAT, ο vWF και ο λόγος VIII/πρωτεΐνη C συσχετίστηκαν σημαντικά με την βαρύτητα της κίρρωσης. Αυξημένα επίπεδα TAT συμπλεγμάτων (Πρωτόκολλο A) και υψηλότερες τιμές vWF και του λόγου VIII/πρωτεΐνη C (Πρωτόκολλο B) ήταν ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες παρουσίας ασκίτη και γαστροοισοφαγικών κισμών κατά την ένταξη στην αιμοστατική μελέτη, νεοεμφανιζόμενου ασκίτη, κισσορραγίας, ΘΠΦ και μειωμένης επιβίωσης. Υψηλότερο MELD score ήταν ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας για νεοεμφανιζόμενο ασκίτη (Πρωτόκολλο A) και επιβίωσης (και στα δύο Πρωτόκολλα) αλλά όχι για κισσορραγία ή ΘΠΦ (και στα δύο Πρωτόκολλα). Τα ευρήματά μας δείχνουν ότι η υπερπηκτικότητα

ασκεί σημαντικότερη επίδραση στην εμφάνιση κίρσορραγίας και ΘΠΦ συγκριτικά με την βαρύτητα της κίρρωσης. Είναι ενδιαφέρον ότι και οι δύο τελευταίες επιπλοκές χαρακτηρίστηκαν από τα υψηλότερα επίπεδα TAT συμπλεγμάτων (Πρωτόκολλο A) και τις υψηλότερες τιμές vWF και του λόγου VIII/πρωτεΐνη C (Πρωτόκολλο B). Είναι επίσης αξιοσημείωτο ότι δεν διαπιστώθηκε συσχέτιση των συμβατικών δοκιμασιών πήξεως με την κλινική έκβαση των κίρρωτικών ασθενών στο Πρωτόκολλο A, όπου μελετήθηκε τέτοιου είδους συσχέτιση, γεγονός που υποδηλώνει ότι το INR μπορεί ίσως να έχει προγνωστική σημασία μόνο ως στοιχείο του MELD. Ο ρόλος του INR έχει ιδιαίτερη σημασία όσον αφορά την εμφάνιση κίρσορραγίας καθώς η παράτασή του έχει σχετισθεί με υψηλότερη αιμορραγική διάθεση.

Οι παρατηρήσεις μας δείχνουν ότι μία αναδιαμόρφωση της αιμοστατικής ισορροπίας υπέρ της υπερπηκτικότητας συμβαίνει στην κίρρωση. Οι κίρρωτικοί ασθενείς με υψηλά επίπεδα συμπλεγμάτων TAT και vWF και υψηλές τιμές του λόγου παράγοντας VIII/πρωτεΐνη C έχουν σημαντικά μεγαλύτερη πιθανότητα να αναπτύξουν επιπλοκές όπως ασκίτης, κίρσορραγία ή ΘΠΦ κι έχουν υψηλότερη θνητότητα. Η μέτρηση των ανωτέρω παραμέτρων θα μπορούσε να συμβάλλει στην διαβάθμιση κινδύνου των κίρρωτικών ασθενών όσον αφορά την κλινική τους έκβαση και συνεπώς στην ανάπτυξη ανάλογων θεραπευτικών στρατηγικών.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΗΝ ΑΓΓΛΙΚΗ ΓΛΩΣΣΑ

Aikaterini Oikonomou, Doctoral Thesis

'Coagulation abnormalities study in patients with liver diseases'

Summary

Liver cirrhosis is frequently accompanied by profound hemostatic abnormalities. A causal relationship between prolongation of the conventional coagulation tests, such as the prothrombin time (PT) or INR and the activated partial thromboplastin time (APTT), and the risk of bleeding in patients with cirrhosis has been for long time taken for granted though has never been proved. Accordingly, it was widely accepted that these patients were self-anticoagulated and thus protected from thrombotic events.

Accumulated evidence, however, indicates that cirrhosis should be no longer considered a hypocoagulable state. Indeed, liver synthetic deficit in cirrhosis leads to a parallel reduction of both procoagulant factors and their major anticoagulant counterparts, namely antithrombin (AT), protein C (PC) and protein S (PS). Furthermore, recent findings demonstrated that thrombin generation (TG) is fully preserved or even increased in patients with cirrhosis provided that platelet numbers are sufficient ($>60 \times 10^9/L$) to support the normal TG elicited by plasma. It has also been shown that patients with cirrhosis display a procoagulant imbalance that may be detected by measuring low levels of factors II, V, AT, and PC and high levels of VIII and VIII/PC ratio and is consistent with a state of hypercoagulability. Notably, high levels of vWF, a glycoprotein with major role in platelet aggregation, have been found in patients with cirrhosis thus compensating for decreased number

and function of platelets. These findings are in keeping with earlier observations that patients with cirrhosis are not protected from hypercoagulant events, such as portal vein thrombosis (PVT) or other deep venous thromboses, despite their substantial prolongation of conventional coagulation times. In this regard, it was recently reported that prophylaxis with enoxaparin in patients with advanced cirrhosis not only is effective in preventing PVT but also reduces the risk of decompensation and improves survival without bleeding complications. These findings suggest a possible connection between hypercoagulability and portal hypertension. Yet, no study has investigated the direct relationship between thrombotic potential and clinical outcome in cirrhotic patients. Consequently, we investigated the magnitude of hypercoagulability in thrombocytopenic patients with cirrhosis of graded severity and patients with chronic liver disease without cirrhosis, as well as the impact of hypercoagulability on the development of portal hypertension-related complications, PVT, and prediction of survival in patients with cirrhosis.

Ninety-three patients with liver cirrhosis (Child-Pugh class A/B/C:31/31/31) and thrombocytopenia (platelet count $<150 \times 10^9/L$), 40 patients with chronic viral hepatitis without cirrhosis, and 40 healthy subjects were studied. INR, APTT, fibrinogen, procoagulant factors (FII, FV, FVII, FVIII, FIX, FX, FXI, FXII, FXIII), factors related to promotion of hemostasis such as thrombin-antithrombin complexes as TG marker, D-dimers, natural anticoagulant factors (AT, PC, PS), vWF, and VIII/PC ratio were measured in all patients and healthy subjects. Liver disease severity in patients with cirrhosis was evaluated by the Child-Pugh class and the model for end-stage-

liver disease (MELD). Eighty-one of 93 patients with platelet count $>60 \times 10^9/L$ (Child-Pugh class A/B/C:27/27/27) were studied in Protocol A which analyzed INR, APTT, fibrinogen, TAT, D-dimers, AT, PC, PS and MELD. All 93 patients were included in Protocol B which analyzed FII, FV, FVIII, AT, PC, vWF, FVIII/PC ratio, and MELD. Two different multivariate analyses were performed in both Protocols: Model 1, which did not include MELD, and Model 2, which included MELD. In Protocol A, INR was not analyzed concurrently with MELD in Model 2.

All evaluated factors were significantly different in patients with cirrhosis compared with non-cirrhotic chronic viral hepatitis or healthy subjects. No significant difference was noted between chronic viral hepatitis and healthy subjects. Hypercoagulation markers TAT, vWF, and FVIII/PC ratio were strongly related with liver disease severity in patients with cirrhosis. Increased TAT levels (Protocol A) and higher vWF levels and FVIII/PC ratios (Protocol B) were independently associated with ascites and varices at baseline, increased probability of new-onset ascites, variceal bleeding (VB), and PVT, and lower survival rates. Notably, MELD score was independently associated with new-onset ascites (Protocol 1) and survival (both Protocols) but not with VB and PVT (both Protocols). Our findings indicate that hypercoagulability exerts a considerably greater effect than liver function impairment on the occurrence of VB and PVT. Of interest, both complications were characterized by the highest TAT levels (Protocol A) and the highest vWF levels and FVIII/PC ratios (Protocol B). Remarkably, we did not find a significant impact of conventional coagulation tests on any aspect of clinical outcome of patients with cirrhosis in Protocol A, which suggests that INR may add prognostic

information only as a component of MELD or Child-Pugh score. This is of particular interest, as far as VB is concerned, since prolongation of INR has been related to bleeding tendency.⁹⁸

Our observations strongly suggest a rebalanced hemostatic system in cirrhosis in favour of hypercoagulability. Patients with cirrhosis and high TAT levels, vWF levels and VIII/PC ratio are more likely to develop clinical complications, such as ascites, VB and PVT, and have increased mortality. Measuring the abovementioned parameters could enable risk stratification in patients with cirrhosis and consequently the institution of preventive strategies, which in turn might contribute to improved clinical outcomes.

Γ. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Tripodi A, Mannucci PM. The coagulopathy of chronic liver disease. *N Engl J Med* 2011;365:147-56
2. Giannini EG, Savarino V. Thrombocytopenia in liver disease. *Curr Opin Hematol* 2008;15:473–80
3. Ordinas A, Escolar G, Cirera I, et al. Existence of a platelet-adhesion defect in patients with cirrhosis independent of hematocrit: studies under flow conditions. *Hepatology* 1996; 24:1137–42
4. Thomas DP, Ream VJ, Stuart RK. Platelet aggregation in patients with Laennec's cirrhosis of the liver. *N Engl J Med* 1997;276:1344–8
5. Ballard HS, Marcus AJ. Platelet aggregation in portal cirrhosis. *Arch Intern Med* 1976;136:316–9
6. Laffi G, La Villa G, Pinzani M, et al. Altered renal and platelet arachidonic acid metabolism in cirrhosis. *Gastroenterology* 1986;90:274–82
7. Laffi G, Cominelli F, Ruggiero M, et al. Altered platelet function in cirrhosis of the liver: impairment of inositol lipid and arachidonic acid metabolism in response to agonists. *Hepatology* 1988;8:1620–6
8. Laffi G, Daskalopoulos G, Kronborg I, et al. Effects of sulindac and ibuprofen in patients with cirrhosis and ascites. An explanation for the renal-sparing effect of sulindac. *Gastroenterology* 1986;90:182–7
9. Laffi G, Marra F, Failli P, et al. Defective signal transduction in platelets from cirrhotics is associated with increased cyclic nucleotides. *Gastroenterology* 1993;105:148–56

10. Laffi G, Marra F, Gresele P, et al. Evidence for a storage pool defect in platelets from cirrhotic patients with defective aggregation. *Gastroenterology* 1992;103:641–6
11. Ordinas A, Maragall S, Castillo R, et al. A glycoprotein I defect in the platelets of three patients with severe cirrhosis of the liver. *Thromb Res* 1978;13:297–302
12. Grant A, Neuberger J. Guidelines on the use of liver biopsy in clinical practice. British Society of Gastroenterology. *Gut* 1999;45(Suppl 4):IV1–IV11
13. Violi F, Leo R, Vezza E, et al. Bleeding time in patients with cirrhosis: relation with degree of liver failure and clotting abnormalities. C.A.L.C. Group. Coagulation Abnormalities in Cirrhosis Study Group. *J Hepatol* 1994;20:531–6
14. Boberg KM, Brosstad F, Egeland T, et al. Is a prolonged bleeding time associated with an increased risk of hemorrhage after liver biopsy? *Thromb Haemost* 1999;81:378–81
15. Mannucci PM, Vicente V, Vianello L, et al. Controlled trial of desmopressin in liver cirrhosis and other conditions associated with a prolonged bleeding time. *Blood* 1986;67:1148–53
16. Burroughs AK, Matthews K, Qadiri M, et al. Desmopressin and bleeding time in patients with cirrhosis. *Br Med J* 1985;291:1377–81
17. Cattaneo M, Tenconi PM, Alberca I, et al. Subcutaneous desmopressin (DDAVP) shortens the prolonged bleeding time in patients with liver cirrhosis. *Thromb Haemost* 1990;64:358–60

18. de Franchis R, Arcidiacono PG, Carpinelli L, et al. Randomized controlled trial of desmopressin plus terlipressin vs. terlipressin alone for the treatment of acute variceal hemorrhage in cirrhotic patients: a multicenter, double-blind study. *New Italian Endoscopic Club. Hepatology* 1993;18:1102–7
19. Wong AY, Irwin MG, Hui TW, et al. Desmopressin does not decrease blood loss and transfusion requirements in patients undergoing hepatectomy. *Can J Anaesth* 2003;50:14–20
20. Lisman T, Bongers TN, Adelmeijer J, et al. Elevated levels of von Willebrand factor in cirrhosis support platelet adhesion despite reduced functional capacity. *Hepatology* 2006;44:53–61
21. Escolar G, Cases A, Vinas M, et al. Evaluation of acquired platelet dysfunctions in uremic and cirrhotic patients using the platelet function analyzer (PFA-100): influence of hematocrit elevation. *Haematologica* 1999;84:614–9
22. Caldwell SH, Hoffman M, Lisman T, et al. Coagulation disorders and hemostasis in liver disease: pathophysiology and critical assessment of current management. *Hepatology* 2006;44:1039–46
23. Esmon CT. The roles of protein C and thrombomodulin in the regulation of blood coagulation. *J Biol Chem* 1989;264:4743–6
24. Tripodi A, Caldwell SH, Hoffman M, et al. The prothrombin time test as a measure of bleeding risk and prognosis in liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2007;26:141–8

25. Tripodi A, Ramenghi LA, Chantarangkul V, et al. Normal thrombin generation in neonates in spite of prolonged conventional coagulation tests. *Haematologica* 2008;93:1256–9
26. Tripodi A, Salerno F, Chantarangkul V, et al. Evidence of normal thrombin generation in cirrhosis despite abnormal conventional coagulation tests. *Hepatology* 2005;41:553–8
27. Bevers EM, Comfurius P, Zwaal RF. Platelet procoagulant activity: physiological significance and mechanisms of exposure. *Blood Rev* 1991;5:146–54
28. Tripodi A, Primignani M, Chantarangkul V, et al. Thrombin generation in patients with cirrhosis: the role of platelets. *Hepatology* 2006;44:440–5
29. Bosch J, Thabut D, Bendtsen F, et al. Recombinant factor VIIa for upper gastrointestinal bleeding in patients with cirrhosis: a randomized, double-blind trial. *Gastroenterology* 2004;127:1123–30
30. Lodge JP, Jonas S, Jones RM, et al. Efficacy and safety of repeated perioperative doses of recombinant factor VIIa in liver transplantation. *Liver Transpl* 2005;11:973–9
31. Planinsic RM, van der Meer J, Testa G, et al. Safety and efficacy of a single bolus administration of recombinant factor VIIa in liver transplantation due to chronic liver disease. *Liver Transpl* 2005;11:895–900
32. McHutchison JG, Dusheiko G, Shiffman ML, et al. Eltrombopag for thrombocytopenia in patients with cirrhosis associated with hepatitis C. *N Engl J Med* 2007;357:2227–36

33. Tripodi A, Primignani M, Chantarangkul V, et al. The coagulopathy of cirrhosis assessed by thromboelastometry and its correlation with conventional coagulation parameters. *Thromb Res* 2009;124:132–6
34. Tripodi A, Primignani M, Mannucci PM. Abnormalities of hemostasis and bleeding in chronic liver disease: the paradigm is challenged. *Intern Emerg Med* 2010;5:7-12
35. Northup PG, Sundaram V, Fallon MB, et al. Hypercoagulation and thrombophilia in liver disease. *J Thromb Haemost* 2007;6:2-9
36. Lisman T, Bakhtiari K, Pereboom IT, et al. Normal to increased thrombin generation in patients undergoing liver transplantation despite prolonged conventional coagulation tests. *J Hepatol* 2010;52:355–61.
37. Gatt A, Riddel A, Calvaruso V, et al. Enhanced thrombin generation in patients with cirrhosis-induced coagulopathy. *J Thromb Haemost* 2010;8:1994-2000
38. Dahlback B. Progress in the understanding of the protein C anticoagulant pathway. *Int J Hematol* 2004;79:109–16
39. Tripodi A, Chantarangkul V, Mannucci PM. Acquired coagulation disorders: revisited using global coagulation/anticoagulation testing. *Br J Haematol* 2009;147:77–82
40. Tripodi A, Primignani M, Lemma L, et al. Detection of the imbalance of pro- vs. anti-coagulant factors in cirrhosis by a simple laboratory method. *Hepatology* 2010;52:249–55
41. Tripodi A, Primignani M, Chantarangkul V, et al. An imbalance of pro- vs. anti-coagulation factors in plasma from patients with cirrhosis. *Gastroenterology* 2009;137:2105-11

42. O'Donnell J, Mumford AD, Manning RA, et al. Marked elevation of thrombin generation in patients with elevated FVIII:C and venous thromboembolism. *Br J Haematol* 2001;115:687–91
43. La Mura V, Reverter JC, Flores-Arroyo A, et al. Von Willebrand factor levels predict clinical outcome in patients with cirrhosis and portal hypertension. *Gut* 2011;60:1133-8
44. Ferlitsch M, Reiberger T, Hoke M, et al. von Willebrand factor as new noninvasive predictor of portal hypertension, decompensation and mortality in patients with liver cirrhosis. *Hepatology* 2012;56:1439-47
45. Takaya H, Uemura M, Fujimura Y, et al. ADAMTS13 activity may predict the cumulative survival of patients with liver cirrhosis in comparison with the Child-Turcotte-Pugh score and the Model for End-Stage Liver Disease score. *Hep Res* 2012;42:459-72
46. Wannhoff A, Muller OJ, Friedrich K, et al. Effects of increased von Willebrand factor levels on primary hemostasis in thrombocytopenic patients with liver cirrhosis. *PLoS ONE* 2014;9:e112583
47. Reuken PA, Kussmann A, Kiehntopf M, et al. Imbalance of von Willebrand factor and its cleaving protease ADAMTS13 during systemic inflammation superimposed on advanced cirrhosis. *Liver Int* 2015;35:37-45
48. Wu H, Yan S, Wang G, et al. von Willebrand factor as a novel noninvasive predictor of portal hypertension and esophageal varices in hepatitis B patients with cirrhosis. *Scand J Gastroenterol* 2015;16:1-10
49. Saliola M, Lorenzet R, Ferro D, et al. Enhanced expression of monocyte tissue factor in patients with liver cirrhosis. *Gut* 1998;43:428–32

50. Murad SD, Valla DC, de Groen PC, et al. Pathogenesis and treatment of Budd–Chiari syndrome combined with portal vein thrombosis. *Am J Gastroenterol* 2006;101:83–90
51. Condat B, Vilgrain V, Asselah T, et al. Portal cavernoma-associated cholangiopathy: a clinical and MR cholangiography coupled with MR portography imaging study. *Hepatology* 2003;37:1302–8
52. Kocher G., Himmelmann A. Portal vein thrombosis (PVT): a study of 20 non-cirrhotic cases. *Swiss Med Wkly* 2005;135:372–6
53. Denninger MH, Chait Y, Casadevall N, et al. Cause of portal or hepatic venous thrombosis in adults: the role of multiple concurrent factors. *Hepatology* 2000;31:587–91
54. Webster GJ, Burroughs AK, Riordan SM. Review article: portal vein thrombosis – new insights into aetiology and management. *Aliment Pharmacol Ther* 2005;21:1–9
55. Condat B, Pessione F, Denninger MH, et al. Recent portal or mesenteric venous thrombosis: increased recognition and frequent recanalization on anticoagulant therapy. *Hepatology* 2000;32:466–70
56. Bauer J, Johnson S, Durham J, et al. The role of TIPS for portal vein patency in liver transplant patients with portal vein thrombosis. *Liver Transpl* 2006;12:1544–51
57. Condat B, Pessione F, Hillaire S, et al. Current outcome of portal vein thrombosis in adults: risk and benefit of anticoagulant therapy. *Gastroenterology* 2001;120:490–7

58. Orr DW, Harrison PM, Devlin J, et al. Chronic mesenteric venous thrombosis: evaluation and determinants of survival during long-term follow-up. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007;5:80–6
59. Northup PG, McMahon MM, Ruhl AP, et al. Coagulopathy does not fully protect hospitalized cirrhosis patients from peripheral venous thromboembolism. *Am J Gastroenterol* 2006;101:1524–8
60. Gulley D, Teal E, Suvannasankha A, et al. Deep vein thrombosis and pulmonary embolism in cirrhosis patients. *Dig Dis Sci* 2008;53:3012–7
61. Garcia-Fuster MJ, Abdilla N, et al. Venous thromboembolism and liver cirrhosis. *Rev Esp Enferm Dig* 2008;100:259–62
62. Dabbagh O, Oza A, Prakash S, et al. Coagulopathy does not protect against venous thromboembolism in hospitalized patients with chronic liver disease. *Chest* 2010;137:1145–9
63. Lizarraga WA, Dalia S, Reinert SE, et al. Venous thrombosis in patients with chronic liver disease. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2010;21:431–5
64. Wu H, Nguyen GC. Liver cirrhosis is associated with venous thromboembolism among hospitalized patients in a nationwide US study. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2010;8:800–5
65. Saleh T, Matta F, Alali F, et al. Venous thromboembolism with chronic liver disease. *Am J Med* 2011;124:64–8
66. Aldawood A, Arabi Y, Aljumah A, et al. The incidence of venous thromboembolism and practice of deep venous thrombosis prophylaxis in hospitalized cirrhotic patients. *Thromb J* 2011;9:1

67. Ali M, Ananthakrishnan AN, McGinley EL, et al. Deep venous thrombosis and pulmonary embolism in hospitalized patients with cirrhosis: a nationwide analysis. *Dig Dis Sci* 2011;56:2152–9
68. Søggaard KK, Horvath-Puho E, Grønbaek H, et al. Risk of venous thromboembolism in patients with liver disease: a nationwide population-based case–control study. *Am J Gastroenterol* 2009;104:96–101
69. Anstee QM, Dhar A, Thursz MR. The role of hypercoagulability in liver fibrogenesis. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2011;35:526-33
70. Wanless IR, Wong F, Blendis LM, et al. Hepatic and portal vein thrombosis in cirrhosis: possible role in development of parenchymal extinction and portal hypertension. *Hepatology* 1995;21:1238-47
71. Wanless IR, Liu JJ, Butany J. Role of thrombosis in the pathogenesis of congestive hepatic fibrosis (cardiac cirrhosis). *Hepatology* 1995;21:1232–7
72. Martin TG 3rd, Somberg KA, Meng YG, et al. Thrombopoietin levels in patients with cirrhosis before and after orthotopic liver transplantation. *Ann Intern Med* 1997;127:285–8
73. Kayo S, Ikura Y, Suekane T, et al. Close association between activated platelets and neutrophils in the active phase of ulcerative colitis in humans. *Inflamm Bowel Dis* 2006;12:727–35
74. Wright M, Goldin R, Hellier S, et al. Factor V Leiden polymorphism and the rate of fibrosis development in chronic hepatitis C virus infection. *Gut* 2003;52:1206–10
75. Poujol-Robert A, Boelle PY, Poupon R, et al. Factor V Leiden as a risk factor for cirrhosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2004;39:1174–5

76. Poujol-Robert A, Rosmorduc O, Serfaty L, et al. Genetic and acquired thrombotic factors in chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 2004;99:527–31
77. Yee TT, Griffioen A, Sabin CA, et al. The natural history of HCV in a cohort of haemophilic patients infected between 1961 and 1985. *Gut* 2000;47:845–51
78. Mann J, Mann DA. Transcriptional regulation of hepatic stellate cells. *Adv Drug Deliv Rev* 2009;61:497–512
79. Mann DA, Marra F. Fibrogenic signalling in hepatic stellate cells. *J Hepatol* 2010;52:949–50
80. Fiorucci S, Antonelli E, Distrutti E, et al. PAR1 antagonism protects against experimental liver fibrosis. Role of proteinase receptors in stellate cell activation. *Hepatology* 2004;39:365–75
81. Marra F, DeFranco R, Grappone C, et al. Expression of the thrombin receptor in human liver: up-regulation during acute and chronic injury. *Hepatology* 1998;27:462–71
82. Borensztajn K, Stiekema J, Nijmeijer S, et al. Factor Xa stimulates proinflammatory and profibrotic responses in fibroblasts via protease-activated receptor-2 activation. *Am J Pathol* 2008;172:309–20
83. Riewald M, Kravchenko VV, Petrovan RJ, et al. Gene induction by coagulation factor Xa is mediated by activation of protease-activated receptor 1. *Blood* 2001;97:3109–16
84. Riewald M, Ruf W. Mechanistic coupling of protease signaling and initiation of coagulation by tissue factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:7742–7

85. Gaca MD, Zhou X, Benyon RC. Regulation of hepatic stellate cell proliferation and collagen synthesis by proteinase-activated receptors. *J Hepatol* 2002;36:362–9
86. Cederqvist K, Haglund C, Heikkila P, et al. High expression of pulmonary proteinase-activated receptor 2 in acute and chronic lung injury in preterm infants. *Pediatr Res* 2005;57:831–6
87. Masamune A, Kikuta K, Satoh M, et al. Protease-activated receptor-2-mediated proliferation and collagen production of rat pancreatic stellate cells. *J Pharmacol Exp Ther* 2005;312:651–8
88. Anstee QM, Goldin RD, Wright M, et al. Coagulation status modulates murine hepatic fibrogenesis: implications for the development of novel therapies. *J Thromb Haemost* 2008;6:1336–43
89. Abdel-Salam OM, Baiuomy AR, Ameen A, et al. A study of unfractionated and low molecular weight heparins in a model of cholestatic liver injury in the rat. *Pharmacol Res* 2005;51:59–67
90. Abe W, Ikejima K, Lang T, et al. Low molecular weight heparin prevents hepatic fibrogenesis caused by carbon tetrachloride in the rat. *J Hepatol* 2007;46:286–94
91. Duplantier JG, Dubuisson L, Senant N, et al. A role for thrombin in liver fibrosis. *Gut* 2004;53:1682–7
92. Gunther A, Lubke N, Ermert M, et al. Prevention of bleomycin-induced lung fibrosis by aerosolization of heparin or urokinase in rabbits. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;168:1358–65
93. Shi J, Hao JH, Ren WH, et al. Effects of heparin on liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B. *World J Gastroenterol* 2003;9:1611–4

94. Uemura M, Fujimura Y, Ko S, et al. Pivotal role of ADAMTS13 function in liver diseases. *Int J Hematol* 2010;91:20-9
95. Durand F, Valla D. Assessment of prognosis of cirrhosis. *Semin Liver Dis* 2008;28:110-22
96. Kamath PS, Kim WR. The model for end-stage liver disease (MELD). *Hepatology* 2007;45:797-805
97. Wong F, Nadim MK, Kellum JA, et al. Working Party proposal for a revised classification system of renal dysfunction in patients with cirrhosis. *Gut* 2011;60:702-9
98. Villa E, Camma C, Marietta M, et al. Enoxaparin prevents portal vein thrombosis and liver decompensation in patients with advanced cirrhosis. *Gastroenterology* 2012;143:1253-60
99. Bianchini M, De Pietri L, Villa E. Coagulopathy in liver diseases: complication or therapy? *Dig Dis* 2014;32:609-14
100. Hoek JA, Sturk A, ten Cate JW, et al. Laboratory and clinical evaluation of an assay of thrombin-antithrombin III complexes in plasma. *Clin Chem* 1988;34:2058-62
101. Primignani M, Dell'Era A, Bucciarelli P, et al. High-D-dimer plasma levels predict poor outcome in esophageal variceal bleeding. *Dig Dis Sci* 2008;40:874-81
102. Vukovich T, Teufelsbauer H, Fritzer M, et al. Hemostasis activation in patients with liver cirrhosis. *Thromb Res* 1995;77:271-8
103. Paramo JA, Sangro B, Prosper F, et al. Increased concentrations of tumor necrosis factor and interleukin-6 contribute to the hemostatic abnormalities in advanced liver disease. *Haemostasis* 1995;25:305-11

104. Takahashi H, Tatewaki W, Wada K, et al. Thrombin and plasmin generation in patients with liver disease. *Am J Hematol* 1989;32:30-5
105. Hollestelle MJ, Geertzen HG, Straatsburg IH, et al. Factor VIII expression in liver disease. *Thromb Haemost* 2004;91:267-75
106. Tripodi A, Primignani M, Lemma L, et al. Detection of the imbalance of procoagulant versus anticoagulant factors in cirrhosis by a simple laboratory method. *Hepatology* 2010;52:249-55
107. Wion L, Kelly D, Summerfield JA, et al. Distribution of factor VIII mRNA and antigen in human liver and other tissues. *Nature* 1985;317:726-9
108. Toschi V, Rocchini GM, Motta A, et al. The hyperfibrinolytic state of liver cirrhosis: possible pathogenetic role of ascites. *Biomed Pharmacother* 1993;47:345-52
109. Violi F, Basili S, Ferro D, et al. Association between high values of D-dimer and tissue-plasminogen activator activity and first gastrointestinal bleeding in cirrhotic patients. *CALC Group. Thromb Haemost* 1996;76:177-83
110. Tsochatzis EA, Senzolo M, Germani G, et al. Systematic review: portal vein thrombosis in cirrhosis. *Aliment Pharmacol Ther* 2010;31:366-74
111. Delahousse B, Labat-Debelleix V, Decalonne L, et al. Comparative study of coagulation and thrombin generation in the portal and jugular plasma of patients with cirrhosis. *Thromb Haemost* 2010;104:741-9
112. Tripodi A, Fracanzani AL, Primignani M, et al. Procoagulant imbalance in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2014;61:148-54

113. Stief TW. Thrombin generation by exposure of blood to endotoxin: a simple model to study disseminated intravascular coagulation. *Clin Appl Thromb Hemost* 2006;12:137-61
114. Ferro D, Quintarelli C, Lattuada A, et al. High plasma levels of von Willebrand Factor as a marker of endothelial perturbation in cirrhosis: relationship to endotoxemia. *Hepatology* 1996;23:1377-83
115. Chan CC, Hwang SJ, Lee FY, et al. Prognostic value of plasma endotoxin levels in patients with cirrhosis. *Scand J Gastroenterol* 1997;32:942-6
116. Iwakiri Y, Groszmann RJ. Vascular endothelial dysfunction in cirrhosis. *J Hepatol* 2007;46:927-34
117. Fujioka H, Kawashita Y, Kamohara Y, et al. Utility of technetium-99m-labeled-galactosyl human serum albumin scintigraphy for estimating the hepatic functional reserve. *J Clin Gastroenterol* 1999;28:329-33
118. Barbare JC, Poupon RE, Jaillon P, et al. Intrinsic hepatic clearance and Child-Turcotte classification for assessment of liver function in cirrhosis. *J Hepatol* 1985;1:253-9
119. Dielis AW, Castoldi E, Spronk HM, et al. Coagulation factors and the protein C system as determinants of thrombin generation in a normal population. *J Thromb Haemost* 2008;6:125-31

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

Kalambokis NG, Oikonomou A, Baltayiannis G, et al. Thrombin generation measured as thrombin-antithrombin complexes predicts clinical outcomes in patients with cirrhosis. Hep Res 2015 (in press)