



A

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΤΟΜΕΑΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΟΣ
ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Ε.Β. ΤΣΙΑΝΟΣ**

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΑΝΤΙ-ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑΚΩΝ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ
ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΧΡΟΝΙΕΣ ΗΠΑΤΟΠΑΘΕΙΕΣ**

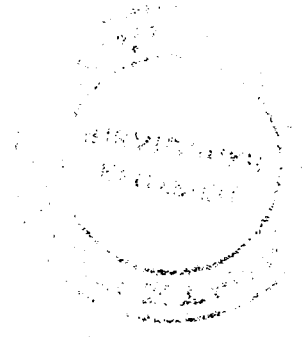
**ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ Κ. ΧΡΙΣΤΟΔΟΥΛΟΥ
ΙΑΤΡΟΣ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΟΛΟΓΟΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2001



1908 11 27 3001



ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ



ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ

7008/555

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ

ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΚΑΝΝΙΝΩΝ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ



ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΟΝ ΚΑΙ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟΝ ΠΡΟΣΩΠΟΝ

Επισημαίνεται, επίσης,

Καθηγητής Παιδαγωγικής Παιδαγωγικής Ιστορίας

Εκπαιδευτικόν

Παιδαγωγική Ιστορία

Καθηγητής Παιδαγωγικής Παιδαγωγικής Ιστορίας

Καθηγητής Παιδαγωγικής

Καθηγητής Παιδαγωγικής Παιδαγωγικής Ιστορίας

Καθηγητής

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα (Νόμος 5343/32, άρθρο 202, §2).



ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**Επαμεινώνδας Τσιάνος,****Καθηγητής Παθολογίας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.****Επιβλέπων****Κωνσταντίνος Μπουραντάς,****Καθηγητής Παθολογίας - Αιματολογίας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.****Μέλος****Αλέξανδρος Δρόσος,****Καθηγητής Παθολογίας - Ρευματολογίας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.****Μέλος**

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Επαμεινώνδας Τσιάνος,
Καθηγητής Παθολογίας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.
Επιβλέπων

Κωνσταντίνος Μπουραντάς,
Καθηγητής Παθολογίας – Αιματολογίας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.
Μέλος

Αλέξανδρος Δρόσος,
Καθηγητής Παθολογίας – Ρευματολογίας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.
Μέλος

Μωσής Ελισάφ,
Καθηγητής Παθολογίας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.
Μέλος

Κωσταντίνος Σεφεριάδης,
Καθηγητής Βιολογικής Χημείας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.
Μέλος

Σταματίνα Λεβειδιώτου – Στεφάνου,
Επίκουρη Καθηγήτρια Μικροβιολογίας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.
Μέλος

Λεωνίδας Χρήστου,
Επίκουρος Καθηγητής Παθολογίας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.
Μέλος



Πρόλογος

Η εκπόνηση μιας διδακτορικής διατριβής είναι ένα έργο πολύπλευρο, που ανοίγει το δρόμο προς τη γνώση, την έρευνα, την ορθή μεθοδολογία και τη συγγραφή ενός μακροσκελούς κειμένου. Για εμένα προσωπικά, η παρούσα διατριβή αποτέλεσε μία ξεχωριστή τιμή και η πραγματοποίησή της οφείλεται κυρίως στον Καθηγητή κ. Ε.Β. Τσιάνο, τον οποίο ευχαριστώ θερμά. Πρώτον, διότι μου εμπιστεύτηκε και μου ανέθεσε το ενδιαφέρον αυτό θέμα. Δεύτερον, γιατί με δίδαξε να κάνω μία επιστημονική μελέτη με γνώμονα την αλήθεια και την ακρίβεια και όχι τον εντυπωσιασμό και την υπερβολή. Τρίτον, γιατί με παρακίνησε στην πραγματοποίηση του έργου και καθοδήγησε λεπτομερώς στην επιτέλεσή του. Τέταρτον και κυριότερο, γιατί μου δίδαξε την ορθή άσκηση της ιατρικής, την αγάπη προς τον άρρωστο, την αφοσίωση προς την επιστήμη και την αξία της ιατρικής βιβλιογραφίας.

Ευχαριστώ θερμά τον Καθηγητή κ. Κ. Μπουραντά για τη συμβολή του στο σχεδιασμό της μελέτης, τις εύστοχες παρατηρήσεις του, την εμπιστοσύνη που μου έδειξε και τη μεγάλη προσφορά του στην επιστημονική μου κατάρτιση.

Ευχαριστώ θερμά τον Καθηγητή κ. Α. Δρόσο για τις εύστοχες παρατηρήσεις του, τη βοήθειά του σε θέματα μεθοδολογίας και την κριτική επεξεργασία των αποτελεσμάτων.

Ευχαριστώ θερμά την Διευθύντρια της Αιμοδοσίας του Περιφερειακού Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Ιωαννίνων κ. Ελευθερία Ζερβού για τη διδασκαλία της εργαστηριακής μεθοδολογίας της παρούσας διατριβής, για την ενεργό συμβολή της στην διαμόρφωση και τον έλεγχο της πειραματικής μεθοδολογίας, για τη διάθεση χώρου από το Εργαστήριο της για την πραγματοποίηση των πειραμάτων και προπαντός για τη αμέριστη συμπαράστασή της και διάθεση και του προσωπικού της χρόνου.

Ευχαριστώ θερμά τον Επίκουρο Καθηγητή Παθολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας κ. Γεώργιο Νταλέκο για τη συμμετοχή του στη διαμόρφωση της μεθοδολογίας της διατριβής και τις εύστοχες υποδείξεις του για τη στατιστική ανάλυση και τη συγγραφή της διατριβής αυτής.

Ευχαριστώ θερμά επίσης όλους τους ιατρούς του Γαστρεντερολογικού Τμήματος, σύγχρονους και παλιότερους για τη συμμετοχή τους στη συγκέντρωση του υλικού της διατριβής. Ευχαριστώ ακόμη την κα Αριστέα Στούπα και την κα Λαμπρινή Γκούμα για την επιμελή τήρηση των αρχείων του Γαστρεντερολογικού



Ιατρείου, χωρίς τη συμβολή των οποίων θα ήταν αδύνατη η συγκέντρωση του υλικού. Επίσης ευχαριστώ το προσωπικό της Αιμοδοσίας του ΠΠΠΝΙ και του Ανοσολογικού Εργαστηρίου του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων για την διάθεση χώρου και την καλή συνεργασία κατά τη διάρκεια διενέργειας των πειραμάτων. Με έκαναν να αισθάνομαι σαν να εργαζόμουν μαζί τους χρόνια.

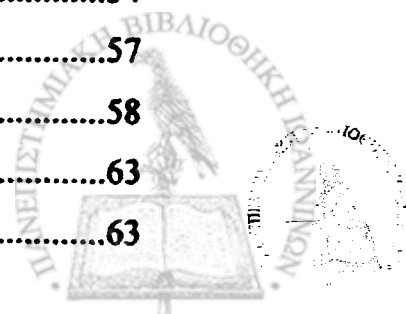
Τέλος, εξίσου θερμές ευχαριστίες εκφράζω προς το προσωπικό των Εργαστηρίων του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων, Βιοχημικό (Δ/ντής: Καθηγητής Ο. Τσόλας), Αιματολογικό (Δ/ντής: Γ. Κακοσίμος), Παθολογοανατομικό (Δ/ντρια: Καθηγήτρια Ν. Αγνάντη), Μικροβιολογικό (Δ/ντρια: Καθηγήτρια Σ. Λεβειδιώτου-Στεφάνου) και το Σταθμό Αιμοδοσίας (Δ/ντρια: Ε. Ζερβού) για την πραγματοποίηση ενός σημαντικού αριθμού εργαστηριακών και ιστολογικών εξετάσεων στα πλαίσια της παρακολούθησης των ασθενών που εντάχθηκαν στη μελέτη. Για τον ίδιο λόγο ευχαριστώ και το προσωπικό του Ανοσολογικού Εργαστηρίου του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων (Δ/ντής: Καθηγητής Ε.Β. Τσιάνος).

Ελπίζω ότι και η διατριβή αυτή θα συμβάλει στη γνώση και θα αποτελέσει ερέθισμα για μεγαλύτερη έρευνα στο αντικείμενο αυτό. Θα κλείσω αυτό τον πρόλογο με το βραχύ ρητό: «Χάσαμε τη σοφία για χάρη της γνώσης. Χάσαμε τη γνώση για χάρη της πληροφορίας». Όμως, πολλές τέτοιες μικρές πληροφορίες οδήγησαν την ανθρωπότητα και την ιατρική στο υψηλό επίπεδο που βρίσκεται σήμερα.



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	Σελ.
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
Εισαγωγή	21
A. Τα αιμοπετάλια.....	23
Βιοχημεία αιμοπεταλίων	24
Πρωτεΐνες των αιμοπεταλίων	25
Λιπίδια των αιμοπεταλίων	27
Υδρογονάνθρακες των αιμοπεταλίων	28
Προέλευση και παραγωγή των αιμοπεταλίων	28
Ρόλος των αιμοπεταλίων στην αιμόσταση και την πήξη του αίματος	29
Αντιγόνα των αιμοπεταλίων	30
Κοινά αντιγόνα	30
Ειδικά αντιγόνα	32
B. Θρομβοπενία	33
Θρομβοπενία που προκαλείται από καταστροφή των αιμοπεταλίων με ανοσολογικό μηχανισμό	35
Αντι-αιμοπεταλιακά αντισώματα	36
Γ. Διαταραχές των αιμοπεταλίων στους ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια	39
Ποσοτικές διαταραχές των αιμοπεταλίων – Θρομβοπενία	39
Ποιοτικές διαταραχές των αιμοπεταλίων	41
Δ. Ιντερφερόνη-α – Γενική θεώρηση.....	42
Παρενέργειες της θεραπείας με ιντερφερόνη-α.....	44
Ιντερφερόνη-α και θρομβοπενία.....	45
E. Χρόνιες ηπατοπάθειες.....	48
Χρόνια ηπατίτιδα	49
Αιτιολογία χρόνιας ηπατίτιδας.....	49
Κλινική εικόνα	50
Ιστολογική ταξινόμηση	53
Ανοσολογικοί μηχανισμοί ηπατοτοξικότητας.....	54
Αιτιολογία κίρρωσης.....	57
Φυσική ιστορία κίρρωσης	58
ΣΤ. Συνήθεις μορφές χρόνιας ηπατοπάθειας	63
1. Αυτοάνοση ηπατίτιδα.....	63



2. Χρόνια ιογενής ηπατίτιδα.....	67
3. Αλκοολική ηπατοπάθεια.....	70
4. Πρωτοπαθής χολική κίρρωση.....	73

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Σκοπός της μελέτης.....	78
Υλικό	79
Μέθοδοι.....	83
Α. Μέθοδος στερεάς φάσης.....	83
Β. Μέθοδος Έμμεσου Ανοσοφθορισμού.....	90
Στατιστική επεξεργασία.....	92
Αποτελέσματα.....	93
Συζήτηση	105
Συμπεράσματα	116
Περίληψη	117
Summary	121
Βιβλιογραφία.....	125



ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

(ΑΔΑΠ) και σχετικά...
Επισημαίνεται ότι...
Επιπλέον, οι...
Παρατίθενται...

Επισημαίνεται ότι...
Επιπλέον, οι...
Παρατίθενται...

Επισημαίνεται ότι...
Επιπλέον, οι...
Παρατίθενται...

Επισημαίνεται ότι...
Επιπλέον, οι...
Παρατίθενται...

Επισημαίνεται ότι...
Επιπλέον, οι...
Παρατίθενται...

Επισημαίνεται ότι...
Επιπλέον, οι...
Παρατίθενται...

Επισημαίνεται ότι...
Επιπλέον, οι...
Παρατίθενται...



ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η θρομβοπενία ορίζεται ως η ελάττωση του αριθμού των αιμοπεταλίων (ΑΜΠ) στο περιφερικό αίμα και είναι μία συχνή εκδήλωση στα νοσήματα της Εσωτερικής Παθολογίας. Μπορεί να αποτελεί τη μόνη εκδήλωση νόσου, ή να συνδυάζεται με άλλες κλινικές και εργαστηριακές εκδηλώσεις στα πλαίσια του υποκείμενου νοσήματος.

Στους ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια, η εμφάνιση θρομβοπενίας είναι μία σχετικώς συχνή εκδήλωση, ιδιαίτερα μετά την ανάπτυξη κίρρωσεως του ήπατος. Δεν είναι μάλιστα σπάνιες οι περιπτώσεις εκείνες που ο ασθενής με κίρρωση ήπατος προσέρχεται στον ιατρό με αρχικό σύμπτωμα την αιμορραγική διάθεση ή την παρουσία πορφυρικού εξανθήματος από θρομβοπενία. Σε άλλες πάλι περιπτώσεις, η θρομβοπενία με τις συνέπειές της αποτελεί το κύριο πρόβλημα για τον ασθενή με κίρρωση.

Η θρομβοπενία οφείλεται σε τέσσερις κύριους παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς: την ψευδή (πλασματική) θρομβοπενία, την ελαττωμένη παραγωγή ΑΜΠ, την αυξημένη καταστροφή των ΑΜΠ και τέλος την ανώμαλη κατανομή ή λίμναση των ΑΜΠ στο σπλήνα. Η αυξημένη καταστροφή των ΑΜΠ οφείλεται συχνά σε ανοσολογικούς μηχανισμούς και καταστροφή των ΑΜΠ μέσω αυτοαντισωμάτων.

Ο σκοπός της μελέτης αυτής ήταν η εκτίμηση του ρόλου των αντι-αιμοπεταλιακών αντισωμάτων στην πρόκληση της θρομβοπενίας στους ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια. Επίσης εξετάστηκε η επίδραση του ρόλου της θεραπείας με ιντερφερόνη-α στους ασθενείς με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα Β ή C στην εμφάνιση ή όχι αντι-αιμοπεταλιακών αντισωμάτων.

Στο γενικό μέρος περιγράφονται οι ιδιότητες των ΑΜΠ και οι μηχανισμοί της θρομβοπενίας, καθώς και τα αντι-αιμοπεταλιακά αντισώματα. Στη συνέχεια αναπτύσσονται οι διαταραχές των ΑΜΠ στους ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια. Ακολουθεί περιγραφή των ιδιοτήτων και των παρενεργειών της θεραπείας με ιντερφερόνη-α στους ασθενείς με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα με έμφαση στην εμφάνιση θρομβοπενίας. Κατόπιν δίνεται μία ταξινόμηση των ηπατοπαθειών και αναλύονται οι όροι χρόνια ηπατίτιδα και κίρρωση. Τέλος, περιγράφονται μερικές από τις πλέον συνήθεις μορφές χρόνιας ηπατοπάθειας.

Στο ειδικό μέρος περιγράφεται αναλυτικά ο σκοπός της μελέτης, το υλικό των ασθενών που συμμετείχαν στη μελέτη και οι τεχνικές που εφαρμόστηκαν για την

Τα αιμοπετάλια

Τα αιμοπετάλια ανακαλύφθηκαν το 1860 από τον Zimmerman, αλλά ο προσκολλητικός ρόλος τους και η συμμετοχή τους στην πήξη του αίματος και στη θρόμβωση περιγράφηκαν το 1882 από τον Bizzozzo. Η προέλευσή τους από τα μεγακαρυοκύτταρα αναδείχθηκε από τις μελέτες του Wright¹.

Τα αιμοπετάλια (ΑΜΠ) του περιφερικού αίματος παρουσιάζουν ετερογένεια όσον αφορά το σχήμα, την πυκνότητα και τα χαρακτηριστικά στις διάφορες χρώσεις. Επίσης η μορφολογία τους εξαρτάται από την μέθοδο απομόνωσης και εξέτασής τους, το χρησιμοποιούμενο αντιπηκτικό και τη θερμοκρασία². Σε υγρά παρασκευάσματα τα ΑΜΠ είναι άχρωμα, μετρίως διαθλαστικά σωματίδια δισκοειδούς ή ελλειπτικού σχήματος. Στην εξέταση σε σκοτεινό πεδίο, είναι ημιδιαφανή με τραχύ περίγραμμα και φέρουν λίγα ακίνητα κοκκία στο κέντρο τους. Σε χρώσεις του περιφερικού αίματος, τα ΑΜΠ είναι σφαιρικά, οβάλ ή σχήματος ραβδίου. Αζουρόφιλα κοκκία διακρίνονται σε ένα υαλώδες ελαφρώς κυανού χρώματος κυτταρόπλασμα. Τα κοκκία αυτά βρίσκονται συμπυκνωμένα στο κεντρικό μέρος του αιμοπεταλίου και δίνουν την εντύπωση πυρήνα, το μέρος δε που καταλαμβάνουν ονομάζεται *κοκκιομερές* σε αντίθεση με το υπόλοιπο μέρος του κυτταροπλάσματος που ονομάζεται *υαλομερές*. Τα αιμοπετάλια έχουν μέση διάμετρο 3,6 μm, μέσο πάχος 0,9 μm και μέσο όγκο 4-8 μm³.

Οι διαστάσεις των ΑΜΠ μπορεί να είναι αυξημένες (σε ποσοστό μεγαλύτερο του 10%, μεγαθρομβοκύτταρα) σε καταστάσεις με αυξημένη καταστροφή των αιμοπεταλίων⁴. Στις καταστάσεις αυτές μπορεί να συνυπάρχει αδρή ή ελαττωμένη κοκκίωση των ΑΜΠ και βασεόφιλο κυτταρόπλασμα. ΑΜΠ με γιγάντια κοκκία πήξης έχουν παρατηρηθεί σε ασθενείς με ανθεκτική αναιμία ή μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα, καθώς και αποθηκευμένα προϊόντα αίματος^{5,6}. Μικρού μεγέθους ΑΜΠ (στους αυτόματους μετρητές) ανευρίσκονται στην απλαστική αναιμία, στον υπερσπληνισμό και στη θρομβοπενία από σήψη⁷. Αντίθετα, μεγάλα και ανώμαλα ΑΜΠ ανευρίσκονται μετά από σπληνεκτομή, καθώς και σε ασθενείς με μυελοσκλήρυνση, θρομβοκυττάρωση μετά αιμορραγία και αληθή πολυκυτταραιμία.

Η μεμβράνη των ΑΜΠ έχει πάχος 7,5 nm και έχει μικρές εσοχές που αντιπροσωπεύουν τα εξωτερικά στόμια του σωληνοειδούς συστήματος. Το σύστημα αυτό είναι ένα δίκτυο μικροσκοπικών αγγείων και συνδετικών καναλιών που επεκτείνονται σε ολόκληρο το κυτταρόπλασμα και επικοινωνούν με την κυτταρική

επιφάνεια. Με το σύστημα αυτό, επιτυγχάνεται η αποβολή του περιεχομένου των οργανυλλίων και κοκκίων των αιμοπεταλίων προς το εξωτερικό περιβάλλον⁸.

Η μεμβράνη των αιμοπεταλίων καλύπτεται εξωτερικά από επιφανειακό κάλυμα (γλυκοκάλυκας), που είναι ένα χνουδωτό ανώμαλο στρώμα πάχους 10-50 nm. Το επιφανειακό αυτό κάλυμμα αποτελείται από πρωτεΐνες, γλυκοπρωτεΐνες και βλεννοπολυσακχαρίτες, ενώ περιέχει μεγάλες ποσότητες σιαλικών οξέων⁹. Πιθανώς αποτελεί την «πλασματική απορροφητική ατμόσφαιρα» του ΑΜΠ και μπορεί να αποτελεί ένα δομικά οργανωμένο συστατικό στρώμα της κυτταρικής μεμβράνης¹⁰.

Το κυτταρόπλασμα των ΑΜΠ περιέχει μεγάλη ποσότητα μικρονηματίων που επεκτείνονται μέχρι την κυτταρική μεμβράνη. Διάφορα κοκκία είναι επίσης παρόντα στο κυτταρόπλασμα, δηλαδή: (1) Τα *α-κοκκία*, που είναι τα μεγαλύτερα κοκκία στα ΑΜΠ, έχουν διαστάσεις 300-500 nm και περιέχουν πάνω από 20 πρωτεΐνες: τις ειδικές των ΑΜΠ πρωτεΐνες (παράγον αιμοπεταλίων 4, β-θρομβοσφαιρίνη, θρομβοσπονδίνη και αυξητικός παράγον των αιμοπεταλίων – PDGF) και τις πρωτεΐνες που είναι ομόλογες των πρωτεϊνών του πλάσματος¹¹. (2) Τα *πυκνά σωμάτια* (μάτια ταύρου, σκούρα σωμάτια), διαστάσεων 0,05-0,15 μm που περιέχουν σεροτονίνη, νουκλεοτίδια (ADP, ATP, GTP, GDP), ασβέστιο και ανόργανο πυροφωσφορικό και ορθοφωσφορικό¹². (3) Τα *λυσosomalία*, που περιέχουν υδρολάση. (4) Τα *υπεροξωσomalία*, που περιέχουν καταλάση. (5) Τα *μικρά μιτοχόνδρια*. (6) *Κοκκία γλυκογόνου, κοκκία φερριτίνης, έγκλειστα λίπους κ.α.*

Βιοχημεία ΑΜΠ

Το ΑΜΠ είναι το μικρότερο κύτταρο με τόσο θαυμαστές μεταβολικές ιδιότητες. Περιέχει πάνω από 90 ένζυμα και έχει μεγάλη συνθετική ικανότητα και δυνατότητα να συσπάται και να εκκρίνει δραστικές ουσίες με τα κατάλληλα ερεθίσματα. Το ΑΜΠ περιέχει 60% πρωτεΐνες, 15% λιπίδια, 8% υδατάνθρακες. Τα κύρια μεταλλικά στοιχεία που περιέχει είναι το μαγνήσιο, το ασβέστιο, το κάλιο και ο ψευδάργυρος. Η ενδοκυττάρια συγκέντρωση του νατρίου στα ΑΜΠ είναι 39mEq/L και του καλίου 138mEq/L και η διαφορά αυτή σε σχέση με το πλάσμα διατηρείται με τη βοήθεια μιας αντλίας Na-K που δαπανά ενέργεια. Τα ΑΜΠ περιέχουν επίσης μικρές συγκεντρώσεις ασβεστίου που βρίσκεται κυρίως αποθηκευμένο στο τραχύ ενδοπλασματικό δίκτυο. Επιπλέον τα ΑΜΠ περιέχουν σημαντικές ποσότητες βιταμίνης B₁₂, φυλλικού οξέος και ασκορβικού οξέος.



Ο ενεργειακός μεταβολισμός των ΑΜΠ προσομοιάζει με αυτόν των σκελετικών μυών και περιλαμβάνει τη γλυκόλυση και τη σύνθεση και χρησιμοποίηση μεγάλων ποσοτήτων γλυκογόνου μέσω ενός ενεργειακού μεσολαβητή (σαν την ακτομουσίνη), της τριφωσφατάσης της αδενοσίνης. Τα ΑΜΠ έχουν τη δυνατότητα, όπως και οι μυς, να απελευθερώνουν μεγάλες ποσότητες ενέργειας γρήγορα όταν αυτό απαιτείται, όπως π.χ. κατά τη συσσώρευσή τους και το σχηματισμό θρόμβου. Η οξειδωτική φωσφορυλίωση συντελεί στην παραγωγή ενέργειας στο ΑΜΠ όταν αυτό βρίσκεται σε συνθήκες ηρεμίας, ενώ η αναερόβια γλυκόλυση εξασφαλίζει τη μεγάλη ποσότητα ενέργειας που χρειάζεται σε συνθήκες ενεργοποίησης του ΑΜΠ¹³.

Πρωτεΐνες των ΑΜΠ

Το ΑΜΠ έχει προσομοιαστεί με σπύγγο λόγω της μεγάλης ικανότητας του να απορροφά διάφορες ουσίες από το πλάσμα: όπως πρωτεΐνες, αμινοξέα, ισταμίνη, ιόντα και διάφορα φάρμακα. Οι πρωτεΐνες των ΑΜΠ είναι διάφορων ειδών και θα αναφερθούν συνοπτικά παρακάτω:

1) Ειδικές πρωτεΐνες των ΑΜΠ

Στην κατηγορία αυτή υπάρχουν διάφορες πρωτεΐνες με ιδιαίτερη λειτουργική σημασία. Αυτές είναι:

- i) ο παράγων των ΑΜΠ 4 (platelet factor 4, PF-4) που έχει την ιδιότητα να αδρανοποιεί την ηπαρίνη, να διευκολύνει τη συσσώρευση των ΑΜΠ μέσω ADP και να αδρανοποιεί τις κολλαγενάσες του δέρματος και των ουδετεροφύλων
- ii) η β-θρομβοσφαιρίνη (β-thromboglobulin), που έχει ανάλογες ιδιότητες με τον PF-4, ενώ επιπλέον ενέχεται στο μηχανισμό της θρομβώσεως μέσω προσκόλλησης στα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων και αναστολής της έκκρισης της προστακυκλίνης
- iii) ο αυξητικός παράγων των αιμοπεταλίων (platelet-derived growth factor, PDGF) που είναι ο κύριος αυξητικός παράγων στον ορό, διεγείροντας την ανάπτυξη των ενδοθηλιακών κυττάρων, των λείων μυικών κυττάρων, των ινοβλαστών και προκαλώντας και χημειοταξία των ινοβλαστών
- iv) η θρομβοσπονδίνη, που εκκρινόμενη από τα α-κοκκία συνδέεται στη μεμβράνη των ΑΜΠ και διεγείρει την αιμοσυγκόλληση των ΑΜΠ, τη συσσώρευση αυτών και τα αρχικά στάδια σχηματισμού της ινκής¹⁴.

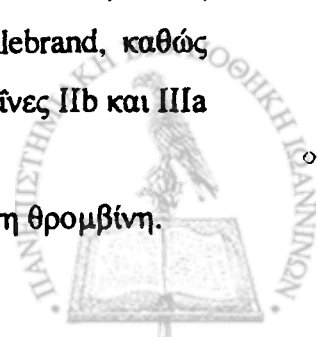
2) Συσταλτές πρωτεΐνες των ΑΜΠ

Εδώ εντάσσεται η ακτομυοσίνη των ΑΜΠ (θρομβοσθενίνη) που είναι συσταλή πρωτεΐνη και αποτελεί το 15-20% του συνόλου των πρωτεϊνών του ΑΜΠ. Αποτελείται από δύο συστατικά, την ακτίνη των ΑΜΠ (θρομβοσθενίνη Α) και τη μυοσίνη των ΑΜΠ (θρομβοσθενίνη Μ)¹⁵. Το σύστημα ακτομυοσίνης των ΑΜΠ προσομοιάζει το αντίστοιχο σύστημα των σκελετικών μυών. Έτσι, η μυοσίνη των ΑΜΠ συνδέεται με την ακτίνη, δεσμεύει το ADP, λειτουργεί ως Mg^{2+}/Ca^{2+} -ενεργοποιούμενη ΑΤΡάση, έχει ενζυμική δραστηριότητα που ενεργοποιείται από τα νημάτια ακτίνης και σχηματίζει με την ακτίνη συσταλή μονάδα ανάλογη με το σαρκομερές των μυών.

3) Γλυκοπρωτεΐνες των ΑΜΠ

Οι γλυκοπρωτεΐνες είναι σημαντικά δομικά συστατικά της κυτταρικής μεμβράνης των ΑΜΠ με ουσιώδεις λειτουργικές ιδιότητες^{16,17}. Επιπλέον αποτελούν στόχο αυτοαντισωμάτων κατά των ΑΜΠ. Αυτές είναι:

- i) Η γλυκοπρωτεΐνη Ia (GP Ia). Περιέχει σημαντικές ποσότητες σιαλικού οξέος και καθορίζει το φορτίο της μεμβράνης, ενώ επιδρά σε αλληλεπιδράσεις των ΑΜΠ με το κολλαγόνο.
- ii) Η γλυκοπρωτεΐνη Ib (GP Ib). Αποτελείται από δύο πεπτιδικές αλυσίδες τις GP Ib α και GP Ib β. Είναι μία διαμεμβρανική πρωτεΐνη που περιέχει συνδετικές θέσεις για τον παράγοντα von Willebrand, τη θρομβίνη, τη ριστοεΐνη, καθώς και για αυτοαντισώματα κατά της κινιδίνης. Απουσιάζει στο σύνδρομο Bernard-Soulier.
- iii) Η γλυκοπρωτεΐνη IIb (GP IIb). Αποτελείται από δύο αλυσίδες, τις GP IIb α και GP IIb β. Το μόριο περιέχει 15% υδρογονάνθρακες και πολύ λίγο σιαλικό οξύ.
- iv) Η γλυκοπρωτεΐνη IIIa (GP IIIa). Περιέχει ένα μεγάλο αριθμό δισουλφιδικών δεσμών. Αποτελεί θέση προσκόλλησης των PLA-1 αλλοαντισωμάτων. Οι πρωτεΐνες GP IIb και IIIa σχηματίζουν ένα σύμπλεγμα μεγάλης σημασίας που ανιχνεύεται κυρίως στα ενεργοποιημένα ΑΜΠ. Το σύμπλεγμα αυτό αποτελεί τη θέση προσκόλλησης του ινωδογόνου, του παράγοντα von Willebrand, καθώς και διαφόρων αυτοαντισωμάτων κατά των ΑΜΠ. Οι πρωτεΐνες IIb και IIIa απουσιάζουν στη θρομβασθένεια Glanzmann.
- v) Η γλυκοπρωτεΐνη V (GP V). Αποτελεί το υπόστρωμα για τη θρομβίνη.



- vi) Η γλυκοπρωτεΐνη IX (GP IX). Είναι μικρή πρωτεΐνη που συνδέεται με την πρωτεΐνη GP Ib. Το σύμπλεγμα αποτελεί στόχο αυτοαντισωμάτων.
- vii) Διάφορες άλλες γλυκοπρωτεΐνες, όπως η Ic, VI, VII, VIII με μικρότερη σημασία και άγνωστη δράση.

4) Παράγοντες πήξης των ΑΜΠ

Στην κατηγορία αυτή υπάγονται πρωτεΐνες των ΑΜΠ που διαδραματίζουν ρόλο στο μηχανισμό της πήξης. Ο παράγων 1 (PF-1) αντιστοιχεί στον παράγοντα πήξης 5 του πλάσματος. Ο παράγων 2 (PF-2, ενεργοποιητής του ινωδογόνου) *in vitro* αναστέλλει την αντιθρομβίνη III ενώ προάγει τη συσσώρευση των ΑΜΠ και την αντίδραση του ινωδογόνου με τη θρομβίνη. Ο παράγων 3 (PF-3), έχει ιδιαίτερη σημασία στην πήξη του αίματος και είναι μία λιποπρωτεΐνη που έχει την ιδιότητα να προσκολλά τους παράγοντες πήξεως του αίματος στην επιφάνεια του ΑΜΠ. Σχηματίζει σύμπλοκο με το ασβέστιο και αποκτά ενζυμική δράση, ενεργοποιώντας π.χ. την προθρομβίνη ή τον παράγοντα πήξεως V του πλάσματος. Ο παράγων 4 (PF-4) αναφέρθηκε πριν. Ο παράγων 5 (PF-5) αντιστοιχεί στο ινωδογόνο των ΑΜΠ. Ο παράγων 6 (PF-6) είναι ένας αναστολέας της πλασμίνης. Οι παράγοντες 7 ως 10 έχουν μικρότερη σημασία.

5) Παράγοντες πήξης του πλάσματος σχετιζόμενοι με τα ΑΜΠ

Τα ΑΜΠ περιέχουν σημαντικές ποσότητες παραγόντων πήξεως του πλάσματος. Μερικοί από τους παράγοντες αυτούς (ινωδογόνο, παράγων von Willebrand, παράγων V και ΗΜW κινινογόνο) συντίθενται στα μεγακαρυοκύτταρα, αποθηκεύονται στα α-κοκκία και εκκρίνονται όταν τα ΑΜΠ ενεργοποιούνται. Ο παράγων von Willebrand ενέχει σημαντικό ρόλο στην προσκόλληση των ΑΜΠ.

6) Διάφορες πρωτεΐνες των ΑΜΠ

Η τουμπουλίνη (tubuline) είναι η κύρια δομική πρωτεΐνη των σωληνωδών συστημάτων των ΑΜΠ. Η φμπρονεκτίνη εκκρίνεται από τα α-κοκκία και η ακριβής της δράσης είναι άγνωστη. Διάφορες πρωτεάσες έχουν ανευρεθεί στα ΑΜΠ: η α1-αντιθρυψίνη, η α2-μακροσφαιρίνη, ο C1-αναστολέας και η α2-αντιπλασμίνη¹⁸.

Λιπίδια των ΑΜΠ

Τα ΑΜΠ συνθέτουν τόσο λιπαρά οξέα όσο και φωσφολιπίδια. Επιπλέον έχουν την ιδιότητα να προσλαμβάνουν φωσφολιπίδια από το πλάσμα, κυρίως λεκιθίνη και ισολεκιθίνη. Τα φωσφολιπίδια αποτελούν το 80% των συνολικών λιπιδίων των ΑΜΠ¹⁹.



Ο μηχανισμός σύνθεσης προσταγλανδινών και θρομβοξάνης από τα φωσφολιπίδια της μεμβράνης μέσω του αραχιδονικού οξέος είναι υπαρκτός στα ΑΜΠ και φαίνεται ότι έχει ρυθμιστικό ρόλο στη λειτουργία των ΑΜΠ.

Υδρογονάνθρακες των ΑΜΠ

Οι υδρογονάνθρακες των ΑΜΠ αποτελούνται κυρίως από το γλυκογόνο, που αποτελεί αποθηκευμένη πηγή ενέργειας. Σύμπλοκα διαφόρων σακχαριτών που περιέχουν σιαλικό οξύ βρίσκονται στη μεμβράνη των ΑΜΠ και αποτελούν θέσεις υποδοχής ενζύμων. Επίσης, διάφορα γλυκολιπίδια και σιαλογλυκοπρωτεΐνες βρίσκονται σε διάφορους υποδοχείς και μεταφορικές αντλίες των ΑΜΠ. Μουκοπολυσακχαρίτες και μονοσακχαρίτες έχουν επίσης βρεθεί στα ΑΜΠ²⁰.

Προέλευση και παραγωγή των ΑΜΠ

Τα αιμοπετάλια παράγονται από τα μεγακαρυοκύτταρα, τα οποία με τη σειρά τους προέρχονται από τα πολυδύναμα αρχέγονα κύτταρα του μυελού των οστών (CFU-Meg). Τα αρχέγονα αυτά κύτταρα ωριμάζουν αρχικά σε μεγακαρυοβλάστες και στη συνέχεια σε ώριμα μεγακαρυοκύτταρα²¹. Η παραγωγή των ΑΜΠ γίνεται κυρίως στο μυελό των οστών. Ωστόσο άωρα μεγακαρυοκύτταρα βρίσκονται στην κυκλοφορία και πιθανώς ωριμάζουν και παράγουν ΑΜΠ σε εξωμυελικές θέσεις όπως ο σπλήνας ή το ήπαρ²².

Η ανάπτυξη και ωρίμανση των μεγακαρυοκυττάρων αναστέλλεται από την ιντερφερόνη²³. Επιπλέον και διάφοροι άλλοι αυξητικοί παράγοντες και κυτταροκίνες επιδρούν στη θρομβοποίηση και την αιμοποίηση γενικότερα (IL-3, GM-CSF, G-CSF, M-CSF,ερυθροποιητίνη, TNF- α , TGF- β , IL-6, IL-9 κ.α.)^{24,25}.

Καθοριστικό ρόλο στην παραγωγή των ΑΜΠ διαδραματίζει ένας αυξητικός παράγοντας που ταυτοποιήθηκε πρόσφατα, η θρομβοποιητίνη και παρουσιάζει ομολογία με την ερυθροποιητίνη²⁶. Το γονίδιο της θρομβοποιητίνης βρίσκεται στο χρωμόσωμα 3. Ως υποδοχέας της θρομβοποιητίνης θεωρείται το c-mpl πρωτοογκογονίδιο, που εκφράζεται στα μεγακαρυοκύτταρα, τα ΑΜΠ, τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα CD₃₄ κύτταρα²⁷. Η θρομβοποιητίνη αυξάνεται σε καταστάσεις θρομβοπενίας, και φαίνεται ότι παράγεται κυρίως στο ήπαρ και τους νεφρούς.

Ο σπλήνας αποτελεί θέση αποθήκευσης και καταστροφής των ΑΜΠ, ενώ φαίνεται ότι εξασκεί και ρυθμιστική δράση στην παραγωγή των ΑΜΠ²⁸. Για την

επαρκή θρομβοποίηση απαραίτητες είναι ικανές ποσότητες σιδήρου, βιταμίνης B₁₂ και φυλλικού οξέος²⁹.

Τα αιμοπετάλια ζουν 9-12 ημέρες και καταστρέφονται κυρίως στο σπλήνα, αλλά και το ήπαρ, από τα μακροφάγα του δικτυοενδοθηλιακού συστήματος. Υπάρχει ισοζύγιο ανάμεσα στην παραγωγή και την καταστροφή των ΑΜΠ. Στο σπλήνα υπάρχει η λεγόμενη σπληνική δεξαμενή των ΑΜΠ (περιλαμβάνει το 1/3 του συνόλου των ΑΜΠ. Τα ΑΜΠ της δεξαμενής αυτής απελευθερώνονται σε καταστάσεις στρες του οργανισμού ή μετά ένεση επινεφρίνης³⁰. Θεωρείται ότι υπάρχει και αντίστοιχη εξωσπληνική δεξαμενή των ΑΜΠ, που απελευθερώνει ΑΜΠ σε καταστάσεις στρες του οργανισμού, όπως η σωματική άσκηση³¹.

Ρόλος των αιμοπεταλίων στην αιμόσταση και την πήξη του αίματος

Στα θηλαστικά και τον άνθρωπο τα αιμοπετάλια έχουν καθοριστική σημασία στην αιμόσταση και το σχηματισμό του πρωτογενούς θρόμβου. Υπό φυσιολογικές συνθήκες τα ΑΜΠ δεν προσκολλώνται στο ενδοθήλιο των αγγείων. Ερχόμενα όμως σε επαφή με καταστραμμένη αγγειακή επιφάνεια, ενεργοποιούνται από το κολλαγόνο, τη φμπρονεκτίνη και τον παράγοντα von Willebrand και προσκολλώνται στις υποενδοθηλιακές δομές μέσω σύνδεσης της γλυκοπρωτεΐνης Ib με τον υποενδοθηλιακό παράγοντα von Willebrand. Ακολουθεί έξαρση της μεταβολικής δραστηριότητας των ΑΜΠ και σύνθεση διάφορων ενδοκυττάρων μεσολαβητών και δραστικών ουσιών (σύμπλεγμα GP IIb/IIIa, υποδοχείς ινωδογόνου, Ca²⁺, ADP). Στη συνέχεια τα ΑΜΠ αλλάζουν σχήμα και από δισκοειδή γίνονται σφαιρικά με μικρές προεξοχές (μέσω του συστήματος ακτίνης-μυοσίνης που διαθέτουν) και συσσωρεύονται στη θέση της βλάβης. Η απελευθέρωση ADP in vitro και θρομβοξανθής A₂ in vivo από τα ενεργοποιημένα ΑΜΠ, καθώς και άλλων παραγόντων (θρομβίνη, κολλαγόνο) ενισχύουν την περαιτέρω συσσώρευση και ενεργοποίηση των ΑΜΠ. Ο αιμοπεταλιακός παράγων 3 (PF-3) και άλλοι πρόδρομοι παράγοντες που εκκρίνονται από τα ενεργοποιημένα ΑΜΠ, ενεργοποιούν το μηχανισμό της πήξης και έτσι ο πρωτογενής θρόμβος αντικαθίσταται με το δευτερογενή θρόμβο ινικής^{32,33}.

Άλλες λειτουργίες των ΑΜΠ περιλαμβάνουν τη σταθεροποίηση του τοιχώματος των αγγείων και ενίσχυση του ενδοθηλίου, τη μεταφορά διαφόρων ουσιών, την έκκριση φλεγμονωδών μεσολαβητών και κάποιες ιδιότητες φαγοκυττάρωσης και απομάκρυνσης ορισμένων ουσιών από το πλάσμα. Θα πρέπει

να τονιστεί για άλλη μία φορά ότι το ΑΜΠ είναι ένα μικροσκοπικό κύτταρο που ζει λίγες ημέρες μόνο, αλλά έχει θαυμαστές μεταβολικές ιδιότητες.

Αντιγόνα των ΑΜΠ

Τα ΑΜΠ διαθέτουν αντιγόνα κοινά με άλλα κύτταρα του οργανισμού ή απολύτως ειδικά για τα ΑΜΠ. Τα αντιγόνα αυτά μπορεί να δημιουργούν ασυμβατότητες κατά τη μετάγγιση αίματος ή να σχετίζονται με την εμφάνιση αυτοάνοσης θρομβοπενίας.

Κοινά αντιγόνα

Αντιγόνα ερυθρών αιμοσφαιρίων στα ΑΜΠ: Αντιγόνα του συστήματος ABO εκφράζονται στη μεμβράνη των ΑΜΠ, όπως έχει δειχθεί με διάφορες μεθόδους (ανοσοενζυμική μέθοδο, ανοσοφθορισμό με κυτταρομετρία ροής και χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων). Πιθανώς τα αντιγόνα A και B απορροφώνται από το πλάσμα στη μεμβράνη των ΑΜΠ. Επίσης οι πρόδρομοι ολιγοσακχαρίτες I και II ανιχνεύονται στη μεμβράνη των ΑΜΠ (ο τύπος I είναι ενδογενής και ο τύπος II απορροφάται από το πλάσμα). Το αντιγόνο Le απορροφάται από τα Le (α-β-) ΑΜΠ. Τα αντιγόνα των συστημάτων Ii και P εκφράζονται στα ΑΜΠ, ενώ απουσιάζουν τα αντιγόνα των συστημάτων Rh, Duffy, Kidd, Kell, Ss, MN και Lutheran. Η ασυμβατότητα ABO οδηγεί σε μειωμένη επιβίωση των μεταγγιζόμενων ΑΜΠ, αλλά δεν αποτελεί αντένδειξη για μετάγγιση^{34,35}.

HLA αντιγόνα: Θα προηγηθεί μία εισαγωγή για το μείζον σύστημα ιστοσυμβατότητας και τα αντιγόνα HLA. Η λειτουργία του ανοσολογικού συστήματος βρίσκεται υπό γενετικό έλεγχο³⁶. Έτσι διάφορα πειραματόζωα αντιδρούν σε ένα ερέθισμα και άλλα όχι³⁷. Ανοσογενετικές μελέτες και μελέτες σε επίπεδο μοριακής γενετικής οδήγησαν σε εντοπισμό των μηχανισμών με τους οποίους οι διάφοροι γόνιοι και τα προϊόντα τους ρυθμίζουν τη δράση του ανοσολογικού συστήματος³⁸.

Οι γόνιοι που καθορίζουν τις ανοσολογικές λειτουργίες έχουν εντοπισθεί σε μία χρωμοσωμική περιοχή γνωστή ως το *μείζον σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας* (major histocompatibility complex – MHC). Ο όρος αυτός αναφέρεται σε μία αλληλουχία νουκλεοτιδίων που περιέχουν γόνους που κωδικοποιούν τη δομή μορίων – στόχων σε αντιδράσεις μεταμοσχεύσεως, εξού και ο όρος ιστοσυμβατότητα. Εκτός από τα κλασικά αντιγόνα μεταμοσχεύσεως η περιοχή του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας περιέχει γόνους οι οποίοι κωδικοποιούν αντιγόνα που ενέχονται σε

κυτταρικές αντιδράσεις. Στον άνθρωπο το μείζον σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας ονομάζεται «ανθρώπεια λευκοκυτταρικά αντιγόνα» (Human Leukocyte Antigens - HLA) και βρίσκεται στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 6.

Οι γόνι του μείζονος συστήματος ιστοσυμβατότητας χωρίζονται σε τρεις ομάδες: 1) Τάξεως I γόνι που κωδικοποιούν τα κλασσικά αντιγόνα των μεταμοσχεύσεων. 2) Τάξεως II γόνι που κωδικοποιούν μόρια που εκφράζονται στα κύτταρα του ανοσολογικού συστήματος (γνωστά επίσης και ως αντιγόνα Ia) και 3) Τάξεως III γόνι που κωδικοποιούν μερικά συσσιατικά του συστήματος του συμπληρώματος. Οι ανθρώπειοι γόνι τάξεως I βρίσκονται στις περιοχές A, B, και C (πχ αντιγόνο HLA-B27), ενώ οι γόνι τάξεως II βρίσκονται στην περιοχή D του βραχέος σκέλους του χρωμοσώματος 6³⁹. Οι γόνι τάξεως II κωδικοποιούν γλυκοπρωτείνες που ρυθμίζουν τις κυτταρικές αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στα μακροφάγα και τα T λεμφοκύτταρα ή ανάμεσα στα T και B λεμφοκύτταρα. Οι πρωτείνες αυτές (αντιγόνα Ia) εκφράζονται κυρίως στα B λεμφοκύτταρα και τα μακροφάγα και λιγότερο στα T λεμφοκύτταρα.

Οι πρωτείνες των γόνων τάξεως I και II του συστήματος HLA παρουσιάζουν πολλά κοινά χαρακτηριστικά και αποτελούνται από δύο πολυπεπτιδικές αλυσίδες και διαιρούνται σε 4 περιοχές. Παρουσιάζουν εξαιρετικό πολυμορφισμό που αποδίδεται στην προσπάθεια εξουδετέρωσης ποικίλων αντιγόνων - εισβολέων. Οι λειτουργίες των προϊόντων του συστήματος HLA είναι η παρουσίαση των αντιγόνων στα T λεμφοκύτταρα και η ρύθμιση των κυτταρικών επιδράσεων κατά τη διάρκεια μιας ανοσολογικής απάντησης⁴⁰. Η ρύθμιση αυτή συνήθως συνίσταται σε έναν περιορισμό των αλληλεπιδράσεων μεταξύ διαφορετικών τύπων κυττάρων. Αυτός ο λεγόμενος περιορισμός HLA από τα στοιχεία περιορισμού έχει αντίκτυπο στη ρυθμιστική και εκτελεστική λειτουργία των T λεμφοκυττάρων⁴¹.

Μελέτες πληθυσμών και οικογενειών έχουν δείξει συσχέτιση ορισμένων νοσημάτων με συγκεκριμένους HLA φαινοτύπους (πχ HLA-B27 φαινότυπος και αγκυλοποιητική σπονδυλαρθρίτιδα). Ο ακριβής μηχανισμός συσχέτισης νόσου και HLA φαινοτύπου είναι άγνωστος, πιθανολογείται όμως πως το HLA ενεχόμενο αντιγόνο ενεργοποιεί την ανοσολογική απάντηση σε ένα συγκεκριμένο αντιγόνο οδηγώντας στην ανάπτυξη της νόσου ή μμείται το ίδιο το αντιγόνο τον αιτιολογικό παράγοντα της νόσου⁴².

Τα HLA αντιγόνα τάξεως I εκφράζονται στα AMΠ, ενώ τα αντιγόνα HLA τάξεως II όχι. Τα HLA αντιγόνα τάξεως I συντίθενται ενδογενώς και αποτελούν

συστατικό της μεμβράνης των ΑΜΠ, εκφράζονται δε σε μεγάλους αριθμούς (1000-10.000 αντιγόνα στη μεμβράνη ενός ΑΜΠ). Φαίνεται δε ότι παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη αντοχής στη μετάγγιση ΑΜΠ. Ασθενείς που έχουν αναπτύξει αλλοανοσοποίηση τέτοιου τύπου πρέπει να μεταγγίζονται με ΗΛΑ συμβατά ΑΜΠ⁴³⁻⁴⁴.

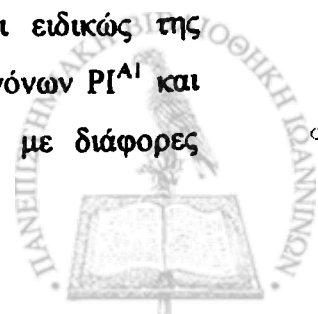
Ειδικά αντιγόνα των αιμοπεταλίων

Τα αντιγόνα αυτά έχουν εντοπιστεί σε ασθενείς με μετά-μετάγγιση θρομβοπενία⁴⁴ είτε σε μητέρες νεογνών με νεογνική θρομβοπενία από αλλοανοσοποίηση. Τα αντιγόνα αυτά και τα αντιγονικά συστήματα των ΑΜΠ περιγράφονται στον ακόλουθο πίνακα⁴⁵.

Αντιγονικά συστήματα	Γλυκοπρωτεΐνη θέσης του αντιγόνου	Αντιγόνα	Συχνότητα Φαινοτύπου (%)
HPA-1 (PI ^A , Zw)	GPIIIa	HPA-1a (PI ^{A1} , Zw ^a)	97-99
		HPA-1b (PI ^{A2} , Zw ^b)	3,7-26,8
HPA-2 (Ko Sib)	GPIb	HPA-2a (Ko ^b)	99,4
		HPA-2b (Ko ^a , Sib ^a)	12-15,3
HPA-3 (Bak, Lek)	GPIIb	HPA-3a (Bak ^a , Lek ^a)	78,9-90,7
		HPA-3b (Bak ^b)	66-70,7
HPA-4 (Pen, Yuk)	GPIIIa	HPA-4a (Pen ^a , Yuk ^b)	99-99,9
		HPA-4b (Pen ^b , Yuk ^a)	0-1,6
HPA-5 (Br, Hc, Zav)	GPIa	HPA-5a (Br ^b , Zav ^b)	99,2
		HPA-5b (Br ^a , Zav ^a , Hc ^a)	20,6

Το πιο σημαντικό αντιγονικό σύστημα των ΑΜΠ είναι το ΗΡΑ-1. Το αντιγόνο του συστήματος αυτού PI^{A1} έχει συσχετιστεί με τη θρομβοπενία από αλλοανοσοποίηση κατόπιν μετάγγισης αίματος⁴⁶ και με νεογνική θρομβοπενία, λόγω ανάπτυξης αντισωμάτων κατά του αντιγόνου αυτού στην PI^{A1} αρνητική μητέρα που καταστρέφουν τα ΑΜΠ του PI^{A1} θετικού νεογνού⁴⁴. Εξάλλου αντισώματα κατά του αντιγόνου PI^{A1} μπορούν να προκαλέσουν δυσλειτουργία της γλυκοπρωτεΐνης GPIIIa και κατά συνέπεια ποιοτική διαταραχή των ΑΜΠ που προσομοιάζει προς τη θρομβασθένεια του Glanzmann^{47,48}.

Άλλα αντιγόνα των ΑΜΠ αποτελούν στόχο διάφορων αυτοαντισωμάτων. Στους ασθενείς με ιδιοπαθή αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα, το αυτοαντίσωμα κατευθύνεται εναντίον αντιγόνων της μεμβράνης του ΑΜΠ και ειδικώς της γλυκοπρωτεΐνης IIb/IIIa, αλλά όχι έναντι των γνωστών ειδικών αντιγόνων PI^{A1} και Bak⁴⁹. Έχουν επίσης περιγραφεί αυτοαντισώματα που αντιδρούν με διάφορες



πρωτεΐνες των ΑΜΠ προκαλώντας ποιοτικές διαταραχές των ΑΜΠ τύπου θρομβασθένειας⁴⁷ ή συνδρόμου Bernard Soulier⁵⁰.

Σε κρυπτοαντιγόνα των ΑΜΠ οφείλεται και η *ψευδοθρομβοπενία*. Στην κατάσταση αυτή, αυτόματη συγκόλληση των ΑΜΠ επισυμβαίνει σε αίμα που συλλέγεται με EDTA λόγω παρουσίας αυτοαντισωμάτων που στρέφονται έναντι αντιγόνων του συμπλέγματος γλυκοπρωτεϊνών IIb/IIIa της μεμβράνης των ΑΜΠ. Τα αντιγόνα αυτά είναι κρυπτοαντιγόνα και δεν εκφράζονται στα φυσιολογικά κυκλοφορούντα ΑΜΠ. Αντίθετα, γίνονται ορατοί στόχοι των αυτοαντισωμάτων στο αίμα που συλλέγεται με EDTA, λόγω δομικών αλλαγών στη δομή της μεμβράνης των ΑΜΠ από το αντυπηκτικό (που προκαλούνται από μετακίνηση ιόντων Ca^{2+})⁵¹.

Θρομβοπενία

Η θρομβοπενία αποτελεί την κατάσταση εκείνη στην οποία ανευρίσκεται μειωμένος αριθμός ΑΜΠ στο περιφερικό αίμα. Είναι το συχνότερο αίτιο αιμορραγίας. Η θρομβοπενία οφείλεται σε τέσσερις βασικούς μηχανισμούς: την ψευδή θρομβοπενία, την ελαττωμένη παραγωγή ΑΜΠ, την αυξημένη καταστροφή ΑΜΠ και την ανώμαλη κατανομή ή λίμναση των ΑΜΠ.

Η *ψευδής (artificial) θρομβοπενία* οφείλεται, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, σε συγκόλληση των ΑΜΠ, λόγω ανοσοσφαιρινών (IgG, IgA, IgM) που ενεργοποιούνται από το αντυπηκτικό (κυρίως EDTA) και προσκολλώνται κυρίως στη γλυκοπρωτεΐνη GPIIb/IIIa της μεμβράνης των ΑΜΠ⁵¹. Σπανιότερα αίτια ψευδούς θρομβοπενίας είναι η παρουσία γιγάντιων ΑΜΠ και η συσσώρευση των ΑΜΠ με τη μορφή δορυφόρων γύρω από τα πολυμορφοπύρηνα^{52,53}.

Η *ελαττωμένη παραγωγή ΑΜΠ* στο μυελό επισυμβαίνει σε έλλειψη αιμοποιητικών παραγόντων (π.χ. μεγαλοβλαστική αναιμία), σε ελάττωση του πληθυσμού των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων και μεγαρυοκυττάρων (ακτινοβολία, μυελοτοξικά φάρμακα, απλαστική αναιμία, κατάληψη μυελού από νεοπλασματικά κύτταρα) ή σπανιότερα σε διαταραχές της ρύθμισης της θρομβοποίησης (π.χ. έλλειψη θρομβοποιητίνης)⁵⁴.

Η *αυξημένη καταστροφή ΑΜΠ* στο περιφερικό αίμα είναι το συνηθέστερο αίτιο θρομβοπενίας, και γίνεται εμφανής όταν η αντιρροπιστική αύξηση της παραγωγής ΑΜΠ στο μυελό δεν μπορεί να αντισταθμίσει τις απώλειες. Τα ΑΜΠ συνήθως καταστρέφονται με ανοσολογικούς μηχανισμούς (προσκόλληση

αυτοαντισωμάτων, ιδιοπαθής θρομβοπενική πορφύρα), ενώ σπανιότερα καταστρέφονται με μη ανοσολογικούς μηχανισμούς (π.χ. διάχυτη ενδαγγειακή πήξη, θρομβωτική θρομβοπενική πορφύρα). Τα καταστραμμένα ΑΜΠ απομακρύνονται από την κυκλοφορία από το σπλήνα, το ήπαρ και το δικτυοενδοθηλιακό σύστημα.

Η ανώμαλη κατανομή – λίμναση των ΑΜΠ επισυμβαίνει κυρίως στη σπληνική δεξαμενή σε καταστάσεις με έκδηλη σπληνομεγαλία (νεοπλασματικής, λοιμώδους ή συμφορητικής αιτιολογίας). Σπανιότερα η αραίωση των ΑΜΠ από μαζικές μεταγγίσεις αίματος σε οξεία απώλεια αίματος μπορεί να προκαλέσει θρομβοπενία. Τα αίτια θρομβοπενίας από παθοφυσιολογική άποψη συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα.



Παθοφυσιολογική ταξινόμηση αιτίων θρομβοπενίας

I. Ψευδής θρομβοπενία

Συγκόλληση ΑΜΠ λόγω συγκολλητινών εξαρτώμενων από το ανταπηκτικό

ΑΜΠ – δορυφόροι πέριξ των πολυμορφοπύρηνων

Γιγάντια ΑΜΠ

II. Ελαττωμένη παραγωγή ΑΜΠ

Υποπλασία μεγακαρυοκυττάρων

Μη αποτελεσματική θρομβοποίηση

Διαταραχές ρύθμισης θρομβοποίησης

Κληρονομικές θρομβοπενίες

III. Αυξημένη καταστροφή ΑΜΠ**Οφειλόμενη σε ανοσολογικό μηχανισμό**

Αυτοάνοση

Ιδιοπαθής

Δευτεροπαθής: λοιμώξεις, κήση, διαταραχές κολλαγόνου, λεμφοθηκελαστικά νοσήματα, φάρμακα, κ.α.

Αλλοάνοση

Νεογνική θρομβοπενία

Μετά-μετάγγιση θρομβοπενία

Οφειλόμενη σε μη ανοσολογικό μηχανισμό

Θρομβωτικές μικροαγγειοπάθειες

Διάχυτη ενδαγγειακή πήξη

Θρομβωτική θρομβοπενική πορφύρα

Αιμολυτικό ουραιμικό σύνδρομο

Καταστροφή ΑΜΠ από ανώμαλες αγγειακές επιφάνειες

Διάφορες

Λοιμώξεις

Μαζικές μεταγγίσεις

IV. Ανώμαλη κατανομή ή λήψαση των ΑΜΠ

Σπληνομεγαλία (συμφορητική, νεοπλασματική, λοιμώδης, δηθητική, άγνωστη)

Υποθερμία

Αραίωση των ΑΜΠ από μαζικές μεταγγίσεις

Θρομβοπενία που προκαλείται από καταστροφή των ΑΜΠ με ανοσολογικό μηχανισμό

Η αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα χαρακτηρίζεται από πρόωμη καταστροφή των ΑΜΠ ως αποτέλεσμα της εναπόθεσης ανοσοσφαιρινών ή ανοσοσυμπλεγμάτων στην κυτταρική τους μεμβράνη. Η καταστροφή επισυμβαίνει κυρίως στο δικτυοενδοθηλιακό σύστημα του σπληνός και λιγότερο του ήπατος. Σε μερικές περιπτώσεις ο σχηματισμός των αυτοαντισωμάτων ή ανοσοσυμπλεγμάτων είναι συνέπεια γνωστής υποκείμενης νόσου, οπότε και η θρομβοπενία καλείται

δευτεροπαθής αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα. Όταν δεν υπάρχει υποκείμενη νόσος, τότε η αυτοάνοση θρομβοπενία ονομάζεται *ιδιοπαθής θρομβοπενική πορφύρα* (ITP). Στον ακόλουθο πίνακα συνοψίζονται τα αίτια της αυτοάνοσης θρομβοπενικής πορφύρας

Αίτια αυτοάνοσης θρομβοπενικής πορφύρας

Ιδιοπαθής (πρωτοπαθής)

Δευτεροπαθής

Λοιμώξεις

Νοσήματα κολλαγόνου

Λεμφοϋπερπλαστικές νόσοι

Συμπαγείς όγκοι

Φάρμακα

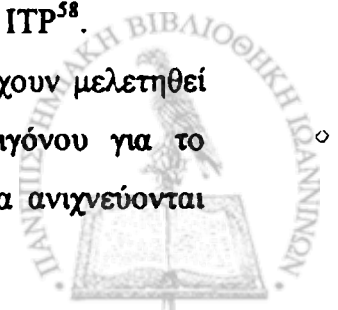
Διάφορα

Η διάγνωση της αυτοάνοσης θρομβοπενικής πορφύρας είναι κυρίως διάγνωση εξ αποκλεισμού διότι οι υπάρχουσες μέθοδοι για την ανίχνευση αντιαιμοπεταλιακών αντισωμάτων και ανοσοσυμπλεγμάτων δεν είναι ειδικές ούτε ευαίσθητες για τη συνήθη κλινική χρήση. Η αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα χαρακτηρίζεται από θρομβοπενία στο περιφερικό αίμα (επιβεβαιωμένη και με περιφερική σταγόνα αίματος), φυσιολογικό αριθμό μεγαρουκυττάρων στην οστεομυελική βιοψία και απουσία σημαντικής σπληνομεγαλίας⁵⁵.

Αντι-αιμοπεταλιακά αντισώματα

Το 1951 περιγράφηκε για πρώτη φορά ότι η χορήγηση πλάσματος από ασθενείς με ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα (ITP) προκαλούσε θρομβοπενία σε υγιείς λήπτες⁵⁶. Αργότερα αποδείχθηκε ότι ο υπεύθυνος παράγοντας του πλάσματος ήταν μία ανοσοσφαιρίνη τύπου IgG και ότι μπορούσε να απομακρυνθεί με επώαση ΑΜΠ⁵⁷. Ακόμη διαπιστώθηκε ότι η ανοσοσφαιρίνη αυτή είχε ανάλογες ιδιότητες ποιοτικά και ποσοτικά με τα γνωστά αντι-αιμοπεταλιακά αντισώματα. Ο van Leeuwen πρώτος διαπίστωσε ότι το σύμπλεγμα γλυκοπρωτεϊνών της μεμβράνης των ΑΜΠ GP IIb/IIIa (CD41) είναι προέχον αντιγόνο στην ITP, διαπιστώνοντας ότι τα ΑΜΠ ασθενών με θρομβασθένεια Glanzmann, που στερούνται το σύμπλεγμα GP IIb/IIIa, δεν δέσμευαν τα αντι-αιμοπεταλιακά αντισώματα ασθενών με ITP⁵⁸.

Τα αντι-αιμοπεταλιακά αντισώματα και αντιγόνα στην ITP έχουν μελετηθεί εκτενώς. Σύγχρονες μέθοδοι επιτρέπουν την ανίχνευση του αντιγόνου για το αντιαιμοπεταλιακό αντίσωμα^{59,60} και αντι-αιμοπεταλιακά αντισώματα ανιχνεύονται



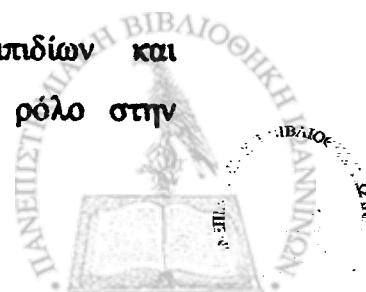
στο 75% των ασθενών με ITP. Αντιαμοπεταλιακά αυτοαντισώματα στον ορό τύπου IgG ή IgA ανιχνεύονται σε ίση συχνότητα, στο 50-85% των ασθενών και μάλιστα στο 50% συνυπάρχουν και οι δύο τύποι. Σπάνια ανιχνεύονται και αντιαμοπεταλιακά αυτοαντισώματα τύπου IgM, πάντοτε όμως σε συνδυασμό με IgG ή IgA αυτοαντίσωμα. Υπάρχουν επίσης ενδείξεις για περιορισμό των ελαφρών αλυσίδων των αυτοαντισωμάτων αυτών, που δείχνει μονοκλωνική ανάπτυξη των Β-κυττάρων στη χρόνια ITP^{61,62}. Τα χαρακτηριστικά των αυτοαντισωμάτων στην ITP φαίνονται στον παρακάτω πίνακα.

		Σχόλια
Τύπος ανοσοσφαιρίνης	IgG, IgA, IgM	IgG, IgA ίδια συχνότητα IgM ποτέ μόνη ανοσοσφαιρίνη
Είδος αντιγόνου	GPIIb/IIIa, Ib/IX	Πιο συχνά αντιγόνα
	GP Ia/IIa, IV	Ποτέ μόνα αντιγόνα
	GMP-140	Μία μόνο περίπτωση
	Γλυκοσφιγγολιπίδια	Σπάνια, αμφίβολη σημασία
	Καρδιολιπίνες	Συχνά, Αμφίβολη σημασία
Παρουσία αυτοαντισώματος		
Πλάσμα	85% των ασθενών	
Εναιώρημα ΑΜΠ	75% των ασθενών	
Δέσμευση συμπληρώματος από το αντίσωμα	Σπάνια	Άγνωστη σημασία
Κυκλοφορούντα ανοσοσυμπλέγματα	Σπάνια	Άγνωστη σημασία

GP:γλυκοπρωτεΐνη

Τα αντι-αμοπεταλιακά αντισώματα συνδέονται στις γλυκοπρωτεΐνες της κυτταρικής μεμβράνης του ΑΜΠ με το Fab τμήμα του μορίου⁶³. Τα αντιγόνα GPIIb/IIIa, GPIb/IX είναι τα κύρια αμοπεταλιακά αντιγόνα με ίση συχνότητα⁶²⁻⁶⁴. Υπάρχουν διάφοροι αντιγονικοί επίτοποι επί των γλυκοπρωτεϊνών αυτών, όπου προσκολλώνται τα αντισώματα. Για τη γλυκοπρωτεΐνη GPIIb/IIIa, τα αντι-αμοπεταλιακά αντισώματα μπορούν να προσκολλώνται στο σκέλος IIb, στο IIIa ή στο σύμπλεγμα⁶⁵, ενώ για την γλυκοπρωτεΐνη Ib/IX φαίνεται ότι το σύμπλεγμα Ib/IX αποτελεί τον κύριο αντιγονικό επίτοπο. Η σημασία των ανωτέρω αντιγονικών επιτόπων είναι αμφιλεγόμενη^{66,67}.

Τα αντι-αμοπεταλιακά αντισώματα έναντι γλυκοσφιγγολιπιδίων και καρδιολιπίνης, τα δεύτερα αρκετά συχνά, δεν φαίνεται να έχουν ρόλο στην παθογένεια και βαρύτητα της θρομβοπενίας⁶⁸⁻⁷⁰.



Τα αντι-αιμοπεταλιακά αντισώματα προσκολλώνται στα ΑΜΠ και προκαλούν θρομβοπενία βραχύνοντας την επιβίωση των ΑΜΠ (αυξημένη φαγοκυττάρωση ιδίως στα μακροφάγα του σπληνός). Μολαταύτα έχουν αναφερθεί σπάνια και αντισώματα που συνδέονται με τις γλυκοπρωτεΐνες της μεμβράνης των ΑΜΠ και ενεργοποιούν τα ΑΜΠ^{71,72}.

Αρκετές διαφορετικές μέθοδοι ανίχνευσης αντι-ΑΜΠ αντισωμάτων έχουν αναπτυχθεί⁷³⁻⁷⁷. Οι περισσότερες είναι πολύπλοκες και συνεπώς ανέφικτες για την καθημερινή κλινική πράξη. Άλλες μετρούν αντι-ΑΜΠ αντισώματα στον ορό, άλλες ανοσοσφαιρίνη στην επιφάνεια των ΑΜΠ και άλλες συνολική ανοσοσφαιρίνη των ΑΜΠ. Σε εξειδικευμένα εργαστήρια πάντως, οι μέθοδοι αυτές αποδείχθηκαν αξιόπιστες και ο τίτλος του αντι-ΑΜΠ αντισώματος – ανοσοσφαιρίνης συμβάδιζε με τη βαρύτητα της θρομβοπενίας. Παρά ταύτα, οι μέθοδοι αυτές δε βρέθηκαν ειδικές για τη διάγνωση της αυτοάνοσης θρομβοπενίας και μπορούν να αναδείξουν αυξημένα επίπεδα ανοσοσφαιρίνης και σε άλλου είδους θρομβοπενία ή και σε φυσιολογικά άτομα.

Τα φυσιολογικά ΑΜΠ περιέχουν ανοσοσφαιρίνες στα α-κοκκία τους (μαζί με άλλες πρωτεΐνες όπως π.χ. η αλβουμίνη). Η ποσότητα των ανοσοσφαιρινών αυτών είναι ευθέως ανάλογη προς τη συνολική ποσότητα ανοσοσφαιρινών στον ορό, και συνεπώς, ασθενείς με μονοκλωνική ή πολυκλωνική υπεργαμμασφαιριναιμία έχουν αυξημένα επίπεδα ανοσοσφαιρίνης ΑΜΠ. Η ανοσοσφαιρίνη αυτή απελευθερώνεται από τα α-κοκκία μαζί με άλλες πρωτεΐνες όπως ο αιμοπεταλιακός παράγων ή η β-θρομβογλοβουλίνη κατά την ενεργοποίηση και έκκριση των ΑΜΠ. Κάποιες από τις πρωτεΐνες αυτές δεσμεύονται στην επιφάνεια της κυτταρικής μεμβράνης των ΑΜΠ και έτσι τεχνικές μέτρησης της συνολικής ανοσοσφαιρίνης των ΑΜΠ ή της ανοσοσφαιρίνης IgG των ΑΜΠ δεν είναι ειδικές⁷⁸.

Οι νεότερες μέθοδοι ανίχνευσης αντι-ΑΜΠ αντισωμάτων είναι πιο ακριβείς και ειδικές. Χρησιμοποιούν μονοκλωνικά αντισώματα έναντι των γλυκοπρωτεϊνών της μεμβράνης των ΑΜΠ που δρουν ως αντιγόνα στην ΙΤΡ και είναι μέθοδοι συλλήψεως του αντιγόνου (antigen capture-type assays). Οι μέθοδοι αυτές έχουν πολύ υψηλή ειδικότητα για τα αντι-ΑΜΠ αντισώματα της ΙΤΡ, ενώ η ευαισθησία τους δεν ξεπερνά το 85%. Δεν χρησιμοποιούνται ακόμη στην καθημερινή κλινική πράξη^{59,60,79}.



Διαταραχές των ΑΜΠ στους ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια

Στους ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια παρατηρούνται τόσο ποσοτικές όσο και ποιοτικές διαταραχές των ΑΜΠ⁸⁰.

Ποσοτικές διαταραχές των ΑΜΠ – Θρομβοπενία

Η θρομβοπενία είναι συχνή εκδήλωση στους ασθενείς με ηπατοπάθεια, τόσο οξείας όσο και χρόνιας μορφής. Σε μία μελέτη 104 ασθενών με οξεία ηπατίτιδα, θρομβοπενία ανευρέθηκε στο 52% των ασθενών που παρουσίασαν οξεία ηπατική ανεπάρκεια και στο 16% εκείνων που δεν εκδήλωσαν τέτοια σημεία⁸¹. Τα 2/3 των ασθενών με κεραυνοβόλο οξεία ηπατίτιδα έχουν αριθμό αιμοπεταλίων μικρότερο από 100.000/mm³⁸². Στους ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια η θρομβοπενία είναι συχνό φαινόμενο, ενώ περισσότερο από το 1/3 των κίρρωτικών ασθενών έχουν κλινικά έκδηλη θρομβοπενία⁸³. Εξάλλου, ο βαθμός της ηπατικής ανεπάρκειας συμβαδίζει με τη βαρύτητα της θρομβοπενίας στις περισσότερες περιπτώσεις⁸⁴.

Η παθογένεια της θρομβοπενίας στους ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια είναι συχνά σύνθετη. Η κατακράτηση των ΑΜΠ στη δεξιά του σπλήνα, η αυξημένη καταστροφή των ΑΜΠ και η ελαττωμένη παραγωγή τους από τα μεγακαρυοκύτταρα συμβάλλουν σε διαφορετικό βαθμό ως αιτιολογικοί παράγοντες. Η ανακατανομή των ΑΜΠ στο διογκωμένο σπλήνα θεωρείται ως η σημαντικότερη αιτία θρομβοπενίας στους ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια⁸⁵⁻⁸⁶. Στα φυσιολογικά άτομα, το 20 ως 40% της μάζας των ΑΜΠ εντοπίζεται στο σπλήνα, ενώ σε άτομα με έκδηλη σπληνομεγαλία μέχρι και το 90% της συνολικής μάζας των ΑΜΠ μπορεί να βρίσκεται στο σπλήνα³⁰. Παρόλα αυτά, δεν υπάρχει απόλυτη αρνητική συσχέτιση μεταξύ βαθμού σπληνομεγαλίας και αριθμού ΑΜΠ και έτσι συμπεραίνεται ότι και άλλοι παράγοντες συμβάλλουν στο βαθμό της θρομβοπενίας στους χρόνιους ηπατοπαθείς.

Η αυξημένη καταστροφή των ΑΜΠ φαίνεται να είναι ο δεύτερος πιο σημαντικός αιτιολογικός παράγοντας της θρομβοπενίας στους χρόνιους ηπατοπαθείς. Η αυξημένη αυτή καταστροφή μπορεί να οφείλεται: 1) Σε ενεργοποίηση του μηχανισμού διάχυτης ενδαγγειακής πήξης μέσω αυξημένης παραγωγής θρομβίνης (DIC) και αυξημένη κατανάλωση των ΑΜΠ. 2) Σε αυξημένη καταστροφή των ΑΜΠ με αυτοάνοσο μηχανισμό.

Η διάχυτη ενδαγγειακή πήξη (DIC) είναι μία παθολογική απάντηση του μηχανισμού της πήξεως σε κάποια υποκείμενη νόσο και χαρακτηρίζεται από την

υπερπαραγωγή θρομβίνης και την κινητοποίηση του μηχανισμού ινωδόλυσης. Η θρομβίνη δρα ως καταλύτης στην ενεργοποίηση και επακόλουθη κατανάλωση των παραγόντων της πήξεως, των ΑΜΠ και του ινωδογόνου, οδηγώντας σε σχηματισμό θρόμβων ινικής στη μικροκυκλοφορία⁸⁷. Κατόπιν ενεργοποιείται, ως δευτερογενές φαινόμενο, το ινωδολυτικό σύστημα που προκαλεί αποδόμηση της ινικής και του ινωδογόνου μέσω της πλασμίνης, με αποτέλεσμα την παραγωγή προϊόντων αποδομής της ινικής και του ινωδογόνου (FDPs). Τα FDPs απομακρύνονται από την κυκλοφορία από το δικτυοενδοθηλιακό σύστημα του ήπατος. Αν παραμείνουν στην κυκλοφορία, εμποδίζουν τη διάσπαση του ινωδογόνου από τη θρομβίνη και τον πολυμερισμό των μονομερών ινικής⁸⁸. Οξεία DIC μπορεί να λάβει χώρα κυρίως σε επιπλοκές της οξείας και χρόνιας ηπατοπάθειας. Τα πιο χαρακτηριστικά παραδείγματα είναι οι περιπτώσεις οξείας DIC σε κίρρωτους ασθενείς που υφίστανται περιτοναιοφλεβικές (Le Veen) παρακάμψεις (shunts), καθώς και στο οξύ λιπώδες ήπαρ της κήσεως. Εξάλλου ασθενείς με οξεία ηπατική ανεπάρκεια και τελικού σταδίου κίρρωση διάφορης αιτιολογίας μπορεί να αναπτύξουν οξεία DIC⁸⁹⁻⁹². Χρόνια DIC επισυμβαίνει πιθανώς στη χρόνια ηπατοπάθεια και την κίρρωση, αλλά το θέμα παραμένει υπό μελέτη και οι πηκτικολογικές διαταραχές που προκαλεί η χρόνια ηπατική ανεπάρκεια δεν είναι δυνατόν να διαχωριστούν πλήρως από τη χρόνια DIC^{93,94}.

Η αυξημένη καταστροφή των ΑΜΠ με αυτοάνοσο μηχανισμό είναι ένας άλλος σημαντικός μηχανισμός θρομβοπενίας στη χρόνια ηπατοπάθεια. Τα ΑΜΠ που απομονώθηκαν από ασθενείς με διάφορης αιτιολογίας ηπατικά νοσήματα, όπως η χρόνια ιογενής ηπατίτιδα, αλκοολική ηπατίτιδα, αλκοολική κίρρωση και πρωτοπαθής χολική κίρρωση είχαν αυξημένα ποσά συνδεδεμένων ανοσοσφαιρινών και συσχετιζονταν με υψηλά επίπεδα κυκλοφορούντων ανοσοσυμπλεγμάτων στον ορό^{95,96}. Το ποσό της συνδεδεμένης ανοσοσφαιρίνης στα ΑΜΠ δεν βρέθηκε να συσχετίζεται με το μέγεθος του σπλήνα, και αυτό μπορεί να εξηγεί μερικώς την απουσία απόλυτης συσχέτισεως μεταξύ μεγέθους σπλήνα και βαθμού θρομβοπενίας στους ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια⁹⁷. Αν και υψηλά επίπεδα συνδεδεμένης στα ΑΜΠ ανοσοσφαιρίνης συσχετίστηκαν από κάποιους συγγραφείς με το βαθμό της θρομβοπενίας⁹⁵, ωστόσο η ποσότητα της ανοσοσφαιρίνης αυτής δεν μπορεί να θεωρηθεί ως προγνωστικός δείκτης θρομβοπενίας, καθώς υψηλά επίπεδα της βρέθηκαν σε ασθενείς με χρόνια ενεργό ηπατίτιδα χωρίς θρομβοπενία^{96,98}.



Παρά την κατακράτηση των ΑΜΠ στη δεξαμενή του σπληνός και την ανοσολογικά κατευθυνόμενη καταστροφή τους, πολλοί ασθενείς με προχωρημένη ηπατική νόσο διατηρούν φυσιολογικούς αριθμούς ΑΜΠ. Σε μία μελέτη 60 ασθενών με αντιρροπούμενη κίρρωση που είχαν κατακράτηση ΑΜΠ στο σπλήνα και ανοσολογικά κατευθυνόμενη καταστροφή ΑΜΠ, ο μέσος αριθμός ΑΜΠ παρέμενε φυσιολογικός λόγω σταθερού διπλασιασμού στην παραγωγή των ΑΜΠ⁹⁹. Έτσι, θρομβοπενία αναπτύσσεται μόνο όταν ο μυελός των οστών δεν κατορθώνει να αντιρροπήσει την αυξημένη απομάκρυνση των ΑΜΠ από την κυκλοφορία. Λοιμώξεις, φάρμακα, τοξίνες και διατροφικές ελλείψεις που καταστέλλουν το μυελό των οστών μπορούν να προκαλέσουν ή να επιδεινώσουν τη θρομβοπενία στους ηπατοπαθείς. Το αλκοόλ και η έλλειψη φυλλικού οξέος είναι για παράδειγμα συνήθεις αιτίες θρομβοπενίας σε ασθενείς με αλκοολική χρόνια ηπατοπάθεια^{100,101}. Το αλκοόλ οδηγεί σε αναστολή της ωρίμανσης των μεγακαρυοκυττάρων και σε βράχυνση της επιβίωσης των ΑΜΠ. Η διακοπή του αλκοόλ οδηγεί σε αύξηση του αριθμού των ΑΜΠ ως τα φυσιολογικά όρια μέσα σε λίγες ημέρες ως 2-3 εβδομάδες.

Μία δυσμενής επιπλοκή της οξείας λοιμώδους ηπατίτιδας με συχνότητα 1 στις 500 περιπτώσεις, είναι η εμφάνιση σοβαρής θρομβοπενίας δευτεροπαθώς στα πλαίσια απλαστικής αναίμιας. Οι προσβαλλόμενοι ασθενείς έχουν σοβαρή έλλειψη και των τριών κυτταρικών σειρών του αίματος και καταλήγουν συνήθως στο θάνατο, ακόμη και αν αντιμετωπιστούν με μεταμόσχευση του μυελού των οστών^{102,103}.

Ποιοτικές διαταραχές των ΑΜΠ

Οι διαταραχές της λειτουργίας των ΑΜΠ που παρατηρούνται στους ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια εκδηλώνονται με παρατεταμένο χρόνο ροής, ελαττωμένη συσσώρευση των ΑΜΠ *in vitro*, ελαττωμένη προσκολλητικότητα των ΑΜΠ και ανωμαλίες της λεπτής δομής αυτών¹⁰⁴⁻¹⁰⁶. Σύμφωνα όμως με μία μελέτη ασθενών με αντιρροπούμενη κίρρωση, η προσκόλληση και η συσσώρευση των ΑΜΠ παρέμεναν φυσιολογικές¹⁰⁷.

Οι λειτουργικές διαταραχές των ΑΜΠ στην κίρρωση έχουν αποδοθεί σε διάφορες αιτίες όπως ενδογενείς διαταραχές των ΑΜΠ και ανώμαλες αλληλεπιδράσεις μεταξύ ΑΜΠ, ενδοθηλιακής επιφάνειας και των παραγόντων πήξεως. Ενδογενείς διαταραχές των ΑΜΠ έχουν δειχθεί σε ασθενείς με προχωρημένη κίρρωση, και περιλαμβάνουν διαταραχές του διαμεμβρανικού σηματοδοτικού μηχανισμού της μεμβράνης, ελαττωμένη παραγωγή θρομβοξάνης Α₂, αλλαγές στην

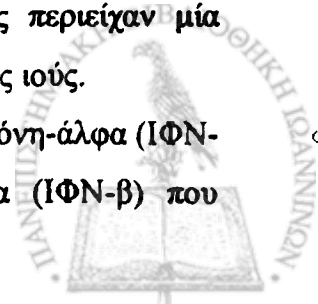
περιεκτικότητα χοληστερόλης της κυτταρικής μεμβράνης, ανωμαλία της θέσης σύνδεσης του παράγοντα von Willebrand στην κυτταρική μεμβράνη και επίκτητη διαταραχή της αποθηκευτικής δεξαμενής των ΑΜΠ¹⁰⁴⁻¹⁰⁹. Τα αυξημένα προϊόντα αποδομής του ινωδογόνου στους κίρρωτικούς ασθενείς προτάθηκαν ως πιθανός παράγοντας του πλάσματος που αναστέλλει τη συσσώρευση των ΑΜΠ, κάτι τέτοιο όμως δεν αποδείχθηκε σε περαιτέρω μελέτες¹⁰⁴. Αντίθετα υψηλά επίπεδα απολιποπρωτεΐνης Ε των HDL (υψηλής πυκνότητας) λιποπρωτεϊνών του πλάσματος στους κίρρωτικούς ασθενείς συσχετίστηκαν με αναστολή της συσσωρεύσεως των ΑΜΠ¹¹⁰. Η δυσινωδογοναιμία (διαταραχές του ινωδογόνου) μπορεί να συμβάλει επίσης στις διαταραχές προσκόλλησης και συσσώρευσης των ΑΜΠ¹¹¹. Η κλινική σημασία των μεμονωμένων αυτών διαταραχών παραμένει όμως αβέβαιη.

Η πιο συνηθισμένη διαταραχή επίκτητης δυσλειτουργίας των ΑΜΠ στους ηπατοπαθείς, όπως και στο γενικό πληθυσμό, προκαλείται από φάρμακα που παρεμβαίνουν στη λειτουργία των ΑΜΠ, κυρίως την ασπιρίνη. Σε φυσιολογικά άτομα η λήψη ασπιρίνης προκαλεί συνήθως μέτρια παράταση του χρόνου ροής, αν και σε μερικούς ασθενείς η παράταση αυτή μπορεί να είναι μεγάλη. Ιδιαίτερα στους ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια, που μπορεί να έχουν ήδη υποκείμενες υποκλινικές διαταραχές της αιμοστάσεως, η περαιτέρω ποιοτική διαταραχή της λειτουργίας των ΑΜΠ από φάρμακα όπως η ασπιρίνη μπορεί να προκαλέσει σοβαρή αιμορραγία¹¹². Επιπρόσθετα, η λήψη αλκοόλ μαζί με την ασπιρίνη μπορεί να προκαλέσει σημαντική παράταση του χρόνου ροής και αιμορραγία¹¹³.

Ιντερφερόνη – Γενική θεώρηση

Οι ιντερφερόνες (IFN, ΙΦΝ) αποτελούν έναν από τους πρώιμους και πιο σημαντικούς αμυντικούς μηχανισμούς του οργανισμού σε ξένα αντιγόνα, όπως ιούς, άλλους λοιμώδεις παράγοντες και όγκους. Οι ιντερφερόνες είναι μία ομάδα κυτταρικών πρωτεϊνών με ισχυρές αντικές, ανοσοτροποποιητικές και αντιυπερπλαστικές ιδιότητες^{114,115}. Δεν εξασκούν τη δράση τους άμεσα επί των κυττάρων, αλλά μέσω επαγωγής ορισμένων γόνων (IFN responsive genes). Ανακαλύφθηκαν το 1957 από τους Issacs και Lieberman¹¹⁶, οι οποίοι διαπίστωσαν ότι εκχυλίσματα κυτταρικών καλλιέργειών μολυσμένων από ιούς περιείχαν μία πρωτεΐνη που έδινε αντοχή σε άλλα κύτταρα στη μόλυνση από άλλους ιούς.

Οι ιντερφερόνες ταξινομούνται σε τρεις τύπους. Την ιντερφερόνη-άλφα (ΙΦΝ-α) που παράγεται από τα λευκοκύτταρα, την ιντερφερόνη-βήτα (ΙΦΝ-β) που



παράγεται από τους ινοβλάστες, και την ιντερφερόνη-γάμμα (ΙΦΝ-γ) που παράγεται από κύτταρα του ανοσολογικού συστήματος. Οι ΙΦΝ-α και ΙΦΝ-β αποτελούν τον τύπο Ι ΙΦΝ, ενώ η ΙΦΝ-γ αποτελεί τον τύπο ΙΙ. Οι ιντερφερόνες διαφέρουν μεταξύ τους ως προς τον τύπο των κυττάρων που τις παράγουν, τους αντιγονικούς παράγοντες που τις εκλύουν καθώς και ως προς τη δομή, τη βιοχημεία, την αντιγονικότητα και τη δράση τους¹¹⁷.

Η ΙΦΝ-α αποτελεί έναν από τους πιο σημαντικούς θεραπευτικούς παράγοντες κατά της χρόνιας ιογενούς ηπατίτιδας Β ή C. Ο κύριος μηχανισμός δράσης της περιλαμβάνει την έκφραση των πρωτεϊνών HLA τάξεως Ι και την αύξηση της δραστηριότητας της ιντερλευκίνης-2, με αποτέλεσμα την καταστροφή των προσβεβλημένων ηπατοκυττάρων. Στη χρόνια ηπατίτιδα Β, η ΙΦΝ-α χρησιμοποιείται μόνη ή σε συνδυασμό με νεότερα αντικά φάρμακα, όπως η λαμβουδίνη. Όταν η ΙΦΝ-α χρησιμοποιείται ως μονοθεραπεία σε ασθενείς με χρόνια ενεργό ηπατίτιδα Β, είτε ΗΒεΑg θετικούς, είτε ΗΒεΑg αρνητικούς^{118,119} οδηγεί σε μακροχρόνια ύφεση περίπου 1 στους 5 θεραπευόμενους ασθενείς. Στη χρόνια ηπατίτιδα C η ΙΦΝ-α χρησιμοποιείται πλέον κυρίως σε συνδυασμό με το αντικό νουκλεοσιδικό ανάλογο ριμπαβιρίνη και οδηγεί σε μακροχρόνια ύφεση το 40% περίπου των θεραπευόμενων ασθενών¹²⁰⁻¹²².

Νεότερες μορφές ΙΦΝ-α (pegylated) έχουν εισαχθεί πρόσφατα στη θεραπευτική και βρίσκονται υπό μελέτη. Οι ιντερφερόνες αυτές προκύπτουν από τη σύνδεση της ΙΦΝ-α με ένα πολυμερές αιθυλενογλυκόλης (PEG) και τα παραγόμενα μόρια έχουν μακρό χρόνο ημίσειας ζωής και παρατεταμένη δράση¹²³⁻¹²⁴. Οι pegylated ιντερφερόνες-α χορηγούνται μία φορά την εβδομάδα. Ήδη έχει αποδειχθεί ότι οδηγούν σε αύξηση του θεραπευτικού αποτελέσματος στη χρόνια ιογενή ηπατίτιδα C, δρώντας και σε ανθεκτικές περιπτώσεις στην κλασική θεραπεία. Ιδιαίτερα δε ο συνδυασμός των pegylated ιντερφερονών-α με ριμπαβιρίνη έχει ακόμη μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα και οδηγεί σε μεγαλύτερα ποσοστά παρατεταμένης ύφεσης τους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C¹²⁵. Για τη χρόνια ιογενή ηπατίτιδα Β, οι πληροφορίες για τη δράση των pegylated ιντερφερονών-α είναι ακόμη περιορισμένες. Πιστεύεται όμως ότι ο συνδυασμός τους με τη λαμβουδίνη ίσως να αποτελέσει ένα πρακτικό και πιο ισχυρό θεραπευτικό σχήμα.



Παρενέργειες της θεραπείας με ιντερφερόνη-α

Η θεραπεία με ΙΦΝ-α, παρά την αποτελεσματικότητά της, συνοδεύεται από αρκετές παρενέργειες. Οι παρενέργειες αυτές διακρίνονται σε πρώιμες, όψιμες και στην επαγωγή αυτοανοσίας.

Οι πρώιμες εμφανίζονται συνήθως 4-8 ώρες μετά την υποδόρια χορήγηση της ΙΦΝ-α κατά τις 1-2 πρώτες εβδομάδες θεραπείας και υποχωρούν στη συνέχεια. Περιλαμβάνουν πυρετό, κακουχία, μυαλγίες, ανορεξία και κεφαλαλγία¹²⁶. Ο πυρετός οφείλεται σε άμεση επίδραση της ΙΦΝ-α στον υποθάλαμο, γεγονός που αποδεικνύει ότι μικρές αν και μη ανιχνεύσιμες ποσότητες ΙΦΝ-α διέρχονται τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό. Η ΙΦΝ-α καταστέλλει το μυελό των οστών και επηρεάζει ιδιαίτερα τα ταχύτερα πολλαπλασιαζόμενα πρόδρομα κύτταρα (ουδετερόφιλα)¹²⁴. Η παρενέργεια αυτή μπορεί να παρουσιαστεί είτε πρώιμα, είτε και όψιμα.

Οι όψιμες παρενέργειες της ΙΦΝ-α εμφανίζονται αργότερα και επιμένουν περισσότερο, ενώ μπορεί να απαιτήσουν διακοπή της θεραπείας. Περιλαμβάνουν κακουχία και καταβολή που επιμένει, απώλεια βάρους, καταστολή του μυελού των οστών, γαστρεντερικές διαταραχές (ναυτία, εμέτους, διάρροιες), τριχόπτωση, δερματίτιδα εξ επαφής, νευρικότητα, αδυναμία συγκεντρώσεως, άγχος. Σπανιότερα η ΙΦΝ-α μπορεί να προκαλέσει διέγερση, κατάθλιψη, συγχυτική κατάσταση ή και ψύχωση, γι' αυτό και αντενδείκνυται σε άτομα με μείζονες ψυχιατρικές διαταραχές.

Η ΙΦΝ-α είναι μέρος της αλυσίδας των κυτταροκινών, προκαλώντας παραγωγή άλλων κυτταροκινών και μορίων HLA. Για το λόγο αυτό, μπορεί να προκαλέσει αυτοάνοσα φαινόμενα. Η ΙΦΝ-α διεγείρει τα εκτελεστικά κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, αυξάνει την παραγωγή των κυτταροκινών και ενισχύει τη δράση κυττάρων που παράγουν αυτοπεπτιδία τα οποία συμπλέκονται με το μείζον σύστημα ιστοσυμβατότητας. Οι ασθενείς μπορεί να έχουν υποκείμενη αυτοάνοση νόσο που επιδεινώνεται με τη δράση της ΙΦΝ-α. Η επαγωγή αυτοαντισωμάτων είναι μία από τις σημαντικές παρενέργειες της θεραπείας με ΙΦΝ-α. Η επαγωγή αυτοανοσίας συμβαίνει κυρίως 4-6 μήνες μετά την έναρξη της θεραπείας και περιλαμβάνει θετικά ANA, AMA και αντιθυροειδικά αντισώματα. Η παρουσία θετικών αντι-μικροσωμιακών θυροειδικών αντισωμάτων πριν από τη θεραπεία αποτελεί σχετική τουλάχιστον αντένδειξη για τη θεραπεία και η εμφάνιση αυτοάνοσης θυροειδίτιδας με συνέπεια διαταραχές στη θυροειδική λειτουργία είναι συχνή παρενέργεια της θεραπείας με ΙΦΝ-α. Άλλες σπανιότερες αυτοάνοσες

εκδηλώσεις περιλαμβάνουν την πρόκληση ή επιδείνωση της αυτοάνοσης ηπατίτιδας, της φλεγμονώδους παθήσεως των εντέρων, της ψωρίασεως και της κοινής πέμφιγας¹¹⁵.

Οι κυριότερες παρενέργειες της ΙΦΝ-α φαίνονται συνοπτικά στον παρακάτω πίνακα:

<i>Πρώιμες</i>	<i>Όψιμες</i>	<i>Επαγωγή αυτοανοσίας</i>
Γριπώδες σύνδρομο	Εύκολη κόπωση, καταβολή	Διαταραχές θυρεοειδούς
Μυαλγίες, αρθραλγίες	Μυϊκά άλγη	Αυτοαντισώματα
Κεφαλαλγία	Ευερεθιστότητα	Αυτοάνοσα νοσήματα
Ναυτία	Άγχος, κατάθλιψη	
Πυρετός	Απώλεια βάρους	
Ανορεξία	Διάρροια, ναυτία	
Καταστολή μυελού	Αλωπεκία	
	Καταστολή μυελού των οστών	
	Βακτηριακές λοιμώξεις	
	Δερματίτιδα	
	Νευροπάθεια οπτικής οδού	
	Ομαλός λειχήνας	

Ιντερφερόνη-α και θρομβοπενία

Πολλοί ασθενείς έχουν λάβει θεραπεία με ΙΦΝ-α στα πλαίσια θεραπείας της χρόνιας ιογενούς ηπατίτιδας ή και αιματολογικών νοσημάτων. Παρά τη γενικά ικανοποιητική ασφάλεια της θεραπείας με ΙΦΝ-α, υπήρξαν αρκετές αναφορές για την καταστολή του μυελού που προκαλείται κατά τη διάρκεια της θεραπείας και ως κανόνας ασφαλείας καθιερώθηκε η παρακολούθηση της γενικής αίματος αρχικά ανά εβδομάδα για ένα μήνα και στη συνέχεια ανά ένα - δύο μήνες κατά τη διάρκεια της θεραπευτικής αγωγής^{126,127}.

Η λευκοπενία και ιδιαίτερα η ουδετεροπενία (μείωση του απόλυτου αριθμού των ουδετερόφιλων πολυμορφοπύρηνων κυττάρων) είναι η συχνότερα παρατηρούμενη αιματολογική παρενέργεια της θεραπείας με ΙΦΝ-α¹²⁸. Μάλιστα, τόσο η προκαλούμενη λευκοπενία όσο και η θρομβοπενία συσχετίστηκαν και με τον τύπο της χρησιμοποιούμενης ιντερφερόνης. Κατά τη διάρκεια της θεραπείας, σημαντική μείωση του αριθμού των λευκών αιμοσφαιρίων και ΑΜΠ του αίματος παρατηρήθηκε σε ποσοστό 48% και 43% των θεραπευόμενων ασθενών αντίστοιχα. Η μέγιστη μείωση (31% για τα λευκά και 26% για τα ΑΜΠ) παρατηρήθηκε μετά 4,9

και 4,2 μήνες θεραπείας αντίστοιχα. Δεν προέκυψαν κλινικά προβλήματα από την προκαλούμενη λευκοπενία και θρομβοπενία. Η βήτα ιντερφερόνη (ΙΦΝ) προκάλεσε τη μικρότερη μείωση του αριθμού των λευκών και ΑΜΠ (-21% και -16% αντίστοιχα), ακολουθούμενη από την άλφα λευκοκυτταρική ΙΦΝ (-27% και -2% αντίστοιχα), την άλφα ανασυνδυσασμένη ΙΦΝ (-32% και -26%) και την άλφα λεμφοβλαστοειδή ΙΦΝ (-38% και -32% αντίστοιχα) που προκάλεσε τη μεγαλύτερη τοξικότητα.

Υπάρχουν μεμονωμένες αναφορές στη βιβλιογραφία για την εμφάνιση αυτοάνοσης θρομβοπενίας κατά τη διάρκεια της θεραπείας με ΙΦΝ-α ασθενών με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα, τόσο επί παρουσίας ατομικού αναμνηστικού ιδιοπαθούς αυτοάνοσης θρομβοπενικής πορφύρας, όσο και επί απουσίας τέτοιου ιστορικού¹²⁹⁻¹³⁴. Οι αναφορές αυτές τονίζουν ότι η θρομβοπενία στους ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια είναι πολυπαραγοντική, με συμμετοχή και του μηχανισμού αυτοανοσίας σε αρκετές περιπτώσεις, όπως η ηπατίτιδα C. Η ΙΦΝ-α στις περιπτώσεις αυτές οδήγησε στην ανάπτυξη αυτοάνοσης θρομβοπενίας, όπως αποδείχθηκε από την ανίχνευση αντι-ΑΜΠ αντισωμάτων IgG. Σε μερικές περιπτώσεις υπήρχε ιστορικό αυτοάνοσης θρομβοπενίας ή υπόστρωμα αυτοανοσίας, στις περισσότερες όμως η αυτοάνοση θρομβοπενία αναπτύχθηκε σε άτομα με ελεύθερο ιστορικό αυτοανοσίας και δεν συνοδευόταν από άλλες αυτοάνοσες εκδηλώσεις. Η διακοπή της ΙΦΝ-α και η χορήγηση κορτικοειδών οδήγησε σε γρήγορη ανάκαμψη του αριθμού των ΑΜΠ σε φυσιολογικά επίπεδα σε όλες τις περιπτώσεις. Κατά συμπέρασμα, η ΙΦΝ-α πρέπει να συμπεριλαμβάνεται στη λίστα των φαρμάκων που μπορούν, σπανιότατα ευτυχώς, να προκαλέσουν αυτοάνοση θρομβοπενία.

Σύμφωνα με άλλη παρατήρηση, η ΙΦΝ-α ελαττώνει την παραγωγή ενδογενούς θρομβοποιητίνης στους ασθενείς με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα και κίρρωση που τη λαμβάνουν, μειώνοντας την έκκρισή της από τα ηπατοκύτταρα¹³⁵. Οι ίδιοι ερευνητές υποστηρίζουν ότι η εξωγενής χορήγηση ανασυνδυσασμένης θρομβοποιητίνης μπορεί να βοηθήσει στην αντιμετώπιση της θρομβοπενίας από ΙΦΝ-α στην κατηγορία αυτή των ασθενών.

Ενδιαφέρον είναι το γεγονός ότι σε άλλες μελέτες η θεραπεία με ΙΦΝ-α έχει συσχετιστεί με αύξηση του αριθμού των ΑΜΠ του αίματος μετά τη θεραπεία σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C και θρομβοπενία¹³⁶. Στην περίπτωση αυτή, ο ιός της ηπατίτιδας C (HCV) συσχετίστηκε με την εμφάνιση θρομβοπενίας, ενώ η θεραπεία με ΙΦΝ-α οδήγησε σε αύξηση του αριθμού των ΑΜΠ μέσω εξουδετέρωσης

του ιού και βελτίωσης της ηπατικής λειτουργίας. Επιπροσθέτως, μια ιαπωνική μελέτη οδήγησε στο παράδοξο συμπέρασμα ότι η χορήγηση μιας δόσης ΙΦΝ-α 3 ΜU ανά εβδομάδα μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση του αριθμού των ΑΜΠ σε ασθενείς με ανθεκτική ιδιοπαθή αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα, αλλά τα ευρήματα αυτά δεν επιβεβαιώθηκαν περαιτέρω¹³⁷.

Αρκετές αναφορές υπάρχουν ακόμη στη βιβλιογραφία, οι οποίες συσχετίζουν τη θεραπεία με ΙΦΝ-α με την εμφάνιση αυτοάνοσης αιμολυτικής αναιμίας στους ασθενείς με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα¹³⁸⁻¹⁴³. Στις σπάνιες αυτές περιπτώσεις, οι ασθενείς, συνήθως πάσχοντες από χρόνια ιογενή ηπατίτιδα C και χωρίς ατομικό αναμνηστικό αιματολογικού νοσήματος, ανέπτυξαν αιμολυτική αναιμία. Η αντίδραση Coombs ήταν θετική μετά το επεισόδιο αυτό στις περισσότερες, αλλά όχι σε όλες τις περιπτώσεις. Η θεραπεία των ασθενών με κορτικοειδή και η διακοπή της ΙΦΝ-α οδήγησε σε ταχεία υποχώρηση των συμπτωμάτων και πλήρη διόρθωση του αιματοκρίτη, ενώ και η αντίδραση Coombs αρνητικοποιήθηκε μετά τρίμηνο, στις περιπτώσεις όπου είχε ανευρεθεί θετική.



Χρόνιες ηπατοπάθειες

Τα χρόνια νοσήματα του ήπατος εκτείνονται από την παρατεταμένη οξεία ηπατίτιδα μέχρι τη χρόνια ηπατίτιδα και τελικώς την κίρρωση. Όποιο και αν είναι το υποκείμενο νόσημα, τα βασικά ιστολογικά χαρακτηριστικά της χρόνιας ηπατίτιδας είναι τα ίδια. Παρόλα αυτά, πριν διενεργηθεί βιοψία ήπατος ο ιατρός πρέπει να έχει συγκεντρώσει επαρκή κλινικά και εργαστηριακά στοιχεία που να τον κατευθύνουν προς τη διάγνωση.

Καμία ταξινόμηση των νοσημάτων του ήπατος δεν είναι απόλυτα ικανοποιητική διότι σε πολλές περιπτώσεις η αιτιολογία και οι παθογενετικοί μηχανισμοί είναι ασαφείς. Για το λόγο αυτόν, η μορφολογική ταξινόμηση των ηπατοπαθειών, όπως παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα εμφανίζεται σε πολλές περιπτώσεις πρακτική και ολοκληρωμένη¹⁴⁴.

Ταξινόμηση ηπατοπαθειών

ΠΑΡΕΓΧΥΜΑΤΙΚΗ ΝΟΣΟΣ

1. Ηπατίτιδα (ιογενής, φαρμακευτική, τοξική, ισχαιμική)
 - A. Οξεία
 - B. Χρόνια
2. Κίρρωση
 - A. Αλκοολική (πυλαία, κίρρωση του Laennec)
 - B. Μετανεκρωτική
 - Γ. Χολική
 - Δ. Αιμοχρωμάτωση
 - E. Σπάνια αίτια (π.χ. νόσος Wilson, γαλακτοσαιμία, κυστική ίνωση του παγκρέατος, έλλειψη α₁-αντιθρυψίνης)
3. Διηθητική νόσος
 - A. Γλυκογονώσεις
 - B. Λιπιδώσεις (συνδέτερο λίπος, χοληστερόλη, γαγγλιοσίδες, cerebrocides)
 - Γ. Αμυλοείδωση
 - Δ. Λέμφωμα, λευχαιμία
 - E. Κοκκιωματώδης νόσος (π.χ. φυματίωση, σαρκοείδωση, ιδιοπαθής)
4. Χωροκατακτητικές εξεργασίες
 - A. Ηπατώματα, ηπατικές μεταστάσεις
 - B. Αποστήματα (πυογόνα, αμοιδαβαδικά)
 - Γ. Κύστεις (πολυκυστική νόσος, εχινόκοκκος)
 - Δ. Κομμώματα (gummas)
5. Λειτουργικές διαταραχές συνοδευόμενες από ίκτερο
 - A. Σύνδρομο Gilbert
 - B. Σύνδρομο Crigler – Najjar
 - Γ. Σύνδρομο Dubin – Johnson και Rotor
 - Δ. Χολόσταση της κυήσεως και καλοήθης υποτροπιάζουσα χολόσταση

ΝΟΣΟΣ ΗΠΑΤΟΣ ΚΑΙ ΧΟΛΗΦΟΡΩΝ

1. Εξωηπατική απόφραξη χοληφόρων (από λίθο, στένωση ή όγκο)
2. Νόσος χολαγγείων (σηπτική χολαγγειίτιδα, πρωτοπαθής χολική κίρρωση, σκληρυντική χολαγγειίτιδα, προσβολή χολαγγείων από φάρμακα ή τοξίνες)

ΝΟΣΟΣ ΑΓΓΕΙΩΝ ΗΠΑΤΟΣ

1. Χρόνια συμφορητική ηπατοπάθεια και καρδιακή κίρρωση
2. Θρόμβωση ηπατικών φλεβών (σύνδρομο Budd – Chiari)
3. Θρόμβωση πυλαίας φλέβας
4. Πυλαιοφλεβίτιδα
5. Αρτηριοφλεβώδεις δυσπλασίες
6. Φλεβοαποφρακτική νόσος (VOD)



Χρόνια ηπατίτιδα

Ως χρόνια ηπατίτιδα ορίζεται το σύνδρομο που χαρακτηρίζεται από ηπατοκυτταρική νέκρωση και φλεγμονώδη αντίδραση του ήπατος που συνεχίζεται χωρίς βελτίωση πέραν των έξι μηνών και συμπεριλαμβάνει ένα φάσμα διαταραχών με διαφορετική αιτιολογία, παθογένεια, κλινική εικόνα και ιστοπαθολογία. Οι ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα μπορεί να είναι ασυμπτωματικοί με ελαφρά αυξημένες τρανσαμινάσες ή να παρουσιάσουν προοδευτικά ηπατική ανεπάρκεια και επιπλοκές της πυλαίας υπέρτασης¹⁴⁵.

Αιτιολογία χρόνιας ηπατίτιδας

Η χρόνια ηπατίτιδα μπορεί να οφείλεται σε χρόνια ιογενή ηπατίτιδα Β, (με ή χωρίς επιλοίμωξη από τον ιό της ηπατίτιδας δ), σε χρόνια ιογενή ηπατίτιδα C, σε φάρμακα και τοξίνες (π.χ. αλκοόλ), σε συγγενείς μεταβολικές διαταραχές όπως η νόσος Wilson και η ένδεια α₁-αντιθρυψίνης. Επιπροσθέτως, μερικές περιπτώσεις είναι άγνωστης αιτιολογίας (ιδιοπαθείς). Σε άλλες πάλι περιπτώσεις αναγνωρίζεται ως αίτιο ανοσολογικά κατευθυνόμενη καταστροφή (αυτοάνοση ηπατίτιδα). Ο επιπολασμός των κατηγοριών αυτών της χρόνιας ηπατίτιδας ποικίλλει και εξαρτάται μερικώς από τον επιπολασμό των ιογενών ηπατιτίδων στο γενικό πληθυσμό. Η κληρονομική αιμοχρωμάτωση, μολονότι δεν χαρακτηρίζεται από ιστολογικά ευρήματα χρόνιας ηπατίτιδας, είναι συχνότερη αιτία χρόνιας ηπατοπάθειας από ό,τι πιστευόταν και πρέπει να συνυπολογίζεται στη διαφορική διάγνωση. Οι αιτίες της χρόνιας ηπατίτιδας συνοψίζονται στον ακόλουθο πίνακα:

Χρόνιες ιογενείς λοιμώξεις
Ηπατίτιδα Β
Ηπατίτιδα Β με επιλοίμωξη από ηπατίτιδα D
Ηπατίτιδα C
Φάρμακα και τοξίνες, όπως
Αιθανόλη
Αμιοδαρόνη
Ασπιρίνη
Δανδρολένη
Ισονιαζίδη
Μεθυλ-ντόπα
Νιτροφουραντολη
Οξυφαινισατίνη
Perhexilene maleate
Φαιντοίνη
Προπυλθειουρακίλη
Σουλφοναμίδες
Νόσος Wilson
Ένδεια α ₁ -αντιθρυψίνης
Αυτοάνοση
Ιδιοπαθής - αγνώστου αιτιολογίας



Εξάλλου, στον εξής πίνακα φαίνονται ορισμένα συγκριτικά χαρακτηριστικά των συχνότερων τύπων χρόνιας ηπατίτιδας:

	Αυτοάνοση τύπου I	Ηπατίτιδα Β	Ηπατίτιδα C
Επικρατούν φύλο	Θήλυ	Άρρεν	Ίση συχνότητα
Ηλικία	15-25	Μεσήλικες	Όλες οι ηλικίες
HBsAg	-	+	-
Anti-HCV	-	-	+
Αυτοάνοσα νοσήματα	Συχνά	Σπάνια	Ενίοτε
Αύξηση γ-σφαιρινών	Μεγάλη	Μέτρια	Μέτρια
ASMA	Υψηλός τίτλος (70%)	Χαμηλός τίτλος ή (-)	Χαμηλός τίτλος ή (-)
Κίνδυνος ηπατώματος	Μικρός	Υψηλός	Υψηλός
Απάντηση στα στεροειδή	Καλή	Κακή	Κακή

Στο νεογνό και τα ανοσοκατασταλμένα άτομα και άλλες ιογενείς λοιμώξεις, όπως ο κυτταρομεγαλοϊός (CMV) μπορούν να προκαλέσουν χρόνια ηπατίτιδα. Η έλλειψη αι-αντιθρυψίνης συνήθως προκαλεί χολόσταση στο νεογνό αν και μπορεί να παρουσιαστεί ως χρόνια ηπατίτιδα. Επιπροσθέτως, σε μερικές περιπτώσεις η βιοψία ήπατος σε αλκοολικούς ασθενείς χωρίς άλλο αιτιολογικό παράγοντα μπορεί να αναδείξει εικόνα χρόνιας ηπατίτιδας

Κλινική εικόνα

Προέχει το σύμπτωμα της εύκολης κόπωσης. Μπορεί να έχει προηγηθεί αιμοδοσία στην οποία ο ασθενής βρέθηκε θετικός για ηπατίτιδα Β ή C, ή να διαπιστώθηκαν αυξημένα ηπατικά ένζυμα σε εξέταση ρουτίνας. Σπάνια, ο ασθενής δεν έχει αναρρώσει πλήρως μετά από οξεία ηπατίτιδα.

Το ιστορικό μεταγγίσεων, η χρήση ενδοφλέβιων τοξικών ουσιών, η παρουσία τατουάζ, το θετικό οικογενειακό ιστορικό και η καταγωγή από πληθυσμό με υψηλό επιπολασμό ιογενούς ηπατίτιδας προδιαθέτουν υπέρ ιογενούς αιτιολογίας της νόσου.

Τα συμπτώματα της χρόνιας ηπατίτιδας είναι συνήθως γενικά, όπως ναυτία, ακαθόριστο κοιλιακό άλγος, πόνοι μυών και αρθρώσεων.

Τα κλινικά ευρήματα μπορεί να περιλαμβάνουν ικτερική χροιά, τηλεγγειεκτασίες, μεγάλο ή μικρό ήπαρ και σπληνομεγαλία.

Τα ευρήματα της συμπτωματικής πυλαίας υπέρτασης (αιμορραγούντες κίρσοι οισοφάγου, εγκεφαλοπάθεια, ασκίτης) παρουσιάζονται σε προχωρημένο στάδιο της νόσου (όταν έχει επέλθει εξάλλου και κίρρωση).



Η διερεύνηση της χρόνιας ηπατίτιδας που πρέπει να ακολουθήσει, φαίνεται συνοπτικά στον επόμενο πίνακα:

Αιτία προσέλευσης

Κόπωση, γενική αδιαθεσία

Μετά αιμοδοσία: ειδοποίηση θετικού τεστ για ηπατίτιδα Β ή C

Μετά οξεία ηπατίτιδα: αποτυχία ανάρρωσης, είτε κλινική είτε βιοχημική

Παθολογικά κλινικά ευρήματα: ηπατομεγαλία, σπληνομεγαλία, ίκτερος, ασκίτης

Μεταγγίσεις αίματος στο παρελθόν

Κατάχρηση φαρμάκων στο παρελθόν

Λήψη προσεκτικού ιστορικού και επιμελής φυσική εξέταση

Εργαστηριακός έλεγχος ρουτίνας

Δοκιμασίες ηπατικής λειτουργίας

Χολερυθρίνη

Ασκαρτική αμινοτρανσφεράση (SGOT, AST)

Αμινοτρανσφεράση αλανίνης (SGPT, ALT)

Γάμμα-σφαιρίνες

Αλβουμίνη

Αλκαλική φωσφατάση

Γ-γλουταμυλτρανσπεπτιδάση

Αιματολογικός έλεγχος

Αιμοσφαιρίνη

Λευκά αιμοσφαίρια

Αιμοπετάλια

Χρόνος προθρομβίνης

Αντιγόνο επιφάνειας ιού ηπατίτιδας Β (HBsAg)

anti-HBc

anti-HBs

HBsAg

anti-HBe

HBV-DNA

anti-HDV

HDV-RNA

Αντίσωμα για ηπατίτιδα C (anti-HCV)

RIBA 2.0 ή 3.0

HCV-RNA

Γονότυπος HCV

Ειδικές δοκιμασίες

Αντισώματα ορού

Αντικυρηνικά (ANA)

Αντι-λείων μυικών ιών (ASMA)

Αντι-μιτοχονδριακά

Ήπατος-νεφρών μικροσωμιακά (LKM)

Σερρουλοπλασμίνη - χαλκός

Έλεγχος κερατοειδούς με σχισμοειδή λυχνία

Άλφα Εμβρυϊκή Πρωτεΐνη (αFP)

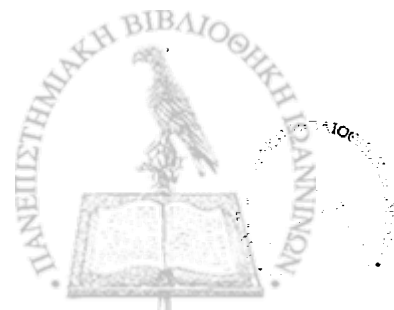
Σίδηρος ορού

Φερριτίνη

Υπερηχογράφημα άνω κοιλίας

Βιοψία ήπατος

Χρώσεις αιματοξυλίνης και ηωσίνης και συνδετικού ιστού



Οι βιοχημικές δοκιμασίες δείχνουν αύξηση των τρανσαμινασών, ενώ αυξημένες είναι και οι γάμμα-σφαιρίνες του ορού. Η χολερυθρίνη, η αλκαλική φωσφατάση και η αλβουμίνη ορού είναι συνήθως εντός φυσιολογικών ορίων, πλην επί σοβαρής νόσου.

Ο βαθμός αύξησης των τρανσαμινασών δεν αντικατοπτρίζει τη σοβαρότητα της ηπατοπάθειας ιστολογικώς, αλλά μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη διαβάθμιση της ηπατικής φλεγμονής¹⁴⁶:

- Ήπια: Μικρότερες από 100 IU/L (2,5-3 φορές το ανώτερο φυσιολογικό όριο).
- Μέτρια: Μεταξύ: 100-400 IU/L (3-10 φορές το ανώτερο φυσιολογικό όριο).
- Σοβαρή: Μεγαλύτερες από 400 IU/L (πάνω από 10 φορές το ανώτερο φυσιολογικό όριο).

Ηπατική ιστολογία

Ποικίλοι βαθμοί νέκρωσης και φλεγμονής του ήπατος αναδεικνύονται ιστολογικώς στη χρόνια ηπατίτιδα¹⁴⁷. Τα πυλαία διαστήματα παρουσιάζουν διήθηση από λεμφοκύτταρα και πλασματοκύτταρα. Υπάρχει ίνωση σταδιακά αυξανόμενη και η φλεγμονή επεκτείνεται στο ηπατικό λόβιο προκαλώντας διάβρωση των ορίων του και τμηματική διαβρωποϊό νέκρωση (piecemeal necrosis). Μερικά ηπατοκύτταρα παρουσιάζουν οίδημα (φουσαλιδώδη εκφύλιση), συρρίκνωση (οξεόφιλο μεταβολή) και σχηματισμό οξεόφιλων σωματίων. Η χολόσταση είναι σπάνια. Μπορεί να υπάρχει καταστροφή χοληφόρων αγγείων, ειδικά στην ηπατίτιδα C. Η ιστολογική εικόνα δυνατόν να προσομοιάζει αυτή της οξείας ηπατίτιδας αλλά η διάρκεια της νόσου είναι μεγαλύτερη και προεξάρχει η εικόνα της ενδολοβιακής φλεγμονής και νεκρώσεως. Η νέκρωση μπορεί να είναι εστιακή.

Η σοβαρή μορφή της χρόνιας ηπατίτιδας χαρακτηρίζεται ιστολογικώς από την παρουσία μεγάλων λοβιακών περιοχών με συνεχή νέκρωση με απομόνωση νησίδων ηπατοκυττάρων με τη μορφή ροζετών. Η συνεχής νέκρωση που συνδέει αγγειακές περιοχές ονομάζεται γεφυροποϊός νέκρωση. Αυτή μπορεί να είναι μεταξύ πυλαίων διαστημάτων ή μεταξύ πυλαίων διαστημάτων και τελικών φλεβιδίων (η δεύτερη αυτή είναι η σοβαρότερη).



Ως κίρρωση του ήπατος ορίζεται η διάχυτη ίνωση με σχηματισμό όζων και καταστροφή της αρχιτεκτονικής του ήπατος, είναι δε συνέπεια της χρόνιας ηπατοκυτταρικής νέκρωσης.

Σε χολοστατικά νοσήματα τα περιτυλαία ηπατοκύτταρα μπορεί να παρουσιάσουν οίδημα και νέκρωση. Μολαταύτα, τα λεμφοκύτταρα είναι σπάνια, επικρατούν τα πολυμορφοπύρρηνα και ο χαλκός του ήπατος είναι συνήθως αυξημένος.

Ιστολογική ταξινόμηση χρόνιας ηπατίτιδας

Οι παλιότεροι όροι ταξινόμησης της χρόνιας ηπατίτιδας σε χρόνια εμμένουσα, χρόνια ενεργό και χρόνια λοβωδιακή έχουν καταργηθεί. Η νέα ορολογία βασίζεται στην αιτιολογία, το κλινικό στάδιο, την ιστολογική σοβαρότητα της νόσου (νεκρωτική-φλεγμονώδης δραστηριότητα) και το στάδιο-βαθμό της ίνωσης¹⁴⁵⁻¹⁴⁹, όπως φαίνεται και στους παρακάτω πίνακες:

Δείκτης φλεγμονώδους-νεκρωτικής δραστηριότητας ήπατος (HAI)¹⁴⁹

Στοιχείο	Βαθμός
Περιτυλαία νέκρωση με ή χωρίς γεφυροποιό νέκρωση	0-10
Ενδολοβιακή εκφύλιση και εστιακή νέκρωση	0-4
Πυλαία φλεγμονή	0-4

Συσχέτιση σταδίου χρόνιας ηπατίτιδας με το δείκτη HAI (χωρίς να ληφθεί υπόψη ο βαθμός ίνωσης)

HAI	Στάδιο χρόνιας ηπατίτιδας
1-3	Ελάχιστη δραστηριότητα
4-8	Ήπια
9-12	Μέτρια
13-18	Σοβαρή



Σταδιοποίηση χρόνιας ηπατίτιδας ανάλογα με το βαθμό ίνωσης^{146,147}

Σκορ	Στάδιο ίνωσης	Περιγραφή
0	Καμία	-
1	Ελαφριά	Διάταση πυλαίων διαστημάτων
2	Μέτρια	Πυλαία-πυλαία διαφραγμάτια
3	Σοβαρή	Γεφυροποίηση με καταστροφή
4	Κίρρωση	Κίρρωση

Η κλινική σοβαρότητα της χρόνιας ηπατίτιδας εκτιμάται συνήθως (χωρίς να είναι απολύτως σωστό από τα επίπεδα των τρανσαμινασών. Εφόσον αναπτυχθεί κίρρωση, τότε η εκτίμηση της κλινικής σοβαρότητας γίνεται με το δείκτη Child - Pugh (χρόνος προθρομβίνης, αλβουμίνη, χολερυθρίνη ορού, παρουσία ασκίτη και εγκεφαλοπάθειας). Η ιστολογική σοβαρότητα εκτιμάται με το δείκτη ΗΑΙ, ενώ το ιστολογικό στάδιο της ινώσεως με τον προαναφερμένο δείκτη ινώσεως.

Ανοσολογικοί μηχανισμοί ηπατοτοξικότητας

Η χρόνια ηπατίτιδα αποτελεί παράδειγμα νόσου στην οποία οι ανοσολογικοί μηχανισμοί διαδραματίζουν ουσιαστικό ρόλο στη συνέχιση της ηπατοκυτταρικής βλάβης. Η ηπατική ιστολογία δείχνει μεγάλη διήθηση των πυλαίων διαστημάτων από λεμφοκύτταρα και πλασματοκύτταρα με περιπυλαία νέκρωση. Συχνά ανιχνεύονται αυτοαντισώματα, ενώ η αύξηση των σφαιρινών είναι ο κανόνας. Στη χρόνια ηπατίτιδα υπάρχει μία ανοσολογική αντίδραση εναντίον συστατικών της μεμβράνης των ηπατοκυττάρων που αναγνωρίζονται ως αντιγόνα. Η ενεργοποίηση του μηχανισμού κυτταρικής ανοσίας κατά ηπατοκυτταρικών αντιγόνων έχει αποδειχθεί στη χρόνια ηπατοπάθεια, ενώ το ρόλο διαμεσολαβητών παίζουν ευαισθητοποιημένα λεμφοκύτταρα και μονοπύρνα.



Χαρακτηριστικά ορισμένων τύπων χρόνιας ηπατίτιδας

Αιτιολογία	Σύνηθες Φύλο	Σύνηθης ηλικία	Συσχέτισεις	Διαγνωστικές δοκιμασίες	Ιστολογία
Ηπατίτιδα B (ή και D)	Άρρεν	Όλες	Ασιάτες, Αφρικανοί, κάτοικοι Μεσογείου, ανοσοκατασταλμένα, ομοφυλόφιλοι, επαγγέλματα υγείας	HBsAg, anti-HBe, anti-HDV, HBV-DNA, HDV-RNA, anti-HBc, anti-HBs	ήπατα, ground-glass ηπατοκύτταρα, θετική χρώση ορσίνης, αντηγόνο δέλτα στον πυρήνα
Ηπατίτιδα C	Ίση συχνότητα	Όλες	Λήπτες μεταγγίσεων αίματος ή προϊόντων, τοξικομανείς	Anti-HCV, HCV-RNA	Παρουσία λίπους, λοβιακή συμμετοχή, συσσωρεύσεις λεμφοκυττάρων
Αυτοάνοση	Θήλυ	14-25, μετά την εμμηνόπαυση	Πολυσυστηματική (διαβήτης, αρθραλγίες, αμυλωτική αναμμία, νεφρίτιδα)	ANA + 70% ASMA + 70%	Ρύτικες, πλασματοκυτταρικές διηθήσεις, γεφυροποίηση, ποικίλη εικόνα
Φάρμακα	Θήλυ	>50	ισονιαζίδη, μεθυλ-ντάσα, δανδραλόνη, αντιθρομβωτικά φάρμακα κ.α.	Αύξηση γ-οραμινών, ιστορικά, Ηπατική ιστολογία	Ηεπαινόφιλα, λίπους, κοκκώματα
Νόσος Wilson	Ίση συχνότητα	10-30	Οικογενειακό ιστορικά, σιμόλωση, νεφρολογικά σημεία	Διατύλιος καταταξιούς Kayser-Fleischer, σερουλοπλασμίνη, χελικός ορός - ούρων - ήπατος	Φουσκωμένα ηπατοκύτταρα, πυρήνας γλυκογόνου, λίπους

Αιτιολογία κίρρωσης

Οι νόσοι ή οι παράγοντες που μπορούν να οδηγήσουν σε κίρρωση ήπατος είναι ποικίλοι και μπορούν να ταξινομηθούν σε τρεις μεγάλες κατηγορίες: γνωστές νόσοι ή παράγοντες με αποδεδειγμένη αιτιολογική συσχέτιση, γνωστές νόσοι ή παράγοντες με πιθανή συσχέτιση και άγνωστες νόσοι ή παράγοντες¹⁵⁰.

Η συντριπτική πλειοψηφία των κίρρωσεων του ήπατος οφείλεται στις χρόνιες ιογενείς και την αλκοολική ηπατοπάθεια, με συχνότητες που κυμαίνονται ανάλογα με τη χώρα, την περιοχή, τον επιπολασμό των ιών ηπατίτιδας και το ποσοστό αλκοολισμού. Σε αρκετές αναπτυγμένες χώρες του Δυτικού κόσμου (ΗΠΑ, Μεγάλη Βρετανία, Γαλλία) η κατάχρηση οινοπνεύματος αποτελεί τη συχνότερη αιτία ανάπτυξης κίρρωσης, αλλά στη χώρα μας και σε άλλες μεσογειακές χώρες (Ιταλία, Ισπανία) οι χρόνιες ιογενείς ηπατίτιδες κατέχουν σαφώς την πρώτη θέση από πλευράς συχνότητας. Η πρωτοπαθής χολική κίρρωση και η πρωτοπαθής σκληρυντική χολαγγειίτιδα αποτελούν συνήθως την τρίτη συχνότερη ομάδα νοσημάτων, που οδηγούν σε κίρρωση του ήπατος μέσω χρόνιας ενδοηπατικής χολόστασης. Οι τρεις αυτές κατηγορίες ευθύνονται για περισσότερο από το 95% των περιπτώσεων κίρρωσης του ήπατος.

Μία πλήρης αιτιολογική ταξινόμηση των νόσων ή παραγόντων που οδηγούν σε κίρρωση ήπατος φαίνεται στον επόμενο πίνακα:

Πίνακας: Αίτια κίρρωσης του ήπατος

A. Γνωστές νόσοι ή παράγοντες με αποδεδειγμένη αιτιολογική συσχέτιση

1. Χρόνια ιογενής ηπατίτιδα Β, δ, C
2. Αλκοολική ηπατοπάθεια
3. Χρόνια χολόσταση
 - α) ενδοηπατική (πρωτοπαθής χολική κίρρωση, πρωτοπαθής σκληρυντική χολαγγειίτιδα)
 - β) εξηπατική
4. Μεταβολικές ηπατοπάθειες (αιμοχρωμάτωση, νόσος του Wilson, ανεπάρκεια α₁-αντιθρομβίνης, κυστική ίνωση, γαλακτοσαμία, τύπου IV γλυκογόνοση, αθηταλυποπρωτεϊναιμία, πορφυρίες κλπ.)
5. Χρόνιες αυτοάνοσες ηπατίτιδες
6. Απόφραξη ηπατικών φλεβών (σύνδρομο Budd-Chiari, φλεβοαποφρακτική νόσος, συμφορητική περικαρδίτιδα κλπ.)
7. Φάρμακα (μεθοτρεξάτη, αμιοδαρόνη, φλοξουριδίνη κλπ.)
8. Μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα
9. Εντερική παράκαμψη

B. Γνωστές νόσοι ή παράγοντες με πιθανή αιτιολογική συσχέτιση

1. Λοιμώξεις (σχιστοσωμίαση, σύφιλη, ελονοσία)
2. Κοκκιωματώδεις νόσοι (φυματίωση, σαρκοείδωση, βρουκέλλωση)
3. Υποθρεψία

Γ. Άγνωστες νόσοι ή παράγοντες

1. Κρυπτογενής κίρρωση
2. Νόσος της παιδικής ηλικίας των Ινδιάνων



Φυσική ιστορία κίρρωσης

Η κίρρωση του ήπατος είναι από τις συχνότερες αιτίες θανάτου και στις ΗΠΑ αποτελεί την 11^η κατά σειρά αιτία θανάτου στη δεκαετία του '90. Η φυσική ιστορία της κίρρωσης χαρακτηρίζεται από παρατεταμένο προκλινικό στάδιο που ακολουθείται από βραχύτερο κλινικό στάδιο, οπότε και αναπτύσσονται οι διάφορες κλινικές επιπλοκές. Η κίρρωση του προκλινικού σταδίου χαρακτηρίζεται ως αντιρροπούμενη και του κλινικού ως μη αντιρροπούμενη κίρρωση. Η κατάληξη της μη αντιρροπούμενης κίρρωσης, αν δεν γίνει μεταμόσχευση ήπατος, είναι ο θάνατος του ασθενούς. Οι μείζονες κλινικές επιπλοκές, των οποίων η εμφάνιση επηρεάζει σημαντικά το προσδόκιμο επιβίωσης, διακρίνονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες: α) επιπλοκές που οφείλονται στην ανεπάρκεια των ηπατοκυττάρων και/ ή στην ανάπτυξη πυλαίας υπέρτασης, όπως ασκίτης, κιρσορραγία, ηπατική εγκεφαλοπάθεια και ίκτερος (επιπλοκές που χαρακτηρίζουν τη μη αντιρροπούμενη κίρρωση και β) ηπατοκυτταρικός καρκίνος¹⁵⁰⁻¹⁵¹.

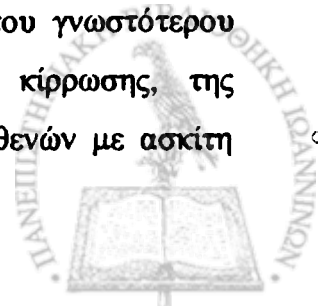
Αντιρροπούμενη κίρρωση

Η αντιρροπούμενη κίρρωση συχνά ανακαλύπτεται τυχαία ή λόγω χρόνιας παρακολούθησης των ασθενών εξαιτίας γνωστής χρόνιας ηπατοπάθειας. Τα συμπτώματα, αν υπάρχουν είναι άτυπα (συνήθως κόπωση), ενώ σημεία χρόνιας ηπατικής νόσου (αγγειοματώδεις σπίλοι, ηπατικές παλάμες, ηπατοσπληνομεγαλία) μπορεί να μην υπάρχουν ή να μην αξιολογηθούν επαρκώς. Συνήθη εργαστηριακά ευρήματα είναι η αύξηση των γ-σφαιρινών και ίσως ήπια αύξηση των τρανσαμινασών. Η διάγνωση κατά κανόνα τίθεται με βιοψία ήπατος¹⁵².

Μη αντιρροπούμενη κίρρωση

Ασκίτης

Ο ασκίτης αποτελεί τη συχνότερη από τις μείζονες επιπλοκές της μη αντιρροπούμενης κίρρωσης. Οι μισοί από τους ασθενείς με αντιρροπούμενη κίρρωση αναπτύσσουν εντός δεκαετίας ασκίτη ως πρώτη εκδήλωση μη αντιρρόπησης. Η εμφάνιση ασκίτη αποτελεί δυσμενές προγνωστικό σημείο, ενώ η παρουσία και η ποσότητα του ασκίτικου υγρού συμμετέχουν στη διαμόρφωση του γνωστότερου συστήματος αντικειμενικής αξιολόγησης της βαρύτητας της κίρρωσης, της σταδιοποίησης κατά Child-Pugh. Υπολογίζεται ότι 50% των ασθενών με ασκίτη



καταλήγουν εντός διαιτίας και γι' αυτό η ανάπτυξη ασκίτη έχει συμπεριληφθεί μεταξύ των ενδείξεων για έναρξη προμεταμοσχευτικού ελέγχου¹⁵⁰⁻¹⁵³.

Child-Pugh σκορ			
Βαθμοί	1	2	3
Ασκίτης	Απών ή ήπιος	Μέτριος	Υπό τάση
Εγκεφαλοπάθεια	Απούσα	Στάδιο 1 ή 2	Στάδιο 3 ή 4
Χολερυθρίνη* (mg/dl)	<2	2-3	>3
Αλβουμίνη	>3.5	2.8-3.5	<2.8
Χρόνος προθρομβίνης (παράταση σε sec)	<4	4-6	>6

*Ειδικά για πρωτοπαθή χολική κίρρωση ή πρωτοπαθή σκληρυντική χολαγγειίτιδα, χολερυθρίνη (σε mg/dl): <4=1 βαθμός, 4-10=2 βαθμοί, >10=3 βαθμοί.

Στάδιο Child-Pugh: Α αν σκορ ≤6, Β αν σκορ=7-9, C αν σκορ ≥10.

Μία σοβαρή επιπλοκή σε 10-25% των ασθενών με ασκίτη είναι η ανάπτυξη αυτόματης βακτηριδιακής περιτονίτιδας (ΑΒΠ). Η ετήσια προσδοκώμενη επιβίωση των ασθενών με ασκίτη υπολογίζεται περίπου στο 66% αλλά μειώνεται στο 38% μετά από ένα επεισόδιο ΑΒΠ. Παρά τη βελτίωση των διαγνωστικών μεθόδων και την εφαρμογή νεότερων αντιβιοτικών, που έχουν ως αποτέλεσμα την επαυχή αντιμετώπιση 80-90% των περιπτώσεων ΑΒΠ, η θνητότητα κατά τη διάρκεια της νοσηλείας ενός επεισοδίου ΑΒΠ παραμένει υψηλή (17-38%) και οφείλεται κυρίως στην επιδείνωση της ηπατικής και νεφρικής λειτουργίας ή σε αιμορραγία από το γαστρεντερικό. Έτσι, συνιστάται προληπτική χορήγηση κινολόνης σε κίρρωτικούς που εισέρχονται στο νοσοκομείο και έχουν ισχυρούς παράγοντες κινδύνου για ΑΒΠ όπως: 1) χαμηλή αλβουμίνη ασκιτικού υγρού (<1g/dl), β) κίρρωση, γ) προηγούμενο επεισόδιο ΑΒΠ. Επειδή ο κίνδυνος υποτροπής της ΑΒΠ είναι υψηλός, συνιστάται επίσης μακροχρόνια προφυλακτική αγωγή με κινολόνη σε ασθενείς με προηγούμενο επεισόδιο ΑΒΠ¹⁵³⁻¹⁵⁴.

Ακόμη σοβαρή επιπλοκή σε ασθενείς με ασκίτη είναι το ηπατονεφρικό σύνδρομο. Σε μελέτη από την Ισπανία, ηπατονεφρικό σύνδρομο αναπτύχθηκε σε 18% στον πρώτο χρόνο και 39% στα τρία χρόνια από την εμφάνιση ασκίτη. Η μέση επιβίωση μετά την ανάπτυξη ηπατονεφρικού συνδρόμου ήταν 1,7 εβδομάδες.

Κίρρωση

Οι κίρροι του οισοφάγου αποτελούν ουσιαστικά μία από τις ποικίλες παράπλευρες οδούς διαφυγής, που αναπτύσσονται λόγω της πυλαίας υπέρτασης και



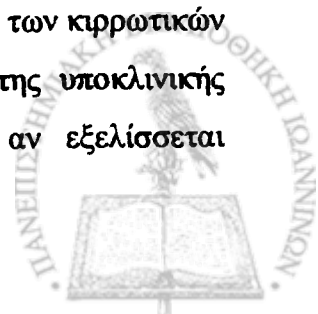
της αυξημένης ενδοηπατικής αντίστασης στην πυλαία κυκλοφορία. Κιρσοί οισοφάγου μπορεί να αναπτυχθούν σε κάθε ασθενή με κίρρωση του ήπατος. Σε μία Ιταλική μελέτη 225 ασθενών με κυρίως αντιρροπούμενη κίρρωση (82%) από τους ιούς ηπατίτιδας (78%) και με διάμεση παρακολούθηση 8 χρόνια, κιρσοί οισοφάγου αναπτύχθηκαν σε 8% των ασθενών κατ' έτος για τα πρώτα δύο χρόνια και σε 30% συνολικά των ασθενών με βετή παρακολούθηση¹⁵⁵.

Κιρσορραγία εκδηλώνεται ετησίως σε 5% των κίρρωτικών και 10-30% των κίρρωτικών με κιρσούς οισοφάγου. Ο κίνδυνος κιρσορραγίας εξαρτάται από το μέγεθος των κιρσών, τη βαρύτητα της ηπατικής ανεπάρκειας και την παρουσία ερυθρών κηλίδων επί της κιρσικής επιφάνειας. Κιρσορραγία εκδηλώνεται σχεδόν αποκλειστικά σε ασθενείς με διαφορά πίεσης μεταξύ ηπατικής και πυλαίας φλέβας μεγαλύτερη από 12 mmHg, αλλά η περαιτέρω αύξηση της πίεσης δεν συνεπάγεται και ανάλογη αύξηση του κινδύνου κιρσορραγίας. Η κιρσορραγία είναι πολύ σοβαρή επιπλοκή, που εξακολουθεί να συνοδεύεται από θνητότητα 30-50%. Η θνητότητα που συνοδεύει ένα επεισόδιο κιρσορραγίας είναι ανάλογη της βαρύτητας της υποκείμενης ηπατικής νόσου και οι περισσότεροι θάνατοι συμβαίνουν τις πρώτες 7-10 ημέρες συχνότερα λόγω αδυναμίας ελέγχου της αιμορραγίας¹⁵⁶.

Η σοβαρότητα της κιρσορραγίας επιβάλλει την προληπτική χορήγηση μη εκλεκτικών β-αδρενεργικών αναστολέων σε όλους τους κίρρωτικούς με ευμεγέθεις κιρσούς οισοφάγου, καθώς έχει αποδειχθεί ότι τα φάρμακα αυτά μειώνουν σημαντικά τον κίνδυνο κιρσορραγίας. Δεν είναι βέβαιο αν οι β-αδρενεργικοί αναστολείς ελαττώνουν την πιθανότητα ανάπτυξης κιρσών οισοφάγου σε ασθενείς χωρίς κιρσούς ή αν μειώνουν το σχετικά μικρό κίνδυνο κιρσορραγίας σε ασθενείς με μικρούς κιρσούς οισοφάγου.

Ηπατική εγκεφαλοπάθεια

Η ηπατική εγκεφαλοπάθεια είναι ένα νευροψυχιατρικό σύνδρομο που αναπτύσσεται σε ασθενείς με ηπατοκυτταρική ανεπάρκεια. Είναι μεταβολικού τύπου εγκεφαλοπάθεια, συνήθως αναστρέψιμη, και μπορεί να διακριθεί σε υποκλινική, που διαγιγνώσκεται μόνο με διάφορες ψυχομετρικές δοκιμασίες ή το ηλεκτροεγκεφαλογράφημα, και σε κλινική. Υπολογίζεται ότι 50-80% των κίρρωτικών ασθενών έχουν υποκλινική εγκεφαλοπάθεια. Η φυσική ιστορία της υποκλινικής εγκεφαλοπάθειας δεν είναι ξεκαθαρισμένη και είναι άγνωστο αν εξελίσσεται υποχρεωτικά σε κλινική μορφή¹⁵⁷.



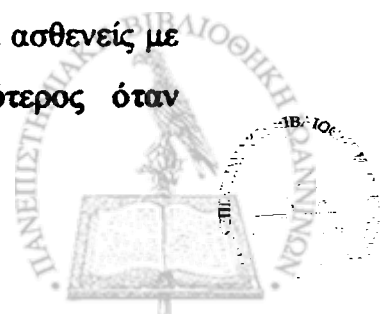
Η εμφάνιση κλινικής εγκεφαλοπάθειας αποτελεί δυσμενές προγνωστικό σημείο για τον ασθενή με κίρρωση. Προδιαθεσικοί παράγοντες για ηπατική εγκεφαλοπάθεια είναι: α) καταστάσεις που συνδυάζονται με αυξημένη παραγωγή αμμωνίας (βακτηριδιακές λοιμώξεις, δυσκοιλιότητα, αιμορραγία γαστρεντερικού, μετάγγιση, νεφρική ανεπάρκεια), β) ελάττωση ενδαγγειακού όγκου και ηπατική υποξία (υπερδιούρηση, διάρροια-έμετοι, μεγάλου όγκου παρακέντηση, υποογκαιμία), γ) λήψη κατασταλτικών φαρμάκων, δ) διαταραχές οξεοβασικής ισορροπίας ή ηλεκτρολυτών και ε) τεχνητές πυλαϊσοσυστηματικές παρακάμψεις. Η αντιμετώπιση των παραγόντων αυτών μπορεί να οδηγήσει σε βελτίωση της εγκεφαλοπάθειας και σε μείωση των υποτροπών της.

Ίκτερος

Ο ίκτερος οφείλεται κατά κανόνα σε ανεπάρκεια των ηπατοκυττάρων να εκκρίνουν χολερυθρίνη και υποδηλώνει σοβαρή ηπατική ανεπάρκεια. Η τιμή της ολικής χολερυθρίνης ορού επηρεάζει τη σταδιοποίηση κατά Child-Pugh. Δεν πρέπει όμως να ξεχνούμε ότι και άλλοι παράγοντες, που δε σχετίζονται με το βαθμό ηπατικής ανεπάρκειας μπορούν να προκαλέσουν ίκτερο σε κίρρωτικούς ασθενείς. Τέτοιοι παράγοντες είναι: βακτηριδιακές λοιμώξεις, απόφραξη χοληφόρων (από όγκο, λίθο, χρόνια παγκρεατίτιδα), επιπροσθεθείσα οξεία ιογενής ή αλκοολική ηπατίτιδα, αιμόλυση, νεφρική ανεπάρκεια. Η διαφορική διάγνωση είναι απαραίτητη ώστε να αντιμετωπίζονται κατά τον καλύτερο τρόπο τα αναστρέψιμα αίτια ικτέρου στους κίρρωτικούς¹⁵¹.

Ηπατοκυτταρικός καρκίνος

Η κίρρωση του ήπατος ανεξαρτήτως αιτιολογίας αποτελεί σημαντικό παράγοντα κινδύνου για ηπατοκυτταρικό καρκίνο (ΗΚΚ). Ο ετήσιος κίνδυνος ανάπτυξης ΗΚΚ σε ασθενείς με κίρρωση κυμαίνεται μεταξύ 1% και 6%. Αν και ο κίνδυνος ΗΚΚ θεωρείται υψηλότερος για κίρρωση λόγω λοιμώξεων με ιούς ηπατίτιδας, υψηλή επίπτωση ΗΚΚ παρατηρείται και σε ασθενείς με κίρρωση λόγω γενετικής αιμοχρωμάτωσης. Αντίθετα, ο κίνδυνος ΗΚΚ φαίνεται ότι είναι χαμηλός σε ασθενείς με πρωτοπαθή χολική κίρρωση. ΗΚΚ μπορεί να αναπτυχθεί σε ασθενείς με αλκοολική κίρρωση, αλλά ο κίνδυνος γίνεται σημαντικά μεγαλύτερος όταν συνυπάρχει και χρόνια ιογενής ηπατίτιδα¹⁵⁸.



Συστηματικός προληπτικός έλεγχος των ασθενών με κίρρωση από ιούς ηπατίτιδας για πρόωπη διάγνωση ΗΚΚ εφαρμόζεται σε αρκετά κέντρα του κόσμου, χωρίς όμως να είναι βέβαιο ότι η πιθανή πρωιμότερη διάγνωση συνδυάζεται με αντίστοιχη καλύτερη επιβίωση. Ο συνηθέστερος τρόπος προληπτικού ελέγχου είναι η περιοδική μέτρηση α-εμβρυϊκής πρωτεΐνης και το υπερηχογράφημα ήπατος. Αν και δεν υπάρχουν συγκεκριμένα χρονικά διαστήματα επιτήρησης, ο έλεγχος ανά εξάμηνο θεωρείται ο ασφαλέστερος, καθώς το συντομότερο χρονικό διάστημα εντός του οποίου έχει παρατηρηθεί αύξηση όγκου από μη ανιχνεύσιμο σε ανιχνεύσιμο μέγεθος (από 1cm σε 3cm) είναι 5 μήνες.



Συνήθεις μορφές χρόνιας ηπατοπάθειας

1. Αυτοάνοση ηπατίτιδα

Η αυτοάνοση ηπατίτιδα είναι νόσος που οφείλεται στη διαταραχή του αμυντικού μας συστήματος και αφορά την αναγνώριση και την ανοχή των «ίδιων πρωτεϊνών - αντιγόνων», με συνέπεια την ενεργοποίηση χυμικών και κυτταρικών ανοσιακών μηχανισμών και την πρόκληση χρόνιας φλεγμονής των ηπατοκυττάρων. Η ενεργοποίηση αυτή χαρακτηρίζεται από την παρουσία αυτοαντισωμάτων έναντι ειδικών ή/και μη ειδικών για το ήπαρ πρωτεϊνών, από υπεργαμμασφαιριναιμία και από την παρουσία περιτυλαίας διαβρωτικής νέκρωσης στην ιστολογική εικόνα του ήπατος. Η διάκριση της αυτοάνοσης ηπατίτιδας από την πρωτοπαθή χολική κίρρωση, την αυτοάνοση χολαγγειίτιδα και την πρωτοπαθή σκληρυντική χολαγγειίτιδα βασίζεται σε κλινικά, ιστολογικά και ανοσολογικά χαρακτηριστικά. Έχουν όμως περιγραφεί ασθενείς με σύνδρομα επικάλυψης, οι οποίοι παρουσιάζουν ευρήματα για βέβαιη διάγνωση περισσότερων του ενός από τα παραπάνω νοσήματα. Το ίδιο μπορεί να παρατηρηθεί και σε ασθενείς με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα, κυρίως από τον ιό C, επί παρουσίας αυτοαντισωμάτων στον ορό τους¹⁵⁹.

Οι ακριβείς παθογενετικοί μηχανισμοί της αυτοάνοσης ηπατίτιδας δεν είναι γνωστοί. Η παρουσία των HLA αλληλοτύπων A1-B8-DR3 ή του DR4 έχουν συσχετιστεί ανεξάρτητα με την εμφάνιση αυτοάνοσης ηπατίτιδας¹⁶⁰. Οι παράγοντες που οδηγούν στην εκδήλωση της νόσου δεν είναι γνωστοί. Έχουν ενοχοποιηθεί ιογενείς λοιμώξεις (ιλαράς, ηπατίτιδας A, Epstein-Barr) καθώς και η χορήγηση ιντερφερόνης-α¹⁶¹. Βέβαιο είναι επίσης ότι το ανοσολογικό σύστημα των ασθενών με αυτοάνοση ηπατίτιδα δυσλειτουργεί και δεν εμφανίζει όταν πρέπει αυτόματη ανοσοκαταστολή¹⁶². Η παρουσία ημιοργανοειδικών και μη οργανοειδικών αντισωμάτων συμβάλλει στην καταστροφή των ηπατοκυττάρων, διότι από την παρουσία τους εξαρτάται η δράση κυτταροτοξικών T-λεμφοκυττάρων, που ενεργοποιούνται από βοηθητικά T-λεμφοκύτταρα. Τα κυτταροτοξικά T-λεμφοκύτταρα και τα φονικά λεμφοκύτταρα καταστρέφουν τα ηπατοκύτταρα πιθανώς μέσω κυτταροκινών, όπως ο παράγοντας νέκρωσης όγκου (TNF) και η ιντερφερόνη-γ.

Τα αυτοαντισώματα που είναι δυνατόν να ανευρεθούν στην αυτοάνοση ηπατίτιδα φαίνονται στον ακόλουθο πίνακα:



Αντίσωμα	Αυτοαντιγόνο στόχος
<i>Μη οργανοειδικά</i>	
Αντυρυνητικά αντισώματα (ANA)	DNA ιστόνες (ds-ss-DNA)
Έναντι λείων μυικών ινών	ASMA
Anti-GOR	Πεπτίδιο ηπατοκυττάρων και άλλων κυττάρων
Anti-calmodulin	Πρωτεΐνη που δεσμεύει ασβέστιο στο ηπατοκύτταρο
Anti-sulfatide	Γλυκοσφιγγολιπίδιο ήπατος κ.α. οργάνων
<i>Ημι-οργανοειδικά</i>	
Μικροσωμιακά ήπατος-νεφρών (anti-LKM 1)	Κυτόχρωμα P450 IID6
Έναντι ήπατος-παγκρέατος (anti-LP)	Άγνωστο αντιγόνο σε ήπαρ – πάγκρεας
<i>Οργανοειδικά</i>	
Έναντι ηπατικής κυτοσόλης (anti-LC1)	Ηπατοκυτταρική πρωτεΐνη άγνωστης εντόπισης
Έναντι διαλυτών ηπατικών αντιγόνων (anti-SLA)	Υπομονάδες της S-τρανσφεράσης
Έναντι ηπατοκυτταρικής λιποπρωτεΐνης (anti-LMA)	Μεμβρανική ηπατοκυτταρική πρωτεΐνη
Έναντι ηπατοκυτταρικής λιποπρωτεΐνης (anti-LSP)	Πολλαπλά αντιγόνα
Έναντι του υποδοχέα της ασιαλογλυκοπρωτεΐνης (anti-ASGP-R)	Υποδοχέας ασιαλογλυκοπρωτεΐνης στο ηπατοκύτταρο

Η ταξινόμηση της αυτοάνοσης ηπατίτιδας προτείνεται να γίνεται σε δύο υποκατηγορίες, την ANA, SMA, p-ANCA και/ή anti-SLA/LP θετική αυτοάνοση ηπατίτιδα τύπου I και την αντι-LKM/αντι-LC1 θετική αυτοάνοση ηπατίτιδα τύπου II. Τα ορολογικά, κλινικά και γενετικά χαρακτηριστικά των δύο αυτών μορφών φαίνονται στον πιο κάτω πίνακα^{163,164}:



Τύπος ΑΗ	Αυτοάνοση ηπατίτιδα τύπου 1	Αυτοάνοση ηπατίτιδα τύπου 2
Χαρακτηριστικά	ANA, SMA, p-ANCA	αντι-LKM-1
Αυτοαντισώματα	αντι-ASGP-R, αντι-SLA/LP	αντι-LKM-3, αντι-LC1
Ηλικία προσβολής	Κυρίως ενήλικες HLA DR3 (+): συσχέτιση με πρόωμη προσβολή ΑΗ (<30 έτη) HLA DR4 (+): συσχέτιση με όψιμη προσβολή ΑΗ (>30 έτη)	Κυρίως παιδιά και νεαροί ενήλικες
Βιοχημικοί δείκτες κατά τη διάγνωση	Χαμηλότερες τιμές χολερυθρίνης, AST, γGT Υψηλότερες τιμές IgA Χαμηλό C4	Υψηλότερες τιμές χολερυθρίνης, AST, γGT Χαμηλότερες τιμές IgA Χαμηλό C4
Ανταπόκριση στην ανοσοκατασταλτική θεραπεία	Σε γενικές γραμμές καλή. 20% παρατεταμένη ύφεση μετά από διακοπή της θεραπείας. HLA-DR4: καλύτερη ανταπόκριση HLA-DR3: συχνότερες υποτροπές, συχνότερη εξέλιξη σε κίρρωση	Σε γενικές γραμμές όχι καλή. Όχι παρατεταμένη ύφεση μετά τη διακοπή της θεραπείας. Εξέλιξη σε κίρρωση συχνή.
Γενετική προδιάθεση	HLA A1-B8-DR3 και HLA DR4 Γυναικείο φύλο	HLA DR3, HLA DQ2 Γυναικείο φύλο
Εξωηπατικές αυτοάνοσες εκδηλώσεις	20-30%, Πιο συχνές σε ενήλικες DR4 (+), από ό,τι σε ενήλικες DR3 (+)	20-30%

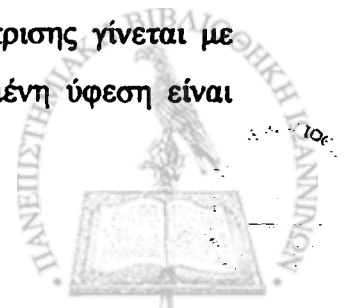
Η διάγνωση της αυτοάνοσης ηπατίτιδας βασίζεται σε ένα σύνολο κλινικών και εργαστηριακών κριτηρίων όπως αυτά ορίστηκαν το 1993 και τροποποιήθηκαν το 1999 από τη διεθνή ομάδα μελέτης της αυτοάνοσης ηπατίτιδας¹⁶⁵. Συνήθως η διάγνωση της αυτοάνοσης ηπατίτιδας τίθεται με τα απλά περιγραφικά κριτήρια που φαίνονται στον παρακάτω πίνακα, ενώ τα ειδικά συστήματα βαθμολόγησης εφαρμόζονται στις αμφίβολες περιπτώσεις ή για ερευνητικούς σκοπούς.



Πίνακας: Τροποποιημένα περιγραφικά κριτήρια για τη διάγνωση της αυτοάνοσης ηπατίτιδας.

Χαρακτηριστικά	Σίγουρη ΑΗ	Πιθανή ΑΗ
Βιοψία ήπατος	Περιτυλαία ηπατίτιδα μέτριας ή έντονης δραστηριότητας με ή χωρίς λοβιακή ηπατίτιδα ή πυλαιο-φλεβική γεφυροκοιό νέκρωση, αλλά χωρίς κοκκιώματα, βλάβες χοληφόρων ή βλάβες που να συνηγορούν για διαφορετική αιτιολογία	Ίδια όπως και στη «σίγουρη» αυτοάνοση ηπατίτιδα
Βιοχημικοί δείκτες	Τρανσαμινασαιμία, ιδιαίτερα (όχι όμως αποκλειστικά) με φυσιολογική ή ήπια αυξημένη αλκαλική φωσφατάση. Σερουλοπλασμίνη, α1-αντιθρυψίνη, χαλκός: φυσιολογικά	Ίδια όπως και στη «σίγουρη» αυτοάνοση ηπατίτιδα. Μπορούν να περιλαμβάνονται ασθενείς με παθολογική σερουλοπλασμίνη ή χαλκό (προϋπόθεση ο αποκλεισμός της νόσου Wilson)
Ανοσοσφαιρίνες ορού	Αύξηση 1.5x από τα ανώτερα φυσιολογικά όρια των ολικών σφαιρινών, γ-σφαιρινών ή των IgG	Οποιαδήποτε αύξηση των ολικών σφαιρινών, των γ-σφαιρινών ή των IgG
Αυτοαντισώματα	Οροθετικότητα (>1/80) για ANA, SMA ή αντι-LKM-1, AMA αρνητικά. Χαμηλότεροι τίτλοι μπορεί να είναι σημαντικοί στα παιδιά	Ίδια όπως στη «σίγουρη» αυτοάνοση ηπατίτιδα αλλά σε τίτλους ? 1/40. Μπορούν να περιλαμβάνονται ασθενείς αρνητικοί για αυτά τα αυτοαντισώματα που είναι όμως θετικοί για άλλα (π.χ. αντι-SLA/LP)
Ιολογικοί δείκτες	Οροαρνητικοί δείκτες για λοίμωξη από τους ιούς HAV, HBV και HCV	Ίδια όπως και στη «σίγουρη» αυτοάνοση ηπατίτιδα
Άλλοι αιτιολογικοί παράγοντες	Κατανάλωση αλκοόλ < 25g /ημέρα. Απουσία χρήσης γνωστών ηπατοτοξικών παραγόντων	Κατανάλωση αλκοόλης <50g /ημέρα. Μη χρήση ηπατοτοξικών παραγόντων. Ασθενείς που υπερβαίνουν τα παραπάνω μπορεί να περιλαμβάνονται εάν η ηπατική βλάβη συνεχίζει παρά τη διακοπή της αλκοόλης ή του παράγοντα

Η θεραπεία της αυτοάνοσης ηπατίτιδας περιλαμβάνει τη χορήγηση κορτικοειδών με ή χωρίς αζαθειοπρίνη. Η εκτίμηση της ανταπόκρισης γίνεται με κλινικά, ιστολογικά και βιοχημικά κριτήρια. Αν και η παρατεταμένη ύφεση είναι



δυνατή, όμως τόσο η διάρκεια της θεραπείας όσο και η παρακολούθηση των ασθενών πρέπει να είναι μακροχρόνια.

2. Χρόνια ιογενής ηπατίτιδα

Η οξεία ιογενής ηπατίτιδα υποχωρεί συνήθως μέσα σε διάστημα μερικών εβδομάδων και τα συμπτώματα εξαφανίζονται μέσα σε διάστημα 6 εβδομάδων από την οξεία νόσηση. Οι τρανσαμινάσες πρέπει να έχουν επιστρέψει στα φυσιολογικά επίπεδα και το ιικό φορτίο (π.χ. HBV-DNA, HCV-RNA) πρέπει να έχει αρνητικοποιηθεί από τον ορό σε διάστημα λιγότερο από 6 μήνες μετά την οξεία νόσηση, ειδάλλως η νόσος μεταπίπτει σε χρόνια ηπατίτιδα. Χρόνια ιογενής ηπατίτιδα προκαλείται από τους ιούς HBV, HCV και HDV. Όσον αφορά τον HBV, ο βαθμός χρονιότητας ποικίλει ανάλογα με την ηλικία και την ανοσολογική κατάσταση του ασθενούς. Έτσι, ενώ 1-2% των υγιών ενηλίκων αναμένεται να μεταπέσουν σε χρόνια ηπατίτιδα Β, το 100% των νεογνών που μολύνονται από τη μητέρα τους μεταπίπτουν σε χρονιότητα. Ανοσοκατασταλμένα άτομα (π.χ. ασθενείς με AIDS ή αιμοκαθαιρόμενοι) έχουν ενδιάμεσα ποσοστά μετάπτωσης σε χρονιότητα¹⁶⁶.

Στους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C, η μετάπτωση σε χρονιότητα είναι ο κανόνας. Έτσι, το 85% των ασθενών που μολύνονται από τον HCV έχουν ανιχνεύσιμη συνεχιζόμενη ιαμία για έτη ή δεκαετίες μετά την οξεία λοίμωξη (η οποία είναι συνήθως ασυμπτωματική).

Ο HDV (ιός της ηπατίτιδας δ) μεταπίπτει σε χρονιότητα σε συνδυασμό με τον HBV. Έτσι, στην περίπτωση ταυτόχρονης λοίμωξης από τον HBV και HDV η μετάπτωση σε χρονιότητα είναι ασυνήθης και εξαρτώμενη από την ανοσολογική κατάσταση του ασθενή. Αντίθετα, σε περίπτωση επιλομώξεως από τον HDV σε ασθενείς με χρόνια HBV λοίμωξη, η ανάπτυξη και χρόνιας ηπατίτιδας δ είναι σχεδόν καθολική, όπως και η συνεπαγόμενη από αυτήν επιτάχυνση της ηπατικής βλάβης.

Η χρόνια ιογενής ηπατίτιδα χαρακτηρίζεται λοιπόν από τη συνεχιζόμενη παρουσία των αντιγόνων του ιού και του DNA ή RNA του ιού σε συνδυασμό με μαρτυρία συνεχιζόμενης ηπατικής βλάβης. Η τελευταία χαρακτηρίζεται από τυπικά ιστολογικά ευρήματα και συνήθως συνοδεύεται από αυξήσεις των τρανσαμινασών.

Τα συμπτώματα στους ασθενείς με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα ποικίλλουν σημαντικά και πολλοί ασθενείς είναι ασυμπτωματικοί. Άλλοι μπορεί να έχουν μη

ειδικά ήπα συμπτώματα, όπως εύκολη κόπωση, άλγος δεξιού υποχονδρίου και ναυτία. Η φυσική εξέταση είναι συνήθως αρνητική ή μπορεί να υπάρχει ηπατομεγαλία, με προέχουσα διόγκωση του αριστερού λοβού.

Τα εργαστηριακά ευρήματα της χρόνιας ηπατίτιδας περιλαμβάνουν αυξήσεις των τρανσαμινασών και συνήθως η τιμή της ALT υπερβαίνει την αντίστοιχη της AST, ενώ εφόσον αναπτυχθεί κίρρωση η σχέση αυτή μπορεί να αντιστραφεί. Η γGT και η αλκαλική φωσφατάση μπορεί να είναι αυξημένες σε ασθενείς με πιο σοβαρή χρόνια ηπατίτιδα και παρουσία ινώσεως. Η χολερυθρίνη παραμένει σε φυσιολογικά επίπεδα συνήθως, εκτός αν συμβεί σοβαρή έξαρση, αν αναπτυχθεί ηπατική ανεπάρκεια ή παρουσιαστεί ίκτερος από άλλο αίτιο (π.χ. λιθίαση χοληδόχου πόρου). Οι ανοσοσφαιρίνες του ορού είναι ελαφρώς αυξημένες στη χρόνια ιογενή ηπατίτιδα, με συνηθέστερη την αύξηση των IgG σφαιρινών. Όταν αναπτυχθεί κίρρωση, η υπεργαμασφαιριναιμία γίνεται πιο εκσεσημασμένη και συνοδεύεται από θρομβοπενία.

Οι απεικονιστικές μέθοδοι δεν βοηθούν στη διάγνωση της χρόνιας ιογενούς ηπατίτιδας, αλλά μπορούν να αναδείξουν ηπατομεγαλία ή στοιχεία κίρρωσεως (ηπατοσπληνομεγαλία, ανομοιογένεια ηπατικού παρεγχύματος, υπετροφία κερκοφόρου λοβού κτλ). Η βιοψία ήπατος παραμένει εξαιρετικά πολύτιμο εργαλείο για τη διάγνωση της παρουσίας και της βαρύτητας της χρόνιας ιογενούς ηπατίτιδας, όπως έχει ήδη αναφερθεί. Το κύριο διαγνωστικό ιστολογικό στοιχείο είναι η παρουσία κυττάρων χρόνιας φλεγμονής στα πυλαία διαστήματα. Μπορεί να συνυπάρχει ποικίλου βαθμού ηπατοκυτταρική νέκρωση, η οποία συνήθως αφορά ηπατοκύτταρα κοντά στα πυλαία διαστήματα και αναφέρεται ως διάμεση ηπατίτιδα (interface hepatitis, αντί του παλαιότερου όρου κομματιαστή νέκρωση – piecemeal necrosis). Επίσης μπορεί να υπάρχει νέκρωση εντός των ηπατικών λοβίων καθώς και ανάπτυξη ινώσεως.

Η χρόνια ιογενής ηπατίτιδα μπορεί να εξελιχθεί σε κίρρωση ήπατος. Οι ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β που αναπτύσσουν κίρρωση έχουν συνήθως πολλά επεισόδια έξαρσης της νόσου και υψηλά επίπεδα HBV-DNA στον ορό. Η ταυτόχρονη παρουσία του ιού HDV αυξάνει την πιθανότητα εμφάνισης κίρρωσεως και βραχύνει την επέλευση της σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β. Από τους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C, το 20% αναμένεται να παρουσιάσει κίρρωση ήπατος μέσα σε είκοσι χρόνια από τη μόλυνση. Παράγοντες που σχετίζονται με εξελικτική προς κίρρωση



πορεία της νόσου περιλαμβάνουν μεγαλύτερη ηλικία κατά τη μετάδοση, άρρεν φύλο και κατανάλωση αλκοόλ πάνω από 50g ημερησίως.

Η ανάπτυξη ηπατοκυτταρικού καρκινώματος είναι μία συχνή επιπλοκή της χρόνιας ιογενούς ηπατίτιδας. Ο HBV μπορεί να οδηγήσει σε κίρρωση τόσο μέσω ανάπτυξης κηρώσεως όσο και μέσω απευθείας καρκινογόνου δράσης που έχει για το ηπατικό παρέγχυμα, τροποποιώντας το DNA των ηπατοκυττάρων. Ο HCV οδηγεί σε ηπάτωμα μέσω ανάπτυξης κηρώσεως και υπολογίζεται ότι 1-4% των HCV θετικών ασθενών με κίρρωση παρουσιάζουν ηπατοκυτταρικό καρκίνο κάθε χρόνο.

Η διάγνωση της χρόνιας ιογενούς ηπατίτιδας γίνεται χρησιμοποιώντας κατάλληλες δοκιμασίες για τα αντιγόνα του ιού, το νουκλεϊκό του οξύ καθώς και με ανίχνευση αντισωμάτων κατά των πρωτεϊνών του ιού.

Η οξεία ηπατίτιδα Β χαρακτηρίζεται από την παρουσία IgM anti-HBc και HBsAg. Για τη χρόνια ηπατίτιδα οι ασθενείς πρέπει να ελέγχονται για HBeAg, anti-HBe και HBV-DNA. Η παρουσία anti-HBs σε υψηλό τίτλο είναι δείκτης ανοσίας είτε μετά από εμβολιασμό είτε μετά από νόσηση, εφόσον το HBsAg είναι αρνητικό. Όλοι οι ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β πρέπει να ελέγχονται τουλάχιστον μία φορά για HDV με μέτρηση των anti-HDV. Στους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β, το HBsAg παραμένει θετικό πέραν των έξι μηνών από τη μόλυνση και το HBV-DNA είναι θετικό σε έξαρση της νόσου. Λόγω μίας μετάλλαξης στην προκυρηνική περιοχή του γονιδιώματος του ιού HBV, το HBeAg μπορεί να είναι αρνητικό σε ασθενείς με ενεργό χρόνια νόσο (αυτό μάλιστα είναι ο κανόνας στις μεσογειακές χώρες).

Η ηπατίτιδα C χαρακτηρίζεται από την παρουσία anti-HCV στον ορό. Ο έλεγχος του anti-HCV γίνεται με ELISA και η επιβεβαίωση σε κληθυσμούς χαμηλού κινδύνου με RIBA (μέθοδος ανοσοαποτυπώματος). Το HCV-RNA ανιχνεύεται πιο πρώιμα από το anti-HCV σε ασθενείς με οξεία ηπατίτιδα C και παραμένει θετικό σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C. Η ανίχνευση του HCV-RNA γίνεται με ειδικές μεθόδους, τη μέθοδο του διακλαδιζόμενου DNA (branched-DNA) και την ακριβέστερη μέθοδο PCR (αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης)¹⁶⁷.

Η θεραπεία της χρόνιας ηπατίτιδας Β γίνεται με τη χρήση ιντερφερόνης-α ή / και νουκλεοσιδικών αναλόγων. Η θεραπεία με ιντερφερόνη είναι αποτελεσματική σε μικρό ποσοστό ασθενών, ενώ η υποτροπή της νόσου μετά τη διακοπή της θεραπείας είναι πολύ συχνή. Η θεραπεία με νουκλεοσιδικά ανάλογα, κυρίως λαμβουδίνη, είναι πολύ αποτελεσματική στην αρχή, αλλά στη συνέχεια αναπτύσσονται μεταλλαγμένα στελέχη του HBV που διαφεύγουν τη θεραπεία και προκαλούν μικρότερου βαθμού

υποτροπή της νόσου. Η συνδυασμένη θεραπεία διάφορων παραγόντων φαίνεται ότι θα είναι η κύρια θεραπευτική επιλογή στο μέλλον¹⁶⁶⁻¹⁶⁸.

Η θεραπεία της χρόνιας ηπατίτιδας δ γίνεται με χορήγηση υψηλών δόσεων ιντερφερόνης και η αποτελεσματικότητα της θεραπείας είναι μέτρια.

Η θεραπεία της χρόνιας ηπατίτιδας C γίνεται με συνδυασμό της ιντερφερόνης-α με τον παράγοντα ριμπαβιρίνη και μακροχρόνια ύφεση επιτυγχάνεται περίπου στο 45% των ασθενών. Νεότερες μορφές ιντερφερόνης-α με ισχυρότερη δράση έχουν αυξήσει την αποτελεσματικότητα της θεραπείας και βρίσκονται σε εντατική μελέτη. Παρόλα αυτά, η αποτελεσματικότητα της θεραπείας παραμένει ακόμη μικρή για ορισμένους γονοτύπους του ιού, κυρίως τον 1¹²³⁻¹²⁵.

3. Αλκοολική ηπατοπάθεια

Υπολογίζεται ότι κατάχρηση αλκοόλ λαμβάνει χώρα στο 7-10% του πληθυσμού. Παρόλα αυτά, η μεγάλη κατανάλωση αλκοόλ δεν είναι αρκετή από μόνη της να προκαλέσει εξελικτική ηπατοπάθεια, καθώς μόνο 20% των αλκοολικών προχωρούν πέρα από το στάδιο της λιπώδους διηθήσεως του ήπατος¹⁶⁹.

Το αλκοόλ μεταβολίζεται με οξείδωση αρχικά σε ακεταλδεΐδη και στη συνέχεια σε οξικό οξύ. Το πρώτο στάδιο οξείδωσης επιτελείται κυρίως με την ενζυμική δράση των αλκοολικών δεϋδρογονασών και σε μικρότερο βαθμό από το κυτόχρωμα P450 2E1 (CYP2E1). Το CYP2E1 επάγεται από τη βαριά λήψη αλκοόλ και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην πρόκληση ηπατοπάθειας και στην αλληλεπίδραση του αλκοόλ με διάφορα φάρμακα. Η ακεταλδεΐδη οξειδώνεται σε οξικό οξύ από τις αλδεϋδικές δεϋδρογονάσες, ιδιαίτερα το μιτοχονδριακό ισοένζυμο αυτών¹⁷⁰.

Πολλές από τις επιδράσεις του αλκοόλ στο ήπαρ οφείλονται στο σχηματισμό του NADH και της ακεταλδεΐδης. Το NADH μπλοκάρει έναν αριθμό ενζύμων της β-οξείδωσης, αναστέλλοντας την οξείδωση των λιπαρών οξέων. Αυτό οδηγεί σε λιπώδες ήπαρ, αυξημένη έξοδο από το ήπαρ των VLDL και υπερτριγλυκεριδαμία. Όταν η κατανάλωση αλκοόλ σταματά ύστερα από περίοδο κατάχρησης, τα επίπεδα των λιπαρών οξέων στον ορό είναι υψηλά και μπορεί να αναπτυχθεί αλκοολική κέτωση καθώς η οξείδωση των λιπαρών οξέων αποκαθίσταται. Επιπλέον, το πυρουβικό οξύ μετατρέπεται σε γαλακτικό αναστέλλοντας τη γλυκονογένεση και οδηγώντας σε υπογλυκαιμία νηστείας. Η ακεταλδεΐδη είναι έντονα δραστικό μόριο και μπορεί να τροποποιήσει τις ηπατικές πρωτεΐνες, σχηματίζοντας νεοαντιγόνα

(συμπλέγματα ακεταλδεύδης - πρωτεϊνών) που αναγνωρίζονται από το ανοσολογικό σύστημα. Η ακεταλδεύδη επίσης αναστέλλει την ενδοκυττάρωση, την ενδοκυττάρια διακίνηση των πρωτεϊνών και ελαττώνει τα επίπεδα της γλουταθειόνης στα ηπατοκύτταρα κάνοντας τα ευπαθέστερα στο οξειδωτικό στρες¹⁷¹⁻¹⁷².

Η πιο σοβαρή ηπατική βλάβη στην αλκοολική ηπατοπάθεια αφορά την κεντρολοβιώδη ζώνη. Η χρόνια κατανάλωση αλκοόλ αυξάνει την κατανάλωση οξυγόνου από το ήπαρ, πιθανώς μέσω παραγόντων που απελευθερώνονται από τα κύτταρα του Kupffer. Το γεγονός αυτό οδηγεί σε σχετική υποξία της κεντρολοβιώδους ζώνης. Για την αυξημένη ηπατική κατανάλωση οξυγόνου στην αλκοολική ηπατοπάθεια ευθύνεται και η αυξημένη δραστηριότητα του CYP2E1. Το ένζυμο αυτό βρίσκεται στην κεντρολοβιώδη ζώνη και παράγει ελεύθερες ρίζες οξυγόνου. Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου αυξάνουν το οξειδωτικό στρες στα μιτοχόνδρια. Στην παραγωγή ελεύθερων ριζών στο ήπαρ συμβάλλει και ο σίδηρος, που είναι συνήθως αυξημένος στο ήπαρ των αλκοολικών.

Η χρόνια κατανάλωση αλκοόλ διεγείρει την παραγωγή διαλυτών παραγόντων από τα κύτταρα του Kupffer, οι οποίοι με τη σειρά της προκαλούν υπερπλασία των ηπατικών αστεροειδών κυττάρων (stellate cells) και εναπόθεση κολλαγόνου. Ο παράγοντας νέκρωσης όγκων α (TNF α) παίζει καθοριστικό ρόλο στη διαδικασία αυτή. Τα αστεροειδή κύτταρα διεγείρονται και από την ακεταλδεύδη. Επιπροσθέτως, η ενεργοποίηση των κυττάρων Kupffer και των αστεροειδών κυττάρων μπορεί να προκαλείται από τα αυξημένα επίπεδα ενδοτοξίνης που επάγει το αλκοόλ στην πυλαία φλέβα. Συνεπώς, τα αστεροειδή κύτταρα φαίνεται ότι παίζουν πρωταρχικό ρόλο στην πρόκληση ηπατικής βλάβης από το αλκοόλ. Είναι επίσης ενδιαφέρον να επισημανθεί ότι η ενεργοποίηση αυτών των κυττάρων από το αλκοόλ επάγει την εξέλιξη της χρόνιας ιογενούς ηπατίτιδας C προς κίρρωση. Η συνύπαρξη της HCV χρόνιας λοίμωξης με το αλκοόλ είναι συνήθης και μέχρι 40% των αλκοολικών με κίρρωση έχουν ταυτόχρονα και χρόνια HCV λοίμωξη.

Ιστολογία

Η αλκοολική ηπατοπάθεια συχνά εξελίσσεται από το λιπάδες ήπαρ σε αλκοολική ηπατίτιδα και στη συνέχεια σε αλκοολική κίρρωση, ενώ συχνά τα τρία στάδια μπορεί να συνυπάρχουν στο ίδιο παρασκεύασμα. Το λιπάδες ήπαρ περιλαμβάνει μακροκυστικό λίπος, ιδίως στην κεντρολοβιώδη ζώνη. Η παρουσία μεγα-μιτοχονδρίων είναι ενδεικτική της τοξικότητας του αλκοόλ στα μιτοχόνδρια. Αν

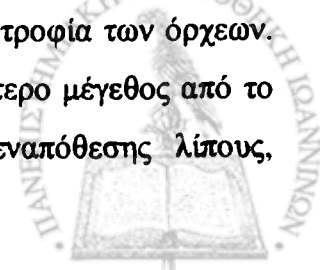
και το λιπώδες ήπαρ είναι γενικώς αναστρέψιμη κατάσταση, η παρουσία του λίπους μπορεί να αποκρύψει πιο σοβαρές διαταραχές όπως η περιφλεβική ίνωση. Η *αλκοολική ηπατίτιδα* χαρακτηρίζεται από μακροκυστικό λίπος, διήθηση με φλεγμονώδη κύτταρα (λεμφοκύτταρα και κυρίως ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα) και στοιχεία κυτταρικής νέκρωσης, όπως η κενотоπιώδης εκφύλιση των ηπατοκυττάρων (ballooning) και η παρουσία σωματίων Mallory. Η *αλκοολική κίρρωση* είναι παρόμοια με την κίρρωση από άλλα αίτια, με ίνωση και αναγεννητικά οζίδια. Η παρουσία στοιχείων αλκοολικής ηπατίτιδας ή λιπώδους ήπατος μπορεί να βοηθήσει στη διάγνωση. Σπανιότερες ιστολογικές παραλλαγές στην αλκοολική ηπατοπάθεια είναι η μικροκυστική στεάτωση και η σκληρυντική νέκρωση από υαλίνη (εκτεταμένη φλεγμονή της περικεντρικής ζώνης με καταστροφή των κεντρικών φλεβών). Οι ασθενείς με τυπικά ιστολογικά ευρήματα αλκοολικής ηπατίτιδας που συνδυάζονται με στοιχεία χρόνιας ιογενούς ηπατίτιδας (διήθηση των πυλαίων διαστημάτων από λεμφοκύτταρα, κομματιαστή νέκρωση των παρακείμενων ηπατοκυττάρων) είναι συνήθως μολυσμένοι από τους ιούς ηπατίτιδας B ή C¹⁶⁹.

Κλινικά ευρήματα

Το αλκοολικό λιπώδες ήπαρ δεν δίνει συνήθως συμπτώματα, ενώ μπορεί να υπάρχει ελαφρά ηπατομεγαλία ή μικρές αυξήσεις των τρανσαμινασών, που θα πρέπει να δημιουργήσουν υπόνοια κατάχρησης αλκοόλ. Ακτινολογικά, το λιπώδες ήπαρ χαρακτηρίζεται από υπερηχογένεια στο υπερηχογράφημα και υπόπυκνη εμφάνιση στην αξονική τομογραφία.

Η αλκοολική ηπατίτιδα προκαλεί συχνά συμπτώματα όπως εύκολη κόπωση, αίσθημα βάρους στο δεξιό υποχόνδριο, ναυτία ή ίκτερο. Το ήπαρ είναι διογκωμένο και ο ασθενής έχει συχνά σημεία χρόνιας ηπατοπάθειας. Οι τρανσαμινάσες είναι μετρίως αυξημένες (ως περίπου 300 IU/L), με προέχουσα συχνά την αύξηση της SGOT από την SGPT. Μάλιστα η αναλογία SGOT/SGPT είναι μεγαλύτερη του 2 στο 70% περίπου των ασθενών με αλκοολική ηπατίτιδα, αλλά το εύρημα αυτό δεν είναι ούτε ειδικό, ούτε παθογνωμονικό. Η βιοψία ήπατος, εφόσον δεν αντενδείκνυται, θα επιβεβαιώσει τη διάγνωση της αλκοολικής ηπατίτιδας.

Η αλκοολική κίρρωση έχει τα ίδια κλινικά στοιχεία με τις άλλες μορφές κίρρωσης, με συχνότερη τη διόγκωση των παρωτίδων και την ατροφία των όρχεων. Επίσης, το κίρρωτικό ήπαρ των αλκοολικών έχει συχνά μεγαλύτερο μέγεθος από το κίρρωτικό ήπαρ άλλης αιτιολογίας, λόγω της αυξημένης εναπόθεσης λίπους,



κυτταρικών πρωτεϊνών, αναγεννητικών οξίων και αυξημένων ποσοτήτων συνδετικού ιστού.

Θεραπεία

Η θεραπεία της αλκοολικής ηπατοπάθειας περιλαμβάνει την αποχή από το αλκοόλ και επαρκή θερμιδική κάλυψη, πλούσια σε βιταμίνες. Το λιπώδες ήπαρ υποχωρεί χωρίς συνέπειες. Η σοβαρή αλκοολική ηπατίτιδα μπορεί να ανταποκριθεί στα κορτικοειδή, ιδιαίτερα όταν συνυπάρχουν διαταραχές της πήξεως, ίκτερος και εγκεφαλοπάθεια (και χωρίς λοίμωξη). Οι κίρρωτικοί μπορεί να είναι κατάλληλοι για μεταμόσχευση ήπατος εφόσον απέχουν από το αλκοόλ για επαρκές διάστημα.

Υπό δοκιμή βρίσκονται η πολυακόρεστη λεκιθίνη και η εξ αυτής φωσφατιδυλοχολίνη που σε πειραματόζωα έχουν δείξει αποτελεσματικότητα στην πρόληψη της ηπατικής ίνωσης από το αλκοόλ¹⁷³.

Πρωτοπαθής χολική κίρρωση

Η πρωτοπαθής χολική κίρρωση (ΠΧΚ) είναι μία χρόνια εξελικτική νόσος του ήπατος που χαρακτηρίζεται από καταστροφή των μικρών ενδοηπατικών χοληφόρων. Προσβάλλει κυρίως γυναίκες μέσης ηλικίας (αναλογία 9:1 σε σχέση με τους άνδρες). Συχνά ανακαλύπτεται τυχαία κατά τη διάρκεια εργαστηριακού ελέγχου και μπορεί να παραμείνει λανθάνουσα για μεγάλο χρονικό διάστημα. Εξελίσσεται συνήθως αργά, με τελική όμως ανάπτυξη κίρρωσης και ηπατικής ανεπάρκειας¹⁷⁴.

Το νόσημα αν και όχι συχνό, δεν είναι σπάνιο επίσης. Ευθύνεται για το 2% των θανάτων από κίρρωση παγκοσμίως. Στις Η.Π.Α. είναι το τρίτο αίτιο μεταμόσχευσης ήπατος μετά τη χρόνια ιογενή ηπατίτιδα C και την αλκοολική ηπατοπάθεια. Υπάρχει κληρονομική προδιάθεση και έτσι το νόσημα είναι 1000 φορές συχνότερο σε μέλη οικογενειών με μία πάσχουσα από αυτό. Ο απλότυπος HLA-DR8 είναι ελαφρώς συχνότερος στους πάσχοντες από ό,τι στο γενικό πληθυσμό.

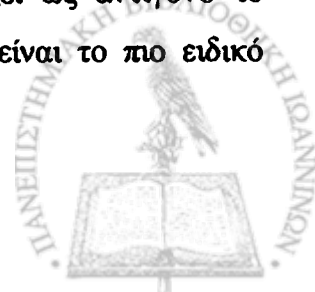
Η ΠΧΚ χαρακτηρίζεται από κατευθυνόμενη από τα T-κύτταρα προσβολή των μικρών ενδοηπατικών χοληφόρων που οδηγεί στην σταδιακή καταστροφή και την εξαφάνισή τους. Η καταστροφή γίνεται με αυτοάνοσο μηχανισμό. Ποικίλες διαταραχές του ανοσολογικού συστήματος συσχετίζονται με την ΠΧΚ, όπως αυξημένα επίπεδα ανοσοσφαιρινών ορού, κυκλοφορούντα αυτοαντισώματα, κοκκιώματα στο ήπαρ και στους περιφερικούς λεμφαδένες και διαταραχή της ρύθμισης

των Τ-λεμφοκυττάρων. Οι περισσότερες γυναίκες με ΠΧΚ έχουν τουλάχιστον και μία ακόμη αυτοάνοση νόσο π.χ. σύνδρομο CREST (ασβέστωση, φαινόμενο Raynaud, προσβολή του οισοφάγου, σκληροδακτυλία και τηλεαγγειεκτασία), σύνδρομο Sjögren, θυρεοειδίτιδα Hashimoto ή ρευματοειδή αρθρίτιδα¹⁷⁵.

Σύγχρονα δεδομένα δείχνουν ότι υπάρχουν δύο ξεχωριστές προϋποθέσεις για την ανάπτυξη ΠΧΚ. Η πρώτη είναι γενετική και χαρακτηρίζεται από κληρονομούμενη διαταραχή της ανοσορρύθμισης και αδυναμία καταστολής μιας φλεγμονώδους προσβολής στα χοληφόρα (εφόσον καποια τέτοια προσβολή ξεκινήσει). Η δεύτερη διαταραχή είναι περιβαλλοντική, ένα εκλυτικό γεγονός που ενεργοποιεί τη φλεγμονώδη προσβολή στα χοληφόρα. Τέτοιοι εκλυτικοί παράγοντες μπορεί να είναι χρόνιες λοιμώξεις στα χοληφόρα, η χοληδοχολιθίαση και διάφορα φάρμακα (χλωροπρομαζίνη, ιντερφερόνη-α), στις περισσότερες όμως περιπτώσεις η προσπάθεια αναγνώρισης εκλυτικών παραγόντων είναι ανεπιτυχής. Από τη στιγμή που η φλεγμονώδης προσβολή στα χοληφόρα ξεκινήσει, ο επιρρεπής ξενιστής αποτυγχάνει να την αναστείλει^{174,176}.

Αντιμιτοχονδριακά αντισώματα αναγνωρίζονται στον ορό στο 95% περίπου των ασθενών με ΠΧΚ. Τα αντιγόνα για τα αντισώματα αυτά είναι οι E2 υπομονάδες μιας οικογένειας μιτοχονδριακών ενζύμων, που βρίσκονται στην εσωτερική επιφάνεια των μιτοχονδρίων και δεν εκτίθενται στα κυκλοφορούντα αυτοαντισώματα. Ένα μόριο που φέρει κοινούς αντιγονικούς επίτοπους με τις E2 υπομονάδες έχει αναγνωριστεί στην προς τον αυλό επιφάνεια των επιθηλιακών κυττάρων των χοληφόρων πόρων σε ασθενείς με πρώιμη ΠΧΚ. Με βάση τα στοιχεία αυτά, πιθανολογείται ότι η καταστροφή στα επιθηλιακά κύτταρα των χοληφόρων στην ΠΧΚ μπορεί να ξεσκεπάσει ένα αντιγόνο που αναγνωρίζεται από Τ-λεμφοκύτταρα στο ήπαρ και τον ορό. Η έκφραση αυτού του αντιγόνου στην προς τον αυλό επιφάνεια των επιθηλιακών κυττάρων μπορεί να προκαλέσει προσβολή μέσω IgA αντισώματος ή Τ-κυτταροτοξικότητας.

Ο τίτλος των αντιμιτοχονδριακών αντισωμάτων δεν συμβαδίζει με τη βαρύτητα της προσβολής από ΠΧΚ, και η χορήγηση αντιμιτοχονδριακού αντιγόνου δεν προκαλεί εμφάνιση βλαβών ήπατος ή χοληφόρων στα πειραματόζωα. Το M2 κλάσμα των αντιμιτοχονδριακών αντισωμάτων που αναγνωρίζει ως αντιγόνο το σύμπλεγμα της πυρουβικής δεϋδρογονάσης των μιτοχονδρίων είναι το πιο ειδικό στην ΠΧΚ.



Ανακεφαλαιώνοντας τα προεκθεμένα, στην ΠΧΚ επισυμβαίνει μια ανοσολογικά κατευθυνόμενη καταστροφή των επιθηλιακών κυττάρων των χοληφόρων πόρων. Η συνεπαγόμενη κατακράτηση των τοξικών χολικών αλάτων οδηγεί σε εξελικτική ηπατική βλάβη. Έτσι, η πρόκληση ηπατοκυτταρικής καταστροφής και κίρρωσης στην ΠΧΚ είναι συνέπεια όχι της ανοσολογικής καταστροφής, αλλά της χημικής καταστροφής από τα τοξικά χολικά άλατα.

Η διάγνωση της ΠΧΚ πρέπει να πιθανολογηθεί σε μία μεσήλικη γυναίκα ασυμπτωματική ή με ήπα συμπτώματα, με αυξημένα επίπεδα αλκαλικής φωσφατάσης και θετικά αντιμιτοχονδριακά αντισώματα. Ο κνησμός μπορεί να είναι ένα πρώιμο σύμπτωμα. Τα χαρακτηριστικά ιστολογικά ευρήματα θα επιβεβαιώσουν τη διάγνωση και θα βοηθήσουν στη σταδιοποίηση της νόσου.

Η πρωτοπαθής χολική κίρρωση χωρίζεται σε τέσσερα ιστολογικά στάδια. Το στάδιο I (πυλαίο) χαρακτηρίζεται από καταστροφή των χολαγγειακών κυττάρων των μικρών ενδοηπατικών χοληφόρων με συνοδό λεμφοκυτταρική φλεγμονώδη διήθηση στα πυλαία διαστήματα. Στο στάδιο II η καταστροφή των χοληφόρων είναι πιο εκτεταμένη, με αναγεννητική υπερπλασία άτυπων χοληφόρων πόρων, κομματιαστή νέκρωση και επέκταση της φλεγμονής από τα πυλαία διαστήματα στις παρακείμενες περιοχές του ηπατικού παρεγχύματος. Το στάδιο III χαρακτηρίζεται από ίνωση που επεκτείνεται από τα πυλαία διαστήματα. Τέλος, στο στάδιο IV υπάρχει εμφανής κίρρωση.

Κλινικά, ο συνδυασμός βιοχημικής εικόνας χολόστασης, η παρουσία θετικών αντιμιτοχονδριακών αντισωμάτων (AMA) και τα χαρακτηριστικά ιστολογικά ευρήματα θέτουν με βεβαιότητα τη διάγνωση της ΠΧΚ. Η χολαγγειογραφία είναι φυσιολογική, διότι η νόσος επηρεάζει τα μικρά χοληφόρα. Σε αμφίβολες περιπτώσεις, με μη διαγνωστική βιοψία ήπατος ή αρνητικά AMA, η ERCP θα βοηθήσει στον αποκλεισμό πρωτοπαθούς σκληρυντικής χολαγγειίτιδας ή άλλων αιτιών εξωηπατικής χολόστασης.

Οι επιπλοκές της ΠΧΚ είναι οι τυπικές σε κάθε χολοστατική ηπατοπάθεια και περιλαμβάνουν: (1) τις σχετιζόμενες με τη χρόνια ηπατοπάθεια, δηλαδή πυλαία υπέρταση, αιμορραγία κρσών οισοφάγου, ασκίτη και ηπατική εγκεφαλοπάθεια και (2) τις σχετιζόμενες με τη χρόνια χολόσταση, δηλαδή οστεοπενία, έλλειψη λιποδιαλυτών βιταμινών και υπερχοληστερολαιμία (με ξανθώματα και ξανθελάσματα). Μερικές φορές το αίσθημα κόπωσης και ο κνησμός είναι βασανιστικά συμπτώματα για τους ασθενείς.

Η θεραπεία της ΠΧΚ περιλαμβάνει τη χορήγηση ουρσοχολικού οξέος, κολχικίνης, μεθοτρεξάτης ή και άλλων ανοσοκατασταλτικών^{174,177}. Αν και ορισμένες μελέτες έχουν δείξει επιβράδυνση της εξέλιξης της νόσου με τα παραπάνω φάρμακα (ιδίως το ουρσοχολικό ή τη μεθοτρεξάτη ή συνδυασμό αυτών), άλλες μελέτες δεν έχουν επιβεβαιώσει τα ευρήματα αυτά. Στην προχωρημένη κίρρωση από ΠΧΚ, η μεταμόσχευση ήπατος είναι η μοναδική λύση και τα αποτελέσματά της είναι εξαιρετικά. Η υποτροπή της νόσου στο ηπατικό μόσχευμα είναι ασυνήθης και μικρού βαθμού. Εφόσον η ασθενής ξεπεράσει τον αρχικό κίνδυνο από την εγχειρητική διαδικασία και τις άμεσες επιπλοκές, η επιβίωση μετά τον πρώτο χρόνο από τη μεταμόσχευση είναι παραπλήσια με αυτήν ατόμων ανάλογης ηλικίας και φύλου.

Συνεπώς, η ΠΧΚ είναι βραδέως εξελικτική χολοστατική νόσος του ήπατος που προσβάλλει κυρίως γυναίκες. Οι ασυμπτωματικές ασθενείς έχουν καλύτερη πρόγνωση από τις συμπτωματικές, αλλά η καμπύλη επιβίωσής τους είναι βραχύτερη σε σχέση με υγιείς μάρτυρες. Οι συμπτωματικές ασθενείς παρουσιάζουν μέση επιβίωση 5-7 έτη, εφόσον δεν υποβληθούν, την κατάλληλη στιγμή, σε μεταμόσχευση ήπατος. Η άνοδος της τιμής της χολερυθρίνης του ορού είναι ο καλύτερος προγνωστικός παράγοντας για το χρόνο επιβίωσης και πρέπει πάντοτε να αξιολογείται στην απόφαση για διενέργεια μεταμοσχεύσεως ήπατος.



ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Το παρόν μέρος αποτελείται από τρεις ενότητες, οι οποίες αφορούν στην παρουσίαση των εργασιών που έχουν πραγματοποιηθεί κατά τη διάρκεια της έρευνας. Η πρώτη ενότητα αφορά στην ανάλυση των δεδομένων, η δεύτερη στην αξιολόγηση των αποτελεσμάτων και η τρίτη στην παρουσίαση των συμπερασμάτων.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Η δεύτερη ενότητα του παρόντος μέρους αφορά στην ανάλυση των δεδομένων που έχουν συλλεχθεί κατά τη διάρκεια της έρευνας. Η ανάλυση αυτή πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια των κατάλληλων στατιστικών μεθόδων, οι οποίες επέτρεψαν να εξαχθούν τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στην επόμενη ενότητα. Τα αποτελέσματα αυτά είναι σημαντικά, καθώς δείχνουν ότι υπάρχει μια σαφής σχέση μεταξύ των παραγόμενων δεδομένων και των παραγόντων που τα επηρεάζουν. Η τρίτη ενότητα του μέρους αφορά στην αξιολόγηση των αποτελεσμάτων της έρευνας. Η αξιολόγηση αυτή πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια των κατάλληλων κριτηρίων, τα οποία επέτρεψαν να εξαχθούν τα συμπεράσματα που παρουσιάζονται στην επόμενη ενότητα. Τα συμπεράσματα αυτά είναι σημαντικά, καθώς δείχνουν ότι η έρευνα έχει πραγματοποιηθεί με τον καλύτερο τρόπο και ότι τα αποτελέσματα είναι αξιόπιστα.

Το παρόν μέρος αποτελείται από τρεις ενότητες, οι οποίες αφορούν στην παρουσίαση των εργασιών που έχουν πραγματοποιηθεί κατά τη διάρκεια της έρευνας. Η πρώτη ενότητα αφορά στην ανάλυση των δεδομένων, η δεύτερη στην αξιολόγηση των αποτελεσμάτων και η τρίτη στην παρουσίαση των συμπερασμάτων. Η ανάλυση των δεδομένων πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια των κατάλληλων στατιστικών μεθόδων, οι οποίες επέτρεψαν να εξαχθούν τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στην επόμενη ενότητα. Τα αποτελέσματα αυτά είναι σημαντικά, καθώς δείχνουν ότι υπάρχει μια σαφής σχέση μεταξύ των παραγόμενων δεδομένων και των παραγόντων που τα επηρεάζουν. Η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια των κατάλληλων κριτηρίων, τα οποία επέτρεψαν να εξαχθούν τα συμπεράσματα που παρουσιάζονται στην επόμενη ενότητα. Τα συμπεράσματα αυτά είναι σημαντικά, καθώς δείχνουν ότι η έρευνα έχει πραγματοποιηθεί με τον καλύτερο τρόπο και ότι τα αποτελέσματα είναι αξιόπιστα.



ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η μελέτη αυτή είχε ως στόχο να μελετήσει σε βάθος την παρουσία και τη σημασία των αντιαιμοπεταλιακών αντισωμάτων (αντι-P) σε ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια. Ειδικότερα, με τη μελέτη αυτή εξετάστηκαν τα παρακάτω:

1. Η σύγκριση της παρουσίας αντι-P σε ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια, σε σχέση με υγιείς μάρτυρες και με ασθενείς πάσχοντες από άλλο χρόνιο νόσημα, την ιδιοπαθή φλεγμονώδη πάθηση των εντέρων (ΙΦΠΕ).
2. Η σύγκριση του επιπολασμού των αντι-P σε διάφορες ομάδες και στάδια ασθενών με χρόνια ηπατοπάθεια.
3. Η σύγκριση δύο διαφορετικών μεθόδων ανεύρεσης αντι-P.
4. Η επίδραση της θεραπείας με ιντερφερόνη-α (ΙΦΝ-α) σε ασθενείς με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα Β στον επιπολασμό αντι-P στην κατηγορία αυτή ασθενών πριν και μετά τη θεραπεία.
5. Η επίδραση της θεραπείας με ιντερφερόνη-α (ΙΦΝ-α) σε ασθενείς με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα C στον επιπολασμό αντι-P στην κατηγορία αυτή ασθενών πριν και μετά τη θεραπεία.
6. Η συσχέτιση της τυχόν ανεύρεσης αντι-P σε σχέση με την παρουσία αυτοαντισωμάτων κατά των ερυθρών αιμοσφαιρίων (θετική αντίδραση Coombs) σε ασθενείς με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα που έλαβαν θεραπεία με ΙΦΝ-α πριν και μετά τη θεραπεία.
7. Η συσχέτιση της παρουσίας αντι-P με την εμφάνιση θρομβοπενίας στις διάφορες ομάδες και στάδια ασθενών με χρόνια ηπατοπάθεια.
8. Ο μέσος αριθμός αιμοπεταλίων σε διάφορες ομάδες και στάδια ασθενών με χρόνια ηπατοπάθεια.



ΥΛΙΚΟ

Η παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε στο Σταθμό Αιμοδοσίας του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων και στο Ανοσολογικό Εργαστήριο του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Το υλικό αποτέλεσαν 156 ασθενείς του Εξωτερικού Ηπατολογικού Ιατρείου, 240 υγιείς αιμοδότες συγκρίσιμης ηλικίας και φύλου και 42 ασθενείς με ιδιοπαθή φλεγμονώδη πάθηση των εντέρων.

Η μέση ηλικία των ασθενών με χρόνιες ηπατοπάθειες ήταν $50,96 \pm 13,10$ έτη. Από αυτούς, 94 ήταν άνδρες και οι υπόλοιποι 62 γυναίκες. Από τους ασθενείς αυτούς, 65 είχαν χρόνια ιογενή ηπατίτιδα Β, 57 χρόνια ιογενή ηπατίτιδα C, 23 από αλκοολική ηπατοπάθεια, 2 αυτοάνοση ηπατίτιδα (ΑΗ) και 9 πρωτοπαθή χολική κίρρωση (ΠΧΚ) [οι δύο αυτές τελευταίες κατηγορίες, λόγω του μικρού αριθμού των ασθενών ενοποιήθηκαν σε μία με τον τίτλο αυτοάνοση ηπατοπάθεια]. Από τους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β, 20/65 είχαν στοιχεία κίρρωσης στη βιοψία ήπατος, ενώ από τους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C, 16/57 είχαν ομοίως ιστολογική εικόνα κίρρωσης.

Τα επιμέρους χαρακτηριστικά των ασθενών της μελέτης με χρόνια ηπατοπάθεια φαίνονται στον ακόλουθο πίνακα:

Πάθηση	Αριθμός ασθενών	Μέση ηλικία	Φύλο (Α/Γ)
Χρόνια ηπατίτιδα Β	65	$46,46 \pm 12,64$	44/21
Χρόνια ηπατίτιδα C	57	$52,29 \pm 13,07$	29/28
Αλκοολική ηπατοπάθεια	23	$59,08 \pm 9,73$	21/2
Αυτοάνοση ηπατίτιδα	2	$63,5 \pm 2,12$	0/2
Πρωτοπαθής χολική κίρρωση	9	$56,8 \pm 10,20$	0/9

Από τους ασθενείς με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα Β ή C, 91 είχαν λάβει θεραπεία με ιντερφερόνη-α για χρονικό διάστημα ≥ 6 μηνών σε δόσεις 3-4.5 MU (million units).

Οι 240 υγιείς μάρτυρες της μελέτης προήλθαν από τη δεξαμενή αιμοδοτών του Σταθμού Αιμοδοσίας του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων. Οι μάρτυρες αυτοί λήφθηκαν τυχαία, εκτός από το γεγονός ότι προτιμήθηκαν οι αιμοδότες κατά το δυνατόν μεγαλύτερης ηλικίας, ώστε να είναι συγκρίσιμοι με τους ασθενείς της μελέτης. Η μέση ηλικία των αιμοδοτών ήταν $45,06 \pm 7,26$ έτη και από αυτούς 131 ήταν άνδρες και 109 γυναίκες.



Η τρίτη κατηγορία υλικού της μελέτης ήταν 42 ασθενείς με ιδιοπαθή φλεγμονώδη πάθηση των εντέρων (ΙΦΠΕ), συγκρίσιμης ηλικίας και φύλου προς τους ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια (μέση ηλικία, φύλο). Από αυτούς, 22 έπασχαν από ελκώδη κολίτιδα και 20 από νόσο Crohn. Είκοσι-τέσσερις είχαν νόσο σε έξαρση και οι υπόλοιποι 18 είχαν νόσο σε ύφεση. Η μέση ηλικία τους ήταν $52,88 \pm 9,31$ έτη και από αυτούς 26 ήταν άνδρες και 16 ήταν γυναίκες.

Τα χαρακτηριστικά των ασθενών της μελέτης με ΙΦΠΕ, φαίνονται στον εξής πίνακα:

Πάθηση	Φύλο (Α/Γ)	Ηλικία	Έξαρση/Υφεση
Ελκώδης κολίτιδα	14/8	$54,21 \pm 8,45$	12/10
Νόσος Crohn	12/8	$49,68 \pm 9,77$	12/8

Απαραίτητο κριτήριο για την ένταξη του ασθενούς στη μελέτη ήταν να μην έχουν πραγματοποιηθεί σ' αυτόν κατά το παρελθόν (προηγούμενη τριετία) μεταγγίσεις αίματος, που ως γνωστόν μπορούν να οδηγήσουν σε δημιουργία αντισωμάτων κατά των αιμοπεταλίων (ΑΜΠ) και των άλλων έμμορφων στοιχείων του αίματος. Τέλος αποκλείστηκαν ασθενείς που λάμβαναν φάρμακα συσχετισμένα με θρομβοπενία, εκτός από την ιντερφερόνη-α, η επίδραση της οποίας στα αιμοπετάλια και την παραγωγή αντι-P μελετήθηκε στις ομάδες με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα Β ή C.

Όλοι οι ασθενείς, τόσο οι πάσχοντες από χρόνια ηπατοπάθεια, όσο και οι πάσχοντες από ΙΦΠΕ βρίσκονταν σε τακτική παρακολούθηση στα Εξωτερικά Ιατρεία της Πανεπιστημιακής Ηπατο-Γαστρεντερολογικής Μονάδας του ΠΠΓΝΙ.

Ο έλεγχος του αριθμού των ΑΜΠ των ασθενών της μελέτης περιλάμβανε μέτρηση των ΑΜΠ του περιφερικού αίματος τόσο με αυτόματο αναλυτή, όσο και σε επίχρισμα περιφερικού αίματος που είχε ληφθεί χωρίς αντιπηκτικό για να αποκλεισθεί η ψευδοθρομβοπενία. Στην ψευδοθρομβοπενία υπάρχει ένα αντίσωμα



δραστικό μόνο *in vitro* και εξαρτάται από το EDTA το οποίο χρησιμοποιείται ως αντιπηκτικό στις γενικές αίματος που πρόκειται να μελετηθούν σε αυτόματο αιματολογικό αναλυτή. Το αντίσωμα αυτό είναι IgG ή IgM και αντιδρά με κρυπτικά αντιγόνα που βρίσκονται στο σύμπλεγμα GP IIb/IIIa τα οποία εμφανίζονται όταν δεσμεύεται το ασβέστιο από το EDTA²⁵. Το αντίσωμα προκαλεί συγκόλληση των ΑΜΠ *in vitro* και δημιουργία σωρών ή συγκέντρωση γύρω από τα ουδετερόφιλα σε επίχρισμα περιφερικού αίματος, προκαλώντας έτσι ψευδή εικόνα θρομβοπενίας. Αυτό το φαινόμενο εκλείπει αν χρησιμοποιηθεί ως αντιπηκτικό κιτρικό άλας, ή γίνει επίχρισμα περιφερικού αίματος χωρίς αντιπηκτικό.

Πρόσθετες εξετάσεις που έγιναν σε όλους τους ασθενείς της μελέτης ήταν η γενική αίματος, ο χρόνος προθρομβίνης, πλήρες βιοχημικό προφίλ (δείκτες νεφρικής λειτουργίας, σάκχαρο, τρανσαμινάσες, ηλεκτρολύτες, αλκαλική φωσφατάση, γGT, ολική χολερυθρίνη /άμεση, γαλακτική δεϋδρογονάση). Σε όλους τους ασθενείς είχε γίνει έλεγχος της θυρεοειδικής λειτουργίας και στους περισσότερους μέτρηση αντι-θυρεοειδικών αντισωμάτων (αντι-μικροσωματικών και αντι-θυρεοσφαιρίνης).

Επίσης, σε όλους τους ασθενείς είχε ληφθεί ιολογικός έλεγχος για τους ιούς ηπατίτιδας B, C, D καθώς και για τους ιούς HIV, CMV. Επίσης έγινε μέτρηση αντιπυρηνικών αντισωμάτων, ρευματοειδούς παράγοντα και κρουσφαιρινών.

Όλοι οι ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια υποβάλλονταν περιοδικά σε U/S (υπερηχογράφημα) άνω κοιλίας όπου εκτός από τον έλεγχο του ήπατος, γινόταν και έλεγχος σπληνός, η αύξηση του μεγέθους του οποίου θα μπορούσε να συσχετίζεται με υπερσπληνισμό.

Έτσι λοιπόν, στις διάφορες ομάδες της μελέτης έγινε μέτρηση των αντι-P (αντι-αιμοπεταλιακών) αντισωμάτων με δύο διαφορετικές μεθόδους, ενώ παράλληλα έγινε μέτρηση του αριθμού των αιμοπεταλίων. Επίσης έγινε προσδιορισμός της αντίδρασης Coombs. Ειδικά για τους ασθενείς με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα B ή C που έλαβαν θεραπεία με ιντερφερόνη, οι μετρήσεις αυτές έγιναν πριν και μετά τη χορήγηση της θεραπείας (τουλάχιστον μετά 6 μήνες από την έναρξη της θεραπείας).

Στον ακόλουθο πίνακα φαίνεται η γενική κατανομή των ασθενών και μαρτύρων της μελέτης, ώστε να γίνουν σαφείς οι τρεις κύριες κατηγορίες που μελετήθηκαν. Φυσικά, η δεύτερη και η τρίτη ομάδα χρησιμοποιήθηκαν ως ομάδες σύγκρισης και η κύρια κατηγορία ήταν οι ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια. Εξάλλου, όπως πριν αναφέρθηκε, έγιναν προσδιορισμοί των αντι-P αντισωμάτων στις διάφορες επιμέρους κατηγορίες ασθενών με χρόνια ηπατοπάθεια.

Κατηγορία	Αριθμός ασθενών
Ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια	156
Υγιείς μάρτυρες	240
Ασθενείς με ΙΦΠΕ	42



ΜΕΘΟΔΟΙ

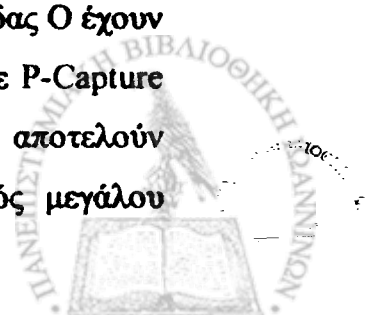
Για τον προσδιορισμό των αντι-P (αντιαιμοπεταλιακών αντισωμάτων) χρησιμοποιήθηκαν οι εξής μέθοδοι: (α) μέθοδος στερεάς φάσεως συγκόλλησης των ερυθρών αιμοσφαιρίων (SPRCA test) για την απομόνωση των αντισωμάτων κατά των αιμοπεταλίων και (β) έμμεσος ανοσοφθορισμός. Οι μέθοδοι αυτές θα περιγραφούν στη συνέχεια διεξοδικά.

Α. Μέθοδος στερεάς φάσεως για την απομόνωση αντισωμάτων κατά των αιμοπεταλίων.

Η μέθοδος αυτή είναι σχεδιασμένη για εργαστηριακό προσδιορισμό αντισωμάτων κατά των αιμοπεταλίων. Το μεγάλο της πλεονέκτημα, είναι ότι δεν απαιτεί δεξαμενή αιμοπεταλίων από δότες για τον προσδιορισμό των αντι-P αντισωμάτων. Ακολουθεί μία αυστηρά ελεγχόμενη μεθοδολογία και η συνολική της διάρκεια είναι γύρω στα 40 λεπτά. Το P-Capture Ready Screen (Immucor Inc., Norcross, U.S.A.) περιλαμβάνει λωρίδες με 12 μικρά φρεάτια στον πυθμένα των οποίων έχουν ακινητοποιηθεί και σταθεροποιηθεί οι μεμβράνες των ΑΜΠ 12 διαφορετικών αιμοδοτών ομάδας Ο. Κάθε λωρίδα έχει σχεδιαστεί για να ελέγχει τον ορό ή το πλάσμα ενός ασθενούς. Κάθε λωρίδα μπορεί να ανιχνεύσει με μεγάλη ακρίβεια IgG αντισώματα σε αντιγόνα των αιμοπεταλίων. Τα αντιγόνα αυτά των ΑΜΠ περιλαμβάνουν τόσο τα ειδικά αντιγόνα των ΑΜΠ (αντιγόνα που βρίσκονται αποκλειστικά στα ΑΜΠ, όπως έχει περιγραφεί στο γενικό μέρος) καθώς και HLA-A και HLA-B αντιγόνα (αντιγόνα σχετιζόμενα με λεμφοκύτταρα, ευρισκόμενα κυρίως στα λεμφοκύτταρα, αλλά και σε ποικίλους βαθμούς στα ΑΜΠ).

Η μέθοδος αυτή είναι χρήσιμη στη διάγνωση της αυτοάνοσης θρομβοπενίας διάφορων αιτιών, που προκαλείται από την πρόωρη καταστροφή των ΑΜΠ από άλλο- (ξένα) ή αυτό-(ίδια) αντισώματα. Τέτοιες διαταραχές αποτελούν η μετά μεταγγιση πορφύρα (PTP), ή ιδιοπαθής θρομβοπενική πορφύρα (ITP) και η νεογνική θρομβοπενία από αλλοαντισώματα (NATP). Επίσης η μέθοδος είναι ιδανική για τη μελέτη των ασθενών που έχουν λάβει μεταγγίσεις ΑΜΠ, ώστε να καθοριστεί σε ποιο σημείο οι ασθενείς έχουν αναπτύξει αντισώματα κατά των ΑΜΠ και πρέπει να διενεργείται διασταύρωση και έλεγχος των χορηγούμενων ΑΜΠ.

Οι μεμβράνες των αιμοπεταλίων 12 διαφορετικών αιμοδοτών ομάδας Ο έχουν τοποθετηθεί και αποξηρανθεί στον πυθμένα των 12 μικρών πιάτων κάθε P-Capture Ready Screen. Τα ΑΜΠ των δοτών έχουν επλεγεί έτσι ώστε να αποτελούν αντιπροσωπευτικό σύνολο των αντιγόνων των ΑΜΠ. Η ένταξη ενός μεγάλου



αριθμού ΑΜΠ από διαφορετικούς δότες εξασφαλίζει στη μέθοδο υψηλή ευαισθησία για την ανίχνευση των αντι-P αντισωμάτων ανεξαρτήτως αιτιολογίας. Η παρουσία των αντιγόνων τάξεως HLA-A και HLA-B σε τυχαίο πληθυσμό είναι πολύ χαμηλή. Τα πιο συχνά από αυτά τα αντιγόνα, μπορούν να ανευρίσκονται το πολύ στο ένα τρίτο των αιμοδοτών, ενώ η συνήθης συχνότητα των αντιγόνων αυτών στους αιμοδότες είναι μόλις 10-15%. Συνεπώς, η χρησιμοποίηση των ΑΜΠ δύο-τριών μόνο αιμοδοτών θα συνοδευόταν από μεγάλη πιθανότητα μη ανίχνευσης αντισωμάτων κατά των αντιγόνων αυτών. Το ίδιο μπορεί να λεχθεί και για τα αντισώματα κατά ειδικών αντιγόνων των ΑΜΠ. Αυξάνοντας τον αριθμό των διαφορετικών ΑΜΠ στο screening test αυξάνονται και οι πιθανότητες ανίχνευσης αντισωμάτων κατά των ΑΜΠ στον ελεγχόμενο ορό. Στο P-Capture Ready Screen, τα 12 δείγματα αιμοπεταλίων (τα μεμβρανικά τους στοιχεία) που χρησιμοποιούνται έχουν ειδικά επιλεγεί, ώστε ο συνδυασμός τους να ανιχνεύει την συντριπτική πλειοψηφία των αντι-P αντισωμάτων.

Τα τρυβλία Capture P Ready Screen είναι ειδικά σχεδιασμένα ως δοκιμασίες ελέγχου για IgG αντι-P αντισώματα. Αν και το τεστ έχει υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα, μία θετική αντίδραση δεν μπορεί να θεωρηθεί ως απολύτως διαγνωστική για τη φύση του αυτοαντισώματος.

Το P-Capture Ready Screen είναι εφαρμόσιμο για τη διερεύνηση της μετά-μετάγγισης θρομβοπενίας, της ιδιοπαθούς θρομβοπενικής πορφύρας (ITP), της νεογνικής θρομβοπενίας από αλλοανοσοποίηση και της αντοχής στη χορήγηση ΑΜΠ, διότι οι ακινητοποιημένες μεμβράνες των ΑΜΠ του κιτ περιέχουν HLA-A, HLA-B και ειδικά κατά των ΑΜΠ αντιγόνα^{178,179}. Οι φαινότυποι των ΑΜΠ κάθε δότη προσδιορίζονται σε ειδική λίστα που συνοδεύει το κιτ. Οι HLA υπότυποι των ΑΜΠ έχουν επικυρωθεί με τεστ λεμφοκυτταροτοξικότητας. Η αντιδραστικότητα των ΑΜΠ του κιτ με αντιορούς κατά των πιο κοινών ειδικών αντιγόνων των ΑΜΠ, όπως το P1^{A1}, το Pen^a, το Pen^b έχει επαληθευτεί με τη μέθοδο στερεάς φάσης. Αντίθετα, επαλήθευση στο κιτ δεν έχει γίνει για τον καθορισμό της παρουσίας των πιο σπάνιων ειδικών αντιγόνων στις μεμβράνες των ΑΜΠ των δοτών, λόγω της σπανιότητας των αντιορών που απαιτούνται για τον έλεγχο αυτό.

Η επεξεργασία των ΑΜΠ που είναι επιστρωμένα στα μικρά φρεάτια του κιτ με διφωσφορική χλωροκίνη (ύστερα από κατάλληλη επώαση για 1 ώρα στους 37 °C) μπορεί να βοηθήσει στο διαχωρισμό των αντι-HLA αντισωμάτων κατά των ΑΜΠ από τα αντιαιμοπεταλιακά αντισώματα κατά των ειδικών αντιγόνων των ΑΜΠ. Αυτό

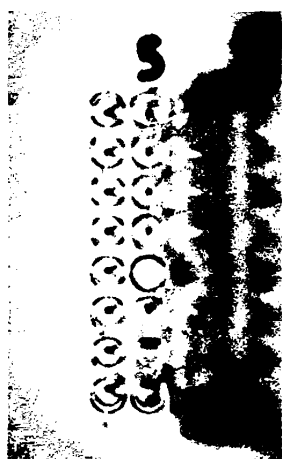
επιτυγχάνεται χάρη στην ιδιότητα της διφωσφορικής χλωροκίνης να απομακρύνει τα HLA-αντιγόνα από την επιφάνεια των ΑΜΠ, με αποτέλεσμα μετά την επώαση με αυτή τα ανιχνεύσιμα αντισώματα να αντιπροσωπεύουν αντισώματα κατά των ειδικών αιμοπεταλιακών αντιγόνων.

Το Capture-P ready screen έχει διαμορφωθεί βελτιώνοντας τις μεθόδους που διαμόρφωσαν οι Juji et al¹⁸⁰, οι Shabita et al¹⁸¹ και οι Rachel et al¹⁸². Η γενική αρχή της μεθόδου έχει ως εξής: ο ελεγχόμενος ορός επωάζεται για βραχύ χρονικό διάστημα σε μικρά φρεάτια (wells) καλυμμένα με αιμοπετάλια, ώστε να δοθεί η ευκαιρία σε τυχόν αντίσωμα του ορού να προσκολληθεί στο μονόστιβο στρώμα ΑΜΠ του μικρού φρεατίου. Οι ασύνδετες ανοσοσφαιρίνες απομακρύνονται στη συνέχεια από το τοίχωμα των μικροφρεατίων και κατόπιν προστίθεται στα φρεάτια εναίωρημα ερυθρών αιμοσφαιρίων που φέρουν επίστρωση IgG σφαιρίνης. Ακολουθεί φυγοκέντρηση, που φέρνει σε επαφή τα ερυθροκύτταρα δείκτες με τα τυχόν αντισώματα που προσκολλήθηκαν στα ακινητοποιημένα στο τοίχωμα των φρεατίων ΑΜΠ. Σε περίπτωση θετικού τεστ σχηματίζονται γέφυρες μεταξύ των αντι-P αντισωμάτων και των δεικτών ερυθροκυττάρων και τα ερυθροκύτταρα δείκτες προσκολλώνται στα ακινητοποιημένα ΑΜΠ των μικρο-φρεατίων. Σε περίπτωση αρνητικού τεστ, τα ερυθροκύτταρα - δείκτες δεν θα προσκολληθούν στα ΑΜΠ των μικροφρεατίων (λόγω απουσίας αντι-P αντισωμάτων), τελικώς όμως κατά τη φυγοκέντρηση θα συγκεντρωθούν όλα στο κέντρο του πυθμένα του κάθε μικροφρεατίου, σχηματίζοντας ένα μικρό κόκκινο «στόχο» ή «κουμκί».

Αντιδραστήρια - υλικά της μεθόδου:

Στη μέθοδο αυτή χρησιμοποιούνται για κάθε ορό που ελέγχεται:

1. Μία πλαστική λωρίδα με δεκαέξι μικροφρεάτια και πυθμένα σχήματος U (Εικόνα 1). Στον πυθμένα των 12 μικροφρεατίων από αυτά υπάρχουν αποξηραμένα ΑΜΠ από 12 διαφορετικούς αιμοδοτές ομάδας Ο. Σε τρία από



Εικόνα 1. Η λωρίδα του P Capture Ready Screen με τα δεκάεξι μικροφρεάτια



τα υπόλοιπα τέσσερα μικροφρεάτια, υπάρχουν διάφορα ΑΜΠ από μία δεξαμενή δοτών ΑΜΠ και αυτά τα φρεάτια χρησιμοποιούνται για τους ορούς ελέγχου (control serum samples). Τα μικροφρεάτια αυτά φυλάσσονται σε αεροστεγείς συνθήκες και με ενσωματωμένο δείκτη υγρασίας, χρησιμοποιούνται δε αμέσως μετά την αποσυσκευασία τους, ώστε να μην καταστραφούν τα ΑΜΠ που βρίσκονται στον πυθμένα αυτών.

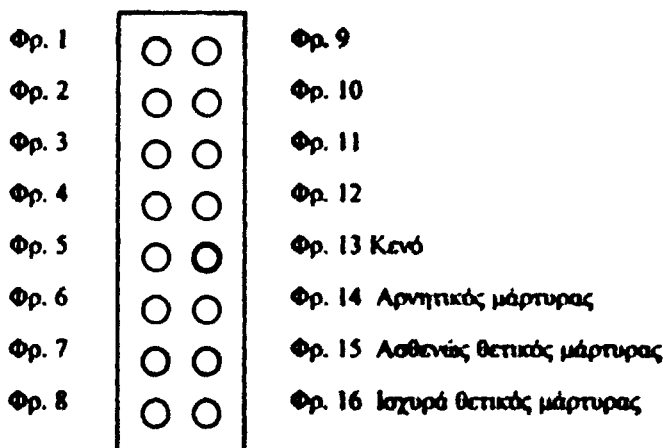
2. Ένα ειδικό διάλυμα χαμηλού ιονισμού που περιέχει γλυκίνη, κώδη χρωστική 0,001% και αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό. Το διάλυμα αυτό χρησιμοποιείται ως καταλύτης για να ενισχύσει την προσκόλληση των αντι-P αντισωμάτων στα ΑΜΠ, χρειάζεται δε προσοχή κατά την εφαρμογή του, διότι η χρωστική που χρησιμοποιείται είναι δυνητικό καρκινογόνο.
3. Τα ερυθροκύτταρα -δείκτες: πρόκειται για εναιώρημα ερυθρών αιμοσφαιρίων, που είναι καλυμμένα με αντι-ανθρώπειο IgG. Βρίσκονται σε ένα ρυθμιστικό διάλυμα, στο οποίο έχουν προστεθεί χλωραμφενικόλη και νεομυκίνη ως συντηρητικά. Έχουν την ιδιότητα να αντιδρούν με τα αντι-P αντισώματα.
4. Ο ισχυρώς θετικός ορός (strong positive control serum), δηλαδή ορός μάρτυρα που περιέχει σε υψηλό τίτλο αντι-P αντισώματα και δίνει θετική αντίδραση.
5. Ο ασθενώς θετικός ορός ελέγχου (weak positive control serum), δηλαδή ορός που περιέχει σε χαμηλό τίτλο αντι-P αντισώματα και δίνει ασθενέστερη θετική αντίδραση.
6. Ο αρνητικός ορός ελέγχου (negative control serum), δηλαδή ορός που δεν περιέχει αντι-P αντισώματα και δίνει αρνητική αντίδραση.
7. Ένα διάλυμα διφωσφορικής χλωροκίνης. Το διάλυμα της διφωσφορικής χλωροκίνης έχει παρασκευαστεί διαλύοντας 20g διφωσφορικής χλωροκίνης σε 100ml NaCl 0,9%. Το διάλυμα ρυθμίζεται σε pH=5,1 με την προσθήκη διαλύματος 1N NaOH και αποθηκεύεται στους 4°C. Στη μέθοδο χρησιμοποιήθηκε έτοιμο εμπορικά διαθέσιμο προπαρασκευασμένο διάλυμα διφωσφορικής χλωροκίνης.

Ο ορός του ασθενούς λαμβάνεται με απλή αιμοληψία, φυγοκέντρηση (3.000 στροφές για 10 λεπτά) και λήψη του υπερκείμενου. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί και πλάσμα. Η εξέταση πρέπει να γίνει σύντομα μετά τη λήψη του ορού, ειδάλως πρέπει ο ορός να καταψυχθεί.



Συνοπτική περιγραφή της μεθόδου

1. Φέρνουμε όλα τα υλικά της μεθόδου και τον προς εξέταση ορό σε θερμοκρασία δωματίου. Ελέγχουμε τον δείκτη υγρασίας της συσκευασίας για να βεβαιωθούμε για την καλή κατάσταση της ταινίας με τα μικροφρεάτια.
2. Προσθέτουμε δύο σταγόνες (100uL) από το διάλυμα χαμηλού ιονισμού γλυκίνης και χρωστικής σε όλα τα φρεάτια εκτός από το 13^ο (σχήμα), το οποίο το σημειώνουμε με μαρκαδόρο, για να ξεχωρίζουμε τα μικροφρεάτια που θα προστεθεί ορός του ασθενούς από αυτά των μαρτύρων.



3. Προσθέτουμε στα μικροφρεάτια 1-12, 50uL του προς εξέταση ορού. Στα φρεάτια 14, 15, 16, προσθέτουμε 50uL ορού αρνητικού, ασθενώς θετικού και ισχυρώς θετικού μάρτυρα αντίστοιχα. Αναταράσσουμε ελαφρώς.
4. Επωάζουμε στους 37^oC για 30 λεπτά σε κλίβανο με ανακυκλούμενο αέρα.
5. Πλένουμε τα μικροφρεάτια σε αυτόματο πλυντήριο 6 φορές με φυσιολογικό ορό.
6. Προσθέτουμε 50uL από το εναιώρημα των ερυθρών αιμοσφαιρίων – δεικτών σε κάθε μικροφρεάτιο.
7. Φυγοκεντρούμε αμέσως στα 700-900g για ένα λεπτό (~2500 στροφές /min).
8. Τοποθετούμε τη λωρίδα με τα μικροφρεάτια σε φωτισμένη επιφάνεια και διαβάζουμε τα αποτελέσματα. Τα αποτελέσματα μπορούν να διαβαστούν μέχρι και 2 ημέρες μετά την διεξαγωγή του πειράματος λόγω της σταθερότητας της αντίδρασης που επισυμβαίνει.

Αρνητικά θεωρούνται τα αποτελέσματα στα μικροφρεάτια όπου τα ερυθρά αιμοσφαίρια συγκεντρώνονται στο κέντρο του μικροφρεατίου σαν κουκίδα ή



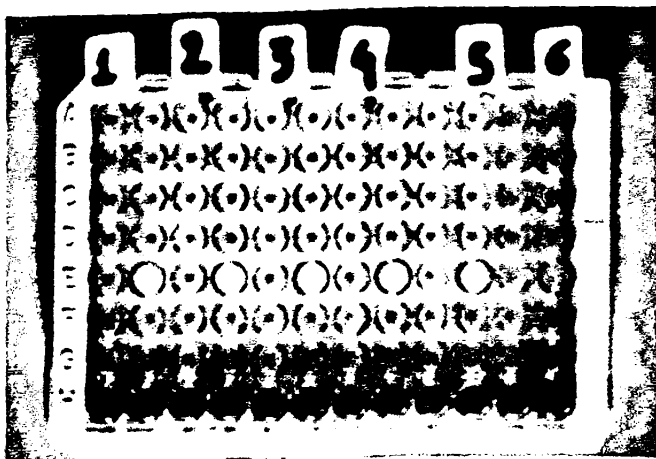
κουμπί. Ασθενώς θετικά θεωρούνται τα αποτελέσματα στα μικροφρεάτια που παρουσιάζεται μερική διάχυση των ερυθρών αιμοσφαιρίων στην κεντρική περιοχή του μικροφρεατίου. Τέλος, ισχυρώς θετικά θεωρούνται τα αποτελέσματα στα μικροφρεάτια που έχουν διάχυση των ερυθρών αιμοσφαιρίων σε όλη την έκταση του μικροφρεατίου. Αντίστοιχα πρέπει να είναι και τα αποτελέσματα των ορών μαρτύρων, στα μικροφρεάτια 14-16.

Στα θετικά δείγματα, το πείραμα επαναλαμβάνεται αφού προηγηθεί επεξεργασία με χλωροκίνη. Η διαδικασία αυτή γίνεται, αφού έχει αποδειχθεί ότι η διφωσφορική χλωροκίνη είναι αποτελεσματική στην απομάκρυνση των HLA αντιγόνων από τη μεμβράνη των ΑΜΠ, χωρίς να καταστρέφει τη μεμβράνη και τα λουπά αντιγόνα και συνεπώς επιτρέπει την ανίχνευση των αληθών αντι-Ρ αντισωμάτων. Η εκτέλεση του πειράματος με προσθήκη επεξεργασίας με διφωσφορική χλωροκίνη, γίνεται ως εξής:

1. Πριν από οποιαδήποτε άλλη ενέργεια, και αφού φέρουμε τα υλικά της μεθόδου σε θερμοκρασία δωματίου, προσθέτουμε στα μικροφρεάτια 50μl NaCL 0,9%.
2. Προσθέτουμε σε όλα τα φρεάτια δύο σταγόνες διαλύματος διφωσφορικής χλωροκίνης.
3. Επωάζουμε στους 37°C για 30 min σε κλίβανο με ανακυκλούμενο αέρα.
4. Πλένουμε τρεις φορές στο αυτόματο πλυντήριο με φυσιολογικό ορό.
5. Επαναλαμβάνουμε την προηγούμενη διαδικασία αναλυτικά όπως αναφέρθηκε, μέχρι το τελευταίο της στάδιο.

Ο ορός του ασθενούς θεωρείται θετικός για αντι-Ρ, εφόσον δώσει θετική αντίδραση και μετά τη δοκιμασία χλωροκίνης. Η ανάγνωση των αποτελεσμάτων δεν διαφέρει από το πείραμα χωρίς τη χρησιμοποίηση χλωροκίνης. Οι παρακάτω εικόνες αφορούν πειράματα που έγιναν κατά τη διάρκεια της μελέτης.





Εικόνα 2. Σε κάθε πείραμα γινόταν εξέταση 6 ορών ασθενών μαζί (1-6).



Εικόνες 3,4. Αριστερά ένα αρνητικό δείγμα για αντι-αιμοπεταλιακά αντισώματα. Δεξιά ένα θετικό δείγμα για αντι-αιμοπεταλιακά αντισώματα. Οι μάρτυρες απεικονίζονται στα φρεάτια κάτω από τον μπλε κύκλο (με τη σειρά αρνητικός μάρτυρας, ασθενώς θετικός μάρτυρας, ισχυρώς θετικός μάρτυρας).



B. Μέθοδος Έμμεσου Ανοσοφθορισμού

Η μέθοδος προσδιορισμού αν. -P αντισωμάτων με έμμεσο ανοσοφθορισμό είναι μία από τις πιο καταξιωμένες μεθόδους ανίχνευσής τους και έχει περιγραφεί από τους Von dem Borne και συν.¹⁸³, ενώ εφαρμόστηκε με επιτυχία και από άλλους συγγραφείς²⁵.

Για την εκτέλεση της μεθόδου αυτής, ο ορός του ασθενούς λαμβάνεται με φυγοκέντρηση του αίματος για 10 λεπτά στις 3000 στροφές /min και καταψύχεται σε θερμοκρασία -20°C μέχρι να πραγματοποιηθεί η εξέταση, ενώ προστίθεται ως κρυοπροστατευτικό DMSO. Πριν από την εξέταση ο ορός τοποθετείται σε υδατόλουτρο με θερμοκρασία 56°C για 30 λεπτά προκειμένου να αδρανοποιηθεί το συμπλήρωμα.

Απαραίτητη προϋπόθεση για την πραγματοποίηση της μεθόδου είναι η παρασκευή εναιωρήματος ΑΜΠ δότη ομάδας Ο. Για το σκοπό αυτό, συλλέγονται 10 ml αίματος από υγιή αιμοδότη ομάδας Ο, που δεν έχει ιστορικό μεταγγίσεων και αυτοάνοσων νοσημάτων. Το αίμα τοποθετείται σε σωληνάρια με αντυπηκτικό (1ml EDTA- Na_2 5%) ακολούθως φυγοκεντρείται στις 800 στροφές/min για 10 λεπτά. Λαμβάνεται το υπερκείμενο πλάσμα, το οποίο είναι πλούσιο σε ΑΜΠ και τοποθετείται σε νέο σωληνάριο. Στη συνέχεια, προστίθεται διπλάσιος όγκος PBS-EDTA 1% στο σωληνάριο αυτό και το μίγμα φυγοκεντρείται στις 1500 στροφές/min για 15 λεπτά. Αφαιρείται το υπερκείμενο υγρό και επαναδιαλύεται το πλούσιο σε ΑΜΠ ίζημα σε 500μL PBS-EDTA 1%. Ακολουθεί νέα φυγοκέντρηση στις 1500 στροφές/min για 15 λεπτά και ακολούθως αφαίρεση του υπερκείμενου υγρού.

Το ίζημα των ΑΜΠ που προκύπτει, διαλύεται σε 50μL PBS-EDTA 1% και προστίθενται 200μL διαλύματος παραφορμαλδεΐδης 1%. Προστίθεται στη συνέχεια 500 μL PBS-EDTA 1% και το εναιώρημα πλένεται τρεις φορές με 500 μl. Τέλος, ακολουθεί φυγοκέντρηση στις 1500 στροφές/min για 15 min και έτσι επιτυγχάνεται παρασκευή ενός διαλύματος με αριθμό ΑΜΠ 250.000-500.000/mm³, το οποίο είναι κατάλληλο για τη χρησιμοποίηση στη μέθοδο του έμμεσου ανοσοφθορισμού.

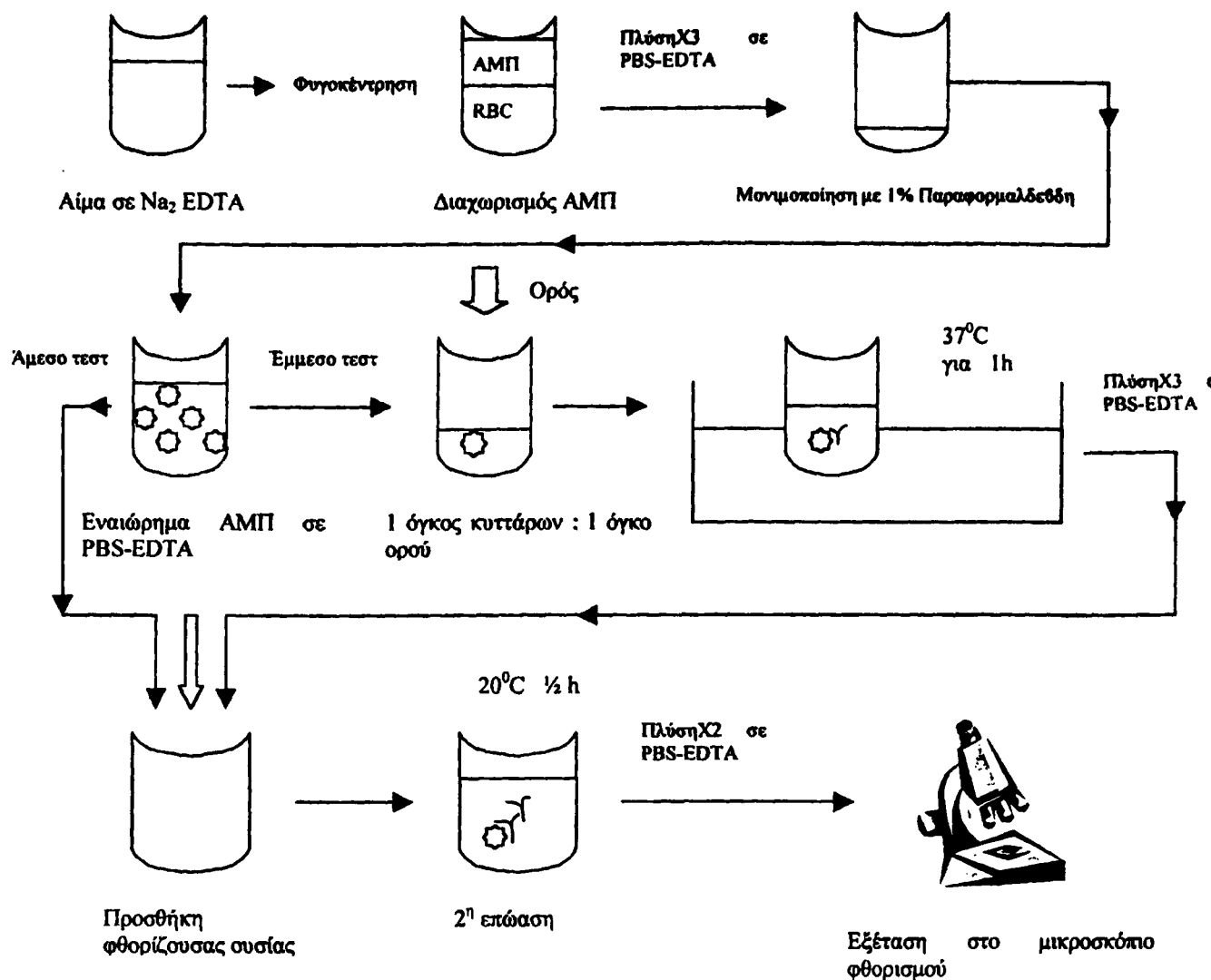
Ως οροί ελέγχου στη μέθοδο αυτή χρησιμοποιούνται: (α) αρνητικός ορός, ορός νεαρού άρρενος ατόμου ομάδας ΑΒ με ελεύθερο ιστορικό νόσων και μεταγγίσεων (β) θετικός ορός, ορός ατόμου που με άλλη μέθοδο έχει διαπιστωθεί ότι φέρει υψηλό τίτλο αντι-Ρ αντισωμάτων.



Συνοπτική περιγραφή της μεθόδου

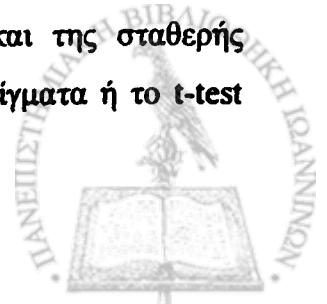
1. Σε δοκιμαστικά σωληνάρια αναμειγνύουμε 100 μ διαλύματος ΑΜΠ (που παρασκευάστηκε με την προηγούμενη διαδικασία) με 100 μ των προς εξέταση ορών, του θετικού μάρτυρα και του αρνητικού μάρτυρα.
2. Επωάζουμε σε θερμοκρασία 37°C για 30-60 min.
3. Πλένουμε τρεις φορές με 500 μl PBS-EDTA 1% και φυγοκεντρούμε στις 1500 στροφές/min για 15 min.
4. Προσθέτουμε 100 μl φθορίζουσας χρωστικής που δεσμεύεται από τις ανοσοσφαιρίνες (FITC- labeled goat anti-human IgG, του Διαγνωστικού Οίκου DiaSorin, Stillwater, Minnesota, USA), αναδεύουμε και επωάζουμε σε θερμοκρασία δωματίου επί 30 min.
5. Πλένουμε τρεις φορές, φυγοκεντρούμε στις 1500 στροφές/min επί 15 min και απορρίπτουμε τα υπερκείμενα.
6. Αναμειγνύουμε με 500 μl PBS-EDTA και τοποθετούμε μία σταγόνα του διαλύματος σε πλακίδιο με καλυπτρίδα.
7. Τέλος, εξετάζουμε χρησιμοποιώντας μεγέθυνση στον προσοφθάλμιο φακό X40 σε οπτικό κοινό μικροσκόπιο και σε μικροσκόπιο φθορισμού ταυτόχρονα, ώστε να αποφύγουμε να θεωρήσουμε φθορίζοντα ΑΜΠ σχηματισμούς που μπορεί να προσλαμβάνουν χρωστική και δεν είναι ΑΜΠ.
8. Τα αποτελέσματα θεωρούνται ως θετικά όταν η διαφορά του ποσοστού φθορισμού του εξεταζόμενου με το ποσοστό του αρνητικού μάρτυρα είναι ≥ 15 .
Η μέθοδος παρουσιάζεται σχηματικά παρακάτω:





ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε με τη χρήση των συνήθων στατιστικών μεθόδων. Ειδικότερα, για την σύγκριση της παρουσίας αντι-P αντισωμάτων στις διάφορες ομάδες χρησιμοποιήθηκαν μέθοδοι για μη ποσοτικές παραμέτρους, όπως το χ^2 , το τεστ Wilcoxon κατά ζεύγη, και η στατιστική συσχέτιση. Για ποσοτικά μεγέθη, έγινε προσδιορισμός της μέσης τιμής και της σταθερής απόκλισης τους και χρησιμοποιήθηκε το t-test για ανεξάρτητα δείγματα ή το t-test κατά ζεύγη, ανάλογα με την καταλληλότητα της κάθε μεθόδου.



ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1. Συχνότητα αντ αιμοπεταλιακών αντισωμάτων

Στους ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια ανεξαρτήτως αιτιολογίας και βαρύτητας, βρέθηκαν αντι-P αντισώματα σε ποσοστό 36,53% (57/156). Στους υγιείς αιμοδότες βρέθηκαν αντι-P αντισώματα σε ποσοστό 2,91% (7/240). Στους ασθενείς με ΙΦΠΕ βρέθηκαν αντι-P αντισώματα σε ποσοστό 2,38% (1/42). Τα αποτελέσματα διέφεραν στατιστικά σημαντικά ($P=0,0000$, χ^2 κατά Yates, Fisher's Exact test) ανάμεσα στους ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια και σε καθεμία από τις άλλες δύο ομάδες (μάρτυρες και ασθενείς με ΙΦΠΕ). Αντίθετα η συχνότητα ανεύρεσης αντι-P αντισωμάτων δεν διέφερε ανάμεσα στους υγιείς μάρτυρες και στους ασθενείς με ΙΦΠΕ ($P=0,755$ στο διορθωμένο κατά Yates χ^2 test και $P=0,660$ στο Fisher's Exact test). Έτσι, η πρώτη σημαντική παρατήρηση είναι η αυξημένη συχνότητα ανεύρεσης αντι-P αντισωμάτων σε ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια, σε σύγκριση τόσο προς υγιείς μάρτυρες όσο και προς ασθενείς με ΙΦΠΕ (μία χρόνια νόσο που συνοδεύεται από διέγερση του ανοσολογικού συστήματος). Τα παραπάνω συνοψίζονται στον ακόλουθο πίνακα.

Ομάδα ασθενών	Συχνότητα αντι-P
Χρόνια ηπατοπάθεια	36,53% (57/156)
Υγιείς μάρτυρες	2,91% (7/240)
Ασθενείς με ΙΦΠΕ	2,38% (1/42)

$P=0,0000$

2. Σύγκριση του επιπολασμού των αντι-P σε διάφορες ομάδες ασθενών με χρόνια ηπατοπάθεια

Βρέθηκαν τα εξής αποτελέσματα:

Στους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β ανεξαρτήτως ιστολογικού σταδίου, η συχνότητα των αντι-P ήταν 35,38% (23/65). Στους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C ανεξαρτήτως σταδίου, η συχνότητα ανεύρεσης αντι-P ήταν 26,31% (15/57). Στους ασθενείς με αλκοολική ηπατοπάθεια η συχνότητα ανεύρεσης αντι-P αντισωμάτων ήταν 47,8% (11/23). Στους ασθενείς με αυτοάνοση ηπατοπάθεια η συχνότητα ανεύρεσης αντι-P ήταν 72,72% (8/11). Η συχνότητα ανεύρεσης αντι-P σε ασθενείς με αυτοάνοση ηπατοπάθεια διέφερε στατιστικά σημαντικά σε σχέση με τους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β ($P=0,023$), καθώς και σε σχέση προς αυτούς με χρόνια ηπατίτιδα

C ($P=0,0051$). Αντίθετα, παρά τα διαφορετικά ποσοστά, δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά της συχνότητας αντι-P ανάμεσα στις άλλες κατηγορίες ασθενών με χρόνια ηπατοπάθεια.

Για τους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β, η συχνότητα ανεύρεσης αντι-P ήταν 40% (8/20) στους ασθενείς με ιστολογικά τεκμηριωμένη κίρρωση και 26,82% (11/41) στους ασθενείς με ιστολογικά τεκμηριωμένη χρόνια ενεργό ηπατίτιδα Β. Η διαφορά συχνότητας αντι-P σε ασθενείς με ή χωρίς κίρρωση από χρόνια ΗΒV λοίμωξη δεν ήταν στατιστικά σημαντική ($P=0,22$), παρά τη μεγαλύτερη συχνότητα των αντι-P στους κίρρωτικούς.

Για τους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C, η συχνότητα ανεύρεσης αντι-P ήταν 43,75% (7/16) στους ασθενείς με ιστολογικά τεκμηριωμένη κίρρωση και 19,51% (7/41) στους ασθενείς με ιστολογικά τεκμηριωμένη χρόνια ενεργό ηπατίτιδα C. Η διαφορά συχνότητας αντι-P σε ασθενείς με ή χωρίς κίρρωση από χρόνια ΗCV λοίμωξη δεν ήταν επίσης στατιστικά σημαντική (παρά τη σημαντική διαφορά ποσοστού), πλησίασε όμως τα όρια στατιστικής σημαντικότητας ($P=0,065$, Fisher's Exact test).

Για τους ασθενείς από αλκοολική ηπατοπάθεια το 58,88% (7/12) με ιστολογικά τεκμηριωμένη κίρρωση είχαν θετικά αντι-P αντισώματα, ποσοστό υψηλότερο από το αντίστοιχο συνολικό ποσοστό αντι-P στους ασθενείς με αλκοολική ηπατοπάθεια (47,8%, 11/23), αλλά ο αριθμός των ασθενών στην ομάδα αυτή δεν επέτρεψε τη διενέργεια ακριβών στατιστικών υπολογισμών. Επίσης αντίστοιχοι υπολογισμοί δεν ήταν δυνατόν να γίνουν στην ομάδα των ασθενών με αυτοάνοση ηπατοπάθεια, αλλά συνολικά η ομάδα αυτή είχε την υψηλότερη συχνότητα αντι-P, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω.

Η συχνότητα των αντι-P στις διάφορες ομάδες με χρόνια ηπατοπάθεια συνοψίζεται στον παρακάτω πίνακα:



Πίνακας. Συχνότητα των αντι-P στις διάφορες ομάδες ασθενών με χρόνια ηπατοπάθεια

Νόσημα	Σύνολο	Χωρίς κίρρωση	Με κίρρωση	P
Χρόνια ηπατίτιδα Β	35,38% (23/65)	26,82% (11/41)	40% (8/20)	0,220
Χρόνια ηπατίτιδα C	26,31%(15/57)	19,51% (7/41)	43,75% (7/16)	0,065
Αλκοολική ηπατοπάθεια	47,8% (11/23)		58,88% (7/12)	
Αυτοάνοση ηπατοπάθεια	72,72% (8/11)			

3. Σύγκριση των δύο διαφορετικών μεθόδων ανεύρεσης αντι-P

Στα πλαίσια της μελέτης, έγινε σύγκριση των δύο μεθόδων που χρησιμοποιήθηκαν για την ανίχνευση των αντι-P αντισωμάτων. Όλοι οι προσδιορισμοί διενεργήθηκαν και με τη μέθοδο στερεάς φάσης (συνολικά 438 προσδιορισμοί) ενώ με τη μέθοδο του ανοσοφθορισμού έγιναν 200 προσδιορισμοί που επιλέχθηκαν τυχαία από το σύνολο των 438 δειγμάτων ορών (τόσο από τους ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια, όσο και από τους ασθενείς με ΙΦΠΕ ή τους υγιείς μάρτυρες). Τα αποτελέσματα των 200 προσδιορισμών που έγιναν και με τις δύο μεθόδους συγκρίθηκαν και παρατίθενται στον ακόλουθο πίνακα:

	Αντι-P
Θετικά και με τις δύο μεθόδους	39
Θετικά μόνο με τον έμμεσο ανοσοφθορισμό	0
Θετικά μόνο με τη μέθοδο στερεάς φάσης	3
Αρνητικά και με τις δύο μεθόδους	158

Στον επόμενο πίνακα φαίνονται τα αποτελέσματα που έδωσε η καθεμία από τις δύο μεθόδους στο σύνολο των δειγμάτων που λήφθηκαν τυχαία για σύγκριση:

Μέθοδος	Αντι-P θετικά	Αντι-P αρνητικά
Μέθοδος στερεάς φάσης	21,0% (42/200)	79,0% (158/200)
Έμμεσος ανοσοφθορισμός	19,5% (39/200)	80,5% (161/200)

P=0,80

Δηλαδή, οι δύο μέθοδοι έδωσαν σχεδόν ταυτόσημα αποτελέσματα σε όλες τις κατηγορίες των εξεταζομένων (ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια, ασθενείς με ΙΦΠΕ,



υγιείς μάρτυρες). Το εύρημα αυτό επιβεβαίωσε προηγούμενα ευρήματα, σύμφωνα με τα οποία οι δύο μέθοδοι διαθέτουν υψηλή ευαισθησία στην ανίχνευση των αντιαιμοπεταλιακών αντισωμάτων^{25,66,183}.

Ακόμη για να ελεγχθεί η επαναληψιμότητα της μεθόδου της στερεάς φάσης, επαναλήφθηκαν 50 προσδιορισμοί σε δείγματα που είχαν ήδη προσδιοριστεί (25 θετικά και 25 αρνητικά δείγματα). Τα αποτελέσματα της επανάληψης των πειραμάτων ήταν ταυτόσημα με τα αρχικά πειράματα.

Σε περίπτωση που κάποιο πείραμα είτε με τη μέθοδο της στερεάς φάσης είτε του ανοσοφθορισμού δεν έδινε ορθά αποτελέσματα για τους θετικούς και αρνητικούς μάρτυρες, το πείραμα θεωρούνταν άκυρο και επαναλαμβανόταν εξ αρχής.

Κατά συμπέρασμα, οι ελεγχόμενες μέθοδοι αποδείχθηκαν αποτελεσματικές και ακριβείς στην ανίχνευση των αντι-P αντισωμάτων, συγκρινόμενες η μία με την άλλη. Στα ίδια αποτελέσματα οδήγησε και η βιβλιογραφία που έχει μελετήσει τις μεθόδους αυτές. Η μέθοδος στερεάς φάσης ήταν ευκολότερη και απλούστερη στην εκτέλεσή της από τη μέθοδο του ανοσοφθορισμού.

4. Μελέτη της επίδρασης θεραπείας με ιντερφερόνη-α σε ασθενείς με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα Β στον επιπολασμό αντι-P

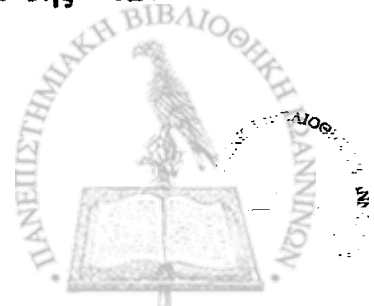
Μελετήθηκαν 51 ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β που έλαβαν θεραπεία με ιντερφερόνη-α (IFN-α). Οι ασθενείς αυτοί είχαν μέση ηλικία $45,12 \pm 13,08$ έτη, ενώ 36 ήταν άνδρες και 15 γυναίκες. Όλοι οι ασθενείς είχαν αυξημένες τρανσαμινάσες για χρονικό διάστημα τουλάχιστον 6 μήνες πριν από την έναρξη της θεραπείας (μέσες τιμές AST 107 ± 65 IU/L, ALT 159 ± 120 IU/L), καθώς και HBsAg θετικό για περισσότερο από 6 μήνες. Το ιικό φορτίο του ιού της ηπατίτιδας Β είχε βρεθεί θετικό πριν από την έναρξη της θεραπείας (με τη μέθοδο του υβριδισμού ή της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης PCR). Σε όλες τις περιπτώσεις είχε προηγηθεί βιοψία ήπατος πριν από την έναρξη της θεραπείας και οι ασθενείς είχαν ιστολογικά τεκμηριωμένη χρόνια ηπατίτιδα Β (23 μέτριες αλλοιώσεις ενεργού φλεγμονής, 21 έντονες αλλοιώσεις ενεργού φλεγμονής και 7 στοιχεία αρχόμενης κίρρωσης). Οι ασθενείς δεν έπασχαν από άλλα νοσήματα και ήταν αρνητικοί για τους άλλους ηπατοτρόπους ιούς, ενώ δεν έκαναν κατάχρηση αλκοόλ.

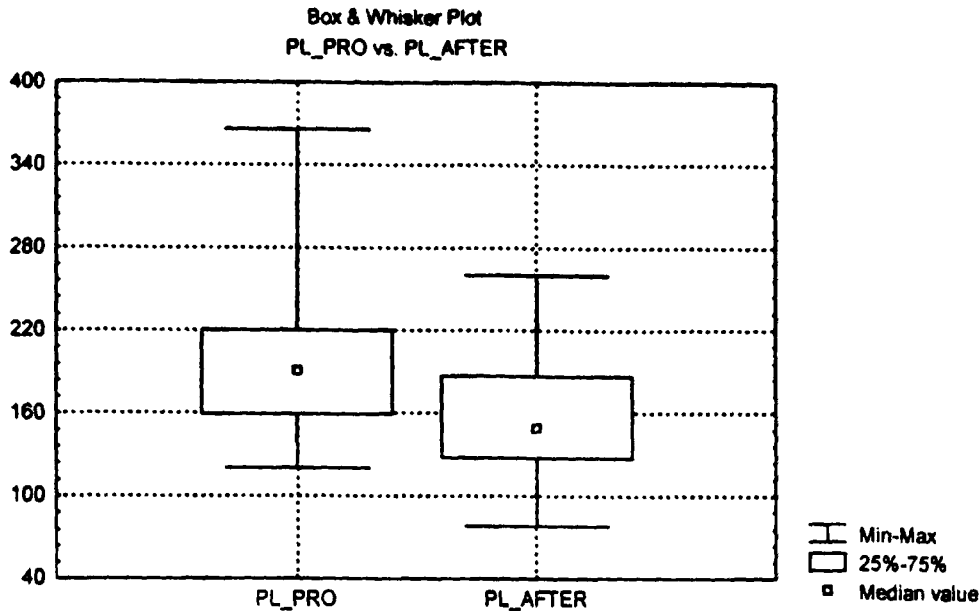


Από τους 51 αυτούς ασθενείς λήφθηκε ορός αίματος πριν από την έναρξη της θεραπείας καθώς και μετά 6 μήνες υπό θεραπεία με ΙΦΝ-α σε δοσολογία 3-4,5 εκατομμύρια διεθνείς μονάδες (MU) τρεις φορές την εβδομάδα. Τα αποτελέσματα είχαν ως εξής: πριν από την έναρξη της θεραπείας (baseline assessment) 19/51 ασθενείς (37,54%) είχαν θετικά αντι-P. Μετά 6 μήνες θεραπείας, θετικά αντι-P είχαν 18/51 ασθενείς (35,29%). Δύο ασθενείς με θετικά αντι-P προ θεραπείας είχαν αρνητικά αντι-P στο τέλος της θεραπείας. Μία ασθενής με αρνητικά αντι-P προ θεραπείας είχε θετικά αντι-P στο τέλος της θεραπείας. Οι αντίστοιχες τιμές ΑΜΠ στην ασθενή αυτή πριν από τη θεραπεία και μετά τη θεραπεία ήταν 170.000/mm³ και 140.000/mm³. Δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά στην ανεύρεση αντι-P αντισωμάτων πριν και μετά τη θεραπεία με ΙΦΝ-α στους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β (P=0,592, Wilcoxon Matched Pairs Test), όπως είναι εξάλλου προφανές. Οι μέσες τιμές των τρανσαμινασών μετά τη θεραπεία ήταν AST 34 ± 13 IU/L και ALT 41 ± 29 IU/L.

Στην πλειοψηφία των ασθενών αυτών έγινε προσδιορισμός και των αντικυρηνικών αντισωμάτων (ANA) πριν και μετά τη θεραπεία. Έτσι πριν από τη θεραπεία με ΙΦΝ-α, 36/51 είχαν αρνητικά ANA, 9/51 είχαν χαμηλό τίτλο ANA 1/80 και 2/51 είχαν ANA 1/320, ενώ δεν έγινε προσδιορισμός ANA σε 4/51 ασθενείς. Μετά τη θεραπεία, 35/51 ασθενείς είχαν αρνητικά ANA, 4/51 είχαν χαμηλό τίτλο ANA 1/80, 1/51 είχε ANA 1/160 και 1/51 είχε ANA 1/320, ενώ δεν έγινε προσδιορισμός ANA σε 10/51 ασθενείς. Έτσι με βάση τα αποτελέσματα αυτά δεν προέκυψε στατιστικά σημαντική μεταβολή της παρουσίας ANA πριν και μετά τη θεραπεία με ΙΦΝ-α στους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β.

Ένας ιδιαίτερα σημαντικός προσδιορισμός που έγινε παράλληλα με ανίχνευση των αντι-P ήταν η μέτρηση του αριθμού των αιμοπεταλίων στο περιφερικό αίμα των ασθενών πριν και μετά τη θεραπεία με ιντερφερόνη-α. Η μέση τιμή του αριθμού των ΑΜΠ πριν από τη θεραπεία ήταν 192.319 ± 54.796 /mm³ και μετά τη θεραπεία 157.934 ± 43.384 /mm³. Η διαφορά αυτή ήταν στατιστικώς πολύ σημαντική (P=0,0000, t-test for dependent samples) και αποδίδεται στην ιδιότητα της ΙΦΝ-α να προκαλεί καταστολή του μυελού των οστών και της ωρίμανσης των μεγαρουκυττάρων.





Διάγραμμα. Μεταβολή του αριθμού των ΑΜΠ κατά τη διάρκεια της θεραπείας με ΙΦΝ-α σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β

Δύο από τους 51 ασθενείς παρουσίασαν τιμές ΑΜΠ $<100.000/\text{mm}^3$ κατά τη θεραπεία με ΙΦΝ-α, ενώ 23/51 παρουσίασαν τιμές ΑΜΠ $<150.000/\text{mm}^3$. Οι ασθενείς αυτοί δεν είχαν σπληνομεγαλία. Εννέα από τους 25 αυτούς ασθενείς με θρομβοπενία είχαν θετικά αντι-Ρ, αντίστοιχο όμως αποτέλεσμα είχαν και πριν από τη θεραπεία όσον αφορά τα αντι-Ρ, χωρίς να παρουσιάζουν θρομβοπενία. Κατά συνέπεια, η εμφάνιση θρομβοπενίας κατά τη διάρκεια της θεραπείας με ΙΦΝ-α δεν συσχετίζεται με την παρουσία αντι-Ρ αντισωμάτων, αλλά είναι αποτέλεσμα της επίδρασης της θεραπείας στο μυελό των οστών. Τυχόν συνυπάρχων υπερσπληνισμός ως γνωστόν επιβαρύνει τη θρομβοπενία. Τα κύρια αποτελέσματα του σκέλους αυτού της μελέτης συνοψίζονται στον πιο κάτω πίνακα.

Επιπολασμός αντι-Ρ και μέση τιμή ΑΜΠ σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β πριν και μετά τη θεραπεία με ΙΦΝ-α.

	πριν τη θεραπεία	μετά τη θεραπεία	P
ALT	159 ± 120	41 ± 29	0,0000
αντι-Ρ (+) %	37,54% (19/51)	35,29% (18/51)	0,592
Αριθμός ΑΜΠ	$192 \pm 54 \times 10^3$	$157 \pm 43 \times 10^3$	0,0000

ALT: αμινοτρανσφεράση αλανίνης, αντι-Ρ: αντιαμοπεταλιακά αντισώματα, ΑΜΠ: αιμοπετάλια



5. Μελέτη της επίδρασης θεραπείας με ιντερφερόνη-α σε ασθενείς με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα C στον επιπολασμό αντι-P

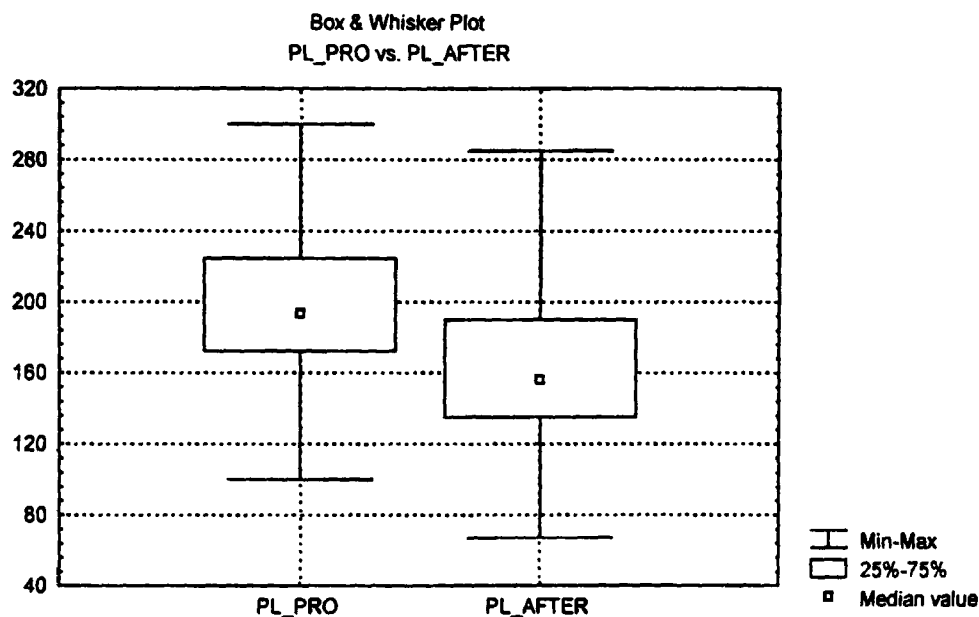
Μελετήθηκαν 40 ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C που έλαβαν θεραπεία με ιντερφερόνη-α (IFN-α). Οι ασθενείς αυτοί είχαν μέση ηλικία $47,50 \pm 12,24$ έτη, ενώ 20 ήταν άνδρες και 20 γυναίκες. Όλοι οι ασθενείς είχαν αυξημένες τρανσαμινάσες σε τουλάχιστον δύο μετρήσεις σε χρονικό διάστημα 6 μηνών πριν από την έναρξη της θεραπείας (μέσες τιμές AST 64 ± 32 IU/L, ALT 95 ± 48 IU/L), καθώς και anti-HCV θετικό με ELISA δεύτερης ή τρίτης γενιάς. Το υικό φορτίο του ιού της ηπατίτιδας C (HCV-RNA) είχε βρεθεί θετικό πριν από την έναρξη της θεραπείας (με τη μέθοδο του διακλαδιζόμενου DNA ή της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης PCR). Σε όλες τις περιπτώσεις είχε προηγηθεί βιοψία ήπατος πριν από την έναρξη της θεραπείας και οι ασθενείς είχαν ιστολογικά τεκμηριωμένα χρόνια ηπατίτιδα C (5 ήπιες αλλοιώσεις ενεργού φλεγμονής, 23 μέτριες αλλοιώσεις ενεργού φλεγμονής, 11 έντονες αλλοιώσεις ενεργού φλεγμονής και ένας στοιχεία αρχόμενης κίρρωσης). Οι ασθενείς δεν έπασχαν από άλλα νοσήματα και ήταν αρνητικοί για τους λοιπούς ηπατοτρόπους ιούς, ενώ δεν έκαναν κατάχρηση αλκοόλ.

Από τους 40 αυτούς ασθενείς λήφθηκε ορός αίματος πριν από την έναρξη της θεραπείας καθώς και μετά 6 μήνες υπό θεραπεία με IFN-α σε δοσολογία 3εκατομμύρια διεθνείς μονάδες (MU) τρεις φορές την εβδομάδα. Τα αποτελέσματα είχαν ως εξής: πριν από την έναρξη της θεραπείας (baseline assessment) 8/40 ασθενείς (20%) είχαν θετικά αντι-P. Μετά 6 μήνες θεραπείας, θετικά αντι-P είχαν και πάλι 8/40 ασθενείς (20%). Κανένας ασθενής δεν παρουσίασε μεταβολή του προφίλ των αντι-P στον ορό κατά τη διάρκεια της θεραπείας. Δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά στην ανεύρεση αντι-P αντισωμάτων πριν και μετά τη θεραπεία με IFN-α στους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα B ($P=0,779$, Yates corrected X^2), όπως είναι εξάλλου προφανές. Οι μέσες τιμές των τρανσαμινασών μετά τη θεραπεία ήταν AST 34 ± 19 IU/L και ALT 33 ± 21 IU/L.

Στην πλειοψηφία των ασθενών αυτών έγινε προσδιορισμός και των αντιτυρηνικών αντισωμάτων (ANA) πριν και μετά τη θεραπεία. Έτσι πριν από τη θεραπεία με IFN-α, 25/40 είχαν αρνητικά ANA, 5/40 είχαν χαμηλό τίτλο ANA 1/80 1/40 είχε ANA σε τίτλο 1/160 και 1/40 είχαν ANA σε τίτλο 1/320, ενώ δεν έγινε προσδιορισμός ANA σε 8/40 ασθενείς. Μετά τη θεραπεία, 25/40 ασθενείς είχαν αρνητικά ANA, 2/40 είχαν χαμηλό τίτλο ANA 1/80, 2/40 είχαν ANA 1/160 και 1/40

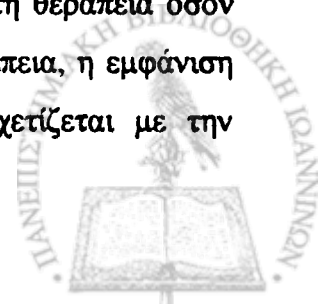
είχε ANA σε τίτλο 1/320, ενώ δεν έγινε προσδιορισμός ANA σε 10/40 ασθενείς. Έτσι με βάση τα αποτελέσματα αυτά δεν προέκυψε στατιστικά σημαντική μεταβολή της παρουσίας ANA πριν και μετά τη θεραπεία με ΙΦΝ-α στους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C.

Ένας ιδιαίτερα σημαντικός προσδιορισμός που έγινε παράλληλα με ανίχνευση των αντι-P στους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C ήταν η μέτρηση του αριθμού των αιμοπεταλίων στο περιφερικό αίμα των ασθενών πριν και μετά τη θεραπεία με ιντερφερόνη-α. Η μέση τιμή του αριθμού των ΑΜΠ πριν τη θεραπεία ήταν $202.558 \pm 49.367 /\text{mm}^3$ και μετά τη θεραπεία $164.588 \pm 47.179 /\text{mm}^3$. Η διαφορά αυτή ήταν στατιστικώς πολύ σημαντική ($P=0,0000$, t-test for dependent samples) και αποδίδεται όπως τονίστηκε στην ιδιότητα της ΙΦΝ-α να προκαλεί καταστολή του μυελού των οστών και της ωρίμανσης των μεγαρυοκυττάρων.



Διάγραμμα. Μεταβολή του αριθμού των ΑΜΠ κατά τη διάρκεια της θεραπείας με ΙΦΝ-α σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C

Δύο από τους 40 ασθενείς παρουσίασαν τιμές ΑΜΠ $<100.000/\text{mm}^3$ κατά τη θεραπεία με ΙΦΝ-α, ενώ 15/40 παρουσίασαν τιμές ΑΜΠ $<150.000/\text{mm}^3$. Δύο μόνο από τους ασθενείς με θρομβοπενία μετά τη θεραπεία είχαν σπληνομεγαλία στο υπερηχογράφημα. Πέντε από τους 17 ασθενείς με θρομβοπενία μετά τη θεραπεία είχαν θετικά αντι-P, αλλά αντίστοιχο αποτέλεσμα είχαν και πριν τη θεραπεία όσον αφορά τα αντι-P, χωρίς να παρουσιάζουν θρομβοπενία. Κατά συνέπεια, η εμφάνιση θρομβοπενίας στη διάρκεια της θεραπείας με ΙΦΝ-α δεν συσχετίζεται με την



παρουσία αντι-P αντισωμάτων, αλλά είναι αποτέλεσμα της επίδρασης της θεραπείας στο μυελό των οστών. Τυχόν συνυπάρχων υπερσπληνισμός επιβαρύνει τη θρομβοπενία. Τα κύρια αποτελέσματα του σκέλους αυτού της μελέτης συνοψίζονται στον ακόλουθο πίνακα.

Επιπολασμός αντι-P και μέση τιμή ΑΜΠ σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C πριν και μετά τη θεραπεία με ΙΦΝ-α.

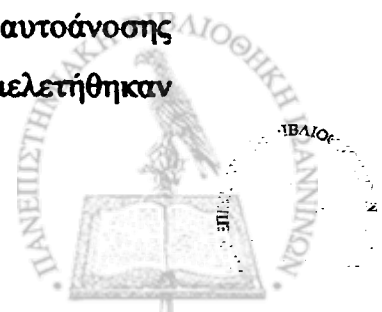
	πριν τη θεραπεία	μετά τη θεραπεία	P
ALT	95 ± 48	33 ± 21	0,0000
αντι-P (+) %	8/40 (20%)	8/40 (20%)	0,779
Αριθμός ΑΜΠ	202±49 X 10 ³	164±47 X 10 ³	0,0000

ALT: αμινοτρανσφεράση αλανίνης, αντι-P: αντιαμοπεταλιακά αντισώματα, ΑΜΠ: αιμοπετάλια

6. Μελέτη αντίδρασης Coombs πριν και μετά τη θεραπεία με ΙΦΝ-α σε ασθενείς με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα Β ή C

Έγινε προσδιορισμός της αντίδρασης Coombs, άμεσης και έμμεσης σε 35 από τους ανωτέρω 51 ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β που έλαβαν θεραπεία με ΙΦΝ-α. Οι προσδιορισμοί έγιναν πριν την θεραπεία και μετά 6 μήνες θεραπείας, όπως αναπτύχθηκε αναλυτικά παραπάνω. Από τους 35 ασθενείς που μελετήθηκαν, μόνο μία ασθενής είχε πολύ ασθενώς θετική άμεση αντίδραση Coombs (σκέλος IgG) τόσο πριν από τη θεραπεία, όσο και μετά το πέρας αυτής. Η ασθενής αυτή είχε φυσιολογικό αιματοκρίτη πριν και κατά τη διάρκεια της θεραπείας. Συνεπώς, η χορήγηση θεραπείας με ΙΦΝ-α δεν προκάλεσε τη μεταβολή της αντίδρασης Coombs και την εμφάνιση αυτοάνοσης αιμολυτικής αναιμίας στους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β που μελετήθηκαν (P=0,473, Yates corrected X²).

Αντίστοιχος προσδιορισμός της αντίδρασης Coombs έγινε και σε 28 από τους 40 ασθενείς της μελέτης με χρόνια ηπατίτιδα C που έλαβαν θεραπεία με ΙΦΝ-α. Κανείς από τους ασθενείς αυτούς δεν είχε θετική αντίδραση Coombs τόσο πριν τη θεραπεία, όσο και μετά 6 μήνες θεραπείας. Συνεπώς, η χορήγηση θεραπείας με ΙΦΝ-α δεν προκάλεσε τη μεταβολή της αντίδρασης Coombs και την εμφάνιση αυτοάνοσης αιμολυτικής αναιμίας στους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C που μελετήθηκαν (P=0,471, Yates corrected X²).



7. Συσχέτιση της παρουσίας αντι-P με την τυχόν εμφάνιση θρομβοπενίας στις διάφορες ομάδες και στάδια ασθενών με χρόνια ηπατοπάθεια

Το επόμενο σκέλος ήταν η μελέτη της παρουσίας αντι-P σε σχέση με τον αριθμό ΑΜΠ στις διάφορες ομάδες με χρόνια ηπατοπάθεια. Για τους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β (n=65), η μέση τιμή του αριθμού ΑΜΠ στους ασθενείς με αρνητικά αντι-P ($192.000 \pm 69.010/\text{mm}^3$) δεν διέφερε από την αντίστοιχη τιμή στους ασθενείς με θετικά αντι-P ($173.542 \pm 53377/\text{mm}^3$) [$P=0,222$]. Το ίδιο συμπέρασμα προέκυψε όταν μελετήθηκαν ξεχωριστά οι ομάδες των ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα Β με ή χωρίς κίρρωση στη βιοψία ήπατος.

Για τους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C, τα συνολικά αποτελέσματα ήταν διαφορετικά. Έτσι, στους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C της μελέτης (n=57), η μέση τιμή του αριθμού ΑΜΠ στους ασθενείς με θετικά αντι-P ($138.538 \pm 64.939/\text{mm}^3$) ήταν χαμηλότερη από την αντίστοιχη τιμή στους ασθενείς με αρνητικά αντι-P ($198.783 \pm 56.355/\text{mm}^3$) [$P=0,002$]. Μελετώντας ξεχωριστά τους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C με κίρρωση και χωρίς κίρρωση προέκυψαν μη στατιστικώς σημαντικές διαφορές στα αποτελέσματα που περιγράφονται στον παρακάτω πίνακα:

Μέσος αριθμός ΑΜΠ σε HCV(+) ασθενείς με θετικά ή αρνητικά αντι-P αντισώματα

	Θετικά αντι-P	Αρνητικά αντι-P	P
HCV(+) χωρίς κίρρωση	176±60	216±42	0,059
HCV(+) κίρρωση	106±52	136±58	0,318
HCV(+) σύνολο	138±64	198±56	0,002

Ο μέσος αριθμός ΑΜΠ εκφράστηκε ως $M \pm SD \times 10^3/\text{mm}^3$

Στους ασθενείς με αλκοολική ηπατοπάθεια ο μέσος αριθμός ΑΜΠ σε ασθενείς με θετικά αντι-P ήταν $144.625 \pm 69950/\text{mm}^3$ έναντι μέσου αριθμού ΑΜΠ $158.800 \pm 90414/\text{mm}^3$ των ασθενών με αρνητικά αντι-P ($P=0,755$). Από τους ασθενείς με θετικά αντι-P, τρεις είχαν τιμές ΑΜΠ $<100.000/\text{mm}^3$ και άλλοι τρεις τιμές $<150.000/\text{mm}^3$. Από τους ασθενείς με αλκοολική ηπατοπάθεια και αρνητικά αντι-P δύο είχαν τιμές ΑΜΠ $<100.000/\text{mm}^3$. Όλοι οι ασθενείς με αλκοολική ηπατοπάθεια και θρομβοπενία $<100.000/\text{mm}^3$ είχαν κίρρωση στη βιοψία ήπατος ή κλινικές ενδείξεις κίρρωσεως (κίρσοι οισοφάγου, ασκίτης, εγκεφαλοπάθεια κ.λ.π) ανεξαρτήτως της παρουσίας ή όχι αντι-P αντισωμάτων.



Στους ασθενείς με αυτοάνοση ηπατοπάθεια (ΠΧΚ ή αυτοάνοση ηπατίτιδα) δεν έγιναν συγκρίσεις των τιμών ΑΜΠ μεταξύ ασθενών με θετικά ή όχι αντι-Ρ λόγω του μικρού συνολικού αριθμού των ασθενών. Η μέση τιμή ΑΜΠ στους ασθενείς της κατηγορίας αυτής ήταν $153.900 \pm 82.384/\text{mm}^3$. Τέσσερις από τους 11 ασθενείς είχαν τιμές ΑΜΠ $< 100.000/\text{mm}^3$. Οι τέσσερις αυτοί ασθενείς είχαν κίρρωση στη βιοψία ήπατος, ενώ τρεις από τους 4 είχαν και θετικά αντι-Ρ.

Συνολικά, για όλους τους ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια ανεξαρτήτως αιτιολογίας και σταδίου, ο μέσος αριθμός ΑΜΠ ήταν $163.714 \pm 73.669/\text{mm}^3$ στους ασθενείς με θετικά αντι-Ρ ($n=57$) και $183.209 \pm 58.388/\text{mm}^3$ στους ασθενείς με αρνητικά αντι-Ρ ($n=99$) [$P=0,098$].

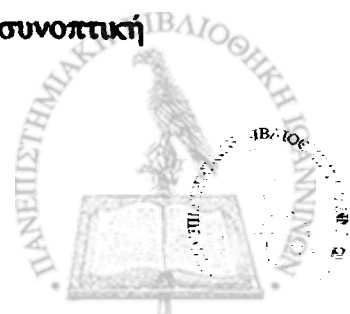
Επίσης για το σύνολο των ασθενών με χρόνια ηπατοπάθεια ($n=156$) ο μέσος αριθμός ΑΜΠ σε ασθενείς με κίρρωση ήταν $122.209 \pm 52.103/\text{mm}^3$ ($n=53$) σε σχέση με αντίστοιχο αριθμό ΑΜΠ $176.925 \pm 46.998/\text{mm}^3$ ($n=153$) σε ασθενείς χωρίς κίρρωση [$P=0,000034$]. Οι ασθενείς με κίρρωση είχαν συχνότητα θετικών αντι-Ρ 53,06% έναντι αντίστοιχης συχνότητας θετικών αντι-Ρ 26,43% στους ασθενείς χωρίς κίρρωση ($P=0,0018$, Fisher Exact test). Δηλαδή, οι κίρρωτικοί ανεξαρτήτως αιτιολογίας είχαν μεγαλύτερη συχνότητα θετικών αντι-Ρ αντισωμάτων από ό,τι οι μη κίρρωτικοί ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια.

Τέλος, τιμές ΑΜΠ $< 100.000/\text{mm}^3$ είχαν συνολικά 19 ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια. Από αυτούς 13/19 είχαν θετικά αντι-Ρ. 4/19 είχαν χρόνια ηπατίτιδα Β, 6/19 είχαν χρόνια ηπατίτιδα C, 5/17 είχαν αλκοολική ηπατοπάθεια και 4/19 είχαν πρωτοπαθή χολική κίρρωση. 18/19 από αυτούς τους ασθενείς είχαν κίρρωση.

Ενδιαφέρον είναι να αναφερθεί ότι σπληνομεγαλία στην κλινική εξέταση ή στο υπερηχογράφημα παρουσίαζαν 17/156 ασθενείς. 14/17 αυτούς ασθενείς είχαν κίρρωση ήπατος και 10/17 θετικά αντι-Ρ. Η μέση τιμή ΑΜΠ στους ασθενείς με σπληνομεγαλία ήταν $93.117 \pm 33.175/\text{mm}^3$.

8. Μέσος αριθμός αιμοπεταλίων στις διάφορες ομάδες και στάδια ασθενών με χρόνια ηπατοπάθεια

Επειδή το σκέλος αυτό έχει ήδη υπερκαλυφθεί ανωτέρω, θα γίνει μόνο συνοπτική παράθεση των αποτελεσμάτων στους ακόλουθους πίνακες.



Μέσος αριθμός ΑΜΠ στις διάφορες ομάδες ασθενών με χρόνια ηπατοπάθεια

Κατηγορία – Νόσημα	Μέσος αριθμός ΑΜΠ
Χρόνια ηπατίτιδα Β	179.228±59.980 /mm ³
Χρόνια ηπατίτιδα C	183.120±63864 /mm ³
Αλκοολική ηπατοπάθεια	150.076±75038 /mm ³
Αυτοάνοση ηπατοπάθεια	153.900±82384 / mm ³

Δεν προέκυψαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στο μέσο αριθμό ΑΜΠ στις διάφορες κατηγορίες ασθενών με χρόνια ηπατοπάθεια της μελέτης.

Μέσος αριθμός ΑΜΠ στους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β ή C με ή χωρίς κίρρωση

Κατηγορία	Μέσος αριθμός ΑΜΠ
Χρόνια ηπατίτιδα Β χωρίς κίρρωση	190.179±44.207 /mm ³
Χρόνια ηπατίτιδα Β με κίρρωση	124.071±47.769 /mm ³
Χρόνια ηπατίτιδα C χωρίς κίρρωση	209.142±47.623 /mm ³
Χρόνια ηπατίτιδα C με κίρρωση	122.400±55.892 /mm ³

← P=0,006

← P=0,014

Έτσι προέκυψε ότι και στις διάφορες κατηγορίες των ασθενών της μελέτης με χρόνια ηπατοπάθεια διατηρήθηκε η στατιστικά σημαντική διαφορά του αριθμού των ΑΜΠ στους κίρρωτικούς από τους μη κίρρωτικούς ασθενείς. Το ίδιο έχει περιγραφεί πριν για το σύνολο των ασθενών με χρόνια ηπατοπάθεια.



ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η μελέτη αυτή είχε ως σκοπό να μελετήσει την παρουσία αντι-P αντισωμάτων σε ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια σε σύγκριση με άλλες κατηγορίες ασθενών η μαρτύρων. Επίσης μελετήθηκε η συχνότητα των αντισωμάτων αυτών στις διάφορες κατηγορίες ασθενών με χρόνια ηπατοπάθεια, αλλά και η επίδραση της θεραπείας με ιντερφερόνη-α (ΙΦΝ-α) στην παρουσία των αντισωμάτων αυτών σε ασθενείς με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα Β ή C. Μελετήθηκε επιπροσθέτως η επίδραση και συμμετοχή των αντι-P αντισωμάτων στην τυχόν εμφάνιση θρομβοπενίας στους ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια, ενώ συγκρίθηκαν μεταξύ τους και οι εφαρμοζόμενες μέθοδοι για την ανίχνευση των αντισωμάτων αυτών. Στη συνέχεια θα περιγραφούν τα ευρήματα της μελέτης σε σύγκριση με την υπάρχουσα και τρέχουσα βιβλιογραφία πάνω στο θέμα αυτό.

1. Συχνότητα αντιαιμοπεταλιακών αντισωμάτων

Από τις αρχές της δεκαετίας του 1980 πρωτοπόροι ερευνητές διαπίστωσαν αυξημένα επίπεδα συνδεδεμένης ανοσοσφαιρίνης IgG στα ΑΜΠ σε ασθενείς με προχωρημένη ηπατοπάθεια και διατύπωσαν την άποψη ότι μπορεί να συσχετίζεται με την εμφάνιση θρομβοπενίας στους ασθενείς αυτούς¹⁸⁴. Αντίθετα, δεν διαπίστωσαν ανάλογα ευρήματα στους ασθενείς με οξεία ηπατίτιδα ή σε ασθενείς με ήπιες ιστολογικές αλλοιώσεις στη βιοψία ήπατος. Λίγο αργότερα, άλλοι ερευνητές διαπίστωσαν αυξημένα επίπεδα συνδεδεμένης ανοσοσφαιρίνης IgG στα ΑΜΠ σε υψηλό ποσοστό ασθενών με αλκοολική ή κρυπτογενή κίρρωση¹⁸⁵. Συσχέτισαν τα ευρήματα αυτά με τη συχνή συνύπαρξη υπεργαμμασφαιριναμίας και κυκλοφορούντων ανοσοσυμπλεγμάτων στους κίρρωτικούς ασθενείς, ενώ αντιθέτως δεν ανέδειξαν συσχέτιση μεταξύ της συνδεδεμένης στα ΑΜΠ ανοσοσφαιρίνης και της εμφάνισης θρομβοπενίας¹⁸⁵. Σε αντίθετο συμπέρασμα κατέληξαν Αυστραλοί ερευνητές, που διαπίστωσαν ότι τα αυξημένα επίπεδα συνδεδεμένης στα ΑΜΠ ανοσοσφαιρίνης IgG (75%) και κυκλοφορούντων ανοσοσυμπλεγμάτων (37,5%) συσχετιζόνταν με την παρουσία θρομβοπενίας σε ασθενείς με αυτοάνοση ή κρυπτογενή ηπατίτιδα¹⁸⁶. Αξίζει εδώ να αναφερθεί ότι στον όρο κρυπτογενής ηπατίτιδας την εποχή εκείνη συμπεριλαμβάνονταν και οι ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C, επειδή δεν είχε ανακαλυφθεί ακόμη ο ιός της ηπατίτιδας C. Ενδιαφέρουσα ήταν η παρατήρηση της μελέτης αυτής ότι οι ασθενείς με χαρακτηριζόμενη κρυπτογενή



χρόνια ηπατίτιδα παρουσίαζαν συχνότερα θρομβοπενία και αυξημένη συνδεδεμένη ανοσοσφαιρίνη IgG στα ΑΜΠ σε σχέση με τους πάσχοντες από αυτοάνοση ηπατίτιδα.

Οι μελέτες εκείνες αλλά και νεότερες έχουν οδηγήσει στο συμπέρασμα ότι η αυξημένη καταστροφή των ΑΜΠ είναι ένας σημαντικός μηχανισμός θρομβοπενίας στους ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια. Τα ΑΜΠ που απομονώθηκαν από ασθενείς με διάφορης αιτιολογίας ηπατικά νοσήματα, όπως η χρόνια ιογενής ηπατίτιδα, αλκοολική κίρρωση και πρωτοπαθής χολική κίρρωση είχαν αυξημένα επίπεδα συνδεδεμένων ανοσοσφαιρινών και συσχετιζονταν με υψηλά επίπεδα κυκλοφορούντων ανοσοσυμπλεγμάτων στον ορό^{95,96}

Τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει νεότερες μελέτες με νέες μεθόδους (μέθοδοι σύλληψης του αντιγόνου με μονοκλωνικά αντισώματα) που δίνουν τη δυνατότητα απευθείας προσδιορισμού των αντι-Ρ αντισωμάτων στον ορό ή στην επιφάνεια των ΑΜΠ. Ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα ήταν η εργασία των Pereira και συν¹⁸⁷, όπου διαπιστώθηκε παρουσία αντι-Ρ στο 64% (23/36) των ασθενών με χρόνια ηπατοπάθεια ποικίλης αιτιολογίας (αλκοολική, ιογενής). Τα αντισώματα αυτά στρέφονταν εναντίον των κύριων αντιγόνων των ΑΜΠ που έχουν ταυτοποιηθεί στις γνωστές νόσους οι οποίες συνοδεύονται με θρομβοπενία αυτοάνοσης προελεύσεως (ITP, συστηματικός ερυθματώδης λύκος), δηλαδή τα συμπλέγματα γλυκοπρωτεϊνών GP-Ib/IX (83%) ή/και GPIIb/IIIa (51%).

Η παρούσα μελέτη εξέτασε ένα μεγάλο αριθμό ασθενών με χρόνια ηπατοπάθεια ποικίλης αιτιολογίας και συνέκρινε την παρουσία αντι-Ρ αντισωμάτων στους ασθενείς αυτούς σε σχέση με υγιείς μάρτυρες και πάσχοντες από ΙΦΠΕ^{188,189}. Εφαρμόζοντας δύο διαφορετικές μεθόδους, ανέδειξε μία υψηλή συχνότητα παρουσίας αντι-Ρ αντισωμάτων στους ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια της τάξεως του 36,53% (57/156). Το ποσοστό αυτό ήταν πολύ υψηλότερο ($P=0,0000$) από το ποσοστό αντι-Ρ που ανευρέθηκε σε υγιείς μάρτυρες (2,91%, 7/240) ή σε πάσχοντες από ιδιοπαθή φλεγμονώδη πάθηση των εντέρων [ΙΦΠΕ] (2,38%, 1/42). Τα αντι-Ρ αντισώματα ανιχνεύθηκαν σε όλες τις κατηγορίες των ασθενών με χρόνια ηπατοπάθεια που μελετήθηκαν, ενώ αντίθετα δεν ανιχνεύθηκαν στους υγιείς μάρτυρες, όπως αναμενόταν, αλλά ούτε και στους ασθενείς με ΙΦΠΕ.



2. Σύγκριση του επιπολασμού του αντι-P στις διάφορες ομάδες ασθενών με χρόνια ηπατοπάθεια

Επειδή στη μελέτη αυτήν εξετάστηκε ένας σημαντικός αριθμός ασθενών με χρόνια ηπατοπάθεια έγινε δυνατόν να προσδιοριστούν οι συχνότητες των αντι-P σε διαφορετικές κατηγορίες και στάδια ασθενών με χρόνια ηπατοπάθεια. Έτσι βρέθηκαν συχνότητες αντι-P της τάξης του 26-35% στους ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια ιογενούς αιτιολογίας (ηπατίτιδα Β ή C), 47,8% στους ασθενείς με χρόνια αλκοολική ηπατοπάθεια και 72,72% στους ασθενείς με αυτοάνοση ηπατοπάθεια¹⁸⁸. Τα αντι-P αντισώματα ήταν σημαντικά συχνότερα σε ασθενείς με αυτοάνοση ηπατοπάθεια από ότι σε ασθενείς με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα Β ή C, ενώ η συχνότητά τους δε διέφερε σημαντικά ανάμεσα στις άλλες κατηγορίες ασθενών.

Ακόμη, μολονότι τα αντι-P ήταν συχνότερα στους κίρρωτικούς ασθενείς όλων των κατηγοριών, δεν προέκυψε στατιστικά σημαντική διαφορά του επιπολασμού αντι-P μεταξύ κίρρωτικών και μη κίρρωτικών ασθενών στους ασθενείς με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα Β ή C (παρά την τάση για εμφάνιση στατιστικά σημαντικού αποτελέσματος στους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C). Αντίστοιχοι προσδιορισμοί δεν έγιναν στους ασθενείς με αλκοολική ή αυτοάνοση ηπατοπάθεια λόγω του μικρότερου συνολικού αριθμού ασθενών στις κατηγορίες αυτές.

Τα παραπάνω ευρήματα αντικατοπτρίζουν την παρουσία των αντι-P αντισωμάτων σε όλο το φάσμα των ασθενών με προχωρημένη ηπατοπάθεια, ακόμη και επί απουσίας κίρρωσεως. Είναι σε συμφωνία με τα υψηλά ποσοστά που έχουν αναφερθεί από ένα μικρό αριθμό άλλων συγγραφέων¹⁸⁴⁻¹⁸⁷. Η παρουσία υπεργαμμασφαιριναϊμίας που χαρακτηρίζει την ενεργό ηπατική νόσο και η διέγερση του ανοσολογικού συστήματος από τη χρόνια ηπατική φλεγμονή θεωρούνται μερικοί από τους πιθανούς αιτιοπαθογενετικούς παράγοντες που συντελούν στην εμφάνιση των αντι-P αντισωμάτων. Η εμφάνιση θρομβοπενίας είναι συνάρτηση και άλλων παραγόντων, όπως της λίμνασης των ΑΜΠ στο σπλήνα (κυριώτερος παράγοντας), της μειωμένης παραγωγής ΑΜΠ στο μυελό των οστών και της καταστροφής των ΑΜΠ με ανοσολογικούς ή μη (διάχυτη ενδαγγειακή πήξη) μηχανισμούς.

Σε μία άλλη μελέτη εξετάστηκε η παρουσία αντι-P αντισωμάτων ως προς γλυκοπρωτεΐνες των ΑΜΠ σε ασθενείς με πρωτοπαθή χολική κίρρωση (ΠΧΚ) σε σχέση με ασθενείς με αλκοολική ηπατοπάθεια¹⁹⁰. Η συχνότητα των αντι-P στους ασθενείς με ΠΧΚ ήταν περί το 40%, ενώ δεν βρέθηκαν αντι-P στους ασθενείς με

αλκοολική ηπατοπάθεια. Οι συγγραφείς δεν κατάφεραν να συσχετίσουν την παρουσία των αντι-P αντισωμάτων με την εμφάνιση θρομβοπενίας στους ασθενείς με ΠΧΚ. Οι ίδιοι συγγραφείς έχουν διαπιστώσει ποσοστό αντι-P στην ΙΤΡ που δεν υπερβαίνει το 50%. Η υψηλή ειδικότητα της εφαρμοζόμενης μεθόδου με μονοκλωνικά αντισώματα οδηγεί ενδεχομένως σε χαμηλότερη ευαισθησία. Ακόμη, στη μελέτη αυτή, το ποσοστό ανεύρεσης αντι-P στην επιφάνεια των ΑΜΠ ήταν παραπλήσιο με αυτό που βρέθηκε στον ορό των ασθενών.

Το συμπέρασμα που προκύπτει από συνδυασμό των δικών μας και άλλων παρατηρήσεων είναι η υψηλή συχνότητα (40-70%) αντι-P σε ασθενείς με αυτοάνοση ηπατοπάθεια και ιδιαίτερα σε ασθενείς με ΠΧΚ. Αντι-P όμως ανιχνεύονται στις περισσότερες μελέτες και στις άλλες κατηγορίες ηπατοπαθών, όπως οι πάσχοντες από χρόνια ιογενή ηπατίτιδα ή αλκοολική ηπατοπάθεια. Το εύλογο ερώτημα το οποίο ανακύπτει είναι η συσχέτιση του διαφορετικού επιπολασμού των αντι-P με το βαθμό ή την εμφάνιση θρομβοπενίας και θα απαντηθεί σε άλλο σκέλος της διατριβής αυτής.

3. Σύγκριση δύο διαφορετικών μεθόδων ανεύρεσης αντι-P

Εφαρμόστηκαν δύο μέθοδοι καταξιωμένες στη διεθνή βιβλιογραφία για την ανίχνευση αντι-P αντισωμάτων. Η μέθοδος στερεάς φάσης συγκόλλησης των ερυθρών αιμοσφαιρίων (SPRCA) έχει εισαχθεί σχετικώς πρόσφατα ως μέθοδος ελέγχου και αποτελεί πλέον ισχυρό όπλο σε πολλούς σταθμούς Αιμοδοσίας σε όλον τον κόσμο. Επιτρέπει την ανίχνευση των αιμοπεταλιακών αντισωμάτων έναντι των ειδικών αιμοπεταλιακών αντιγόνων, όσο και των HLA αντιγόνων που φέρουν τα ΑΜΠ. Στη μελέτη αυτή εφαρμόστηκε μία ειδική κατεργασία των ΑΜΠ με χλωροκίνη, ώστε να καταστραφούν τα HLA αντιγόνα στην επιφάνεια των ΑΜΠ και να ανιχνευθούν τα αντι-P αντισώματα κατά των ειδικών αιμοπεταλιακών αντιγόνων.

Η μέθοδος αυτή είναι εμπορικά διαθέσιμη. Έχει συγκριθεί με τη μέθοδο του έμμεσου ανοσοφθορισμού και έχει δείξει μεγαλύτερη ευαισθησία και ειδικότητα^{191,192}. Μπορεί να εφαρμοστεί τόσο σε ΑΜΠ όσο και σε ορό ασθενούς. Μπορεί να αναδείξει αντι-P που παρουσιάζονται ως αποτέλεσμα αντίδρασης σε φάρμακα¹⁹³. Χάρη στην ιδιότητά της να ανιχνεύει ευρύτατο φάσμα αντι-P αντισωμάτων, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την επιλογή των συμβατών ΑΜΠ που θα χορηγηθούν σε ασθενείς οι οποίοι χρήζουν μετάγγισης ΑΜΠ (ιδίως ασθενείς με αιφνίδια σοβαρή θρομβοπενία ή αιματολογικές κακοήθειες σε φάση βαριάς

απλασίας)¹⁹⁴. Με τον τρόπο αυτό, τα ΑΜΠ που επιλέγονται για μετάγγιση είναι περισσότερο συμβατά από τα ΑΜΠ που επιλέγονται από HLA συμβατούς δότες. Αυτό συμβαίνει διότι λαμβάνονται υπόψη και αποφεύγονται όλα τα αντιγόνα των ΑΜΠ του δότη που θα προκαλέσουν την καταστροφή τους μέσω προσκόλλησης αντι-P αντισωμάτων του δέκτη.

Από την άλλη μεριά, ο έμμεσος ανοσοφθορισμός αποτέλεσε επί σειρά ετών τη μέθοδο εκλογής για την ανίχνευση αντι-P αντισωμάτων. Η μέθοδος εφαρμόστηκε σε ευρεία κλίμακα από τον von der Borje για τη διάγνωση της αυτοάνοσης θρομβοπενίας^{183,195}. Τα αποτελέσματά της μεθόδου ήταν συγκρίσιμα και με την SPRCA μέθοδο και σε άλλες καλά τεκμηριωμένες μελέτες^{25,191}.

Έτσι, με βάση τα στοιχεία αυτά η διαπίστωση παρακλήσιων αποτελεσμάτων και με τις δύο αυτές μεθόδους δεν αποτέλεσε έκπληξη και στην παρούσα μελέτη. Η μέθοδος SPRCA ήταν ευκολότερη στην εκτέλεση και την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων και για τους λόγους αυτούς προτιμάται από τον ανοσοφθορισμό σε πολλά εργαστήρια του κόσμου.

4. Μελέτη της επίδρασης στον επιπολασμό αντι-P της θεραπείας με ιντερφερόνη-α σε ασθενείς με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα Β ή C

Υπάρχουν μεμονωμένες αναφορές στη διεθνή βιβλιογραφία σχετικές με την εμφάνιση αυτοάνοσης θρομβοπενίας μετά από τη χορήγηση ιντερφερόνης-α (ΙΦΝ-α) σε ασθενείς με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα¹²⁹⁻¹³⁴, σε κάποιες από τις οποίες έχει γίνει μάλιστα και απομόνωση αντι-P αντισώματος. Αντιθέτως, η εμφάνιση θρομβοπενίας μη αυτοάνοσης αρχής μετά τη χορήγηση θεραπείας με ΙΦΝ-α είναι συχνή παρενέργεια της αγωγής, ιδιαίτερα σε ασθενείς με προχωρημένη ηπατική νόσο¹²⁶.

Η παρούσα μελέτη είναι η πρώτη στη διεθνή βιβλιογραφία που εξέτασε την επίδραση της θεραπείας με ΙΦΝ-α στην τυχόν εμφάνιση αντι-P αντισωμάτων σε ασθενείς με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα Β ή C, συνδυάζοντας μάλιστα μετρήσεις των τιμών των ΑΜΠ¹⁹⁶. Μελετήθηκε ένας ικανός αριθμός ασθενών με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα Β (n=51) και C (n=40). Οι ασθενείς είχαν ενεργό ηπατική νόσο πριν από τη θεραπεία με αυξημένες τρανσαμινάσες και ιικό φορτίο (HBV-DNA ή HCV-RNA αντίστοιχα) ενώ είχαν υποβληθεί πρόσφατα και σε βιοψία ήπατος.

Για τους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β, δεν διαπιστώθηκε μεταβολή του προφίλ των αντι-P αντισωμάτων, που ανιχνεύθηκαν σε ποσοστό 35-37,5% πριν και

μετά τη θεραπεία. Επίσης δεν διαπιστώθηκε μεταβολή στο προφίλ των αντυρηνικών αντισωμάτων (ANA) με την αγωγή. Αντίθετα, σημειώθηκε αξιόλογη μείωση του μέσου αριθμού των ΑΜΠ των ασθενών (από 192.319 ± 54.976 σε $157.934 \pm 43.384 / \text{mm}^3$), ενώ 2/51 ασθενείς παρουσίασαν τιμές ΑΜΠ < 100.000 και 23/51 τιμές ΑΜΠ < 150.000 / mm^3 . Οι ασθενείς αυτοί δεν είχαν σπληνομεγαλία.

Ανάλογα ήταν και τα ευρήματα στους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C, όπου δε διαπιστώθηκε και πάλι μεταβολή του ποσοστού των αντι-P πριν και μετά τη θεραπεία (20%), ούτε και του προφίλ των αντυρηνικών αντισωμάτων (ANA). Αντίθετα, η μέση τιμή ΑΜΠ μειώθηκε σημαντικά (από 202.558 ± 49.367 σε $164.588 \pm 47.179 / \text{mm}^3$) με τη θεραπεία, ενώ 2/40 ασθενείς παρουσίασαν τιμές ΑΜΠ < 100.000 και 15/40 τιμές ΑΜΠ < 150.000 / mm^3 .

Κατά συνέπεια, η μελέτη αυτή έδειξε ότι η εμφάνιση θρομβοπενίας κατά τη διάρκεια της θεραπείας με ΙΦΝ-α δεν συσχετίζεται με την παρουσία αντι-P αντισωμάτων, αλλά είναι αποτέλεσμα της ίδιας της θεραπείας (επίδραση στο μυελό των οστών, ελάττωση έκκρισης θρομβοποιητίνης)¹³⁵. Ως γνωστόν, τυχόν υπάρχον υπερσπληνισμός ή θρομβοπενία προτού τη θεραπεία αυξάνει τις πιθανότητες σοβαρής θρομβοπενίας με την αγωγή με ΙΦΝ-α και χρειάζεται αυξημένη προσοχή και στενότερη παρακολούθηση του ασθενούς¹²⁶⁻¹²⁸. Περιπτώσεις αυτοάνοσης θρομβοπενίας με τη χορήγηση θεραπείας με ΙΦΝ-α σε ασθενείς με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα, όπως αυτές που περιγράφηκαν από τους Doumakis και συν.¹²⁹ είναι ιδιαίτερα σπάνιες. Σε κάθε περίπτωση σοβαρής θρομβοπενίας σε ασθενή που λαμβάνει ΙΦΝ-α είναι σκόπιμο όμως να γίνεται προσδιορισμός αντι-P αντισωμάτων για τον αποκλεισμό αυτοάνοσης θρομβοπενίας. Δεν ισχύει όμως το ίδιο για τις περιπτώσεις ελαφράς ή και μέτριας θρομβοπενίας που πρέπει να θεωρούνται σύμφωνα και με τα ευρήματα της μελέτης αυτής ως αποτέλεσμα της ίδιας της θεραπείας και όχι αυτοάνοση εκδήλωση.

Τέλος, θα πρέπει να αναφερθεί ότι σε κάποια άλλη μελέτη¹³⁶, περιγράφηκε αύξηση του αριθμού των ΑΜΠ σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C και θρομβοπενία, μέσω μηχανισμών εξουδετέρωσης του ιού και βελτίωσης της ηπατικής λειτουργίας.



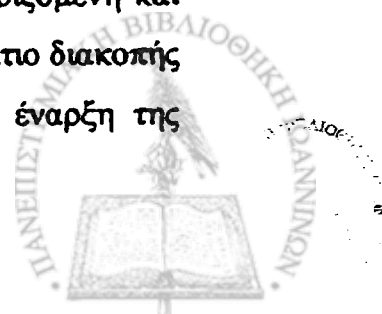
5. Μελέτη της αντίδρασης Coombs πριν και μετά τη θεραπεία με ΙΦΝ-α σε ασθενείς με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα Β ή C

Η ανάπτυξη αυτοάνοσης αιμολυτικής αναιμίας κατά τη διάρκεια θεραπείας με ΙΦΝ-α έχει αναφερθεί σε μεμονωμένες περιπτώσεις στη διεθνή βιβλιογραφία¹³⁸⁻¹⁴³. Στις σπάνιες αυτές περιπτώσεις οι ασθενείς, συνήθως πάσχοντες από χρόνια ιογενή ηπατίτιδα C και χωρίς ατομικό αναμνηστικό αιματολογικού νοσήματος εμφάνισαν αιμολυτική αναιμία. Στις περισσότερες από τις περιπτώσεις η αντίδραση Coombs βρέθηκε θετική μετά το επεισόδιο της αιμόλυσης. Η διακοπή της θεραπείας και η χορήγηση κορτικοειδών οδήγησε σε ίαση σε όλες τις περιπτώσεις, ενώ μετά τρίμηνο αρνητικοποιήθηκε και η αντίδραση Coombs. Η σπανιότητα αυτή παρενέργεια της θεραπείας με ΙΦΝ-α εντάσσεται στα πλαίσια της έκλυσης αυτοάνοσων εκδηλώσεων από τη θεραπεία σε γενετικά προδιατεθειμένα άτομα. Το πιο χαρακτηριστικό παράδειγμα έκλυσης αυτοανοσίας είναι η εμφάνιση αυτοάνοσης θυρεοειδίτιδας που έχει αναφερθεί σε 4-10% των ασθενών που λαμβάνουν θεραπεία με ΙΦΝ-α¹²⁶.

Στην παρούσα μελέτη έγινε προσδιορισμός της αντίδρασης Coombs (άμεσης και έμμεσης) σε 35 ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β και 28 ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C πριν από τη θεραπεία με ΙΦΝ-α και μετά 6 μήνες θεραπείας. Δεν παρατηρήθηκε εμφάνιση θετικής αντίδρασης Coombs κατά τη διάρκεια της θεραπείας ή εμφάνιση αυτοάνοσης αιμολυτικής αναιμίας.

Το συμπέρασμα που προέκυψε είναι ότι η εμφάνιση θετικής αντίδρασης Coombs και της συνεπαγόμενης αυτοάνοσης αιμολυτικής αναιμίας κατά τη διάρκεια της θεραπείας με ΙΦΝ-α σε ασθενείς με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα είναι ιδιαίτερα σπάνια παρενέργεια της θεραπείας. Έτσι η πραγματοποίηση της αντίδρασης Coombs ως εξέτασης ρουτίνας στους ασθενείς με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα που θα λάβουν θεραπεία με ΙΦΝ-α δεν συνιστάται.

Θα υπενθυμίσουμε στο σημείο αυτό ότι στους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C η θεραπεία εκλογής είναι πλέον ο συνδυασμός ΙΦΝ-α (ή και νεότερων βελτιωμένων μορφών αυτής με το αντικό φάρμακο ριμπαβιρίνη. Το τελευταίο προκαλεί αποδεδειγμένα αιμολυτική αναιμία μικρού βαθμού μη αυτοάνοσης αρχής. Η αιμολυτική αυτή αναιμία από τη ριμπαβιρίνη είναι συνήθως αυτοπεριοριζόμενη και υποχωρεί μετά τους πρώτους 2 μήνες θεραπείας, αποτελεί όμως συχνό αίτιο διακοπής της θεραπείας σε άτομα με σχετικώς χαμηλό αιματοκρίτη κατά την έναρξη της αγωγής¹⁹⁷.



6. Αντι-αιμοπεταλιακά αντισώματα και θρομβοπενία στους ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια

Οι μηχανισμοί πρόκλησης θρομβοπενίας στους ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια έχουν περιγραφεί αναλυτικά στο γενικό μέρος της διατριβής αυτής. Οι περισσότερες από τις λιγοστές μελέτες στη διεθνή βιβλιογραφία έχουν αναδείξει την παρουσία αντι-P στους ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια, χωρίς ωστόσο να κατορθώσουν να συσχετίσουν την παρουσία των αυτοαντισωμάτων αυτών με την εμφάνιση θρομβοπενίας. Στην πιο ενδιαφέρουσα μελέτη της διεθνούς βιβλιογραφίας¹⁸⁷ δε διαπιστώθηκε συσχέτιση της παρουσίας αντι-P αντισωμάτων σε ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια ποικίλης αιτιολογίας (αλκοολική, ιογενής, αυτοάνοση, κρυψιγενής) με την εμφάνιση θρομβοπενίας ή με αυξημένα επίπεδα συνδεδεμένης ανοσοσφαιρίνης IgG στα ΑΜΠ. Παρόλα αυτά, το υψηλό ποσοστό παρουσίας αντι-P στους ασθενείς της μελέτης αυτής οδήγησε τους συγγραφείς στην υπόθεση ότι τα αντι-P αντισώματα συμμετέχουν στην πρόκληση θρομβοπενίας στους ασθενείς με προχωρημένη ηπατοπάθεια.

Ο Barrison και οι συνεργάτες δεν διαπίστωσαν συσχέτιση της συνδεδεμένης IgG στα ΑΜΠ και των κυκλοφορούντων ανοσοσυμπλεγμάτων με την εμφάνιση θρομβοπενίας σε ασθενείς με αλκοολική κίρρωση ή κίρρωση από αυτοάνοση ηπατοπάθεια¹⁸⁵. Τα αυξημένα επίπεδα συνδεδεμένης IgG στα ΑΜΠ θεωρήθηκαν ότι σχετιζόνταν με την υπεργαμμασφαιριναιμία που παρατηρείται στους ασθενείς με κίρρωση ήπατος. Παρόλα αυτά, οι συγγραφείς δε διαπίστωσαν αυξημένα επίπεδα άλλων αυτοαντισωμάτων, όπως κατά των τοιχωματικών κυττάρων του στομάχου ή αντιθυρεοειδικά στους ασθενείς που μελέτησαν. Έτσι το τελικό τους συμπέρασμα ήταν οι πολλές παράμετροι που επιδρούν στον αριθμό των ΑΜΠ στους κίρρωτικούς ασθενείς (λίμναση στο σπλήνα, ελαττωμένη παραγωγή, αυξημένη καταστροφή αυτοάνοσης ή μη αιτιολογίας) κάνουν ιδιαίτερα σύνθετη την εκτίμηση του θέματος.

Λίγα χρόνια αργότερα, ο Pfueller και συν.¹⁸⁶ μελετώντας ασθενείς με αυτοάνοση ηπατίτιδα και ηπατίτιδα κρυψιγενούς αιτιολογίας την εποχή εκείνη (1983) διαπίστωσαν ότι όπως και στην ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα (ITP) έτσι και στη χρόνια ηπατίτιδα με ενεργό νόσο, τα αυξημένα επίπεδα συνδεδεμένης IgG στα ΑΜΠ συσχετιζόνταν με το βαθμό της θρομβοπενίας. Επίσης σε μία άλλη εργασία όπου μελετήθηκαν ασθενείς με πρωτοπαθή χολική κίρρωση, διαπιστώθηκε συσχέτιση μεταξύ της συνδεδεμένης IgG στα ΑΜΠ με την εμφάνιση θρομβοπενίας⁹⁷. Η



συσχέτιση της θρομβοπενίας με την παρουσία αντι-P αντισωμάτων πιθανολογήθηκε και σε μία άλλη σημαντική μελέτη σε ασθενείς με το ίδιο νόσημα, χωρίς ωστόσο να αποδειχθεί στατιστικά το εύρημα αυτό¹⁹⁰. Τέλος σε άλλη μελέτη βρέθηκε υψηλή συχνότητα αντισωμάτων κατά καρδιολιπίνης σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C και διατυπώθηκε η υπόθεση ότι ο ιός της ηπατίτιδας C μπορεί να ενέχεται στην πρόκληση του αντιφωσφολιπιδικού συνδρόμου¹⁹⁸. Τα αντισώματα κατά καρδιολιπίνης μπορούν να προκαλέσουν θρομβοπενία καταστρέφοντας τα φωσφολιπίδια της μεμβράνης των ΑΜΠ. Στην ίδια μελέτη αναφέρθηκε και η υψηλή συχνότητα αντισωμάτων κατά καρδιολιπίνης σε ασθενείς με ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα (ITP), που μπορεί να υποδηλώνει συσχέτιση μεταξύ αντιφωσφολιπιδικού συνδρόμου και ITP, ή και αλληλεπίδραση μεταξύ αντι-P αντισωμάτων και αντισωμάτων κατά καρδιολιπίνης¹⁹⁹.

Στην παρούσα μελέτη διαπιστώθηκε για το σύνολο των ασθενών με χρόνια ηπατοπάθεια που μελετήθηκαν χαμηλότερος μέσος αριθμός ΑΜΠ στους ασθενείς με κίρρωση σε σχέση με το μέσο αριθμό ΑΜΠ στους ασθενείς χωρίς κίρρωση ($P=0,000034$). Οι ασθενείς με κίρρωση είχαν συχνότητα αντι-P αντισωμάτων 53,06% έναντι αντίστοιχης συχνότητας θετικών αντι-P 26,43% στους ασθενείς χωρίς κίρρωση ($P=0,0018$). Δηλαδή, οι κίρρωτικοί ανεξαρτήτως αιτιολογίας είχαν μεγαλύτερη συχνότητα αντι-P αντισωμάτων από ότι οι μη κίρρωτικοί ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια.

Αντίθετα, η μελέτη αυτή απέτυχε να συσχετίσει απόλυτα τον αριθμό των ΑΜΠ με την παρουσία αντι-P αντισωμάτων. Συνολικά, για όλους τους ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια ανεξαρτήτως αιτιολογίας και σταδίου, ο μέσος αριθμός ΑΜΠ ήταν $163.714 \pm 73.669/\text{mm}^3$ στους ασθενείς με θετικά αντι-P ($n=57$) και $183.209 \pm 58.388/\text{mm}^3$ στους ασθενείς με αρνητικά αντι-P ($n=99$) [$P=0,098$].

Από τους ασθενείς της μελέτης με χρόνια ηπατοπάθεια ($n=156$) και τιμές $\text{ΑΜΠ} < 100.000/\text{mm}^3$ ($n=19$) το 68% είχαν θετικά αντι-P αντισώματα και το 94,7% είχαν κίρρωση του ήπατος. Επίσης από τους 156 ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια, 17 (10,89%) παρουσίαζαν σπληνομεγαλία στη φυσική εξέταση και/ή στο υπερηχογράφημα. Από τους ασθενείς με σπληνομεγαλία το 82,35% είχαν κίρρωση ήπατος και το 58,82% είχαν θετικά αντι-P αντισώματα.

Εξετάζοντας τις επιμέρους ομάδες της μελέτης, στους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β ($n=65$) η μέση τιμή του αριθμού των ΑΜΠ δεν συσχετίστηκε με την

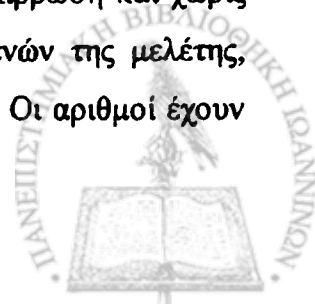


παρουσία αντι-P αντισωμάτων. Το ίδιο συμπέρασμα προέκυψε και όταν μελετήθηκαν ξεχωριστά οι ομάδες των ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα Β με ή χωρίς κίρρωση στη βιοψία ήπατος. Για τους ασθενείς της μελέτης με χρόνια ηπατίτιδα C (n=57), προέκυψε αρνητική συσχέτιση του μέσου αριθμού των ΑΜΠ με την παρουσία αντι-P αντισωμάτων (P=0,002). Στους ασθενείς με αλκοολική ηπατοπάθεια, ο μέσος αριθμός των ΑΜΠ ήταν μικρότερος στους ασθενείς με θετικά αντι-P από ό,τι σε αυτούς με αρνητικά αντι-P, αλλά το αποτέλεσμα δεν ήταν στατιστικά σημαντικό πιθανώς λόγω του μικρού αριθμού των ασθενών σε κάθε κατηγορία. Τέλος, στους ασθενείς της μελέτης με αυτοάνοση ηπατοπάθεια (πρωτοπαθή χολική κίρρωση ή αυτοάνοση ηπατίτιδα) δεν έγιναν συγκρίσεις μεταξύ των τιμών ΑΜΠ μεταξύ ασθενών με θετικά ή όχι αντι-P λόγω του μικρού συνολικού αριθμού των ασθενών (n=11). Τέσσερις από τους ασθενείς αυτούς είχαν τιμές ΑΜΠ<100.000 ενώ ιστολογικά είχαν κίρρωση. Τρεις από τους 4 αυτούς ασθενείς είχαν και θετικά αντι-P.

Κατά συμπέρασμα, η μελέτη αυτή έδειξε ότι τα αντι-P αντισώματα είναι συχνότερα στους κίρρωτικούς ασθενείς σε σχέση με ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια χωρίς κίρρωση και πιθανώς συμβάλλουν στην πρόκληση θρομβοπενίας στους ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια τελικού σταδίου. Υπάρχουν αρκετά στοιχεία για τη συσχέτιση των αντισωμάτων αυτών με θρομβοπενία σε ορισμένες κατηγορίες χρόνιας ηπατοπάθειας όπως οι ασθενείς με πρωτοπαθή χολική κίρρωση ενώ για άλλες κατηγορίες, όπως οι πάσχοντες από χρόνια ηπατίτιδα C, χρειάζονται μεγαλύτερες παρατηρήσεις για την εξαγωγή τελικών συμπερασμάτων.

7. Μέσος αριθμός αιμοπεταλίων στις διάφορες ομάδες των ασθενών με χρόνια ηπατοπάθεια

Κατά τη συγκριτική μελέτη του αριθμού των ΑΜΠ στις διάφορες ομάδες των ασθενών με χρόνια ηπατοπάθεια δεν προέκυψαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στο μέσο αριθμό των ΑΜΠ. Αντιθέτως, όπως αναφέρθηκε ο μέσος αριθμός των ΑΜΠ ήταν σημαντικά μικρότερος στους κίρρωτικούς ασθενείς ανεξαρτήτως αιτιολογίας σε σχέση με μη κίρρωτικούς ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια. Η ίδια στατιστικά σημαντική διαφορά του αριθμού των ΑΜΠ μεταξύ ασθενών με κίρρωση και χωρίς κίρρωση παρατηρήθηκε και στις διάφορες κατηγορίες των ασθενών της μελέτης, όπως οι ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β ή με χρόνια ηπατίτιδα C. Οι αριθμοί έχουν παρατεθεί αναλυτικά.



Έτσι, η μελέτη αυτή έδειξε ότι ο καθοριστικός παράγοντας για τον αριθμό των ΑΜΠ στους ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια είναι η ίδια η βαρύτητα της νόσου και της ιστολογικής βλάβης, ενώ δεν παρατηρούνται διαφορές μεταξύ των διάφορων αιτίων χρόνιας ηπατοπάθειας.



ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η διατριβή αυτή οδήγησε στα παρακάτω συμπεράσματα:

1. Υπάρχει αυξημένη συχνότητα αντι-P αντισωμάτων στους ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια ποικίλης αιτιολογίας. Η διαφορά αυτή ήταν σημαντική σε σχέση με υγιείς μάρτυρες και πάσχοντες από ΙΦΠΕ.
2. Ο αυξημένος επιπολασμός αντι-P αντισωμάτων αφορά την ιογενή, την αλκοολική και την αυτοάνοση χρόνια ηπατοπάθεια και είναι μεγαλύτερος στην τελευταία.
3. Οι δύο μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν (στερεά φάση συγκόλλησης ερυθρών αιμοσφαιρίων και έμμεσος ανοσοφθορισμός) έδωσαν παραπλήσια αποτελέσματα.
4. Η χορήγηση θεραπείας με ιντερφερόνη-α δεν επάγει την εμφάνιση αντι-P αντισωμάτων σε ασθενείς με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα Β ή C (η πρώτη μελέτη στη διεθνή βιβλιογραφία που μελέτησε την παράμετρο αυτή).
5. Η χορήγηση θεραπείας με ιντερφερόνη-α δεν προκάλεσε την εμφάνιση θετικής αντίδρασης Coombs στους ασθενείς με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα Β ή C που μελετήθηκαν.
6. Τα αντι-P αντισώματα ήταν σημαντικά συχνότερα στους κίρρωτικούς ασθενείς και συμβάλλουν μαζί με άλλους μηχανισμούς στην πρόκληση θρομβοπενίας σε αυτή την κατηγορία ασθενών.
7. Δεν υπάρχει διαφορά στο μέσο αριθμό αιμοπεταλίων στις ποικίλες κατηγορίες των ασθενών με χρόνια ηπατοπάθεια, ενώ ο καθοριστικός παράγοντας για την εμφάνιση θρομβοπενίας είναι η βαρύτητα της ηπατικής νόσου και η ιστολογική πρόοδος προς κίρρωση με το συνοδό υπερσπληνισμό.



ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Μελετήσαμε 156 ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια, 240 υγιείς μάρτυρες και 42 ασθενείς με ιδιοπαθή φλεγμονώδη πάθηση των εντέρων (ΙΦΠΕ) για την παρουσία αντιαμοπεταλιακών (αντι-P) αντισωμάτων. Από τους ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια 65 έπασχαν από χρόνια ιογενή ηπατίτιδα Β, 57 από χρόνια ηπατίτιδα C, 23 από αλκοολική ηπατοπάθεια και 11 από αυτοάνοση ηπατοπάθεια. Επιπλέον μελετήθηκε η επίδραση της θεραπείας με ιντερφερόνη-α στην εμφάνιση αντι-P αντισωμάτων σε 51 ασθενείς με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα Β και 40 ασθενείς με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα C. Στο ίδιο σκέλος, μελετήθηκε και η επίδραση της ιντερφερόνης-α στη μεταβολή της αντίδρασης Coombs σε ασθενείς με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα Β ή C. Για την ανίχνευση των αντι-P αντισωμάτων χρησιμοποιήθηκαν και συγκρίθηκαν μεταξύ τους δύο διαφορετικές μέθοδοι: η μέθοδος στερεάς φάσης συγκόλλησης των ερυθρών αιμοσφαιρίων και ο έμμεσος ανοσοφθορισμός. Τέλος έγιναν μετρήσεις του αριθμού των αιμοπεταλίων (ΑΜΠ) στις διάφορες κατηγορίες ασθενών και συσχετίστηκαν οι μετρήσεις αυτές με την τυχόν παρουσία αντι-P αντισωμάτων.

Αναλυτικά οι υποκατηγορίες των ασθενών και μαρτύρων φαίνονται στον ακόλουθο πίνακα:

Πάθηση	Αριθμός ασθενών	Μέση ηλικία	Φύλο (Α/Γ)
Χρόνια ηπατίτιδα Β	45	46,0 0± 12,14	32/13
Χρόνια ηπατίτιδα C	41	47,70 ± 12,29	21/20
Κίρρωση Β	20	53,25 ± 9,16	12/8
Κίρρωση C	16	64,06 ± 5,44	8/8
Αλκοολική ηπατοπάθεια	23	59,08± 9,73	21/2
Αυτοάνοση ηπατοπάθεια	11	58,09 ± 9,53	0/11
Μάρτυρες	240	45,06±7,26	131/109
Ελκώδης κολίτιδα	22	54,21±8,45	14/8
Νόσος Crohn	20	49,68±9,77	12/8

Τα αποτελέσματα έδειξαν σημαντικά μεγαλύτερη συχνότητα αντι-P αντισωμάτων στους ασθενείς με χρόνια ηπατοπάθεια (36,53%, 57/156) σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες (2,91%, 7/240) και τους ασθενείς με ΙΦΠΕ (2,38%, 1/42) [$P=0,0000$]. Ο επιπολασμός των αντι-P αντισωμάτων στις διάφορες κατηγορίες ασθενών με χρόνια ηπατοπάθεια συνοψίζεται στον εξής πίνακα:



Νόσημα	Σύνολο	Χωρίς κίρρωση	Με κίρρωση	P
Χρόνια ηπατίτιδα Β	35,38% (23/65)	26,82% (11/41)	40% (8/20)	0,220
Χρόνια ηπατίτιδα C	26,31%(15/57)	19,51% (7/41)	43,75% (7/16)	0,065
Αλκοολική ηπατοπάθεια	47,8% (11/23)		58,88% (7/12)	
Αυτοάνοση ηπατοπάθεια	72,72% (8/11)			

Η συχνότητα ανεύρεσης αντι-P σε ασθενείς με αυτοάνοση χρόνια ηπατοπάθεια διέφερε σημαντικά από αυτή σε ασθενείς με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα Β ή C.

Οι δύο μέθοδοι που εφαρμόστηκαν για την ανίχνευση των αντι-P αντισωμάτων έδωσαν σχεδόν ταυτόσημα αποτελέσματα σε όλες τις κατηγορίες ασθενών που εφαρμόστηκαν παράλληλα. Η μέθοδος στερεάς φάσης ήταν απλούστερη και ταχύτερη στην εκτέλεσή της και για το λόγο αυτόν επιλέχθηκε για να εφαρμοστεί στο σύνολο των περιπτώσεων.

Η θεραπεία με ΙΦΝ-α δεν προκάλεσε επαγωγή αντι-P αντισωμάτων ή μεταβολή της συχνότητάς τους σε ασθενείς με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα Β (n=51) ή C (n=40) [πρώτη διεθνώς μελέτη που εξέτασε την παράμετρο αυτή]. Αντίθετα, η ΙΦΝ-α προκάλεσε στατιστικά σημαντική μείωση του μέσου αριθμού των ΑΜΠΙ, γεγονός που αποδίδεται στην προκαλούμενη καταστολή του μυελού των οστών και στην ελάττωση παραγωγής θρομβοποιητίνης. Επίσης η ΙΦΝ-α δεν προκάλεσε θετικοποίηση της αντίδρασης Coombs (άμεσης και έμμεσης) στους ασθενείς με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα Β ή C που μελετήθηκαν.

Επιπροσθέτως, η προκείμενη μελέτη απέδειξε τη σημαντικά μεγαλύτερη συχνότητα των αντι-P αντισωμάτων σε κίρρωτικούς (53,06%) από ό,τι σε μη κίρρωτικούς ασθενείς (26,43%, P=0,0018). Αν και δεν αποδείχθηκε άμεση συσχέτιση των αντι-P με τη θρομβοπενία, η μελέτη ενίσχυσε την κρατούσα άποψη ότι τα αντι-P αντισώματα συμμετέχουν στην πρόκληση θρομβοπενίας στους κίρρωτικούς ασθενείς μαζί με τους άλλους γνωστούς μηχανισμούς.



Τέλος, δεν βρέθηκαν διαφορές στις μέσες τιμές ΑΜΠΙ στους ασθενείς διαφορετικών κατηγοριών χρόνιας πνευμονοπάθειας, ενώ η βαρύτητα της πνευμονικής βλάβης και η εμφάνιση κηρώσεως σχετίζονταν σε όλες τις κατηγορίες με τη μείωση του αριθμού των ΑΜΠΙ.



Doctoral Thesis

Dimitrios Christodoulou M.D., Gastroenterologist

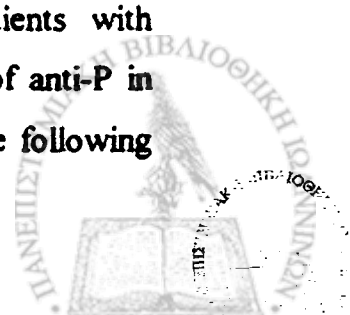
Study of anti-platelet antibodies in patients with chronic liver disease

SUMMARY

We studied 156 patients with chronic liver disease, 240 healthy blood donors and 42 patients with inflammatory bowel disease for the presence of anti-platelet antibodies (anti-P). Of the patients with chronic liver disease, 65 had chronic viral hepatitis B, 57 had chronic viral hepatitis C, 23 had alcoholic liver disease and finally 11 had autoimmune liver disease. In addition, we studied the effect of treatment with interferon-a (IFN-a) on the prevalence of anti-P in 51 patients with chronic viral hepatitis B and 40 patients with chronic viral hepatitis C. In the same part of the study, we studied the effect of IFN-a treatment on the Coombs reaction in patients with chronic viral hepatitis B or C. Two different methods were used and compared for the identification of anti-P, the solid phase red cell adherence test and the indirect immunofluorescence test. The subgroups of the patients and controls are shown in the following table:

Disease	No of patients	Mean age	Sex (M/F)
Chronic hepatitis B	45	46.00 ± 12.14	32/13
Chronic hepatitis C	41	47.70 ± 12.29	21/20
Cirrhosis due to hepatitis B	20	53.25 ± 9.16	12/8
Cirrhosis due to hepatitis C	16	64.06 ± 5.44	8/8
Alcoholic liver disease	23	59.08 ± 9.73	21/2
Autoimmune liver disease	11	58.09 ± 9.53	0/11
Controls	240	45.06 ± 7.26	131/109
Ulcerative colitis	22	54.21 ± 8.45	14/8
Crohn's disease	20	49.68 ± 9.77	12/8

We found a higher prevalence of anti-P in patients with chronic liver disease (36.53%, 57/156) than that in controls (2.91%, 7/240) and in patients with inflammatory bowel disease (2.38%, 1/42) [P=0.0000]. The prevalence of anti-P in the different groups of patients with chronic liver disease is shown in the following table:



Disease	Total	No cirrhosis	Cirrhosis	P
Chronic hepatitis B	35.38% (23/65)	26.82% (11/41)	40% (8/20)	0.220
Chronic hepatitis C	26.31%(15/57)	19.51% (7/41)	43.75% (7/16)	0.065
Alcoholic liver disease	47.8% (11/23)		58.88% (7/12)	
Autoimmune liver disease	72.72% (8/11)			

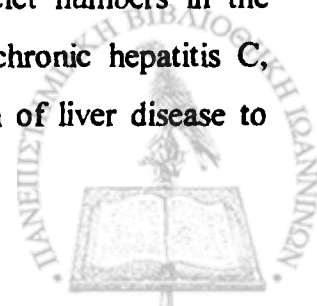
The prevalence of anti-P differed significantly among patients with autoimmune chronic liver disease and those with chronic hepatitis B or C.

The two methods applied for the detection of anti-P gave similar results in all the groups of patients. The solid phase red cell adherence test was easier and faster to perform and was selected as the method of choice for the detection of anti-P in all the patients and controls of the study.

Treatment with IFN-a did not induce anti-P or did not change the frequency of anti-P in patients with chronic viral hepatitis B (n=51) or C (n=40) [first study internationally that examined this parameter]. In contrast, IFN-a caused a significant reduction of the mean platelet number during treatment and this was attributed to the suppression of the bone marrow and the reduced production of thrombopoietin by IFN-a. In addition, IFN-a did not alter Coombs reaction (direct or indirect) in the studied patients with chronic viral hepatitis B or C.

This study also demonstrated the significantly higher frequency of anti-P antibodies in patients with cirrhosis (53.06%) than that in non-cirrhotic patients (26.43%, P=0.0018). Although no direct correlation between anti-P and thrombocytopenia was proven, this study supported the evidence that anti-P antibodies contribute to thrombocytopenia with the other known factors in cirrhotic patients.

Finally, no significant differences among the mean platelet numbers in the different groups of chronic liver disease (chronic hepatitis B, chronic hepatitis C, alcoholic, autoimmune) were found. In contrast, the progression of liver disease to

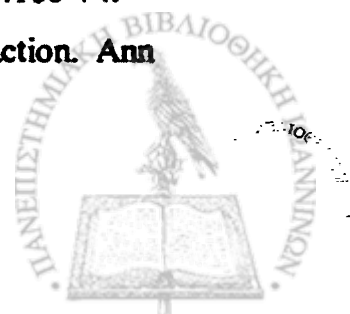


cirrhosis was related to the significant reduction of the mean platelet numbers in all the above groups.

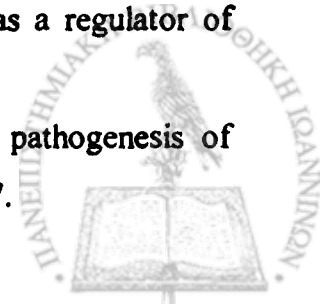


ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

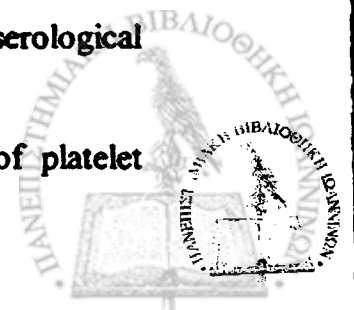
1. Wright JH. The histogenesis of the blood platelets. *J Morphol* 1910; 21: 263-78.
2. Maupin B. *Blood Platelets in man and animals*. New York, Pergamon Press, 1969.
3. Frojmovic MM, Panjwani R: Geometry of normal mammalian platelets by quantitative microscopic studies. *Biophys J* 1976; 16:1071-89.
4. Karpatkin S. Heterogeneity of human platelets. I. Metabolic and kinetic evidence suggestive of young and old platelets. *J Clin Invest* 1969; 48: 1073-82.
5. White JG, Gerrard JM. Ultrastructural features of abnormal blood platelets. *Am J Pathol* 1976; 83: 590-614.
6. Sturk A, Burt LM, Hakvoort T et al. The effect of storage on platelet morphology. *Transfusion* 1982; 22: 115-20.
7. Frojmovic MM, Milton JG. Human platelet size, shape and related functions in health and disease. *Physiol Rev* 1982; 62: 185-261.
8. White JG, Clawson CC. Overview article: biostructure of blood platelets. *Ultrastruct Pathol* 1980; 1:533-38.
9. Solum NO. Platelet membrane proteins. *Semin Hematol* 1985; 22: 289-302.
10. Van Deurs B, Behnke O. Membrane structure of nonactivated and activated platelets as revealed by freeze fracture: Evidence for particle redistribution during platelet contraction. *J Cell Biol* 1980; 87: 209-18.
11. Holt JC, Niewiarowski S. Biochemistry of α -granule proteins. *Semin Hematol* 1985; 22: 151-63.
12. Michal F, Firkin BG. Physiological and pharmacological aspects of the platelet. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1969; 9: 95-118.
13. Doery J, Hirsh J, Cooper I. Energy metabolism in human platelets: Interrelationship between glycolysis and oxidative metabolism. *Blood* 1970; 36: 159-68.
14. Nossel HL. Secreted platelet proteins. *Thromb Haemost* 1978; 40(1):168-74.
15. Pollard TD. Contractile proteins in platelet activation and contraction. *Ann NY Acad Sci* 1977; 283: 218-36.



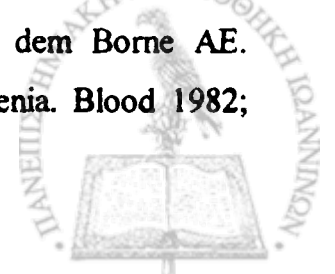
16. Phillips DR, Agin PP. Platelet plasma membrane glycoproteins. *J Biol Chem* 1977; 252 :2121-26.
17. Weiss HJ. Platelet physiology and abnormalities of platelet function. *N Engl J Med* 1975; 293: 531-41.
18. Schmaier AH. Platelet forms of plasma proteins: plasma cofactors/substrates and inhibitors contained within platelets. *Semin Hematol* 1985; 22: 187-202.
19. Lagarde M, Guichardant M, Menashi S et al. The phospholipid and fatty acid composition of human platelet surface and intracellular membranes isolated by high voltage free flow electrophoresis. *J Biol Chem* 1983; 257: 3100-04.
20. Woodside EE, Cocholaty W. Carbohydrates of human and bovine platelets. *Blood* 1960; 16: 1173-85.
21. Levine RF. Isolation and characterization of normal human megakaryocytes. *Br J Haematol* 1980; 45: 487-97.
22. Sternberg PE, Levin J. Mechanisms of platelet production. *Blood Cells* 1989; 15: 23-47.
23. Dukes PP, Izadi P, Ortega JA et al. Inhibitory effects of interferon on mouse megakaryocytic progenitor cells in culture. *Exp Hematol* 1980; 8: 1048-56.
24. Campell A, Wicha MS, Long M. Extracellular matrix promotes the growth cells and differentiation of murine hematopoietic cells in vitro. *J Clin Invest* 1985; 78:2085.
25. Τσιάρα ΣΝ. Διδακτορική διατριβή. Μελέτη της θρομβοπενίας στα αυτοάνοσα νοσήματα. Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων 1997.
26. Evatt BL, Levin J, Algazy KM et al. Partial purification of thrombopoietin from the plasma of thrombocytopenic rabbits. *Blood* 1979; 54: 377-88.
27. Gurney AL, Kuang WJ, Xie MH et al. Genomic structure, chromosomal localization and conserved alternative splice forms of thrombopoietin. *Blood* 1995; 85: 981-88.
28. Weintraub AH, Khan I, Karpatkin S. Evidence for a splenic release factor of platelets in chronic blood loss plasma of rabbits. *Br J Haematol* 1976; 34: 421-26.
29. Karpatkin S, Garg SK, Freedman ML et al. Role of iron as a regulator of thrombopoiesis. *Am J Med* 1974; 57: 521-25.
30. Aster RH. Pooling of platelets in the spleen: role in the pathogenesis of hypersplenic thrombocytopenia. *J Clin Invest* 1966; 45: 645-57.



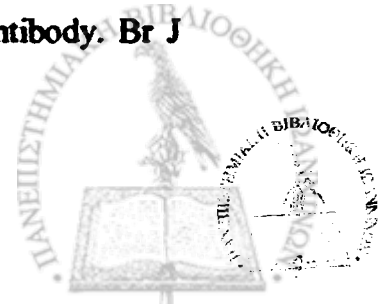
31. Freedman M, Altszuler N, Karpatkin S. Presence of a nonsplenic platelet pool. *Blood* 1977; 50:419-25.
32. Corash L, Chen HY, Levin J et al. Regulation of thrombopoiesis: effects of the degree of thrombocytopenia on megacaryocyte ploidy and platelet volume. *Blood* 1987; 70: 177-185.
33. Bithell TC. The physiology of primary hemostasis. In *Wintrobe's Clinical Hematology*, 9th Edition, Eds: Lee GR, Bithell TC, Foerster J, Athens JW, Lukens JN. 1993; pages 540-65.
34. Dunstan RA, Simpson MB, Rosse WF. Erythrocyte antigens on human platelets. *Transfusion* 1984; 24: 243-46.
35. Dunstan RA, Simpson MB. Stability of platelet surface antigens during storage. *Transfusion* 1985; 25: 563-66.
36. Bell JI, Denny DW Jr, McDevitt HO. Structure and polymorphism of murine and human class II major histocompatibility antigens. *Immunol Rev* 1985; 84:51-71.
37. Benacerraf B, Germain RN. The immune response genes and the major histocompatibility complex. *Immunol Rev* 1978; 38:70-119.
38. Klein J, Figueroa F, Nagy ZA. Genetics of the major histocompatibility complex. The final act. *Annu Rev Immunol* 1983; 1:119-42.
39. Owen MJ, Crumpton MJ. The role of class I and II antigens in cell recognition. *Br Med Bull* 1987; 43(1): 228-40.
40. Cohen D, Paul P, Le Gall I et al. DNA polymorphism of HLA class I and class II regions. *Immunol Rev* 1985; 85:87-105.
41. Klein J, Nagy ZA. Mhc restriction and Ir genes. *Adv Cancer Res* 1982; 37:233-317.
42. Gregersen PK, Silver J, Winchester RJ. The shared epitope hypothesis. An approach to understanding the molecular genetics of susceptibility to rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1987; 30:1205-13.
43. Kunicki TJ, Newman PJ. The molecular immunology of human platelet proteins. *Blood* 1992; 80: 1386-1404.
44. Pegels JG, Albada J, Nijessen JG et al. Post-transfusion purpura: a serological and immunochemical study. *Br J Haematol* 1981; 49:521-30.
45. Mueller-Eckhardt C, Kiefel V, Santoso S. Review and update of platelet alloantigen systems. *Transfus Med Rev* 1990; 4: 98-109.



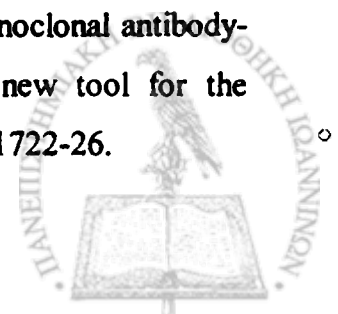
46. Vogelsang G, Hess AD, Gordon G et al. Post-transfusion purpura : a report of five cases and review of the pathogenesis and management. *Am J Haematol* 1986; 21: 259-67.
47. van Leeuwen EF, Leeksma OC, van Mourik JA et al. Effect of binding of anti-Zw^a antibodies on platelet function. *Vox Sang* 1984; 47:280-89.
48. van Leeuwen EF, von dem Borne AE, von Riesz LE et al. Absence of platelet-specific alloantigens in Glanzmann's thrombasthenia. *Blood* 1981; 57: 49-54.
49. Woods VL, McMillan R. Platelet autoantigens in chronic ITP. *Br J Haematol* 1984; 57: 1-4.
50. Stricker RB, Wong D, Saks SR et al. Acquired Bernard-Soulier syndrome. *J Clin Invest* 1985; 76: 1274-78.
51. Pegels J, Bruynes EC, Engelfriet CP et al. Pseudothrombocytopenia : an immunologic study on platelet antibodies dependent upon ethylene diamine tetra-acetate. *Blood* 1982; 59: 157-61.
52. Kjeldsberg CR, Hershgold EJ. Spurious thrombocytopenia. *JAMA* 1974; 227: 628-30.
53. Bizzaro N. Platelet satellitosis to polymorphonuclears: cytochemical, immunological, and ultrastructural characterization of eight cases. *Am J Hematol* 1991; 36: 235-42.
54. Levine SP. Thrombocytopenia: pathophysiology and classification. In *Wintrobe's Clinical Hematology*, 10th Edition, Eds: Lee GR, Foerster J, Lukens J, Paraskevas F, Greer JP, Rodgers GM 1999; pp 1579-1582.
55. Levine SP. Thrombocytopenia caused by immunologic platelet destruction. In *Wintrobe's Clinical Hematology*, 10th Edition, Eds: Lee GR, Foerster J, Lukens J, Paraskevas F, Greer JP, Rodgers GM 1999; pp. 1583-1611.
56. Harrington WJ, Minnich V. Hollingsworth JW, Moore CV. Demonstration of a thrombocytopenic factor in the blood of patients with thrombocytopenic purpura. *J Lab Clin Med* 1951; 38: 1-10.
57. Shulman NR, Marder VJ, Weinrach RS. Similarities between known antiplatelet antibodies and factor responsible for thrombocytopenia in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Ann NY Ac Sci* 1965; 124: 499-542.
58. van Leeuwen EF, van der Ven JT, Engelfriet CP, von dem Borne AE. Specificity of autoantibodies in autoimmune thrombocytopenia. *Blood* 1982; 59: 23-26.



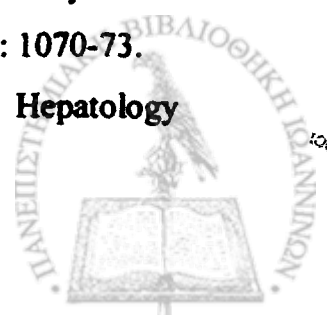
59. McMillan R, Tani P, Millard F et al. Platelet-associated and plasma antiglycoprotein antibodies in chronic ITP. *Blood* 1987; 40:1040-45.
60. Mc Millan R. Clinical role of antiplatelet antibodies assays. *Semin Thromb Hemost* 1995; 21: 37-45.
61. van der Harst D, de Jong D, Limpens J et al. Clonal B-cell populations in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood* 1990; 76: 2321-2326.
62. Stockelberg D, Hou M, Jacobsson S et al. Evidence for a light chain restriction of glycoprotein Ib/IX and IIb/IIIa reactive antibodies in chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 1995; 90: 175-9.
63. Hou M, Stockelberg D, Kutti J, Wadenvik H. Fab-mediated binding of glycoprotein Ib/IX and IIb/IIIa specific antibodies in chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 1995; 91: 944-50.
64. He R, Reid DM, Jones CE, Shulman NR. Extracellular epitopes of platelet glycoprotein Iba reactive with serum antibodies from patients with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood* 1995; 86: 3789-96.
65. Tsubakio T, Tani P, Woods VL, McMillan R. Autoantibodies against platelet GPIIb/IIIa in chronic ITP react with different epitopes. *Br J Haematol* 1987; 67: 345-48.
66. Fujisawa K, Tani P, O'Toole TE et al. Different specificities of platelet-associated and plasma autoantibodies to platelet GPIIb-IIIa in patients with chronic immune thrombocytopenic purpura. *Blood* 1992; 79:1441-46.
67. Kiefel V, Santoso S, Kaufmann E, Mueller-Eckhardt C. Autoantibodies against platelet glycoprotein Ib/IX: a frequent finding in autoimmune thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 1991; 79: 256-62.
68. Koerwer TAW, Weinfeld HM, Bullard LSB, Williams LCJ. Antibodies against platelet glycosphingolipids. Detection in serum by quantitative HPTLC-autoradiography and association with autoimmune and alloimmune processes. *Blood* 1989; 74: 274-84.
69. Harris EN, Asherson RA, Gharavi AE et al. Thrombocytopenia in SLE and related autoimmune disorders : association with anticardiolipin antibody. *Br J Haematol* 1985; 59: 227-30.



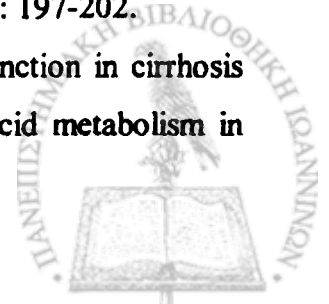
70. Nomura S, Yanabu M, Fukuroi T et al. Anti-phospholipid antibodies bind to platelet microparticles in idiopathic (autoimmune) thrombocytopenic purpura. *Ann Haematol* 1992; 65: 46-49.
71. Yanabu M, Nomura S, Fukuroi T et al. Platelet activation induced by an antiplatelet autoantibody against CD9 antigen and its inhibition by another autoantibody in immune thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 1993; 84: 694-701.
72. Hashimoto Y, Tanabe J, Mohri H, Ohkubo T. Autoimmune antibody in a patient with idiopathic thrombocytopenic purpura reacted to the platelet low molecular weight glycoproteins and activated platelets. *Am J Clin Path* 1994; 101:370-74.
73. Dixon R, Rosse W, Ebbert L. Quantitative determination of antibody in idiopathic thrombocytopenic purpura: correlation of serum and platelet bound antibody with clinical response. *N Engl J Med* 1975; 292:230-36.
74. LoBuglio AF, Court WS, Vinocur L, et al. Use of a 125I-labeled antihuman IgG monoclonal antibody to quantify platelet-bound IgG. *N Engl J Med* 1983; 309: 459-63.
75. Karpatkin M, Siskind GW, Karpatkin S. The platelet factor 3 immunoinjury technique re-evaluated. Development of a rapid test for antiplatelet antibody. Detection in various clinical disorders, including immunologic, drug-induced and neonatal thrombocytopenia. *J Lab Clin Med* 1977; 89:400-08.
76. Cines DB, Schreiber AD. Immune thrombocytopenia. Use of a Coombs antiglobulin test to detect IgG and C₃ on platelets. *N Engl J Med* 1979; 300:106-11.
77. Kelton GC, Murphy WG, Lucarelli A et al. A prospective comparison of four techniques for measuring platelet associated IgG. *Br J Haematol* 1989; 71:97-105.
78. George JN, Saucerman S. Platelet IgG, IgA, IgM and albumin: correlation of platelet and plasma concentrations in normal subjects and in subjects with ITP or dysproteinemia. *Blood* 1988; 72: 362-65.
79. Kiefel V, Santoso S, Weisheit M, Mueller-Eckhardt C. Monoclonal antibody-specific immobilization of platelet antigens (MAIPA): a new tool for the identification of platelet reactive antibodies. *Blood* 1987; 70:1722-26.



80. Brophy MT, Fiore LD, Deykin D. In *Hepatology - a Textbook of Liver Disease*, Eds Zakim-Boyer, W.B. Saunders Company 1996; pp. 691-719.
81. Gallus AS, Lucas CR, Hirsh J. Coagulation studies in patients with acute infectious hepatitis. *Br J Haematol* 1972; 22:761-71.
82. O'Grady JG, Langley PG, Isola LM, et al. Coagulopathy of fulminant hepatic failure. *Semin Liv Dis* 1986; 6: 159-63.
83. Lechner K, Niessner H, Thaler H. Coagulation abnormalities in liver disease. *Semin Thromb Hemost* 1977; 4: 40-56.
84. Bertaglia E, Belmonte P, Vertolli V et al. Bleeding in cirrhotic patients: a precipitating factor due to intravascular coagulation or hepatic failure? *Haemostasis* 1982; 13: 328-33.
85. Toghil PJ, Green S. Platelet dynamics in chronic liver disease using indium-111 oxine label. *Gut* 1983; 24: 49-52.
86. Aoki Y, Hirai K, Tanikawa K. Mechanism of thrombocytopenia in liver cirrhosis: kinetics of indium-111 tropolone labeled platelets. *Eur J Nucl Med* 1993; 20(2): 123-29.
87. Deykin D. The clinical challenge of disseminated intravascular coagulation. *N Engl J Med* 1970; 283: 636-44.
88. Weinstein MJ, Deykin D. Low solubility fibrinogen examined by two-dimensional sodium dodecyl sulfate gel electrophoresis and isoelectric focusing. *Thromb Res* 1978; 13: 361-77.
89. Rake MO, Flute PT, Parnell G et al. Intravascular coagulation in acute hepatic necrosis. *Lancet* 1970; 1: 533-37.
90. Langley PG, Forbes A, Hughes RD et al. Thrombin-antithrombin III complex in fulminant hepatic failure: evidence for disseminated intravascular coagulation and relationship to outcome. *Eur J Clin Invest* 1990; 20(6): 627-31.
91. Pockros PJ, Petero RL, Reynolds TB. Idiopathic fatty liver of pregnancy: findings of 10 cases. *Medicine* 1984; 63: 1-11.
92. Rubinstein D, McInnes I, Dudley F. Morbidity and mortality after peritoneovenous shunt surgery for refractory ascites. *Gut* 1985; 26: 1070-73.
93. Carr JM. Disseminated intravascular coagulation in cirrhosis. *Hepatology* 1989; 10(1): 103-10.

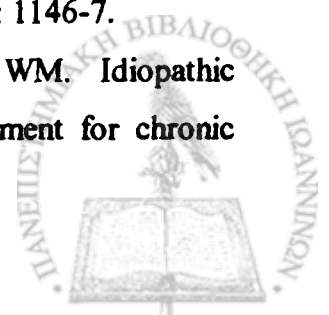


94. Bakker CM, Knot EA, Stibbe J et al. Disseminated intravascular coagulation in liver cirrhosis. *J Hepatol* 1992; 15(3): 330-35.
95. De Noronha R, Taylor BA, Wild G et al. Inter-relationships between platelet count, platelet IgG, serum IgG, immune complexes and the severity of liver disease. *Clin Lab Haematol* 1991; 13(2): 127-35.
96. Graber D, Giuliani D, Leevy CM et al. Platelet associated IgG in hepatitis and cirrhosis. *J Clin Immunol* 1984; 4: 109-11.
97. Bassendine MF, Collins JD, Stephenson J et al. Platelet associated immunoglobulins in primary biliary cirrhosis: a cause of thrombocytopenia? *Gut* 1985; 26: 1074-79.
98. Puram, V, Giuliani D, Morse BS. Circulating immune-complexes and platelet IgG in various diseases. *Clin Exp Immunol* 1984; 58: 672-76.
99. Stein S, Harker LA. Kinetic and functional studies of platelets, fibrinogen and plasminogen in patients with hepatic cirrhosis. *J Lab Clin Med* 1982; 99: 217-30.
100. Lindenbaum J, Hargrove RL. Thrombocytopenia in alcoholics. *Ann Intern Med* 1968; 68: 526-32.
101. Gewirtz AM, Hoffman R. Transitory hypomegakaryocytic thrombocytopenia purpura: etiology association with ethanol abuse and implications regarding regulation of human megakaryocytopoiesis. *Br J Haematol* 1986; 6: 333-44.
102. Camitta BM, Nathan DG, Forman EN et al. Posthepatic severe aplastic anemia: an indication for early bone marrow transplantation. *Blood* 1974; 43: 473-83.
103. Camitta BM, Storb R, Thomas ED. Aplastic anemia. *N Engl J Med* 1982; 306: 645-52.
104. Ballard HS, Marcus AJ. Platelet aggregation in portal cirrhosis. *Arch Intern Med* 1976; 136: 316-19.
105. Weston MJ, Langley PG, Rubin MH et al. Platelet function in fulminant hepatic failure and effect of charcoal haemoperfusion. *Gut* 1977; 18: 897-902.
106. Rubin MH, Weston MJ, Langley PG et al. Platelet function in chronic liver disease: relationship to disease severity. *Dig Dis Sci* 1979; 24: 197-202.
107. Laffi G, Cominelli R, Ruggiero M et al. Altered platelet function in cirrhosis of the liver, impairment of inositol lipid and arachidonic acid metabolism in response to agonist. *Hepatology* 1988; 8(6): 1620-26.

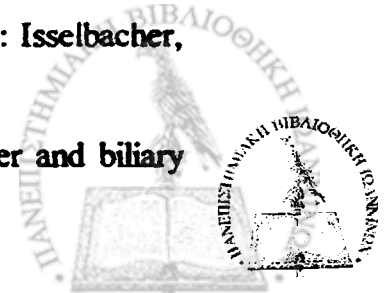


108. Laffi G, LaVilla G, Pinzani M et al. Altered renal and platelet arachidonic acid metabolism in cirrhosis. *Gastroenterology* 1986; 90: 274-82.
109. Laffi G, Marra F, Gresele P et al. Evidence for a strange pool defect in platelets from cirrhotic patients with defective aggregation. *Gastroenterology* 1992; 103(2): 641-46.
110. Desai K, Mistry P, Bagget C et al. Inhibition of platelet aggregation by abnormal high density lipoprotein particles in plasma from patients with hepatic cirrhosis. *Lancet* 1989; 1(8640):693-95.
111. Palascak JE, Martinez J. Dysfibrinogenemia associated with liver disease. *J Clin Invest* 1977; 60: 89-95.
112. Fiore L, Brophy MT, Lopez A et al. The bleeding time response to aspirin : identifying the hyperresponder. *Am J Clin Pathol* 1990; 94(3): 292-96.
113. Deykin D, Janson P, McMahon L. Ethanol potentiation of aspirin-induced prolongation of the bleeding time. *N Engl J Med* 1982; 306: 852-54.
114. Stoffa R, Burgess SJ, Peters M. In: *Hepatology – a Textbook of Liver Diseases*, Zakim D-Boyer TD (Eds), Saunders, 1996: pp 1293-1299.
115. Peters M. Mechanism of action of interferons. *Semin Liver Dis* 1989; 9: 235.
116. Isaacs A, Lindenmann J. Virus interference. The interferon. *Proc Royal Soc* 1957; 147: 258-75.
117. Pestka S, Langer JA, Zoon KC et al. Interferons and their actions. *Ann Rev Biochem* 1987; 56: 727-77.
118. Niederau C, Heintges T, Lange S et al. Long-term follow up of HBeAg positive patients treated with interferon alfa for chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 1996; 334: 1422-27.
119. Fattovich G, McIntyre G, Thursz M et al. Hepatitis B virus precore/core variation and interferon therapy. *Hepatology* 1995; 22: 1355-62.
120. McHutchison JG, Gordon SC, Schiff ER, Shiffman ML, Lee WM, Rustgi VK et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. *N Engl J Med* 1998; 339:1485-92.
121. Davis GL, Esteban-Mur R, Rustgi V, Hoefs J, Gordon SC Trepo C et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin for the treatment of relapse of chronic hepatitis C. *N Engl J Med* 1998; 339: 1493-99.
122. Poynard T, Marcellin P, Lee SS, Niederau C, Minuk GS, Ideo G et al. Randomised trial of interferon a2b plus ribavirin for 48 weeks or for 24 weeks

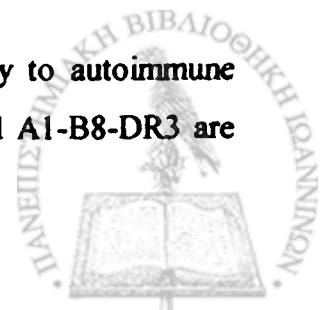
- versus interferon a2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus. *Lancet* 1998; 352: 1426-32.
123. Reddy KR, Wright TL, Pockros PJ et al. Efficacy and safety of pegylated (40-kd) interferon alpha-2a compared with interferon a-2a in noncirrhotic patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2001; 33(2): 433-38.
 124. Heathcote EJ, Shiffman ML, Cooksley GE et al. Peginterferon alfa-2a in patients with chronic hepatitis C and cirrhosis. *N Engl J Med* 2000; 343: 1673-80.
 125. Manns MP, Mc Hutchison JG, Gordon SC et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared to interferon alfa-2b plus ribavirin for the treatment of chronic hepatitis C: 24 week treatment analysis of a multicenter, multinational phase III randomized controlled trial. *Hepatology* 2000; 32: 297A.
 126. Renault PF, Hoofnagle JH. Side effects of alpha interferon. *Semin Liver Dis* 1989; 9: 283-87.
 127. Zoumbos NC, Djeu JY, Young NS. Interferon is the suppressor of hematopoiesis generated by stimulated lymphocytes in vitro. *J Immunol* 1984; 133: 769-74.
 128. Torraceli F, Rosati S, Scuderi M et al. Leucocyte and platelet lowering by some inteferon types during viral hepatitis treatment. *Hepatogastroenterology* 1998; 45(23): 1748-52.
 129. Dourakis SP, Deutsch M, Hadziyannis SJ. Immune thrombocytopenia and alpha-interferon therapy. *J Hepatol* 1996; 25(6): 972-5.
 130. Tappero G, Negro F, Farina M, Gallo M, Angeli A, Hadengue A. Safe switch to beta-interferon treatment of chronic hepatitis C after alpha-interferon-induced autoimmune thrombocytopenia. *J Hepatol* 1996; 25(2): 270-1.
 131. Khan HA, Khawaja FI, Mahrous AR. Re: life-threatening severe immune thrombocytopenia after alpha-interferon therapy for chronic hepatitis C infection. *Am J Gastroenterol* 1996; 91(4): 821-2.
 132. Shrestha R, McKinley C, Bilir BM, Everson GT. Possible idiopathic thrombocytopenic purpura associated with natural alpha interferon therapy for chronic hepatitis C infection. *Am J Gastroenterol* 1995; 90(7): 1146-7.
 133. Murakami CS, Zeller K, Bodenheimer HC Jr, Lee WM. Idiopathic thrombocytopenic purpura during interferon-alpha 2B treatment for chronic hepatitis. *Am J Gastroenterol* 1994; 89(12): 2244-5.



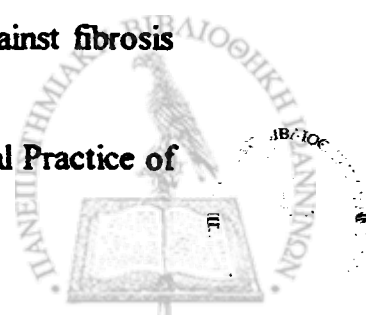
134. Lopez Morante AJ, Saez-Royuela F, Casanova Valero F et al. Immune thrombocytopenia after alpha-interferon therapy in a patient with chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 1992; 87(6): 809-10.
135. Radosavljevic M, Wichlas M, Pidlich J et al. Blunted thrombopoietin response to interferon alfa-induced thrombocytopenia during treatment for hepatitis C. *Hepatology* 1998; 28(5): 1424-9.
136. Garcia-Suarez J, Burgaleta C, Hernanz N et al. HCV-associated thrombocytopenia: clinical characteristics and platelet response after recombinant alpha2b-interferon therapy. *Br J Haematol* 2000; 110(1): 98-103.
137. Fujimura K, Takafuta T, Kurija S et al. Recombinant human interferon alpha-2b (rh IFN alpha-2b) therapy for steroid resistant idiopathic thrombocytopenic purpura. *Am J Hematol* 1996; 51(1): 37-44.
138. Landau A, Castera L, Buffet C et al. Acute autoimmune hemolytic anemia during interferon-alpha therapy for chronic hepatitis C. *Dig Dis Sci* 1999; 44(7): 1366-7.
139. de-la-Serna-Higuera C, Barcena-Marugan R, Sanz-de-Villalobos E. Hemolytic anemia secondary to alpha interferon treatment in a patient with chronic C hepatitis. *J Clin Gastroenterol* 1999; 28(4): 358-9.
140. Saab S, Martin P. Hemolytic anemia and the treatment of chronic hepatitis C. *J Clin Gastroenterol* 1999; 28(4): 289-90.
141. Takase K, Nakano T, Hamada M et al. Hemolytic anemia provoked by recombinant alpha-interferon. *J Gastroenterol* 1995; 30(6): 795-7.
142. Hirashima N, Mizokami M, Orito E et al. Chronic hepatitis C complicated by Coombs-negative hemolytic anemia during interferon treatment. *Intern Med* 1994; 33(5): 300-2.
143. Giannocaro F, Pace L, Antonaci S, Schiraldi O. Autoimmune hemolytic anemia in chronic hepatitis C virus infection treated with alpha-interferon: a therapy-related event or extra-immunologic manifestation? *Recenti Prog Med* 1999; 90(11): 592-4.
144. Isselbacher KJ, Podolsky DK. Approach to the patient with liver disease. Στο *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 13^η Έκδοση, Εκδότες: Isselbacher, Braunwald, Wilson, Martin, Fauci, Kasper. 1994 ; 1437-39.
145. Sherlock S, Dooley J. Chronic Hepatitis. In: *Diseases of the liver and biliary system*. Sherlock, Dooley (Eds), 10th Edition, 1997; 303-335.



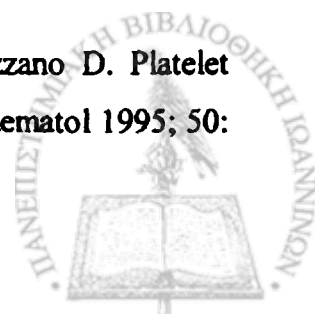
146. Di Bisceglie AM, Goodman ZD, Ishak KG et al. Long-term clinical and histopathological follow-up of clinical post-transfusion hepatitis. *Hepatology* 1991; 14: 969-74.
147. Desmet VJ, Gerber M, Hoofnagle JH et al. Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging. *Hepatology* 1994; 19: 1513-20.
148. Czaja AJ. Chronic active hepatitis: the challenge for a new nomenclature. *Ann Intern Med* 1993; 119: 510-17.
149. Knodell RG, Ishak KG, Black WC et al. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology* 1981; 4: 431-35.
150. Παπαθεοδωρίδης Γ. Κίρρωση ήπατος: αιτιολογία – φυσική ιστορία. *Ελληνική Ιατρική* 1999; 65 (Συμπλ. 1): 7-13.
151. Sherlock S, Dooley J. Hepatic cirrhosis. In *Diseases of the Liver and Biliary system*, Eds Sherlock, Dooley, Blackwell Science 1997: 371-384.
152. Gines P, Quintero E, Arroyo V et al. Compensated cirrhosis – natural history – and prognostic factors. *Hepatology* 1987; 7: 122-28.
153. Runyon BA. Management of adult patients with ascites caused by cirrhosis. *Hepatology* 1998; 27: 264-72.
154. Andreu M, Sola R, Sitges-Serra A et al. Risk factors for spontaneous bacterial peritonitis in cirrhotic patients with ascites. *Gastroenterology* 1993; 104: 1133-38.
155. Grace ND, Groszman R, Garcia-Tsao G et al. Portal hypertension and variceal bleeding : an AASLD single topic symposium. *Hepatology* 1998; 28: 868-80.
156. Grace ND. Diagnosis and treatment of gastrointestinal bleeding secondary to portal hypertension. *Am J Gastroenterol* 1997; 92: 1081-91.
157. Gitlin N. Hepatic encephalopathy. In: ZakimD, Boyer TD (eds): *Hepatology – a Textbook of Liver Disease* 3rd Ed WB Saunders Co 1996; 605-617.
158. Di Bisceglie AM, Carithers RL, Gores GJ. Hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1998; 28: 1161-65.
159. Γ. Χατζής, Α. Αρχιμανδρίτης. Νεότερα δεδομένα για την αυτοάνοση ηπατίτιδα. *Ιατρική* 1999; 76(1): 39-48.
160. Donaldson PT, Doherty DG, Hayllar K et al. Susceptibility to autoimmune chronic active hepatitis: human leukocyte antigens DR4 and A1-B8-DR3 are independent risk factors. *Hepatology* 1991; 3: 701-706.



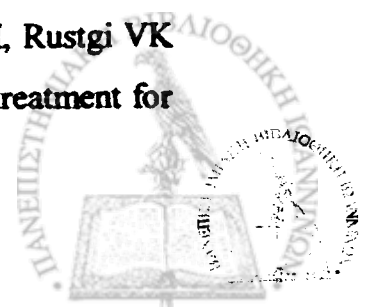
161. Mayer-Zum-Buscenfelde KH, Lohse AW, Manns M et al. Autoimmunity and liver disease. *Hepatology* 1990; 12:354-63.
162. Lohse W, Kogel M, Meyer-Zum-Buscenfelde HE. Evidence for spontaneous immunosuppression in autoimmune hepatitis. *Hepatology* 1995; 22:381-88.
163. Obermayer-Straub P, Strassburg CP, Manns MP. Autoimmune hepatitis. *J Hepatol* 2000; 32 (Suppl 1): 181-97.
164. Γ. Νταλέκος, Ε. Μακρή. Αυτοάνοση ηπατίτιδα. Επιδημιολογία, κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά. – Διαγνωστικά κριτήρια. Έκδοση Ελληνικής Εταιρείας Μελέτης του Ήπατος: «Ηπατίτιδες: Εξελίξεις στην αιτιοπαθογένεια και θεραπεία», Εκδότες Ε. Τσιάνος, Ε. Ακριβιάδης, 2000: 68-82.
165. Alvarez F, Berg PA, Bianchi FB, Bianchi L, Burroughs AK, Cancado EL et al. International autoimmune hepatitis group report: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis. *J Hepatol* 1999; 31: 929-38.
166. DiBisceglie AM. Viral Hepatitis. In: A core Curriculum and Self Assessment in Gastroenterology and Hepatology. Editor: C. Mel Wilcox, 2000; 265-282.
167. Hoofnagle JH, DiBisceglie AM. Serologic diagnosis of acute and chronic viral hepatitis. *Semin Liver Dis* 1991; 11:73-83.
168. Hoofnagle JH, DiBisceglie AM. The treatment of chronic viral hepatitis. *N Engl J Med* 1997; 336: 347-56.
169. Crabb D. Metabolic and Miscellaneous inflammatory diseases of the Liver. In: A core Curriculum and Self Assessment in Gastroenterology and Hepatology. Editor: C. Mel Wilcox, 2000; 248-51.
170. McClain C, Hill D, Schmidt J, Diehl AM. Cytokines and alcoholic liver disease. *Semin Liver Dis* 1993; 13: 170-182.
171. Hoerner M, Behrens UJ, Worner TM et al. The role of alcoholism and liver disease in the appearance of serum antibodies against acetaldehyde adducts. *Hepatology* 1988; 8: 569-74.
172. Clot B, Bellomo G, Tabone M et al. Detection of antibodies against proteins modified by hydroxyethyl free radicals in patients with alcoholic cirrhosis. *Gastroenterology* 1995; 108: 201-207.
173. Lieber CS, Robins SJ, Li J et al. Phosphatidylcholine protects against fibrosis and cirrhosis in the baboon. *Gastroenterology* 1994; 106: 152-159.
174. Libby ED, Kaplan MM. Chronic Cholestatic Disorders. In: Clinical Practice of Gastroenterology. Editor: LJ Brand, 1999; 929-937.



175. Heathcote J. The clinical expression of primary biliary cirrhosis. *Sem Liver Dis* 1996; 17: 23-33.
176. Kaplan MM. Primary biliary cirrhosis. *N. Engl J Med* 1996; 335: 1570-80.
177. Lindor KD, Dickson ER, Jorgensen RA et al. The combination of ursodeoxycholic acid and methotrexate for patients with primary biliary cirrhosis: the results of a pilot study. *Hepatology* 1995; 22: 1158-62.
178. Howard JE, Perkins HA. The natural history of alloimmunization to platelets. *Transfusion* 1978; 18: 496-503.
179. Dutcher JP, Schiffer CA, Aisner J, Wiernik PH. Alloimmunization following platelet transfusion: the absence of a dose-response relationship. *Blood* 1981; 57: 395-8.
180. Juji T, Kano K, Milgrom F. Mixed agglutination with platelets. *Int Archs Allergy appl Immunol.* 1972; 42: 474-84.
181. Shibata Y, Juji T, Nishizawa Y, Sakamoto H, Ozawa N. Detection of platelet antibodies by a newly developed mixed agglutination with platelets. *Vox Sang* 1981; 41: 25-31.
182. Rachel JM, Sinor LT, Tawtik OW, Summer TC, Beck ML, Bayer WL, Plapp FV. A solid-phase red cell adherence test for platelet crossmatching. *Med Lab Sci* 1985; 42: 194.
183. Von Dem Borne AEC, Helmerhorst FM, van Leeuwen EF, Regels JG. Autoimmune thrombocytopenia detection of platelet autoantibodies with the suspension immunofluorescence test. *Br J Haematol* 1980; 45: 319-323.
184. Landolfi R, Leone G, Fedeli G, Storti S, Laghi F, Bizzi B. Platelet associated IgG in acute and chronic hepatic diseases. *Scand J Haematol* 1980; 25: 417-22.
185. Barrison IG, Knight ID, Viola L, Boots MA, Murray-Lyon IM, Mitchell TR. Platelet associated immunoglobulins in chronic liver disease. *Br J Haematol* 1981; 48: 347-50.
186. Pfueller sL, Firkin BG, Kerlero de Bosbo N, Riglar A, Mackay IR. Association of increased immune complexes, platelet IgG and serum IgG in chronic active hepatitis. *Clin Exp Immunol* 1983; 54: 655-60.
187. Pereira J, Accatino L, Alfaro J, Brahm J, Hidalgo P, Mezzano D. Platelet autoantibodies in patients with chronic liver disease. *Am J Haematol* 1995; 50: 173-78.



188. Christodoulou DK, Zervou E, Kistis K, Dalekos GN, Tsianos EV. Prevalence of anti-platelet antibodies in patients with chronic liver diseases: a preliminary study. ISH-EHA Combined Hematology Congress 1998, Abstract.
189. Χριστοδούλου Δ, Ζερβού Ε, Κατσάνος Κ, Κίστης Κ, Φαμηλιάς Ι, Μπαλταγιάννης Γ, Τζαμπούρας Ν, Τσιάνος ΕΒ. Συχνότητα των αντιαμοπεταλιακών αντισωμάτων σε ασθενείς με ιδιοπαθή φλεγμονώδη πάθηση των εντέρων. 20^ο Πανελλήνιο Γαστρεντερολογικό Συνέδριο, Annals of Gastroenterology 2000; 13 (Suppl 2): 40 AA028. Abstract.
190. Feistauer SM, Penner E, Mayr W, Panzer S. Target platelet antigens of autoantibodies in patients with primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 1997; 25: 1343-45.
191. Jones CD, Gould LM, Lee S. An evaluation of a solid phase red cell adherence test for detecting platelet-associated IgG in immune thrombocytopenia. *Am J Clin Pathol* 1990; 93: 552-54.
192. Hacker-Shanin B, Giannitsis DJ. A comparison of a solid phase IRC assay and the PSIFT for detection of antibodies to platelets. *Cytobios* 1992; 70(280): 63-68.
193. Leach MF, Cooper LK, AuBuchon JP. Detection of drug-dependent platelet antibodies by use of solid-phase red cell adherence techniques. *Immunohematology* 1995; 11: 143-49.
194. Rachel JM, Summers TC, Sinor LT, Plapp FV. Use of a solid phase red blood cell adherence method for pretransfusion platelet compatibility testing. *Am J Clin Pathol* 1988; 90: 63-68.
195. von der Borne AEGKr, Verheugt FWA, Oosterhof F et al. A simple immunofluorescence test for the detection of platelet antibodies. *Br J Haematol* 1978; 39: 195-207.
196. Christodoulou DK, Zervou E, Kistis K, Dalekos GN, Baltayannis G, Tsianos EV. Prevalence of antiplatelet antibodies in patients with chronic viral hepatitis B or C who received interferon-a therapy. 25th Balkan Medical Week, 1998. Abstract.
197. McHutchison JG, Gordon SC, Schiff ER, Shiffman ML, Lee WM, Rustgi VK et al. Interferon-a alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic chronic hepatitis C. *N Engl J Med* 1998; 339: 1485-92.



198. Prieto J, Yuste JR, Beloqui O, Civeira MP, Riezu JI, Aguirre B, Sangro B. Anticardiolipin antibodies in chronic hepatitis C.: implication of hepatitis C as the cause of antiphospholipid syndrome. *Hepatology* 1996; 23: 199-204.
199. Harris EN, Gharavi AE, Hegde U et al. Anticardiolipin antibodies in autoimmune thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 1985; 59: 231-34.

