

Διερεύνηση αιτίων θρομβοφιλίας σε ασθενείς με ιστορικό αρτηριακής ή φλεβικής θρόμβωσης

ΣΚΟΠΟΣ Σκοπός αυτής της μελέτης ήταν η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων του εργαστηριακού ελέγχου θρομβοφιλίας στον ελληνικό πληθυσμό. **ΥΛΙΚΟ-ΜΕΘΟΔΟΣ** Στη μελέτη αυτή αναλύθηκαν τα αποτελέσματα από 161 ασθενείς, 87 με ιστορικό αρτηριακής (54%) και 74 φλεβικής θρόμβωσης (46%), οι οποίοι παραπέμφθηκαν στο κέντρο μας από 1/1/98 έως και 31/7/99. Το πιο συχνό αίτιο στις αρτηριακές θρομβώσεις ήταν τα αγγειακά εγγεφυαλικά επεισόδια (80,4%), ενώ στις φλεβικές η εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση (68,9%). Η εργαστηριακή διερεύνηση περιλάμβανε για όλους τους ασθενείς PT, a PTT, Fib, D-Di, FS, Prot C, S, ATIII, Plg, FXII, LLA, ACA, APC-resistance και γενετικό έλεγχο του παράγοντα FV-Leiden και FII 20210G→A. Επίσης, σε 30 ασθενείς με αρτηριακή θρόμβωση έγινε γενετικός έλεγχος για το αλληλίο MTHFR C677T. **ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ** Σαφές αίτιο θρομβοφιλίας με παθολογικό εργαστηριακό έλεγχο διαγνώσθηκε σε 59 (36,6%) ασθενείς (ομάδα Α). Τα αποτελέσματα του εργαστηριακού ελέγχου 45 (28%) ασθενών δεν μπορούσαν να επιβεβαιωθούν λόγω αδυναμίας επανεξέτασης των ασθενών (ομάδα Β), ενώ σε 57 (35,4%) ασθενείς ο έλεγχος ήταν φυσιολογικός (ομάδα Γ). Η διάμεση ηλικία των ασθενών της ομάδας Α ήταν 44 έτη και δεν διέφερε από την διάμεση ηλικία των υπολοίπων ομάδων. Από τους ασθενείς της ομάδας Α στο 79,9% ο εργαστηριακός έλεγχος έδειξε ένα αίτιο θρομβοφιλίας με συχνότερο τον παράγοντα FV-Leiden (37,3%) και δεύτερο σε συχνότητα τον παράγοντα FII 20210G→A (23,8%), ενώ στο 22% έδειξε δύο αίτια με συχνότερο FV-Leiden+FII 20210A (11,9%). Από τους ασθενείς της ομάδας Β στο 73,3% ο εργαστηριακός έλεγχος συνηγορούσε για ένα αίτιο με συχνότερο ACA (44,4%), ενώ σε 26,7% για δύο, με συχνότερο ACA+LLA (24,4%). Στους ασθενείς με αρτηριακή θρόμβωση, σαφές αίτιο βρέθηκε σε 25 (28,7%), ενώ στους ασθενείς με φλεβική θρόμβωση σε 34 (45,9%, $P=0,024$). Συχνότερο αίτιο στις αρτηριακές θρομβώσεις ήταν ο παράγοντας FII 20210G→A (28%), ενώ στις φλεβικές ο παράγοντας FV-Leiden (47%). Από τους ασθενείς που λάμβαναν αντιπηκτική αγωγή (39/161) σαφές αίτιο βρέθηκε σε 21,05%, ενώ ο έλεγχος δεν έδωσε σαφές αποτέλεσμα σε 22,3% ($P>0,005$). **ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ** Η μελέτη αυτή αποδεικνύει την χρησιμότητα ενός ολοκληρωμένου εργαστηριακού ελέγχου για την διερεύνηση των αιτίων θρομβοφιλίας. Ο εργαστηριακός έλεγχος για τους παράγοντες FV-Leiden και FII 20210G→A συμβάλλει ουσιαστικά στη διερεύνηση των θρομβωτικών επεισοδίων. Σε ασθενείς με φλεβική θρόμβωση βρίσκεται συχνότερα αιτιολογικός παράγοντας απ' ό,τι σε αρτηριακή. Η εργαστηριακή διερεύνηση ασθενών άνω των 50 ετών ή εκείνων υπό αντιπηκτική αγωγή κρίνεται σκόπιμη.

Πριν από το 1992 η εργαστηριακή διερεύνηση για τα κληρονομικά αίτια θρομβοφιλίας περιοριζόταν κυρίως στον έλεγχο της ATIII, της C και S, αν και η έκπτωση των τριών αυτών πρωτεϊνών μπορούσε να δώσει απάντηση μόνο στο 5–10% των εξεταζόμενων περιπτώσεων.^{1,2}

Οι πρόσφατες εξελίξεις στη Μοριακή Βιολογία άλλαξαν δραματικά το αποτέλεσμα της διερεύνησης της θρομβοφιλίας. Η αντίσταση στην ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C (APC-R) που πρωτοπεριγράφηκε το 1993, τώρα θεωρείται η πιο συχνή αιτία οικογενούς θρομβοφιλίας.^{3,4} Στην πλειονότητα των περιπτώσεων η APC-R ο-

Α. Γάφου,
Γ. Θεοδοσιάδης,
Ε. Διγενοπούλου,
Ν. Βγόντζα,
Σ. Σκλήβου,
Β. Τσεβρένης,
Μ. Μπέλληια,
Ε. Νομικού,
Ε. Κοντοπούλου-Γρίβα

1ο Περιφερειακό Κέντρο Αιμοδοσίας
και Αιμορροφιλικών,
Ιπποκράτειο Νοσοκομείο Αθηνών

Results of diagnostic studies
for thrombophilia in a group
of patients with a medical history
of arterial or venous thrombosis

Abstract at the end of the article

Λέξεις ευρετηρίου

Αρτηριακή θρόμβωση
Θρομβοφιλία
Φλεβική θρόμβωση

φείλεται σε σημειακή μετάλλαξη του γονιδίου του παράγοντα V, γνωστού ως F-Leiden. Η επακόλουθη αντικατάσταση βάσεων κάνει τον παράγοντα V πιο ανθεκτικό στην πρωτεολυτική αποδόμηση από την ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C. Ο παράγοντας V-Leiden, κληρονομείται με σωματικό επικρατή τύπο. Η συχνότητά του είναι 3–7% στο γενικό πληθυσμό στην Καυκάσια φυλή,^{4,7} μέχρι και 50% σε επιλεγμένες θρομβοφιλικές οικογένειες και 20% γενικά σε αρρώστους με φλεβική θρόμβωση.^{5,6,8} Ο σχετικός κίνδυνος φλεβικής θρόμβωσης στους ετεροζυγώτες είναι 5–7 φορές μεγαλύτερος από τι στο γενικό πληθυσμό, ενώ στους ομοζυγώτες εκτιμάται ότι είναι 80 φορές μεγαλύτερος.⁹ Ο θρομβωτικός κίνδυνος είναι υψηλός όταν υπάρχει προθρομβωτική κατάσταση όπως κύηση, παρατεταμένη ακινησία, χειρουργείο ή χρήση αντισυλληπτικών δισκίων.^{10,11}

Η σημειακή μετάλλαξη του παράγοντα FII 20210A στο γονίδιο της προθρομβίνης ανιχνεύθηκε το 1996 και συνδέθηκε με αυξημένα επίπεδα προθρομβίνης. Η συχνότητα της μετάλλαξης αυτής στο γενικό πληθυσμό είναι 2–3% και ο σχετικός κίνδυνος για φλεβική θρόμβωση είναι 2–3 φορές μεγαλύτερος.^{12,13}

Έχει γίνει πλέον αντιληπτό ότι κλινικά εμφανής θρόμβωση ίσως απαιτεί τη συνύπαρξη πολλαπλών γενετικών διαταραχών ή επίκτητων καταστάσεων.^{14,16} Σε διάφορες μελέτες ατόμων με έλλειψη πρωτεΐνης C ή ATIII, 15–26% των ασθενών αυτών βρέθηκαν να είναι φορείς και για τον παράγοντα V-Leiden.^{17–20} Η παρουσία πολλαπλών αιτιών θρομβοφιλίας αυξάνει τον κίνδυνο της θρόμβωσης και επομένως ο έλεγχος για αίτια θρομβοφιλίας πρέπει να είναι εκτεταμένος.

Στη μελέτη αυτή εξετάστηκαν 161 ασθενείς με ιστορικό θρόμβωσης (αρτηριακής ή φλεβικής), που παραπέμφθηκαν για εκτίμηση θρομβοφιλίας και στους οποίους έγινε εκτεταμένος εργαστηριακός έλεγχος την περίοδο από 1/1/1998 έως και 30/7/1999.

Στα άτομα αυτά δεν συμπεριλήφθηκαν γυναίκες οι οποίες είχαν παρουσιάσει αποβολή, ενδομήτριο θάνατο, αποκόλληση πλακούντα χωρίς όμως ιστορικό φλεβικής ή αρτηριακής θρόμβωσης. Επίσης, δεν συμπεριλήφθηκαν άτομα στα οποία δεν είχε ζητηθεί πλήρης έλεγχος θρομβοφιλίας (π.χ. οικογενειακός έλεγχος).

Η διάμεση ηλικία των ασθενών συνολικά ήταν 44 έτη (95% διάστημα εμπιστοσύνης, με εύρος 19–81 έτη).

Από τους 161 ασθενείς που μελετήθηκαν 75 ήταν άνδρες και 87 ήταν γυναίκες (σχέση ανδρών: γυναικών 0, 87).

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

Η συλλογή του δείγματος γινόταν σε σωληνάρια με κιτρικό ασβέστιο 0,105 M.

Η λήψη πλάσματος φτωχού σε αιμοπετάλια γινόταν μετά από φυγοκέντρηση στις 3.500 στροφές για 15 min.

Το δείγμα φυλασσόταν μέχρι να εξεταστεί, σε βαθιά κατάψυξη (–70 °C).

Για την ανίχνευση μετάλλαξης του παράγοντα V-Leiden, FII 20210A και MTHFR με PCR τεχνική και υβριδισμό, τα δείγματα συλλέχθηκαν σε σωληνάρια με EDTA.

Ο πλήρης έλεγχος θρομβοφιλίας (πίν. 1) περιλάμβανε: μέτρηση PT, aPTT, ινωδογόνου, διμερών του ινώδους (D-Di), προϊόντων αποδόμησης ινικής (FS), των αναστολέων της πήξης C, S και της αντιθρομβίνης III, του πλασμινογόνου, του παράγοντα XII, των αντιπηκτικών του λύκου (με εξετάσεις δια-

Πίνακας 1. Εργαστηριακές εξετάσεις και μέθοδοι για τον έλεγχο θρομβοφιλίας.

Εργαστηριακές εξετάσεις-Μέθοδοι	Αντιδραστήρια
Χρόνος προθρομβίνης (PT)	Thromborel-S (Behring)
Χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης (a-PTT)	Pathromtin SL (Behring)
Ινωδογόνο	Multifibren U (Behring)
Διμερή του ινώδους (μέθοδος κροκκώδωσης)	D-Dimer (Dade Behring)
Διαλυτά του ινώδους (μέθοδος αιμοσυγκόλλησης)	STAGO
Protein S (πηξιολογική μέθοδος)	STAGO
Protein C (χρωμογόνος μέθοδος)	STAGO
ATIII (χρωμογόνος μέθοδος)	STAGO
Plg (χρωμογόνος μέθοδος)	STAGO
FXII (πηξιολογική μέθοδος)	STAGO
Αντιπηκτικά λύκου (LLA) (Εξετάσεις διαλογής)	
APTT	STAGO
Drvvt	STAGO
KCT	Τεχνική εργαστηρίου
Αντιπηκτικά λύκου (LLA) (Επιβεβαιωτικές εξετάσεις)	
A PTT με εξαγωνικά φωσφολιπίδια (STACLOT LA)	STAGO
A PTT με εξουδετέρωση με φωσφολιπίδια εκλούσματος αιμοπεταλίων (STACLOT PNP)	STAGO
Αντισώματα έναντι καρδιολιπίνης IgG (ACA) (ELISA)	Sanofi-pasteur
Αντισώματα έναντι καρδιολιπίνης IgM (ACA) (ELISA)	Sanofi-pasteur
Αντίσταση στην ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C (APC-R)	Chromogenics
Παράγοντας FV-Leiden (μέθοδος PCR και υβριδισμός)	Vienna Lab
Παράγοντας FII20210A (μέθοδος PCR και υβριδισμός)	Vienna Lab
MTHFR (Μέθοδος γονιδιακής μετάλλαξης)	Vienna Lab

λογής και επιβεβαιωτικές), των αντισωμάτων έναντι καρδιολιπίνης ισοτύπου IgG και IgM και μέτρηση της APC-R με την κλασική και την τροποποιημένη μέθοδο.

Γονοτυπική ανάλυση για τον παράγοντα V-Leiden γινόταν μόνο σε δείγματα που παρουσίαζαν παθολογική τιμή στην κλασική APC-R, η οποία δεν διορθωνόταν στην τροποποιημένη μέθοδο. Επίσης, γινόταν γονοτυπική ανάλυση για τον παράγοντα FII 20210A και έγινε γονοτυπική ανάλυση για το αλληλίο MTHFR σε 30 άτομα.

Το είδος της θρόμβωσης για κάθε άρρωστο κρίθηκε από τις κλινικές πληροφορίες κατά τον χρόνο της εργαστηριακής εξέτασης και συσχετίστηκε με τα εργαστηριακά ευρήματα. Σύμφωνα με τα εργαστηριακά ευρήματα οι ασθενείς κατηγοριοποιήθηκαν σε 3 ομάδες :

α. Η ομάδα Α περιλάμβανε τα άτομα στα οποία ο εργαστηριακός έλεγχος κατέληξε σε σαφή διάγνωση θρομβοφιλίας με ένα ή περισσότερα αίτια (θετική διάγνωση). Θετική διάγνωση θεωρείτο η σαφής παθολογική εργαστηριακή τιμή, επιβεβαίωση της διαταραχής σε μέλη της οικογένειας, η επανάληψη της παθολογικής τιμής σε δύο διαδοχικές μετρήσεις σε αντιπηκτικά λύκου και σε αντισώματα έναντι καρδιολιπίνης.

β. Η ομάδα Β περιλάμβανε ασθενείς που είχαν μία ή περισσότερες παθολογικές εξετάσεις, αλλά αυτές δεν μπορούσαν να ερμηνευθούν με βεβαιότητα για οποιονδήποτε από τους ακόλουθους 4 λόγους:

- Μία μόνο παθολογική οριακή τιμή της πρωτεΐνης C, S, ATIII, που δεν είχε επιβεβαιωθεί με επανάληψη
- Αντιπηκτικά λύκου και αντισώματα έναντι καρδιολιπίνης, που δεν είχαν μετρηθεί δύο διαδοχικές φορές
- Ο άρρωστος έπαιρνε αντιπηκτική αγωγή όταν εξετάστηκε για πρωτεΐνη C, S
- Υπήρχε συγκεκριμένη κλινική κατάσταση κατά τον χρόνο της εργαστηριακής εξέτασης (όπως ηπατική δυσλειτουργία, οξεία φλεγμονή), στην οποία θα μπορούσαν να αποδοθούν τα παθολογικά αποτελέσματα.

Στις δύο τελευταίες περιπτώσεις δινόταν σύσταση για επανάληψη των εξετάσεων μετά την πάροδο της οξείας φάσης ή μετά τη διακοπή των αντιπηκτικών.

γ. Η ομάδα Γ περιλάμβανε άτομα που είχαν φυσιολογικό εργαστηριακό έλεγχο.

Στατιστική διερεύνηση

Οι ομάδες Α, Β, Γ εξετάστηκαν χρησιμοποιώντας την ανάλυση ποσοστών με τη μέθοδο του χ^2 . Τιμή του $P < 0,5$ θεωρήθηκε στατιστικά σημαντική.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Από τα 161 άτομα που εξετάστηκαν 59 (36,6%, ομάδα Α) θεωρήθηκαν ότι είχαν σαφή διάγνωση θρομβοφιλίας, 45 (28%, ομάδα Β) ότι είχαν ένα ή περισσότε-

ρα αποτελέσματα αμφιβόλως θετικά και 57 (35,4%, ομάδα Γ) ότι είχαν φυσιολογικό εργαστηριακό έλεγχο.

Όταν αναλύσαμε την ηλικία σύμφωνα με τα αποτελέσματα του εργαστηριακού ελέγχου (ομάδες Α, Β, Γ) δεν υπήρχε διαφορά από την τιμή της ηλικίας όλων των ασθενών (τα στοιχεία αυτά δεν φαίνονται σε πίνακα).

Ο πίνακας 2 δείχνει την αιτία διερεύνησης για όλα τα άτομα συνολικά και για την κάθε ομάδα ξεχωριστά. Οι ασθενείς διαχωρίστηκαν ανάλογα με το αν είχαν υποστεί αρτηριακή ή φλεβική θρόμβωση.

Το ποσοστό των φλεβικών και των αρτηριακών θρομβώσεων στο σύνολο των ασθενών ήταν 45,9% και 54%, αντίστοιχα.

Στην ομάδα Α, οι φλεβικές θρομβώσεις ήταν περισσότερες από τις αρτηριακές, ενώ στις ομάδες Β και Γ οι αρτηριακές θρομβώσεις υπερτερούσαν των φλεβικών. Η διαφορά αυτή ήταν στατιστικά σημαντική μόνο στην ομάδα Γ ($P < 0,05$).

Σαφής διάγνωση τέθηκε στο 45,9% από αυτούς με φλεβική θρόμβωση και στο 28,7% από αυτούς με αρτηριακή θρόμβωση ($P < 0,024$).

Ο πίνακας 3 δείχνει μια πιο λεπτομερή ανάλυση των επεισοδίων θρόμβωσης.

Όπως αναμενόταν οι πιο συχνές φλεβικές θρομβώσεις ήταν η εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση (47,2%), η πνευμονική εμβολή (17,5%) και ο συνδυασμός εν τω βάθει φλεβικής θρόμβωσης με πνευμονική εμβολή (14,8%).

Συνολικά, 8 ασθενείς (4 της ομάδας Α, 3 της Β και 1 της Γ) είχαν επιπολής θρομβοφλεβίτιδα.

Στις αρτηριακές θρομβώσεις τα αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια ήταν η πιο συχνή θρόμβωση (73,5%). Σαφής διάγνωση τέθηκε στο 28,1% αυτών των ασθενών (τα στοιχεία αυτά δεν φαίνονται σε πίνακα).

Η εικόνα 1 δείχνει τα κύρια αποτελέσματα του εργαστηριακού ελέγχου και τη συχνότερη διαταραχή σε κάθε ομάδα.

Από τους ασθενείς με σαφή διάγνωση το 78% είχε μία μόνο διαταραχή και το 22% είχε δύο βλάβες. Από τους ασθενείς της ομάδας Β, το 73% είχε ένα μόνο παθολογικό αλλά μη διαγνωστικό αποτέλεσμα και το 13% είχε δύο παθολογικά ή μη διαγνωστικά αποτελέσματα.

Πίνακας 2. Κλινική αιτία διερεύνησης.

Ομάδα	Αριθμός ασθενών	Φλεβική θρόμβωση	Αρτηριακή θρόμβωση
Α	59	34	25
Β	45	20	25
Γ	57	20	37
Σύνολο	161	74	87

Πίνακας 3. Ανάλυση των θρομβωτικών επεισοδίων ανά ομάδα εργαστηριακού ελέγχου.

Κλινική εκδήλωση	Σύνολο	Ομάδα		
		A	B	Γ
<i>Φλεβικές θρομβώσεις</i>				
En τω βάθει φλεβική θρόμβωση	35	18	8	9
πνευμονική εμβολή	13	6	2	5
En τω βάθει φλεβική θρόμβωση+ πνευμονική εμβολή	11	4	5	2
En τω βάθει φλεβική θρόμβωση+ πνευμονική εμβολή+ επιπολής φλεβική θρόμβωση	1	1	0	0
En τω βάθει φλεβική θρόμβωση+ επιπολής φλεβική θρόμβωση	3	1	1	1
En τω βάθει φλεβική θρόμβωση+ θρόμβωση κάτω κοίλης φλέβας	1	0	1	0
Θρόμβωση κάτω κοίλης φλέβας	1	0	1	0
Budd Chiari	1	0	0	1
Επιπολής φλεβική θρόμβωση	4	2	0	2
Θρόμβωση οφθαλμικής φλέβας	2	2	0	0
Θρόμβωση μεσεντερίου φλέβας	1	0	1	0
Θρόμβωση πυλαίας φλέβας	1	0	1	0
Υποσύνολο	74	34	20	20
<i>Αρτηριακές θρομβώσεις</i>				
Αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο	64	18	20	26
Αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο+ ισχαιμική καρδιοπάθεια	6	2	1	3
Ισχαιμική καρδιοπάθεια	5	2	1	2
Θρόμβωση μεσεντερίου A	3	1	2	0
Θρόμβωση οφθαλμικής αρτηρίας	6	1	1	4
Θρόμβωση περιφερικής αρτηρίας	2	0	0	2
Άλλη	1	1	0	0
Υποσύνολο	87	25	25	37

Οι ασθενείς της ομάδας αυτής έπρεπε να υποβληθούν εκ νέου σε εξετάσεις για να επιβεβαιωθεί ή να αποκλειστεί η ύπαρξη κάποιας διαταραχής.

Ο πίνακας 4 δείχνει τα εργαστηριακά αποτελέσματα στα άτομα με σαφή διάγνωση (ομάδα A). Μία διαταραχή είχε το 79,9% των ατόμων. Η πιο συχνή μεμονωμέ-

Πίνακας 4. Αποτελέσματα ελέγχου στην ομάδα A.

Βλάβη	Αριθμός ατόμων	Ποσοστό %
V-Leiden ετεροζυγώτης	19	32,3
V-Leiden ομοζυγώτης	3	5,1
F II 20210A	14	23,8
V-Leiden ετεροζυγώτης+ F II 20210A	6	10,2
V-Leiden ομοζυγώτης+ F II 20210A	1	1,7
V-Leiden ετεροζυγώτης+ PS	1	1,7
F II 20210A+ PrS	1	1,7
ACA	4	6,8
ACA+LLA	4	6,8
MTHFR ετεροζυγώτης	3	5,1
MTHFR ομοζυγώτης	2	3,4
Pr C	1	1,7

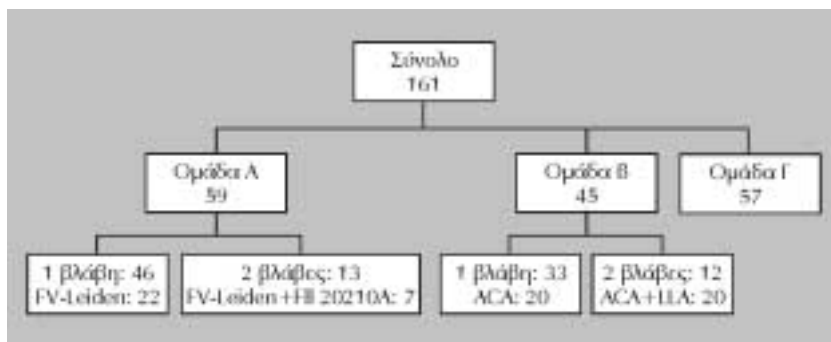
νη διαταραχή ήταν η μετάλλαξη του παράγοντα V-Leiden (22 άτομα, 37,4%). Από αυτά 3 άτομα ήταν ομοζυγώτες ως προς τη μετάλλαξη. Επιπρόσθετα 8 από τα άτομα με διπλό αίτιο θρομβοφιλίας είχαν και μετάλλαξη του παράγοντα V-Leiden, κάνοντας συνολικά τα άτομα με V-Leiden 30 (ποσοστό 50,8%).

Η δεύτερη πιο συχνή διαταραχή ήταν η μετάλλαξη του παράγοντα F II 20210A, ακολουθούμενη από τα αντισώματα έναντι καρδιολιπίνης. Αντιπηκτικά λύκου θετικά είχαν 4 ασθενείς ως συνδυασμένη διαταραχή με αντισώματα έναντι καρδιολιπίνης. Έλλειψη της πρωτεΐνης C είχε ένα άτομο, ενώ κανένα δεν είχε έλλειψη αντιθρομβίνης III ή πλασμινογόνου.

Μεταξύ των ατόμων με διπλή διαταραχή, ο πιο συχνός συνδυασμός ήταν η συνύπαρξη της μετάλλαξης του παράγοντα V-Leiden με τον παράγοντα F II 20210A (11,9%).

Κανένα άτομο δεν είχε τρεις βλάβες ταυτόχρονα.

Τα αποτελέσματα του εργαστηριακού ελέγχου στην ομάδα B των ασθενών (μη διαγνωστικά) φαίνονται στον πίνακα 5. Το 73,3% των ατόμων είχε μία διαταραχή, με

**Εικόνα 1.** Κύρια αποτελέσματα του εργαστηριακού ελέγχου θρομβοφιλίας ανάλογα με την ομάδα εργαστηριακού ελέγχου.

Πίνακας 5. Αποτελέσματα εργαστηριακού ελέγχου στην ομάδα Β.

Διαταραχή	Αριθμός ατόμων	Ποσοστό %
ACA	20	44,5
LLA	8	17,8
ACA+LLA	11	24,4
ACA+S	1	2,2
S	5	11,1

συχνότερα τα αντισώματα έναντι καρδιολιπίνης. Περίπου το 27% των ατόμων σε αυτή την ομάδα είχε διπλή διαταραχή. Ειδικότερα, έντεκα άτομα είχαν αντισώματα έναντι καρδιολιπίνης μαζί με αντιπηκτικά λύκου θετικά και ένα άτομο είχε αντισώματα έναντι καρδιολιπίνης μαζί με έκπτωση της πρωτεΐνης S.

Ο πίνακας 6 δείχνει τα αποτελέσματα του εργαστηριακού ελέγχου της ομάδας Α των ασθενών ανάλογα με το είδος της θρόμβωσης (αρτηριακό ή φλεβικό). Στα άτομα με φλεβική θρόμβωση ο παράγοντας V-Leiden (16/34, 47%) ήταν η συχνότερη αιτία. Στις αρτηριακές θρομβώσεις ήταν ο παράγοντας F II 20210A (7/25, 28%), με δεύτερο σε συχνότητα τον παράγοντα V-Leiden (6/25, 24%). Συνολικά οι δύο αυτοί παράγοντες ευθύνονταν για το 60% των βλαβών.

Για να καθοριστεί κατά πόσο η ταυτόχρονη λήψη αντιπηκτικής αγωγής (ηπαρίνη ή αντιπηκτικά από το στόμα) επηρέαζε τη δυνατότητα σαφούς διάγνωσης συσχέτιστηκε η λήψη αυτής με τις ομάδες εργαστηριακού ελέγχου Α, Β, Γ.

Η εικόνα 2 δείχνει την κατανομή των ασθενών υπό αντιπηκτική αγωγή στις τρεις ομάδες.

Στην ομάδα Β το ποσοστό των ατόμων που έπαιρναν αντιπηκτική αγωγή (12/57, 21%) ήταν σχεδόν ίσο με το ποσοστό των αντιστοίχων της ομάδας Α (13/59, 22%). Σαφής διάγνωση ήταν δυνατή στα 13 από τα 39 άτομα υπό

Πίνακας 6. Αποτελέσματα του εργαστηριακού ελέγχου της ομάδας Α των ασθενών ανάλογα με το είδος της θρόμβωσης (αρτηριακό ή φλεβικό).

Φλεβική θρόμβωση	Αριθμός ατόμων	Αρτηριακή θρόμβωση	Αριθμός ατόμων
<i>Αιτία θρομβοφιλίας</i>			
V-Leiden ετεροζυγώτης	13	ACA	1
V-Leiden ομοζυγώτης	3	ACA+LLA	3
F II 20210A	7	F II 20210A	7
V-Leiden ετεροζυγώτης+			
F II 20210A	4	F II 20210A+S	1
V-Leiden ομοζυγώτης+		V-Leiden	
F II 20210A	1	ετεροζυγώτης	6
ACA		V-Leiden	
		ετεροζυγώτης+	
		F II 20210A	2
ACA+LLA	1	MTHFR ετεροζυγώτης	3
C	1	MTHFR ομοζυγώτης	2

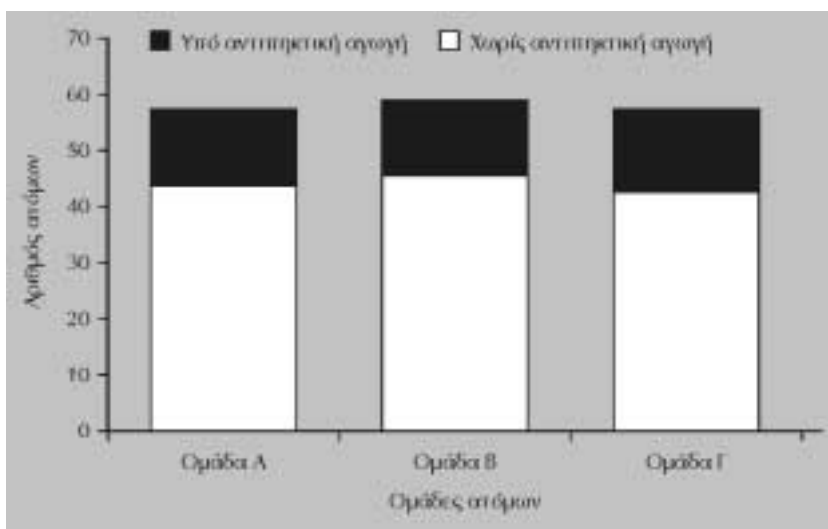
αντιπηκτική αγωγή (ποσοστό 33%). Επομένως, σε ένα σημαντικό ποσοστό των ατόμων υπό αντιπηκτική αγωγή ο εργαστηριακός έλεγχος καταλήγει σε σαφή διάγνωση.

Τα αποτελέσματα του εργαστηριακού ελέγχου με σαφή διάγνωση σε άτομα υπό αντιπηκτική αγωγή φαίνονται στον πίνακα 7.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ο σκοπός αυτής της μελέτης ήταν η ανάλυση των αποτελεσμάτων εκτεταμένου ελέγχου θρομβοφιλίας σε άτομα με ιστορικό θρόμβωσης στον ελληνικό πληθυσμό.

Η κληρονομική θρομβοφιλία αναφέρεται σε άτομα με ιστορικό θρόμβωσης σε ηλικία μικρότερη των 50 ετών και με ταυτόχρονη απουσία προδιαθεσικού παράγοντα.⁸ Πολλές μελέτες θρομβοφιλίας χρησιμοποιούν τη νεαρή ηλικία ως κριτήριο επιλογής των ατόμων.^{8,21}

**Εικόνα 2.** Κατανομή ασθενών υπό αντιπηκτική αγωγή στις 3 ομάδες εργαστηριακού ελέγχου.

Πίνακας 7. Αποτελέσματα του εργαστηριακού ελέγχου με σαφή διάγνωση σε άτομα υπό αντιπηκτική αγωγή.

Αίτιο	Αριθμός ατόμων
V-Leiden ετεροζυγώτης	5
V-Leiden ομοζυγώτης	2
V-Leiden ομοζυγώτης+	
F II 20210A	1
F II 20210A	4
ACA	1

Οι πρόσφατες όμως εξελίξεις στο μοριακό έλεγχο (V-Leiden, F II 20210A, MTHFR) επηρεάζουν την ηλικιακή επιλογή των ατόμων.^{5,15,22}

Στην παρούσα μελέτη δεν χρησιμοποιήθηκε ελάχιστο όριο ηλικίας. Η διάμεση ηλικία των ασθενών που εξετάστηκαν ήταν λίγο μεγαλύτερη από εκείνη που αναμενόταν. Επιπλέον δε η διάμεση ηλικία στην ομάδα Α δεν διέφερε από τη διάμεση ηλικία όλων συνολικά των ασθενών. Η εμπειρία δε δείχνει ότι η εξέταση ατόμων >50 ετών συχνά καταλήγει σε σαφή διάγνωση. Αυτό αντανακλά τα εξής πρόσφατα ευρήματα των μελετών θρομβοφιλίας:

- Η συχνότητα θρομβοεμβολικής νόσου σε άρρενες φορείς της μετάλλαξης του παράγοντα V-Leiden αυξάνει αυξανόμενης της ηλικίας (αυτή η διαφορά μεγιστοποιείται στους άνδρες >70 ετών).¹⁵
- Επίκτιτοι παράγοντες θρομβοφιλίας όπως αντιπηκτικά του λύκου και αντισώματα έναντι καρδιολιπίνης συχνά ανιχνεύονται σε ηλικιωμένα άτομα.^{23,24}
- Αρκετά άτομα έχουν ιστορικό υποτροπιάζουσας θρόμβωσης κατά τον εργαστηριακό έλεγχο. Έτσι, ένα άτομο στο πρώτο θρομβωτικό επεισόδιο θα είχε σαφώς μικρότερη ηλικία.
- Επειδή η εμφάνιση κλινικά σημαντικής θρόμβωσης απαιτεί την παρουσία πολλαπλών προδιαθεσικών παραγόντων, η αυξανόμενη επίπτωση της θρόμβωσης με την ηλικία, προφανώς, επηρεάζει και την κατανομή της ηλικίας στα άτομα με θρομβοφιλία.

Σε αυτή τη μελέτη στην ομάδα Α (σαφές αίτιο) κατατάχθηκαν 59 άτομα. Σε 26 άτομα βρέθηκε ένα αίτιο, ενώ δύο αίτια θρομβοφιλίας βρέθηκαν σε 13 άτομα.

Από τις μεμονωμένες διαταραχές η πιο συχνή ήταν η μετάλλαξη του παράγοντα V-Leiden (22 άτομα, εκ των οποίων οι τρεις ομοζυγώτες). Επίσης, από τα άτομα με διπλή διαταραχή 8 άτομα είχαν επίσης V-Leiden, με αποτέλεσμα 30 (50,8%) συνολικά άτομα να εμφανίζουν αυτή την διαταραχή. Αυτά τα ευρήματα συμφωνούν με τα βιβλιογραφικά δεδομένα ότι η μετάλλαξη του παρά-

γοντα V-Leiden, είναι η πιο συχνή διαταραχή στα άτομα με ιστορικό θρόμβωσης.

Πριν από το 1992, ο εργαστηριακός έλεγχος για θρομβοφιλία περιλάμβανε μόνο εξετάσεις για έλλειψη της πρωτεΐνης C, S και της ATIII. Αν είχαν γίνει μόνο αυτές οι εξετάσεις σαφή διάγνωση θα μπορούσαν να έχουν μόνο 2 ασθενείς (1,24%), σε σχέση με το (36,6%) των ασθενών που είχαν σαφή διάγνωση σε αυτή τη μελέτη.^{15-17,22,25}

Αυτά τα ευρήματα συμφωνούν με τα βιβλιογραφικά δεδομένα και καταδεικνύουν ευθέως την αναγκαιότητα ενός εκτεταμένου εργαστηριακού ελέγχου θρομβοφιλίας για την αναγνώριση των ατόμων εκείνων με πολλαπλά αίτια θρομβοφιλίας και επομένως και μεγαλύτερου κινδύνου θρόμβωσης.

Ο έλεγχος θρομβοφιλίας φαίνεται να προσφέρει σημαντικά στα άτομα εκείνα με φλεβικές θρομβώσεις, ενώ στα άτομα με αρτηριακή θρόμβωση δεν βοηθάει σημαντικά.²⁶ Πραγματικά, στην ομάδα των ατόμων με σαφή διάγνωση, τα άτομα με φλεβική θρόμβωση υπερέχουν σαφώς των ατόμων με αρτηριακή θρόμβωση (25 ή $P=0,024$). Όμως, σε αρκετές περιπτώσεις (28,7%) άτομα με αρτηριακή θρόμβωση έδιναν σαφή διάγνωση συμφωνώντας με τα πρόσφατα βιβλιογραφικά δεδομένα.^{27,30} Συνολικά, η μετάλλαξη του παράγοντα V-Leiden και του παράγοντα F II 20210A μεμονωμένα ή σε συνδυασμό (15/25 ή 60%) ήταν οι πιο συχνές διαγνώσεις στα άτομα με αρτηριακή θρόμβωση. Η αμέσως πιο συχνή διαταραχή ήταν η ομοζυγωτία ή ετεροζυγωτία ως προς το γονίδιο MTHFR.

Στην ομάδα Β με την ασαφή διάγνωση η πιο συχνή διαταραχή ήταν τα αντισώματα έναντι καρδιολιπίνης, είκοσι ως μεμονωμένη διαταραχή, έντεκα σε συνδυασμό με αντιπηκτικά λύκου και ένα σε συνδυασμό με έκπτωση πρωτεΐνης S (συνολικό ποσοστό 71,1%). Η δεύτερη πιο συχνή διαταραχή ήταν τα αντιπηκτικά λύκου (8 άτομα). Επίσης, 5 άτομα είχαν έλλειψη πρωτεΐνης S.

Ο λόγος για τον οποίο τα αντισώματα έναντι καρδιολιπίνης και τα αντιπηκτικά του λύκου εκπροσωπούνται, κυρίως στην ομάδα της ασαφούς διάγνωσης (ομάδα Β), είναι ότι για να θεωρηθούν αυτά υπεύθυνα για το θρομβωτικό επεισόδιο πρέπει να βρεθούν θετικά άλλη μία φορά 6-8 εβδομάδες μετά από την αρχική εξέταση. Από τους 48 συνολικά ασθενείς που βρέθηκαν θετικοί για αντισώματα έναντι καρδιολιπίνης ή και για αντιπηκτικά του λύκου, μόνο 8 επανεξετάστηκαν και βρέθηκαν θετικοί.

Όσον αφορά την έκπτωση της πρωτεΐνης S η σαφής διάγνωση είναι συχνά δυσχερής. Αυτό οφείλεται στη δυ-

σκολία ερμηνείας των αποτελεσμάτων επί συνύπαρξης καταστάσεων οξείας φλεγμονής ή λήψης αντιπηκτικής αγωγής.^{1,31}

Σε αυτή τη μελέτη η αντιπηκτική αγωγή κατά τον χρόνο διεξαγωγής του ελέγχου δεν απέκλειε τη δυνατότητα μιας σαφούς διάγνωσης. Όμως, οι αιτίες που καταδείχθηκαν ήταν εκείνες που δεν επηρεάζονταν από τη λήψη αντιπηκτικής αγωγής ή από την παρουσία οξείας αντιδραστικής κατάστασης, για παράδειγμα APC-R επιβεβαιωμένη με μελέτη γονιδιακής μετάλλαξης για τον παράγοντα V-Leiden, γονιδιακή μελέτη για τον παράγοντα F II 20210A και MTHFR και αντισώματα έναντι καρδιολιπίνης. Ίσως λοιπόν θα πρέπει να αναθεωρηθούν οι συστάσεις που αφορούν τη χρονική ένδειξη για εργαστηριακή εκτίμηση σε σχέση με τη λήψη αντιπηκτικών.³² Επιπρόσθετα, αν και τα επίπεδα των αναστολέων της πή-

ξης μπορεί να ελαττωθούν οξέως σε ένα θρομβωτικό επεισόδιο, αν βρεθούν φυσιολογικά επίπεδα είναι χρήσιμα για τον αποκλεισμό τους ως θρομβογόνα αίτια. Αν πάλι τα αποτελέσματα είναι ασαφή, μόνο οι εξετάσεις που δεν είναι φυσιολογικές πρέπει να επαναληφθούν σε μεταγενέστερο χρόνο (για παράδειγμα μετά τη διακοπή των αντιπηκτικών ή μετά την πάροδο του οξέως επεισοδίου).

Συμπερασματικά, η μελέτη αυτή καταδεικνύει την αναγκαιότητα ενός «ολοκληρωμένου» εργαστηριακού ελέγχου θρομβοφιλίας. Ο μοριακός έλεγχος έχει συμβάλει σημαντικά στη σαφή διάγνωση αιτίων θρομβοφιλίας σε άτομα με ιστορικό θρόμβωσης. Η σαφής διάγνωση είναι πιο πιθανή σε ασθενείς με φλεβική παρά με αρτηριακή θρόμβωση. Η εργαστηριακή εκτίμηση ατόμων ηλικίας άνω των 50 ετών ή ατόμων υπό αντιπηκτική αγωγή είναι δόκιμη.

ABSTRACT

Results of diagnostic studies for thrombophilia in a group of patients with a medical history of arterial or venous thrombosis

A. GAFΟΥ, G. THEODOSIADIS, E. DIGENOPOULOU, N. VGONTZA, S. SKLAVΟΥ, V. TSEVRENIS, M. BELLIA, E. NOMIKΟΥ, E. KONTOPOULOU-GRIVA

1st Regional Transfusion and Haemophilia Centre, Hippokration Hospital, Athens, Greece

Archives of Hellenic Medicine 2000, 17(Supplement A):102–109

OBJECTIVE The aim of the current study was to study the results of the diagnostic tests for thrombophilia in patients with a medical history of arterial or venous thrombosis. **METHOD** We retrospectively reviewed the outcomes of laboratory evaluation of 161 patients (median age 44 years) with thrombosis, in the period 1/1/98–31/7/99. Eighty seven of these patients had arterial (54%) and 74 had venous thrombosis (46%). The commonest cause of arterial thrombosis was stroke (80.4%) and of venous thrombosis was deep venous thrombosis (68.9%). The performed tests were PT, a-PTT, Fib, D-Di, FS, Prot C, S, ATIII, Plg, FXII, LLA, ACA, APC-resistance and genotypic analysis for FV-Leiden and FII 20210A. Also, in 30 patients with arterial thrombosis genotypic analysis for MTHFR C677T gene was done. **RESULTS** A predisposing factor was present (positive diagnosis, group A) in 59 patients (36.6%). The test results of 45 patients (28%) could not be definitely interpreted (equivocal results, group B) and the results of 57 patients (35.4%) were normal (group C). The median age of the patients in group A was 44 years and it did not differ statistically from the median age of the patients in other groups. In group A, 79.9% of the patients had one defect. The most common defects were FV-Leiden (37.3%) and FII 20210A (23.8%). Twenty two percent of the patients of group A had two defects and the most common defect was FV-Leiden+ FII 20210A (11.9%). In group B, 73.3% of the patients had one defect and the most common cause was ACA (44.4%), while 26.7% of the patients had two defects and the most common cause was ACA+LLA (24.4%). Patients with arterial events were less likely to have a definable laboratory defect (25 or 28.7%) the main cause being FII 20210A (28%), than those with venous events (34 or 45.9%, $P < 0.05$) main cause being FV-Leiden (47%). In 21.5% of patients on anticoagulants (39/161) a positive diagnosis was made while the results were inconclusive in 22.3% ($P > 0.005$). **CONCLUSIONS** The molecular study of FV-Leiden and FII 20210G→A essentially contributes to a definite diagnosis of thrombophilia. Patients with venous events are more likely to have a definable defect. Extended laboratory evaluation of patients over the age of 50 and those on anticoagulants is worthwhile.

Key words: Arterial thrombosis, Thrombophilia, Venous thrombosis

Βιβλιογραφία

1. DESTAFANO V, FINAZZI G, MANNUCCI PM. Inherited thrombophilia: pathogenesis, clinical syndromes, and management. *Blood* 1996, 87:3531–3544
2. NACHMAN RL, SILVERSTEIN R. Hypercoagulable states (review). *Ann Intern Med* 1993, 119:819–827
3. KALAFATIS M, BERTINA RM, RAND MD ET AL. Characterization of the molecular defect in factor VR506Q. *J Biol Chem* 1995, 270:4053–4057
4. DAHLBACK B. Inherited thrombophilia: resistance to activated protein C as a pathogenic factor of venous thromboembolism. *Blood* 1995, 85:607–614
5. SVENSSON PJ, DAHLBACK B. Resistance to activated protein C as a basis for venous thrombosis. *Engl J Med* 1994, 330:517–522
6. KOSTER T, ROSENDAAL FR, DE RONDE H ET AL. Venous thrombosis due to poor anticoagulation response to activated protein C. Thrombophilia study. *Lancet* 1993, 342:1503–1506
7. REES DC, COX M, CLEGG JB. Word distribution of factor V-Leiden. *Lancet* 1995, 346:1133–1134
8. GRIFFIN JH, EVATT B, WIDEMAN G ET AL. Anticoagulation protein C pathway defective in majority of thrombophilia patients. *Blood* 1993, 82:1989–1993
9. DAHLBACK B. New molecular insights into the genetics of thrombophilia. Resistance to activated protein C caused by Arg506 to Gln mutation in factor V as a pathogenic risk factor for venous thrombosis. *Thromb Haemost* 1995, 74:139–148
10. ROSENDAAL FR, KOSTER T, VANDENBROUKE JP ET AL. High risk of thrombosis in patients homogygous for factor V-Leiden (activated protein C resistance). *Blood* 1995, 85:1504–1508
11. VANDENBROUKE JP, KOSTER T, BRIET E ET AL. Increased risk of venous thrombosis in oral-contraceptives users who are carriers of factor V Leiden mutation. *Lancet* 1994, 344:1453–1457
12. POORT SR, ROSENDAAL FR, REITSMA PH, BERTINA RM. A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood* 1996, 88:3698–3703
13. ROSENDAAL FR, DOGGEN CJM, ZIVELIN A, ARRUDE VR, AIACH M, SISCOVICK DS ET AL. Geographic distribution of the 20210G to A prothrombin variant. *Thromb Haemost* 1998, 79:700
14. HILLARP A, ZOLLER B, DAHLBACK B. Activated protein C resistance as a basis for venous thrombosis. *Am J Med* 1996, 101:534–540
15. RIDKER PM, GLYNN RJ, MILETICH JP ET AL. Age specific incidence rates of venous thromboembolism among heterozygous carriers of V Leiden mutation. *Ann Intern Med* 1997, 126:528–531
16. LANE DA, MANNUCCI PM, BAUER KA ET AL. Inherited thrombophilia: Part 1. *Thromb Haemost* 1996, 76:651–662
17. KOELEMAN BCP, RETISMA PH, ALLAART CF ET AL. Activated protein C resistance as an additional factor for thrombosis in protein C-deficient families. *Blood* 1994, 84:1031–1035
18. KOELMAN BPC, VAN RUMPF D, HAMULYAK K ET AL. Factor V Leiden. An additional risk factor for thrombosis in protein S deficient families? *Thromb Haemost* 1995, 74:580–583
19. GANDRILLE S, GREENGARD JS, ALHENC-GELAS M ET AL. Incidence of activated protein C resistance caused by the ARG 506 GLN mutation factor V in 113 unrelated symptomatic protein C-deficient patients. *Blood* 1995, 85:219–224
20. ZOLLER B, BERNTSDOTTER A, DE FRUTOS PG ET AL. Resistance to activated protein C as an additional genetic risk factor in hereditary deficiency of protein S. 1995, 86:3518–3523
21. FERMO I, VIGANO' D'ANGELO SV, PARONI R ET AL. Prevalence of moderate hyperhomocysteinemia in patients with early-onset venous and arterial occlusive disease. *Ann Intern Med* 1993, 126:747–753
22. DEN HEIJER M, KOSTER T, BLOM H ET AL. Hyperhomocysteinemia as a risk factor for deep-vein thrombosis. *New Engl J Med* 1996, 334:763–768
23. GINSBERG JS, WELLS PS, BRILL-EDWARDS P ET AL. Antiphospholipid antibodies and venous thromboembolism. *Blood* 1995, 86:3685–3691
24. GINSBURG K, LIANG MH, NEWCOMER L ET AL. Anticardiolipin antibodies and the risk for ischemic stroke and venous thrombosis. *Ann Intern Med* 1992, 117:997–1002
25. DEN HEIJER M, KOSTER T, BLOM H ET AL. Hyperhomocysteinemia as a risk factor for deep-vein thrombosis. *N Engl J Med* 1996, 334:759–762
26. THOMAS DP, ROBERTS HR. Hypercoagulability in venous and arterial thrombosis. *Ann Intern Med* 1997, 126:638–644
27. ROSENDAAL FR, SISCOVICK DS, SCHWARTZ SM ET AL. Factor V Leiden (Resistance to activated protein C) increases the risk of myocardial infarction in young woman. *Blood* 1997, 89:2817–2821
28. HILLE ETM, WESTENDROP RGJ, VANDENBROUKE JP ET AL. Mortality and causes of death in families with the factor V Leiden (Resistance to activated protein C). *Blood* 1997, 89:1963–1967
29. KONTULA K, YLIKOORKALA A, MIETTINEN H ET AL. ARG506Gln Factor V (factor V-Leiden) in patients with ischaemic cerebrovascular disease and survivors of myocardial infarction. *Thromb Haemost* 1995, 73:558–560
30. MARZ W, SEYDEWITZ H, WINKELMANN B ET AL. Mutation in coagulation factor V associated with resistance to activated protein C in patients with coronary artery disease. *Lancet* 1995, 345:526–527
31. SIMMONDS RE, IRELAND H, KUNZ G ET AL. Identification of 19 protein S gene mutations in patients with phenotypic protein S deficiency and thrombosis. *Blood* 1996, 88:4195–4204
32. LANE DA, MANNUCCI PM, BAUER KA ET AL. Inherited thrombophilia: Part 2 (review). *Thromb Haemost* 1996, 76:824–834

Corresponding author:

A. Gafou, 1st Regional transfusion and Haemophilia Centre, Hippokration Hospital, Athens, Greece
e-mail: blood@hellainet.gr