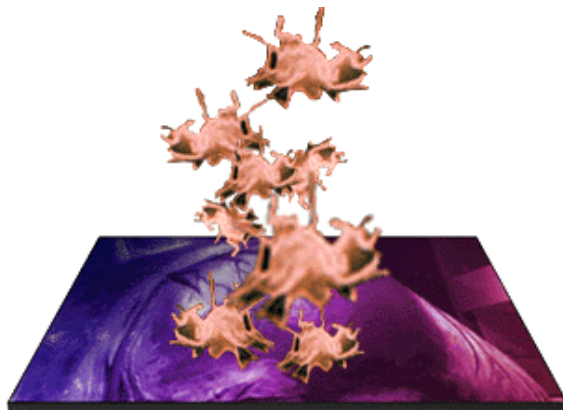


## ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ

Διδακτορικής Διατριβής του ιατρού Μιχάλη Γκιώνη



**ΤΙΤΛΟΣ: ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΠΗΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ  
ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΥΨΗΛΟΥ ΚΙΝΔΥΝΟΥ  
ΓΙΑ ΘΡΟΜΒΟΕΜΒΟΛΙΚΗ ΝΟΣΟ  
ΠΟΥ ΛΑΜΒΑΝΟΥΝ ΠΡΟΦΥΛΑΞΗ ΜΕ ΗΠΑΡΙΝΗ  
ΧΑΜΗΛΟΥ ΜΟΡΙΑΚΟΥ ΒΑΡΟΥΣ**

**Επιβλέπων**

Χρήστος Ιωάννου  
Επίκουρος Καθηγητής Αγγειοχειρουργικής  
Τμήμα Ιατρικής Πανεπιστημίου Κρήτης

**Συνεπιβλέποντες**

Αστέριος Κατσαμούρης  
Καθηγητής Αγγειοχειρουργικής  
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Ελένη Παπαδάκη  
Καθηγήτρια Αιματολογίας  
Τμήμα Ιατρικής Πανεπιστημίου Κρήτης

*Στη μνήμη του πατέρα μου Νικόλαου.*

*Στην μνήμη του Καθηγητή Αστέριου Κατσαμούρη.*

*Στην μητέρα μου Νικολέτα και στην κόρη μου Νικολέτα*

*Ευχαριστώ θερμά τον δάσκαλο και φίλο Καθηγητή Αγγειοχειρουργικής κ. Χρήστο Ιωάννου, χωρίς την πολυτιμότερη βοήθεια του οποίου η προσπάθεια αυτή δεν θα είχε ολοκληρωθεί, καθώς και για τα όσα μου έμαθε και συνεχίζει να μου μαθαίνει.*

*Ευχαριστώ θερμά τον δάσκαλο και φίλο Αγγειοχειρουργό κ. Κώστα Θεόδωρο για όσα μου έμαθε.*

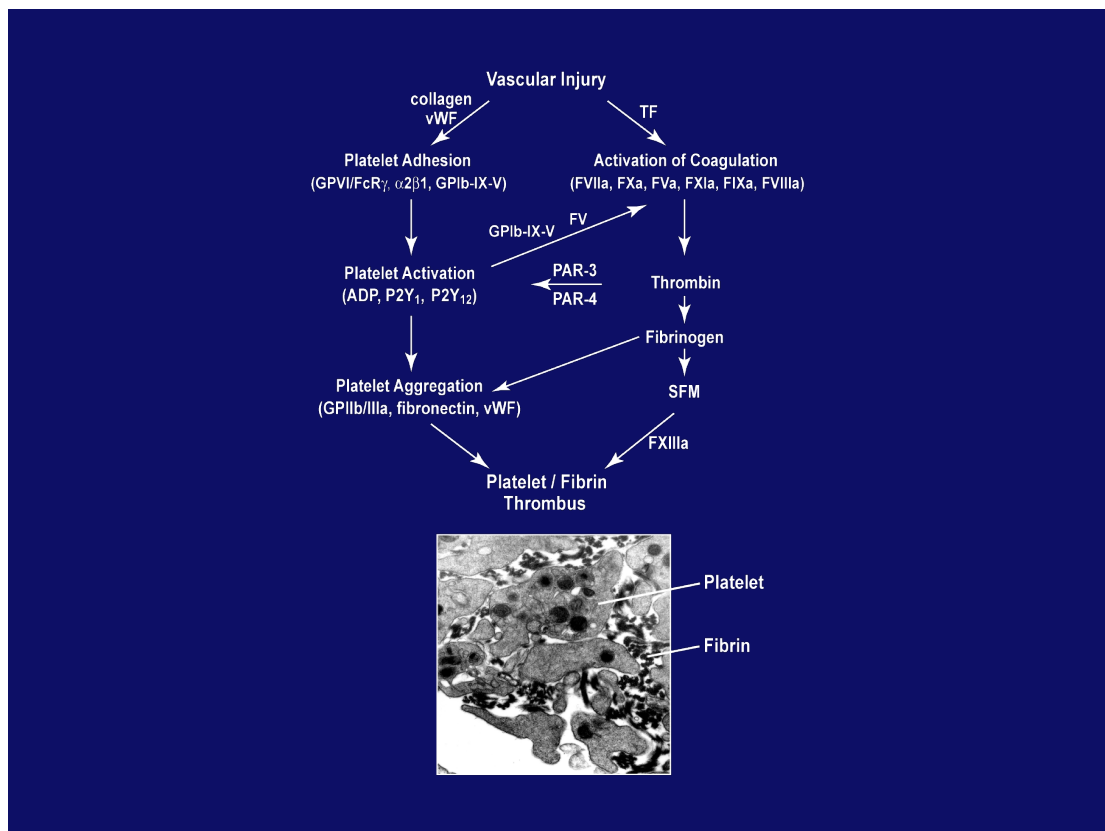
*Ευχαριστώ θερμά τον εμπνευστή του πρωτοκόλλου, Καθηγητή Αιματολογίας κ. Γρηγόρη Γεροτζιαφα για την βοήθεια και τις γνώσεις που μου προσέφερε.*

*Ευχαριστώ ολόψυχα την μητέρα μου Νικολέτα για την στήριξη που μου παρέχει και για την πίστη της σ' εμένα.*

ΕΙΣΑΓΩΓΗ: ΠΗΞΗ, ΓΕΝΙΚΗ ΣΚΙΑΓΡΑΦΗΣΗ ΤΟΥ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥ ΤΗΣ ΘΡΟΜΒΩΣΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ ΤΗΣ	2
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ	18
ΥΠΑΡΧΟΥΣΑ ΓΝΩΣΗ – ΕΡΩΤΗΜΑΤΑ ΣΤΟΥΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΥΨΗΛΟΥ ΚΙΝΔΥΝΟΥ	19
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ	25
ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	30
ΜΕΘΟΔΟΣ	30
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ ΜΕΘΟΔΟΥ	40
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ 1ου ΕΙΔΙΚΟΥ ΜΕΡΟΥΣ	41
ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ 1ου ΕΙΔΙΚΟΥ ΜΕΡΟΥΣ	48
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ 1ου ΕΙΔΙΚΟΥ ΜΕΡΟΥΣ	53
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ 1ου ΕΙΔΙΚΟΥ ΜΕΡΟΥΣ	57
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ 2ου ΕΙΔΙΚΟΥ ΜΕΡΟΥΣ	58
ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ 2ου ΕΙΔΙΚΟΥ ΜΕΡΟΥΣ	63
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ 2ου ΕΙΔΙΚΟΥ ΜΕΡΟΥΣ	71
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ 2ου ΕΙΔΙΚΟΥ ΜΕΡΟΥΣ	74
THESIS ABSTRACT	75
ΠΑΡΑΘΕΣΗ ΑΡΘΡΟΥ ΑΝΑΦΟΡΙΚΑ ΜΕ ΤΟ ΠΡΩΤΟ ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ, ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΟ ΣΤΟ ΠΕΡΙΟΔΙΚΟ “Thrombosis Research” τ. 132/12ος 2013	78

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ: ΠΗΞΗ, ΓΕΝΙΚΗ ΣΚΙΑΓΡΑΦΗ ΤΟΥ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥ ΤΗΣ ΘΡΟΜΒΩΣΗ ΚΑΙ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΗΣ

Ως **ΠΗΞΗ** ορίζεται το φαινόμενο μετάπτωσης του αίματος από την ρευστή κατάσταση στην ημίρρευστη. Το φαινόμενο προκαλείται από την ενεργοποίηση ενός πολύπλοκου μηχανισμού που αναπτύχθηκε κατά την μακρά φυλογενετική εξέλιξη της ανθρώπινης ζωής με σκοπό την προφύλαξη του οργανισμού από μεγάλες και συχνά θανατηφόρες αιμορραγίες.



*Μηχανισμός δημιουργίας του θρόμβου*

Από φυσικοχημική άποψη, πήξη του αίματος είναι η μετατροπή μιας διαλυτής πρωτεΐνης του πλάσματος, του ινωδογόνου, σε αδιάλυτο ινώδες, τα μόρια του οποίου πολυμερίζονται και δίνουν γένεση στον σχηματισμό ενός τρισδιάστατο πλέγματος, του πλέγματος της ινικής, στις βρογχίδες του οποίου εγκλωβίζονται τα έμμορφα συστατικά του αίματος. Το πλέγμα της ινικής με τα εγκλωβισμένα σε αυτό στοιχεία του αίματος αποτελεί το πήγμα.

Στον μηχανισμό της πήξης υπεισέρχονται πλασματικοί παράγοντες, ο λεγόμενος ιστικός παράγοντας, φωσφορολιπίδια, τα αιμοπετάλια, ο παράγοντας Von – Willebrand, οι φυσιολογικοί αναστολείς της πήξης, το σύστημα της καλλικρεΐνης και το μεγάλο μοριακού βάρους κινινογόνο.

Οι πλασματικοί παράγοντες (plasma Coagulation factors) είναι πρωτεΐνες, με μοναδική εξαίρεση τον παράγοντα V που είναι ιόντα ασβεστίου.

Παράγοντας Όνομα	Αριθμός	Επίπεδα στο πλάσμα (mg/100ml)	T1/2 στο πλάσμα (ώρες)	Μοριακ ό βάρος (kD)	Αριθμός αμινοξέ ων	Γονίδιο (kbp)	Χρωμ ό- σωμα
Ινωδογόνο	I	200-400	90	340	3026	50	4
Προθρομβίνη	II	12	65	72	579	21	11
Ιστικός	III	0	-	300	263	?	1
Ασβέστιο	IV	10	-	40	-	-	-
Προαξελερίνη	V	1	15	330	2224	?	?
Αξελερίνη	VI	-	-	-	-	-	-
Προκονβερτίνη	VII	0.1	5	48	406	12.8	13
Αντι-αιμορροφιλ.	VIII	0.005	10	360	2332	190	X
Christmas	IX	0.4	25	57	415	35	X
Stuart-Prower	X	1.2	40	55	445	25	13
PTA (\$) )	XI	0.6	45	160	1214	23	?
Hageman	XII	4	50	85	536	13.5	6
FSF (#)	XIII	4-8	200	320	2680	90	6

(\$ ) Plasma thromboplastin antecedent

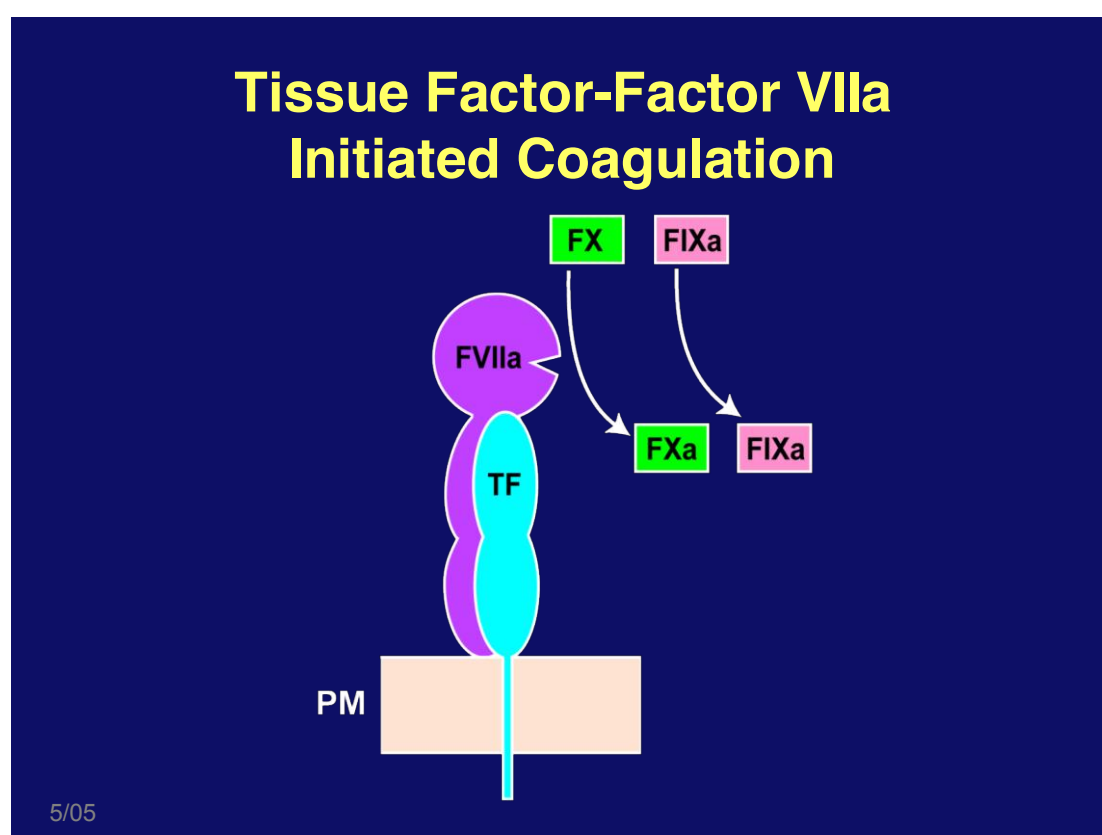
(# ) Fibrin-stabilizing factor

#### *Χαρακτηριστικά των πλασματικών παραγόντων της πήξης*

Παράγοντας VI δεν υπάρχει με την έννοια του αυτοτελούς πρωτεϊνικού μορίου. Ως τέτοιος φέρεται η ενεργοποιημένη μορφή του παράγοντα V. Ο παράγοντας III δεν είναι γνήσιος πλασματικός παράγοντας, αλλά παράγοντας των ιστών που απελευθερώνεται στην κυκλοφορία σε περίπτωση κυτταρικής και γενικότερα ιστικής βλάβης. Πρόκειται για μια μεμβρανώδη κυτταρική γλυκοπρωτεΐνη, προσκολλημένη πάνω σε φωσφορολιπίδιο μέσω ιόντων ασβεστίου. Όλοι οι γνήσιοι πλασματικοί παράγοντες κυκλοφορούν στο αίμα ως λειτουργικά ανενεργά μόρια και μετατρέπονται σε δραστικά ένζυμα ή συμπεριφέρονται ως συμπαραγόντες με την ενεργοποίησή τους.

Η σύνθεση των πλασματικών παραγόντων γίνεται στα ηπατικά κύτταρα με την εξαίρεση του παράγοντα VIII που συντίθεται από άλλα κύτταρα στα ηπατικά κολποειδή και άλλες περιοχές του σώματος. Επιπλέον, η σύνθεση βιολογικά δραστικά παραγόντων II, VIII, IX και X, όπως και η σύνθεση των ανασταλτικών πρωτεϊνών C και S, εξαρτάται από την παρουσία της βιταμίνης K.

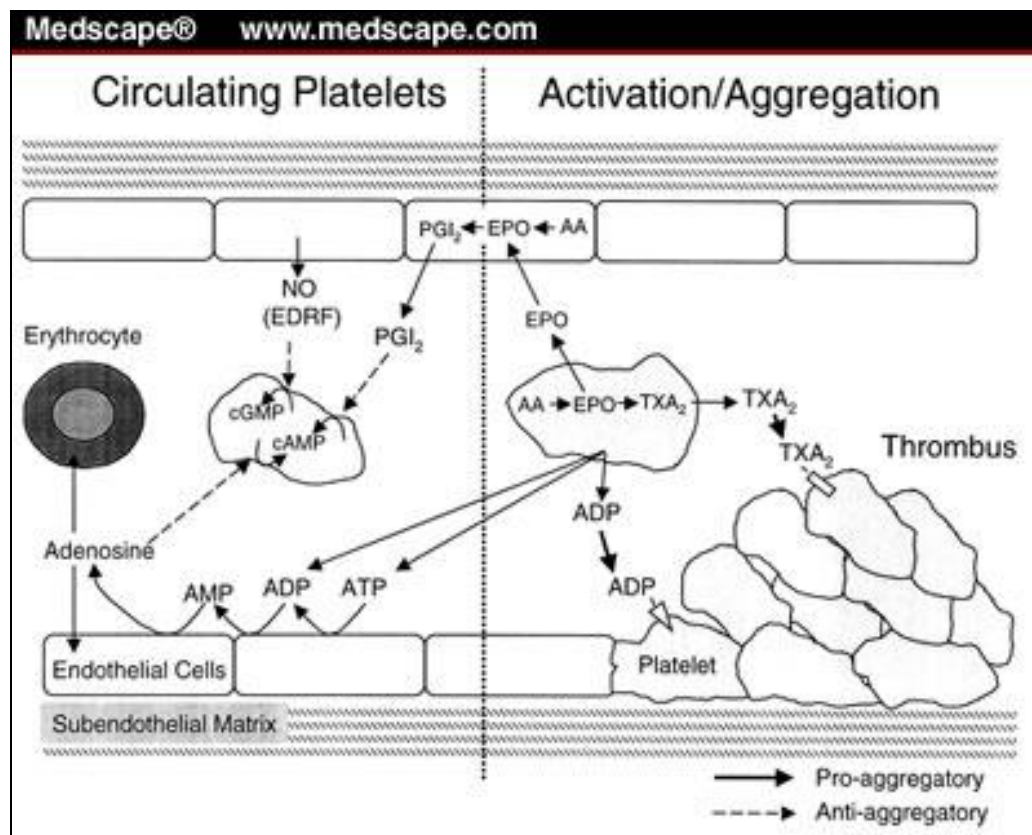
Τα φωσφορολιπίδια συμμετέχουν στην πήξη με τον σχηματισμό μυκηλίων, στην επιφάνεια των οποίων προσκολλώνται οι πλασματικοί παράγοντες. Τονίζεται ιδιαίτερα ότι όλες οι ενζυμικές αντιδράσεις που οδηγούν στην ενεργοποίηση του πηκτικού μηχανισμού, γίνονται πάνω σε φωσφορολιπίδια.



*Έναρξη του πηκτικού μηχανισμού με τη συμβολή του ιστικού παράγοντα και του παράγοντα VIIa*

Τα αιμοπετάλια συμμετέχουν στον μηχανισμό της πήξης αφ' ενός μεν με την έκκριση αιμοπεταλιακών παραγόντων και αφ' ετέρου με την μεταφορά πλασματικών παραγόντων της πήξης. Συγκεκριμένα: α) με την συσσώρευσή τους (platelet aggregation) ελευθερώνουν τον αιμοπεταλιακό παράγοντα 3 (PF<sub>3</sub>), ενός φωσφορολιπιδίου που συγκρατεί, παρουσία ιόντων ασβεστίου, τους παράγοντες II και X και προσφέρεται ως επιφάνεια για την ενεργοποίηση του X από τον

ενεργοποιημένο παράγοντα VII και την μετατροπή του II σε θρομβίνη από τον ενεργοποιημένο παράγοντα X.



Δημιουργία αιμοπεταλιακού θρόμβου

β) με την αντίδραση έκκρισης (release reaction) ελευθερώνουν ινωδογόνο παράγοντα V και παράγοντα Von - Willebrand που περιέχονται στα α-κοκκία τους. Με την αντίδραση έκκρισης ελευθερώνεται επίσης ο αιμοπεταλιακός παράγοντας 4 (PF<sub>4</sub>) που είναι μια πρωτεΐνη με αντι-ηπαρική δράση, γ) προσφέρουν πλασματικούς παράγοντες της πήξης που έχουν προσροφηθεί πάνω στην επιφάνειά τους και αποτελούν μέρος της περι-αιμοπεταλικής ατμόσφαιρας, δ) παρουσία ADP και καλκικρεΐνης ενεργοποιούν τον παράγοντα XII, ενώ παρουσία ADP και κολλαγόνου ενεργοποιούν τον παράγοντα XI, παρακάμπτοντας τον παράγοντα XII.

Ο παράγοντας Von - Willebrand (vWF) είναι μια γλυκοπρωτεΐνη που παράγεται κυρίως από τα μεγακαρυοκύτταρα και τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Βρίσκεται στο πλάσμα, στα α-κοκκία των αιμοπεταλίων και στα σωμάτια Weibel-Palade των ενδοθηλιακών κυττάρων. Ερέθισμα για την απελευθέρωσή του από τα αιμοπετάλια και το ενδοθήλιο αποτελούν η θρομβίνη, η ιντερλευκίνη -1, η αδρεναλίνη, η μυϊκή

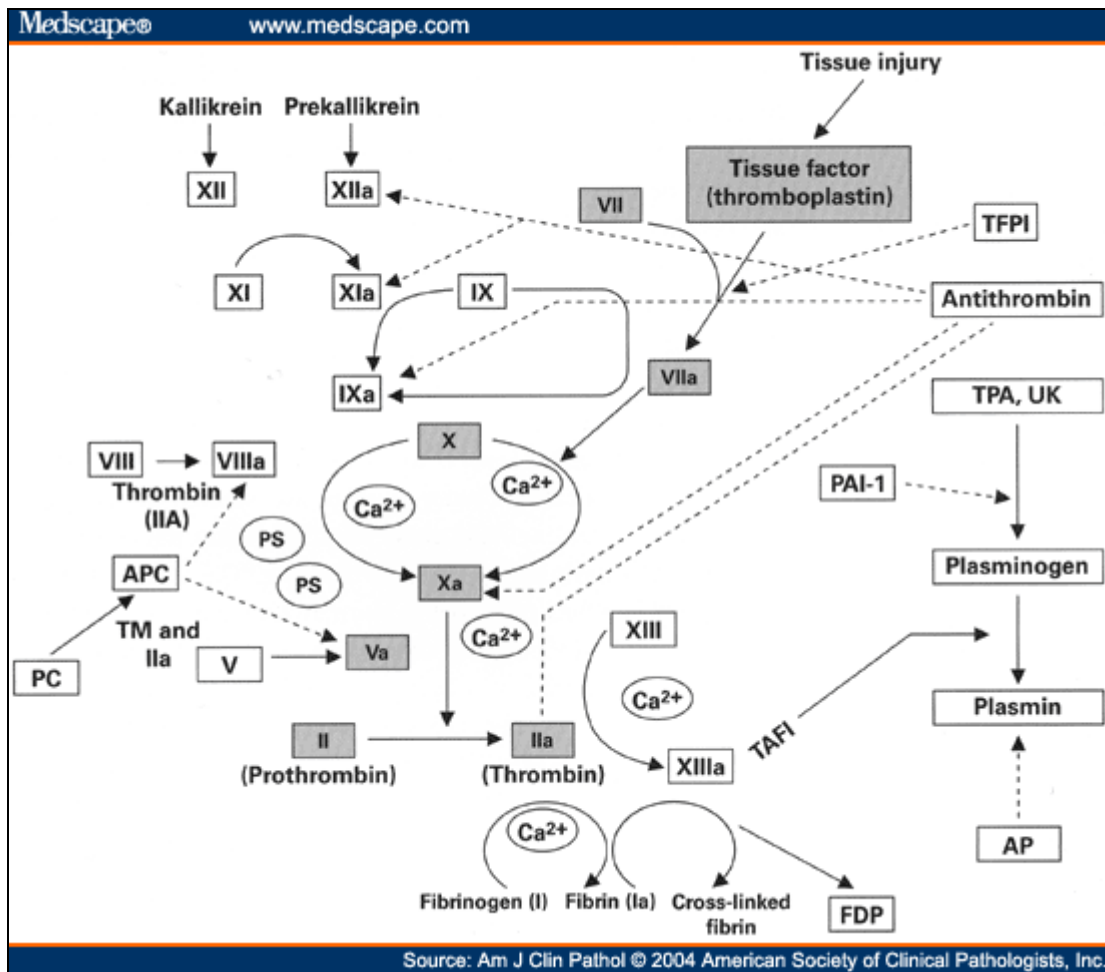


άσκηση και η ινσουλίνη. Επιτελεί δύο σημαντικές λειτουργίες: 1) υπεισέρχεται και είναι απαραίτητος για την προσκόλληση των αιμοπεταλίων στα υποενδοθηλιακά μικροϊνίδια που αποκαλύπτονται σε περίπτωση βλάβης του αγγειακού ενδοθηλίου. Κύριος υποδοχέας του εν προκειμένω είναι μια γλυκοπρωτεΐνη που βρίσκεται στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων, η GPIb, 2) μεταφέρει και κρατά σε σταθερή στερεοχημική διαμόρφωση τον παράγοντα VIII.

Οι φυσιολογικοί αναστολείς της πήξης διακρίνονται σε: 1) Αναστολείς των σερίνη-εστερασών. Αυτοί είναι: α) η αντιθρομβίνη III, η οποία αναστέλλει την δράση όλων των σερίνη-εστερασών του πήκτικου μηχανισμού, κυρίως όμως την δράση της θρομβίνης και του παράγοντα Xa (η ηπαρίνη και τα μόρια με ηπαρινοειδή δράση που παράγονται από το αγγειακό ενδοθήλιο ενισχύουν την δράση της AT III επί της θρομβίνης), β) ο συμπαράγοντας II της ηπαρίνης που αποτελεί αναστολέα της θρομβίνης με την οποία σχηματίζει σύμπλεγμα (η δράση του ενισχύεται παρουσία ηπαρίνης), γ) ο αναστολέας της C1-εστεράσης που αναστέλλει τους παράγοντες XIa, Xa και πλασμίνη, ε) η α1-αντιθρυψίνη που αναστέλλει κυρίως την πλασμίνη, την καλλικρεΐνη και τους παράγοντες XIIa και XIa, στ) η α2-μακροσφαιρίνη που αναστέλλει κυρίως την καλλικρεΐνη και την θρομβίνη, και 2) Αναστολείς των επιταχυντών (η δράση τους συνίσταται στην αδρανοποίηση των παραγόντων Va και VIIIa) οι οποίοι είναι: α) η πρωτεΐνη C (πρόκειται για μία γλυκοπρωτεΐνη που συντίθεται στο ήπαρ παρουσία της βιταμίνης K και η οποία ενεργοποιείται από την θρομβίνη με βραδύ ρυθμό που όμως επιταχύνεται κατά μερικές χιλιάδες φορές παρουσία της θρομβομοντουλίνης (πρόκειται για γλυκοπρωτεΐνη που παράγεται από το αγγειακό ενδοθήλιο, σχηματίζει σύμπλεγμα με την θρομβίνη επί του αγγειακού ενδοθηλίου και παρουσία ιόντων ασβεστίου ενισχύει την ενεργοποίηση της πρωτεΐνης C από την θρομβίνη), β) η πρωτεΐνη S (γλυκοπρωτεΐνη που συντίθεται στο ήπαρ παρουσία βιταμίνης K και σε μικρότερο βαθμό στα ενδοθηλιακά κύτταρα και η οποία ενισχύει την δραστηριότητα της πρωτεΐνης C, ενώ η ίδια δεν έχει αντιπηκτικές ιδιότητες).

Τέλος, το σύστημα της καλλικρεΐνης και του μεγάλου μοριακού βάρους κινινογόνο, αποτελούν μέρος του συστήματος επαφής που αποσκοπεί τελικά στην ενεργοποίηση του παράγοντα XI, ο οποίος με την σειρά του ενεργοποιεί τον παράγοντα IX και κατ' ακολουθίαν το ενδογενές καταλυτικό σύστημα. Τόσο η καλλικρεΐνη όσο και το μεγάλο μοριακού βάρους κινινογόνο έχουν ως δράση την

ενεργοποίηση, όπως και την επιτάχυνση της ενεργοποίησης αυτής, του παράγοντα XII.



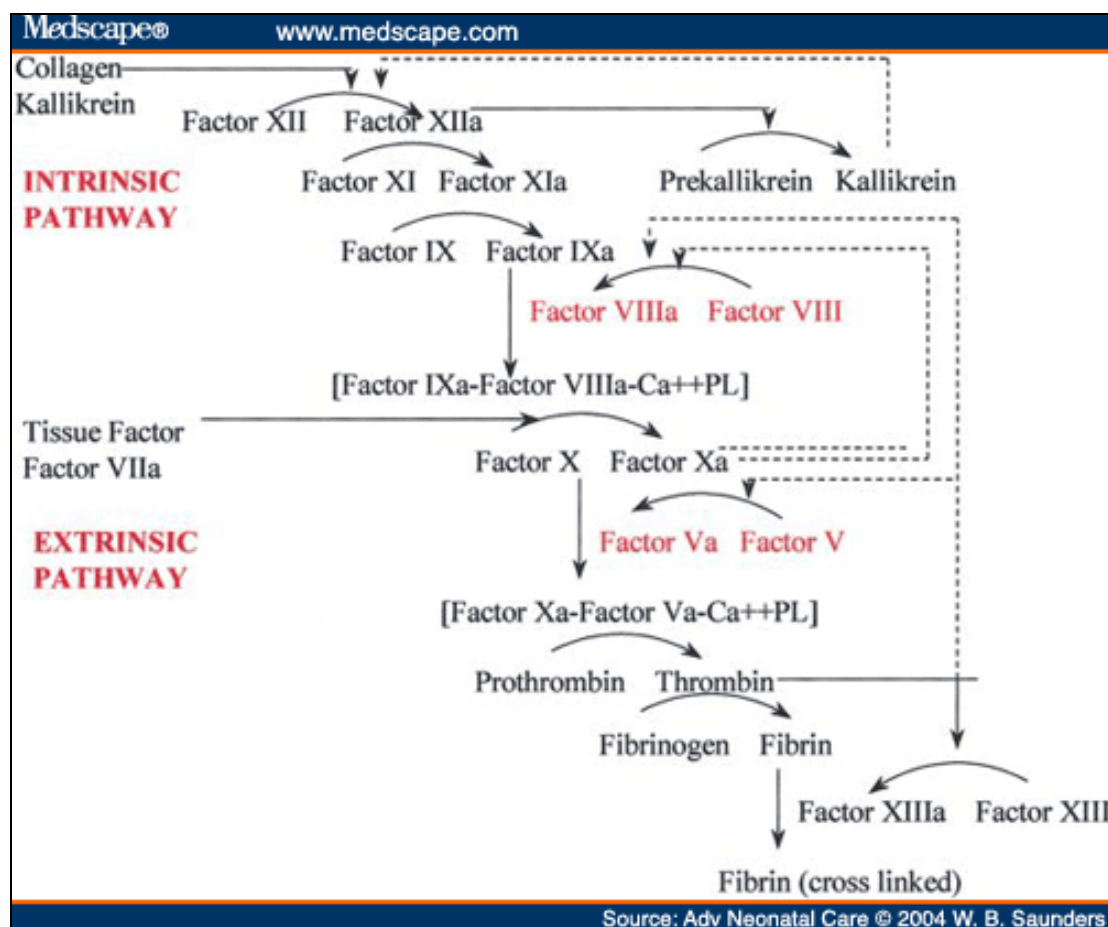
Σχηματική παράσταση του πηκτικού μηχανισμού

Στην πήξη του αίματος περιγράφονται σχηματικά πέντε βασικά στάδια: 1) η ινωδογένεση, 2) η θρομβοπλαστινογένεση, 3) ο σχηματισμός του εξωγενούς καταλυτικού συμπλέγματος, 4) ο σχηματισμός του ενδογενούς καταλυτικού συμπλέγματος και 5) το σύστημα επαφής.

Κεντρικό ρόλο στον όλο μηχανισμό της πήξης του αίματος παίζει η ΘΡΟΜΒΙΝΗ που ασκεί τις δράσεις της στα αιμοπετάλια, στα αγγεία και σε πλασματικούς παράγοντες της πήξης. Με τις δράσεις αυτές δημιουργείται ο αιμοστατικός θρόμβος που αποτελείται από ινώδες και ενεργοποιημένα αιμοπετάλια. Αυτός καλύπτει την βεβλαμμένη επιφάνεια του αγγείου και επιφέρει κατάπαυση της αιμορραγίας. Ας σημειωθεί ότι μεγάλα ποσά θρομβίνης στην περιοχή μπορεί να προκαλέσουν επέκταση του θρόμβου και απόφραξη του αγγειακού αυλού. Με την

πρόκληση της αγγειακής και κατ' επέκταση ιστικής βλάβης, ενεργοποιείται το εξωγενές καταλυτικό σύμπλεγμα, βασικό στοιχείο του οποίου είναι ο παράγοντας VII, ενώ παράλληλα από τα καταστραφέντα κύτταρα απελευθερώνονται διάφορα φωσφορολιπίδια καθώς και μία μεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη που γρήγορα προσκολλάται στα τελευταία, για να έλθει εκεί στη συνέχεια να προσκολληθεί και ο παράγοντας VIII – μέσω ιόντων ασβεστίου και G1a – και να αυτοενεργοποιηθεί. Ο με τον τρόπο αυτό, ο ενεργοποιημένος παράγοντας VII, ενεργοποιεί τους παράγοντες X και IX, που έρχονται και προσκολλώνται στο εξωγενές καταλυτικό σύμπλεγμα - η προσκόλληση αυτή γίνεται μέσω ιόντων ασβεστίου και διευκολύνεται και εδώ από την παρουσία στο μόριό τους των δικών του G1a -. Ερχόμενος ο παράγοντας X σε επαφή με τον ενεργοποιημένο παράγοντα VII, ενεργοποιείται για να δημιουργηθεί έτσι ένα βραδύ στην λειτουργία του σύμπλεγμα που ενισχύεται από την προσκόλληση του παράγοντα V. Με την σειρά του ο ενεργοποιημένος παράγοντας X διασπά την προθρομβίνη, που και αυτή έρχεται να προσκολληθεί στο φωσφορολιπίδιο μέσω ιόντων ασβεστίου και G1a. Με την διάσπαση της προθρομβίνης δημιουργούνται τα πρώτα ίχνη θρομβίνης – που ωστόσο είναι αρκετά για να ενεργοποιήσουν τον παρακείμενο παράγοντα V και να επιταχύνουν έτσι μερικές χιλιάδες φορές το όλο σύστημα της παραγωγής θρομβίνης. Θα πρέπει να λεχθεί εδώ, ότι το σύστημα βρίσκεται κάτω από τον έλεγχο ενός ειδικού αναστολέα του εξωγενούς καταλυτικού συμπλέγματος που φέρεται ως EPI (EXTRINSIC PATHWAY INHIBITOR). Αυτός, προσκολλάται στον ενεργοποιημένο παράγοντα X και τον αδρανοποιεί. Έτσι, εάν η ιστική βλάβη είναι μικρή, το σύστημα αναστέλλεται εύκολα και παύει να λειτουργεί. Εάν όμως η ιστική βλάβη είναι μεγάλη, η αδρανοποίηση δεν επαρκεί να αντισταθμίσει την αθρόα παραγωγή μορίων του ενεργοποιημένου παράγοντα X. Περαιτέρω, ο ενεργοποιημένος παράγοντας VII ενεργοποιεί και τον παράγοντα IX – που και αυτός προσκολλάται στο φωσφορολιπίδιο μέσω ιόντων ασβεστίου και G1a. Η ενεργοποίηση αυτή είναι γνωστή ως “παράκαμψη του Josso” (Josso’s Loop) και πραγματοποιείται ανεξάρτητα από την παρουσία του παράγοντα VIII, που ωστόσο έρχεται και αυτός στο φωσφορολιπίδιο για να ενεργοποιηθεί από τα πρώτα ίχνη της θρομβίνης και να οδηγήσει σε μεγαλύτερη ενεργοποίηση του παράγοντα X και κατ' επέκταση, σε μεγαλύτερη παραγωγή θρομβίνης από την προθρομβίνη (ας σημειωθεί ότι ο ενεργοποιημένος παράγοντας VIII επαυξάνει την δράση του ενεργοποιημένου παράγοντα IX [FIXa] κατά 200.000 και πλέον φορές). Παράλληλα όμως με την ενεργοποίηση του εξωγενούς καταλυτικού συμπλέγματος, ενεργοποιείται και το

σύστημα επαφής. Η ενεργοποίηση γίνεται με την αποκάλυψη, συνέπεια της αγγειακής βλάβης, των υπενδοθηλιακών αγγειακών στιβάδων και ιδιαίτερα του κολλαγόνου, που αποτελούν αρνητικά φορτισμένες επιφάνειες. Πάνω σε αυτές προσκολλάται ο παράγοντας XII και ενεργοποιείται για να δράσει ενζυμικά στον παράγοντα XI και να τον ενεργοποιήσει. Ο ενεργοποιημένος παράγοντας XI αποτελεί το βασικό ένζυμο του συστήματος επαφής. Το ένζυμο δρα στον παράγοντα IX και τον ενεργοποιεί, για να προχωρήσει από εκεί και πέρα η ενεργοποίηση του θρομβοπλαστικού συμπλέγματος (θρομβοκινάσης) που θα μετατρέψει μεγάλα ποσά προθρομβίνης σε θρομβίνη. Η παραγωγή των τελευταίων οδηγεί στην διάσπαση του ινωδογόνου που πολυμερίζεται για να δώσει γένεση στο τρισδιάστατο δίκτυο της ινικής που θα εγκλωβίσει τα έμμορφα συστατικά του αίματος. Το δίκτυο της ινικής σταθεροποιείται στην συνέχεια με την παρέμβαση του ενεργοποιημένου από την δράση της θρομβίνης παράγοντα XIII (XIIIa). Έτσι ολοκληρώνεται η διαδικασία της πήξης του αίματος.



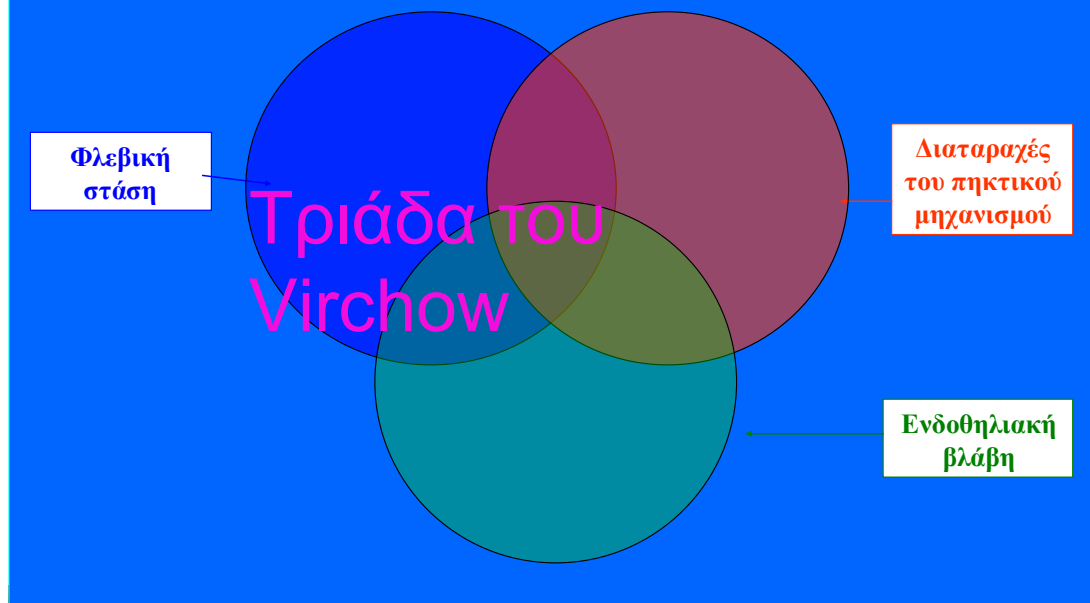
Ενδογενές και εξωγενές σύστημα της πήξης

Ωστόσο, θα πρέπει να λεχθεί ότι σε πρακτικό επίπεδο μπορεί κανείς να θεωρήσει την πήξη του αίματος ως έναν μηχανισμό που ακολουθεί δύο οδούς ενεργοποίησης, την εξωγενή που εκπροσωπείται με τον παράγοντα VII και την ενδογενή που εκπροσωπείται με τους παράγοντες XII, XI, IX και VIII και ότι οι δύο οδοί ενεργοποίησης **καταλήγουν σε μία ενιαία οδό (κορμός) που εκπροσωπείται με τους παράγοντες I, II, X, και V.** Τονίζεται όμως ότι ο διαχωρισμός αυτός είναι σχηματικός και δεν ανταποκρίνεται απόλυτα στα πράγματα αφού, όπως ελέχθη, ο παράγοντας VII – που ανήκει στην εξωγενή οδό ενεργοποίησης – ενεργοποιεί και την ενδογενή οδό μέσω του παράγοντα IX, πολύ δε περισσότερο όταν τελευταία υποστηρίζεται ότι το κύριο βάρος στην ενεργοποίηση του παράγοντα X από τον FVIIa έχει η έμμεση – μέσω του FIXa – οδός ενεργοποίησης (παράκαμψη του Josso) - και όχι η άμεση απευθείας δράση τούτου στον παράγοντα X.

Ως **ΘΡΟΜΒΩΣΗ** ορίζεται το φαινόμενο της πήξης του αίματος στο εσωτερικό των αγγείων (αρτηρίες ή φλέβες) και τον σχηματισμό θρόμβου που αποφράσσει μερικώς ή ολικώς τον αυλό του αγγείου.

Στην ανάπτυξη της θρόμβωσης υπεισέρχονται πολλοί παράγοντες, οι σημαντικότεροι από τους οποίους είναι: 1) η κατάσταση του αγγειακού τοιχώματος, 2) η υπερπηκτικότητα του αίματος, και 3) οι ρεολογικές συνθήκες του αγγείου (τριάδα του VIRCHOW).

## Γιατί οι ασθενείς αναπτύσσουν ΦΘΕ; Ανακαλώντας την τριάδα του VIRCHOW

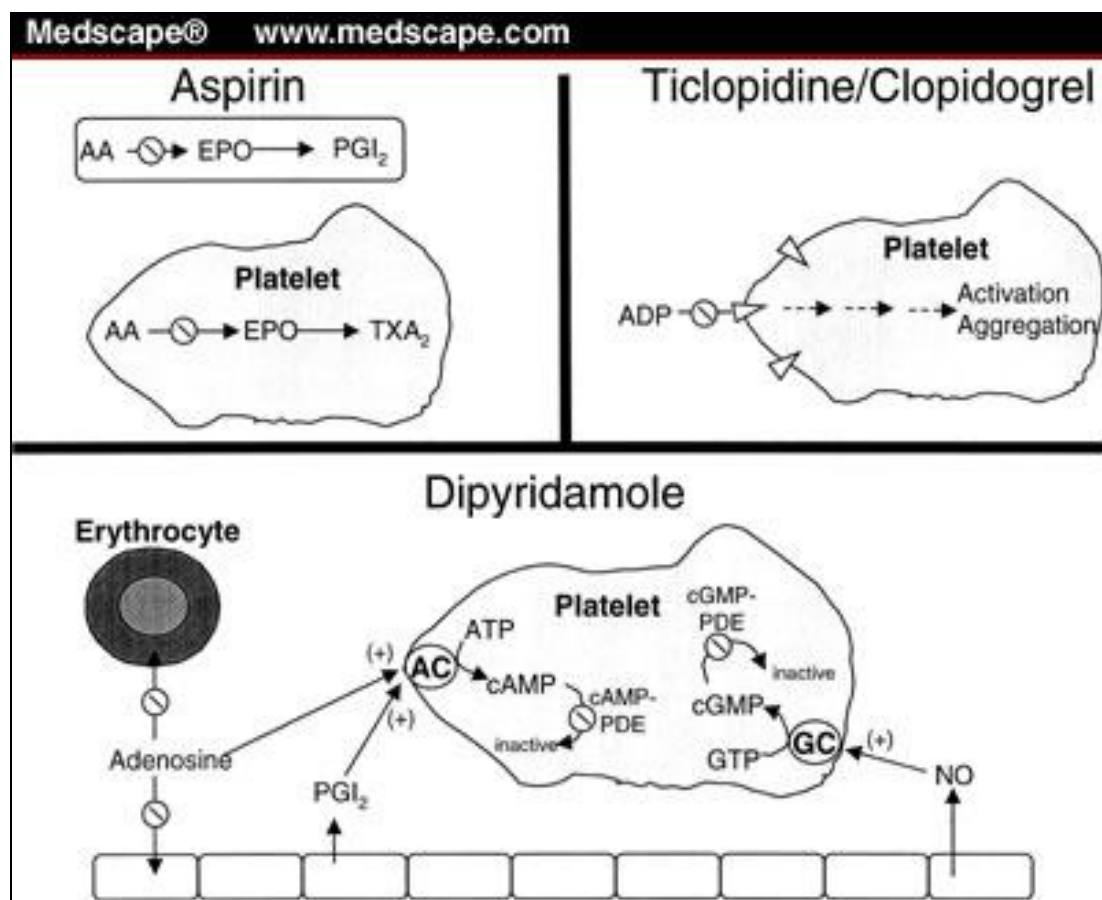


### *Η τριάδα του VIRCHOW*

Η κατάσταση του αγγειακού τοιχώματος επιτελεί έναν από τους πιο σημαντικούς ρόλους στην ανάπτυξη της θρόμβωσης. Οποιαδήποτε αγγειακή βλάβη συνοδεύεται από απόπτωση ή αλλοίωση του ενδοθηλίου και μπορεί να οδηγήσει σε προσκόλληση αιμοπεταλίων και ενεργοποίηση του πηκτικού μηχανισμού. Η υπερπηκτικότητα του αίματος ορίζει αυτό που συνήθως λέγεται θρομβοφιλική διάθεση. Πρόκειται για διαταραχές των αιμοπεταλίων (θρομβοκυττάρωση), ελάττωση των συγκεντρώσεων των αναστολέων της πήξης και ακόμη διαταραχές του ινωδολυτικού μηχανισμού με την έννοια της μειωμένης θρομβολυτικής δραστηριότητας. Οι ρεολογικοί παράγοντες αφορούν τις καταστάσεις που επιβραδύνουν την αιματική ροή στο αγγείο και κατά συνέπεια προδιαθέτουν στην πήξη του αίματος (το τελευταίο αποτελεί και τον λόγο επιβολής της όσο δυνατόν γρηγορότερης κινητοποίησης των χειρουργημένων ασθενών).

Όσον αφορά την **φαρμακευτική αντιμετώπιση των θρομβώσεων**, πέραν των αντιαιμοπεταλιακών (ΑκετυλοΣαλικυλικό Οξύ, Κλοπιδογρέλη) που αναστέλλουν την συγκόλληση των αιμοπεταλίων δρώντας στον υποδοχέα επιφάνειας των τελευταίων και χορηγούνται κάθε φορά που διαπιστώνεται αυξημένος αριθμός ή αυξημένη

συγκολλητότητα των αιμοπεταλίων στο αίμα, η σύγχρονη αντιθρομβωτική αγωγή βασίζεται σε τρεις κατηγορίες φαρμάκων που είναι η μη κλασματοποιημένη (κλασική) ηπαρίνη (UFH), οι ηπαρίνες Χαμηλού Μοριακού Βάρους (LMWH) και οι ανταγωνιστές της βιταμίνης K (VKA). Και οι τρεις κατηγορίες φαρμάκων έχουν επαρκή αντιθρομβωτική δράση, αλλά η χρήση τους στην καθημερινή κλινική πράξη έχει γνωστούς περιορισμούς. Αποτελούν μη εκλεκτικά φάρμακα αφού η δράση τους αφορά ένα ευρύ φάσμα υποστρωμάτων στην διαδικασία της πήξης. Επιπρόσθετα, οι ηπαρίνες είναι ένα ετερογενές μίγμα διαφορετικών μορίων με προέλευση από τους ζωϊκούς ιστούς και ποικίλη αντιθρομβωτική δράση. Σήμερα συναντάται μεγάλη αντιπαράθεση όσον αφορά την διαχείριση αυτών των φαρμάκων δεδομένης της πολυπλοκότητας του μηχανισμού δράσης τους καθώς και της ετερογενούς δομής τους. Πάραυτα, νέα μόρια έχουν σχεδιαστεί στο εργαστήριο προκειμένου να αποτελούν περισσότερο εκλεκτικές – στον στόχο τους – φαρμακευτικές ουσίες και με περισσότερο ομοιγενή δομή προκειμένου να βελτιώσουν την δράση και την ασφάλεια της αντιθρομβωτικής θεραπείας.



Δράση αντιαιμοπεταλιακών φαρμάκων

Οι αντιθρομβωτικοί παράγοντες κατηγοριοποιούνται σύμφωνα με τον βιολογικό τους στόχο και τον μηχανισμό δράσης τους.

1. **Σύμφωνα με τον βιολογικό τους στόχο**, διακρίνονται σε τρεις κατηγορίες:

α. Παράγοντες που αναστέλλουν τα πρώτα στάδια του πηκτικού μηχανισμού – στα οποία εμπλέκονται ο ιστικός παράγοντας και οι παράγοντες VIIa και IXa. Τέτοιοι είναι οι active site inhibited factor VIIa (ASIS), specific anti-tissue factor antibodies, recombinant Tissue Factor Pathway Inhibitor (TFPI)

β. Παράγοντες που αναστέλλουν στόχους στα επόμενα στάδια του πηκτικού μηχανισμού διαμέσου της αναστολής της δημιουργίας του ενεργοποιημένου παράγοντα X (FXa) και κατά συνέπεια με μηχανισμό δράσης τύπου down-regulation τόσο στη γένεση της θρομβίνης όσο και στις FXa διαμεσολαβούμενες feed-back ενεργοποιούμενες παρακάμψεις, που οδηγούν στον σχηματισμό προθρομβινάσης και ενεργοποίησης της προθρομβίνης. Τέτοιοι είναι οι LMWHs και ultra LMWHs όπως τα fondaparinux, idraparinux, rivaroxaban, apixaban.

γ. Παράγοντες που αναστέλλουν την θρομβίνη – το ουσιαστικό ένζυμο που εμπλέκεται στα τελευταία στάδια του πηκτικού μηχανισμού. Τέτοιοι είναι η UFH, κάποιες LMWHs με υψηλότερο μοριακό βάρος (tinzaparin), καθώς ειδικοί αναστολείς της θρομβίνης όπως τα dabigatran, hirudin, bivalirudin, argatroban.

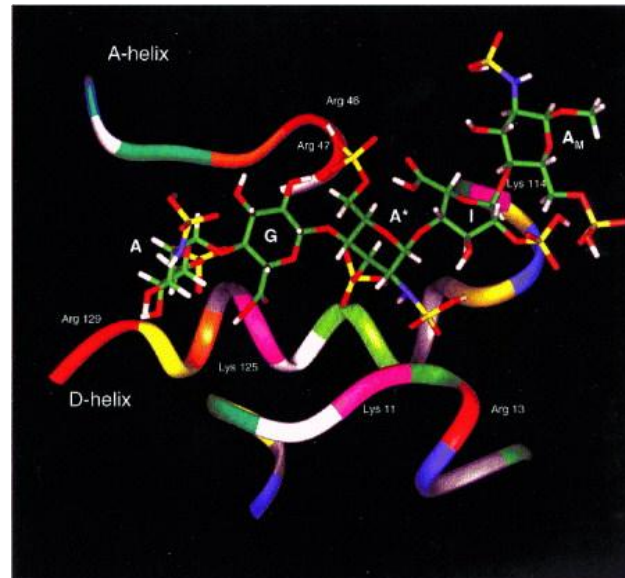
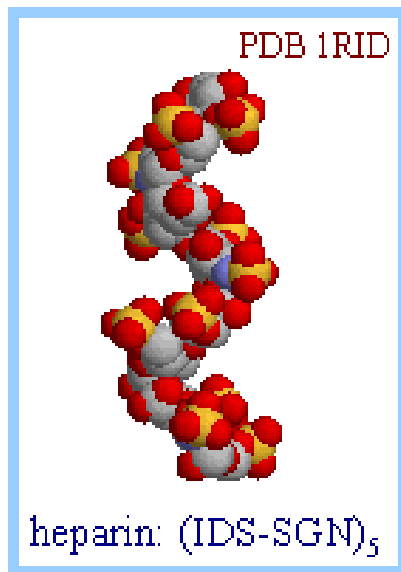
2. **Σύμφωνα με τον μηχανισμό δράσης τους**, οι αντιθρομβωτικοί παράγοντες χωρίζονται σε δύο κατηγορίες:

i. Στους έμμεσους αναστολείς που δρουν ενδυναμώνοντας την ανασταλτική δράση της αντιθρομβίνης (AT), η οποία είναι ένας φυσιολογικός μείζων αναστολέας της σερίνης-πρωτεάσης. Τέτοιοι είναι οι ηπαρίνες (UFH και LMWHs), το συνθετικό πεντασακχαρίδιο (fondaparinux) και το μετά-πεντασακχαρίδιο (idraparinux), όπως και τα ηπαρινομιμητικά (εξα-δεκα-σακχαρίδια)

ii. Στους άμεσους αναστολείς που δουν απευθείας στο στόχο σερίνη-πρωτεάση. Τέτοιοι είναι οι hirudin, hirulog, argatroban, dabigatran, καθώς και άμεσοι αναστολείς του ενεργοποιημένου παράγοντα X (FXa) όπως οι rivaroxaban και apixaban.

Η **Μη Κλασματοποιημένη Ηπαρίνη** (UFH) είναι ένα ετερογενές μίγμα από υψηλού μοριακού βάρους γλυκοζαμινογλυκάνες. Το μέσο MB της είναι περίπου 15.000 daltons και το MB των πολυσακχαριδίων κυμαίνεται από 5.000 έως 40.000 daltons.





### Μοριακή δομή ηπαρίνης

Πρόκειται για έναν έμμεσο αντιθρομβωτικό παράγοντα αφού επιταχύνει την ανασταλτική δράση της αντιθρομβίνης (ενός φυσικού αναστολέα της πήξης) έναντι της θρομβίνης, του παράγοντα Xa, του παράγοντα VIIa και του παράγοντα IXa. Η ηπαρίνη δεσμεύεται στην AT διαμέσου του πεντασακχαριδίου. Μόνο το 30% μιας δόσης UFH δεσμεύεται με την αντιθρομβίνη και το μέρος αυτό είναι υπεύθυνο για την αντιπηκτική της δράση. Κατόπιν υποδόριας χορήγησης, η UFH έχει χαμηλή βιοδιαθεσιμότητα και μικρό χρόνο ημίσειας ζωής στο πλάσμα, ενώ η αντιπηκτική απάντηση δεν είναι εύκολα προβλέψιμη. Εξαιτίας μη ειδικών αντιδράσεων η βιοδιαθεσιμότητα της UFH μετά από μία πρώτη bolus έγχυση είναι μόλις ~30%. Η πρώιμη clearance διαμέσου μη ειδικής δέσμευσης είναι υψηλή και ικανή να κορεσθεί, αλλά υψηλά μεταβλητή και δύσκολα προβλέψιμη. Μια αρχική bolus έγχυση είναι απαραίτητη προκειμένου να επιτύχουμε ικανή αντιπηκτική δράση με την UFH. Αφού κορεσθούν τα μη ειδικά σημεία δέσμευσης, επέρχεται μια σχεδόν γραμμική σχέση δόσης-απάντησης (αντιπηκτικής δράσης). Η χαμηλότερη ακόρεστη clearance της UFH εξαρτάται κυρίως από τον ηπατικό μεταβολισμό και την νεφρική clearance των απυδροθειοποιημένων τμημάτων. Κατά συνέπεια, είναι απαραίτητη η αναπροσαρμογή της δόσης σε ασθενείς με επηρεασμένη ηπατική ή/και νεφρική λειτουργία προκειμένου να αποφευχθεί η υπερδοσολογία. Δεδομένου του φαρμακοκινητικού της προφίλ είναι απαραίτητες δύο ή τρεις δόσεις υποδορίως ημερησίως των 5.000 IV προκειμένου να επιτευχθεί το επιθυμητό αντιθρομβωτικό αποτέλεσμα (η σχέση κέρδους/ρίσκου πρέπει να ληφθεί υπόψιν δεδομένου ότι η 2

φορές την ημέρα χορήγηση συνδέεται με μικρότερο κίνδυνο αιμορραγίας, ενώ η χορήγηση της σε 3 δόσεις καθημερινά φαίνεται να παρέχει καλύτερη αντιθρομβωτική κάλυψη, συνδέεται όμως με υψηλότερο ποσοστό αιμορραγίας).

Η συνήθης οδός χορήγησης της UFH είναι η συνεχής επί 24ώρου βάσεως έγχυση – μετά από μία εφάπαξ αρχική δόση των 5.000 IV bolus – σε ορό με δοσολογία 1.000 IU/kg βάρους/ώρα. Η παρακολούθηση της αντιπηκτικής δράσης γίνεται με εργαστηριακό έλεγχο του χρόνου κεφαλίνης – καολίνης (aPTT). Η UFH έχει μικρό χρόνο ημίσειας ζωής (περίπου 1 ώρα), έτσι 4 ώρες μετά την διακοπή χορήγησης της δεν ανιχνεύεται πλέον στο πλάσμα. Σε περίπτωση υπερδοσολογίας και εφόσον η διακοπή της χορήγησης της δεν επαρκεί ως λύση, αντίδοτό της είναι η θειική πρωταμίνη (χορήγηση 1 mg θειικής πρωταμίνης/100mg UFH).

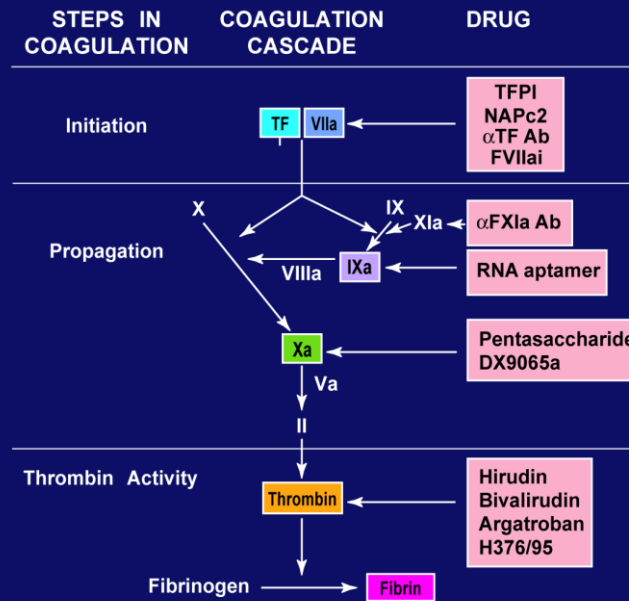
Οι **Χαμηλού Μοριακού Βάρους Ηπαρίνες (LMWHs)** <sup>(1,2,8)</sup> αποτελούν σήμερα τον ακρογωνιαίο λίθο στους αντιθρομβωτικούς παράγοντες. Αυτές έχουν περισσότερο προβλέψιμη αντιθρομβωτική απάντηση, μεγαλύτερη βιοδιαθεσιμότητα μετά από υποδόρια χορήγηση και μακρύτερο χρόνο ημίσειας ζωής από την UFH. Οι LMWHs είναι τουλάχιστον τόσο επαρκείς στην δράση τους και ασφαλείς όσο και η UFH και το φαρμακοκινητικό τους προφίλ επιτρέπει μία δόση χορήγησης ημερησίως για επαρκή προφύλαξη ενώ για την πλειονότητα των ασθενών δεν χρειάζεται εργαστηριακό monitoring και προσαρμογή δοσολογίας. Οι LMWHs απεκκρίνονται από τους νεφρούς. Σχετίζονται με μικρότερα ποσοστά κινδύνου για Η.Ι.Τ. και οστεοπόρωση σε σχέση με την UFH. Αποτελούν σήμερα την θεραπεία εκλογής για την προφύλαξη της θρομβοεμβολικής νόσου τόσο στους μετεχειρητικούς όσο και στους παθολογικούς ασθενείς. Επιπλέον αυξάνεται και η χρήση τους αποκλειστικά ως θρομβοπροφύλαξη στην Ευρώπη, ενώ η UFH και η βαρφαρίνη (VKA) χρησιμοποιούνται πιο συχνά στην Β. Αμερική. Οι LMWHs προέρχονται από την UFH μέσω χημικών ή ενζυματικών διαδικασιών αποπολυμερισμού. Παρουσιάζουν φυσικο-χημικές, βιοχημικές και φαρμακευτικές διαφορές. Η κάθε μία διαφέρει από την άλλη στο MB, την αντι-Xa δράση ανά mg φαρμακευτικού σκευάσματος καθώς και στον λόγο αντί-Xa/αντί-IIa δράση.<sup>(3)</sup> Επίσης διαφέρουν μεταξύ τους όσον αφορά τον χρόνο ημίσειας ζωής της αντί-Xa και αντί-IIa δράσης,<sup>(4)</sup> αλλά και στην ικανότητα απελευθέρωσης του αναστολέα του μονοπατιού του ιστικού παράγοντα (TFPI).<sup>(5,6,7)</sup> Η αναστολή της γένεσης της θρομβίνης είναι διαφορετική για κάθε LMWH όταν συγκρίνεται στην βάση της αντι-Xa δράσης. (Οι LMWHs μπορούν να θεωρηθούν

αδιαφοροποίητη φαρμακολογική ομάδα αφού διαθέτουν διαφορετικές φαρμακοκινητικές. Αυτές οι διαφορές μπορούν να επηρεάσουν το κλινικό προφίλ του φαρμάκου, αλλά δεν έχουν αξιολογηθεί σε τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες).<sup>(3,4)</sup>

**VKA (Ανταγωνιστές της βιταμίνης K – Κουμαρινικά σκευάσματα):** Χορηγούνται δια στόματος και είναι σε ευρεία χρήση στην θεραπευτική, ιδιαίτερα στην Β. Αμερική, ως θρομβοπροφύλαξη. Ασκούν την δράση τους παρεμποδίζοντας στον ήπαρ την σύνθεση των εξαρτώμενων από την βιταμίνη K παραγόντων II, VII, IX και X. Η παρακολούθηση της αντιπηκτικής δράσης γίνεται με εργαστηριακό έλεγχο του χρόνου προθρομβίνης (PT) και του INTERNATIONAL NORMALISED RATIO (INR). Ο χρόνος προθρομβίνης παρατείνεται 48 ώρες μετά την έναρξη χορήγησης κουμαρινικών και χρειάζεται περίπου μία εβδομάδα για να μειωθούν στο πλάσμα τα επίπεδα παραγόντων που εξαρτώνται από την βιταμίνη K σε τέτοιο βαθμό ώστε να προκύψει ουσιαστικό αντιπηκτικό αποτέλεσμα. Για τον λόγο αυτό σε επείγουσες καταστάσεις η αντιπηκτική αγωγή αρχίζει με συγχορήγηση (συνδυασμό) κουμαρινικών και ηπαρίνης. Υπενθυμίζεται ότι από την βιταμίνη K εξαρτάται και η σύνθεση της πρωτεΐνης C. Δεδομένου ότι ο χρόνος ημίσειας ζωής της πρωτεΐνης αυτής είναι 6-12 ώρες, υπάρχει ο κίνδυνος θρομβώσεων σε περίπτωση έναρξης αντιπηκτικής θεραπείας μόνο με κουμαρινικά, δοθέντος ότι η πρωτεΐνη C μειώνεται στο αίμα πριν από την μείωση των βιταμίνης K εξαρτώμενων παραγόντων της πήξης. Αντίδοτα για την κατηγορία αυτή των αντιπηκτικών, αποτελούν η βιταμίνη K και η χορήγηση φρέσκου παγωμένου πλάσματος (FFP).

**Νέοι Αντιθρομβωτικοί παράγοντες:** Οι idraparinux, rivaroxaban, apixaban dabigatran βρίσκονται στο πλέον προκεχωρημένο στάδιο της κλινικής εξέλιξης για την προφύλαξη και θεραπεία της θρομβοεμβολικής νόσου. Οι rivaroxaban και apixaban είναι συνθετικοί, δια στόματος χορηγούμενοι εξειδικευμένοι – υπερεκλεκτικοί αναστολείς του παράγοντα Χα, ενώ ο dabigatran είναι συνθετικός, δια στόματος χορηγούμενος υπερεκλεκτικός αναστολέας της θρομβίνης. Τα αποτελέσματα των κλινικών μελετών στην χρήση τους για την προφύλαξη και θεραπεία της θρομβοεμβολικής νόσου είναι καλώς υποσχόμενα για το μέλλον των σκευασμάτων αυτών στην καθημερινή κλινική πράξη.<sup>(1,2)</sup>

# Targets of New Anticoagulants



5\_3/04

*Οι στόχοι των νέων αντιπηκτικών φαρμάκων*

## **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ:**

1. ΗΛΙΟΠΟΥΛΟΣ Γ., Φυσιολογία και Φυσιοπαθολογία του αίματος και των αιμοποιητικών οργάνων, Ιατρικές εκδόσεις Π.Χ Πασχαλίδης  
ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΟΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΗΣ  
ΦΛΕΒΙΚΗΣ ΘΡΟΜΒΟΕΜΒΟΛΙΚΗΣ ΝΟΣΟΥ. (*Ερευνητική Μονάδα  
Θρόμβωσης και Βιολογίας των Αγγείων, Α'Χειρουργική Κλινική Α.Π.Θ.*)  
Κατευθυντήριες Οδηγίες για την Προφύλαξη από τη Φλεβική Θρομβοεμβολική  
Νόσο – Οδηγίες βασισμένες σε επιστημονικά δεδομένα, υπο την αιγίδα του  
Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, 2009. κεφ3, σελ.15-21
2. GEROTZIAFAS G.T. and M.M. SAMAMA. Heterogeneity of synthetic factor  
Xa inhibitors. *Curr Pharm Des.* 2005. 11(30): p. 3855-76
3. SAMAMA M.M. and G.T. GEROTZIAFAS: Comparative pharmacokinetics of  
LMWHs. *Semin Thromb Hemost*, 2000. 26 (Suppl) 1: p.31-8
4. FAREED J., et al: Low-Molecular-Weight Heparins: Pharmacologic profile and  
product differentiation. *Am J. Cardiol*, 1998. 82 (5B): p.3L-10L
5. FAREED J., et al: Generic low-molecular-weight heparins: Some practical  
considerations. *Semin Thromb Hemost*, 2004. 30 (6): p.703-13
6. BICK R.L. and J. FAREED: Low molecular weight heparins: differences and  
similarities in approved preparations in the United States. *Clin Appl Thromb  
Hemost*, 1999. 5 (Suppl) 1: p.63-6
7. WEITZ J.I., Low-Molecular-Weight Heparins. *N. Engl. J. Med*, 1997. 337 (10):  
p. 688-98

## ΥΠΑΡΧΟΥΣΑ ΓΝΩΣΗ / ΕΡΩΤΗΜΑΤΑ ΣΤΟΥΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΥΨΗΛΟΥ ΚΙΝΔΥΝΟΥ

### Για Θρομβοεμβολική Νόσο

Είναι ευρέως αναγνωρισμένο πως η ορθοπεδική χειρουργική συνοδεύεται από πολύ υψηλό ποσοστό φλεβικής θρομβοεμβολής.<sup>(1,2,3)</sup> Εάν δεν χορηγηθεί θρομβοπροφύλαξη, η επίπτωση της μετεγχειρητικής φλεβικής θρομβοεμβολής, που αποδεικνύεται φλεβογραφικά, κυμαίνεται από 45-57% μετά από επεμβάσεις ολικής αρθροπλαστικής ισχίου και από 40-84% μετά από επέμβαση ολικής αρθροπλαστικής γόνατος. <sup>(1,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20)</sup> Επίσης, γνωρίζουμε ότι κατά την προεγχειρητική φάση της ολικής αρθροπλαστικής του γόνατος και ιδιαίτερα στο φλεβικό αίμα προερχόμενο από το κατώτερο ήμισυ του σώματος, αιμοπετάλια, λευκοκύτταρα και ενδοθηλιακές δραστηριότητες, όπως και οι μεταξύ τους αλληλεπιδράσεις ενισχύονται, με συνέπεια την αύξηση της πηκτικότητας του αίματος.<sup>(21)</sup> Επιπρόσθετα, η χρήση τουρνικέ κατά τη διάρκεια της επέμβασης ενισχύει επιπλέον αυτήν την ήδη υπάρχουσα υπερπηκτική κατάσταση. Πιο συγκεκριμένα αριθμός συμπλεγμάτων λευκοκυττάρων – αιμοπεταλίων / μονοκυττάρων - αιμοπεταλίων στο κεντρικό φλεβικό αίμα αυξάνονται κατά την διεγχειρητική περίοδο και επιστρέφουν στα φυσιολογικά τους επίπεδα σε 24 περίπου ώρες μετά την έναρξη της επέμβασης.<sup>(21)</sup> Τα επίπεδα έκφρασης των PAC-1, P-SELECTIN, CD40 ligand, TISSUE FACTOR, MAC-1 στα μονοκύτταρα, συμπεριλαμβανομένων των συμπλεγμάτων μονοκυττάρων – αιμοπεταλίων καθώς και το νούμερο των μικροσωματιδίων, συμπεριλαμβανομένων αυτών με προέλευση από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, αυξάνονται σημαντικά στο κεντρικό φλεβικό αίμα των ασθενών που υποβάλλονται σε αυτές τις επεμβάσεις.<sup>(21)</sup> Επιπρόσθετα, η συγκέντρωση αντιγόνου του ιστικού παράγοντα του φλεβικού πλάσματος, του CD40 ligand, του Platelet Factor 4 (PF4), της b-thromboglobulin, του μονομερούς συμπλέγματος του διαλυτού ινώδους και ο προπηκτικός παράγοντας 1+2 (PROTHROMBIN FRAGMENT 1+2), επίσης αυξάνονται.<sup>(22,23)</sup>

### Χωρίς Θρομβοπροφύλαξη

Η επίπτωση της εν τω βάθει φλεβικής θρόμβωσης (DVT) κεντρικού στελέχους, είναι υψηλότερη για τους ασθενείς που υποβάλλονται σε ολική αρθροπλαστική ισχίου (THR) (18-36%), ενώ για εκείνους που υποβάλλονται σε ολική αρθροπλαστική γόνατος (TKR) η εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση (DVT) αφορά κυρίως περιφερικά

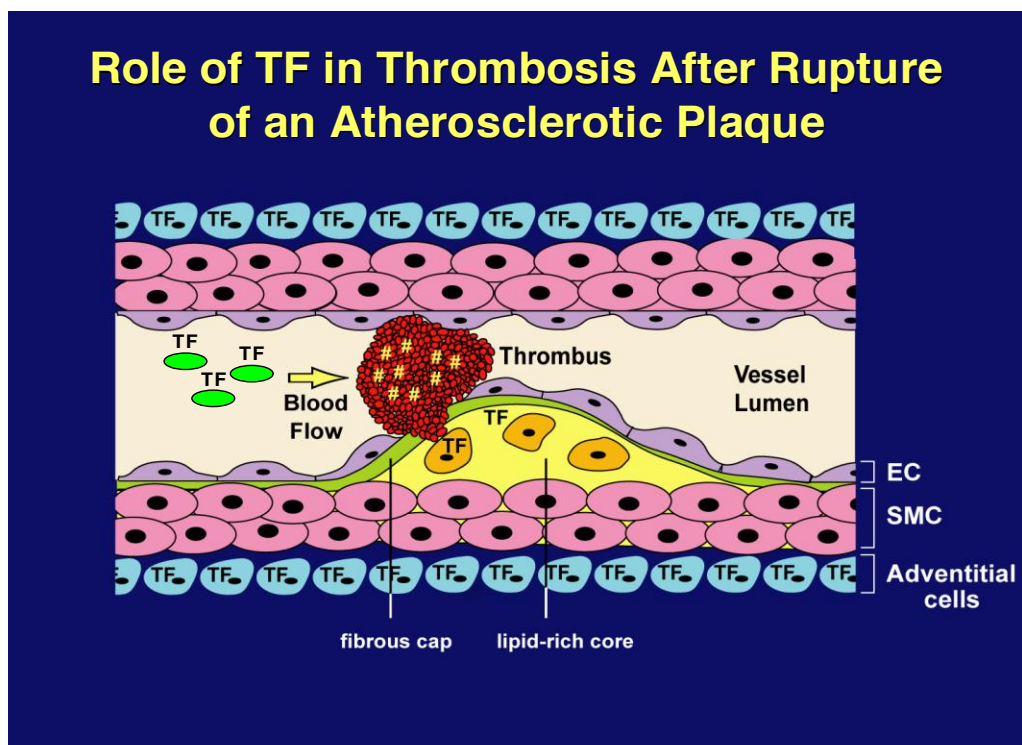
στελέχη με επίπτωση (~60%), ενώ ο κίνδυνος περαιτέρω επιπλοκής με θανάσιμη πνευμονική εμβολή (PE) κυμαίνεται μεταξύ 0,1 και 1,0% χωρίς θρομβοπροφύλαξη.<sup>(1,2,3,8,9,10,11,12,13,14)</sup> Επισημαίνεται εδώ ότι ως οντότητα, η φλεβική θρομβοεμβολή ή θρομβοεμβολική νόσος αποτελείται από δύο επιμέρους παθήσεις: την εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση και την πνευμονική εμβολή. Οι σύγχρονες μελέτες που αφορούν την θρομβοεμβολική νόσο επιδεικνύουν μία μετεγχειρητική περίοδο κινδύνου για αυτούς τους ασθενείς που φθάνει περίπου τους τρεις μήνες.<sup>(15)</sup> Η σύγχρονη ορθοπεδική χειρουργική από την άλλη μεριά εφαρμόζεται με μία συνεχή μείωση των ημερών νοσηλείας των ασθενών αυτών (3 έως 6 ημέρες). Κατά συνέπεια, οι ασθενείς αυτοί εξέρχονται από το νοσοκομείο ενώ διατρέχουν κίνδυνο ΦΘΕ.<sup>(15,16,17,18,19,24)</sup> Από την άλλη μεριά, οι κατευθυντήριες οδηγίες για την θρομβοπροφύλαξη των ασθενών που υποβάλλονται σε ολική αρθροπλαστική ισχίου ή γόνατος υποδεικνύουν διάφορες ασφαλείς προσεγγίσεις, όπως χορήγηση LMWHs (χορηγούμενη υποδόρια μία ή δύο φορές ημερησίως), χορήγηση FONDAPARINUX<sup>(25,26)</sup> ή επιπρόσθετη χορήγηση δια στόματος αντιπηκτικού.<sup>(7,20,22,24,27,28)</sup> Να σημειωθεί στο σημείο αυτό ότι πολλές μελέτες έχουν τεκμηριώσει την ανωτερότητα των LMWHs σε σχέση με την κλασσική ηπαρίνη στην προφύλαξη των ασθενών που υποβάλλονται σε ορθοπεδικές επεμβάσεις για ΦΘΕ μειώνοντας τον σχετικό κίνδυνο από 44-70% ανάλογα με τον τύπο της επέμβασης.<sup>(24,29,30)</sup> Έτσι για τους ασθενείς που υποβάλλονται σε ολική αρθροπλαστική ισχίου προτείνεται θρομβοπροφύλαξη μέχρι την 28-35 μετεγχειρητική ημέρα, ενώ για τους ασθενείς που υποβάλλονται σε ολική αρθροπλαστική γόνατος προτείνεται θρομβοπροφύλαξη για τουλάχιστον 10 ημέρες μετά την επέμβαση.<sup>(2,3,4,5,6,7,28,31)</sup> Ωστόσο και παρόλο την θρομβοπροφύλαξη αυτών των ασθενών, ένας στους έξι που υποβάλλονται σε THR και ένας στους τρεις που υπάλλονται σε TKR εμφανίζουν ΦΘΕ.<sup>(32)</sup> **Είναι φανερό πως δεν είναι γνωστό γιατί οι ασθενείς αυτοί είναι τόσο επιρρεπείς στην ΦΘΕ, ιδίως μετά και από την χορήγηση θρομβοπροφύλαξης αλλά ούτε και ο χρόνος που αυτή χορηγείται είναι αιτιολογικά αποδεδειγμένος.**<sup>(15,32)</sup>

Μελέτες έχουν αποδείξει ότι η επίπτωση της φλεβικής θρομβοεμβολής εντός τριών μηνών από την ημέρα της επέμβασης υπολογίζεται στο 1,7% για τους ασθενείς που υποβλήθηκαν σε THR και στο 2,3% για τους ασθενείς που υποβλήθηκαν σε TKR. Ο μέσος όρος του χρονικού διαστήματος που μεσολάβησε από την ημέρα της επέμβασης έως την εμφάνιση της νόσου ήταν 21,5 ημέρες (SD 22,5) για THR και 9,7 ημέρες (SD 14,1) για TKR. Η ΦΘΕ αναπτύχθηκε μετά την πάροδο του μέσου όρου

νοσηλείας στο 75% των ασθενών για THR και στο 57% των ασθενών για TKR. Επιπλέον, από εκείνους τους ασθενείς που έλαβαν την προτεινόμενη θρομβοπροφύλαξη, περίπου το ¼ (26% για THR και 27% για TKR) δεν συνέχισαν να λαμβάνουν την αγωγή τους πέραν της εβδομης ημέρας μετά την επέμβαση.<sup>(15,32)</sup>

Είναι φανερό ότι ο κίνδυνος φλεβικής θρομβοεμβολής εκτείνεται πέραν της συνήθους περιόδου νοσηλείας στο νοσοκομείο, ενώ η διάρκεια της προφύλαξης είναι συνήθως μικρότερη της περιόδου κινδύνου. Καθίσταται λοιπόν απαραίτητη η αναπροσαρμογή των οδηγιών διαχείρισης των ασθενών αυτών προκειμένου να λαμβάνουν θρομβοπροφύλαξη για τον ενδεδειγμένο χρόνο.<sup>(17,33)</sup> Να σημειωθεί δε ότι ακόμη και αν η σωστή χρονική περίοδος λήψης θρομβοπροφύλαξης προταθεί στον ασθενή, ο τελευταίος δεν προστατεύεται επαρκώς εάν η προφυλακτική μέθοδος ή η δοσολογία δεν είναι η κατάλληλη.<sup>(18,19,20,27,30,34)</sup>

Μία άλλη σημαντική παρατήρηση είναι το γεγονός της ανεξέλεγκτης δημιουργίας θρομβίνης (φαινόμενο REBOUND), η οποία διευκολύνεται από ενεργοποιημένα αιμοπετάλια και που πιθανόν να εξηγεί γιατί οι ασθενείς με οξεία ισχαιμικά συμβάματα του μυοκαρδίου κάνουν υποτροπή των συμπτωμάτων τους την περίοδο αυτή.<sup>(35)</sup>



Ο ρόλος του ιστικού παράγοντα στη θρόμβωση ως συνέπεια της ρήξης της αθηροματικής πλάκας

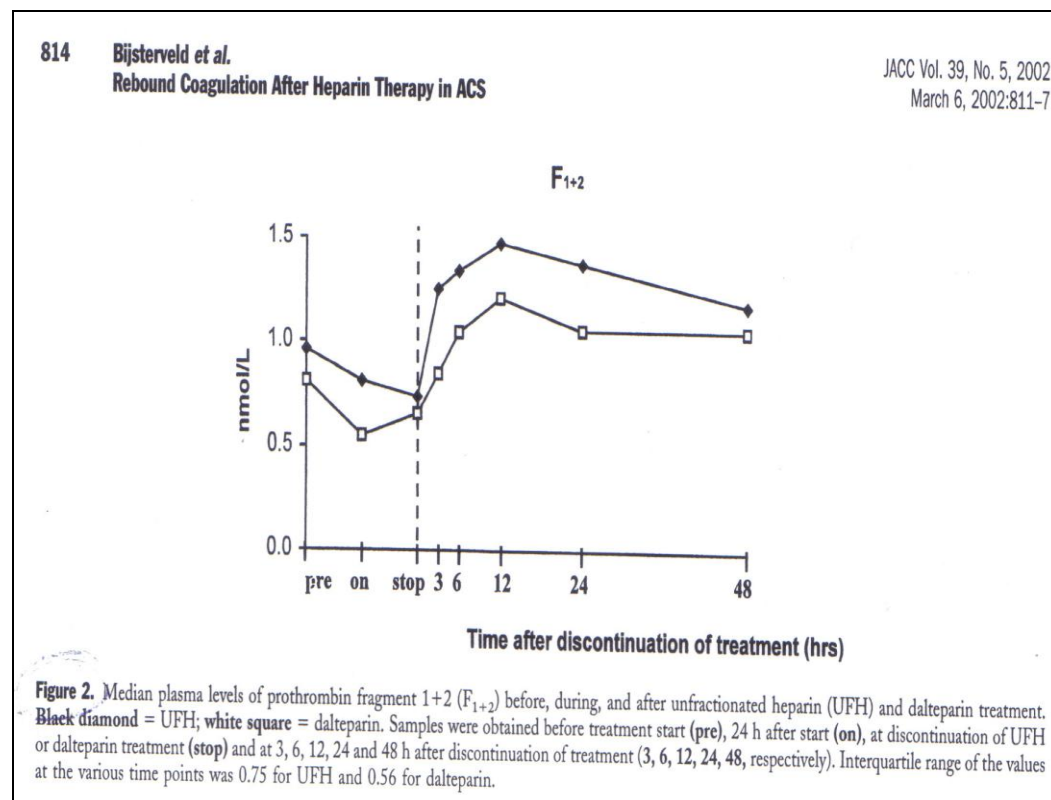


Ως φαινόμενο “REBOUND” μπορεί να ορισθεί η παροδική και ξαφνική αύξηση, ακολουθούμενη από μία ελάττωση των αρτηριακών και/ή φλεβικών θρομβοεμβολικών επεισοδίων μετά την απόσυρση της εκάστοτε αντιπηκτικής αγωγής.<sup>(36)</sup> Οι Theroux et al και Granger et al έδειξαν την ύπαρξη μιας σημαντικής “rebound” αύξησης στην δημιουργία θρομβίνης 3 ώρες και 6 ώρες μετά την διακοπή της ενδοφλέβιας χορήγησης UFH όπως μετρήθηκε τόσο στους προπηκτικούς παράγοντες F1+2 (F1+2 prothrombin fragments) όσο και στο FPA (fibrino-peptide A). Η επίπτωση ενός νέου ισχαιμικού συμβάματος αναφέρεται ενός 12 ωρών μετά την διακοπή της χορήγησης ηπαρίνης, με μεγαλύτερο κίνδυνο ενός των πρώτων 4 ωρών. Όπως προαναφέρθηκε αυτή η υπερπηκτική κατάσταση αφορά την παραγωγή θρομβίνης με εμφάνιση θρομβοεμβολικών επεισοδίων τόσο στο αρτηριακό όσο και στο φλεβικό αγγειακό δίκτυο.<sup>(37)</sup> Όσον αφορά το φλεβικό δίκτυο, δεν έχει ακόμη εξολοκλήρου διευκρινισθεί εάν η αύξηση των θρομβοεμβολικών επεισοδίων μετά την διακοπή της αντιπηκτικής αγωγής οφείλεται στο φαινόμενο “REBOUND” ή σε μια παράδοξη προθρομβωτική δράση σχετιζόμενη με την καταστολή του αρνητικού feedback στον πηκτικό μηχανισμό από την ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C.<sup>(36)</sup> Σε κάθε περίπτωση η επιλογή του είδους και η διάρκεια της χορήγησης της αντιπηκτικής αγωγής μπορούν να επηρεάσουν την καθυστερημένη εμφάνιση θρομβοεμβολικών επεισοδίων στην ορθοπεδική χειρουργική μετά την διακοπή της χορήγησης των αντιπηκτικών. Επιπλέον, εφόσον το φαινόμενο “REBOUND” επιβεβαιώνεται σε αυτούς τους ασθενείς ίσως θα πρέπει να μελετηθεί η πιθανότητα χορήγησης επικουρικής αντιπηκτικής θεραπείας άμα τη διακοπή της κυρίως αντιπηκτικής αγωγής.<sup>(38)</sup>

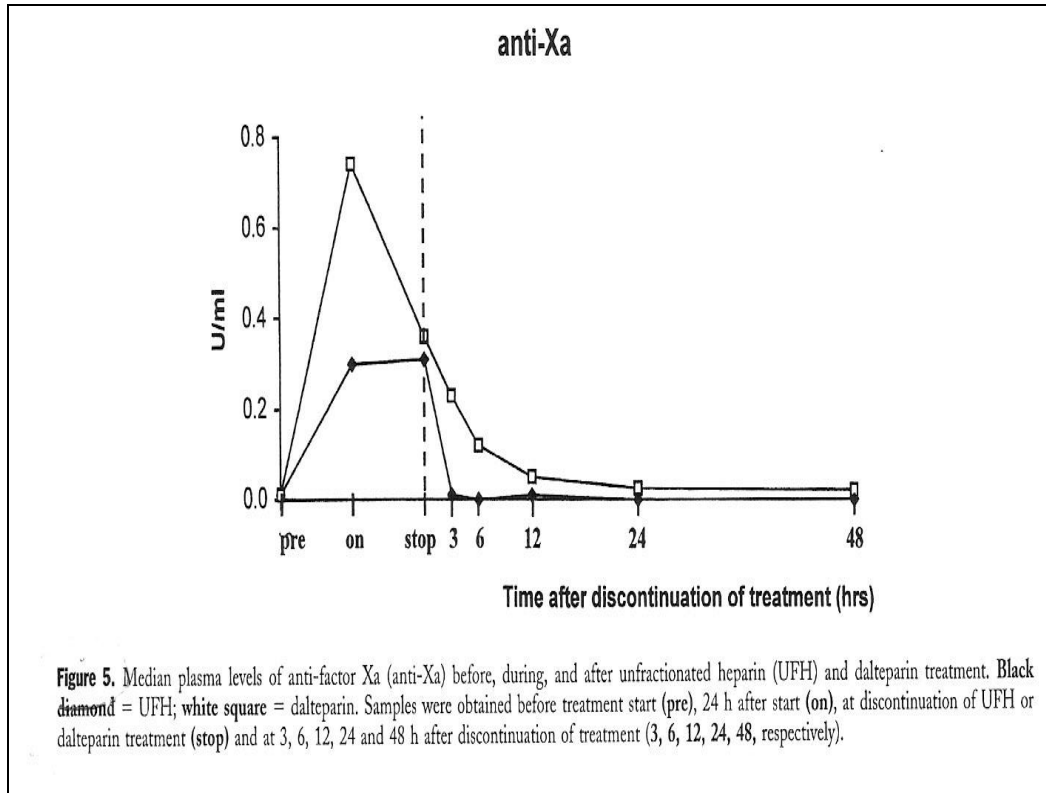
Η παραπάνω σκέψη ως στρατηγική αντιμετώπισης των καθυστερημένων θρομβοεμβολικών επεισοδίων ενισχύεται από τα συμπεράσματα της μελέτης των BIJSTERVELD et al,<sup>(39)</sup> όπου αναδείχθηκε ότι η “REBOUND” ενεργοποίηση του πηκτικού μηχανισμού συμβαίνει εντός ωρών κατόπιν της διακοπής τόσο της UFH όσο και της DALTEPARIN (LMWH).<sup>(39)</sup> Και με τα δύο αντιπηκτικά, η δημιουργία θρομβίνης είναι σημαντικά υψηλότερη μετά την διακοπή του φαρμάκου απ’όσο πριν ή κατά την διάρκεια χορήγησής του. Από τα παραπάνω συνάγεται ότι χρειάζεται μακρύτερη διάρκεια χορήγησης θρομβοπροφύλαξης και/ή χορήγηση επικουρικής αντιπηκτικής αγωγής προκειμένου να μειωθεί η ενεργοποίηση του φαινομένου “REBOUND” και κατά συνέπεια τα οξεία ισχαιμικά συμβάματα του μυοκαρδίου.

Έχει φανεί πως οι αντιαιμοπεταλιακοί παράγοντες μπορούν μερικώς να μειώσουν αυτή την προθρομβωτική τάση μέσω της ελάττωσης των δεικτών της ενεργοποίησης της θρομβίνης κατά το πρώτο 24ωρο από την διακοπή της ηπαρίνης.<sup>(38)</sup> Επιπρόσθετα μια μεγάλη τυχαιοποιημένη μελέτη (PEP trial)<sup>(40)</sup> που έλεγξε την αποτελεσματικότητα της ασπιρίνης στην προφύλαξη ενάντια στην ΦΘΕ και ΠΕ ανέδειξε την μεγαλύτερη χρησιμότητά της κατά την πρώτη μετεγχειρητική εβδομάδα, ιδίως μετά την διακοπή άλλων προφυλακτικών φαρμακευτικών μέσων.<sup>(40)</sup>

Κατά συνέπεια, ένα ερώτημα που πρέπει να απαντηθεί είναι αν η χορήγηση αντιαιμοπεταλιακών παραγόντων σε συνδυασμό με LMWH αυξάνει την ασφάλεια της προφυλακτικής αγωγής ιδίως κατά την φάση διακοπής της LMWH, μέσω της αναστολής της δημιουργίας θρομβίνης.



*Μέσες τιμές πλασματικών επιπέδων των προπηκτικών παραγόντων 1+2 της θρομβίνης πριν, κατά τη διάρκεια και μετά την χορήγηση ΧΜΒΗπ*



*Μέσες τιμές πλασματικών επιπέδων του αντι-Χα παράγοντα πριν, κατά τη διάρκεια και μετά την χορήγηση ΧΜΒΗπ*

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. WESTRICH G.H., et al: Meta-analysis of thromboembolic prophylaxis after total knee arthroplasty. *J. Bone Joint Surg Br*, 2000. 82 (6) : p. 795-800
2. SHORR A.F., L.M. KWONG, M. SARNES, L. HAPPE, E. FARELLY, N. MODY - PATEL. Venous Thromboembolism after orthopedic surgery: Implications of the choice of prophylaxis. *Thromb Res*, 2007. 121 (1): p. 17-24
3. WHITE R.H., P.S. ROMANO, H. ZHOU, J. RODRIGO, W. BARGAR: Incidence and time course of thromboembolic outcomes following total hip or knee arthroplasty. *Arch Intern Med*, 1998. 158 (14): p. 1525-31
4. GEERTS W.H., HEIT J.A., CLAGET P., et al. Prevention of venous thromboembolism. *Chest* 2001. 119 (Suppl): S 132-S 175
5. NICOLAIDES A.N., BREDDIN H.K., FAREED J., et al. Prevention of venous thromboembolism. International Consensus Statement. Guidelines compiled in accordance with the scientific evidence. *Int. Angiol.* 2001. 20: 1-37
6. GEERTS W.H., PINEO G.F., HEIT J.A., et al. Prevention of venous thromboembolism: the seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. *Chest* 2004. 126: 338S
7. ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΟΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΗΣ ΦΛΕΒΙΚΗΣ ΘΡΟΜΒΟΕΜΒΟΛΙΚΗΣ ΝΟΣΟΥ. (*Ερευνητική Μονάδα Θρόμβωσης και Βιολογίας των Αγγείων, Α' Χειρουργική Κλινική Α.Π.Θ.*) Κατευθυντήριες Οδηγίες για την Προφύλαξη από τη Φλεβική Θρομβοεμβολική Νόσο – Οδηγίες βασισμένες σε επιστημονικά δεδομένα, υπο την αιγίδα του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, 2009. κεφ.3, σελ.15-21
8. BROOKENTHAL K.R. et al: A meta-analysis of thromboembolic prophylaxis in total knee arthroplasty. *J. Arthroplasty*, 2001. 16 (3): p. 293-300
9. WHITE R.H. and M.C. HENDERSON: Risk factors for venous thromboembolism after total hip and knee replacement surgery. *Curr Opin Rulm Med*, 2002. 8 (5): p. 365-71
10. KIM Y.H., S.H. OH J.S. KIM: Incidence and natural history of deep-vein thrombosis after total hip arthroplasty. A prospective and randomized clinical study. *J. Bone Joint Surg Br*, 2003. 85 (5): p. 661-5

11. FREEDMAN K.B., K.R. BROOKENTHAL, R.H. FITZGERALD Jr., S. WILLIAMS J.H. LOWNER: A meta-analysis of thromboembolic prophylaxis following elective total hip arthroplasty. *J. Bone Joint Surg Am*, 2000. 82-A(7): p. 929-38
12. HAAKE D.A. and S.A. BERKMAN: Venous thromboembolic disease after hip surgery. Risk factors, prophylaxis and diagnosis. *Clin Orthop Relat Res*, 1989 (242): p. 212-31
13. HITOS K. and J.P. FLETCHER: Venous thromboembolism following primary total knee arthroplasty. *Int. Angiol.*, 2006. 25 (4): p. 343-51
14. DAHL O.E., T.E. GUDMUNDSEN, B.T. BJORNARA, D.M. SOLHEIM: Risk of clinical pulmonary embolism after joint surgery in patients receiving low-molecular-weight heparin prophylaxis in hospital: a 10-year prospective register of 3,954 patients. *Acta Orthop Scand*, 2003. 74 (3): p. 299-304
15. DAHL O.E., T.E. GUDMUNDSEN L., HAUKELAND: Late occurring deep vein thrombosis in joint-operated patients. *Acta Orthop Scand*, 2000. 71 (1): p. 47-50
16. BJORGELL O., P.E. NILSON, G. BENONI, D. BERGQVIST: Symptomatic and asymptomatic deep vein thrombosis after total hip replacement. Differences in phlegographic pattern, described by a scoring of the thrombotic burden. *Thromb Res*, 2000. 99 (5): 429-38
17. ARCELUS J.I., J.C. KUDMA, J.A. CAPRINI: Venous Thromboembolism following major orthopedic surgery: what is the risk after discharge? *Orthopedic*, 2006. 29 (6): p. 506-16
18. DAHL O.E., J.A. CAPRINI, C.W. COLLWELL Jr., et al.: Fatal vascular outcomes following major orthopedic surgery. *Thromb Haemost*, 2005. 93 (5): p. 860-6
19. LIE S.A., L.B. ENGEJAETER, L.I. HAVELIN, H.K. GJESSING, S.E. VOLLSET: Mortality after total hip replacement: 0-10 year follow-up of 39,543 patients in the Norwegian Arthroplasty Register. *Acta Orthop Scand*, 2000. 71 (1): p. 19-27
20. SKENDGEL C., R. GOEREE, S. PLEASANCE, K. THOMSON, B. O'BRIEN, D. ANDERSON: The cost effectiveness of extended-duration antithrombotic prophylaxis after total hip arthroplasty. *J. Bone Joint Surg. Am*, 2007. 89 (4): p. 819-28

21. KAGEYAMA, NAKASIMA, SHIBASAKI, HASHIMOTO, MIZOBE: Increased platelet, leukocyte and endothelial cell activity are associated with increased coagulability in patients after total knee arthroplasty.
22. GEROTZIAFAS G.T. et al: Effect of the anti-factor Xa and anti-factor IIa activities of low-molecular-weight heparins upon the phases of thrombin generation. *J. Thromb Haemost* 2007. 5 (5) p.955-62
23. G.T. GEROTZIAFAS, I. ELALAMY, F. DEPASSE, E. PERZBORN and M.M. SAMAMA: In vitro inhibition of thrombin generation, after tissue-factor pathway activation, by the oral, direct factor Xa inhibitor rivaroxaban. *J. Thromb Haemost*, 2007. (5): p. 886-8
24. COLWELL C.W. Jr., D.K. COLLIS, R. RAULSON, et al: Comparison of enoxaparin and warfarin for the prevention of venous thromboembolic disease after total hip arthroplasty. Evaluation during hospitalization and three months after discharge. *J. Bone Joint Surg. Am*, 1999. 81 (7): p. 932-40
25. CHOAV J. et al. Structure – activity relationship in heparin: a synthetic pentasaccharide with high affinity for antithrombin III and eliciting high anti-factor Xa activity. *Biochem Biophys Res Commun*, 1983. 116 (2): p. 492-9
26. SAMAMA M.M. and G.T. GEROTZIAFAS: Evaluation of the pharmacological properties and clinical results of the synthetic pentasaccharide (fonda-parinux). *Thromb Res*, 2003. 109 (1): p. 1-11
27. TRIBOUT B. and F. COLIN-MERCER: New, versus established drugs in venous thromboprophylaxis: efficacy and safety considerations related to timing of administration. *Am J. Cardiovasc Drugs*, 2007. 7 (1): p. 1-15
28. STREBEL N., M. PRINS, G. AGNELLI, H.R. BULLER: Preoperative or postoperative start of prophylaxis for venous thromboembolism with low-molecular-weight heparin in elective hip surgery? *Arch Intern Med*, 2002. 162 (13): p. 1451-6
29. ANDERSON F.A. Jr., J. HIRSH, K. WHITE, R.H. FITZGERAL, Jr.: Temporal trends in prevention of venous thromboembolism following primary total hip or knee arthroplasty 1996-2001: Findings from the hip and knee registry. *Chest*, 2003. 124. 6 (suppl. 3495): p. 349-356
30. COMP P.C., T.E. SPIRO, R.J. FRIEDMAN, et al.: Prolonged enoxaparin therapy to prevent venous thromboembolism after primary hip or knee replacement.

- Enoxaparin Clinical Trial Group. *J. Bone Joint Surg Am*, 2001. 83-A (3): p. 336-45
31. HULL R.D., G.F. PINEO, P.D. STEIN, et al.: Timing of initial administration of low-molecular-weight heparin prophylaxis against deep vein thrombosis in patients following elective hip arthroplasty: a systematic review. *Arch Intern Med*, 2001. 161 (16): p. 1952-60
  32. WARWICK D., R.J. FRIEDMAN, G. AGNELLI, et al.: Insufficient duration of venous thromboembolism prophylaxis after total hip or knee replacement when compared with the time course of thromboembolic events: findings from the Global Orthopaedic Registry. *J. Bone Joint Surg. Br*, 2007. 89 (6): 799-807
  33. KHER A. and M.M. SAMAMA: Primary and secondary prophylaxis of venous thromboembolism with low-molecular-weight heparins: prolonged thromboprophylaxis, an alternative to vitamin K antagonists. *J Thromb and Haemost*, 2005. (3): p. 473-481
  34. HULL R.D., G.F. PINEO, L. FRANCIS, et al.: Low-molecular-weight heparin prophylaxis using dalteparin extended out - of - hospital VS in - hospital warfarin / out - of - hospital placebo in hip arthroplasty patients: a double – blind, randomized comparison. North American Fragmin Trial Investigators. *Arch Intern Med*, 2000. 160 (14): p. 2208-15
  35. HERMANS C. and D. CLAEYS: Review of the rebound phenomenon in new anticoagulant treatments. *Cur Med Res and Opin*, 2006. 22 (3): p. 471-481
  36. BECKER R.C., F.A. SPENCER, VOUFU Li, S.P. BALL, et al.: Thrombin generation after the abrupt cessation of intravenous unfractionated heparin among patients with acute coronary syndromes. Potential mechanisms for heightened prothrombotic potential. *J Am Coll of Cardiol*, 1999. 34. p. 1019-1027
  37. THEROUX P., WATERS D., LAM J., JUNCAU M., Mc CANS J.: Reactivation of unstable angina after discontinuation of heparin. *N. Engl. J. Med*, 1992. 327: 141-5
  38. LAUER M.A., HOUGHTALING P.L., PETERSON J.G., et al.: Attenuation of the rebound ischemia after discontinuation of heparin therapy by glycoprotein IIb/IIIa inhibition with Eptifibatid in patients with acute coronary syndromes. Observations from platelet IIb/IIIa in unstable angina: Receptor suppression using integrilin therapy (PURSUIT) trial. *Circulation*, 2001. 104: p. 2772-7

39. BIJSTERVELD N.R., A.H. MOONS et al.: Rebound thrombin generation after heparin therapy in unstable angina. A randomized comparison between unfractionated and low-molecular-weight heparin. *J Am Coll of Cardiol*, 2002. 39 (5): p. 811-817
40. Prevention of pulmonary embolism and deep vein thrombosis with low dose aspirin: Pulmonary Embolism Prevention (PEP) trial. *Lancet*, 2000. 355 (9212): p. 1295-1302



## ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Ο **πρωτεύων** σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να διερευνηθούν οι μεταβολές των βιολογικών δεικτών υπερπηκτικότητας σε ασθενείς που υποβάλλονται σε χειρουργικές επεμβάσεις υψηλού κινδύνου για ΦΘΕ κατά την διάρκεια και μετά την διακοπή της προφύλαξης με ΧΜΒΗ.

Ο **δευτερεύων** στόχος της μελέτης ήταν να διερευνηθεί η εξέλιξη αυτών των δεικτών υπερπηκτικότητας μετά την διακοπή της χορήγησης θρομβοπροφύλαξης με LMWH σε περιβάλλον λήψης αντιαιμοπεταλικών παραγόντων.

Προκειμένου να επιτευχθούν τα παραπάνω η μελέτη χωρίστηκε σε δυο ειδικά μέρη.

Στο 1<sup>ο</sup> ειδικό μέρος (που αφορά τον πρωτευοντα σκοπο) μελετηθηκαν δυο διαφορετικες ομαδες ορθοπεδικων ασθενων που υποβληθηκαν σε μειζονα ορθοπεδικη επεμβαση υψηλου κινδυνου για ΦΘΕ και ελαβαν την ιδια αντιπηκτικη αγωγη ως θρομβοπροφυλαξη συμφωνα με τις παγκοσμιες κατευθυντηριες οδηγιες.

Στο 2<sup>ο</sup> ειδικό μέρος (που αντιστοιχει στον δευτερευοντα σκοπο) μελετηθηκαν δυο διαφορετικες κατηγοριες χειρουργικων ασθενων που υποβληθηκαν σε επεμβαση υψηλου κινδυνου για ΦΘΕ (ορθοπεδικοι και αγγειοχειρουργικοι ασθενεις), οι οποιοι χαρακτηριζονται από διαφορετικο θρομβογεννητικο προφιλ και ελαβαν διαφορετικο σχημα θρομβοπροφυλαξης (παντα συμφωνα με τις παγκοσμιες κατευθυντηριες οδηγιες) ουτως ώστε να εκτιμηθει και η επικουρικη δραση των αντιαιμοπεταλιακων παραγοντων.

## ΜΕΘΟΔΟΣ

Για τον σκοπό αυτό μελετήθηκαν:

- 15 συνεχόμενοι ασθενείς που υποβλήθηκαν σε ολική αρθροπλαστική ισχίου και έλαβαν θρομβοπροφύλαξη με ΧΜΒΗ (ενοξαπαρίνη) 4000 anti-Xa IV (40mg) εφάπαξ ημερησίως με υποδόρια χορήγηση για 30 ημέρες μετά την επέμβαση.
- 16 συνεχόμενοι ασθενείς που υποβλήθηκαν σε ολική αρθροπλαστική γόνατος και έλαβαν θρομβοπροφύλαξη με ΧΜΒΗ (ενοξαπαρίνη) 4000 anti-Xa IV (40mg) εφάπαξ ημερησίως με υποδόρια χορήγηση για 15 ημέρες μετά την επέμβαση.

- 15 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε μηροϊγνυακή παράκαμψη και έλαβαν την ίδια προφυλακτική αγωγή με LMWH (ενοξαπαρίνη) 4000 anti-Xa IV (40mg) εφάπαξ ημερησίως με υποδόρια χορήγηση για 30 ημέρες μετά την επέμβαση και αντί-αιμοπεταλιακό παράγοντα (κλοπιδογρελη 75 mg ημερησίως) και για το ίδιο χρονικό διάστημα.

Στο σημείο αυτό θα πρέπει να διευκρινισθεί ότι οι αγγειοχειρουργικοί ασθενείς σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες του 7<sup>ου</sup> ACCP, δεν αποτελούν ομάδα υψηλού κινδύνου για φλεβική θρομβοεμβολή και κατά συνέπεια η περίοδος χορήγησης θρομβοπροφύλαξης έγκειται στην κρίση του εκάστοτε χειρουργού.

Ομάδα ελεγχου αποτελεσαν 15 υγιείς εθελοντες συμβατοι δημογραφικα με τις ομάδες ασθενων, οι οποιοι ειχαν ελευθερο ατομικο αναμνηστικο και δεν παρουσιαζαν κανενος ειδους κλινικη σημειολογια την περιοδο που διενεργηθησαν οι αιμοληψιες για την μελετη. Ολοι τους παρουσιαζαν φυσιολογικες τιμες PT & aPTT πριν την ενταξη τους στην μελετη και δεν ειχαν λαβει κανενος ειδους φαρμακευτικη αγωγη για τουλαχιστον 1 μηνα πριν τις αιμοληψιες. Οι τιμες των βιολογικων δεικτων της ομάδας ελεγχου χρησιμοποιηθηκαν για την δημιουργια ευρους επιπεδων αναφορας για τον ελεγχο των επιπεδων βιολογικων δεικτων στις τρεις ομάδες ασθενων που μελετηθηκαν.

Η ΧΜΒΗ σε όλες τις κατηγορίες/ομάδες ασθενών ήταν ενοξαπαρίνη χορηγούμενη υποδορίως σε μία δοκιμή προφυλακτική δόση ημερησίως.

#### Κριτηρια Αποκλεισμου:

Αποκλείστηκαν από την μελέτη οι ασθενείς που είχαν και άλλους παράγοντες που τους εντάσσουν στην κατηγορία υψηλού κινδύνου (εκτός από την επέμβαση) και συγκεκριμένα αποκλείστηκαν οι ασθενείς με ιστορικό προηγούμενης θρόμβωσης, νεοεξεργασίας, εγκυμοσύνης, χρήσης οιστρογόνων, συμφορητικής καρδιακής ανεπάρκειας, αιμοκαθαιρώμενοι, καθώς και γνωστού παθολογικού θρομβοφιλικού profile. Επίσης, αποκλείστηκαν αυτοί που βρίσκονταν σε αντιπηκτική αγωγή μέχρι 30 ημέρες πριν από την ένταξη στην μελέτη και οι ασθενείς με υψηλή πιθανότητα Η.Ι.Τ. (Heparin Induced Thrombocytopenia → ελάττωση μεγαλύτερη του 50% του αριθμού των αιμοπεταλίων σε σύγκριση με τις βασικές τιμές τους πριν την χορήγηση LMWH).

Σε όλους τους ασθενείς έγινε έλεγχος κληρονομικής θρομβοφιλίας (AT, PC, PS, APCR, FV Leiden, FII G20210A) και έλεγχος αντιφωσφολιπιδικού συνδρόμου (αντιπηκτικό του λύκου) και οι θετικοί εξ' αυτών αποκλείστηκαν.

Σε όλους τους ασθενείς καταγράφηκαν τα δημογραφικά χαρακτηριστικά (φύλλο, ηλικία, δείκτης μάζας σώματος κτλ.), το ιατρικό ιστορικό (συμπεριλαμβανομένων των φαρμάκων και ιδίως η λήψη και ο χρόνος χορήγησης αντιαιμοπεταλιακών ή άλλων αντιπηκτικών) καθώς και οι εγχειρητικές συνθήκες (χειρουργικός χρόνος, τύπος και διάρκεια αναισθησίας, απώλεια αίματος - μεταγγίσεις).

Σε όλους τους ασθενείς παρήχθησαν δείγματα αίματος προκειμένου να μελετηθούν οι βιολογικοί δείκτες υπερπηκτικότητας. Δείγματα πάρθηκαν:

1. Προεγχειρητικά (ημέρα 0)
2. Άμεσα μετεγχειρητικά (ημέρα X)
3. Την 8<sup>η</sup> ημέρα μετά την επέμβαση (ημέρα X+8)
4. Δύο ημέρες μετά την διακοπή της χορήγησης LMWH – αυτό σημαίνει για τους ασθενείς που ανήκουν σε κατηγορία που έλαβε θρομβοπροφύλαξη για 30 ημέρες, ότι το δείγμα αίματος παήθηκε 32 ημέρες μετά την επέμβαση (ημέρα X+32), ενώ για τους ασθενείς που ανήκουν σε κατηγορία που έλαβε 15 ημέρες θρομβοπροφύλαξη, η αιμοληψία έγινε 17 ημέρες μετά την επέμβαση (ημέρα X+17).

Παράλληλα με την αιμοληψία διενεργήθη και υπερηχογραφικός έλεγχος (TRIPLEX) των ασθενών, σκοπος του οποίου ήταν η πιστοποίηση της βατότητας ή όχι των περιφερικών και κεντρικών φλεβικών στελεχών η/και του μηρο-ιγνυακού μοσχευματος στο χειρουργηθέν μέλος.

Συλλέχθηκαν τα δείγματα δια τραυματικής παρακέντησης σε δύο σιλικονούχα φιαλίδια κενού (Becton Dickinson Meylan) που περιέχουν ρυθμιστικό διάλυμα τρικιτρικού νατρίου (0,129 mol/l, εννέα μέρη αίματος και ένα μέρος κιτρικού διαλύματος). EDTA για έλεγχο FVL FII G20210A. Συνολικά, κάθε δείγμα απαιτεί 10ml αίματος (5ml σε κάθε φιαλίδιο). Όλα τα δείγματα αμέσως μετά την συλλογή τους επεξεργάστηκαν με σκοπό να απαλλαγούν των αιμοπεταλίων ως ακολούθως:

- 1<sup>η</sup> φυγοκέντρηση του ολικού αίματος προσμειγμένου με κιτρικό νάτριο: 15min στα 2000g.

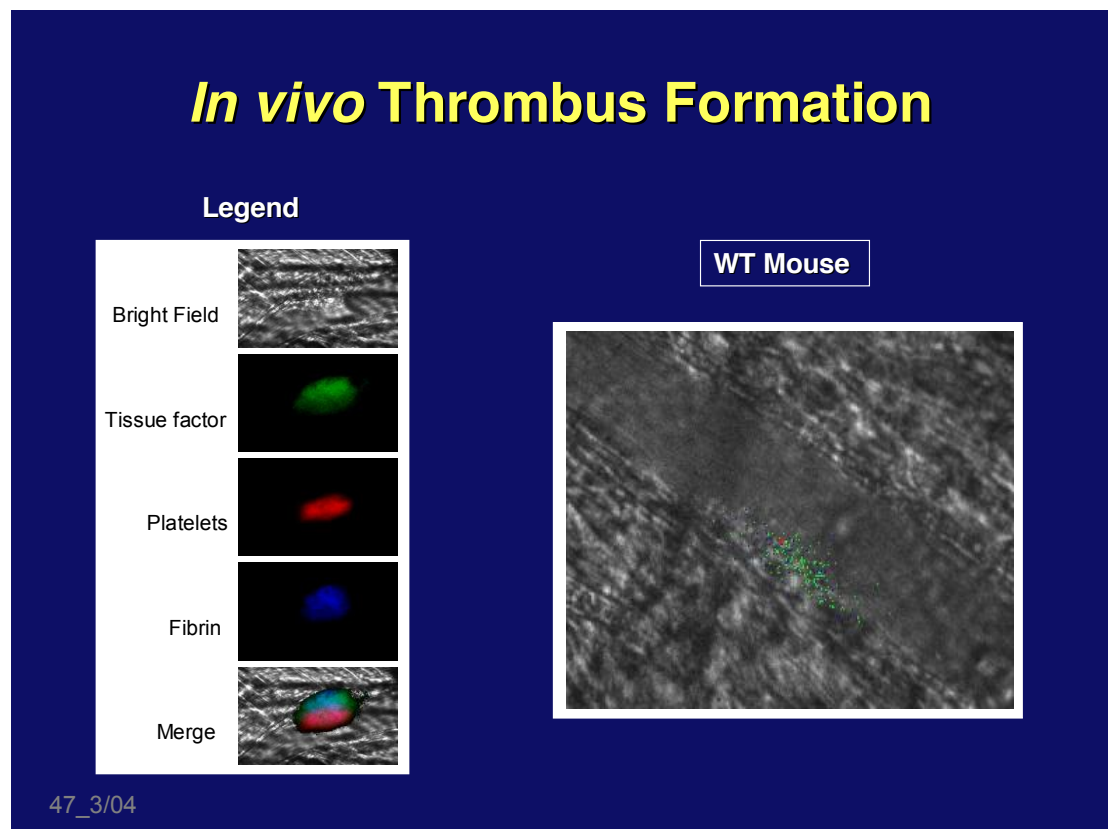
- Συλλογή υπερκείμενου πλάσματος και φυγοκέντρησή του: 15min στα 2000g.

Η διαδικασία επέτρεψε την απόκτηση περίπου 3,5ml πλάσματος στερούμενου αιμοπεταλίων για κάθε αεροστεγές φιαλίδιο.

Το πλάσμα στερούμενο αιμοπεταλίων (PPP: Poor-Platelet-Plasma) ισοκατανεμήθηκε (σε υποπολλαπλάσια των 500μl) και ψύχθηκε στους -80OC και τέλος μελετήθηκε κατόπιν της απαιτούμενης επεξεργασίας στο αιματολογικό εργαστήριο του Νοσοκομείου Tenon στο Παρίσι και του νοσοκομείου “Παπαγεωργίου” της Θεσσαλονίκης, υπό την επίβλεψη του καθηγητή κ.Γεροτζιάφα.

**Στο παραπάνω εργαστήριο ακολούθησε η ανίχνευση των βιολογικών δεικτών υπερπηκτικότητας ως εξής:**

**A. ΚΑΘΟΡΙΣΜΟΣ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ ΘΡΟΜΒΙΝΗΣ:** Μελέτη της γένεσης θρομβίνης in vivo και in vitro.



Η μελέτη της δημιουργίας θρομβίνης επιτελούμενη είτε με μεθόδους βασιζόμενες στην δημιουργία του θρόμβου, είτε με χρωμογονιδιακά υποστρώματα

αποτελεί ένα παλιό και καθιερωμένο εργαλείο στην έρευνα του μηχανισμού της πήξης.<sup>(1,2,3)</sup> Στην εργασία αυτή μελετήθηκε η επίδραση των επίκτητων παραγόντων κινδύνου φλεβικής θρόμβωσης (πχ. χειρουργική επέμβαση) στην δυνατότητα του πλάσματος των ασθενών να παράγει θρομβίνη in vivo και in vitro, σε πειραματικές συνθήκες που προσομοιάζουν εκείνες που παρατηρούνται κατά την ενεργοποίηση του πεπτικού μηχανισμού στον οργανισμό. Για τον σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν ως βασική τεχνική η εξής:

**Calibrated Thrombin Generation Assay (Thrombogram - Thrombinoscope).** Με τη μέθοδο αυτή κατέστη δυνατό να παρατηρηθεί η συνολική κινητική της θρομβίνης που γεννάται και αναστέλλεται μετά την ενεργοποίηση του μονοπατιού του ιστικού παράγοντα της πήξης. Εφαρμόζοντας την μέθοδο αυτή μπορέσαμε να συλλέξουμε πληροφορίες τόσο για τις ποσοτικές όσο και τις κινητικές παραμέτρους της γέννησης της θρομβίνης. Μπορέσαμε επίσης να μετρήσουμε με ακρίβεια το συνολικό έργο που παράγει η θρομβίνη καθ' όλη την διάρκεια της ενεργούς παρουσίας της στο πλάσμα. Η μέθοδος αυτή βασίζεται στην αρχή της μέτρησης του φθορισμού που παράγεται από την πρωτεόλυση ενός ειδικού υποστρώματος από την θρομβίνη. Η μεθοδολογία αυτή αποτελεί σημαντική καινοτομία, δεδομένου ότι επιτρέπει την μελέτη της γέννησης της θρομβίνης παρουσία ινωδογόνου και ινικής. Στον ποιοτικό έλεγχο και την κλινικο-εργαστηριακή αξιολόγηση της μεθόδου, το εργαστήριο του κ. Γεροτζιάφα έχει σημαντική συμβολή η οποία τεκμηριώνεται και από την διεθνή βιβλιογραφία.<sup>(1,3)</sup> Επίσης, ο ίδιος και οι συνεργάτες του βρίσκόμενοι σε συνεργασία με την ομάδα του H.Hemker<sup>(2)</sup> παρακολουθούν στενά την εξέλιξη της μεθόδου και συμμετέχουν στον σχεδιασμό νέων κλινικο-εργαστηριακών μελετών.

Κατά συνέπεια πρόκειται για μέθοδο που αφενός είναι ευαίσθητη στην αντιθρομβωτική δράση της LMWH που θα χρησιμοποιηθεί στην παρούσα μελέτη, αφετέρου δίνει εξατομικευμένες πληροφορίες για το επίπεδο της υπερπηκτικότητας in vivo.<sup>(4)</sup> Πιο συγκεκριμένα, μέθοδος Thrombogram – Thrombinoscope μπορεί να εφαρμοσθεί τόσο σε πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια, όσο και σε πλάσμα στερούμενο αιμοπεταλίων διαμέσου της χρήσης φλουορογονιδιακού υποστρώματος και περιγράφει τις φάσεις της δημιουργίας, εξέλιξης και έκπτωσης της θρομβίνης (initiation, propagation and decay phase). Η μέθοδος αυτή επίσης μετρά το ενδογενές δυναμικό της θρομβίνης (ETP), το οποίο αντιπροσωπεύει την δράση της θρομβίνης πολλαπλασιασμένη με τον χρόνο για τον οποίο η τελευταία παραμένει ενεργή στο

πλάσμα. Ο καθορισμός σχηματισμού της θρομβίνης κατόπιν ενεργοποίησης του μονοπατιού του ιστικού παράγοντα αποτελεί ένα κατάλληλο σύστημα μελέτης για τον καθορισμό της σφαιρικής αντιθρομβωτικής δράσης των LMWHs.<sup>(1,3)</sup>

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήσαμε την μέθοδο Thrombogram – Thrombinoscope προκειμένου να μελετήσουμε την δράση της LMWH (enoxaparin) σε συγκεντρώσεις που επιτυγχάνονται στην κλινική πρακτική μετά από χορήγησή της σε προφυλακτική δόσης. Οι συγκεντρώσεις στο πλάσμα της ENOXAPARIN εκφράστηκαν ως anti-Xa και anti-IIa IU/ml. Η επίδραση της LMWH στις διάφορες φάσεις του σχηματισμού θρομβίνης, όπως επίσης τόσο η μέγιστη συγκέντρωση της σχηματισμένης θρομβίνης, όσο και το ενδογενές δυναμικό της θρομβίνης αναλύθηκαν.

Στην καμπύλη σχηματισμού θρομβίνης αναλύθηκε η δράση της ENOXAPARIN στα εξής:

- α. “lag time”: λανθάνων χρόνος αντιδράσεως της γένεσης της θρομβίνης
- β. “tt-Peak”: χρόνος που χρειάζεται η θρομβίνη προκειμένου να φθάσει στην μέγιστη συγκέντρωσή της
- γ. “Peak”: μέγιστη συγκέντρωση της θρομβίνης
- δ. “ETP”: ενδογενές δυναμικό της θρομβίνης
- ε. “Mean Rate Index” ή “MRI” της φάσης εξέλιξης στον σχηματισμό θρομβίνης που εκφράζεται από τον λόγο: Peak/ttPeak – lag time, εκφραζόμενος σε nM/min και αντιπροσωπεύει τον μέσο όρο σχηματισμού της θρομβίνης κατά της φάση της εξέλιξης.

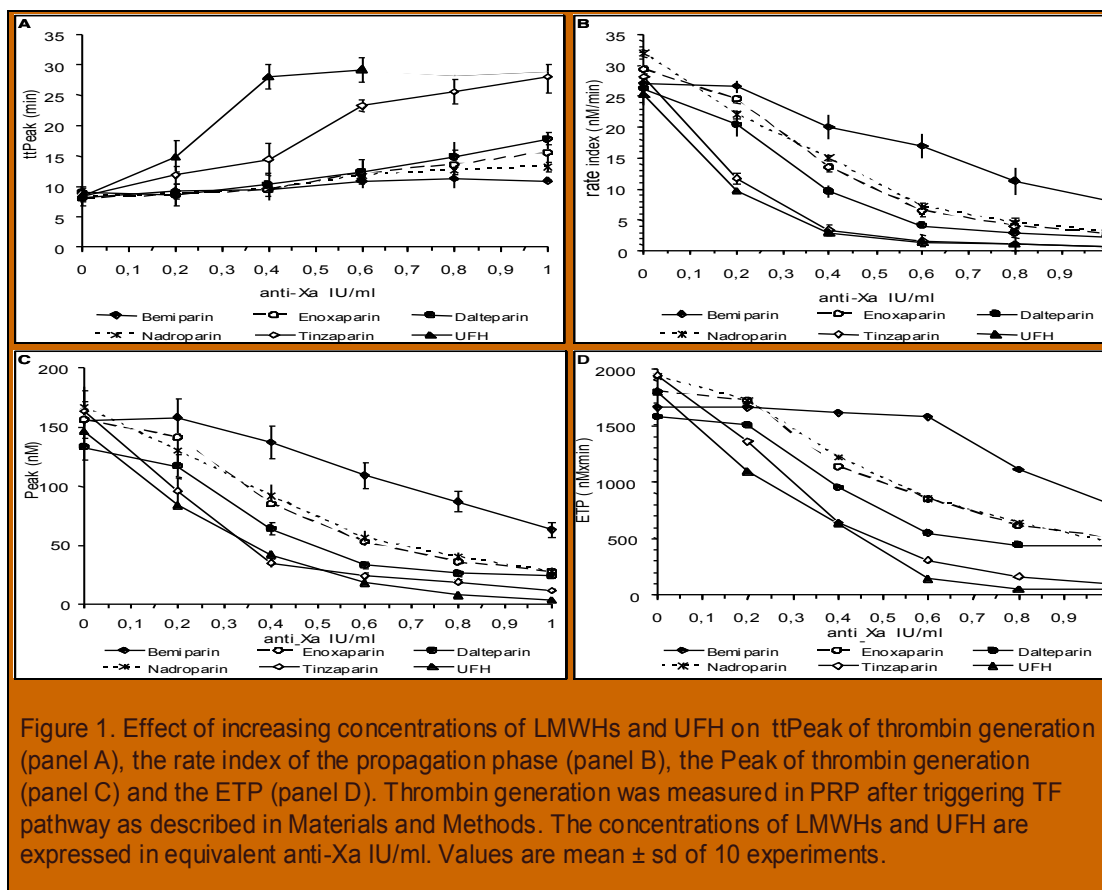
Επίσης αναλύθηκε και ο ρόλος της anti-Xa και anti-IIa δράσης της LMWH (enoxaparin) στις διάφορες φάσεις της δημιουργίας θρομβίνης. Επιπλέον, όλα τα παραπάνω μελετήθηκαν σε διάφορες φάσεις νοσηλείας όπως και μετεγχειρητικά στην διάρκεια της κατ’ οίκον αποθεραπείας τους, σε ασθενείς υψηλού και πολύ υψηλού κινδύνου για θρομβοεμβολική νόσο.

Η χρήση των προαναφερθέντων μεθόδων εκτιμούμε ότι προσέφερε πληροφορίες για την πληρέστερη δυνατή περιγραφή της κατάστασης υπερπηκτικότητας στους ασθενείς πριν να συμπεριληφθούν στην μελέτη, καθώς επίσης και για τις πιθανές αλλαγές που προκάλεσαν οι μεταβολές της αντιθρομβωτικής αγωγής που μελετήθηκε.

Να σημειωθεί ότι απ’ όσο γνωρίζουμε μετα από ανασκοπήση της παγκοσμιας βιβλιογραφίας αυτή είναι **η πρώτη φορά** για την συγκεκριμένη κατηγορία ασθενών

οπου μελεταται σε εξατομικευμενο επιπεδο το προφιλ του πηκτικου μηχανισμου του κάθε ασθενη σε συναρτηση με την αντιθρομβωτικη δραση της XMBH προεγχειρητικα, αμεσα μετεγχειρητικα και προ της χορηγησης της 1<sup>ης</sup> δοσης θρομβοπροφυλαξης, καθ'ολη την μετεγχειρητικη περιοδο (συμφωνα με τις τρεχουσες παγκοσμιες κατευθυντηριες οδηγιες) χορηγησης θρομβοπροφυλαξης με σημειο αναφορας την 8<sup>η</sup> μετεγχειρητικη ημερα (οπου γνωριζουμε ότι η XMBH εκδηλωνει την μεγαστη αντιπηκτικη της δραση), αλλα και 48 ωρες μετα την διακοπη χορηγησης της XMBH. Κατά συνεπεια, είναι η 1<sup>η</sup> φορα που συλλεγουμε πληροφοριες αναφορικα τοσο προς την αντισταση στην XMBH που ενδεχομενωσ μπορει να εμφανισει καποιος ασθενης, οσο και προς το φαινομενο αναπηδωσας ενεργοποιησης της θρομβινογενεσης μετα την αποσυρση της XMBH και 48 ωρες μετα την ληξη της προτεινομενης από τις παγκοσμιες κατευθυντηριες οδηγιες διαρκειας χορηγησης θρομβοπροφυλαξης. Επισης είναι η 1<sup>η</sup> φορα που αναδεικνυεται το ποσοστο τοσο της αντιστασης στην ηπαρινη, οσο και εκεινου της αναπηδωσας ενεργοποιησης της πηξης μετα την διακοπη της XMBH. Τελος είναι επισης η 1<sup>η</sup> φορα οπου αξιολογεται η επικουρικη δραση των αντιαιμοπεταλιακων παραγοντων στις αλλαγες που υφισταται το προφιλ του πηκτικου μηχανισμου σε αυτους τους ασθενεις.

Συμπερασματικά, όταν η γένεση της θρομβίνης πυροδοτείται από την ενεργοποίηση του μονοπατιού του ιστικού παράγοντα παρουσία αιμοπεταλίων και ενώ ο ινικός θρόμβος έχει σχηματισθεί, η ανασταλτική δράση της LMWH στην δημιουργία θρομβίνης κυριαρχείται από την anti-IIa δραστηριότητα που είναι καθοριστική για την μείωση του ενδογενούς δυναμικού της θρομβίνης και την επιμήκυνση των χρονομετρικών παραγόντων στην γένεση της θρομβίνης. Η anti-Xa δράση της LMWH κυρίως προκύπτει από την μείωση του ρυθμού της φάσης εξέλιξης στην γένεση της θρομβίνης. Οι παράμετροι MRI και ETP του θρομβογράμματος είναι οι πιο ευαίσθητες στην anti-Xa δραστηριότητα της XMBH.



Η παραπάνω μέθοδος πιθανώς αποτελεί το εφαλτήριο, καθώς και το μέσο προκειμένου μελλοντικά να επιτευχθεί η δοκιμή αντιπηκτική στρατηγική σε εξατομικευμένο επίπεδο για την κατηγορία αυτή των ασθενών.

Το μονοπάτι του ιστικού παράγοντα ενεργοποιήθηκε χρησιμοποιώντας διαλυμένη θρομβοπλαστίνη (Innovin Dade Behring) υπό την παρουσία εξωγενούς προστεθειμένων προπηκτικών φωσφολιπιδίων (4 $\mu$ M) σε μία μέθοδο που περιγράφηκε και αξιολογήθηκε από την ομάδα του κ.Γεροτζιάφα. Όλη η ποσότητα ελέγχθηκε με δύο διαφορετικές συγκεντρώσεις ιστικού παράγοντα (6 pM και 12 pM).



## **B. ΑΛΛΑ ΤΕΣΤ ΠΗΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ:**

Όλη η ποσότητα πλάσματος ελέγχθηκε:

- Τα D-Dimers μετρήθηκαν με την ποσοτική μελέτη που θα διενεργείται στο εργαστήριό μας.

Μία συσχέτιση μεταξύ όλων αυτών των παραμέτρων θα ερευνηθεί.

- Όλα τα δείγματα που αποκτήθηκαν κατά την διάρκεια της περιόδου όπου χορηγήθηκε LMWH ερευνήθηκαν για anti-Xa δραστηριότητα στο πλάσμα με την μέθοδο ρουτίνας που χρησιμοποιεί το εργαστήριο του κ.Γεροτζιάφα (Stacchome anti-Xa χρωμογονιδιακή μελέτη).

Επιπλέον όλες οι βασικές δοκιμασίες της πήξης (χρόνος προθρομβίνης, χρόνος ενεργοποιημένης θρομβοπλαστίνης και ινωδογόνου) και υπολογισμός των αιμοπεταλίων εκτελέστηκαν σε όλους τους ασθενείς που συμπεριλήφθησαν στην μελέτη και για κάθε αιμοληψία.

- Λεπτομερειακό προφίλ παράγοντα κινδύνου (RFP) για ΦΘΕ όπως καθορίζεται στο Decision Matrix Model καταγράφηκε
- Κλινικά συμπεράσματα (συμπτωματικά αποδεδειγμένη εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση ή πνευμονική εμβολή ή αιφνίδιος θάνατος) καταγράφηκαν (με τηλεφωνική επαφή) έξι μήνες μετά το πέρας της μελέτης. Αυτή η παράμετρος δεν εκτιμήθηκε στατιστικά γιατί το κλινικό συμπέρασμα δεν αποτελεί έναν από τους σκοπούς της μελέτης αυτής.

## **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ**

1. G.T. GEROTZIAFAS, A.D. PETROPOULOU, E.VERDY, M.M. SAMAMA and I. GLALAMY: Effect of the anti-activated factor X (FX) and antithrombin activities of low-molecular-weight heparins upon the phases of thrombin generation. *J of Thromb and Haem*, 2007. (5): 1-8
2. HEMKER H.C., BEGUIN S.: Mode of action of unfractionated and low molecular weight heparins on the generation of thrombin in plasma. *Haemostasis*, 1990. (20): 81-92
3. GEROTZIAFAS G.T., BARA L., BLOCH M.F., MAURIS P.E., SAMAMA M.M.I.: Comparative effects of synthetic pentasaccharide, low-molecular-weight heparin, unfractionated heparin and recombinant hirudin on the generation of factor VIIa and prothrombin activation after coagulation of human plasma. *Blood Coagul. Fibrinolysis*, 1998. (9): 571-80
4. BARA L., PLANES A., SAMAMA M.M.: Occurrence of thrombosis and haemorrhage, relationship with anti-Xa, anti-IIa activities and D-Dimer plasma levels in patients receiving a low molecular weight heparin, enoxaparin or tinzaparin, to prevent deep vein thrombosis after hip surgery. *Br. J. Haematol*, 1999. (104): 230-40
5. BEGUIN J., LINDHOUT T., HEMKER H.C.: The mode of action of heparin in plasma. *Thromb Haemost*, 1988. (60): 457-62
6. WEITZ J.I.: Low-molecular-weight heparins. *N. Engl. J. Med*, 1997. (337): 688-98
7. SAMAMA M.M., GEROTZIAFAS G.T.: Comparative phasmatokinetics of LMWS. *Semin Thromb Haemost*, 2000. (26): 31-8

**Στατιστική:** Οι απολυτες τιμες εκφραζονται ως means+/-standard deviation. Paired T-test χρησιμοποιηθηκε για την συγκριση των μεσων ορων απολυτων τιμων σε κάθε χρονικη στιγμη εντος εκαστης ομαδας ασθενων. Unpaired T-test χρησιμοποιηθηκε για την συγκριση δυο διαφορετικων ομαδων ασθενων. Στατιστικη σημαντικοτητα θεωρηθηκε εκεινη για τιμες  $P < 0.05$ .

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Κανενας από τους ασθενεις που συμπεριληφθηκαν στην μελετη δεν εμφανισε κλινικα η απεικονιστικα σημεια φλεβικης θρομβοεμβολης, αρτηριακου θρομβωτικου επεισοδιου, η θρομβωσης μοσχευματος.

Τα αποτελεσματα της μελετης χωρισθηκαν σε 2 ειδικα μερη αναλογα με τα ευρηματα: Το 1<sup>ο</sup> ειδικο μερος συμπεριελαβε τα αποτελεσματα και τα συμπερασματα που εξηχθησαν από την ερμηνεια τους, από την συγκριση των δυο διαφορετικων ομαδων ορθοπεδικων ασθενων (εκεινων που υποβληθηκαν σε ολικη αρθροπλαστικη γονατος και εκεινων που υποβληθηκαν σε ολικη αρθροπλαστικη ισχιου) στις διαφορες χρονικες στιγμες της μελετης.

Το 2<sup>ο</sup> ειδικο μερος της μελετης συμπεριελαβε τα αποτελεσματα και τα συμπερασματα που εξηχθησαν από την ερμηνεια τους, από την συγκριση της ορθοπεδικης ομαδας με την χαμηλοτερη θρομβογεννητικοτητα (ομαδα που υποβληθηκε σε ολικη αρθροπλαστικη ισχιου) οταν λαμβανει την ενδεδειγμενη από τις παγκοσμιες κατευθυντηριες οδηγιες θρομβοπροφυλαξη με ενοξαπαρινη σε δοσολογια και διαρκεια χορηγησης και μιας ομαδας υψηλοτερης θρομβογεννητικοτητας (αγγειοχειρουργικοι ασθενεις που υποβληθηκαν σε μηρο-ιγνυακη παρακαμψη) και ελαβαν την ιδια σε δοσολογια και διαρκεια θρομβοπροφυλαξη με ενοξαπαρινη αλλα επιπλεον τους χορηγηθηκε αντιαιμοπεταλιακος παραγοντας (κλοπιδογρελη στην ενδεδειγμενη δοσολογια) ως προφυλαξη εναντια στην αθηρωματικη τους νοσο. Αυτην την συνδυασμενη δραση μελεταμε στην κατηγορια αυτην με την χρηση των παραμετρων του Θρομβογραμματος στις διαφορες χρονικες στιγμες της μελετης.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ 1<sup>ο</sup> ΕΙΔΙΚΟΥ ΜΕΡΟΥΣ :

*Μελέτη θρομβογεννητικότητας στους ορθοπεδικούς ασθενείς- σύγκριση ασθενών που υποβλήθηκαν σε Ολική Αρθροπλαστική Ισχίου με εκείνους που υποβλήθηκαν σε Ολική Αρθροπλαστική Γονατός*

*Προεγχειρητικά (ημέρα 0):* η σύγκριση των παραμετρών του θρομβογραμματος μεταξύ των 2 ομάδων ασθενών και με τιμές αναφοράς εκείνες της ομάδας ελέγχου δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές (Πιν.1).

*Επίδραση της επέμβασης στην θρομβινογένεση (ημέρα X):* 7 ώρες μετά το πέρας της επέμβασης και 1 ώρα πριν την 1<sup>η</sup> δόση ΧΜΒΗ οι ασθενείς που υποβλήθηκαν σε **αρθροπλαστική ισχίου** δεν διαφοροποιήσαν στατιστικά σημαντικά τις τιμές των παραμετρών του θρομβογραμματος όταν συγκρίνονται με τις αντίστοιχες προεγχειρητικές της ημέρας 0. Αντιθέτως, οι ασθενείς που υποβλήθηκαν σε **αρθροπλαστική γονατός** αύξησαν την θρομβογεννητικότητα τους σε σύγκριση με την ημέρα 0 (στατιστικά σημαντική ελάττωση των lag-time & tt-Peak p:0.02 & 0.03 αντίστοιχα, και αύξηση του MRI p:0.01) (Πιν.1).

**Πιν.1:** Η θρομβινογένεση στους ασθενείς που υποβλήθηκαν σε ολική αρθροπλαστική γονατός ή ισχίου προεγχειρητικά (Ημέρα 0) δεν εμφανίζει στατιστικά σημαντικές διαφορές με την ομάδα ελέγχου. 7 ώρες μετά το πέρας της επέμβασης (Ημέρα X) η θρομβινογένεση στους ασθενείς που υποβλήθηκαν σε ολική αρθροπλαστική ισχίου δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντική διαφορά σε σύγκριση με εκείνη προεγχειρητικά (Ημέρα 0), ενώ σε εκείνους που υποβλήθηκαν σε ολική αρθροπλαστική γονατός η θρομβινογένεση αυξήθηκε την Ημέρα X σε σύγκριση με την Ημέρα 0.

Παραμετροί Θρομβογραμματος	Ομάδα ελέγχου	THR patients		TKR patients	
		Ημέρα 0	Ημέρα X	Ημέρα 0	Ημέρα X
lag-time (min)	2.52±0.56	2.8±0.7	2.9 ± 1.7	3.3 ± 0.4	<b>2.9 ± 0.5 *</b>
tt-Peak (min)	5.29±0.98	5.8±1.0	5.5 ± 2.4	6.4 ± 0.9	<b>5.5 ± 0.8 *</b>
Peak (nM)	288±48	255.3±56.4	224.1±81.9	266.7±77.5	270.7±59.5
ETP (nM x min)	1498±225	1313±306	1135±381	1492 ± 413	1442±320
MRI (nM/min)	109±33	88.9±31.7	97.9 ± 50.7	94.2 ± 41.7	<b>111.7±38.7</b> *

\*: p < 0.05; comparison of column with D0 of the same group of patients

**Επιδραση της θρομβοπροφυλαξης με ενοξαπαρινη στην θρομβινογενεση κατά την μετεγχειρητική περιοδο χορηγησης της (ημερα X+8):** στους ασθενεις που υποβληθηκαν σε **αρθροπλαστική ισχιου** η ενοξαπαρινη επιμηκυνε τις χρονομετρικες παραμετρους lag-time & tt-Peak συγκριτικά τοσο με την ημερα 0, οσο και με την ημερα X (p: 0.01, 0.01, 0.04 και 0.03 αντιστοιχως). Η συγκριση των υπολοιπων παραμετρων του θρομβογραμματος μεταξυ των χρονικων στιγμων 0, X, και X+8 δεν ανεδειξε στατιστικα σημαντικες διαφορες (Πιν.2). Στους ασθενεις που υποβληθηκαν σε **αρθροπλαστική γονατος** η ενοξαπαρινη ανεστρεψε το προθρομβωτικο status που παρατηρηθηκε την ημερα X δια μεσου της επιμηκυνσης των χρονομετρικων παραμετρων lag-time & tt-Peak (p: 0.003 και 0.02 αντιστοιχως στην συγκριση μεταξυ ημερας X και ημερας X+8). Η συγκριση των υπολοιπων παραμετρων του θρομβογραμματος μεταξυ των χρονικων στιγμων X, και X+8 δεν ανεδειξε στατιστικα σημαντικες διαφορες (Πιν.3).

**Πιν. 2:** Συγκριση της ομαδας ασθενων που υποβληθηκε σε ολικη αρθροπλαστική ισχιου (Ημερα 0 vs Ημερα X+8 και Ημερα X vs Ημερα X+8)

Παραμετροι Θρομβογραμματος	Ημερα 0	Ημερα X	Ημερα X+8	P	P
				0 vs X+8	X vs X+8
<b>lag-time (min)</b>	2.8 ± 0.7	2.9 ± 1.7	4.8 ± 2.7	<b>0.01</b>	<b>0.01</b>
	255.3 ±	224.1 ±			
<b>Peak (nm)</b>	56.4	81.9	240.4 ± 126.2	0.54	0.81
<b>tt-Peak (min)</b>	5.8 ± 1.0	5.5 ± 2.4	7.8 ± 3.4	<b>0.04</b>	<b>0.03</b>
<b>ETP (nM x min)</b>	1313 ± 306	1135 ± 381	1240 ± 473	0.64	0.36
<b>MRI (nM/min)</b>	88.9 ± 31.7	97.9 ± 50.7	96.2 ± 79.4	0.85	0.81

**Πιν. 3:** Συγκριση της ομάδας ασθενων που υποβλήθηκε σε ολικη αρθροπλαστική γονατος (Ημερα 0 vs Ημερα X+8 και Ημερα X vs Ημερα X+8)

Παραμετροι	Ημερα 0	Ημερα X	Ημερα X+8	P	P
Θρομβογραμματος				0 vs X+8	X vs X+8
<b>lag-time (min)</b>	3.3 ± 0.4	2.9 ± 0.5	4.4 ± 1.5	0.03	<b>0.003</b>
	266.7 ±	270.7 ±			
<b>Peak (nm)</b>	77.5	59.5	290.1 ± 121.6	0.32	0.41
<b>tt-Peak (min)</b>	6.4 ± 0.9	5.5 ± 0.8	7.2 ± 2.4	0.29	<b>0.02</b>
<b>ETP (nM x min)</b>	1492 ± 413	1442 ± 320	1479 ± 568	0.82	0.67
		111.7 ±			
<b>MRI (nM/min)</b>	94.2 ± 41.7	38.7	119.7 ± 74.4	0.15	0.57

*Αξιολογηση της αναπηδωσας ενεργοποιησης του θρομβογεννητικου μηχανισμου μετα την διακοπη της θρομβοπροφυλαξης:* στους ασθενεις που υποβλήθηκαν σε **αρθροπλαστική ισχιου** 2 ημερες μετα την διακοπη χορηγησης της ενοξαπαρινης (ημερα X+32) παρατηρειται μια στατιστικα σημαντικη μειωση των χρονομετρικων παραμετρων lag-time & tt-Peak σε σχεση με την ημερα X+8, αλλα οι υπολοιπες παραμετροι του θρομβογραμματος δεν παρουσιασαν στατιστικα σημαντικη διαφοροποιηση (Πιν.4). Στους ασθενεις που υποβλήθηκαν σε **αρθροπλαστική γονατος** μια στατιστικα σημαντικη αυξηση της θρομβογεννητικοτητας παρατηρηθηκε 2 ημερες μετα την διακοπη χορηγησης της ενοξαπαρινης (στατιστικα σημαντικη αυξηση των ETP, Peak, & MRI με p< 0.05 για ημερα 0 και X+8 vs. Ημερα X+17 και στατιστικα σημαντικη μειωση του lag-time & tt-Peak με p: 0.053 & 0.08 αντιστοιχως για τις ιδιες ημερες) (Πιν.5).

**Πιν. 4:** Συγκριση της ομαδας ασθενων που υποβληθηκε σε ολικη αρθροπλαστικη ισχίου για τις ημερες 0 vs X+32, X vs X+32 και X+8 vs X+32

Παραμετροι Θρομβογραμματος	Ημερα 0	Ημερα X	Ημερα X+8	Ημερα X+32	P	P	P
					0 vs X+32	X vs X+32	X+8 vs X+32
<b>lag-time (min)</b>	2.08±0.7	2.9±1.7	4.8±2.7	2.6 ± 0.5	0.46	0.55	<b>0.03</b>
<b>Peak (nm)</b>	255.3±56.4	224.1±81.9	240.4±126.2	290.3±78.5	0.28	0.08	0.96
<b>tt-Peak (min)</b>	5.8±1.0	5.5±2.4	7.8±3.4	5.2±0.9	0.19	0.7	<b>0.03</b>
<b>ETP (nM x min)</b>	1313±306	1135±381	1240±473	1397±364	0.58	0.13	0.78
<b>MRI (nM/min)</b>	88.9±31.7	97.9 ± 50.7	96.2±79.4	116.3±49.6	0.19	0.42	0.86

**Πιν. 5:** Συγκριση της ομαδας ασθενων που υποβληθηκε σε ολικη αρθροπλαστικη γονατος για τις ημερες 0 vs X+17, X vs X+17 and X+8 vs X+17

Παραμετροι Θρομβογραμματος	Ημερα 0	Ημερα X	Ημερα X+8	Ημερα X+17	P	P	P
					0 vs X+17	X vs X+17	X+8 vs X+17
<b>lag-time (min)</b>	3.3±0.4	2.9±0.5	4.4 ± 1.5	3.3 ± 0.6	0.94	<b>0.0004</b>	<b>0.05</b>
<b>Peak (nm)</b>	266.7±77.5	270.7±59.5	290.1±121.6	339.0±45.1	<b>0.003</b>	<b>0.0001</b>	0.13
<b>tt-Peak (min)</b>	6.4±0.9	5.5 ± 0.8	7.2 ± 2.4	5.5 ± 0.7	0.09	<b>0.01</b>	0.08
<b>ETP (nM x min)</b>	1492±413	1442±320	1479±568	1677±306	<b>0.03</b>	<b>0.002</b>	0.17
<b>MRI (nM /min)</b>	94.2±41.7	111.7±38.7	119.7±74.4	140.5±26.7	<b>0.001</b>	<b>0.001</b>	0.32

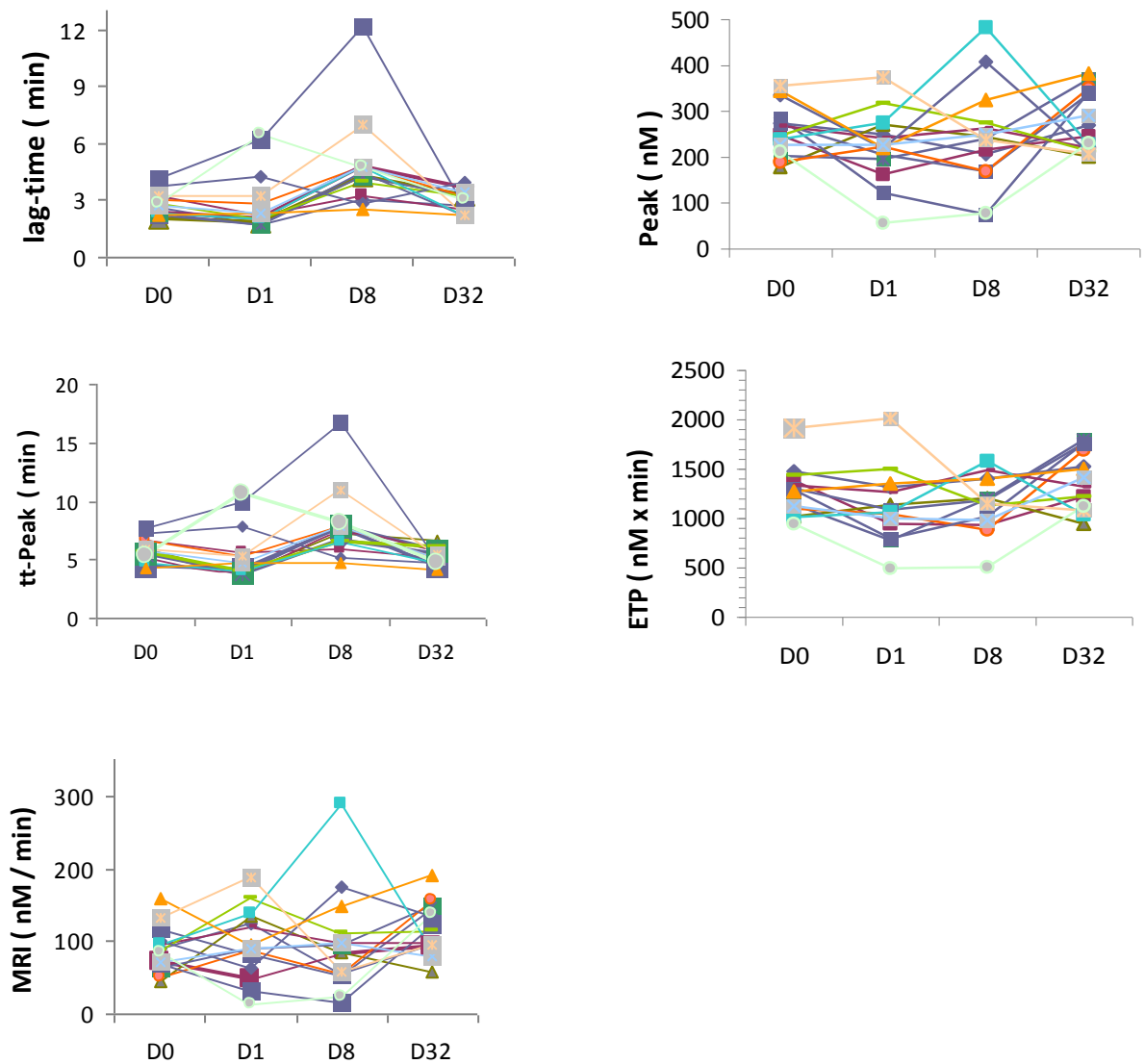
**Εξατομικευμένη διαφοροποίηση της ανταποκρισης στην θρομβοπροφυλαξη με ενοξαπαρινη :** Οι αυξημένες τιμές των παραμετρών Θρομβογραμματος ETP και MRI την ημέρα X+8 όπου και αναμένεται η ισχυροτερή αντιθρομβωτική (αντι-Χα) δράση της ενοξαπαρινης σε σύγκριση με τις τιμές των ιδίων βιολογικών δεικτών θρομβινογενεσης όταν μετρήθηκαν προεγχειρητικά ή/και 7 ώρες μετά την χειρουργική επέμβαση και πριν την έναρξη της αντιπηκτικής αγωγής με ενοξαπαρινη, αναδεικνύουν κάποιου είδους βιολογική αντίσταση στην δράση της ενοξαπαρινης. Περαιτέρω αύξηση των τιμών στους ίδιους βιολογικούς δείκτες (παραμετρους) του Θρομβογραμματος δυο ημέρες μετά την αποσυρση (διακοπή) χορήγησης της ενοξαπαρινης σε σύγκριση με τις ήδη αυξημένες τιμές τους την ημέρα X+8 αναδεικνύουν το φαινόμενο της αναπηδώσας ενεργοποίησης της θρομβινογενεσης μετά την διακοπή της θρομβοπροφυλαξης κατά την μετεγχειρητική περίοδο.

Έτσι, ανάμεσα στους ασθενείς που υποβλήθηκαν σε **αρθροπλαστική ισχίου** 10 από αυτούς (67%) αύξησαν την απόλυτη τιμή μέσου ορού του ETP την ημέρα X+8 σε σύγκριση με την ημέρα X αποκαλύπτοντας έτσι εικόνα αντίστασης στην ενοξαπαρινη ( 7 από αυτούς αύξησαν επιπλέον και τον δείκτη MRI). Τέσσερις από αυτούς τους 10 ασθενείς (40%) αύξησαν περαιτέρω την απόλυτη τιμή μέσου ορού του ETP την ημέρα X+32 σε σύγκριση με την ημέρα X+8 αποκαλύπτοντας έτσι εικόνα αναπηδώσας ενεργοποίησης του πήκτικου μηχανισμού μετά την διακοπή χορήγησης της XMBH (2 από αυτούς αύξησαν επιπλέον και τον δείκτη MRI) (Εικ.1).

Ανάμεσα στους ασθενείς που υποβλήθηκαν σε **αρθροπλαστική γονατός** 12 από αυτούς (75%) αύξησαν την απόλυτη τιμή μέσου ορού του ETP και του MRI την ημέρα X+8 σε σύγκριση με την ημέρα X αποκαλύπτοντας έτσι εικόνα αντίστασης στην ενοξαπαρινη, ενώ 8 από τους 12 τελευταίους (67%) αύξησαν περαιτέρω την απόλυτη τιμή μέσου ορού του ETP (και από αυτούς 4 αύξησαν επίσης και τον δείκτη MRI) την ημέρα X+17 σε σύγκριση με την ημέρα X+8 αποκαλύπτοντας έτσι εικόνα αναπηδώσας ενεργοποίησης του πήκτικου μηχανισμού μετά την διακοπή χορήγησης της XMBH (Εικ.2).

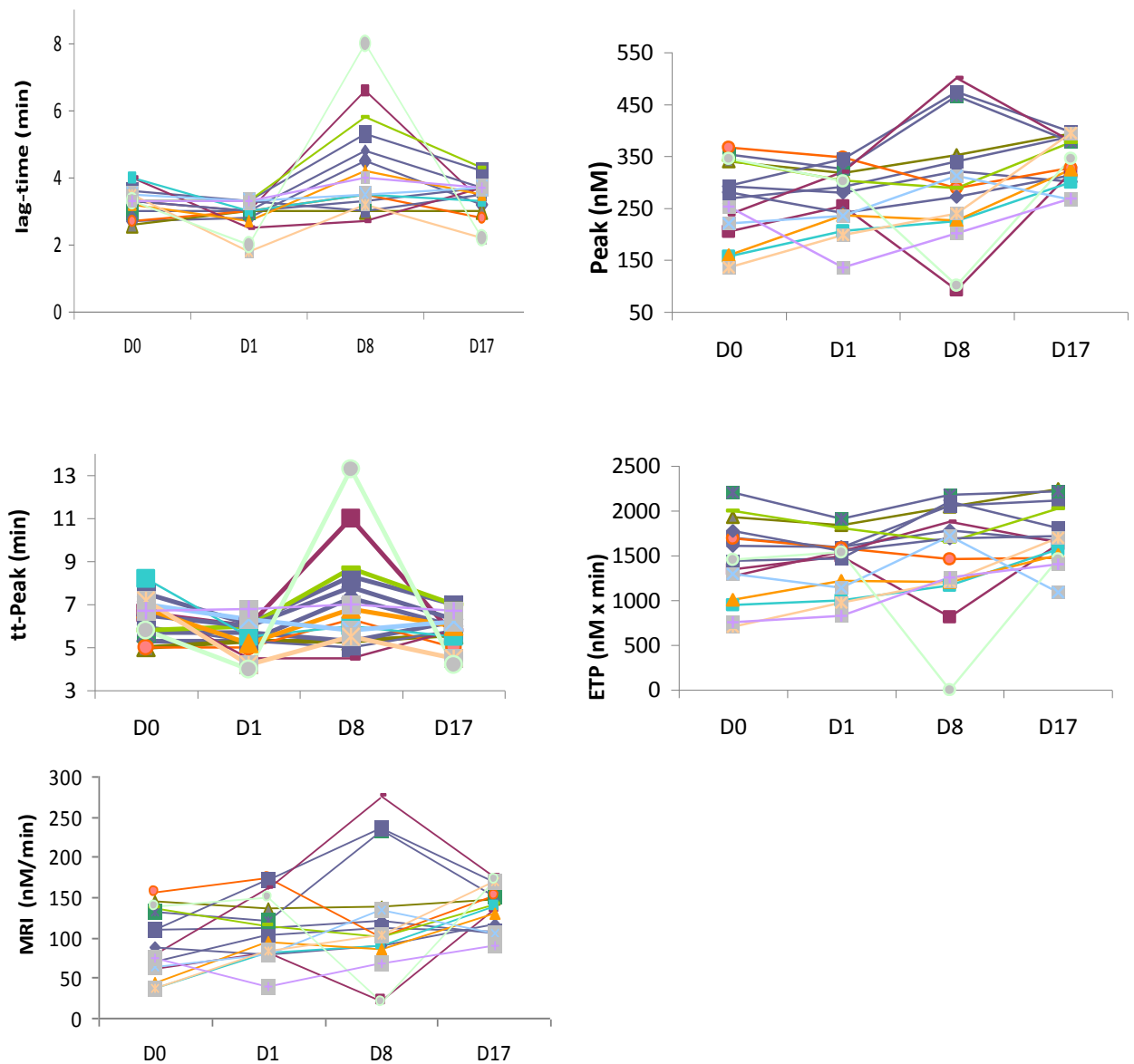


**Εικ. 1**



**Εικ. 1:** Εξατομικευμένη διαφοροποίηση (για κάθε ασθενή ξεχωριστά) της ανταποκρισης στην ενοξαπαρίνη για την ομάδα ασθενών που υποβλήθηκαν σε ολική αρθροπλαστική ισχίου με την χρήση Θρομβογραμματος για την περίοδο των 32 ημερών διάρκειας της μελέτης. Αυξημένες τιμές των ETP & MRI την Ημερα X+8 (αύξηση του MRI σε 7 ασθενείς και του ETP σε 10 ασθενείς) αναδεικνύουν βιολογική αντίσταση στην ενοξαπαρίνη. Περαιτέρω αύξηση αυτών των παραμετρών την Ημερα X+32 (αύξηση του ETP σε 4 ασθενείς και του MRI σε 2 ασθενείς) αναδεικνύουν το φαινόμενο της αναπηδωσας ενεργοποίησης της θρομβινογενεσης μετά την αποσυρση της ενοξαπαρίνης.

**Εικ. 2**



**Εικ. 2:** Εξατομικευμένη διαφοροποίηση (για κάθε ασθενή ξεχωριστά) της ανταποκρισης στην ενοξαπαρινή για την ομάδα ασθενών που υποβλήθηκαν σε ολική αρθροπλαστική γονατός με την χρήση Θρομβογραμματος για την περίοδο των 17 ημερών διάρκειας της μελέτης. Αυξημένες τιμές των παραμετρών ETP & MRI την Ημερα X+8 (που παρατηρήθηκαν σε 12 ασθενείς) αναδεικνύουν βιολογική αντίσταση στην ενοξαπαρινή. Περαιτέρω αύξηση αυτών των παραμετρών την Ημερα X+17 (αύξηση του ETP σε 8 ασθενείς και του MRI σε 4 ασθενείς) αναδεικνύουν το φαινόμενο της αναπηδωσας ενεργοποίησης της θρομβινογενεσης μετα την αποσυρση της ενοξαπαρινης.

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΤΟΥ 1<sup>ου</sup> ΕΙΔΙΚΟΥ ΜΕΡΟΥΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Σε αυτό ειδικό μέρος της μελέτης αναλυσαμε τις μεταβολές στην διαδικασία της θρομβινογενεσης που προκλήθηκαν εξαιτίας της χειρουργικής επεμβασης (ολική αρθροπλαστική γονατος ή ολική αρθροπλαστική ισχίου), καθώς και τις μεταβολές στην διαδικασία της θρομβινογενεσης που προκλήθηκαν στους ασθενείς αυτούς κατά την μετεγχειρητική περίοδο σε συνδυασμό με την χορήγηση θρομβοπροφυλαξής με ενοξαπαρίνη στην συνιστώμενη δόση και διάρκεια χορήγησης σύμφωνα με τις τρέχουσες παγκόσμιες κατευθυντήριες οδηγίες. Επιπροσθέτα, αξιολογήσαμε στους ασθενείς αυτούς την θρομβογεννητική τους κατάσταση 48 ώρες μετά την διακοπή χορήγησης της θρομβοπροφυλαξής με ενοξαπαρίνη.

Επτά ώρες μετά το πέρας της επεμβασης και πριν την έναρξη χορήγησης θρομβοπροφυλαξής με ενοξαπαρίνη (Ημέρα X), στους ασθενείς που υποβλήθηκαν σε **αρθροπλαστική γονατος** διαπιστώθηκε μια κατάσταση υπερπηκτικότητας, η οποία εκφράζεται από μια στατιστικά σημαντική μείωση των χρονομετρικών (κινητικών) παραμετρών lag-time & tt-Peak (γεγονός που μεταφράζεται ως ταχύτερη πυροδότηση της φάσης έναρξης του πήκτικου μηχανισμού, όπως και του απαιτούμενου χρόνου για την παραγωγή της μέγιστης ποσότητας θρομβίνης στο πλάσμα), καθώς και από μια στατιστικά σημαντική αύξηση της παραμέτρου MRI (αύξηση στις «εργατοώρες» παραγωγής θρομβίνης). Κατι αναλόγο όμως **δεν** διαπιστώθηκε στους ασθενείς που υποβλήθηκαν σε **αρθροπλαστική ισχίου**, γεγονός που υποδηλώνει η αρθροπλαστική γονατος ως εγχειρητική διαδικασία έχει ισχυρότερη θρομβογενετική επίδραση στους ασθενείς σε σύγκριση με την αρθροπλαστική ισχίου. Η παρατήρηση αυτή στην μελέτη μας εναρμονίζεται πλήρως με τα τρέχοντα κλινικά στοιχεία της παγκόσμιας βιβλιογραφίας που δείχνουν ότι η αρθροπλαστική γονατος συσχετίζεται με υψηλότερα ποσοστά μετεγχειρητικών επεισοδίων Φλεβικής ΘρομβοΕμβολής (ΦΘΕ) σε σύγκριση με την ολική αρθροπλαστική ισχίου.

Δεδομένου ότι η 1<sup>η</sup> δόση θρομβοπροφυλαξής στην πλειονότητα των νοσηλευτικών ιδρυμάτων παγκοσμίως χορηγείται 8-12 ώρες μετά το πέρας της επεμβασης και σύμφωνα με τα ευρήματά μας 7 ώρες μετά το πέρας της επεμβασης, προκύπτει εμφανώς η διαπίστωση υπαρξης ενός χρονικού «παραθύρου» από το πέρας της επεμβασης έως την χορήγηση της 1<sup>ης</sup> δόσης θρομβοπροφυλαξής όπου οι ασθενείς αυτοί χαρακτηρίζονται από υπερπηκτική κατάσταση και εκτιθενται σε κίνδυνο

φλεβικού θρομβοεμβολικού επεισοδίου. Αυτή η βιολογική αποδειξη θα μπορούσε να δικαιολογήσει προτερη χορήγηση της 1<sup>ης</sup> δόσης θρομβοπροφυλαξής, όπως εκείνη με την περίπτωση των fondaparinux, rivaroxaban & dabigatran [1, 2].

Η ενοξαπαρινη χαρακτηρίζεται από επαρκή αντιπηκτική δράση, όπως αυτό αποδεικνύεται από τα ευρήματα της μελέτης μας που καταγράφονται την 8<sup>η</sup> μετεγχειρητική ημέρα (Ημέρα X+8). Αξιζεί να σημειωθεί ότι στην μελέτη μας η αντιθρομβωτική δράση της ενοξαπαρινης αξιολογήθηκε σε εκάστη από τις μετρήσεις σε χρονική απόσταση 23 ωρών μετά την τελευταία υποδορία χορήγηση θρομβοπροφυλαξής. Ο σχεδιασμός της μελέτης κατ'αυτόν τον τρόπο με στοιχεία σε επιστημονική βάση την ενδείξει ότι η αντιθρομβωτική δράση της ενοξαπαρινης χορηγούμενη στην δόση των 4000 anti-Xa IU υποδοριώς μια φορά ημερησίως οντως παραμένει καθ'ολή την διάρκεια των 24 ωρών του ημερησίου θεραπευτικού κύκλου. Και στις δύο ομάδες ασθενών του 1<sup>ου</sup> ειδικού μέρους της μελέτης μας η χορήγηση ενοξαπαρινης αναστείλει επαρκώς την θρομβινογένεση κατά την διάρκεια της μετεγχειρητικής περιόδου (ευρήματα της 8<sup>ης</sup> μετεγχειρητικής ημέρας). Επίσης στο σημείο αυτό να σημειωθεί ότι δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις τιμές των παραμετρών θρομβογραμμάτος που μετρήθηκαν την 8<sup>η</sup> μετεγχειρητική ημέρα μεταξύ των ασθενών που υποβλήθηκαν σε αρθροπλαστική γονατός και εκείνων που υποβλήθηκαν σε αρθροπλαστική ισχίου όταν αυτές συγκρίθηκαν μεταξύ τους.

Η ενοξαπαρινη έχει διαφορετική επίδραση σε κάθε μια ξεχωριστή παραμετρο του θρομβογραμμάτος. Η ενοξαπαρινη εκδηλώνει σημαντικότερη επίδραση στις παραμετρους MRI & ETP. Οι κινητικές παραμετροί της θρομβινογένεσης (όπως είναι η MRI) βρέθηκαν να είναι πιο ευαίσθητες στην ανίχνευση της αντιθρομβωτικής δράσης της ενοξαπαρινης. Η παραμετρος lag-time παρουσίασε στατιστικά σημαντική αύξηση και στις δύο ομάδες ασθενών την 8<sup>η</sup> μετεγχειρητική ημέρα αποδεικνύοντας έτσι ότι η θρομβοπροφυλαξη με ενοξαπαρινη απαιτεί αρκετές ημέρες κατά την μετεγχειρητική περίοδο προκειμένου να εγκαταστήσει στατιστικά σημαντική αναστολή της θρομβινογένεσης.

Στους ασθενείς που υποβλήθηκαν σε **αρθροπλαστική γονατός** η διακοπή της θρομβοπροφυλαξής με ενοξαπαρινη μετά από 15 ημέρες χορήγηση καταλήγει σε αναπηδωσα ενεργοποίηση και ενδυναμωση του πήκτικου μηχανισμού, γεγονός που αποδεικνύεται από την στατιστικά σημαντική αύξηση της θρομβινογένεσης την 17<sup>η</sup> μετεγχειρητική ημέρα (48 ώρες μετά την αποσυρση της ενοξαπαρινης), όταν αυτή

συγκρίνεται τόσο με την θρομβινογένεση προεγχειρητικά (Ημερα 0), όσο και με την θρομβινογένεση 7 ώρες μετά το πέρας της επέμβασης (Ημερα X).

Στους ασθενείς που υποβλήθηκαν σε **ολική αρθροπλαστική ισχίου** δεν παρατηρήθηκε αναπηδωσα ενεργοποίηση της υπερπηκτικότητας μετά την διακοπή της θρομβοπροφυλαξής με ενοξαπαρίνη όταν αυτή χορηγήθηκε για 30 ημέρες.

Η διαφορετική αυτή συμπεριφορά μεταξύ των δύο αυτών ομάδων ασθενών θα μπορούσε να συσχετισθεί με το υψηλότερο θρομβογεννητικό δυναμικό της αρθροπλαστικής γονατός ως εγχειρητική διαδικασία όταν αυτή συγκρίνεται με την αρθροπλαστική ισχίου. Μπορούμε να καταλήξουμε έτσι στο συμπέρασμα ότι μια εγχειρητική διαδικασία που επιφέρει υψηλότερο βαθμό υπερπηκτικότητας (όπως είναι η ολική αρθροπλαστική γονατός [3] ) απαιτεί επιμηκυσμένη περίοδο χορήγησης θρομβοπροφυλαξής προκειμένου να εγκατασταθεί επαρκής και μόνιμη καταστολή της θρομβινογένεσης. Το σκεπτικό αυτό υποστηρίζεται από τα στοιχεία κλινικών μελετών παγκοσμίως τα οποία οδήγησαν στη υιοθέτηση (βάση κλινικών και όχι βιολογικών ενδείξεων) στην χρονική επιμήκυνση της χορήγησης θρομβοπροφυλαξής μετά από ολική αρθροπλαστική γονατός, τακτική η οποία υιοθετήθηκε και από το 9<sup>ο</sup> ACCP [4]. Το ερώτημα στους ασθενείς που υποβάλλονται σε αρθροπλαστική γονατός η παρατεταμένη χορήγηση θρομβοπροφυλαξής με XMBH καταλήγει σε μόνιμη επαναφορά της θρομβινογένεσης στα φυσιολογικά –προ της επέμβασης- επίπεδα μετά την διακοπή της θεραπείας, όπως ακριβώς συμβαίνει στους ασθενείς που υποβάλλονται σε αρθροπλαστική ισχίου, χρειάζεται να ερευνηθεί σε μελλοντική βάση.

Οι κλινικές κατευθυντήριες οδηγίες συστήνουν προφυλαξη με XMBH κατά της ΦΘΕ για μια ελάχιστη περίοδο 10-14 ημερών μετά από ολική αρθροπλαστική ισχίου ή γονατός (**βαθμός συστάσης Ιβ**), ή εκτεταμένη θρομβοπροφυλαξη έως και 35 ημέρες κατά την περίοδο αποθεραπείας του ασθενή (**βαθμός συστάσης ΙΙβ**) [5, 6-18]

Η εκτεταμένη θρομβοπροφυλαξη με XMBH για 35 ημέρες μετά από αρθροπλαστική ισχίου κατέληξε σε κλινικά σημαντική μείωση στην συχνότητα της φλεβογραφικά διαπιστωμένης ΦΘΕ [19, 5]. Τα ανεπαρκή κλινικά στοιχεία αναφορικά προς την βέλτιστη διάρκεια θρομβοπροφυλαξής με XMBH σε ασθενείς που υποβάλλονται σε ολική αρθροπλαστική γονατός οδηγεί στο να υποστηρίζεται εμπειρικά η υιοθέτηση της παρατεταμένης χορήγησης θρομβοπροφυλαξής με XMBH ομοίως όπως χορηγείται στους ασθενείς που υποβάλλονται σε αρθροπλαστική ισχίου (35 ημέρες). Δεν υπάρχει προς το παρόν καθαρή συναινέση από μέρους της

παγκοσμιας επιστημινικής κοινότητας σχετικά με την βελτιστή διάρκεια χορήγησης θρομβοπροφυλαξής στους ασθενείς που υποβάλλονται σε μείζονα ορθοπεδική επέμβαση και ειδικά όσον αφορά εκείνους που υποβάλλονται σε ολική αρθροπλαστική γονατός [6].

Η σφαιρική αξιολόγηση της αντιθρομβωτικής δραστηριότητας των ΧΜΒΗ με την χρήση της ανάλυσης της θρομβινογένεσης μέσω του θρομβογραμματος κατά την διάρκεια της μετεγχειρητικής περιόδου των ασθενών, θα μπορούσε να δώσει κάποιες σημαντικές απαντήσεις στην ερώτηση «ποια είναι η βελτιστή χρήση των αντιπηκτικών παραγόντων μετά από μείζονα ορθοπεδική επέμβαση» [20]. Εως τώρα η κλινική συσχέτιση της σημασίας της θρομβινογένεσης για την εκτίμηση της αντιθρομβωτικής δράσης των ΧΜΒΗ δεν έχει συστηματικά αξιολογηθεί. Οι Altman et. al μελέτησαν την αντιθρομβωτική δράση της ενοξαπαρίνης χρησιμοποιώντας την δοκιμασία της θρομβινογένεσης σε 20 υγιείς εθελόντες, όπου ο αντιπηκτικός παράγοντας χορηγήθηκε για 7 ημέρες και ακολούθησε μια περίοδος βιολογικού «ξεπλυματος» διάρκειας επίσης 7 ημερών [21]. Αυτοί κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η μέση συγκεντρωση της αντι-Χα επίδρασης (IU/ml) αυξήθηκε κατά τις ημέρες χορήγησης 3 και 7, οι παράμετροι lag-time & tt-Peak επιμηκύνθηκαν στατιστικά σημαντικά και η παράμετρος ETP τις ημέρες 3 και 7 μετά την διακοπή χορήγησης της ενοξαπαρίνης μειώθηκε στατιστικά σημαντικά σε σύγκριση με τις τιμές των επιπέδων αναφοράς [21]. Οι Green et al μελέτησαν την επιπτώση της εγχειρητικής διαδικασίας στην αρθροπλαστική γονατός και ισχίου, όπως και την αντιπηκτική δράση των δαλτεπαρίνη και rivaroxaban στην θρομβινογένεση 24 ώρες μετά το πέρας της επέμβασης [22]. Κατέληξαν ότι σε ασθενείς που υποβάλλονται σε ολική αρθροπλαστική ισχίου ή γονατός, η θρομβινογένεση αυξάνει κατά την διάρκεια της εγχειρητικής διαδικασίας και η χορήγηση rivaroxaban ή δαλτεπαρίνης μειώνει την θρομβινογένεση εντός 24 ωρών μετά το πέρας της επέμβασης [22]. Είναι ξεκαθαρό ότι χρειάζονται περαιτέρω μελέτες προκειμένου να εκτιμηθεί η κλινική σημασία όλων αυτών των παραμετρών.

Τα στοιχεία που παρουσιάζονται σε αυτό το ειδικό μέρος της μελέτης μας αναδεικνύουν επίσης ότι μια φτωχή αναστολή της θρομβινογένεσης από χορηγούμενη θρομβοπροφυλαξή με ημερησια δόση 4000 αντι-Χα IU ενοξαπαρίνης είναι ένα συχνό φαινόμενο σε ασθενείς που υποβάλλονται σε μείζονες ορθοπεδικές επεμβασεις. Η εξατομικευμένη διαφοροποίηση στη αναστολή της θρομβινογένεσης μεταξύ των ασθενών και των δυο ορθοπεδικών ομάδων που έλαβαν την ίδια δόση ενοξαπαρίνης

χωρίς προσαρμογή της δόσης και βιολογικό monitoring θέτει σε αμφισβήτηση την χρήση προκαθορισμένων δόσεων αντιπηκτικών και εγείρει το ερώτημα εάν αυτή η μεταβλητότητα εισαγει και εγκαθιδρύει την εννοια της βιολογικής αντίστασης ή υπερευαισθησίας στην θεραπεία με τους συγκεκριμένους αντιπηκτικούς παραγοντες. Παρ'ότι κατά την διάρκεια της παρούσας μελέτης δεν καταγραφηκαν θρομβωτικά ή αιμορραγικά επεισοδια, ο μικρός αριθμός ασθενών που συμπεριλήφθησαν στην μελέτη δεν μας επιτρέπει να καταλήξουμε σε ένα ασφαλές συμπέρασμα για την κλινική σημασία αυτού του ευρηματος μας. Η κλινική σημασία της βιολογικής αντίστασης στην αντιθρομβωτική θεραπεία με ΧΜΒΗ και η εν δυνάμει συσχέτιση της με αποτυχία της αντιπηκτικής αγωγής μενουν να διερευνηθούν προοπτικά. Αντίσταση στην χορήγηση θεραπείας με ΧΜΒΗ έχει ήδη καταγραφεί σε πρόσφατες μελέτες. Οι Al Dieri et al μελέτησαν υγιείς εθελοντες που ελαβαν υποδοριως μια μοναδικη ημερησια δωση ΧΜΒΗ και κατεγραψαν ότι σε ποσοστο περιπου 20% των δειγματος που συλλεχθησαν εντος 24 ωρων μετα την χορηγηση του αντιπηκτικου παραγοντα, η αναστολη της θρομβινογενεσης δεσν ηταν δυνατο να προβλεφθει από την συγκεντρωση της αντι-Χα δραστηριότητας στο πλάσμα, ή από τις διαφοροποιησεις του σωματικου βαρους των εθελοντων [23]. Οι Παπαγεωργιου και συνεργατες, με την χρήση της δοκιμασιας θρομβινογενεσης προσφατως ανεδειξαν την παρουσία αντίστασης στην θρομβοπροφυλαξη με ενοξαπαρινη όταν αυτή χορηγείται μετεγχειρητικά σε ασθενεις που υποβαλλονται σε λοβεκτομη για αδενοκαρκινωμα του πνευμονα [24]. Η μελέτη μας συμβαδίζοντας με τις παραπανω μελέτες αναδεικνυει και εγείρει το ερώτημα εάν μια και μονο ημερησια δωση από 40 mg ενοξαπαρινης είναι η καταλληλη και βελτιστη θρομβοπροφυλαξη για ολους τους ασθενεις που υποβαλλονται σε ολικη αρθροπλαστικη ισχιου η' γονατος. Πραγματι, η πλειονοτητα των ασθενων που υποβαλλονται σε μειζονα ορθοπεδικη επεμβαση λαμβανει θρομβοπροφυλαξη με προκαθορισμενη δωση ΧΜΒΗ παρα το γεγονός ότι ακομη και σημερα καταγραφεται παγκοσμιως ένα ευρυ φασμα μετεγχειρητικων επεισοδιων ΦΘΕ. Ετσι, τα ευρηματα μας εγείρουν ερωτηματα σχετικα με την αναγκη βελτιστοποιησης της χορηγουμενης δωσης θρομβοπροφυλαξης με ΧΜΒΗ. Επισης συμφωνα με τα ευρηματα μας, η αντίσταση στην ενοξαπαρινη είναι σημαντικότερη στους ασθενεις που υποβαλλονται σε ολικη αρθροπλαστικη γονατος. Μεταξύ των παραμετρων του θρομβογραμματος οι MRI & ETP φαινεται να είναι οι πιο ευαισθητοι για την ανιχνευση της αντιθρομβωτικης δρασης της ενοξαπαρινης. Πραγματι, οι δυο αυτές παραμετροι είναι οι πιο ευαισθητοι στο να αναδειξουν και να

αποκαλύψουν την μεταβλητότητα και διαφοροποίηση της ανταποκρισης στην αντιπηκτική δράση του φαρμακευτικού παραγόντα για τον κάθε έναν διαφορετικό ασθενή (δυνατότητα εξατομικευμένης μελέτης). Η σφαιρική ανάλυση του πήκτικου μηχανισμού με την μέθοδο που χρησιμοποιήθηκε στην μελέτη μας θα μπορούσε πιθανώς να παίξει σημαντικό ρόλο στην βελτιστοποίηση της αντιθρομβωτικής στρατηγικής ταυτοποιώντας την πλέον καταλληλή προφυλακτική δόση XMBH για τον κάθε ασθενή ξεχωριστά. Η ιδέα αυτή οφείλει να δοκιμαστεί μελλοντικά σε προοπτικές μελέτες.

Επιπλέον η παρατήρηση σημαντικού αριθμού ασθενών οι οποίοι εμφάνισαν αντίσταση στην αντιθρομβωτική δράση της XMBH καθώς και αναπήδωσα ενεργοποίηση της θρομβινογένεσης (και κατά συνέπεια του πήκτικου μηχανισμού) μετά την διακοπή χορήγησης του αντιπηκτικού παραγόντα, αφ' ενός θα μπορούσε να εξηγήσει το αξιοσημείωτο εύρος επιπτώσης της μετεγχειρητικής φλεβικής θρομβοεμβολικής νόσου σε αυτούς τους ασθενείς, αφ' ετέρου όμως μας προσέφερε ερισμα και εμπνευση να επεκτείνουμε την μελέτη μας αξιολογώντας και μελετώντας τον μηχανισμό θρομβινογένεσης όχι μόνο αναφορικά προς την αντιθρομβωτική δράση των XMBH αλλά και προς την επικουρική αντιπηκτική δράση των αντιαιμοπεταλιακών παραγόντων όταν αυτοί συγχρηγούνται με την XMBH.

Αυτό επετευχθεί με την σύγκριση ασθενών που υποβλήθηκαν σε ολική αρθροπλαστική ισχίου και έλαβαν την δοκιμή σε διάρκεια και δράση θρομβοπροφυλαξή με XMBH, και αγγειοχειρουργικών ασθενών που έλαβαν αντιστοιχία σε διάρκεια και δοσολογία χορήγησης XMBH και επιπλέον αντιαιμοπεταλιακό παραγοντα.

#### **BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ 1<sup>ου</sup> ΕΙΔΙΚΟΥ ΜΕΡΟΥΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ**

1. Turpie AG, Bauer KA, Eriksson BI, Lassen MR. Superiority of fondaparinux over enoxaparin in preventing venous thromboembolism in major orthopedic surgery using different efficacy end points. *Chest*. 2004;126:501-8.
2. Ageno W, Spyropoulos AC, Turpie AG. Role of new anticoagulants for the prevention of venous thromboembolism after major orthopaedic surgery and



- in hospitalised acutely ill medical patients. *Thromb Haemost.* 2012;107:1027-34.
3. Kageyama K, Nakajima Y, Shibasaki M, Hashimoto S, Mizobe T. Increased platelet, leucocyte and endothelial cell activity are associated with increased coagulability in patients after total knee arthroplasty. *J Thromb Haemost* 2007;5:738-45.
  4. Falck-Ytter Y, Francis CW, Johanson NA, Curley C, Dahl OE, Schulman S, Ortel TL, Pauker SG, Colwell CW Jr; American College of Chest Physicians. Prevention of VTE in orthopedic surgery patients: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest* 2012 Feb;141(2 Suppl):e278S-325S. doi: 10.1378/chest.11-2404.
  5. Guyatt GH, Akl EA, Crowther M, Gutterman DD, Schünemann HJ; American College of Chest Physicians Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis Panel-Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest* 2012;141 (2-suppl):7S-47S.
  6. . Struijk-Mulder MC, Ettema HB, Verheyen CC, Buller HR. Comparing consensus guidelines thromboprophylaxis in orthopedic surgery. *J Thromb Haemost* 2010;8:678-83.
  7. American Academy of Orthopaedic Surgeons. Preventing venous thromboembolic disease in patients undergoing elective hip and knee arthroplasty. Evidence-based guideline and evidence report. 2011. p 79. Available at: [http://www.aaos.org/research/guidelines/VTE/VTE\\_full\\_guideline.pdf](http://www.aaos.org/research/guidelines/VTE/VTE_full_guideline.pdf). Accessed May 2, 2013.
  8. Cardiovascular Disease Educational and Research Trust; Cyprus Cardiovascular Disease Educational and Research Trust; European Venous Forum; International Surgical Thrombosis Forum; International Union of Angiology; Union Internationale de Phlebologie. Prevention and treatment of venous

- thromboembolism. International Consensus Statements (guidelines according to scientific evidence). *Int. Angiol.* 2006;25:101-61.
9. National Institute for Health and Clinical Excellence. Reducing the risk of venous thromboembolism (deep vein thrombosis and pulmonary embolism) in patients admitted to hospital. This guideline updates NICE clinical guideline 46 and replaces it. London, 2010. pp 24-27. Available at: <http://www.nice.org.uk/nicemedia/live/12695/47195/47195.pdf>.
  10. Scottish Intercollegiate Guidelines Network. Prophylaxis of venous thromboembolism. SIGN guideline No 62 [Internet]. Edinburgh, 2002. p 51.
  11. Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (Germany). Stationäre und ambulante Thromboembolie – Prophylaxe in der Chirurgie und der perioperativen Medizin [Internet]. 2003. p 12.
  12. Maffei FHA, Caiafa JS, Ramacciotti E, Castro AAL, Grupo de Elaboracao de Normas de Orientacao Clinica em Thrombose Venosa Profunda da SBACV. Normas de orientacao venosa profunda (revisao). (Brazil). 2005 [Internet]. P 16.
  13. Southern Africa Society of Thrombosis and Haemostasis. Guideline for prophylactic anticoagulation. *S Afr Med J.* 2004;94:691-5.
  14. Kobayashi T, Nakamura M, Sakuma M, Yamada N, Sakon M, Fujita S, Seo N. Incidence of pulmonary thromboembolism (PTE) and new guidelines for PTE prophylaxis in Japan. *Clin Hemorheol Microcirc* 2006;35:257-9.
  15. Samama CM, Albaladejo P, Benhamon D, Bertin – Maghit M, Bruder N, Doublet JD, Laversin S, Leclerc S, Marret E, Mismetti P, Samain E, Steib A. Committee for Good Practice standards of the French Society for Anaesthesiology and Intensive Care (SFAR). Venous thromboembolism prevention in surgery and obstetrics: clinical practice guidelines. *Eur J Anaesthesiol* 2006;23:95-116.
  16. The Australia and New Zealand working party on the Management and Prevention of Venous Thromboembolism. Prevention of Venous Thromboembolism [Internet]. Australia: Health Education and Management Innovations: 2007. p 20.

17. Eikelboom JW, Karthikeyan G, Fagel N, Hirsh J, for the American Association of Orthopedic Surgeons and American College of Chest Physicians Guidelines for Venous Thromboembolism Prevention in Hip and Knee Arthroplasty Differ: What Are the Implications for Clinicians and Patients? *Chest* 2009;135:513-520
18. Westrich GH, Bottner F, Windsor RE, , Laskin RS, Haas SB, Sculco TP. VenaFlow plus Lovenox vs VenaFlow plus aspirin for thromboembolic disease prophylaxis in total knee arthroplasty. *J Arthroplasty* 2006;21:139-43.
19. Hirsh J, Guyatt G, Albers GW, Harrington R, Schünemann HJ. Antithrombotic and Thrombolytic Therapy: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). *CHEST* 2008;133 (6-suppl):1105-1125.
20. Borris LC. Barriers to the optimal use of anticoagulants after orthopaedic surgery. *Arch Orthop Trauma Surg* 2009;129:1441-1445.
21. Altman R, Scazziota AS, Pons S, Herrera L, Keller AG, Assefi AR, Di Girolamo G. Effects of enoxaparin preparations on thrombin generation and their correlation with their anti-FXa activity. *Curr Med Res Opin.* 2011;27:1-9.
22. Green L, Lawrie AS, Patel S, Hossain F, Chitolie A, Mackie IJ, Haddad FS, Macchin SJ. The impact of elective knee/hip replacement surgery and thromboprophylaxis with rivaroxaban or dalteparin on thrombin generation. *Br J Haematol.* 2010;151:469-76.
23. Al Dieri R, Alban S, Béguin S, Hemker HC. Fixed dosage of low-molecular-weight heparins causes large individual variation in coagulability, only partly correlated to body weight. *J Thromb Haemost.* 2006;4:83-9.
24. Papageorgiou C, Van Dreden P, Marret E, Bonnet F, Robert F, Spyropoulos A, Galea V, Elalamy I, Hatmi M, Gerotziafas GT. Lobectomy and postoperative thromboprophylaxis with enoxaparin improve blood hypercoagulability in patients with localized primary lung adenocarcinoma. *Thromb Res* 2013 in press.

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ 1<sup>ο</sup> ΕΙΔΙΚΟΥ ΜΕΡΟΥΣ

1. Η θρομβοπροφυλαξη με ενοξαπαρινη ελαττώνει την θρομβινογενεση.
2. Μεταξύ των παραμετρων του θρομβογραμματος οι MRI & ETP αναδεικνυονται ως εκεινες μεγαστης σημασιας για την ανιχνευση της αντιθρομβωτικης δρασης της ενοξαπαρινης. Επιπροσθετα, οι δυο αυτές παραμετροι αναδεικνυουν μια σημαντικη διαφοροποιηση και μεταβλητοτητα στην ανταποκριση του εκαστοτε ασθενη αναφορικά προς την αντιπηκτικη δραση της ενοξαπαρινης, Η κλινικη συσχετιση αυτου του ευρηματος μας αξιζει να αξιολογηθει μελλοντικά με προοπτικη μελετη.
3. Η χορηγηση ενοξαπαρινης για 30 ημερες μετεγχειρητικά φαινεται να προσφερει επαρκη θρομβοπροφυλαξη στους ασθενεις που υποβαλλοντα σε ολικη αρθροπλαστικη ισχιου. Αντιθετως, η μετεγχειρητικη χορηγηση θρομβοπροφυλαξης για 15 ημερες σε ασθενεις που υποβαλλονται σε ολικη αρθροπλαστικη γονατος φαινεται να παρεχει ανεπαρκη καταστολη της υπερπηκτικοτητας στο πλασμα, δεδομενου ότι μετα την διακοπη χορηγησης της η θρομβινογενεση ενισχυεται και αυξανεται σημαντικά.
4. Η αντισταση στην ενοξαπαρινη και επιπροσθετα η αναπηδωσα ενεργοποιηση της θρομβινογενεσης μετα την αποσυρση της ενοξαπαρινης θα μπορούσε να εξηγησει το σημαντικό ευρος μετεγχειρητικών επεισοδιων Φλεβικης ΘρομβοΕμβολης σε αυτές τις κατηγοριες ορθοπεδικων ασθενων κατά την διαρκεια της παρατεταμενης μετεγχειρητικης περιόδου.

**ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ 2<sup>ο</sup> ΕΙΔΙΚΟΥ ΜΕΡΟΥΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ:** Μελέτη θρομβογεννητικότητας σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε Ολική Αρθροπλαστική Ισχίου και έλαβαν θρομβοπροφύλαξη με ΧΜΒΗ για 30 ημέρες συγκριτικά με ασθενείς που υποβλήθηκαν σε Μηρο-ιγνυακή παρακαμψη και έλαβαν θρομβοπροφύλαξη με ΧΜΒΗ + αντιαιμοπεταλιακό παραγοντα για την ίδια χρονική περίοδο (εκτίμηση της επικουρικής δράσης του αντιαιμοπεταλιακού παραγοντα αναφορικά προς την αντίσταση στην ΧΜΒΗ και προς το φαινόμενο αναπηδωσας ενεργοποίησης του πηκτικού μηχανισμού μετά την διακοπή χορήγησης της ΧΜΒΗ)

**Προεγχειρητικά (ημέρα 0):** οι αγγειοχειρουργικοί ασθενείς παρουσιάζουν στατιστικά αυξημένες τιμές των θρομβογεννητικών παραμετρών ETP, MRI & Peak, προφανώς λόγω της αθηρωματικής νόσου από την οποία πασχουν (Πιν.1).

**Πιν. 1. Συγκριση των παραμετρών Θρομβογραμματος μεταξύ αγγειοχειρουργικών και ορθοπεδικών ασθενών προεγχειρητικά Ημέρα 0**

Παραμετροι Θρομβογραμματος	Αγγειοχ/κοι Ημέρα 0	Ορθοπεδικοι Ημέρα 0	<i>P</i>
lag-time (min)	3.6±0.9	2.8±0.7	<b>0.009</b>
Peak (nm)	347.1±92.4	255.3±56.4	<b>0.004</b>
ttPeak (min)	6.0±1.0	5.8±1.0	0.531
ETP (nM x min)	1858±540	1313±306	<b>0.003</b>
MRI (nM/min)	146.8±51.3	88.9±31.7	<b>0.001</b>

**Επίδραση της επεμβασής στην θρομβινογενεση (ημέρα X):** 7 ώρες μετά την επεμβαση και 1 ώρα πριν την χορήγηση της 1<sup>ης</sup> δόσης ενοξαπαρινης οι αγγειοχειρουργικοί ασθενείς εξακολουθούν να χαρακτηρίζονται από στατιστικά αυξημένες τιμές των θρομβογεννητικών παραμετρών ETP, MRI & Peak, παρα το γεγονός ότι διενεργηθη διεγχειρητική χορήγηση κλασσικής ηπαρινης πριν τον αγγειακό αποκλεισμό (clamping) (Πιν.2).

**Πιν. 2. Σύγκριση της Θρομβινογενεσης μεταξύ Αγγειοχειρουργικών και Ορθοπεδικών ασθενών 7 ώρες μετά το περας της επεμβασης (Ημερα X)**

Παραμετροι Θρομβογραμματος	Αγγειοχ/κοι Ημερα X	Ορθοπεδικοι Ημερα X	P
lag-time (min)	3.8±0.7	2.9±1.7	0.139
Peak (nm)	321.5±83.1	224.1±81.9	<b>0.003</b>
ttPeak (min)	6.3±0.9	5.5±2.4	0.414
ETP (nM x min)	1817±510	1135±381	<b>0.001</b>
MRI (nM/min)	132.5±48.9	97.9±50.7	<b>0.039</b>

*Επίδραση της θρομβοπροφυλαξης με ενοξαπαρινη στην θρομβινογενεση κατά την μετεγχειρητική περιοδο χορηγησης της (ημερα X+8): η σύγκριση των παραμετρων του θρομβογραμματος μεταξύ των 2 ομάδων ασθενών δεν ανεδείξε στατιστικά σημαντικές διαφορές (Πιν.3).*

**Πιν. 3. Σύγκριση της Θρομβινογενεσης μεταξύ Αγγειοχειρουργικών και Ορθοπεδικών ασθενών την ημερα της μεγιστης αναμενομενης αντιπηκτικης δράσης της ενοξαοπαρινης (Ημερα X+8)**

Παραμετροι Θρομβογραμματος	Αγγειχ/κοι Ημερα X+ 8	Ορθοπεδικοι Ημερα X+ 8	P
lag-time (min)	4.9±2.2	4.8±2.7	0.98
Peak (nm)	278.4±132.4	240.4±126.2	0.46
ttPeak (min)	7.9±2.9	7.8±3.4	0.94
ETP (nM x min)	1623±601	1240±473	0.10
MRI (nM/min)	109.7±75.4	96.2±79.4	0.66

*Επίδραση της κλοπιδογρελης μετά την διακοπη της θρομβοπροφυλαξης (ημερα χ+32): οι ασθενεις που υποβληθηκαν σε αρθροπλαστική ισχίου και παρ'ότι όπως προαναφερθηκε λαμβανουν την δοκιμη (συμφωνα με τις παγκοσμιες κατευθυντηριες οδηγίες) θρομβοπροφυλαξη χαρακτηρίζονται από υπερπηκτικό status (στατιστικά σημαντική ελαττώση των παραμετρων lag-time & tt-Peak) όταν συγκρινονται με τους αγγειοχειρουργικούς ασθενεις (Πιν.4). Επίσης, ενώ οι αγγειοχειρουργικοί ασθενεις χαρακτηρίζονται από αδιαφοροποιητο θρομβογεννητικό προφίλ όταν εκείνο*

συγκρίνεται την ημέρα X+8 με την ημέρα X+32, αυτό δεν συμβαίνει στους ασθενείς που υποβάλλονται σε αρθροπλαστική γονατός, οι οποίοι εμφανίζουν αυξημένο θρομβογεννητικό προφίλ 2 ημέρες μετά την διακοπή χορήγησης της ενοξαπαρίνης, δηλαδή ημέρα X+32 (στατιστικά σημαντική ελαττώση των παραμετρών lag-time & tt-Peak) συγκριτικά με την ημέρα X+8 (Πιν.5).

**Πιν. 4. Σύγκριση της Θρομβινογενέσεως μεταξύ Αγγειοχειρουργικών και Ορθοπεδικών ασθενών 2 ημέρες μετά την διακοπή χορήγησης της ενοξαπαρίνης (όχι όμως και της κλοπιδογρελής)**

Παραμετροί Θρομβογραμματος	Αγγειοχ/κοί Ημέρα 32	Ορθοπεδικοί Ημέρα 32	P
lag-time (min)	3.9±1.3	2.6±0.5	<b>0.004</b>
Peak (nm)	290.1±108.4	290.3±78.5	0.997
ttPeak (min)	6.8±2.3	5.2±0.9	<b>0.034</b>
ETP (nM x min)	1652±506	1397±364	0.20
MRI (nM/min)	115.4±58.2	116.3±49.6	0.97

**Πιν. 5. Σύγκριση της Θρομβινογενέσεως στην Αγγειοχειρουργική ομάδα μεταξύ της ημέρας της μέγιστης δράσης της ενοξαπαρίνης (Ημέρα X+8) και 2 ημέρες μετά την αποσυρση της (Ημέρα X+32), καθώς και στην Ορθοπεδική ομάδα για τις αντίστοιχες ημέρες**

Παραμετροί Θρομβογραμματος	Αγγειοχειρουργικοί			Ορθοπεδικοί		
	Ημέρα X+ 8	Ημέρα X+ 32	P	Ημέρα X+ 8	Ημέρα X+ 32	P
lag-time (min)	4.9±2.2	3.9±1.3	0.3	4.8±2.7	2.6±0.5	<b>0.03</b>
Peak (nm)	278.4±132.4	290.1±108.4	0.9	240.4±126.2	290.3±78.5	0.9
ttPeak (min)	7.9±2.9	6.8±2.3	0.4	7.8±3.4	5.2±0.9	<b>0.03</b>
ETP (nM.min)	1623±601	1652±506	0.6	1240±473	1398±364	0.8
MRI (nM/min)	109.7±75.4	115.4±58.2	0.9	96.2±79.4	116.3±49.6	0.9

*Εξατομικευμένη διαφοροποίηση της ανταποκρισης στην θρομβοπροφυλαξη με ενοξαπαρίνη* : αντιστοιχώς με την 1<sup>η</sup> κατηγορία αναφορικά προς την διερεύνηση πιθανής βιολογικής αντίστασης στην ενοξαπαρίνη καθώς και παρουσίας φαινομένου αναπηδώσας ενεργοποίησης του μηχανισμού θρομβινογένεσης μετά την διακοπή χορήγησης ενοξαπαρίνης ως μετεγχειρητική θρομβοπροφυλαξή, 7 από τους 15 αγγειακούς και 10 από τους 15 ορθοπεδικούς ασθενείς αύξησαν τις απόλυτες τιμές των παραμετρών θρομβογεννητικότητας την ημέρα X+8 σε σύγκριση με τις προεγχειρητικές τιμές τους (ημέρα 0) αποκαλύπτοντας μια εικόνα πιθανής βιολογικής αντίστασης στην ενοξαπαρίνη. Επιπλέον, 4 από τους 7 αγγειακούς και 6 από τους 10 ορθοπεδικούς ασθενείς αύξησαν επιπλέον τις απόλυτες τιμές των παραμετρών θρομβογεννητικότητας 2 ημέρες μετά την αποσυρση της θρομβοπροφυλαξής (ημέρα X+32) αποκαλύπτοντας αναπηδώσα ενεργοποίηση του πηκτικού μηχανισμού μετά την διακοπή χορήγησης της ενοξαπαρίνης (Πιν.6).



**Πιν. 6. Αντίσταση στην ενοξαπαρινη / ενοξαπαρινη + κλοπιδογρελη και αναπηδωσα ενεργοποιηση του πηκτικού μηχανισμού μετα την διακοπη της χορηγησης ενοξαπαρινης (όχι όμως και κλοπιδογρελης). Η βιολογικη αντίσταση στην ΗΧΜΒ αντικαθισταται από μια αρχικη ολοκληρωτικη αυξηση της θρομβινογενεσης αλλα και από την διαφοροποιηση των ειδικων παραμετρων του Θρομβογραμματος την Ημερα Χ+8 vs την Ημερα 0. Μετα την αποσυρση της ΗΧΜΒ μια επιπλεον της θρομβινογενεσης παρατηρηθηκε σε περιπου τους μισους από τους ασθενεις που εμφανισαν αντίσταση στην ενοξαπαρινη, αναδεικνυοντας ετσι αναπηδωσα ενεργοποιηση της πηκτικότητας μετα την διακοπη της θρομβοπροφυλαξης.**

	<b>Vascular Patients</b>				<b>Orthopaedic Patients</b>			
	<b>Resistance to LMWH</b>		<b>Rebound Effect</b>		<b>Resistance to LMWH</b>		<b>Rebound Effect</b>	
	Effect D8 vs D0	no. Patients effected	Effect D32 vs D8	no. Patients effected	Effect D8 vs D0	no. Patients effected	Effect D32 vs D8	no. Patients effected
<b>Effect on Thrombin Generation (overall)</b>	↑	7/15	↑	4/7	↑	10/15	↑	6/10
<b>Specific TG parameters</b>								
<b>lag-time (min)</b>	↓	4/15		0/4	↓	2/15	↓	1/2
<b>ETP (nM x min)</b>	↑	7/15	↑	4/7	↑	10/15	↑	6/10
<b>Peak (nm)</b>	↑	7/15	↑	3/7	↑	8/15	↑	5/8
<b>ttPeak (min)</b>	↓	5/15		0/5	↓	2/15	↓	2/15
<b>MRI (nM/min)</b>	↑	5/15	↑	2/5	↑	7/15	↑	3/7

↑: parameter increase, ↓: parameter decrease

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ 2<sup>ου</sup> ΕΙΔΙΚΟΥ ΜΕΡΟΥΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Οι ΧΜΒΗ είναι πλειοτροπικά φάρμακα που ασκούν την αντιθρομβωτική τους δράση δια μέσου της αντιθρομβίνης-εξαρτωμένης αναστολής του παραγοντα Χα

(FXa) και σε μικροτερή εκτασή αναστέλλοντας την θρομβίνη [1]. Επιπροσθέτως, οι ΧΜΒΗ αναστέλλουν την δημιουργία του παραγοντα της πήξης VIIa (FVIIa) και επιφέρουν την απελευθέρωση του αναστολέα της οδού του ιστικού παραγοντα, γεγονός που συνεισφέρει περαιτέρω στην αντιθρομβωτική τους δράση [2, 3, 4]. Αυτές οι ιδιότητες των ΧΜΒΗ μελετήθηκαν κυρίως σε υγιείς εθελόντες, σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε μείζονες χειρουργικές επεμβάσεις, σε ογκολογικές επεμβάσεις και σε ασθενείς με οξύ στεφανιαίο σύνδρομο [2, 3, 4]. Οι παραμετροί του θρομβογραμματος επιτρέπουν τόσο την ανάλυση των φάσεων έναρξης, ενίσχυσης και αναστολής της θρομβινογένεσης, όσο και τον υπολογισμό της ζωτικής ποσότητας ενεργού θρομβίνης που παράγεται [5]. Η χρήση μιας προτυποποιημένης μεθόδου επιτρέπει την εκτίμηση της συνολικής διαδικασίας της πήξης του αίματος, καθώς και την συνολική αντιθρομβωτική δράση των ΧΜΒΗ και κατά συνέπεια ως τέτοια μέθοδος θα μπορούσε να έχει μέγιστη συνεισφορά στον καθορισμό της βέλτιστης αντιθρομβωτικής αγωγής για τους χειρουργικούς ασθενείς.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης μας, τόσο η βιολογική αντίσταση στην ενοξαπαρίνη, όσο και η αναπηδωσα ενεργοποίηση της θρομβινογένεσης μετά την αποσυρή της ενοξαπαρίνης αποτελούν φαινόμενα που εμφανίζονται σε υψηλό ποσοστό τόσο στην μία (αγγειοχειρουργικοί), όσο και στην άλλη (ορθοπαιδικοί) κατηγορία ασθενών του δεύτερου αυτού ειδικού μέρους της εργασίας. Επιπροσθέτως, στο δεύτερο αυτό μέρος αξιολογήσαμε τον ρόλο των αντιαιμοπεταλιακών φαρμάκων (κλοπιδογρελή) όταν αυτά χρησιμοποιούνται ως επικουρική αντιθρομβωτική αγωγή μετεγχειρητικά. Ειδικότερα, παρατηρήσαμε ότι προεγχειρητικά (**Ημέρα 0**) μια

υπερπηκτική κατάσταση χαρακτηρίζει τους αγγειοχειρουργικούς ασθενείς (προφανώς λόγω της υποκειμένης νόσου τους), η οποία εκφράζεται με αύξηση όλων των παραμετρών του θρομβογραμματος, όταν αυτοί συγκρίνονται με τους ορθοπεδικούς ασθενείς. Αυτή η κατάσταση υπερπηκτικότητας των αγγειοχειρουργικών ασθενών παραμένει 7 ώρες μετά το πέρας της επέμβασης (**Ημέρα X**), παρά το γεγονός ότι κλασσική (μη κλασματοποιημένη) ηπαρίνη χορηγήθηκε διεγχειρητικά 3-5 λεπτά πριν τον αγγειακό αποκλεισμό για την διενέργεια της παρακαμψής.

Η κατάσταση υπερπηκτικότητας αναστρέφεται μετά την χορήγηση αντιπηκτικού παραγόντα (XMBH) κατά την μετεγχειρητική περίοδο (**Ημέρα X+8**), τόσο όσον αφορά τους αγγειοχειρουργικούς, όσο και τους ορθοπεδικούς ασθενείς.

Όμως, 48 ώρες μετά την διακοπή χορήγησης της ενοξαπαρίνης (**Ημέρα X+32**) η υπερπηκτική κατάσταση επανεμφανίζεται αυτή την φορά στους ορθοπεδικούς ασθενείς και μόνο σε αυτούς, εκφραζόμενη ως μείωση των χρονομετρικών (κινητικών) παραμετρών του θρομβογραμματος *tt-Peak & lag-time* και κατά συνέπεια ως αυξημένη προδιαθεση για έναρξη της θρομβινογένεσης, καθώς και δημιουργία της μέγιστης ενεργής ποσότητας θρομβίνης στο πλάσμα σε ταχύτερο χρονικό διάστημα.

Πέραν τούτου, ενώ η σύγκριση των παραμετρών του θρομβογραμματος στους αγγειακούς ασθενείς μεταξύ των Ημερών X+8 και X+32 στην μελέτη μας δεν ανέδειξε διαφορές (κατά συνέπεια οι ασθενείς αυτοί παραμένουν επαρκώς καλυμμένοι εναντίον στην ΦΘΕ και μετά την αποσυρση της ενοξαπαρίνης), αυτό δεν συνέβη και με τους ορθοπεδικούς ασθενείς, όπου μετά την αποσυρση της ενοξαπαρίνης (**Ημέρα X+32**) η μελέτη θρομβινογένεσης τους αναδεικνύει μια προπηκτική κατάσταση με μείωση των χρονομετρικών παραμετρών *lag-time & tt-Peak*. Να σημειωθεί στο σημείο αυτό ότι σύμφωνα με τις παγκοσμίες κατευθυντήριες οδηγίες αλλά και τα

συμπεράσματα του 1<sup>ου</sup> ειδικού μέρους της μελέτης μας οι ασθενείς που υποβάλλονται σε ολική αρθροπλαστική ισχίου και λαμβάνουν θρομβοπροφυλαξη με ΧΜΒΗ για 30 ημέρες θεωρούνται επαρκώς καλυμμένοι εναντίον σε επεισόδιο ΦΘΕ. Παρ'όλα αυτά σε αυτό το 2<sup>ο</sup> ειδικό μέρος της μελέτης μας και αφού συγκρίναμε δύο κατηγορίες ασθενών με διαφορετικό θρομβογεννητικό προφίλ (η ορθοπεδική κατηγορία είναι εκείνη με το χαμηλότερο εκ των δύο θρομβογεννητικό προφίλ!) η αναδείξη αυτής της προληπτικής κατάστασης για τους ορθοπεδικούς ασθενείς μετά την αποσυρση της θρομβοπροφυλαξης με ΧΜΒΗ εγείρει νέες ανησυχίες για την ασφάλεια των ασθενών αυτών στην αποτερη μετεγχειρητική περίοδο.

Από τα αποτελέσματα μας φαίνεται ότι η επικουρική αντιαιμοπεταλιακή θεραπεία που χορηγήθηκε στους αγγειοχειρουργικούς ασθενείς είχε ικανή συνεισφορά στην μείωση της θρομβογεννητικότητας αυτών των ασθενών μετά την αποσυρση της ενοξαπαρινής.

**Βιολογική αντίσταση στην ενοξαπαρινή:** Στην παρούσα μελέτη παρατηρήσαμε μια σημαντική εξατομικευμένη διαφοροποίηση και μεταβλητότητα όσον αφορά την ανταπόκριση του κάθε ασθενή ξεχωριστά στην αντιπηκτική δράση της ενοξαπαρινής. Πιο συγκεκριμένα, 47% των αγγειοχειρουργικών και 67% των ορθοπεδικών ασθενών παρουσίασαν αύξηση της θρομβογεννητικότητας (εκφραζόμενη ως αύξηση των απόλυτων τιμών των παραμέτρων του θρομβογραμματος) την 8η μετεγχειρητική ημέρα (**Ημέρα X+8**) παρά την χορήγηση ενοξαπαρινής και την αναμενόμενη μέγιστη αντιθρομβωτική της δράση την συγκεκριμένη ημέρα. Το γεγονός αυτό αναδεικνύει ουσιαστικά την παρουσία βιολογικής αντίστασης στην ΧΜΒΗ σε αυτούς τους ασθενείς (πιν 6). Οι έως τώρα βιβλιογραφικές αναφορές καταγράφουν το φαινόμενο της βιολογικής αντίστασης στην ηπαρινή να εμφανίζεται σε ογκολογικούς ασθενείς ως μια «υπερεκφραση» της ηπαρίνασης από τα καρκινικά κύτταρα, γεγονός που

οδηγει σε αυξημενο καταβολισμο της κλασσικης (μη κλασματοποιημενης) ηπαρινης και/η' της XMBH [6]. Περαν αυτης της κατηγοριας ασθενων, η κλινικα σημαντικη αντισταση στην ηπαρινη εως το προσφατο παρελθον εθεωρητω σπανια κατασταση που θεωρητικα ανεγειρε την υποψια ειτε ελλειψης Αντιθρομβινης , ειτε τυπου II H.I.T. [6, 7]. Παρ'ολα αυτα, η εννοια της αντιστασης στην ηπαρινη ως μια περισσοτερο κοινη βιολογικη κατασταση αναδειχθηκε σε προσφατες μελετες. Η ομαδα του Al Diegi όπως προαναφερθηκε, μελετωντας υγιεις εθελοντες στους οποιους χορηγηθηκε μια και μοναδικη δωση XMBH διαπιστωσε οτι περιπου στο 20% των δειγματων που συλλεγησαν εντος 24ωρου από την χορηγηση της XMBH, η αναστολη της θρομβινογενεσης δεν ηταν δυνατο να προβλεφθει από την συγκεντρωση της αντι-Χα δραστηριοτητας στο πλασμα, η' από τις εκαστοτε διαφοροποιησεις του σωματικου βαρους των εθελοντων αυτων [8]. Επισης η ομαδα της Παπαγεωργιου σε μελετη τους που αφορουσε ασθενεις που υποβληθηκαν σε χειρουργικη επεμβαση λογω αδενοκαρκινωματος του πνευμονα, κατεγραψε αυξημενη θρομβογεννητικοτητα στο 50% των δειγματων που συλλεγησαν μετεγχειρητικα, παρα την χορηγηση θρομβοπροφυλαξης με XMBH και παρα την πιστοποιηση παρουσιας της αναμενομενης και επιθυμητης αντι-Χα δραστηριοτητας στο πλασμα. Στην ιδια μελετη, το 20% των ασθενων που συμπεριληφθησαν σε αυτην εμφανισε σημαντικη αυξηση της θρομβινογενεσης την 7<sup>η</sup> μετεγχειρητικη ημερα, ημερα οπου αναμενετω να παρατηρηθει η μεγαστη αναλστατικη δραση της ενοξαπαρινης στην θρομβινογενεση των ασθενων αυτων [9].

**Αναπηδωσα ενεργοποηση του πηκτικου μηχανισμου:** Περισσοτεροι από τους μισους ασθενεις και των δυο ομαδων που συμπεριληφθησαν σε αυτό το 2ο ειδικο μερος της μελετης μας και οι οποιοι ηδη εμφανισαν αντισταση στην ενοξαπαρινη (εκφραζομενη ως αυξηση των παραμετρων του θρομβογραμματος κατά την 8η

μετεγχειρητική ημέρα παρά την χορήγηση ενοξαπαρίνης, όταν οι τιμές των παραμετρών αυτών συγκρίθηκαν με εκείνες προεγχειρητικά και 7 ώρες μετά την επέμβαση) βρέθηκαν να εμφανίζουν περαιτέρω αυξημένους δείκτες θρομβινογένεσης κατά την 32η ημέρα (δηλαδή 48 ώρες μετά την διακοπή χορήγησης της ενοξαπαρίνης). Η προθρομβωτική αυτή κατάσταση καταλογίσθηκε στην εμφάνιση του φαινομένου της αναπηδώσας ενεργοποίησης και ενίσχυσης της πήκτικότητας του αίματος μετά την διακοπή χορήγησης της ενοξαπαρίνης και αφορούσε περίπου το 60% των ασθενών που είχαν ήδη εμφανίσει αντίσταση στην ενοξαπαρίνη κατά την 8η μετεγχειρητική ημέρα (πιν 6).

Το φαινόμενο της αναπηδώσας ενεργοποίησης του πήκτικού μηχανισμού χαρακτηρίζεται από μια αιφνίδιας έναρξης και παροδική αύξηση της θρομβινογένεσης την οποία ακολουθεί μια ελαττώση της. Στην καθημερινή κλινική πράξη κάτι τέτοιο αντανάκλα τον κίνδυνο ενός φλεβικού ή/και αρτηριακού θρομβοεμβολικού επεισοδίου μετά την αποσυρση της αντιπηκτικής αγωγής που οι ασθενείς λαμβάνουν [10, 11]. Η υπαρξη σημαντικής αναπηδώσας αύξησης της θρομβινογένεσης 3 και 6 ώρες μετά την διακοπή ενδοφλεβιας χορήγησης κλασσικής (μη κλασματοποιημένης) ηπαρίνης (ημισειος χρονος ζωης 0,5-1 ωρα) έχει καταγραφεί από τους Theroux et al , καθώς και από τους Granger et al [12, 10]. Στην παρουσία μελέτη μας, η μέθοδος ανάλυσης της θρομβινογένεσης (θρομβογραμμα), διενεργήθηκε 48 ώρες μετά την τελευταία δόση χορήγησης της ενοξαπαρίνης θεωρώντας αυτό ικανό χρονικό διάστημα προκειμένου η δράση της ενοξαπαρίνης να έχει πλήρως εξουδετερωθεί. Η αποσυρση των αντιθρομβωτικών παραγόντων ακόμη και έπειτα από παρατεταμένη χρονικά θεραπεία έχει συσχετισθεί με αναπηδώσα ενεργοποίηση της πήξης και άμεσο μελλοντικά κίνδυνο υψηλής βαρύτητας θρομβωτικών επεισοδίων [12, 13, 14, 15]. Τόσο η παροδική υπερπήκτικότητα που

σχετίζεται με την αποσυρση της ηπαρινης, οσο και η μονιμη αυξηση της θρομβογεννητικοτητας που μακροπροθεσμα οφειλεται σε υποκειμενη νοσο, θα μπορούσαν εν μερει να εξηγησουν τον κινδυνο θρομβοεμβολικων συμβαματων μετα την διακοπη της αντιπηκτικης αγωγης [16, 17]. Σε κάθε περίπτωση, εάν πιστοποιειται φαινομενο αναπηδωσας ενεργοποιησης και ενδυναμωσης του πηκτικου μηχανισμου η εφαρμογη παρατεταμενης χρονικα αντιθρομβωτικης θεραπειας θα πρεπει να λαμβανεται σοβαρα υπ'οψιν ως στρατηγικη διαχειρισης αυτων των ασθενων [18].

Οι ασθενεις οι οποιοι υποβαλλονται σε μειζονα ορθοπεδικη επεμβαση χαρακτηριζονται από σημαντικα υψηλα ποσοστα επεισοδιων ΦΘΕ στην αποτερη μετεγχειρητικη τους περιοδο [19]. Μεταξυ αυτων των ασθενων, εκεινοι που υποβαλλονται σε αρθροπλαστικη γονατος είναι εκτεθιμενοι σε υψηλοτερο κινδυνο ΦΘΕ μετεγχειρητικα, ενώ οι ασθενεις που υποβαλλονται σε αρθροπλαστικη του ισχιου θεωρουνται επαρκως καλυμενοι όταν λαμβανουν θρομβοπροφυλαξη συμφωνα με τις τρεχουσες κατευθυντηριες οδηγιες [19, 20, 21]. Στο προηγουμενο ειδικο μερος της μελετης μας αξιολογησαμε την διαδικασια της θρομβινογενεσης σε συνδυασμο με την χορηγηση αντιθρομβωτικης προφυλαξης με ενοξαπαρινη σε ασθενεις που υποβληθηκαν σε μειζονα ορθοπεδικη επεμβαση [20]. Τα αποτελεσματα μας εδειξαν ότι η αντισταση στην ενοξαπαρινη σε συνδυασμο επιπροσθετα με την αναπηδωσα ενεργοποιηση της θρομβινογενεσης μετα την αποσυρση της ενοξαπαρινης αφορα ένα σημαντικό αριθμο ασθενων οι οποιοι υποβαλλονται σε τετοιου ειδους επεμβαση. Επιπροσθετα, ενώ στους ασθενεις που υποβαλλονται σε αρθροπλαστικη ισχιου η θρομβινογενεση αναστελλεται σε ικανοτερο βαθμο με την χορηγηση ενοξαπαρινης για 30 ημερες, αυτό δεν ισχυει για τους ασθενεις που υποβαλλονται σε αρθροπλαστικη γονατος και λαμβανουν θρομβοπροφυλαξη με ενοξαπαρινη για 15 ημερες [20].

Οι αγγειοχειρουργικοί ασθενείς που υποβάλλονται σε μηρο-ιγνυακή παρακαμψη με την χρήση συνθετικού μοσχευματος χαρακτηρίζονται από σχετικά χαμηλά ποσοστά επεισοδίων μετεγχειρητικής ΦΘΕ [22], αλλά υψηλά ποσοστά αρτηριακών θρομβωτικών συμβαμάτων (θρομβώση μοσχευματος, οξύ εμφραγμα του μυοκαρδίου) κατά την διάρκεια της μετεγχειρητικής περιόδου και κατά την οποία η παρατεταμένη χορηγήση αντιπηκτικής οφείλει να βρει την θέση της μελλοντικά [23]. Οι αντιαιμοπεταλιακοί παράγοντες τους οποίους οι αγγειοχειρουργικοί ασθενείς λαμβάνουν ως βέλτιστο θεραπευτικό φαρμακευτικό σχήμα για την υποκείμενη νόσο τους (αθηρωμάτωση) είναι πιθανό να έχουν μέγιστη συνεισφορά στην ελάττωση των ποσοστών των επεισοδίων ΦΘΕ που παρατηρείται σε αυτή την κατηγορία ασθενών.

Σ' αυτό το 2<sup>ο</sup> ειδικό μέρος της εργασίας μας μελετήσαμε δύο διαφορετικές κατηγορίες χειρουργικών ασθενών, τις οποίες χαρακτηρίζει το χαμηλό ποσοστό ΦΘΕ μετεγχειρητικά όταν τους χορηγείται θρομβοπροφυλαξη σύμφωνα με τις τρέχουσες κατευθυντήριες οδηγίες. Τα υψηλά ποσοστά αντίστασης στην ηπαρική και αναπηδωσας ενεργοποίησης και ενίσχυσης της θρομβινογένεσης μετά την διακοπή χορηγήσης της ΧΜΒΗ τα οποία παρατηρήθηκαν και στις δύο κατηγορίες των ασθενών που μελετήσαμε σ' αυτό το ειδικό μέρος της εργασίας εγείρουν ανησυχία σχετικά με το ποια είναι η βέλτιστη θρομβοπροφυλαξη στους χειρουργικούς ασθενείς. Οι παρατηρήσεις μας αποδεικνύουν ότι ένας σημαντικός αριθμός ασθενών είναι πιθανό να εκτιθεί σε αυξημένο κίνδυνο φλεβικού ή αρτηριακού θρομβωτικού επεισοδίου κατά την διάρκεια της μετεγχειρητικής περιόδου παρ' ότι χορηγείται σε αυτούς θρομβοπροφυλαξη με ΧΜΒΗ και σε ακόμη υψηλότερο κίνδυνο τέτοιου επεισοδίου μετά την διακοπή χορηγήσης της θρομβοπροφυλαξης. Η αντιαιμοπεταλιακή αγωγή όταν χορηγείται συνεπικουρικά με την ΧΜΒΗ ελαττώνει την θρομβογεννητικότητα μετά την αποσυρση της ΧΜΒΗ και θα μπορούσε



μελλοντικά να αποκτήσει έναν επιπρόσθετο ρολό αναφορικά προς την στρατηγική της θρομβοπροφύλαξης . Χρειαζονται βεβαία, περαιτέρω μελέτες προκειμένου να καταλήξουμε σε ασφαλή και κλινικά σημαντικά συμπεράσματα.

Δεδομένου ότι η μελέτη της θρομβινογενέσεως αποτελεί μια **μεθοδο που επιτρέπει την ταυτοποίηση των ασθενων με χαμηλη ανταποκριση στην αντιθρομβωτικη αγωγη**, θα μπορούσε μελλοντικά να αποτελεσει τον ακρογωνιαίο λίθο προκειμένου να επιτευχθεί εξατομικευμένα η βέλτιστη αντιθρομβωτική αγωγή για τους συγκεκριμένους ασθενείς στην καθημερινή κλινική πράξη.

## **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ 2<sup>οο</sup> ΕΙΔΙΚΟΥ ΜΕΡΟΥΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ**

1. Gerotziapas GT, Petropoulou AD, Verdy E, Samama MM, Elalamy I. Effect of the anti-factor Xa and anti-factor IIa activities of low-molecular-weight heparins upon the phases of thrombin generation. *J Thromb Haemost* 2007;5:955-62.
2. Gerotziapas GT, Zafiropoulos A, Van Dreden P, Karavaggi E, Goutzoumas N, Nikolaidis P, et al. Inhibition of factor VIIa generation and prothrombin activation by treatment with enoxaparin in patients with unstable angina. *Br J Haematol* 2003;120:611-7.
3. Martinez-Sales V, Vila V, Réganon E, Oms JG, Aznar J. Effect of unfractionated heparin and a low molecular weight heparin (enoxaparin) on coagulant activity of cultured human endothelial cells. *Haematologica* 2003;88:694-9.
4. Sandset PM, Bendz B, Hansen JB. Physiological function of tissue factor pathway inhibitor and interaction with heparins. *Haemostasis*. 2000;30(Suppl 2):48-56.
5. Hemker HC, Giesen PL, Ramjee M, Wagenvoort R, Beguin S. The thrombogram: monitoring thrombin generation in platelet-rich plasma. *Thromb Haemost* 2000;83:589-91.
6. Nasser NJ, Sarig G, Brenner B, Nevo E, Goldshmidt O, Zcharia E, et al. Heparanase neutralizes the anticoagulation properties of heparin and low-molecular-weight heparin. *J Thromb Haemost*. 2006;4:560-5.
7. Guermazi S, Znazen R.: Resistance to curative treatment by unfractionated heparin. *Rev Med Interne*. 2009;30:331-4.
8. Al Dieri R, Alban S, Béguin S, Hemker HC. Fixed dosage of low-molecular-weight heparins causes large individual variation in coagulability, only partly correlated to body weight. *J Thromb Haemost*. 2006;4:83-9.

9. 9.Papageorgiou C, Hospitalier P, Vandreden P, Marret E, Bonnet F, Robert F, et al. Lobectomy and postoperative thromboprophylaxis with enoxaparin improve blood hypercoagulability in patients with localized primary lung adenocarcinoma. *Thromb Res.* In Press.
10. 10.Granger CB, Miller JM, Bovill EG, Gruber A, Tracy RP, Krucoff MW, et al. Rebound increase in thrombin generation and activity after cessation of intravenous heparin in patients with acute coronary syndromes. *Circulation.* 1995;91:1929-35.
11. 11.Palareti G, Legnani C, Guazzaloca G, Frascaro M, Grauso F, De Rosa F, et al. Activation of blood coagulation after abrupt or stepwise withdrawal of oral anticoagulants--a prospective study. *Thromb Haemost.* 1994;72:222-6.
12. 12.Theroux P, Waters D, Lam J, Juncau M, Mc Cans J. Reactivation of unstable angina after discontinuation of heparin. *Engl. J. Med,* 1992;327:141-5.
13. 13.Becker RC, Spencer FA, Li Y, Ball SP, Ma Y, Hurley T, et al. Thrombin generation after the abrupt cessation of intravenous unfractionated heparin among patients with acute coronary syndromes. Potential mechanisms for heightened prothrombotic potential *Am Coll of Cardiol,* 1999;34:1020-7.
14. 14.Bijsterveld NR, Moons AH, Meijers JC, Tijssen JG, Büller HR, Levi M, et al. Rebound thrombin generation after heparin therapy in unstable angina. A randomized comparison between unfractionated and low-molecular-weight heparin. *J Am Coll of Cardiol,* 2002;39:811-7.
15. 15.Husted S, Kher A. Acute and prolonged treatment with low-molecular-weight heparin therapy in patients with unstable coronary artery disease. *Ann Med.* 2000;32 (Suppl 1):53-9.

16. 16.Kontny F. Reactivation of the coagulation system: rationale for long-term antithrombotic treatment. *Am J Cardiol.* 1997;80:55E-60E.
17. 17.Lidón RM. Persistent activation and/or reactivation in the subacute phase of unstable angina. Reasons for prolonged antithrombotic treatment. *Rev Esp Cardiol.* 1999;52(Suppl 1):90-6.
18. 18.Hermans C & Claeys D. Review of the rebound phenomenon in new anticoagulant treatments. *Curr Med Res Opin.* 2006;22:471-81.
19. 19.Falck-Ytter Y, Francis CW, Johanson NA, Curley C, Dahl OE, Schulman S, Ortel et al; American College of Chest Physicians. Prevention of VTE in orthopedic surgery patients: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest* 2012;141(2 Suppl):e278S-325S.
20. 20.Gionis MN, Ioannou CV, Katsamouris AN, Katonis P, Balalis K, Sfyridaki K, et al. The Study of the Thrombin Generation Mechanism and the Effect of Low Molecular Weight Heparin as Thromboprophylaxis in Patients Undergoing Total Knee and Hip Replacement. *Thromb Res.* 2013
21. 21.Struijk-Mulder MC, Ettema HB, Verheyen CC, Buller HR. Comparing consensus guidelines thromboprophylaxis in orthopedic surgery. *J. Thromb Haemost.* 2010;8:678-83.
22. 22.Guyatt GH, Akl EA, Crowther M, Gutterman DD, Schünemann HJ; American College of Chest Physicians Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis Panel-Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest* 2012;141 (2-suppl):7S-47S.

23. Brumberg RS, Back MR, Armstrong PA, Cuthbertson D, Shames ML, Johnson BL, et al. The relative importance of graft surveillance and warfarin therapy in infra-inguinal prosthetic bypass failure. *J Vasc Surg* 2007;46:1160-6.

### **ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ 2<sup>ο</sup> ΕΙΔΙΚΟΥ ΜΕΡΟΥΣ**

1. Η αντίσταση στην ηπαρική αφορά έναν σημαντικό αριθμό χειρουργικών ασθενών που λαμβάνουν θρομβοπροφύλαξη με ΧΜΒΗ.
2. Το είδος της χειρουργικής επέμβασης, όπως και η υποκείμενη νόσος φαίνεται να επηρεάζουν την συχνότητα εμφάνισης βιολογικής αντίστασης στην θρομβοπροφύλαξη με χορήγηση ενοξαπαρίνης.
3. Η διακοπή της θρομβοπροφύλαξης επιφέρει αναπηδωσα ενεργοποίηση του πήκτικού μηχανισμού, φαινόμενο που αφορά κυρίως τους ασθενείς με αντίσταση στην ηπαρική.
4. Η επικουρική χορήγηση αντιαιμοπεταλιακού παραγόντα ελαττώνει το φαινόμενο της αναπηδωσας ενεργοποίησης της πήξης μετά την αποσυρση της θρομβοπροφύλαξης με ΧΜΒΗ κατά την παρατεταμένη μετεγχειρητική περίοδο στους χειρουργικούς ασθενείς.
5. Η μελλοντική αντιθρομβωτική αγωγή οφείλει να βασίζεται σε εξατομικευμένη προσέγγιση του κάθε ασθενή προκειμένου να επιτευχθεί η βέλτιστη θεραπεία κατά κλινική περίπτωση.

## THESIS ABSTRACT:

### **Introduction:**

The recommended duration of post-operative Low-Molecular-Weight-Heparins (LMWHs) thromboprophylaxis in high risk for VTE surgical patients (as those who undergo Total-Hip-Replacement (THR) and Total-Knee-Replacement (TKR) surgery) is controversial.

Our aim is to study the thrombin generation (TG) modifications induced by surgery and to evaluate the effect of LMWH on TG during and after the recommended duration, as well as to investigate biological resistance to enoxaparin's antithrombotic action, and rebound effect in reactivation of coagulation mechanism after thromboprophylaxis withdrawal, using Thrombin Generation (TG) assay. Finally, we aimed to evaluate antiplatelet effect as adjuvant antithrombotic treatment in TG modifications during the LMWH somministration period and after LMWH's withdrawal.

### **Patients/Methods:**

**1<sup>st</sup> category (Orthopaedic-THR vs TKR- patients):**Thirty-one patients received 4000IU anti-Xa/day of enoxaparin, 8-hours postoperatively (15 THR for 30-days and 16 TKR for 15-days). TG assay sensitive to enoxaparin was performed, pre-operatively (D0), 7-hours post-surgery (D1), 8-days post-surgery (D8), and 2-days after thromboprophylaxis withdrawal (D32 and D17), evaluating: lag-time, endogenous thrombin potential (ETP), peak amount of generated thrombin (Peak), time-to-Peak (tt-Peak), and the Mean- Rate-Index [ $MRI=Peak/(tt-Peak-lag-time)$ ].

**2<sup>nd</sup> category (Orthopaedic vs Vascular patients):** Fifteen-patients undergoing femoro-popliteal bypass grafting (receiving enoxaparin 4000 antiXa IU + 75 mg clopidogrel), and 15-patients undergoing total-hipreplacement (THR) (receiving enoxaparin alone).

TG-assay parameters [lag-time, Endogenous-Thrombin-Potential, Peak-, time-to-Peak, and Mean-Rate-Index] were assessed to investigate heparin resistance and rebound

effect after prophylaxis interruption. Measurements were obtained pre-op, 7-hours post-op and before prophylaxis initiation, 8-days post-op, and 48-hours after anticoagulant withdrawal (Day 32).

**Results:**

**1<sup>st</sup> category :**TKR surgery decreased lag-time and tt-Peak and increased MRI on D1vs.D0 ( $p<0.05$ ). In contrast, THR did not significantly modify TG. Enoxaparin effectively reduced thrombin generation in both groups. Thromboprophylaxis withdrawal resulted in rebound increase of TG in the TKR patients (ETP, Peak & MRI increased on D17vs.D0; $p<0.05$ , and vs.D1; $p<0.05$ ) but not in THR patients. Variability in the response to enoxaparin was observed among patients of the same group.

**2<sup>nd</sup> category :** Surgery increased TG in vascular patients despite intra-operative unfractionated heparin administration when compared to orthopaedic patients (MRI: $p=0.039$ , ETP: $p=0.001$ , PGT: $p=0.003$ ), but this peri-operative pro-thrombotic status was reversed by post-operative thromboprophylaxis. No arterial or venous thrombotic events were observed. Vascular patients were adequately protected after prophylaxis withdrawal, probably due to the synergic action of clopidogrel (similar TG parameters between the 8th and 32nd post-op day), while orthopaedic patients increased TG on Day-32 compared to the 8th post-op day ( $p=0.03$ , for both lag-time and ttPeak). Furthermore, on the 32nd, a prothrombotic status (increased TG) was observed in the orthopaedic patients ( $p=0.034$ , and 0.004 for ttPeak and lag-time, respectively) compared to the vascular patients. Inter-individual variability to enoxaparin response was observed in both groups: 7/15 vascular and 10/15 orthopaedic patients increased TG despite anticoagulant administration, which reveals resistance to heparin (HR).

Among the HR patients 4 of the Vascular and 6 of the Orthopaedic further increased TG after anticoagulant withdrawal depicting a rebound effect in activation of coagulation.

**Conclusions:**

TKR surgery is more thrombogenic than THR surgery. In THR patients TG was efficiently inhibited by 30-day thromboprophylaxis, whereas, in TKR patients treated for 15-days TG was not effectively inhibited. Individual variability of the response to enoxaparin was observed in both groups revealing some form of biological resistance to enoxaparin. TG assay may represent the breakthrough step to efficient antithrombotic strategy in clinical settings with high thrombotic risk. Additionally, Heparin Resistance is not a rare phenomenon in clinical practice and was found in a considerable percentage of our patients. A rebound effect of coagulation activation after thromboprophylaxis withdrawal is observed in the extended post-operative period. This phenomenon is attenuated with the addition of concomitant anti-platelet (clopidogrel) treatment.



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ**

**ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**ΤΟΥ ΙΑΤΡΟΥ**

**ΜΙΧΑΛΗ ΓΚΙΩΝΗ**

**ΘΕΜΑ**

***“ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΠΗΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΥΨΗΛΟΥ ΚΙΝΔΥΝΟΥ***

***ΓΙΑ ΘΡΟΜΒΟΕΜΒΟΛΙΚΗ ΝΟΣΟ ΠΟΥ ΛΑΜΒΑΝΟΥΝ ΠΡΟΦΥΛΑΞΗ ΜΕ ΗΠΑΡΙΝΗ***

***ΧΑΜΗΛΟΥ ΜΟΡΙΑΚΟΥ ΒΑΡΟΥΣ”***

**ΜΑΡΤΙΟΣ 2015**



## Regular Article

# The study of the thrombin generation mechanism and the effect of low molecular weight heparin as thromboprophylaxis in patients undergoing total knee and hip replacement

Michalis N. Gionis<sup>a</sup>, Christos V. Ioannou<sup>a,\*</sup>, Asterios N. Katsamouris<sup>b</sup>, Pavlos Katonis<sup>c</sup>, Konstantinos Balalis<sup>c</sup>, Katerina Sfyridaki<sup>d</sup>, Ismail Elalamy<sup>e,f</sup>, Grigoris T. Gerotziapas<sup>e,f</sup>

<sup>a</sup> Vascular Surgery Department, University of Crete Medical School, Heraklion, Greece

<sup>b</sup> Vascular Surgery Department, Aristotle University of Thessalonica Medical School, Thessalonica, Greece

<sup>c</sup> Orthopaedic Surgery Department, University of Crete Medical School, Heraklion, Greece

<sup>d</sup> Haematology Department, "Venizeleion" General Hospital, Heraklion, Greece

<sup>e</sup> ER2UPMC, Faculté de Médecine Pierre et Marie Curie, Université Paris VI, France

<sup>f</sup> Service d'Hématologie Biologique Hôpital Tenon, Hôpitaux Universitaires Est Parisien, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, France

## ARTICLE INFO

## Article history:

Received 18 May 2013

Received in revised form 24 September 2013

Accepted 30 September 2013

Available online 15 October 2013

## Keywords:

Orthopaedic surgery

Venous thromboembolism

Thromboprophylaxis

Low Molecular Weight Heparin

Thrombin generation

## ABSTRACT

**Introduction:** The recommended duration of post-operative Low-Molecular-Weight-Heparins (LMWHs) thromboprophylaxis in Total-Hip-Replacement (THR) and Total-Knee-Replacement (TKR) surgery is controversial. Our aim is to study the thrombin generation (TG) modifications induced by surgery and to evaluate the effect of LMWH on TG during and after the recommended duration.

**Patients/Methods:** Thirty-one patients received 4000 IU anti-Xa/day of enoxaparin, 8-hours post-operatively (15 THR for 30-days and 16 TKR for 15-days). TG assay sensitive to enoxaparin was performed, pre-operatively (D0), 7-hours post-surgery (D1), 8-days post-surgery (D8), and 2-days after thromboprophylaxis withdrawal (D32 and D17), evaluating: lag-time, endogenous thrombin potential (ETP), peak amount of generated thrombin (Peak), time-to-Peak (tt-Peak), and the Mean-Rate-Index [MRI = Peak/(tt-Peak-lag-time)].

**Results:** TKR surgery decreased lag-time and tt-Peak and increased MRI on D1 vs D0 ( $p < 0.05$ ). In contrast, THR did not significantly modify TG. Enoxaparin effectively reduced thrombin generation in both groups. Thromboprophylaxis withdrawal resulted in rebound increase of TG in the TKR patients (ETP, Peak & MRI significantly increased on D17 vs D0;  $p < 0.05$ , and vs. D1;  $p < 0.05$ ) but not in THR patients. Variability in the response to enoxaparin was observed among patients of the same group.

**Conclusions:** TKR surgery is more thrombogenic than THR surgery. In THR patients TG was efficiently inhibited by 30-day thromboprophylaxis, whereas, in TKR patients treated for 15-days TG was not effectively inhibited. Individual variability of the response to enoxaparin was observed in both groups revealing some form of biological resistance to enoxaparin. TG assay may represent the breakthrough step to efficient antithrombotic strategy in clinical settings with high thrombotic risk.

© 2013 Elsevier Ltd. All rights reserved.

## Introduction

Elective Total Hip Replacement (THR) and Total Knee Replacement (TKR) are common major orthopaedic interventions associated with a high risk of venous thromboembolism (VTE) which persists for several weeks after the surgery [1,2]. In the absence of thromboprophylaxis,

the respective incidence of total and proximal deep vein thrombosis (symptomatic and asymptomatic) is 42–57% and 18–36% in THR patients, respectively, and 41–85% and 5–22% in TKR patients, respectively. Fatal Pulmonary Embolism (PE) occurs in 0.1–2% of THR patients and in 0.1–1.7% of TKR patients [1,2]. Routine administration of a fixed dose of low molecular weight heparins (LMWHs), fondaparinux or orally active direct factor Xa or thrombin inhibitors is strongly recommended in patients undergoing THR or TKR [1,2]. LMWHs present predictable pharmacokinetics allowing effective thromboprophylaxis with a single daily subcutaneous injection [3]. Although LMWHs represent a substantial improvement in the antithrombotic strategy, about 10% to 20% of patients undergoing major orthopaedic surgery (MOS) who receive the recommended prophylaxis with LMWH may still present asymptomatic VTE [4–6].

**Abbreviations:** THR, Total Hip Replacement; TKR, Total Knee Replacement; VTE, venous thromboembolism; LMWHs, low molecular weight heparins; tt-Peak, time necessary to Peak; ETP, endogenous thrombin potential; MRI, mean rate index.

\* Corresponding author at: Vascular Surgery Department, University of Crete Medical School, PO-Box 1352, 711 10, Heraklion, Greece. Tel.: +30 2810 392 379, +30 6976 697 696 (mobile).

E-mail address: [ioannou@med.uoc.gr](mailto:ioannou@med.uoc.gr) (C.V. Ioannou).

The LMWHs are pleiotropic anticoagulant drugs exerting their antithrombotic activity by inhibiting thrombin generation via the antithrombin dependent inhibition of serine proteases (factor Xa and to a lesser extent by inhibiting factor IIa, factor IXa [7–10]. In addition, LMWHs inhibit factor VIIa generation and activity and induce Tissue Factor Pathway Inhibitor (TFPI) release that contributes to their antithrombotic effect [11–13]. On the other hand, the longer glycosaminoglycan chains of LMWH bind non-specifically to plasma proteins, and part of its antithrombotic activity is neutralized by platelet factor 4 (PF4) released from activated platelets [14]. Activation of platelets, leukocytes and endothelium cells is enhanced during the perioperative period, inducing hypercoagulable state [15]. These processes compromise the antithrombotic efficacy of LMWHs and might be implicated in the failure of thromboprophylaxis in patients undergoing MOS.

Measurement of anti-Xa plasma activity is still regarded as the only test for biological monitoring of LMWH treatment. Nevertheless, it has been shown that for patients receiving LMWH for thromboprophylaxis the concentration of anti-Xa activity in plasma is not well correlated with the clinical outcome, although this has not been the case for patients with acute coronary syndromes treated with LMWH [16–18]. Measurement of anti-Xa activity in plasma represents only one aspect of LMWHs' activity, since they interfere into several steps of blood coagulation. Dosage of anti-Xa activity is performed in platelet poor plasma. LMWHs' antithrombotic activity is partially inhibited by PF4 [14,18]. Global coagulation assays sensitive to LMWHs could probably better reflect their antithrombotic efficacy [19]. The analysis of the influence of LMWH treatment on the distinct phases of blood coagulation in clinical settings where the thrombotic risk is increased could be a breakthrough step towards the development of such assays.

The present study was designed to evaluate the alterations of thrombin generation in patients undergoing MOS, after receiving postoperative prophylaxis with fixed dose enoxaparin, as well as after thromboprophylaxis withdrawal. We also evaluated the variability of the individual response of the blood coagulation mechanism during the post-operative period.

## Patients & Methods

Thirty one patients who underwent unilateral elective THR or TKR were included in the study. Patients were stratified according to surgical procedure: 15 patients whom underwent elective THR and received enoxaparin (4.000 anti-Xa IU once daily subcutaneous injections) for 30 days post-operatively and 16 patients whom underwent elective TKR and received the same dose of enoxaparin for 15 days post-operatively. Thromboprophylaxis administration followed the 9th ACCP recommendations [2,20–33]. The first subcutaneous injection was administered 8 hours after the end of surgery. High length antiembolic stockings were applied to all patients upon admission to the hospital and were applied for the full duration of thromboprophylaxis period.

Exclusion criteria were the presence of liver, renal or heart disease, cerebrovascular disease, known diabetes, peripheral artery disease, any known platelet or blood coagulation disorder, administration of any anticoagulant treatment (vitamin K antagonists, unfractionated heparin, LMWH, fondaparinux) and/or antiplatelet treatment (aspirin, clopidogrel, prasugrel) or NAIDS during the last 30 days before inclusion, contraindication for LMWH, cancer, pregnancy, estrogen therapy, and previous VTE episode.

All patients included in the study were tested for hereditary thrombophilia. They all had normal levels of antithrombin, protein C and S. Furthermore, all patients were tested and found to be negative for the factor V Leiden mutation and for the G20210A prothrombin gene mutation which has been previously reported to have a prevalence of 3.3% and 2.7%, respectively, among Greeks [34,35].

Thirty patients received spinal anesthesia with bupivacaine (8–12 mg) and fentanyl (20–25 µg) and only one patient received general anesthesia. The intraoperative monitoring was ECG/HR, non-invasive blood pressure (or invasive blood pressure when necessary), SPO<sub>2</sub>, Temperature, Urine Output. Post-operative analgesia was achieved with paracetamol per os or intravenous and pethidine intramuscularly, or paracetamol and tramadol hydrochloride per os or intravenously.

The study was approved by institutional ethics committee and was done in conformity with the Declaration of Helsinki. All patients signed informed consent.

## Healthy Individuals

The control group consisted of 15 age and sex matched healthy volunteers who had no personal history of thrombotic or haemorrhagic episodes and did not suffer from any other evident disease. Controls had normal prothrombin time and activated partial thromboplastin time. The healthy volunteers were not taking any medication for at least 1 month before blood sampling. The values obtained in the control group, were used to establish reference range for the assays.

## Blood Samples

Blood samples were obtained by atraumatic puncture of the antecubital vein at the following time-points:

The day before surgery (D0); 7-hours after the end of the surgery and 1 hour before the administration of the first dose of enoxaparin (D1); at the 8th postoperative day (D8) (one hour before the next injection of enoxaparin); two days after the cessation of thromboprophylaxis: D32 for patients undergoing THR and D17 for patients undergoing TKR.

Platelet-poor-plasma (PPP) was obtained after double centrifugation of citrated whole blood for 20 minutes at 2000g. Samples were aliquoted and frozen at -80 °C until assayed. All measurements were done in thawed plasma samples.

## Thrombin Generation (TG) Assay

Thrombin generation in plasma was assessed using the Calibrated Automated Thrombogram assay (CAT®, Diagnostica Stago, France) according to manufacturers' instructions and according to the assay described by Hemker et al. [36]. Briefly, 80 µl of PPP were added to 20 µl of PPP-reagent 5 pM® (Thrombinoscope b.v., Maastricht, Netherlands), a mixture of tissue factor (5pM final plasma concentration) and phospholipids (4µM final concentration in plasma). Each patient's plasma was studied in duplicate. In a third well, PPP reagent 5pM® was replaced with the same volume of Thrombin Calibrator® (Thrombinoscope bv, Maastricht, Netherlands) to correct thrombin generation curves for substrate consumption and the inner filter fluorescence effects. Thrombin generation was triggered with a 20µl solution containing CaCl<sub>2</sub> (16.7 mM final concentration) and the fluorogenic substrate Z-Gly-Gly-Arg-AMC (417pM final concentration). Fluorescence was measured using a Fluoroscan Ascent® fluorometer (ThermoLabsystems, Helsinki, Finland). Acquisition of thrombin generation parameters was done using the appropriate software (Calibrated Automated Thrombogram bv, Maastricht, The Netherlands).

Thrombogram parameters analysed were: the lag-time which describes the initiation phase of thrombin generation, the Peak concentration of generated thrombin and the time necessary to Peak (tt-Peak), the endogenous thrombin potential (ETP) that reflects the total amount of thrombin in its active form in plasma, and the mean rate index (MRI) which reflects the velocity of the propagation phase of thrombin generation. The MRI is calculated by the formula  $MRI = \text{Peak}/(\text{ttPeak-lag-time})$  [7].

**Table 1**

Thrombin generation in patients scheduled to undergo THR or TKR before surgery was not significantly different as compared to that in the control group. Seven hours post-op (D1) thrombin generation was not significantly different in THR patients as compared to D0 and control, but increased in TKR patients.

TG parameters	control group	THR patients		TKR patients	
		D0	D1	D0	D1
<b>lag-time (min)</b>	2.52 ± 0.56	2.8 ± 0.7	2.9 ± 1.7	3.3 ± 0.4	2.9 ± 0.5 *
<b>tt-Peak (min)</b>	5.29 ± 0.98	5.8 ± 1.0	5.5 ± 2.4	6.4 ± 0.9	5.5 ± 0.8 *
<b>Peak (nM)</b>	288 ± 48	255.3 ± 56.4	224.1 ± 81.9	266.7 ± 77.5	270.7 ± 59.5
<b>ETP (nM x min)</b>	1498 ± 225	1313 ± 306	1135 ± 381	1492 ± 413	1442 ± 320
<b>MRI (nM/min)</b>	109 ± 33	88.9 ± 31.7	97.9 ± 50.7	94.2 ± 41.7	111.7 ± 38.7 *

\*  $p < 0.05$ ; comparison of column with D0 of the same group of patients.

### Venous Colour Duplex Imaging

Constant surgical technique and similar levels of trauma were maintained for all patients included in the study. All patients were assessed with a colour-duplex ultrasound to exclude DVT (colour-duplex ultrasound examination on D8 in all patients included in the study, on D17 for those who underwent TKR, and on D32 for those who underwent THR) performed by the same ultrasonographer.

### Statistics

Paired-T Test was performed in order to compare median values of all parameters in each time point. P-values less than 0.05 were considered statistically significant.

### Results

None of the patients presented any clinical or imaging signs of VTE either prior to surgery, or during the entire post-op study period (until D17 for the TKR group and D32 for the THR group).

### Demographics of the Studied Population

The control group consisted of 10 males and 5 females with a mean age not significantly different as compared to the group of patients (55 ± 10 years and 63.2 ± 7.4 years, respectively;  $p = 0.08$ ).

**THR group.** 80% of the patients were women (12/15) with a mean age of 63.3 ± 10.4 years and a mean body mass index of 27.4 ± 3.9. Regional spinal anaesthesia was used in all patients, with a mean operating time of 113 ± 29 minutes and an average need for 1.7 ± 0.5 units of blood transfusions.

**TKR group.** 75% of the patients were women (12/16) with a mean age of 72.9 ± 6.4 years and a mean body mass index of 28.9 ± 4.2. Regional spinal anaesthesia was used in all but one patients (95%) with a mean operating time of 47 ± 4 minutes and an average need for 0.4 ± 0.5 units of blood transfusions.

### Impact of Major Orthopaedic Surgery on Thrombin Generation

At D0 thrombin generation was within the normal range in both groups of patients and was not significantly different as compared to the control group (Table 1). Seven hours after the end of the surgery (D1), in the THR group thrombin generation was not significantly modified as compared to D0 (Table 1).

In contrast, in patients who underwent TKR at D1 thrombin generation was significantly modified as compared to D0. In this group, at D1 as compared to D0 a significant decrease of the lag-time (from 3.3 ± 0.4 to 2.9 ± 0.5 min;  $p = 0.02$ ) and tt-Peak (6.4 ± 0.9 to 5.5 ± 0.8 min;  $p = 0.003$ ) and a significant increase of the MRI (from 94.2 ± 41.7 to 111.7 ± 38.7 nM/min;  $p = 0.01$ ) were observed (Table 1).

### Impact of Thromboprophylaxis with Enoxaparin on Thrombin Generation in the Postoperative Period

A prolongation in the chronometric parameters of the thrombogram (lag-time and tt-Peak) was observed after LMWH administration.

In the THR group administration of enoxaparin prolonged the lag-time during the post-operative period (from D0: 2.8 ± 0.7 and D1: 2.9 ± 1.7 to D8: 4.8 ± 2.7 min;  $p = 0.01$  and 0.01, respectively), as well as tt-Peak (from D0: 5.8 ± 1.0 and D1: 5.5 ± 2.4 to D8: 7.8 ± 3.4 min;  $p = 0.04$  and 0.03, respectively). The other parameters of thrombogram did not significantly change during the study period (Table 2).

In the TKR group, the postoperative increase of thrombin generation observed 7-hours after the end of the operation was reversed after administration of enoxaparin as seen on D8 by the increase in lag-time (from D1: 2.9 ± 0.5 to D8: 4.4 ± 1.5 min;  $p = 0.003$ ) and tt-Peak (from D1: 5.5 ± 0.8 to D8: 7.2 ± 2.4 min;  $p = 0.02$ ), whereas the rest of the parameters were not significantly modified (Table 3).

Comparison of thrombin generation between the two groups did not reveal any significant differences in the inhibitory effect of enoxaparin.

### Evaluation of Rebound Activation of Coagulation After Interruption of Prophylaxis

In THR group, thrombin generation was not significantly influenced by enoxaparin's withdrawal (Table 4). Two days after interruption of enoxaparin a significant decrease of the lag-time and tt-Peak, was observed but the others parameters of thrombogram did not significantly modify (Table 4).

A significant increase of thrombin generation was observed in the TKR group after interruption of enoxaparin treatment. After the discontinuation of enoxaparin ETP, Peak, and MRI, were increased significantly in comparison to pre-operative and immediately post-operative status ( $p < 0.05$  for D0 & D1 vs. D17) (Table 5). Additionally, two days after cessation of enoxaparin (D17) a significant decrease in lag-time was observed (from D8: 4.4 ± 1.5 to D17: 3.3 ± 0.6 min;  $p = 0.053$ ) and also a significant decrease in tt-Peak (from D8: 7.2 ± 2.4 to D17: 5.5 ± 0.7 min;  $p = 0.08$ ) (Table 5).

Two days after cessation of thromboprophylaxis the phenomenon of rebound activation of coagulation depicted as increased thrombin

**Table 2**

Comparison of the THR group (D0 vs D8 and D1 vs D8).

TG parameters	D0	D1	D8	P D0 vs D8	P D1 vs D8
<b>lag-time (min)</b>	2.8 ± 0.7	2.9 ± 1.7	4.8 ± 2.7	<b>0.01</b>	<b>0.01</b>
<b>Peak (nm)</b>	255.3 ± 56.4	224.1 ± 81.9	240.4 ± 126.2	0.54	0.81
<b>tt-Peak (min)</b>	5.8 ± 1.0	5.5 ± 2.4	7.8 ± 3.4	<b>0.04</b>	<b>0.03</b>
<b>ETP (nM x min)</b>	1313 ± 306	1135 ± 381	1240 ± 473	0.64	0.36
<b>MRI (nM/min)</b>	88.9 ± 31.7	97.9 ± 50.7	96.2 ± 79.4	0.85	0.81

**Table 3**  
Comparison of the TKR group (D0 vs D8 and D1 vs D8).

TG parameters	D0	D1	D8	P D0 vs D8	P D1 vs D8
<b>lag-time (min)</b>	3.3 ± 0.4	2.9 ± 0.5	4.4 ± 1.5	0.03	<b>0.003</b>
<b>Peak (nm)</b>	266.7 ± 77.5	270.7 ± 59.5	290.1 ± 121.6	0.32	0.41
<b>tt-Peak (min)</b>	6.4 ± 0.9	5.5 ± 0.8	7.2 ± 2.4	0.29	<b>0.02</b>
<b>ETP (nM x min)</b>	1492 ± 413	1442 ± 320	1479 ± 568	0.82	0.67
<b>MRI (nM/min)</b>	94.2 ± 41.7	111.7 ± 38.7	119.7 ± 74.4	0.15	0.57

generation was significantly more intense in TKR group as compared to THR group (Tables 4 and 5).

#### Variability of the Response to Enoxaparin Prophylaxis

Thrombin generation assessment revealed a significant variability of the response to enoxaparin among patients of each studied group while receiving the same dose of anticoagulant agent under the very same circumstances.

In the THR group 7 patients (47%) increased MRI on D8 (compared to D1), and two of them (29%) further increased this parameter on D32 (Fig. 1). Ten patients (67%) increased ETP on D8 (compared to D1) and 4 of them (40%) further increased this parameter on D32. Two patients (13%) decreased lag-time and tt-Peak on D8 (compared to D1).

In the TKR group 12 patients (75%) increased MRI on D8 (compared to D1) and four of them (33%) further increased this parameter on D17 (Fig. 2). Twelve patients (75%) presented increased values of ETP on D8 (compared to D1), and eight of them (67%) further increased this parameter on D17. One patient (6%) presented decreased lag-time and tt-Peak on D8 (compared to D1). Two patients (13%) presented decreased tt-Peak values on D8 (compared to D1).

#### Discussion

In the present study we analysed the modifications of thrombin generation process induced by THR and TKR and by postoperative thromboprophylaxis with the recommended dose of enoxaparin. In addition we evaluated thrombin generation 48-hours after cessation of thromboprophylaxis in patients undergoing total hip or knee replacement.

Seven hours after TKR and prior to the administration of thromboprophylaxis with enoxaparin hypercoagulability was documented by a significant decrease in lag-time and tt-Peak and by a significant increase in the MRI. This was not the case in the THR patients, suggesting that knee arthroplasty has a stronger pro-thrombotic effect than hip surgery. This is in accordance with the clinical data showing that TKR is associated with a higher incidence of VTE as compared to THR. Since the first dose of thromboprophylaxis in most institutions is administered after 8–12 hours post-operatively this leaves a time window in which the patient has marked hypercoagulability. This biological evidence might justify earlier postoperative administration of thromboprophylaxis, as is the case with fondaparinux, rivaroxaban and dabigatran [37,38]. Enoxaparin has an efficient anticoagulant effect as this appears on D8. In our study the antithrombotic effect of enoxaparin treatment was evaluated at distance of 23 hours after the last subcutaneous injection. This design offers evidence supporting that the antithrombotic affect of enoxaparin administrated at the dose

of 4000 anti-Xa IU once daily persist during the 24 hour therapeutic cycle. In both studied groups of patients the administration of enoxaparin efficiently inhibited thrombin generation. It should be noted that statistical significance of thrombogram parameters was not observed between TKR and THR when they were compared on D8.

Enoxaparin administration had a different impact on each parameter of thrombogram. Enoxaparin had a significantly more pronounced effect on MRI and ETP. Kinetic parameters of thrombin generation (such as MRI) were found to be more sensitive to detect the antithrombotic effect of enoxaparin. Lag-time significantly increased in both groups of patients on the 8th post-operative day showing that thromboprophylaxis with enoxaparin requires several days during the post-operative period in order to establish significant inhibition of thrombin generation.

In TKR patients the interruption of thromboprophylaxis with enoxaparin (after 15 days of treatment) resulted in rebound activation of coagulation documented by a significantly increased thrombin generation at the 17th post-operative day as compared to thrombin generation either before the operation (D0) or at the first postoperative day (D1) was not observed. In THR patients, no rebound hypercoagulability was observed after cessation of enoxaparin thromboprophylaxis which was given for 30 days. This difference could be related with the higher thrombogenic potential of TKR surgery as compared to THR surgery. We assume that a surgical procedure that induces high degree of hypercoagulability, such as TKR surgery [15], requires longer administration of thromboprophylaxis in order to mire efficiently and permanently downregulate thrombin generation. This concept is supported by clinical data that led to the extension of prophylaxis in TKR adopted by the 9th ACCP [20]. Whereas in patients undergoing TKR the prolonged administration of thromboprophylaxis with LMWHs results in persistent normalisation of thrombin generation after treatment interruption, as it happens in patients undergoing THR, needs to be investigated in future studies.

Clinical guidelines recommend VTE prophylaxis with LMWH for a minimum of 10–14 days following THR and TKR (Grade 1B recommendation), or extended thromboprophylaxis up to 35 days in the outpatient period (Grade 2B recommendation) [2,20–33]. Extended thromboprophylaxis with LMWH for 35 days following hip arthroplasty has resulted in clinical significant reductions in the incidence of venographically confirmed VTE [1,2]. Insufficient clinical data regarding the optimal duration of thromboprophylaxis with LMWH in TKR patients leads to support empirically extended prophylaxis similar to THR patients [2,20–33]. There is no clear consensus on the duration of DVT prophylaxis especially regarding TKR patients [21]. The assessment of the global antithrombotic activity of LMWHs using thrombin generation assay during the post-operative period for these patients, may give some answers to which is the optimal use of anticoagulants

**Table 4**  
Comparison of the THR group on D0 vs D32, D1 vs D32 and D8 vs D32.

TG parameters	D0	D1	D8	D32	P D0 vs D32	P D1 vs D32	P D8 vs D32
<b>lag-time (min)</b>	2.08 ± 0.7	2.9 ± 1.7	4.8 ± 2.7	2.6 ± 0.5	0.46	0.55	<b>0.03</b>
<b>Peak (nm)</b>	255.3 ± 56.4	224.1 ± 81.9	240.4 ± 126.2	290.3 ± 78.5	0.28	0.08	0.96
<b>tt-Peak (min)</b>	5.8 ± 1.0	5.5 ± 2.4	7.8 ± 3.4	5.2 ± 0.9	0.19	0.7	<b>0.03</b>
<b>ETP (nM x min)</b>	1313 ± 306	1135 ± 381	1240 ± 473	1397 ± 364	0.58	0.13	0.78
<b>MRI (nM/min)</b>	88.9 ± 31.7	97.9 ± 50.7	96.2 ± 79.4	116.3 ± 49.6	0.19	0.42	0.86



**Table 5**

Comparison of the TKR group on D0 vs D17, D1 vs D17 and D8 vs D17.

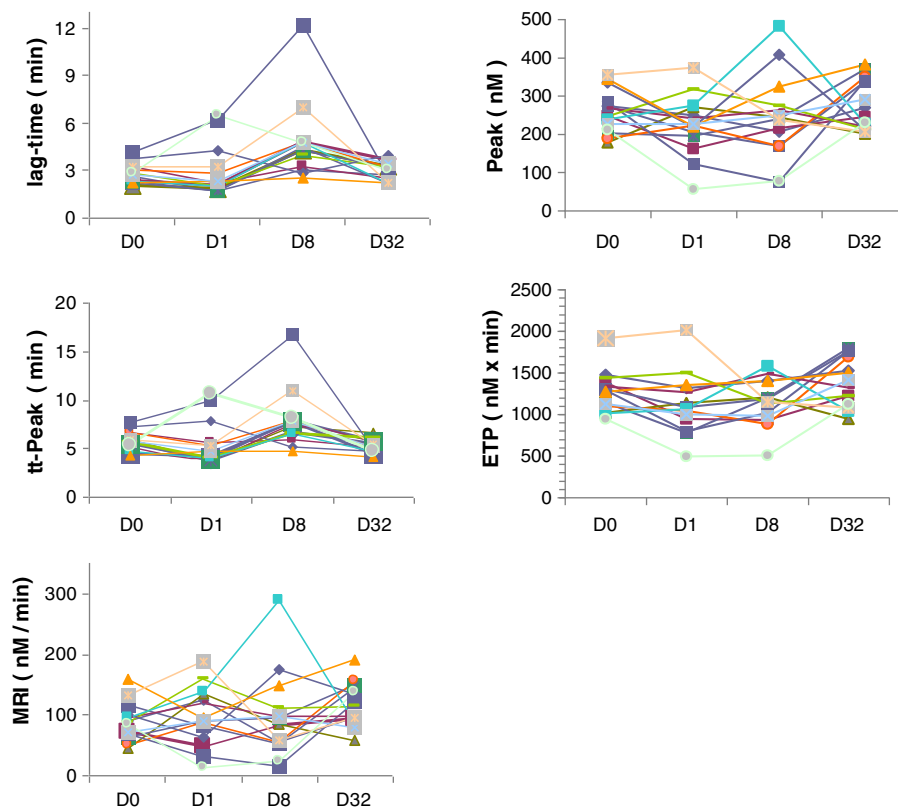
TG parameters	D0	D1	D8	D17	P D0 vs D17	P D1 vs D17	P D8 vs D17
<b>lag-time (min)</b>	3.3 ± 0.4	2.9 ± 0.5	4.4 ± 1.5	3.3 ± 0.6	0.94	<b>0.0004</b>	<b>0.05</b>
<b>Peak (nm)</b>	266.7 ± 77.5	270.7 ± 59.5	290.1 ± 121.6	339.0 ± 45.1	<b>0.003</b>	<b>0.0001</b>	0.13
<b>tt-Peak (min)</b>	6.4 ± 0.9	5.5 ± 0.8	7.2 ± 2.4	5.5 ± 0.7	0.09	<b>0.01</b>	0.08
<b>ETP (nM x min)</b>	1492 ± 413	1442 ± 320	1479 ± 568	1677 ± 306	<b>0.03</b>	<b>0.002</b>	0.17
<b>MRI (nM/min)</b>	94.2 ± 41.7	111.7 ± 38.7	119.7 ± 74.4	140.5 ± 26.7	<b>0.001</b>	<b>0.001</b>	0.32

after orthopaedic surgery [39]. Until now, the clinical relevance of thrombin generation assessment for the evaluation of LMWH's antithrombotic action has not been systematically evaluated. Altman et al. studied the antithrombotic effect of LMWH (enoxaparin) using thrombin generation assay in 20 healthy volunteers for a 7-day period with a 7 day wash-out period [40]. They concluded that the mean concentration of anti-Xa activity (UI/ml) increased on days 3 and 7, lag-time and tt-Peak were significantly prolonged and the ETP at 3 and 7 days after treatment was significantly reduced when compared with baseline values [40]. Green et al. studied the impact of hip and knee replacement surgery as well as the anticoagulant effects of dalteparin and rivaroxaban on thrombin generation, 24-hours after surgery [41]. They concluded that in patients undergoing THR or TKR, thrombin generation increases during the procedure and treatment with rivaroxaban and dalteparin decreases thrombin generation within 24-hours after surgery [41]. It is clear that further studies are needed to evaluate the clinical significance of these parameters.

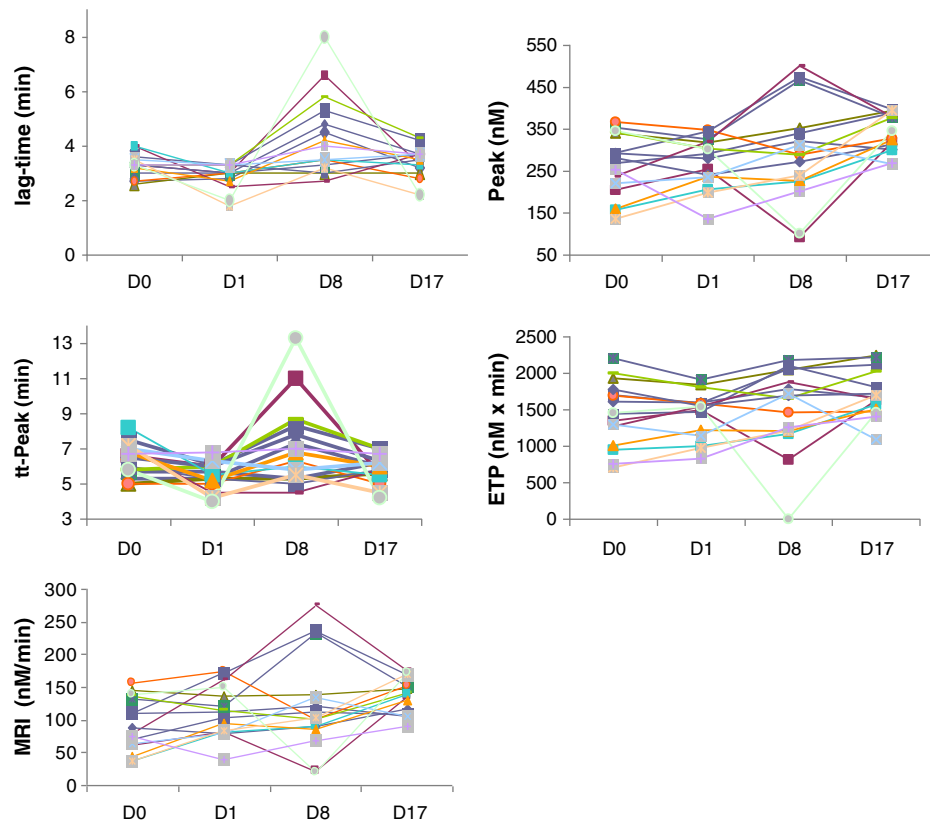
The data presented herein show that the poor inhibition of thrombin generation by thromboprophylaxis with a daily dose of 4000 anti-Xa IU of to enoxaparin is a frequent phenomenon in patients undergoing MOS. The observed inter-individual variability of the inhibition of thrombin generation in both groups of patients which received the same dose of enoxaparin, without dose adjustment and biological

monitoring, challenges the use of standard doses and rises the question if this variability establishes the concept of biological resistance or hypersensitivity to the treatment. Although no thrombotic or hemorrhagic events occurred during the observation period the small number of patients, do not allow for a conclusion on the clinical relevance of this finding. The clinical relevance of the biological resistance to the treatment with LMWH and its potential correlation with the failure of this treatment needs to be prospectively investigated. Resistance to treatment with LMWHs has also been reported in several recent studies. Al Dieri et al in a study performed in healthy volunteers receiving subcutaneously a single dose of LMWH reported that in about 20% of the samples, collected within 24 hours after the injection, the inhibition of thrombin generation could not be predicted by the concentration of the anti-Xa activity in plasma, or by the variations of the body weight [42]. Papageorgiou et al, using thrombin generation assay, have recently demonstrated the presence of resistance to thromboprophylaxis with enoxaparin administered postoperatively is patients undergoing lobectomy for lung adenocarcinoma [43] Our study in accordance to the previous ones raises the question whether a unique daily dose of 40 mg enoxaparin fits all patients undergoing total knee or hip replacement.

Indeed the vast majority of patients undergoing MOS receive thromboprophylaxis with fixed dose of LMWH. Despite this there is



**Fig. 1.** Individual variability (per patient) of the response to LMWH in the THR group using thrombin generation assay for the 32 day study period. Increased values on ETP and MRI on day 8 (increase of MRI in 7 patients and of ETP in 10 patients) indicates a biological resistance to LMWHs. Further increase of these values on day 32 (increase of ETP in 4 patients and of MRI in 2 patients) indicate a rebound activation phenomena after LMWH withdrawal.



**Fig. 2.** Individual variability (per patient) of the response to LMWH in the TKR group using thrombin generation assay for the 17 day study period. Increased values on ETP and MRI on day 8 (as observed in 12 patients) indicate a biological resistance to LMWHs. Further increase of these values on day 17 (increase of ETP in 8 patients and of MRI in 4 patients) indicates a rebound activation phenomena after LMWH withdrawal.

still a considerable burden of residual VTE. Thus, the findings of the present study raise the question about the need for optimisation of the dose of thromboprophylaxis with LMWH. The resistance to LMWH thromboprophylaxis is more important in the TKR patients. Among thrombogram parameters MRI and ETP seems to be more sensitive for the detection of the antithrombotic activity of LMWH's. In fact these parameters are more sensitive to reveal the variability of the response to the anticoagulant agent. Global coagulation assay possibly could play a role in optimizing the antithrombotic strategy by identifying the most appropriate prophylactic dose of enoxaparin. This concept has to be tested in prospective trials.

In conclusion, thromboprophylaxis with enoxaparin attenuates thrombin generation. Among thrombogram parameters MRI and ETP seems to be of major importance for the detection of the antithrombotic effect of enoxaparin. In addition these parameters reveal a significant variability of the response to the treatment. The clinical relevance of this finding merits to be evaluated in a prospective study.

The administration of enoxaparin for 30 days post-operatively seems to offer adequate thromboprophylaxis for THR patients. In contrast administration of thromboprophylaxis for 15 days in patients undergoing TKR seems to offer inadequate downregulation of plasma hypercoagulability, since after cessation of thromboprophylaxis thrombin generation is significantly enhanced.

Resistance to LMWH in addition to rebound enhancement of thrombin generation after enoxaparin withdrawal might explain the considerable burden of VTE in this type of patients on orthopaedic surgery during the extended post-op period.

#### Conflict of Interest Statement

None to Report

#### References

- [1] Hirsh J, Guyatt G, Albers GW, Harrington R, Schünemann HJ. Antithrombotic and Thrombolytic Therapy: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). *Chest* 2008;133(6-Suppl.):1105–25.
- [2] Guyatt GH, Akl EA, Crowther M, Gutterman DD, Schünemann HJ. American College of Chest Physicians Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis Panel-Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest* 2012;141(2-Suppl.):7S–47S.
- [3] Hemker HC, Béguin S. Mode of action of unfractionated and low molecular weight heparins on the generation of thrombin in plasma. *Haemostasis* 1990;20(Suppl. 1):81–92.
- [4] Eriksson BI, Borris LC, Friedman RJ, Haas S, Huisman MV, Kakkar AK, et al. for the RECORD1 Study Group. Rivaroxaban versus Enoxaparin for Thromboprophylaxis after Hip Arthroplasty. *N Engl J Med* 2008;358:2765–75.
- [5] Kakkar AK, Brenner B, Dahl OE, Eriksson BI, Mouret P, Muntz J, et al. Extended duration rivaroxaban versus short-term enoxaparin for the prevention of venous thromboembolism after total hip arthroplasty: a double-blind, randomised controlled trial. *Lancet* 2008;372:31–9.
- [6] Lassen MR, Ageno W, Borris LC, et al. for the RECORD3 investigators. Rivaroxaban versus Enoxaparin for Thromboprophylaxis after Total Knee Arthroplasty. *N Engl J Med* 2008;358:2776–86.
- [7] Gerotziakas GT, Petropoulou AD, Verdy E, Samama MM, Elalamy I. Effect of the anti-factor Xa and anti-factor IIa activities of low-molecular-weight heparins upon the phases of thrombin generation. *J Thromb Haemost* 2007;5:955–62.
- [8] Samama MM, Bara L, Gerotziakas GT. Mechanisms for the antithrombotic activity in man of low molecular weight heparins (LMWHs). *Haemostasis* 1994;24:105–17.
- [9] Béguin S, Mardiguian J, Lindhout T, Hemker HC. The mode of action of low molecular weight heparin preparation (PK10169) and two of its major components on thrombin generation in plasma. *Thromb Haemost* 1989;61:30–4.
- [10] Béguin S, Hemker HC. Mode of action of enoxaparin in plasma. *Acta Chir Scand Suppl* 1990;556:51–6.
- [11] Gerotziakas GT, Zafropoulos A, Van Dreden P, Karavaggi E, Goutzoumas N, Nikolaidis P, et al. Inhibition of factor VIIa generation and prothrombin activation by treatment with enoxaparin in patients with unstable angina. *Br J Haematol* 2003;120:611–7.
- [12] Martinez-Sales V, Vila V, Réganon E, Oms JG, Aznar J. Effect of unfractionated heparin and a low molecular weight heparin (enoxaparin) on coagulant activity of cultured human endothelial cells. *Haematologica* 2003;88:694–9.
- [13] Sandset PM, Bendz B, Hansen JB. Physiological function of tissue factor pathway inhibitor and interaction with heparins. *Haemostasis* 2000;30(Suppl. 2):48–56.

- [14] Schoen P, Lindhout T, Franssen J, Hemker HC. Low molecular weight heparin-catalyzed inactivation of factor antithrombin III—effect of platelet factor 4. *Thromb Haemost* 1991;66:435–41.
- [15] Kageyama K, Nakajima Y, Shibasaki M, Hashimoto S, Mizobe T. Increased platelet, leucocyte and endothelial cell activity are associated with increased coagulability in patients after total knee arthroplasty. *J Thromb Haemost* 2007;5:738–45.
- [16] Bara L, Planes A, Samama MM. Occurrence of thrombosis and haemorrhage, relationship with anti-Xa, anti-IIa activities, and D-dimer plasma levels in patients receiving a low molecular weight heparin, enoxaparin or tinzaparin, to prevent deep vein thrombosis after hip surgery. *Br J Haematol* 1999;104:230–40.
- [17] Antman EM, McCabe CH, Gurfinkel EP, Turpie AGG, Bennis PJLM, Salein D, et al. Enoxaparin prevents death and cardiac ischemic events in unstable angina/non-Q-wave myocardial infarction: results of the Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) 11B Trial. *Circulation* 1999;100:1593–601.
- [18] Ma MJ, Jackevicius CA, Yeo E. Anti-Xa monitoring of enoxaparin for acute coronary syndromes in patients with renal disease. *Ann Pharmacother* 2004;38:1576–81.
- [19] Bendetowicz AV, Kai H, Knebel R, Caplain H, Hemker HC, Lindhout T, et al. The effect of subcutaneous injection of unfractionated and low molecular weight heparin on thrombin generation in platelet rich plasma—a study in human volunteers. *Thromb Haemost* 1994;72:705–12.
- [20] Falck-Ytter Y, Francis CW, Johanson NA, Curley C, Dahl OE, Schulman S, et al. Prevention of VTE in orthopedic surgery patients: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest* 2012 Feb;141(2 Suppl.):e278S–325S. <http://dx.doi.org/10.1378/chest.11-2404>.
- [21] Struijk-Mulder MC, Etema HB, Verheyen CC, Buller HR. Comparing consensus guidelines thromboprophylaxis in orthopedic surgery. *J Thromb Haemost* 2010;8:678–83.
- [22] American Academy of Orthopaedic Surgeons. Preventing venous thromboembolic disease in patients undergoing elective hip and knee arthroplasty. Evidence-based guideline and evidence report; 2011. p. 79 [Available at: [http://www.aaos.org/research/guidelines/VTE/VTE\\_full\\_guideline.pdf](http://www.aaos.org/research/guidelines/VTE/VTE_full_guideline.pdf). Accessed May 2, 2013].
- [23] Cardiovascular Disease Educational and Research Trust, Cyprus Cardiovascular Disease Educational and Research Trust, European Venous Forum, International Surgical Thrombosis Forum, International Union of Angiology, Union Internationale de Phlebologie. Prevention and treatment of venous thromboembolism. International Consensus Statements (guidelines according to scientific evidence). *Int Angiol* 2006;25:101–61.
- [24] National Institute for Health and Clinical Excellence. Reducing the risk of venous thromboembolism (deep vein thrombosis and pulmonary embolism) in patients admitted to hospital. This guideline updates NICE clinical guideline 46 and replaces it. London; 2010 24–7 [Available at: <http://www.nice.org.uk/nicemedia/live/12695/47195/47195.pdf>].
- [25] Scottish Intercollegiate Guidelines Network. Prophylaxis of venous thromboembolism. SIGN guideline No 62 [Internet]; 2002 51 [Edinburgh].
- [26] Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (Germany). Stationäre und ambulante Thromboembolie – Prophylaxe in der Chirurgie und der perioperativen Medizin [Internet]; 2003 12.
- [27] Maffei FHA, Caiafa JS, Ramacciotti E, Castro AAL. Grupo de Elaboracao de Normas de Orientacao Clinica em Thrombose Venosa Profunda da SBACV. Normas de orientacao venosa profunda (revisao). (Brazil); 2005 16 [Internet].
- [28] Southern Africa Society of Thrombosis and Haemostasis. Guideline for prophylactic anticoagulation. *S Afr Med J* 2004;94:691–5.
- [29] Kobayashi T, Nakamura M, Sakuma M, Yamada N, Sakon M, Fujita S, et al. Incidence of pulmonary thromboembolism (PTE) and new guidelines for PTE prophylaxis in Japan. *Clin Hemorheol Microcirc* 2006;35:257–9.
- [30] Samama CM, Albaladejo P, Benhamon D, Bertin – Maghit M, Bruder N, Doublet JD, et al. Venous thromboembolism prevention in surgery and obstetrics: clinical practice guidelines. *Eur J Anaesthesiol* 2006;23:95–116.
- [31] The Australia and New Zealand working party on the Management and Prevention of Venous Thromboembolism. Prevention of Venous Thromboembolism [Internet]. Australia: Health Education and Management Innovations; 2007 20.
- [32] Eikelboom JW, Karthikeyan G, Fagel N, Hirsh J, for the American Association of Orthopedic Surgeons and American College of Chest Physicians Guidelines for Venous Thromboembolism Prevention in Hip and Knee Arthroplasty Differ: What Are the Implications for Clinicians and Patients? *Chest* 2009;135:513–20.
- [33] Westrich GH, Bottner F, Windsor RE, Laskin RS, Haas SB, Sculco TP. VenaFlow plus Lovenox vs VenaFlow plus aspirin for thromboembolic disease prophylaxis in total knee arthroplasty. *J Arthroplasty* 2006;21:139–43.
- [34] Ioannou HV, Mitsis M, Eleftheriou A, Matsagas M, Nousias V, Rigopoulos C, et al. The prevalence of factor V Leiden as a risk factor for venous thromboembolism in the population of North-Western Greece. *Int Angiol* 2000;19:314–8.
- [35] Zalavras CG, Giotopoulou S, Dokou E, Mitsis M, Ioannou HV, Tsaousi C, et al. Prevalence of the G20210A prothrombin gene mutation in North-western Greece and association with venous thromboembolism. *Int Angiol* 2003;22:55–7.
- [36] Hemker HC, Giesen P, Al Dieri R, Regnault V, de Smedt E, Wagenvoort R, et al. Calibrated automated thrombin generation measurement in clotting plasma. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2003;33:4–15.
- [37] Turpie AG, Bauer KA, Eriksson BI, Lassen MR. Superiority of fondaparinux over enoxaparin in preventing venous thromboembolism in major orthopedic surgery using different efficacy end points. *Chest* 2004;126:501–8.
- [38] Ageno W, Spyropoulos AC, Turpie AG. Role of new anticoagulants for the prevention of venous thromboembolism after major orthopaedic surgery and in hospitalised acutely ill medical patients. *Thromb Haemost* 2012;107:1027–34.
- [39] Borris LC. Barriers to the optimal use of anticoagulants after orthopaedic surgery. *Arch Orthop Trauma Surg* 2009;129:1441–5.
- [40] Altman R, Scazzioti AS, Pons S, Herrera L, Keller AG, Assefi AR, et al. Effects of enoxaparin preparations on thrombin generation and their correlation with their anti-FXa activity. *Curr Med Res Opin* 2011;27:1–9.
- [41] Green L, Lawrie AS, Patel S, Hossain F, Chitolie A, Mackie IJ, et al. The impact of elective knee/hip replacement surgery and thromboprophylaxis with rivaroxaban or dalteparin on thrombin generation. *Br J Haematol* 2010;151:469–76.
- [42] Al Dieri R, Alban S, Béguin S, Hemker HC. Fixed dosage of low-molecular-weight heparins causes large individual variation in coagulability, only partly correlated to body weight. *J Thromb Haemost* 2006;4:83–9.
- [43] Papageorgiou C, Van Dreden P, Marret E, Bonnet F, Robert F, Spyropoulos A, et al. Lobectomy and postoperative thromboprophylaxis with enoxaparin improve blood hypercoagulability in patients with localized primary lung adenocarcinoma. *Thromb Res* 2013;132:584–91.