

PROGRESE RECENTE ÎN DESCIFRAREA PATOGENEZEI TROMBOZELOR ASOCIATE SINDROMULUI ANTIFOSFOLIPIDE

MIRCEA CUCUIANU¹, IOANA BRUDAȘCĂ¹, ANCA CRISTEA²

¹Catedra de Biochimie Medicală, UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca

²Clinica Medicală I, UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca

Rezumat

Patogeneza trombozelor asociate sindromului antifosfolipide pare a fi multifactorială și nu este încă pe deplin elucidată. Date recente din literatură au evidențiat că în cazurile de APS se dezvoltă o clonă producătoare de anticorpi, care leagă β 2glicoproteina I și care se fixează la suprafața monocitelor și celulelor endoteliale, inducând expresia factorului tisular, inițiatorul fiziologic al coagulării. Monocitele astfel stimulate eliberează citokine proinflamatorii (TNF- α , IL- 1 β). Sub acțiunea acestor citokine are loc o îndepărtare a receptorului proteinei C de pe suprafața celulelor endoteliale și, ca urmare, o depresie a acestui mecanism anticoagulant, precum și o creștere a expresiei unor chemokine endoteliale, cu efect de activare a plachetelor și o inhibare a fibrinolizei prin creșterea sintezei de inhibitor al activatorului plasminogenului. Declanșarea unor astfel de mecanisme proinflamatorii și protrombotice poate fi prevenită de către compusul sintetic dehydroxymethylepoxiquinomycin, un inhibitor specific al factorului nuclear kB, care este unul din factorii cheie de transcripție a genelor cu importanță pentru răspunsul imun și pentru inflamație.

Cuvinte cheie: sindrom antifosfolipide, tromboze, anticorpi anti β 2glicoproteina I, dehydroxymethylepoxiquinomycin, factor nuclear kB.

RECENT PROGRESS UNRAVELLING THE PATHOGENY OF ANTIPHOSPHOLIPID SYNDROME - RELATED THROMBOSIS

Abstract

Mechanisms associating antiphospholipid syndrome with arterial and venous thrombosis appear to be multifactorial and are not fully understood. Recent data in the literature emphasized that a clone of antibodies occurring in APS and recognizing β 2glicoprotein I bind to monocytes and vascular endothelial cells, thereby inducing the expression of tissue factor, a physiological initiator of coagulation, and a release of proinflammatory cytokines (TNF- α , IL- 1 β) by the monocytes. Such cytokines would lead to the shedding of protein C receptor from the surface of the endothelial cells, thus impairing an important anticoagulant mechanism. High levels of proinflammatory cytokines would also increase the expression of endothelial chemokines, inducing platelet activation and would enhance the synthesis of plasminogen activator inhibitor, contributing to a decreased fibrinolytic activity. Noteworthy the triggering of such proinflammatory and prothrombotic mechanisms is prevented by the synthetic compound dehydroxymethylepoxiquinomycin, a specific inhibitor of nuclear factor kB, which is one of the key transcription factors for the expression of many genes relevant to immune response and inflammation.

Keywords: antiphospholipid syndrome, thrombosis, anti β 2glicoprotein I antibodies, dehydroxymethylepoxiquinomycin, nuclear factor kB.

Termenul lupus anticoagulant a fost atribuit în 1972 de către Feinstein și Rapaport [1] unor inhibitori ai coagulării, care se dezvoltă la aproximativ 10% din pacienții cu lupus eritematos sistemic (SLE), dar care poate fi detectat și în cazul unor bolnavi cu alte anomalii având caracter autoimun, în legătură cu unele infecții, la pacienții tratați cu anumite medicamente (în special fenotiazine), precum și în cazul unor persoane care nu prezintă vreo stare patologică detectabilă [2,3].

În esență, anomalia de tip lupus anticoagulant constă din prezența unor anticorpi dobândiți care prelungesc timpii de coagulare a testelor dependente de fosfolipide, fără a inhiba de regulă în mod specific un anumit factor al coagulării. Ca urmare, timpii de coagulare ai unor teste, cum sunt timpul de tromboplastină parțial activată (APTT), testul Stypten cu venin de viperă Russell și, în mai mică măsură, timpul de protrombină vor fi anormal prelungiți la pacienții cu lupus anticoagulant [3,5]. La utilizarea unor reactivi cu conținut scăzut de fosfolipide, respectiv a unei tromboplastine diluate 1/100 diferențele între pacienți și subiecți de control vor fi și mai accentuate.

Observațiile de mai sus au dus la cercetări în măsură să demonstreze prezența unor anticorpi care reacționează cu fosfolipidele, având o încărcare electronegativă (fosfatidilserină, fosfatidilinozitol, acid fosfatidic). Un test utilizat în mod curent pentru depistarea anticorpilor antifosfolipide este cel care evidențiază anticorpii anticardiolipină, iar existența unor asemenea anticorpi explică reacțiile fals pozitive pentru sifilis. Anticorpii antifosfolipide și implicit cei responsabili de efectul lupus anticoagulant sunt imunoglobuline de diverse tipuri, respectiv IgG, IgM și mai rar IgA [5,6].

Se consideră că anticorpii antifosfolipide sunt heterogeni, iar cei de tip lupus anticoagulant reprezintă doar un subgrup [6, 7]. Ca urmare, s-a convenit ca anomaliile survenite la pacienții prezentând astfel de anticorpi să fie redenumite sub termenul de sindrom antifosfolipide. Este deci recomandabilă investigarea ambelor modalități de explorare, respectiv cea imunologică și cea coagulometrică în cazurile cu manifestări trombotice, care apar la circa 30% din pacienții cu lupus anticoagulant [8]. De notat că riscul de tromboză crește în cazul pacienților cu lupus eritematos sistemic prezentând concentrații ridicate de anticorpi IgG și titruri înalte de anticorpi antifosfolipide [4,8].

Deși timpii de coagulare ai testelor menționate sunt prelungiți, anticoagulanții circulanți nu produc hemoragii, decât în cazurile foarte rare în care anticorpii se leagă de molecula de protrombină, iar aceste complexe imune se îndepărtează din plasmă rezultând o hipoprotrombinemie [3].

Mecanismul prin care anticorpii antifosfolipide, inclusiv cei responsabili de efectul lupus anticoagulant facilitează dezvoltarea trombozei pare a fi multifactorial

și prezintă aspecte neelucidate. S-a sugerat că în bolile evoluând cu astfel de anticorpi s-ar perturba activarea proteinei C și implicit s-ar opri degradarea proteolitică a factorului V activat [9,10], iar cercetări recente au adus argumente puternice în acest sens.

S-a demonstrat că sub acțiunea citokinelor inflamatorii are loc o activare a unei metaloproteinaze care clivează peptidul prin care se ancorează în celulele endoteliale un receptor al proteinei C (endothelial protein C receptor - EPCR) [11]. Ca urmare, nivelul acestui receptor, devenit solubil, crește în plasma pacienților cu lupus eritematos sistemic (SLE), fiind inactiv, dar furnizând un marker util pentru decelarea leziunilor endoteliale la astfel de bolnavi [12]. Pe de altă parte, scăderea concentrației de receptor (EPCR) de pe suprafața endoteliilor vasculare va reduce atât activarea proteinei C, cât și activitatea proteinei C activate (APC), având ca rezultat perturbarea unui important mecanism anticoagulant [13].

S-a mai arătat că între numeroșii și heterogenii anticorpi antifosfolipide, cei care recunosc și leagă β_2 glicoproteina I (β_2 GPI) se fixează la suprafața monocitelor și a endoteliilor vasculare inducând expresia factorului tisular (TF), cu rol de inițiere a coagulării pe calea extrinsecă, și totodată determină producerea și eliberarea de citokine din monocite. Citokinele proinflamatorii astfel eliberate, respectiv $\text{TNF}\alpha$ și $\text{IL-1}\beta$, acționează la rândul lor asupra endoteliilor vasculare care exprimă chemokine cu denumiri convenționale, cum sunt CX3CL1 (care facilitează aderarea plachetelor sangvine la collagen) și CCL5 (care induce agregarea acestor plachete). De notat că toate aceste efecte pot fi împiedicate prin administrarea compusului dehidroximetilepoxiquinomycin (DHMEQ), un inhibitor specific al factorului nuclear KB (NFkB). Aceste date experimentale sugerează că efectele protrombotice ale anticorpilor antifosfolipide care se leagă la β_2 GPI se exercită prin NFkB, iar inhibarea acestui factor de transcripție de către DHMEQ sau de către un alt inhibitor notat MG132 ar putea fi de utilitate terapeutică [14].

S-a sugerat că un alt mecanism posibil prin care anticorpii antifosfolipide determină tromboze ar fi o competiție în legarea de celule între aceștia și anexina V. Aceasta este o proteină anticoagulantă, care în momentul activării plachetare se leagă în prezența ionilor de calciu de fosfolipidele electronegative expuse pe suprafața plachetelor, inhibând astfel legarea factorilor coagulării de aceste suprafețe [15,16].

Se cuvine a mai fi amintit că nivele excesiv crescute de citokine proinflamatorii asociate sau nu cu anticorpi antifosfolipide inhibă activitatea kallikreinei [17] și stimulează sinteza de inhibitor al activării plasminogenului (PAI-1) în endotelii și în ficat [18], ajungându-se astfel și la o reducere a activității fibrinolitice, ceea ce favorizează procesele trombotice.

De subliniat perspectivele terapeutice promițătoare ale inhibării NFkB de către DHMEQ, prin care se reduce

concomitent inflamația, precum și predispoziția la tromboze, atenuându-se activarea coagulării și reactivitatea plachetelor sangvine.

O astfel de abordare terapeutică apare cu atât mai utilă cu cât medicația imunosupresivă cu prednison și ciclofosfamidă nu corectează toate anomaliile și nu exclude apariția recidivelor.

În acest sens este ilustrativă urmărirea evoluției unei paciente de 9 ani cu SLE evoluând cu hemoragii, anticorpi antifosfolipide și prelungirea timpilor de coagulare (cel mai evident modificat fiind timpul de protrombină efectuat cu tromboplastină diluată 1:100, care la pacientă avea valoarea de 144 secunde, iar la subiecții de control de 19-22 secunde). Terapia cu prednison 30 mg la 2 zile și cu ciclofosfamidă 75 mg la 2 zile a produs o normalizare a testelor explorând coagularea și a oprit hemoragiile, în timp ce alte anomalii de natură imunologică nu s-au corectat, persistând nivele crescute de anticorpi antinucleari și antiADN, precum și valori mult scăzute ale componentei c4 a complementului (3 mg/dl). Discrepanța între testele explorând coagularea și persistența altor anomalii s-ar putea explica prin caracterul policlonal al anticorpilor produși în SLE, putându-se presupune că în acest caz clona responsabilă de efectul lupus anticoagulant a fost mai susceptibilă la terapia imunosupresivă, fiind deprimată mai rapid și mai eficient.

Persistența altor anomalii în sistemul imunitar denotă însă o activitate a procesului patogen și implicit riscul unor recăderi. De fapt, astfel de recăderi cu afectarea rinichilor, ficatului și cu dezvoltarea unui exsudat pleural au survenit, iar în cele din urmă bolnava a sucombat brusc la domiciliu cu fenomene de asfixie acută, suspectându-se un posibil tromboembolism pulmonar [19]. Deoarece nu s-a efectuat examen necroptic, rămâne deschisă întrebarea dacă insuficiența respiratorie acută a fost cauzată de o virare a mecanismelor hemostazei spre o stare protrombotică ducând la tromboembolism sau dacă a survenit o recrudescență a sindromului hemoragic. De fapt, s-au semnalat rare cazuri de SLE decedate cu hemoragii pulmonare produse prin rupturi ale arteriolelor [20], iar unele din astfel de cazuri nu au fost însoțite de hemoptizii [21].

Bibliografie

1. Feinstein DI, Rapaport SI. Acquired inhibitors of blood coagulation. *Prog Hemost Thromb* 1972;1: 75-95
2. Petri M, Rheinschmidt M, Whiting-O Keefe Q, Hellman D. The frequency of lupus anticoagulant in systemic lupus erythematosus. *Ann Int Med* 1987, 106: 524-531
3. Shapiro SS, Siegel JE. Hemorrhagic disorders associated with circulating inhibitors. In Ratnoff and Forbes (Eds). *Disorders of Hemostasis* second edition WB Saunders Comp Philadelphia PA 1991, 245-266
4. Lechner K. Lupus anticoagulant and thrombosis. In Verstraete M, Vermeylen J, Lijnen R et al (Eds). *Thrombosis and Haemostasis*.

- Leuven, Leuven University Press 1987, 525-547
5. Kornberg A, Silber L, Yona R et al. Clinical manifestations and laboratory findings in patients with lupus anticoagulant. *Eur J Haematol* 1989, 42: 90-95
6. Harris EN, Gharavi AE, Hughes GRV. Antiphospholipid antibodies. *Clin Rheum Dis* 1985, 11: 591-609
7. Mc Neil HP, Chesterman CN, Krilis SA. Binding specificity of lupus anticoagulant and anticardiolipin antibodies. *Thromb Res* 1988, 52: 609-619
8. Glueck HI, Kant KS, Weiss MA. Thrombosis in systemic lupus erythematosus: relation to the presence of anticoagulants. *Arch Intern Med* 1985, 145: 1389-1395
9. Cariou R, Tobelem C, Soria C et al. Inhibition of protein C activation by endothelial cells in the presence of lupus anticoagulant. *N Eng J Med*, 1986, 314: 1193 (letter)
10. Marciniak E, Romand EH. Lupus anticoagulant prevents the phospholipid or platelet enhanced degradation of factor Va by activated protein C. *Blood* 1988, 72:302a (abstract)
11. Xuj QD, Esmon NL, Esmon CT. Metalloproteolytic release of endothelial cell protein C receptor. *The Journal of Biological Chemistry* 2000, 275(6): 6038-6044
12. Kurosawa S, Stearns-Kurosawa DJ, Carson CW, D Angelo A, Dellavalle P, Esmon CT. Plasma levels of endothelial cell protein receptor are elevated in patients with sepsis and systemic lupus erythematosus: lack of correlation with thrombomodulin suggest involvement of different pathological processes. *Blood* 1988, 91: 725-727
13. Esmon CT. The protein C pathway. *Chest* 2003, 124: 26S-32S
14. Kubota T, Fukuya Y, Hashimoto R. Possible involvement of chemokine-induced platelet activation in thrombophilic diathesis of antiphospholipid syndrome. An attractive target for NF kB specific inhibitor DHMEQ. *Ann NY Acad Sci* 2009, 1173: 137-145
15. Ida M, Satoh A, Matsumoto I, Kojima-Aikawa K. Human annexin V binds to sulfatide: contribution to regulation of blood coagulation. *J Biochem*, 2004, Vol. 135, No. 5: 583-588
16. Rand JH. Antiphospholipid antibody-mediated disruption of the annexin V antithrombotic shield: a thrombogenic mechanism for the antiphospholipid syndrome. *Journal of Autoimmunity*, 2000, 15(2): 07-110
17. Killeen AA, Meyer KC, Voigt JM. Kallikrein inhibition and c1 inhibitor levels in patients with lupus inhibitor. *Am J Clin Pathol* 1987, 88: 223-229
18. Dawson S, Henney A. The status of PAI-1 as a risk factor for arterial and thrombotic disease: A review. *Atherosclerosis* 1992, 95: 105-117
19. Nanulescu M, Trif I, Cucuianu M, Rus HG, Cristea A, Niculescu F. Lupus anticoagulant and transient bleeding tendency in a girl aged nine years. *Rev Roum Med Int* 1988, 26(2): 110-115
20. Nakaya I, Toyama T, Uchiyama A et al. Pulmonary hemorrhage due to rupture of small muscular arteries in an autopsy case of systemic lupus erythematosus with antiphospholipid antibodies. *Mod Rheumatol* 2008, 18: 529-531
21. Abud-Mendoza C, Diaz-Jouannen E, Alarcon-Segovia D. Fatal pulmonary hemorrhage in systemic lupus erythematosus. Occurrence without hemoptysis. *J Rheumatol* 1985, 12: 558-561