

RISCUŁ TROMBOZEI RECURENTE LA PACIENŢII CU SINDROM ANTIFOSFOLIPIDIC SECUNDAR LES

As.univ.dr. **Claudia Gavriş C.¹**, prof.univ.dr. **Mariana Rădoi¹**, dr. **Emanoil Gheorghiu E.²**, **Anghel M.²**, dr. **Liliana Duca²**, **Pamfil.G.¹**, prof.univ.dr. **G.I. Pandele³**

¹Universitatea "Transilvania" din Braşov, Facultatea de Medicină

²Spitalul Clinic Judeţean de Urgenţă Braşov

³Universitatea de Medicină şi Farmacie Gr T Popa, Iaşi

Abstract:

Objectives: to evaluate the significance of Pselectin and sCD40L levels for the evolution with venous and arterial recurrent thrombosis in patients (pts.) with antiphospholipid syndrome (APS) secondary to systemic lupus erythematosus (LES).

Methods: 20 pts. with APS secondary to LES diagnosed according to revised Sapporo classification for APS criteria, mean age 47.87 (18-74) years, 16 women and 4 men were followed 24 months for the evolution with recurrent thrombosis. Serum IgG or IgM anticardiolipin antibodies (aCL), serum Pselectin and sCD40L (R&D Minneapolis, SUA) levels were assessed using standardised ELISAs method at baseline and after 12 months. Statistics: *t* test /ANOVA, logistic regression.

Results: APS pts. with a history of thrombosis had higher Pselectin levels then did APS pts. without a history of thrombosis (256.63±145.79 versus 121.85±101.47ng/dl; p=0.04). Pts. with APS showed higher sCD40L levels than did subjects without a history of thrombosis (15402.29±15290.62 versus 9508.99±6164.03ng/dl; p=0.34). No significant correlation were observed between aCL levels in patients with recurrent thrombosis and APS patients without recurrent thrombosis (194.25±237.59 versus 52.57±10.64UPL; p=0.13).

Conclusions: Pselectin seems to be a serologic test most likely to be correlated with recurrent thrombosis in pts. with APS associated with LES.

Key-words: thrombosis, antiphospholipid syndrome, Pselectin, sCD40L

Introducere

Recurenţa trombozei la pacienţii cu sindrom antifosfolipidic este crescută, dar există opinii divergente în ceea ce priveşte tipul anticorpilor sau al markerilor serologici care trebuie determinaţi pentru detectarea pacienţilor cu risc crescut de tromboză recurentă [4, 7, 8, 24].

Există numeroase studii în literatură [1, 2, 6, 9, 13] care evidenţiază rolul anticorpilor antifosfolipidici (aFL) în determinarea evenimentelor trombotice, în special al trombozelor recurente şi al morbidităţii legate de sarcină. Riscul este mai mare pentru prezenţa LA decât pentru prezenţa anticorpilor anticardiolipinici (aCL), dar când titrul anticorpilor antifosfolipidici este mare şi riscul de tromboză este mare [6, 26].

Cercetările privind patogenia sindromului antifosfolipidic au fost centrate mult timp pe ipoteza că fosfolipidele încărcate negativ sunt tema centrală în jurul căreia există toate manifestările clinice ale bolii [25]. Astăzi, cercetările sunt focusate pe conceptul de activare celulară [10, 25], care este considerat un mecanism cheie pentru înţelegerea fiziopatologiei sindromului. În ultimii 15 ani au fost identificate proteine

plasmatică şi receptori celulari care sunt implicaţi în activarea celulară mediată de anticorpilor antifosfolipidici. Câteva tipuri de celule printre care plachetele [3, 5, 14, 16], monocitele şi celulele endoteliale [11, 15, 17], au fost investigate privind contribuţia lor la patogenia sindromului mediat de prezenţa anticorpilor antifosfolipidici. În prezenţa anticorpilor antifosfolipidici au fost observate activarea plachetară, expresia factorului tisular pe celulele endoteliale şi leucocite şi activarea sistemului complementului [11, 12, 18, 19], oferind o posibilă explicaţie pentru manifestările clinice ale sindromului. Probabil cea mai acceptată ipoteză este aceea că anumiţi aFL activează plachetele precum şi alte celule şi declanşează tromboza. Este propus un scenariu în două etape („two-hits”): o activare iniţial subclinică precum cea a plachetelor determină expunerea unor suficiente fosfolipide anionice care să favorizeze fixarea beta₂-glicoproteinei (β₂-GPI), a anticorpilor anti-β₂-GPI sau a altor aFL, urmată de o activare celulară completă, posibil legată de receptorii Fc.

Studiile experimentale sugerează că trombocitele au un rol important în patogenia

sindromului antifosfolipidic, iar CD62P (Pselectina) și sCD40L sunt markeri independenți ai activării plachetare [7, 8, 24].

Obiectiv

Evaluarea semnificației nivelului seric al Pselectinei și sCD40L pentru evoluția cu tromboze acute recurente arteriale sau venoase la pacienții cu sindrom antifosfolipidic secundar LES, precum și stabilirea corelației între nivelele serice ale acestor markeri de activare și tipul evenimentelor trombotice recurente (unice sau multiple, arteriale sau venoase) în antecedentele acestor bolnavi.

Metodă

Douăzeci de pacienți cu AFS secundar LES diagnosticați conform criteriilor Sapporo revizuite pentru AFS, cu vârsta medie 47,87 (18-74) ani, 16 femei și 4 bărbați au fost urmă-

riți 24 de luni pentru evoluția cu evenimente trombotice recurente. Anticorpul aCL globali, tip IgG, IgM, sau IgA și valorile serice ale markerilor de activare plachetară Pselectina și sCD40L (R&D Minneapolis SUA), au fost determinate folosind metoda ELISA la momentul includerii (V1) și după 12 luni (V2). Analiza statistică a fost realizată cu programul SPSS 7.0 (SPSS Inc., Chicago, IL). Analiza varianței (t-test/ANOVA) a fost utilizată pentru a compara mediile variabilelor continue. O valoare a $p < 0.05$ a fost considerată semnificativă statistic.

Rezultate

Pacienții cu SAF secundar LES și istoric de tromboză recurentă au avut nivelele ale V1 Pselectinei mai mari decât ale pacienților fără istoric de tromboză recurentă ($256,63 \pm 145,79$ versus $121,85 \pm 101,47$ ng/dl; $p=0,04$) (fig 1).

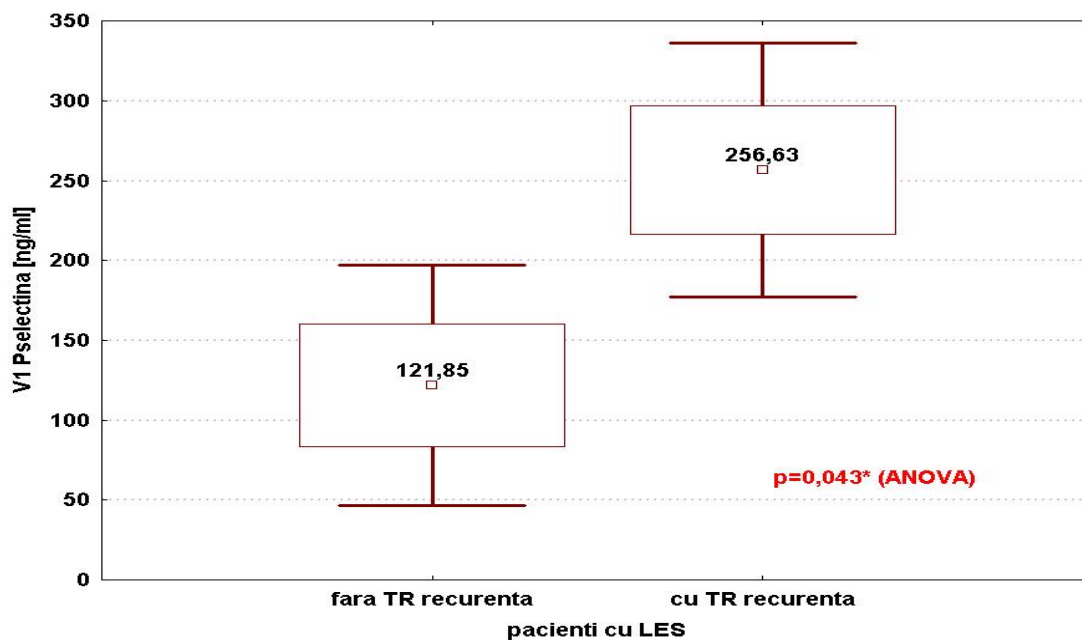


Fig 1. Valorile Pselectinei la pacienții cu LES

Nu a existat o corelație semnificativă statistic între pacienții cu și fără istoric de tromboză recurentă în ceea ce privește nivelele sCD40L ($15402,29 \pm 15290,62$ versus $9508,99 \pm 6164,03$ pg/dl; $p=0,34$) și respectiv aCL ($194,25 \pm 237,59$ versus $52,57 \pm 10,64$ UPL; $p=0,13$). Nu există diferențe semnificative între valorile V1sCD40L, V2 Pselectinei, și nici între titrurile aCL (global, tip IgG, IgM) la pacienții cu SAF

secundar lupusului care au avut recurențe arteriale și cei care nu au avut recurențe arteriale. Valorile V1 Pselectinei au fost semnificativ mai mari la pacienții cu SAF secundar LES care au prezentat recurență arterială ($256,63 \pm 145,79$ versus $121,85 \pm 101,47$ ng/dl; $p=0,04$). De asemenea, valorile V2sCD40L au fost semnificativ mai mari la pacienții care au prezentat recurență trombotică venoasă în

antecedente. ($13433,2 \pm 8249,39$ versus $5004,72 \pm 3769,62$ pg/dl; $p = 0,015$). Nici la V1, nici la V2 nu există diferențe semnificative statistice între valorile Pselectinei, sCD40L și respectiv titrurile aCL globali, tip IgG, respectiv IgM între pacienții cu sindrom antifosfolipidic secundar LES care au avut tromboză recurentă multiplă și cei fără tromboză multiplă. Recurența trombo-

tică multiplă a fost definită prin cel puțin trei episoade de tromboză arterială și/sau venoasă la un pacient cu sindrom antifosfolipidic. Patru dintre cei cinci pacienți cu LES care au asociat prezența lupusului anticoagulant au prezentat recurență de tromboză, în timp ce doar nouă dintre cei 13 pacienți fără LA au prezentat tromboză recurentă.(Fig 2).

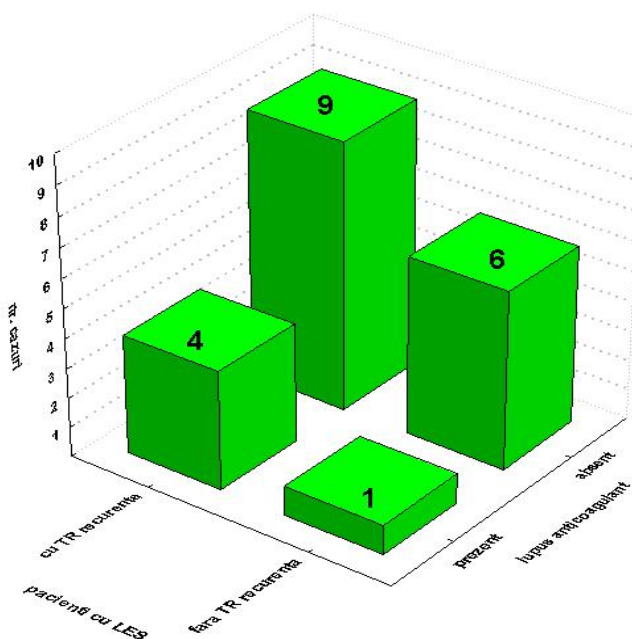


Fig.2 Recurența trombozei la pacienții cu LES care asociază LA

Discuții

Deși există numeroase studii care au raportat riscul trombozei arteriale sau venoase determinat de prezența aFL, există importante limite metodologice și diferențe între designul studiilor care explică rezultatele contradictorii raportate.

Anomalii ale hemostazei, fibrinolizei, endoteliului și trombocitelor, toate au fost descrise în sindromul antifosfolipidic. Activarea anormală din SAF poate reprezenta un status „pre-embolic”. Continua activare plachetară și endotelială [15, 16, 18] prezentă în SAF determinând un status procoagulant, poate fi detectată prin creșterea nivelurilor serice ale moleculelor de adeziune.

În studiul nostru pacienții cu SAF secundar LES cu episoade trombotice recurente în

antecedente, au avut valori semnificativ crescute ale V1 Pselectinei față de cei fără evenimente trombotice recurente, reflectând o creștere a activării plachetare. Determinarea acestor markeri de activare plachetară poate reprezenta o modalitate de identificare a pacienților cu risc tromboembolic crescut. De asemenea, Pselectina poate reprezenta o țintă pentru demonstrarea unor noi agenți terapeutici antitrombotici.

E del Rio Garcia și colaboratorii [7] au studiat nivelele moleculelor de adeziune solubile la trei grupuri de pacienți: 20 pacienți cu sindrom antifosfolipidic primar sau secundar lupusului eritematos sistemic (toți cu un episod trombotic venos, arterial sau cu amândouă), 20 pacienți cu aFL fără niciun semn clinic și 20 martori sănătoși. Prezența aFL cu sau fără manifestări clinice a fost legată de creșterea nivelului

seric al E-selectinei, un marker al activării endoteliale. Concentrația serică a ICAM-1, o moleculă care mediază adeziunea celulelor circulante a fost în limite normale (absența evenimentelor clinice pe perioada urmăririi cu posibilitatea creșterii nivelului ICAM-1 legată de apariția unor noi trombi) Prezența unei creșteri simultane a nivelului Pselectinei la pacienții cu SAF argumentează existenței activării plachetare la acești pacienți, fapt care ar putea explica manifestările clinice ale acestei boli. Persistența unor nivele crescute ale moleculelor de adeziune poate fi consecința creșterii expresiei acestor antigene ca o consecință a unei tromboze recente sau a unui avort.

Sistemul CD40–CD40 ligand (CD40L) a fost implicat în fiziopatologia complicațiilor aterotrombotice și în evaluarea prognosticului bolilor cardiovasculare, precum și în procesul de inflamație și tromboză [20,21,22,23]. Exprimat pe suprafața plachetelor CD40L este apoi clivat de pe plachete după o perioadă de ore sau minute, generând formarea unui fragment solubil. Forma circulantă solubilă a CD40L este derivată predominant de la plachetele activate și reflectă astfel gradul activării plachetare. Se presupune că nivelele crescute ale sCD40L sunt asociate cu un risc cardiovascular crescut.

Un grup de cercetători [23] a investigat relația între anticorpii antifosfolipidici și nivelele serice ale sCD40L la pacienții cu LES care erau pozitivi pentru aFL. Grupul lor a demonstrat că nivelele serice ale sCD40L sunt mai crescute la pacienții cu LES și aFL decât la pacienții cu LES fără acești anticorpi; specificitatea acestei descoperiri a fost coroborată cu lipsa de diferență a activității bolii între cele două subgrupuri, care ar fi putut afecta nivelele sCD40L între cele două subgrupuri. Pacienții cu SLE aFL(+) și istoric de tromboză au avut nivele serice mai crescute ale sCD40L decât pacienții SLE aPL(+) fără istoric de tromboză, în opoziție cu pacienții SLE aPL(-) cu tromboză și cu pacienții cu SLE(+) cu istoric de tromboză care au prezentat valori serice normale ale sCD40L. Cum este cunoscut că sCD40L exercită un efect protrombotic, nivelele crescute ale sCD40L pot reprezenta un nou mecanism de tromboză în AFS.

În studiul nostru, pacienții cu evenimente trombotice recurente au avut valori semnificativ crescute ale nivelelor V1 și V2 sCD40L,

reflectând o activare plachetară crescută pe toată perioada de urmărire, aspect confirmat și de valorile crescute ale P selectinei. Este primul studiu care a efectuat determinări seriate ale markerilor de activare plachetară la pacienții cu sindrom antifosfolipidic Studiul nostru confirmă existența unei corelații între evenimentele trombotice și nivelele crescute ale Pselectinei ca marker al activării plachetare în sindromul antifosfolipidic, deși există multe alte aspecte care trebuie investigate.

Limitele acestui studiu sunt reprezentate de existența unui lot mic de pacienți; de asemenea populația de studiu a avut o rată scăzută de evenimente trombotice acute, deși pacienții au prezentat un risc tromboembolic crescut.

Concluzie

Pselectina pare să fie un marker care se corelează cu existența trombozei recurente la pacienții cu sindrom antifosfolipidic secundar LES.

Bibliografie

1. Bauer K.A. - Hypercoagulable states in: Hoffman R., Benz E.J., Shattil S.J. et al., Editors Hematology: basics principles and practice. 3rd edition, New York: Churchill Livingstone, 2000, 2009-2039.
2. De Laat B., Wu X.X., van Lummel M., et al. - Correlation between antiphospholipid antibodies that recognize domain I of beta 2-glycoprotein I and a reduction in the anticoagulant activity of annexin 5. *Blood*, 2007 Feb 15, 109(4), 1490-1494.
3. Emmi L., Bergamini C., Spinelli A., et al. - Possible pathogenic role of activated platelets in primary antiphospholipid syndrome involving the central nervous system. *Ann N Y Acad Sci*, 1997, 823, 188-200.
4. Espinosa G., Cervera R. - Antiphospholipid syndrome. *Arthritis Research and Therapy*, 2008, 10:230 (doi:10.1186-2536).
5. Fanelli A., Bergamini C., Rapi S., et al. - Flow cytometric detection of circulating activated platelets in primary antiphospholipid syndrome. Correlation with thrombocytopenia and anticardiolipin antibodies. *Lupus*, 1997, 6, 261-267.
6. Galli M., Luciani D., Bertolini G. et al. - Anti β_2 -glycoprotein I, antiprothrombin antibodies, and the risk of thrombosis in the

- antiphospholipid syndrome. *Blood*, 15 Oct. 2003, Vol 102, No. 8, 2717-2722.
7. García E., Rodríguez C., Rodríguez-Martorell J., et al. - Platelet and endothelial activation are requisites for the development of antiphospholipid syndrome, *Annals of the Rheumatic Diseases*, 2004, 63, 600-601.
 8. Giannakopoulos B., Passam F., Rahgozar S., Krilis S.A. - Current concepts on the pathogenesis of the antiphospholipid syndrome. *Blood*, 15 Jan 2007, 109(2), 422-430.
 9. Groot P.G., Lutters B., Derksen R.H.W.M., Lismann T., et al. - LA and the risk of a first episode of deep venous thrombosis, *Thromb Haemost.*, 2005 Sep 3, (9), 1993-1997.
 10. Horstman Lawrence L., Wenche Jy., Bidot C.J. et al. Antiphospholipid antibodies: Paradigm in transition, *Journal of Neuroinflammation*, 2009, 6(3), 742-751.
 11. Hughes G.R.V., Harris E.N., Gharavi A.E. - The anti-cardiolipin syndrome, *J Rheumatol* 1986, 13, 486-489.
 12. Jacob H. - Rand. Molecular Pathogenesis of the Antiphospholipid Syndrome, *Circ Res.*, 2002, 90, 29-37.
 13. Jankowski M., Vreys I., Wittevrongel C. - Thrombogenicity of β_2 -glycoprotein I-dependent antiphospholipid antibodies in a photochemically induced thrombosis model in hamster. *Blood*, 2003 January, vol 101, 1, 157-161.
 14. Joseph J.E., Donohoe S., Harrison P., et al. - Platelet activation and turnover in the primary antiphospholipid syndrome. *Lupus*, 1998, 7, 333-340.
 15. Joseph J.E., Harrison P., Mackie I.J., Isenberg D.A., Machin S.J. - Increased circulating platelet-leucocyte complexes and platelet activation in patient with antiphospholipid syndrome, systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis., *Br J Haematol*, 2001, 115, 451-459.
 16. Joseph J., Harrison P., Mackie I., Machin S.J. - Review: Platelet activation markers and the primary antiphospholipid syndrome (PAPS) *Lupus*, 1998 January 1, 7(2suppl), S48 - S51.
 17. Kamath S., Blann A.D., Lip G.H. - Platelet activation: assessment and quantification., *European Heart Journal*, 2001, 22, 1561-1571.
 18. Kaplanski G., Cacoub P., Farnarier C., Marin V., Gregoire R., Gatel A., et al. - Increased soluble vascular cell adhesion molecule 1 concentrations in patients with primary or systemic lupus erythematosus-related antiphospholipid syndrome: correlations with the severity of thrombosis., *Arthritis Rheum*, 2000, 43, 55-64.
 19. Levine J.S., Branch W., Rauch J. - The antiphospholipid syndrome, *N. Engl. J. Med.*, 2002, 346, 752-63.
 20. Patrick A., Nannizzi-Alaimo L., Srinivasa K. et al. - Platelet-derived CD40L, the Switch-Hitting Player of cardiovascular disease, *Circulation*, 2002, 106-902.
 21. Perry S.L., Ortel T.L. - Clinical and laboratory evaluation of thrombophilia, *Clin. Chest. Med.*, 2003, 24, 153-170.
 22. Shechter Y., Tal Y., Greenberg A., et al. - Platelet activation in patients with antiphospholipid syndrome, *Blood Coag Fibrinol*, 1998, 9, 653-657.
 23. Tănăsescu C. - Sindromul antifosfolipidic, Ed. Academiei Române, București, 2007, 363-368.
 24. Urbanus R.T., Derksen R.H., de Groot P.G. - Current insight into diagnostics and pathophysiology of the antiphospholipid syndrome, *Blood Rev.*, 2008, 22, 93-105.
 25. Urbanus R.T., Derksen R.H.W.M., de Groot P.G. - Platelet and the antiphospholipid syndrome *Lupus* 2008;17:888-894.
 26. Wahl D.G., Guillemin F., De Maistre E., Perret C., Lecompte T., Tribaut G. - Risk for venous thrombosis related to antiphospholipid antibodies in systemic lupus erythematosus-A meta-analysis. *Lupus*, 1997, 6, 467-463.