

Η παθογένεια του αντιφωσφολιπιδικού συνδρόμου

Ε. ΒΡΙΤΣΑΛΗ
Χ. ΑΝΤΩΝΙΑΔΗΣ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ως αντιφωσφολιπιδικό, ορίζεται το σύνδρομο της αντισωματο-μεσολαβούμενης θρόμβωσης. Το σενάριο παθογένεσης των θρομβώσεων του παραπάνω συνδρόμου είναι αυτό της «διπλής ενεργοποίησης», σύμφωνα με το οποίο η αρχική βλάβη και ενεργοποίηση των κυττάρων του αίματος, των ενδοθηλιακών κυττάρων ή των τροφοβλαστών έχει ως αποτέλεσμα την έκφραση ανιοντικών φωσφολιποειδών στην επιφάνειά τους. Τα δυνητικά αντιδραστικά αυτά φωσφολιποειδή καλύπτονται από φωσφολιπιδό-συνδετικές πρωτεΐνες όπως η β_2 -γλυκοπρωτεΐνη Ι και η προθρομβίνη. Οι παραπάνω πρωτεΐνες-μεσολαβητές χαρακτηρίζονται ως συμπαράγοντες (cofactors). Επί υπάρξεως αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων έναντι των φωσφολιπιδόσυνδετικών αυτών πρωτεϊνών, οι ανοσοσφαιρίνες αυτές συγκεντρώνονται στην κυτταρική επιφάνεια, συνδέονται με τους κυτταρικούς υποδοχείς Fcγ RII και επάγουν αλλαγές που προάγουν περαιτέρω τη θρόμβωση, όπως η απελευθέρωση ADP, σεροτονίνης και μικροκοκκίων θρομβοξάνης A_2 , η έκφραση ιστικού παράγοντα, η εκτόπιση ενδοθηλιακής ηπαρίνης κ.λπ. Επομένως, η παθογένεια του αντιφωσφολιπιδικού συνδρόμου φαίνεται να συσχετίζεται κυρίως με τη στενή κυτταρική σύνδεση των ανοσοσφαιρινών με το σύμπλεγμα συμπαράγοντα-ανιοντικά φωσφολιποειδή και όχι με την αλληλεπίδραση τύπου αντισώματος-αντιγόνου. Ως εκ τούτου, τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα αλληλεπιδρούν με τα αιμοπετάλια, τα μονοκύτταρα του αίματος, τα ενδοθηλιακά κύτταρα, το αντιπηκτικό σύστημα των πρωτεϊνών C και S και το ινωδολυτικό σύστημα.



Ρευματολογική Κλινική ΓΝ
«Ασκληπιείον» Βούλας

Ελληνική Ρευματολογία 2006,17(3):212-226

Όροι ευρητηρίου: αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα, αντισωματο-μεσολα-

βούμενη θρόμβωση, β_2 γλυκοπρωτεΐνη, προθρομβίνη, αιμοπετάλια, ενδοθηλιακά κύτταρα, μονοκύτταρα, πρωτεΐνη C, πρωτεΐνη S, ινωδολυτικό σύστημα, εικοσανοειδή.

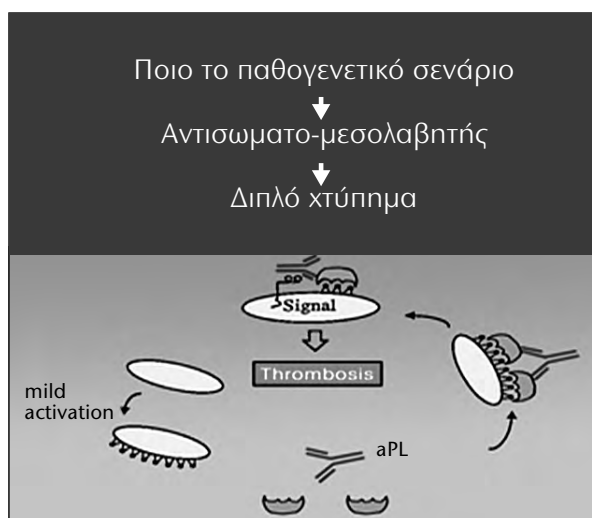
ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ως αντιφωσφολιπιδικό (APS), ορίζεται το σύνδρομο της αντισωματο-μεσολαβούμενης θρόμβωσης που χαρακτηρίζεται από το συνδυασμό κυκλοφορούντων αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων (aPLs), αγγειακών θρομβώσεων ή και πολλαπλών εμβρυϊκών αποβολών.

Τα aPLs μπορεί να ανιχνευθούν είτε μέσω φωσφολιπιδό-εξαρτώμενων δοκιμασιών πήξης, όπου εμφανίζονται ως μη ειδικοί αναστολείς της, όπως το αντιπηκτικό του λύκου (LA), είτε μέσω ανοσολογικών μεθόδων κυρίως λόγω της ικανότητάς τους να συνδέονται με σταθεροποιημένη σε κυτταρικές μεμβράνες (ακίνητοποιημένη) καρδιολιπίνη (CL), και για το λόγο αυτό ονομάζονται και αντικαρδιολιπινικά αντισώματα (aCL). Εργαστηριακές μελέτες που αφορούν την κάθαρση συγγένειας των aCLs οδήγησαν στην ανακάλυψη ότι σε αντίθεση με τον προτεινόμενο όρο «αντιφωσφολιπιδικά», τα αυτοαντισώματα αυτά δεν συνδέονται με τα αρνητικά φορτισμένα φωσφολιπίδια της κυτταρικής μεμβράνης *per-se*, αλλά με πρωτεΐνες-μεσολαβητές (συμπαράγοντες, cofactors), που με τη σειρά τους συνδέονται με τα ανιονικά φωσφολιποειδή όταν αυτά εκτίθενται στην επιφάνεια της κυτταρικής μεμβράνης των κυττάρων του πλάσματος ή των ενδοθηλιακών κυττάρων¹⁻³. Η β_2 -γλυκοπρωτεΐνη I (β_2 GPI) φαίνεται να είναι ο κύριος συμπαράγοντας στην παθογένεια του APS, αφού θεωρείται ως ο κύριος αντιγονικός στόχος των aCLs. Τα αντισώματα με δραστηριότητα αντιπηκτικού του λύκου, βρέθηκε ότι στρέφονται είτε έναντι της β_2 GPI είτε έναντι της προθρομβίνης της συνδεόμενης με ανιονικά φωσφολιποειδή. Έχουν περιγραφεί και άλλες φωσφολιπιδοσυνδετικές πρωτεΐνες ως αντιγονικοί στόχοι των aPLs, όπως η πρωτεΐνη C, η πρωτεΐνη S, η HMWK και η αννεξίνη V.

Ποιος είναι όμως ο παθογενετικός μηχανισμός

της αντισωματο-μεσολαβούμενης θρόμβωσης στο APS; Ο προτεινόμενος μηχανισμός κοινής αποδοχής είναι αυτός της «διπλής ενεργοποίησης» (double hit)⁴, όπως σχηματικά αποδίδεται στην εικόνα 1.



Εικόνα 1. Πιθανός παθογενετικός μηχανισμός στο APS.

Σύμφωνα με το μηχανισμό αυτόν, η αρχική ενεργοποίηση έγκειται σε μία αρχική βλάβη που έχει ως αποτέλεσμα την έκφραση αρνητικά φορτισμένων φωσφολιποειδών στην επιφάνεια σε κύτταρα του αίματος (αιμοπετάλια, μονοκύτταρα), στα ενδοθηλιακά κύτταρα ή στους τροφοβλάστες. Τα δυνητικά αντιδραστικά αυτά φωσφολιποειδή καλύπτονται από φωσφολιπιδοσυνδετικές πρωτεΐνες όπως η β_2 GPI και η προθρομβίνη. Επί υπάρξεως αντισωμάτων έναντι των φωσφολιπιδοσυνδετικών αυτών πρωτεϊνών, τα τελευταία συγκεντρώνονται στην κυτταρική επιφάνεια, συνδέονται μέσω του Fc τμήματός τους με τον υποδοχέα των κυττάρων FcγRII και επάγουν ισχυρές διεργασίες που προάγουν τη θρόμβωση, όπως απελευθέρωση ADP, σεροτονίνης και μικροκυστιδίων, βιοσύνθεση TXA_2 , έκφραση ιστικού παράγοντα και εκτόπιση της ενδοθηλιακής θειικής ηπαρίνης (αντιπηκτική ουσία

επιφάνειας ενδοθηλιακών κυττάρων). Φαίνεται ότι η στενή αυτή κυτταρική σύνδεση των aPLs είναι πιθανότερο να εμπλέκεται στην παθογένεια των θρομβώσεων στο APS, παρά η αλληλεπίδραση αντισώματος aPL-αντιγόνου.

ΣΥΜΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ (COFACTORS)

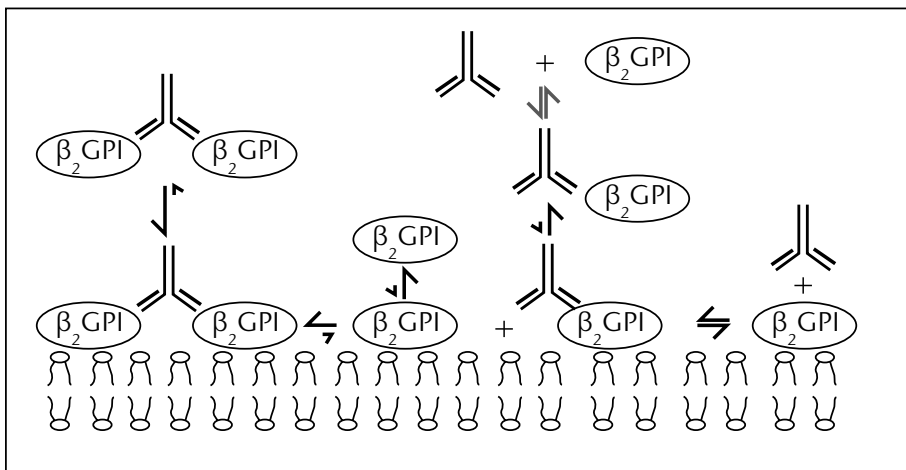
1. β₂-γλυκοπρωτεΐνη I (β₂GPI)

Η β₂GPI (apolipoprot. H) είναι μία υψηλά γλυκοζυλιωμένη πρωτεΐνη μονής αλύσου στο πλάσμα (200μg/mL), που αποτελείται από 5 ομόλογες υπομονάδες (sushi-domains). Σε φυσιολογικές συνθήκες η β₂GPI είναι ένα ασθενές αντιπηκτικό, γιατί μπορεί να αναστείλει τις φωσφολιπιδό-εξαρτώμενες αντιδράσεις της αιμόστασης, ανταγωνιζόμενη τους παράγοντες πήξης που εξαρτώνται από τη βιταμίνη Κ^{2,7,9,10}, έχει όμως χαμηλή συγγένεια σύνδεσης για τις φυσιολογικές φωσφολιπιδικές επιφάνειες της κυτταρικής μεμβράνης. Οι φυσιολογικά προάγουσες την πήξη φωσφολιπιδικές επιφάνειες περιέχουν χαμηλές συγκεντρώσεις αρνητικά φορτισμένων φωσφολιπιδίων (εικόνα 2). Από πειραματικές μελέτες δείχθηκε ότι η συγγένεια σύνδεσης της β₂GPI αυξάνεται για τα ανιοντικά φωσφολιποειδή, όπως η καρδιολιπίνη, η φωσφατιδυλοσερίνη, η φωσφατιδυλοϊνositόλη, όταν αυτά εκφράζονται στην επιφάνεια της μεμβράνης των κυττάρων κατόπιν ενεργοποίησης ή απόπτωσης αυτών.

Η σύνδεση της β₂GPI με τα αρνητικά φορτισμένα φωσφολιποειδή γίνεται μέσω μιας θετικά φορτισμένης αλληλουχίας αμινοξέων (cys281-cys288) που βρίσκεται στην 5η υπομονάδα του μορίου της β₂GPI. Όμως, η συγγένεια σύνδεσης των παραγόντων πήξης για τις ίδιες ανιοντικές φωσφολιποειδικές επιφάνειες είναι δύο ή και τρεις φορές μεγαλύτερη.

Τα δεδομένα αυτά βοηθούν στην κατανόηση του γεγονότος ότι η β₂GPI είναι από μόνη της μια πολύ ασθενής αντιπηκτική πρωτεΐνη.

Σε αυτό το σκοτεινό σημείο, ρίχνουν φως διαφορετικοί ερευνητές, οι οποίοι απέδειξαν πειραματικά ότι η συγγένεια σύνδεσης της β₂GPI με τις ανιοντικές φωσφολιποειδικές επιφάνειες αυξάνεται δραματικά παρουσία αντισωμάτων αντι-β₂GPI με κυρίως LA δραστηριότητες^{5,6}. Αυτή η ισχυρή σύνδεση φάνηκε να εξαρτάται από την ικανότητα των αντισωμάτων αυτών να σχηματίζουν σταθερά δισθενή συμπλέγματα (1 αντίσωμα με 2 μόρια β₂GPI) πάνω στη φωσφολιποειδική επιφάνεια. Ο προτεινόμενος μηχανισμός με τον οποίο το αντίσωμα (αντι-β₂GPI-LA) σχηματίζει σταθερά δισθενή συμπλέγματα (1Ab-2β₂GPI) πάνω στη φωσφολιπιδική επιφάνεια είναι ο ακόλουθος: Ελεύθερη β₂GPI ή και μονοσθενή συμπλέγματα β₂GPI-Ab που σχηματίζονται στην κυκλοφορία συνδέονται με χαμηλή συγγένεια πάνω σε αρνητικά φορτισμένη φωσφολιπιδική



Εικόνα 2. Προτεινόμενος μηχανισμός με τον οποίο η β₂GPI εξαρτώμενη από το LA σχηματίζει σταθερά συμπλέγματα στις φωσφολιπιδικές μεμβράνες. Arnout J. Thromb Haemost 1998; 79:79-86.

επιφάνεια, όπως συμβαίνει στις ενεργοποιημένες κυτταρικές μεμβράνες. Σε αυτές τις επιφάνειες, η κινητικότητα της β_2 GPI είναι μεγάλη, αφού η σύνδεσή της βασίζεται σε ιοντικές αλληλεπιδράσεις. Τα aPL μπορεί επίσης να σχηματίσουν χαμηλής συγγένειας μονοσθενή συμπλέγματα με τη β_2 GPI τη συνδεόμενη με τα φωσφολιπίδια. Σε συνάρτηση με τον αναγνωρίσιμο επίτοπο, την κινητικότητα της αρθρωτής περιοχής του αντισώματος, την πυκνότητα της συνδεδεμένης β_2 GPI και την κινητικότητά της, σχηματίζονται σταθερά δισθενή συμπλέγματα⁵⁻⁷. Είναι κατανοητό ότι τέτοια δισθενή συμπλέγματα παραμένουν «στερεώς προσκολλημένα» στις μεμβράνες των ενεργοποιημένων κυττάρων και διευκολύνουν περαιτέρω τη θρόμβωση, προάγοντας την ενεργοποίηση των κυττάρων είτε μέσω αλληλεπίδρασής τους με τον Fc κυτταρικό υποδοχέα είτε με το σύστημα του συμπληρώματος⁴.

Ένας άλλος προβληματισμός που τέθηκε είναι το πως τα aPLs εμφανίζουν αντι- β_2 GPI δραστηριότητα, ενώ η σύνδεσή τους με την κυκλοφορούσα β_2 GPI στο πλάσμα είναι φτωχή λόγω χαμηλής συγγένειας σύνδεσής τους με αυτή. Έτσι αναπτύχθηκαν και στηρίχθηκαν πειραματικά δύο θεωρίες, οι οποίες δεν αποκλείουν αναγκαστικά η μία την άλλη. Κοινή βάση και των δύο είναι ότι τα aPLs συνδέονται με τη δεσμευμένη στην καρδιολιπίνη β_2 GPI ή σε κάποιο άλλο ανιοντικό φωσφολιποειδές της κυτταρικής μεμβράνης.

Σύμφωνα με την πρώτη θεωρία της «αλλαγής διαμόρφωσης» (conformational alterations), η σύνδεση της β_2 GPI με τα ανιοντικά φωσφολιποειδή έχει ως αποτέλεσμα αλλαγή στη διαμόρφωση του μορίου β_2 GPI στο χώρο και έκφραση νέων επιτόπων ή έκφραση «κρυμμένων» επιτόπων. Οι «κρυμμένοι» αυτοί επίτοποι βρίσκονται στην 4η υπομονάδα, είναι συνήθως καλυμμένοι από την 3η υπομονάδα και απαιτείται αλλαγή της διαμόρφωσης του μορίου της β_2 GPI για να αποκαλυφθούν και να αναγνωρισθούν από ειδικά αντισώματα¹³⁻¹⁵.

Σύμφωνα με τη δεύτερη θεωρία της «αντιγονικής πυκνότητας» (antigenic density), η συσ-

σώρευση ή η αυξημένη πυκνότητα ακινητοποιημένων αντιγόνων, όπως μπορεί να συμβεί στις επιφάνειες ενεργοποιημένων κυττάρων τα οποία εκφράζουν ανιοντικά φωσφολιποειδή, και η συσώρευση μορίων β_2 GPI, επιτρέπει δισθενή ή και πολυσθενή σταθερή σύνδεση των aPLs επιτρέποντάς τους έτσι να δράσουν τοπικά (εικόνα 2).

2. Προθρομβίνη

Η προθρομβίνη, μία άλλη φωσφολιπιδό-συνδεδεμένη πρωτεΐνη, προτάθηκε για πρώτη φορά ως ο πιθανός συμπαράγοντας για το LA από τον Loeiiger το 1959⁸. Από τότε, πολλές ερευνητικές ομάδες, χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της διασταυρούμενης ανοσοηλεκτροφόρησης, απέδειξαν την παρουσία συμπλεγμάτων προθρομβίνης-αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων σε μεγάλο (70%) ποσοστό LA (+) ασθενών⁹⁻¹¹. Πολύ αργότερα οι Horbach και συν.⁴⁸ περιέγραψαν ότι η πλειοψηφία των LA (+) δειγμάτων αντιπροσωπευόταν από ένα συνδυασμό αντισωμάτων με ειδικότητα για την προθρομβίνη και τη β_2 GPI, προτείνοντας έτσι ότι η ανίχνευση ειδικών αντισωμάτων έναντι της προθρομβίνης (aPT) μπορεί να εμποδίζεται από την πιθανή παρουσία αντι- β_2 GPI αντισωμάτων στο ίδιο δείγμα πλάσματος.

Η προθρομβίνη είναι μια γλυκοπρωτεΐνη μονής αλυσού (579aa, 72KDa) που παράγεται στο ήπαρ. Ο ρόλος της στην πήξη αρχίζει όταν αυτή συνδέεται με τα ανιοντικά φωσφολιποειδή της κυτταρικής μεμβράνης ενδοθηλιακών ή κυττάρων του πλάσματος και υπό την επίδραση της τενάσης (Ca^{2+}) μετατρέπεται σε θρομβίνη, ένα ισχυρό πρωτεολυτικό ένζυμο που πυροδοτεί τον πολυμερισμό του ινωδογόνου σε ινική. Επιπρόσθετα, η θρομβίνη συνδέεται με τη θρομβομοδουλίνη πάνω στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων και ενεργοποιεί την πρωτεΐνη C, η οποία με τη σειρά της ασκεί την αντιπηκτική της δραστηριότητα αποδομώντας τον παράγοντα V και καταστέλλοντας έτσι το σύμπλεγμα της τενάσης, στερώντας το με τον

τρόπο αυτό από τον πιο σημαντικό του συμπαράγοντα. Λόγω αυτής της αρνητικής αμφίδρομης (feedback) οδού προθρομβίνης-θρομβίνης, η προθρομβίνη συμπεριφέρεται έμμεσα και ως αντιπηκτικό.

Υπάρχουν πολλές ασάφειες όσον αφορά τα ανοσολογικά χαρακτηριστικά και τους μηχανισμούς δράσης των aPT. Για τη συμπεριφορά των aPT έχει προταθεί κάτι ανάλογο με αυτή των αντι-β₂GPI. Τα aPT μπορεί να στρέφονται έναντι «κρυμμένων» ή νεο-επιτόπων που εκφράζονται όταν η προθρομβίνη συνδέεται με τα ανιοντικά φωσφολιποειδή, όμως είναι δυνατό χαμηλής συγγένειας αντισώματα (aPT) να συνδέονται δισθενώς με την ακινητοποιημένη προθρομβίνη στις ανιοντικές φωσφολιπιδικές επιφάνειες.

Όσο αφορά στον παθογενετικό ρόλο των aPT στο υπερπηκτικό status του APS, έχουν προταθεί κάποιοι μηχανισμοί δράσης τους στα ενδοθηλιακά κύτταρα.

1) Τα aPT αναστέλλουν τη θρομβινο-μεσολαβούμενη απελευθέρωση προστακυκλίνης από τα ενδοθηλιακά κύτταρα.

2) Τα aPT αναστέλλουν τη θρομβινο-μεσολαβούμενη ενεργοποίηση της πρωτεΐνης C πάνω στα ενδοθηλιακά κύτταρα.

3) Με βάση τη θεωρία της «διπλής ενεργοποίησης», μετά από κάποια βλάβη ή σήμα ενεργοποίησης, τα ενδοθηλιακά κύτταρα εκφράζουν ανιοντικά φωσφολιποειδή στην επιφάνειά τους. Η προθρομβίνη, ως φωσφολιπιδοσυνδετική πρωτεΐνη, συνδέεται με αυτά στην κυτταρική επιφάνεια. Κυκλοφορούντα aPT αναγνωρίζουν τα συμπλέγματα αυτά και συνδέονται μαζί τους. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα ενεργοποιούνται επάγοντας την απελευθέρωση προθρομβωτικών ουσιών όπως η TxA₂, ο ιστικός παράγων (TF) και το ADP, με επακόλουθη ενεργοποίηση του μηχανισμού πήξης, συσσώρευση αιμοπεταλίων και θρόμβωση.

4) Τα aPT μπορεί να αυξάνουν τη χημική συγγένεια σύνδεσης της προθρομβίνης με τα ανιοντικά φωσφολιποειδή και το σύμπλεγμα aPT-PT ή πιθανώς να ανταγωνίζονται τη σύνδεση

άλλων παραγόντων της πήξης στη διαθέσιμη φωσφολιποειδική επιφάνεια, έχοντας ως αποτέλεσμα την παράταση των δοκιμασιών πήξης, η οποία μπορεί να διορθωθεί με την προσθήκη φωσφολιπιδίων. Αυτό το in vitro φαινόμενο μπορεί να αποδοθεί με το εξής in vivo σενάριο: Τα φωσφολιπιδιο-συνδετικά συμπλέγματα (aPT-προθρομβίνης) ελαττώνουν τη συγκέντρωση της προθρομβίνης ή την έκταση της φωσφολιπιδικής επιφάνειας για τη δράση της τενάσης, οδηγώντας έτσι σε ένα υπερπηκτικό status και επακόλουθα σε προδιάθεση για θρομβώσεις.

Γνωρίζοντας ότι οι θρομβωτικοί μηχανισμοί είναι πολυπαραγοντικοί και πολύπλοκοι, αντιλαμβανόμαστε ότι απαιτούνται περαιτέρω έρευνες για τη διευκρίνιση του ρόλου των aPT στην παθογένεια της θρόμβωσης.

Η ΣΥΜΒΟΛΗ ΤΩΝ ΑΝΤΙΦΩΣΦΟΛΙΠΙΔΙΚΩΝ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ (aPLs) ΣΤΗΝ ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΤΟΥ APS

Μια σειρά υποθέσεων έχει διατυπωθεί για τη διευκρίνιση του πιθανού ρόλου των αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων (aPLs) στην παθογένεια των θρομβωτικών επεισοδίων. Φαίνεται όμως ότι τα κύρια επίπεδα αλληλεπίδρασης των aPLs είναι:

1. η επιφάνεια των αιμοπεταλίων
2. η επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων
3. η επιφάνεια των μονοκυττάρων
4. το αντιπηκτικό σύστημα των πρωτεϊνών C και S
5. το ινωδολυτικό σύστημα
6. η παραγωγή εικοσανοειδών.

1. Μηχανισμός θρόμβωσης στο APS σχετιζόμενος με την επιφάνεια των αιμοπεταλίων

Ανάμεσα στους υποτιθέμενους μηχανισμούς που εμπλέκονται στην παθογένεια του APS, τα αιμοπετάλια θεωρούνται ως ένας πολλά υποσχόμενος δυνητικός στόχος των κυκλοφορούντων aPLs στην πρόκληση της αντισωματομεσολαβούμενης θρόμβωσης. Τα αιμοπετάλια παίζουν κεντρικό ρόλο στην πρωτογενή αιμόσταση, με

την προσκόλλησή τους στο κατεστραμμένο κυτταρικό τοίχωμα (το οποίο εκφράζει στην επιφάνειά του μόρια κολλαγόνου), την ακόλουθη ενεργοποίησή τους με απελευθέρωση κοκκίων, αλλαγή σχήματος και επαναδιάρθρωση της εξωτερικής φωσφολιπιδικής μεμβράνης τους, μετατρέποντάς τα σε υψηλού βαθμού προπηκτικές επιφάνειες.

Εδώ πρέπει να διευκρινίσουμε ότι η φυσιολογική αιμοπεταλιακή μεμβράνη είναι ένα διπλό φωσφολιπιδικό στρώμα με τη φωσφατιδυλοχολίνη στην εξωτερική επιφάνεια του στρώματος και τα ανιοντικά αμινοφωσφολιποειδή, όπως η φωσφατιδυλοσερίνη, στην εσωτερική επιφάνεια. Όταν ενεργοποιούνται τα αιμοπετάλια από κάποιο αγωνιστή (π.χ. κολλαγόνο, θρομβίνη), τότε συμβαίνει μια διαστρωματική μετακίνηση (flip-flop) των ανιοντικών φωσφολιποειδών, από την έσω προς την έξω επιφάνεια της μεμβράνης, προσφέροντας μια σημαντική καταλυτική επιφάνεια στη διεργασία της πήξης. Η έκταση της έκφρασης των ανιοντικών φωσφολιποειδών στην επιφάνεια της μεμβράνης των αιμοπεταλίων εξαρτάται από τον ενεργοποιητή των αιμοπεταλίων, το ιονισμένο ασβέστιο είναι ο πιο ισχυρός ενεργοποιητής, ακολουθούν δε κατά σειρά ισχύος, το σύμπλεγμα του συμπληρώματος C5b-9, το κολλαγόνο και η θρομβίνη, ενώ το ADP και η επινεφρίνη είναι πολύ ασθενείς ενεργοποιητές.

Διάφορες μελέτες έδειξαν ότι η σύνδεση των aPLs στην αιμοπεταλιακή μεμβράνη είναι υψηλότερη στα ενεργοποιημένα ή κατεστραμμένα αιμοπετάλια, σε αυτά δηλαδή που εκφράζουν ανιοντικά φωσφολιποειδή στην επιφάνειά τους, και μάλιστα, ότι κάποιοι αγωνιστές, όπως το κολλαγόνο, μπορεί να είναι πιο ικανοί ενεργοποιητές των αιμοπεταλίων κατά τρόπο που τα καθιστά πιο αντιδραστικά στα aPLs απ' ό,τι άλλοι αγωνιστές όπως το ADP.

Σύμφωνα με τη θεωρία της «διπλής ενεργοποίησης», η πιο πιθανή εξήγηση για την προθρομβωτική δραστηριότητα των aPLs με αντι-β₂GPI δραστηριότητα σχετιζόμενη με τα αιμοπετάλια περιλαμβάνει αρχικά την ενεργοποίηση των αι-

μοπεταλίων από κάποιο τοπικό γεγονός, όπως μια μικρού βαθμού βλάβη του ενδοθηλίου, με έκφραση υπενδοθηλιακού κολλαγόνου -ενός ισχυρού αγωνιστή των αιμοπεταλίων. Το παραπάνω γεγονός συνεπάγεται διαστρωματική μετακίνηση ανιοντικών φωσφολιποειδών στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων και σύνδεση σε αυτά μορίων β₂GPI ή άλλων συμπαραγόντων (cofactors). Η σύνδεση αυτή συνεπάγεται αλλαγές στη διαμόρφωση του μορίου της β₂GPI και έκφραση «κρυμμένων» ή νεο-επιτόπων ή ακόμη και μεγάλη πυκνότητα μορίων β₂GPI πάνω στην ανιοντική φωσφολιποειδική επιφάνεια των αιμοπεταλίων. Έτσι, αυξάνεται η χημική συγγένεια των aPLs για το σύμπλεγμα β₂GPI-ανιοντικά φωσφολιποειδή, αλλά ταυτόχρονα ενισχύεται και η σύνδεση της β₂GPI πάνω στις φωσφολιπιδικές επιφάνειες σχηματίζοντας σταθερά δισθενή συμπλέγματα. Αυτή η στενή και σταθερή σύνδεση οδηγεί στη «δεύτερη ενεργοποίηση», κατά τη διάρκεια της οποίας τα aPLs αλληλεπιδρούν μέσω του Fc τμήματός τους με τους FcγRII υποδοχείς επιφάνειας των αιμοπεταλίων. Η ενεργοποίηση των FcγRII έχει ως αποτέλεσμα την περαιτέρω ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, που εκφράζεται με την παραγωγή TXA₂, την έκκριση κοκκιακού περιεχομένου όπως Ca⁺⁺, σεροτονίνης, παράγοντα VIII (FVIII), θρομβοσπονδίνης, PDF4, ADP και άλλων ουσιών που προάγουν την περαιτέρω προσκόλληση, τη συσσώρευση και την ενεργοποίηση και άλλων αιμοπεταλίων για το σχηματισμό πρωτογενούς θρόμβου^{16,17,18}.

Μια άλλη εκδοχή της «δεύτερης ενεργοποίησης» υποστηρίζει ότι η σταθεροποίηση συμπλεγμάτων β₂GPI-aPLs πάνω στις επιφάνειες των αιμοπεταλίων μπορεί να ενεργοποιήσει το συμπλήρωμα κατά Fc-εξαρτώμενο τρόπο, το οποίο (C5b-9) με τη σειρά του προκαλεί ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων.

2. Αλληλεπίδραση aPLs με τα ενδοθηλιακά κύτταρα

Ανάμεσα στους προτεινόμενους μηχανισμούς με τους οποίους τα aPLs μπορεί να προκαλέσουν

δημιουργία θρόμβου θεωρήθηκε και η αλληλεπίδρασή τους με ένα άλλο εμπλεκόμενο στη διεργασία της πήξης κύτταρο, το ενδοθηλιακό κύτταρο (ΕΚ).

Το ενδοθήλιο θεωρείται πλέον ως η κύρια περιοχή όπου λαμβάνει χώρα η ρύθμιση της αιμόστασης. Το φυσιολογικό ενδοθήλιο δεν επάγει τη διεργασία πήξεως, τουναντίον βοηθά στη διατήρηση της ρευστότητας του αίματος απελευθερώνοντας θρομβομοδουλίνη, θειική ηπαρίνη, πρωτεΐνη S και ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (tPA). Όταν το φυσιολογικό ενδοθήλιο διαταράσσεται, τότε χρησιμεύει ως μία επιφάνεια η οποία μπορεί να υποστηρίξει πολλά στάδια στον καταρράκτη της πήξης, παράγοντας ιστικό παράγοντα και αναστολέα του ενεργοποιητού του πλασμινογόνου (PAI) και εκφράζοντας ειδικές θέσεις σύνδεσης για αρκετούς παράγοντες πήξης. Όλα αυτά τα προθρομβωτικά συμβάντα μπορεί να μετατοπίσουν την αιμοστατική ισορροπία προς την κατεύθυνση του σχηματισμού θρόμβου.

Η μετατροπή ενός φυσιολογικού αντιθρομβωτικού ενδοθηλίου σε προθρομβωτική επιφάνεια μπορεί να είναι ένας από τους παθογενετικούς μηχανισμούς πρόκλησης του υπερπηκτικού status στο APS. Τα ερωτήματα που προκύπτουν είναι εάν και με ποιον τρόπο συνδέονται τα aPLs με τα ενδοθηλιακά κύτταρα και ποιες είναι οι μορφολογικές αλλαγές που επάγουν τα aPLs στα ενδοθηλιακά κύτταρα.

Από πειραματικές μελέτες²¹⁻²⁴ δείχθηκε ότι δεν υπάρχουν ειδικοί φωσφολιπιδικοί επίτοποι διαθέσιμοι στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων -είτε αυτά βρίσκονται σε ηρεμία είτε είναι ενεργοποιημένα και εκφράζουν ανιοντικά φωσφολιποειδή στην επιφάνειά τους- μέσω των οποίων τα aPLs να μπορούν να ασκήσουν την αντιενδοθηλιακή τους δραστηριότητα. Αποδείχθηκε όμως ότι στο APS ανιχνεύονται αυτοαντισώματα έναντι μιας ετερογενούς οικογένειας δομικών πρωτεϊνών της μεμβράνης των ενδοθηλιακών κυττάρων, ασχέτων με τους ως τώρα γνωστούς φωσφολιπιδικούς επίτοπους, τα

AECA (anti-endothelial cells antibodies). Τα AECA μπορεί να συνυπάρχουν με τα aPLs στο APS ως ξεχωριστός υποπληθυσμός αντισωμάτων²⁵.

Το 1995, ο Del Papa και συν.²⁶ απέδειξαν για πρώτη φορά ότι η β_2 GPI είναι αυτή που μεσολαβεί για τη σύνδεση των aPLs με τα ΕΚ και ότι η ενδοθηλιακή προσκόλλησή της είναι αυτή που προσφέρει τους κατάλληλους επιτόπους για τα αντι- β_2 GPI aPLs, είτε δημιουργώντας διαθέσιμους υψηλής πυκνότητας ανοσογονικούς επίτοπους είτε αναδεικνύοντας «κρυμμένους» επιτόπους. Η β_2 GPI συνδέεται με το ενδοθήλιο μέσω μίας θετικά φορτισμένης αλληλουχίας aa Cys281-288 που βρίσκεται στην 5η υπομονάδα του μορίου της, όμως δεν είναι ξεκάθαρο σε ποιο δομικό συστατικό της ενδοθηλιακής μεμβράνης συνδέεται.

Το πιο σύνθετες aPL-μεσολαβούμενο θρομβο-αποφρακτικό επεισόδιο στο APS συμβαίνει στο κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ), προτείνοντας έτσι μία εκλεκτική ευαισθησία του αγγειακού ενδοθηλίου του ΚΝΣ στα aPLs. Υπάρχουν πολλά στοιχεία που υποστηρίζουν την ετερογένεια των ενδοθηλιακών κυττάρων από όργανο σε όργανο όσο αφορά τα αντιγονικά χαρακτηριστικά τους, την έκκριση προσταγλανδινών, την έκφραση των μορίων προσκόλλησης και τη θρομβογόνο δραστηριότητά τους. Από πειραματικές μελέτες που έγιναν δείχθηκε ότι τα μονοκλωνικά αντισώματα έναντι β_2 GPI (mo Abs anti β_2 GPI) είχαν σημαντικότερα αυξημένη δραστηριότητα σύνδεσης σε εγκεφαλικά ενδοθηλιακά κύτταρα απ' ό,τι σε ενδοθηλιακά κύτταρα ομφαλικής φλέβας, προτείνοντας έτσι μια μεγαλύτερη τάση προσκόλλησης β_2 GPI στα εγκεφαλικά ενδοθηλιακά κύτταρα. Επίσης δείχθηκε ότι η προσκόλληση της β_2 GPI στις κυτταρικές μεμβράνες των ενδοθηλιακών κυττάρων είναι ένα φαινόμενο κοινό τόσο της μικροκυκλοφορίας όσο και της μακροκυκλοφορίας του ΚΝΣ και ότι η σύνδεση των αντισωμάτων στον προσκολληθέντα συμπαράγοντα είναι ικανή να ενεργοποιήσει τα ενδοθηλιακά κύτταρα της μικροκυκλοφορίας. Η ενεργοποίηση του ενδοθηλίου από τα aPLs έγκειται στη μετατροπή του

από ένα φυσιολογικό αντιπηκτικό ενδοθήλιο σε μία επιφάνεια προσκόλλησης (προθρομβωτική επιφάνεια).

Φάνηκε λοιπόν ότι τα ΕΚ τα συνδεόμενα με aPLs παρουσιάζουν μια αυξημένη έκφραση μορίων προσκόλλησης ICAM-1, VCAM-1, E-selectin και αυξημένη έκκριση προφλεγμονωδών κυτοκινών²⁶⁻²⁹. Επιπλέον, η αλληλεπίδραση των aPLs με την αννεξίνη V (μια φωσφολιποειδοσυνδεδετική πρωτεΐνη στα ανιοντικά φωσφολιποειδή της μεμβράνης των ΕΚ) οδηγεί σε «ρήξη» της προστατευτικής ασπίδας της αννεξίνης V, επιτρέποντας έτσι στα ανιοντικά φωσφολιποειδή να ενεργοποιήσουν την πήξη. Τα aPLs φαίνεται ότι δεν επηρεάζουν τον ενδοθηλιακό μεταβολισμό της PGJ₂ και ότι η διαταραχή της ισορροπίας PGJ₂/TXA₂ στο APS συνδέεται περισσότερο με την αυξημένη έκκριση της TXA₂, παρά με την ενδοθηλιακή PGI₂ ως προδιαθεσικού παράγοντα θρόμβωσης.

3. Η επίδραση των aPLs στην οδό της πρωτεΐνης C

Γνωρίζουμε σήμερα ότι τα aPLs είναι μια ετερογενής ομάδα αυτοαντισωμάτων τα οποία μεσολαβούν στις φωσφολιπιδεξαρθώμενες διεργασίες της πήξης. Παραδόξως, η παρουσία τους στο πλάσμα είναι μέγιστος παράγοντας κινδύνου για την ανάπτυξη αρτηριακών ή φλεβικών θρομβώσεων και όχι αιμορραγικής διάθεσης, όπως θα αναμένετο όταν οι δοκιμασίες πήξης είναι παρατεταμένες. Για την ερμηνεία του παραδόξου αυτού αναπτύχθηκαν διάφορες θεωρίες αλληλεπίδρασης των aPLs, κυρίως με το αντιπηκτικό σύστημα της πρωτεΐνης C. Οι ελκυστικότερες απ' αυτές εστιάζονται:

1. Στην aPL μεσολαβούμενη επίκτητη αντίσταση στην ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C

2. Στην aPL μεσολαβούμενη διαταραχή της ισορροπίας στο παράδοξο φαινόμενο της θρομβίνης.

Αναλυτικότερα, όσο αφορά στην πρώτη θεωρία της επίκτητης αντίστασης στην ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C, ένας μεγάλος αριθμός

δημοσιεύσεων^{36,39} αναφέρει ότι τα aPLs αναστέλλουν τη σύνδεση των πρωτεϊνών C και S στα ανιοντικά φωσφολιποειδή, εμποδίζοντας έτσι τη δραστηριότητά τους και μάλιστα ότι τα aPLs απαιτούν το φωσφολιποειδές P/E (φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη) για να εκφράσουν δραστηριότητα αντι-πρωτεΐνης C³⁰. Είναι γνωστό ότι μια μικρή ελάττωση στην αντιπηκτική δραστηριότητα της πρωτεΐνης-C είναι μείζων κίνδυνος θρομβώσεως. Μια άλλη, όχι αρκετά μελετημένη, άποψη είναι αυτή της παρουσίας αυτοαντισωμάτων έναντι του παράγοντα Va. Τα αυτοαντισώματα αυτά, όμως, δεν επηρεάζουν την προθρομβωτική δραστηριότητά του, αλλά προστατεύουν τον ενεργοποιημένο παράγοντα Va από την αποδόμησή του από την ενεργοποιημένη πρωτεΐνη-C.

Όσο αφορά στη θεωρία της aPL μεσολαβούμενης διαταραχής του παράδοξου φαινομένου της θρομβίνης, τα aPLs αναστέλλουν το σχηματισμό θρομβίνης, δηλαδή του ενεργοποιητού της πρωτεΐνης-C. Το 1993 ο Hanson και συν. εισηγήθηκαν τη θεωρία του «παραδόξου της θρομβίνης» σύμφωνα με την οποία, η θρομβίνη ασκεί αντιπηκτική αλλά και προπηκτική δραστηριότητα σε συνάρτηση με τη συγκέντρωσή της. Έτσι, όταν σχηματίζονται μικρές ποσότητες θρομβίνης αυτή ενεργοποιεί την πρωτεΐνη-C και έτσι θεωρείται αντιπηκτικός παράγοντας. Όταν σχηματίζονται μεγαλύτερες ποσότητες θρομβίνης, τότε η ουσία αυτή μετατρέπει το ινωδογόνο σε ινική και ενεργοποιεί τους παράγοντες V και VIII, ασκώντας έτσι την προθρομβωτική της δράση. Όταν σχηματίζονται μεγάλες ποσότητες θρομβίνης, τότε ενεργοποιούνται οι TAFI και XIII παράγοντες έχοντας μία αντινωδολυτική απάντηση.

Η θεωρία για την προθρομβωτική δραστηριότητα των aPLs σχετίζεται με την πρωτεΐνη-C, βασίζεται δε στη γνωστή δράση της πάνω στο σχηματισμό της θρομβίνης. Υπό φυσιολογικές συνθήκες κυκλοφορούν μικρές ποσότητες θρομβίνης, γεγονός που σημαίνει διαρκή ενεργοποίηση πρωτεΐνης-C. Μετά από κάποια αγγει-

ακή βλάβη, θα υπάρχει ανεπαρκής ποσότητα κυκλοφορούσης πρωτεΐνης-C για να εμποδίσει τον ανεξέλεγκτο σχηματισμό θρόμβου. Έτσι τα aPLs μπορεί να οδηγήσουν την αιμοστατική ισορροπία σε ένα περισσότερο προθρομβωτικό status. Εν κατακλείδι, θέλουμε να τονίσουμε ότι η ανεπάρκεια της πρωτεΐνης-C έχει συσχετισθεί με τη θρόμβωση στο φλεβικό κυρίως σκέλος, αν και η εξωγενής χορήγηση APC (active prot. C) μπορεί να προλάβει τις αρτηριακές θρομβώσεις σε πειραματόζωα. Το ερώτημα που προκύπτει είναι το κατά πόσο τα ίδια αντισώματα είναι υπεύθυνα και για τις αρτηριακές και τις φλεβικές θρομβώσεις. Το ασφαλές συμπέρασμα πάντως είναι ότι η αλληλεπίδραση aPLs-μηχανισμού δράσης πρωτεΐνης C μπορεί να εξηγήσει σε μεγάλο βαθμό τις φλεβικές θρομβώσεις στους ασθενείς με APS.

4. Ο ρόλος του ιστικού παράγοντα στο APS

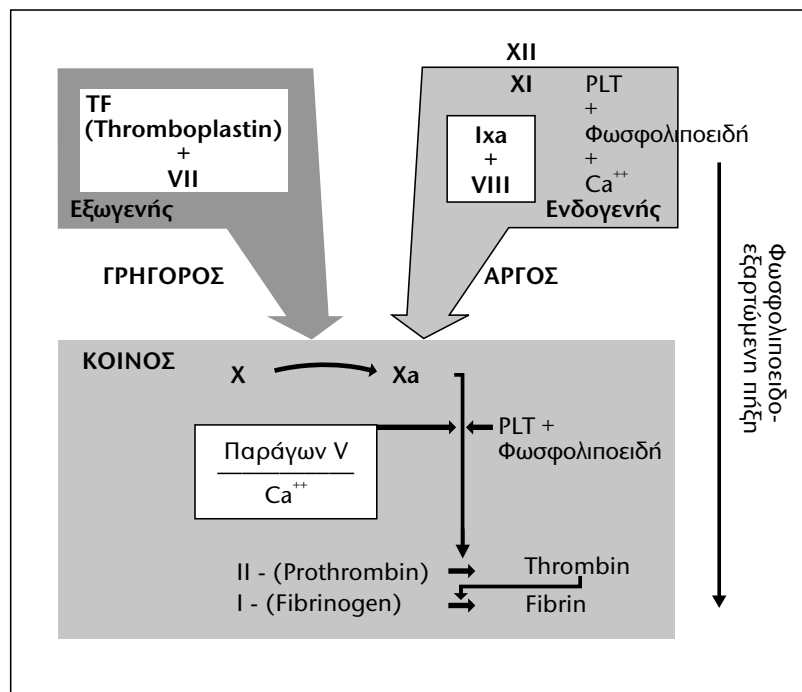
Ένας από τους κυριότερους προτεινόμενους μηχανισμούς ερμηνείας της παθογένειας των θρομβωτικών επεισοδίων στο APS, είναι το γε-

γονός ότι τα aPLs μπορεί να επάγουν αυξημένη έκφραση ιστικού παράγοντα (tissue factor, TF) στα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων και στα μονοκύτταρα.

Ο TF είναι μια διαμεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη που απαιτείται απλώς και μόνο η έκφρασή της στην κυτταρική επιφάνεια για να καταστεί ενεργός. Λειτουργεί διπλά και ως υποδοχέας υψηλής συγγένειας και ως ενεργοποιητικό ένζυμο του παράγοντα VII (FVII). Εκτός όμως από την έναρξη της εξωγενούς οδού της πήξης, το σύμπλεγμα TF-FVIIa ενεργοποιεί και την ενδογενή οδό, μετατρέποντας τον παράγοντα IX (FIX) σε ενεργοποιημένο (FIXa). Δικαίως λοιπόν θεωρείται ευρέως ως ο κύριος παράγοντας έναρξης της φυσιολογικής πήξης. Η καταλυτική δραστηριότητα του TF-VIIa στον παράγοντα X (FX) αναστέλλεται από τον αναστολέα TFPI (Tissue Factor Pathway Inhibitor), σχηματίζοντας συμπλέγματα TF-FVIIa-FX-TFPI (εικόνα 3).

Από in vivo και in vitro μελέτες, δείχθηκε ότι υπάρχει αυξημένη έκφραση του ιστικού παράγοντα στο APS, αλλά και αυξημένα επίπεδα πλάσματος του αναστολέα του ιστικού παράγοντα, υποστηρίζοντας έτσι την ενδοθηλιακή διέγερση με ενεργοποίηση της εξωγενούς οδού και ταυτόχρονη ενεργοποίηση του προστατευτικού μηχανισμού της προθρομβωτικής τάσης των ασθενών με APS και θρόμβωση. Ο μηχανισμός με τον οποίο τα aPLs μεσολαβούν για αυξημένη έκφραση του TF στο APS δεν είναι ακόμη γνωστός.

Ο Arnout και συν.⁴ προτείνουν το μηχανισμό της «διπλής ενεργοποίησης», όπως αναλυτικά έχει προαναφερθεί, όπου απαιτείται μια αρχική τοπική βλάβη για να πυροδοτήσει το μηχανισμό της αντισωματομεσολαβούμενης θρόμβωσης, όπου η σταθερή σύνδεση των



Εικόνα 3. Οδοί πήξης του αίματος.

aPLs με αντι-β₂GPI δραστηριότητα πάνω στην επιφάνεια των μονοκύτταρων μπορεί να προκαλέσει TF-δραστηριότητα μέσω αλληλεπίδρασης του Fc τμήματος της IgG αντι-β₂GPI με τους FcγRII υποδοχείς της επιφάνειας των μονοκυττάρων. Ίσως όμως και μόνο η απλή σύνδεση του Fab τμήματος της IgG αντι-β₂GPI με την β₂GPI στην επιφάνεια των κυττάρων να είναι από μόνη της συνεργική ή εναλλακτική οδός, μέσω της οποίας τα aPL επάγουν την αυξημένη έκφραση TF.

Άλλοι ερευνητές, έχουν προτείνει διαφορετικό θρομβογόνο μηχανισμό^{31,32}, σύμφωνα με τον οποίο η μεγάλη συγγένεια των aPLs έναντι των φωσφολιπιδιο-συνδετικών πρωτεϊνών (π.χ. β₂GPI) στην επιφάνεια των κυττάρων καταργεί την προστατευτική ασπίδα της αννεξίνης V (του φυσικού αντιπηκτικού που συνδέεται με μεγάλη συγγένεια με τα ανιοντικά φωσφολιποειδή,

όταν αυτά εκτίθενται και έρχονται σε επαφή με το αίμα) και έτσι ένα αυξημένο ποσοστό ανιοντικών ωσφολιποειδών γίνεται διαθέσιμο για το σύμπλεγμα TF-FVIIa, καθώς και για άλλα συμπλέγματα πήξης.

5. APS και ινωδόλυση

Ένας από τους προτεινόμενους μηχανισμούς θρόμβωσης στο APS, μπορεί να είναι αποτέλεσμα μιας ελαττωμένης ή ανεπαρκούς ινωδολυτικής κυτταρικής απάντησης, στην αγγειακή βλάβη που προκαλείται από παράγοντες όπως η λιποπρωτεΐνη Lp(a) και τα αυτοαντισώματα.

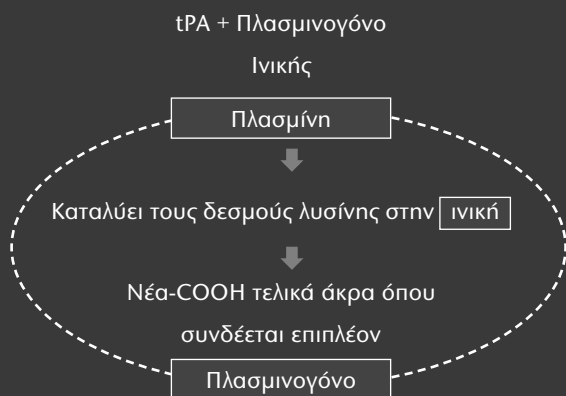
Ξεκινώντας από την αρχική υπόθεση, 20 χρόνια πριν την υπο-ϊνωδόλυση με θρόμβωση και παρουσία aPLs στον ΣΕΛ, φτάνουμε σήμερα στη διαπίστωση ότι η υπο-ϊνωδόλυση στο APS είναι αποτέλεσμα ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας, η οποία εκφράζεται και διαπιστώνεται πειραματικά από τα αυξημένα επίπεδα πλάσματος του ενεργοποιητού του πλασμινογόνου (tissue plasminogen activator, tPA) και του αναστολέα του (PAI-1), δύο παραγόντων που απελευθερώνονται όχι από το φυσιολογικό αντιπηκτικό ενδοθήλιο, αλλά από τα ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα (εικόνα 4).

Ο tPA κυκλοφορεί δεσμευμένος με τον PAI-1 και συνεπώς ανενεργός, γεγονός που εξηγεί το παράδοξο γιατί δηλαδή η υπο-ϊνωδόλυση παρατηρείται παρουσία αυξημένων ανιχνεύσιμων επιπέδων tPA³³⁻³⁶. Οι εκφάνσεις αυτές της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας, βρέθηκαν σε συνδυασμό και με την παρουσία αντισωμάτων έναντι ενδοθηλιακών κυττάρων ή ανοσοσυμπλεγμάτων, προτείνοντας έτσι τα ενδοθηλιακά κύτταρα ως σημαντικό στόχο δράσης των αντισωμάτων που μεσολαβούν στη θρόμβωση.

Τα ΑΕΑΑ μπορεί να συνυπάρχουν με aPLs στο πρωτοπαθές ή δευτεροπαθές APS και μάλιστα έχουν αναφερθεί αλληλεπιδράσεις μεταξύ των δύο αυτών ομάδων αυτοαντισωμάτων³⁷.

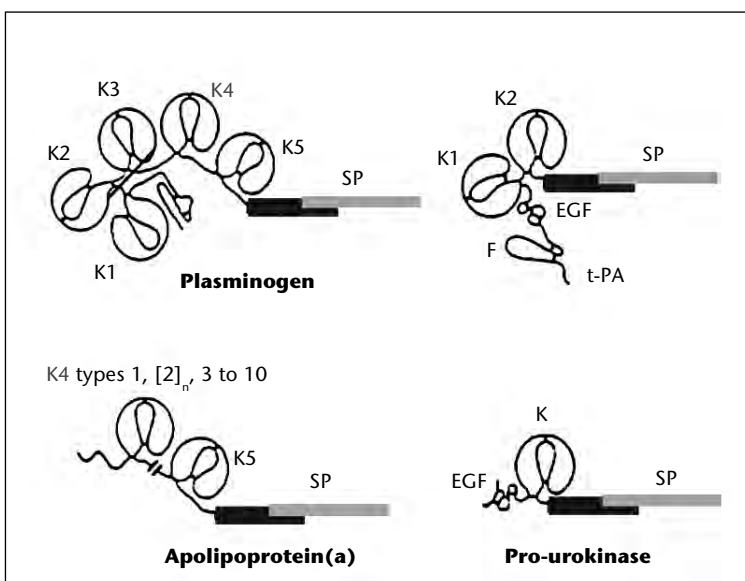
Προσφάτως, έχει αποδειχθεί ότι τα aPLs μπορούν να ενεργοποιήσουν άμεσα το ενδοθηλιακό κύτταρο (έκφραση E-selectin) κατά β₂GPI

Η ινική φέρει θέση σύνδεσης από την *in situ* δημιουργία της, για tPA και πλασμινογόνο μία και αυτά είναι ενταφιασμένα στο ινωδογόνο.



ΒΑΣΙΚΗ ΟΔΟΣ ΕΠΙΤΑΧΥΝΣΗΣ & ΔΙΕΥΡΥΝΣΗΣ
ΤΗΣ ΙΝΩΔΟΛΥΣΗΣ
είναι ινική - εισαγόμενη
ΟΜΩΣ ΠΑΙΖΟΥΝ & τα E.C. το ρόλο τους...

Εικόνα 4. Αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο και ινωδόλυση.



Εικόνα 5.

εξαρτώμενο τρόπο³⁸. Είναι πιθανό ότι τα αυτοαντισώματα αυτά μεσολαβούν για έκκριση και άλλων παραγόντων ενδεικτικών ενδοθηλιακής βλάβης-ενεργοποίησης, όπως ο PAI-1 και tPA.

Πρόσφατα κλινικά και πειραματικά δεδομένα προτείνουν την Lp(a) και ιδιαίτερα το αθηροθρομβωτικό τμήμα της, ως εμπλεκόμενο στις θρομβωτικές επιπλοκές του APS. Η Lp(a) αποτελείται από δύο ημίσεια, LDL και plasminogen-like καθιστώντας την έτσι το συνδυαστικό κρίκο μεταξύ αθηροσκλήρωσης και θρόμβωσης. Έχουν αναφερθεί αυξημένα επίπεδα Lp(a) σε αυτοάνοσα νοσήματα συμπεριλαμβανομένου και του APS³⁹⁻⁴⁵. Επειδή όμως τα επίπεδα της Lp(a) είναι γενετικά καθορισμένα και δε διαπιστώθηκε συσχέτιση μεταξύ επιπέδων Lp(a) και aPL, προκύπτει το ερώτημα κατά πόσον οι ασθενείς αυτοί είχαν αυξημένα επίπεδα Lp(a) πριν την ανάπτυξη της αυτοανοσίας.

Η Apo(a), χαρακτηριστική γλυκοπρωτεΐνη της Lp(a), εμφανίζει δομικές ομοιότητες με το πλασμινογόνο και έτσι μπορεί να ανταγωνίζεται τη σύνδεση του με την ινική και στις κυτταρικές επιφάνειες και/ή να μεσολαβεί για έκκριση PAI-1 από τα EK, αναστέλλοντας έτσι την ινωδόλυση⁴⁶⁻⁴⁸

(εικόνα 5). Πρόσφατα έχει αποδειχθεί η αλληλεπίδραση μεταξύ β_2 GPI και Apo(a), είτε στην ελεύθερη μορφή της είτε δεσμευμένη με Lp(a)49. Ο ρόλος αυτής της αλληλεπίδρασης δεν έχει διευκρινισθεί πλήρως. Ίσως η δημιουργία συμπλεγμάτων Lp(a)- β_2 GPI επιτρέπει την εναπόθεση β_2 GPI στην ινική και περαιτέρω αποδόμησή της από την πλασμίνη. Οι μορφές της β_2 GPI που προκύπτουν, συνδέονται με πολύ μικρότερου βαθμού συγγένεια με τα αρνητικά φωσφολιποειδή και ίσως έτσι δεν αλληλεπιδρούν με τα aPLs, συμπεραίνοντας ότι η ενεργοποίηση του πλασμινογόνου είναι ένας μηχανισμός άμυνας έναντι της αντισωματο-μεσολαβούμενης θρόμβωσης, που όταν υπολειπεται μπορεί να ευνοήσει την εμφάνιση

κλινικών συμπτωμάτων στο APS.

Τέλος, ένας άλλος προτεινόμενος μηχανισμός πρόκλησης υπο-ίνωδόλυσης στο APS που χρήζει διερεύνησης, υποστηρίζει ότι τα aPLs ανταγωνίζονται τις θέσεις σύνδεσης του πλασμινογόνου και του ενεργοποιητή του tPA στη φωσφολιπιδική επιφάνεια. Η δημιουργία πλασμίνης από το πλασμινογόνο μέσω δράσης tPA στην ενδοθηλιακή επιφάνεια απαιτεί τη γεινιακή σύνδεση πλασμινογόνου και tPA σε ειδικό υποδοχέα της φωσφολιποειδικής επιφάνειας, την αννεξίνη II. Επειδή αμφότερα aPLs και αννεξίνη II έχουν συγγένεια σύνδεσης για την ανιοντική φωσφολιποειδική επιφάνεια, είναι πιθανό ότι τα aPLs δεν αφήνουν διαθέσιμη επιφάνεια για την αννεξίνη II.

6. Αλληλεπίδραση μεταξύ aPLs και εικοσανοειδών

Τα εικοσανοειδή και ισο-εικοσανοειδή είναι παράγωγα του αραχιδονικού οξέος και παίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση των κυτταρικών λειτουργιών in vivo. Τελευταία πιστεύεται ότι ο διακυτταρικός μεταβολισμός των εικοσανοει-

δών αντιπροσωπεύει ένα εξειδικευμένο τρόπο κυτταρικής επικοινωνίας.

Στα πλαίσια της έρευνας των ασθενών με APS, φαίνεται ότι τα aPLs διαταράσσουν την παραγωγή εικοσανοειδών και ισο-εικοσανοειδών από τη φωσφολιποειδική διπλοστοιβάδα της κυτταρικής μεμβράνης των αιμοπεταλίων και των ενδοθηλιακών κυττάρων. Η διαταραχή της ισορροπίας TxA₂/ PGI₂ ως προδιαθεσικού παράγοντα θρόμβωσης στο APS σχετίζεται περισσότερο με την έκκριση TxA₂ από τα ενεργοποιημένα PLT, παρά με την ενδοθηλιακή παραγωγή της PGI₂. Η πρόσφατα αναφερόμενη συσχέτιση μεταξύ U-DH-TxB₂ -ενός μεταβολίτη της TxA₂ που αποβάλλεται στα ούρα- και του τίτλου των Ab αντι-β₂GPI50,51 προτείνει ότι τα αντισώματα αυτά είναι υπεύθυνα για την in vivo ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων. Αντίθετα η αυξημένη έκφραση της COX-2 στα ενδοθηλιακά κύτταρα, παρουσία aPLs, αντανάκλα διαταραχή της ενδοθηλιακής λειτουργίας χωρίς συνοδές μεταβολές στα επίπεδα PGI₂. Επιπρόσθετα, πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι η βιοσύνθεση των ισο-εικοσανοειδών, ενδεικτική οξειδωσης λιπιδίων in vivo, είναι στενά συνδεδεμένη με τα aPLs. Τα δεδομένα αυτά στηρίζουν την υπόθεση ότι τα aPLs μπορεί να προέρχονται από προ-οξειδωτικές συνθήκες.

Συμπερασματικά, η γενικότερη κατεύθυνση φαίνεται να είναι ότι τα aPLs διαταράσσουν την ισορροπία των εικοσανοειδών στα αιμοπετάλια και στα ενδοθηλιακά κύτταρα και ότι αυτή η διαταραχή αυτή στους ασθενείς με APS μπορεί να αντανάκλα αλλά και να ενισχύει την ενεργοποίηση των κυττάρων που μεσολαβείται αρχικά από τα aPLs, οδηγώντας έτσι σε ένα προθρομβωτικό status.

ABSTRACT

Pathogenesis of antiphospholipid syndrome

E. Vritzali, C. Antoniadis

Department of Rheumatology, Asclepeion Hospital, Voula, Athens

The antiphospholipid syndrome (APS) is the syndrome of antibody mediated thrombosis. The putative pathogenic mechanism in the APS,

leading to thrombosis is considered to be the "double hit" mechanism: As a consequence of an initial damage or activation of the phospholipid membranes, anionic phospholipids are exposed on cell surfaces of the blood cells, on endothelium and trophoblasts. These potentially reactive phospholipids are covered by phospholipid-binding proteins, such as β₂GPI or prothrombin. If, however, aPLs against such surface-binding proteins are present, these immunoglobulins concentrate on the cells surface, bind to cellular Fcγ receptors (FcR) and induce strong thrombosis-promoting modifications such as the release of ADP, serotonin and microvesicles, the TxA₂ biosynthesis, the tissue factor expression, the removal of endothelial heparan sulfate, etc. So far the APS pathogenesis seems to be related to tight cellular binding of immunoglobulin, than the interference of antibody with the activity of specific antigen. Thus, antiphospholipid antibodies interfere with platelets, blood monocytes, endothelial cells, the anticoagulant system of proteins C, S, and the fibrinolytic process.

Hellenic Rheumatology 2006; 17(3):212-226

Key words: antiphospholipid antibodies, antibody mediated thrombosis, β₂ glycoprotein I, prothrombin, platelets, endothelial cells, monocytes, protein C, protein S, fibrinolytic cascade, eicosanoids.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Matsuura E, Igarashi Y, Fujimoto M. Anticardiolipin antibodies directed not to cardiolipin but to a plasma protein cofactor. *Lancet* 1990; 336:1547.
2. Galli M, Comfurius P, Maassen C, et al. Anticardiolipin (ACA) antibodies directed not to cardiolipin but to a plasma protein cofactor. *Lancet* 1990; 336:1544-7.
3. McNeil HP, Simpson RJ, Chesterman CN, Krilis S. Anti-phospholipid antibodies are directed against a complex antigen that includes a lipid binding inhibitor of coagulation: β₂ glycoprotein I (apolipoprotein H). *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87:4120-4.

4. Arnout J. The pathogenesis of the antiphospholipid syndrome: a hypothesis based on parallelisms with heparin-induced thrombocytopenia. *Thromb Haemost* 1996; 75:536-41.
5. Willems GM, Janssen MP, Pelsers MMAL et al. Role of bivalency in the high-affinity binding of anticardiolipin antibody- β 2-glycoprotein I complexes to lipid membranes. *Biochemistry* 1996; 35:13833-42.
6. Takeya H, Mori T, Gabazza EC et al. Anti- β 2-glycoprotein I (b2GPI) monoclonal antibodies with lupus anticoagulant-like activity enhance the β 2GPI binding to phospholipids. *J Clin Invest* 1997; 99:2260-8.
7. Arnout J, Wittevrongel C, Vanrusselt M, Hoylaerts M, Vermylen J. Beta-2-glycoprotein I dependent lupus anticoagulants form stable bivalent antibody-beta-2-glycoprotein I complexes on phospholipid surfaces. *Thromb Haemost* 1998; 79:79-86.
8. Loeliger A. Prothrombin as a co-factor of the circulating anticoagulant in systemic lupus erythematosus? *Thromb Diath Haemorrh* 1959; 3:237-56.
9. Edson JR, Vogt JM, Hasegawa DK. Abnormal prothrombin crossed-immunoelectrophoresis in patients with lupus inhibitor. *Blood* 1984; 64:807-16.
10. Fleck RA, Rapaport SI, Rao LV. Antiprothrombin antibodies and the lupus anticoagulant. *Blood* 1988; 72:512-9.
11. Bevers EM, Galli M, Barbui T, Comfurius P, Zwaal RFA. Lupus anticoagulant IgGs (LA) are not directed to phospholipid only, but to a complex of lipid-bound human prothrombin. *Thromb Haemost* 1991; 66:629-32.
12. Arvieux J, Darnige L, Caron C et al. Development of an ELISA for autoantibodies to prothrombin showing their prevalence in patients with lupus anticoagulant. *Thromb Haemost* 1995; 74:1120-5.
13. Wagenknecht DR, McIntyre JA. Changes in β 2-glycoprotein I antigenicity induced by phospholipid binding. *Thromb Haemost* 1993; 9:361-5.
14. Pengo V, Biasiolo A, Fior MG. Autoimmune antiphospholipid antibodies are directed against a cryptic epitope expressed when β 2-glycoprotein I is bound to a suitable surface. *Thromb Haemost* 1995; 73:29-34.
15. Koike T, Ichikawa K, Kasahara H, Atsumi T, Matsuura A. Epitopes on β 2-GPI recognized by anticardiolipin antibodies. *Lupus* 1998; 7 Suppl 2:S14-17.
16. Khamashta MA, Harris EN, Gharavi AE et al. Immune mediated mechanism for thrombosis: antiphospholipid antibody binding to platelet membranes. *Ann Rheum Dis* 1988; 47:849-54.
17. Shi W, Chong BH, Chesterman CN. β 2-glycoprotein I is a requirement for anticardiolipin antibodies binding to activated platelets: differences with lupus anticoagulants. *Blood* 1993; 81:1255-62.
18. Galli M, Bevers EM, Comfurius P, Barbui T, Zwaal RFA. Effect of antiphospholipid antibodies on procoagulant activity of activated platelets and platelet-derived microvesicles. *Br J Haematol* 1993; 83:466-72.
19. Davis WD, Brey RL. Antiphospholipid antibodies and complement activation in patients with cerebral ischemia. *Clin Exp Rheumatol* 1992; 10:455-60.
20. Stewart MW, Etches WS, Gordon PA. Antiphospholipid antibody-dependent C5b-9 formation. *Br J Haematol* 1997; 96:451-7.
21. Del Papa N, Meroni PL, Tincani A et al. Relationship between antiphospholipid and antiendothelial antibodies: further characterization of the reactivity on resting and cytokine-activated endothelial cells. *Clin Exp Rheumatol* 1992; 10:37-42.
22. McCrae KR, De Michele A, Samuels P et al. Detection of endothelial cell reactive immunoglobulin in patients with anti-phospholipid antibodies. *Br J Haematol* 1991; 79:595-605.
23. Del Papa N, Conforti G, Gambini D et al. Characterization of antiendothelial cell antibodies in anti-phospholipid syndrome. In: Polli EE, editor. *Molecular bases of human diseases*. Amsterdam: Excerpta Medica, 1993; 67-74.
24. Cervera R, Khamashta MA, Font J et al. Anti-endothelial cell antibodies in patients with the antiphospholipid syndrome. *Autoimmunity* 1991; 11:1-6.
25. Del Papa N, Conforti G, Gambini D et al. Characterization of the endothelial surface proteins recognized by anti-endothelial antibodies in primary and secondary autoimmune vasculitis. *Clin Immunol Immunopathol* 1994; 70:211-6.
26. Del Papa N, Guidali L, Spatola L et al. Relationship between antiphospholipid and anti-endothelial antibodies III: β 2-glycoprotein I mediates the

- antibody binding to endothelial membranes and induces the expression of adhesion molecules. *Clin Exp Rheumatol* 1995; 13:179-86.
27. Del Papa N, Guidali L, Sala A et al. Endothelial cell as target for antiphospholipid antibodies. *Arthritis Rheum* 1997; 40:551-61.
 28. Simantov R, LaSala JM, Lo SK et al. Activation of cultured vascular endothelial cells by antiphospholipid antibodies. *J Clin Invest* 1995;96:2211-9.
 29. George J, Blank M, Levy Y et al. Differential effects of anti-beta 2 glycoprotein I antibodies on endothelial cells and on the manifestations of experimental antiphospholipid syndrome. *Circulation* 1998; 97:900-6.
 30. Amer L, Kisiel W, Searles RP, Williams RC, Jr. Impairment of the protein C anticoagulant pathway in a patient with systemic lupus erythematosus, anticardiolipin antibodies and thrombosis. *Thromb Res* 1990; 57:247-58.
 31. Ramd JH, Wu X-X, Andree HAM, et al. Antiphospholipid antibodies accelerate plasma coagulation by inhibiting annexin-V binding to phospholipids: a «lupus procoagulant» phenomenon. *Blood* 1998; 92:1652-60.
 32. Rand JH, Wu X-X, Andree HAM, et al. Pregnancy loss in the antiphospholipid syndrome: a possible thrombogenic mechanism. *N Engl J Med* 1997; 337:154-60.
 33. Tsakiris DA, Marbet GA, Makris PE, Settas L, Duckert F. Impaired fibrinolysis as an essential contribution to thrombosis in patients with lupus anticoagulant. *Thromb Haemost* 1989; 61:175-7.
 34. Violi F, Ferro D, Valesini G et al. Tissue plasminogen activator inhibitor in patients with systemic lupus erythematosus and thrombosis. *Br Med J* 1990; 300:1099-102.
 35. Jurado M, Paramo JA, Gutierrez-Pimentel M, Rocha E. Fibrinolytic potential and antiphospholipid antibodies in systemic lupus erythematosus and other connective tissue disorders. *Thromb Haemost* 1992; 688:516-20.
 36. Ferro D, Pittoni V, Quintarelli C et al. Coexistence of anti-phospholipid antibodies and endothelial perturbation in sytemi lupus erythematosus patients with ongoing prothrombotic state. *Circulation* 1997;95:1425-32.
 37. Lanir N, Zilberman M, Yron I, et al. Reactivity patterns of antiphospholipid antibodies and endothelial cells: effect of antiendothelial antibodies on cell migration. *J Lab Clin Med* 1998; 131:548-56.
 38. Simantov R, LaSala JM, Lo SK et al. Activation of cultured vascular endothelial cells by antiphospholipid antibodies. *J Clin Invest* 1995; 96:2211-9.
 39. Rantappa-Dahlqvist S, Wallberg-Jonsson S, Dahlen G. Lipoprotein (a), lipids, and lipoproteins in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1991; 50:366-8.
 40. Lotz H, Salabe GB. Lipoprotein (a) increase associated with thyroid autoimmunity. *Eur J Endocrinol* 1997; 136:87-91.
 41. Seriola B, Accardo D, Mercuri M, Raurama R. Lipoprotein (a) and anticardiolipin antibodies as risk factors for vascular disease in rheumatoid arthritis. *Thromb Haemost* 1995; 74:799-800.
 42. Matsuda J, Gotoh M, Gohchi K, Saitoh N, Tsukamoto M. Serum lipoprotein (a) level is increased in patients with systemic lupus erythematosus irrespective of positivity of antiphospholipid antibodies. *Thromb Res* 1994; 73:83-4.
 43. Kawai S, Mizushima Y, Kaburaki J. Increased serum lipoprotein (a) levels in systemic lupus erythematosus with myocardial and cerebral infarctions. *J Rheumatol* 1995; 22:1210-11.
 44. Yamazaki M, Asakura H, Jokaji H et al. Plasma levels of lipoprotein (a) are elevated in patients with the antiphospholipid syndrome. *Thromb Haemost* 1994; 71:424-7.
 45. Borba EF, Santos RD, Bonfa E et al. Lipoprotein (a) levels in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 1994; 21:220-3.
 46. Atsumi T., Khamashta MA, Andujar C et al. Elevated plasma lipoprotein (a) level and its association with impaired fibrinolysis in patients with antiphospholipid syndrome. *J Rheumatol* 1998; 25:69-73.
 47. Ohkura N, Hagihara Y, Yoshimura T, Goto Y, Kato H. Plasmin can reduce the function of human β 2 glycoprotein I by cleaving domain V into a nicked form. *Blood* 1998; 91:4173-9.
 48. Horbach DA, vanOort E, Lisman T et al. β (2)-glycoprotein I is proteolytically cleaved in vivo upon activation of fibrinolysis. *Thromb Haemostas* 81:87-95.
 49. Kohl S, Fresser F, Lobentaz E, Baier G, Utermann. Novel intraction of apolipoprotein (a) with β 2-glycoprotein I mediated by the kringle IV

- domain. *Blood* 1997; 90:1482-9.
50. Robbins DL, Leung S, Miller-Blair DJ, Ziboh V. Effect of anticardiolipin/ β 2-glycoprotein I complexes on production of thromboxane A2 by platelets from patients with the antiphospholipid syndrome. *J Rheumatol* 1998; 25:51-6.
51. Forastiero R, Martinuzzo M, Carreras LO, Maclouf J. Anti- β 2 glycoprotein I antibodies and platelet activation in patients with antiphospholipid antibodies: association with increased excretion of platelet-derived thromboxane urinary metabolites. *Thromb Haemost* 1998; 79:42-5.