

## EXPRESION DE FATOR TISULAR Y NIVELES SERICOS DE ANTICUERPOS ANTI LIPOPROTEINA DE BAJA DENSIDAD OXIDADA EN EL SINDROME ANTIFOSFOLIPIDO PRIMARIO.

**INTRODUCCION.** El síndrome antifosfolípido (SAF) es una entidad caracterizada por la asociación de trombosis, tanto arterial como venosa, y/o pérdidas fetales de repetición a la presencia de anticuerpos anticardiolipina (aCL) y/o anticoagulante lúpico (AL). Dicho síndrome puede ocurrir en asociación a enfermedades autoinmunes (SAF secundario) o en ausencia de éstas (SAF primario). Los anticuerpos (Ac) antifosfolípido (AAF) actúan frente a proteínas plasmáticas o complejos de éstas con fosfolípidos. Entre los distintos Ac, aquellos frente a la beta 2-glicoproteína I (AC anti  $\beta$ 2-GPI) y anti protrombina son los más frecuentemente encontrados.

El factor tisular (FT) es una glicoproteína de membrana presente en múltiples células del organismo. Entre sus diferentes propiedades, se considera el principal iniciador de la coagulación in vivo.

Al producirse una modificación oxidativa de la lipoproteína de baja densidad (LDL), ésta, adquiere una serie de propiedades (aumento de la captación de colesterol por los macrófagos, provocación de respuesta inmune y alteraciones a nivel de la pared arterial y de la coagulación) que en conjunto favorecen el desarrollo de aterosclerosis.

**HIPOTESIS.** El suero de pacientes con SAF primario produciría la expresión de FT en monocitos. En el suero de los pacientes con SAF existen Ac anti LDL oxidada (LDL ox).

**OBJETIVOS.** Valorar la presencia de AC anti LDL ox, objetivar la expresión de FT por el suero de pacientes con SAF primario, correlacionar los anteriores parámetros con los Ac característicos de ésta enfermedad y buscar una relación con los episodios trombóticos.

**PACIENTES Y METODOS.** Estudio multicéntrico (Hospital Xeral de Vigo y Vall d'Hebrón de Barcelona) comparativo de casos-control, formado por 35 pacientes con diagnóstico de SAF primario con trombosis vascular y aCL positivo y 40 controles. A todos los sujetos de los distintos grupos se evalúan la presencia de factores de riesgo para trombosis (tabaquismo, hipertensión arterial, obesidad, diabetes mellitus y toma de anticonceptivos orales), aCL, AL, LDL ox, expresión de FT, ANA y anti-DNA. Se recoge plasma y suero y se almacena a  $-70^{\circ}\text{C}$  para la realización de las diversas determinaciones.

**RESULTADOS.** No existieron diferencias con respecto a la edad y sexo entre pacientes y controles. Se registró una mayor incidencia de fumadores, obesos e hipertensos en el grupo control. Entre los controles, únicamente un paciente fue positivo para aCL, alcanzándose una mediana de 27 GPL con una amplitud intercuartil de 35 en los pacientes. Un 88% de los pacientes presentaron valores positivos para Ac anti  $\beta$ 2-GPI, siendo la mediana de 14 con una amplitud de 14; sólo un control fue positivo; las medianas entre los casos con trombosis venosa y arterial fueron de 13,5 y 14, con amplitud de 13 y 17,5 respectivamente. Los valores obtenidos (mediana y amplitud) en los Ac anti LDL ox fueron de 97 OD y 75 OD entre los controles y de 240 OD y 158 OD entre los pacientes ( $p < 0.000$ ); los resultados entre los grupos de trombosis venosa y arterial fueron de 246 OD y 143 OD y 222 OD y 207 OD respectivamente ( $p = 0.29$ ). En la expresión de FT se obtuvo una diferencia significativa con los siguientes resultados (mediana y amplitud): 30 y 7,7% para controles y 48 y 20% para pacientes; los resultados para los sujetos con trombosis venosa fueron de 49,5 y 20,7% y 42 y 21,5% para trombosis arterial. Las correlaciones fueron buenas entre los siguientes parámetros:

aCL vs Ac anti  $\beta$ 2-GPI (0,825), aCL vs Ac anti LDL ox (0,5), Ac anti  $\beta$ 2-GPI vs Ac anti LDLox (0,524).

En el estudio univariante únicamente entraron de forma significativa las siguientes variables al evaluar la trombosis (odds ratio, IC 95%): Ac anti  $\beta$ 2-GPI (9.4; 9.18-9.57), aCL (1.9; 1.8-1.97), Ac anti LDL ox (1.09; 1.08-1.1) y expresión de FT (1.8; 1.63-2.02). Para la trombosis arterial, las variables aCL (1.13; 1.12-1.15) y los Ac anti  $\beta$ 2-GPI (1.13; 1.11-1.15) son las que demostraron validez estadística. En los sujetos con trombosis venosa entraron de manera significativa las mismas variables que para la trombosis con valores similares, excepto para los Ac anti  $\beta$ 2-GPI (1.19). En el estudio multivariante demostró que en aquellos con trombosis sólo los aCL y Ac anti  $\beta$ 2-GPI se validaron con valores similares al modelo simple. En los pacientes con trombosis arterial los aCL alcanzaron significación estadística con valores similares al modelo simple. Los aCL y Ac anti LDL ox se validaron en la trombosis venosa con odds ratio de 1.12 y 1.05 respectivamente.

**CONCLUSIONES.** El suero de pacientes con SAF primario induce la expresión de FT lo que sería el o uno de los mecanismos por los cuales se produciría trombosis. La correlación intermedia entre los aCL y los Ac anti LDL ox induce a pensar en la presencia de dos subpoblaciones de estos últimos Ac: una con epitopos comunes con los aCL (más relacionados con la trombosis venosa, como se demuestra en el estudio de regresión) y otros que no presentan reacción cruzada. Existe una alta prevalencia de Ac anti  $\beta$ 2 GPI, que junto a la elevada correlación con los aCL corrobora los hallazgos de otros autores que son los primeros los verdaderamente patógenos.

#### **TISSUE FACTOR EXPRESSION AND SERIC LEVELS OF OXIDIZED LOW DENSITY LIPOPROTEIN IN THE PRIMARY ANTIPHOSPHOLIPID SYNDROME**

**INTRODUCTION.** Antiphospholipid syndrome (AS) is characterized by the association of thrombosis and/or fetal loss with the presence of anticardiolipin antibodies (ACLA) and/or lupus anticoagulant (LA). This syndrome occurs in association with other autoimmune pathologies (secondary AS) or in an isolated manner (primary AS). The Antiphospholipid antibodies (AAb) act in front of plasmatic proteins or complexes of this with phospholipids. Between the multiples antibodies associated with this syndrome, anti  $\beta$ 2-glycoprotein I ( $\beta$ 2-GPI Ab) and anti prothrombin antibodies are the most frequent encountered.

Tissue factor (TF) is a membrane glycoprotein of multiple cells of the organism. It is considered the main initiator of the coagulation in vivo.

Oxidative modification of low-density lipoprotein (LDL) renders it a variety of properties (a higher accumulation in macrophages, immunogenic properties and coagulation and arterial wall modifications).

**HYPOTESIS.** The serum of patients with primary AS induces the expression of TF on monocyte. Anti LDL oxidized antibodies (LDL ox Ab) are elevated in the serum of patients with primary AS.

**STUDY OBJECTIVE.** To assess the presence of anti LDL ox Ab in the serum of patients with primary AS and the induction of the expression of TF on monocytes. We correlated the previous parameters with the antibodies that characterized this syndrome. We look for a relation with the thrombotic events.

**PATIENTS AND METHODS.** This is a multicenter, comparative and case-control study. It is evaluated 35 patients with the diagnosis of primary AS, characterized by vascular thrombosis and the presence of ACLA

immunoglobulin G, and 40 controls. We evaluate the presence of thrombosis risk factors (smoking, arterial hypertension, obesity, diabetes mellitus and oral anticonceptive use), ACLA, AL, anti LDL ox Abs, expression of TF, ANA and anti-DNA. Plasma and serum samples was collected from each subject and stored at  $-70^{\circ}\text{C}$  for laboratory test.

**RESULTS.** There were no differences between patients and controls with respect to age and sex. There was a higher incidence of smokers, obesity and arterial hypertension in the control group. Only one control was positive for ACLA; in the patient group the median was 27 GPL with amplitude of 35. Anti  $\beta$ 2-GPI Abs were positive in 88% of patients with a median of 14 and an amplitude of 14; one control was positive; between patients with venous and arterial thrombosis the values were 13,5 and 14 (median). The values (median and amplitude) of anti LDL ox Abs were 97 OD and 75 OD in the control group and 240 OD and 158 OD in the primary AS group ( $p < 0,000$ ); there were no statistical difference between venous and arterial thrombotic groups. The values of expression of TF were 30% and 7,7% in the control group and 48% and 20% in the patients group (median and amplitude); the results (median and amplitude) in the venous thrombotic patients were 49,5% and 20,7% and 42 and 21,5% in the arterial thrombotic subjects.

Correlations were elevated between the following parameters: ACLA vs anti  $\beta$ 2-GPI Abs (0,825), ACLA vs anti LDL ox Abs (0,5) and anti  $\beta$ 2-GPI Abs vs anti LDL ox Abs (0,524).

When we evaluated thrombotic events, the following variables were significant in the univariate analysis (odds ratio; confidence interval 95%): anti  $\beta$ 2-GPI Abs (9,4; 9,18-9,57), ACLA (), anti LDL ox Abs () and Expression of TF (). ACLA () and anti  $\beta$ 2-GPI () were validated in the arterial thrombotic group. The same variables than in the thrombotic group were validated in the venous thrombotic events with similar values except for anti  $\beta$ 2-GPI (1,19).

The multivariate analysis showed that ACLA and anti  $\beta$ 2-GPI Abs were the only variables validated with values similar obtained in the univariate analysis. ACLA were validated in the arterial thrombotic group. ACLA and anti LDL ox Abs were validated in the venous thrombotic group with an odds ratio of 1,12 and 1,05 respectively.

**CONCLUSIONS.** Serum of patients with primary SAF induces the expression of TF on monocytes; this is probably the mechanism of thrombotic events in this syndrome. The correlation encountered between ACLA and anti LDL ox Abs take us to think that exist two populations of these last antibodies: one population with commune epitopes with ACLA (these antibodies were more related with venous thrombotic events) and another without cross-reaction. There were a great prevalence of anti  $\beta$ 2-GPI Abs and a great correlation with ACLA; these findings support the concept that the first antibodies were the pathogenic.