

Lek. Weronika Nowak

„Zaburzenia fibrynogenu u chorych na szpiczaka mnogiego i ich wpływ na krzepnięcie krwi i fibrynolizy z uwzględnieniem stresu oksydacyjnego.”

STRESZCZENIE

Ostatnie badania wskazują na znaczącą rolę stanu zapalnego oraz stresu oksydacyjnego w patogenezie żylniej choroby zakrzepowo- zatorowej. Modyfikacje potranslacyjne białek wywołane działaniem stresu oksydacyjnego (oksydacja, nitracja) wpływają powstawanie skrzepu. Fibrynogen, który jest zarówno białkiem ostrej fazy jak i substratem dla powstającej fibryny, jest szczególnie podatny na modyfikacje. Prawdopodobnie pełni on rolę antyoksydacyjną w stosunku do innych białek, chroniąc je przed uszkadzającym działaniem stresu oksydacyjnego. Modyfikacje zachodzące w cząsteczce fibrynogenu powodują zmiany w procesie polimeryzacji oraz właściwościach wiskoelastycznych powstałego skrzepu. Zmiany te są zależne od zakresu, lokalizacji i rodzaju modyfikacji (oksydacyjne/nitracyjne) zachodzących w cząsteczce.

W szpiczaku mnogim, klonalnym nowotworze wywodzącym się z limfocytów B, stwierdzono zwiększone ryzyko wystąpienia żylniej i tętniczej choroby zakrzepowo-zatorowej. Jednocześnie w chorobie tej obserwuje się zwiększone stężenie cytokin prozapalnych oraz markerów stresu oksydacyjnego. Zaś dotychczasowe badania wskazują iż u pacjentów ze szpiczakiem skrzep zbudowany jest z cienkich, gęsto ułożonych włókien, jest sztywny, nieprzepuszczalny oraz wykazuje zwiększoną oporność na lizę. Właściwości te wskazują na prozakrzepowy fenotyp skrzepu.

Badanie pilotażowe wykazało iż u pacjentów z nowo zdiagnozowanym szpiczakiem, przed włączeniem leczenia występują nieprawidłowości w parametrach ROTEM, świadczące o występowaniu u tych pacjentów stanu nadkrzepliwości. Ponadto chorzy ci mieli podwyższone parametry stresu oksydacyjnego, stężenie grup karbonylowych, w porównaniu z osobami zdrowymi z grupy kontrolnej. Badanie było kontynuowane, ale zostało poszerzone o dodatkowe markery stresu oksydacyjnego.

W badaniu oceniono parametry ROTEM i markery stresu oksydacyjnego (grupy karbonylowe, trójnitrotyrozynę) u 47 nowo zdiagnozowanych pacjentów ze szpiczakiem mnogim przed rozpoczęciem leczenia (mediana wieku 66,8, zakres 27-85 lat), 14 pacjentów po leczeniu oraz 30 zdrowych ochotników z grupy kontrolnej. Ponadto oceniono dodatkowe parametry stresu oksydacyjnego, takie jak tiolety, TBARS oraz stężenie znitrowanego fibrynogenu w grupie 21 nowo zdiagnozowanych chorych oraz u 23 osób z grupy kontrolnej.

Badanie to wskazuje na występowanie stanu nadkrzepliwości u nowo zdiagnozowanych chorych ze szpiczakiem mnogim przed rozpoczęciem leczenia. Na stan nadkrzepliwości wskazują parametry ROTEM tj. skrócenie CFT (w testach APTEM i EXTEM) i zwiększenie kąta alfa (w testach FIBTEM, EXTEM, APTEM). Ponadto stwierdzono zwiększenie spójności skrzepu w teście FIBTEM (A5, A10, A15, A 20, A25 and MCF), co może świadczyć o zwiększonej sztywności skrzepu. Parametry lizy skrzepu nie różniły się znacząco pomiędzy chorymi a grupą kontrolną we wszystkich testach ROTEM. Jednakże w badaniu turbodimetrycznym obserwowano zwiększoną prędkość lizy w porównaniu ze zdrową kontrolą.

Stężenie znitrowanego fibrynogenu oraz zawartość grup karbonylowych w osoczu była znacząco wyższa w grupie pacjentów. Co więcej stężenie znitrowanego fibrynogenu korelowało z określonymi parametrami ROTEM (A5, A10, A15, A 20, A25, CFT, MCF, alfa, korelacje były dodatnie, z wyjątkiem CFT), świadczącymi o obecności stanu nadkrzepliwości oraz zwiększonej spójności skrzepu. Stężenie innych markerów stresu oksydacyjnego (trójnitrotyrozyny, tioli, TBARS) nie różniło się znacząco pomiędzy grupami.

Podsumowując, badanie to wskazuje na bezpośredni związek pomiędzy występowaniem stresu oksydacyjnego a obecnością stanu nadkrzepliwości u pacjentów ze szpiczakiem mnogim. Jednocześnie badanie to nie potwierdza zależności przyczynowo- skutkowej pomiędzy znitrowanym fibrynogenem a właściwościami wiskoelastycznymi powstającego skrzepu. Patogeneza stanu nadkrzepliwości u tych pacjentów jest złożona, a udział stanu zapalnego oraz stresu oksydacyjnego, jest jednym, lecz nie jedynym czynnikiem mającym wpływ na jego występowanie.

ABSTRACT

Recent studies suggest a significant role of inflammation and oxidative stress in the pathogenesis of venous thromboembolic disease. Oxidative and nitrative modifications of plasma protein influence clot formation. The most susceptible protein for such modification is fibrinogen, [acute phase protein](#) which is substrate for fibrin formation and which plays antioxidant role for other proteins. Modification of fibrinogen leads to changes in polymerization and viscoelastic properties. Alterations depend on the extent, localization and type of modification (oxidative or/and nitrative).

Multiple myeloma, a clonal B-cell malignancy, is associated with increased risk of venous and arterial thromboembolism. It has been demonstrated that in multiple myeloma the levels of proinflammatory cytokines and markers of oxidative stress are increased. Furthermore, previous studies demonstrated that MM patients have dense clots composed of thin fibers, rigid, impermeable and resistant to lysis. Such clot properties testify to prothrombotic phenotype of clot.

An earlier pilot study showed that at the time of diagnosis the patients with MM had alterations in ROTEM parameters, a sign of hypercoagulability, as well as elevated oxidative stress markers as compared to healthy volunteers, reflected in a higher amount of carbonylated protein. The study was continued, however supplemented by the use of additional oxidative stress biomarkers.

In the study 47 samples collected from newly diagnosed patients with MM (median age 66,8 years; range 27-85 years) before treatment, 14 from patients after treatment and 30 from healthy volunteers were assessed by ROTEM parameters and stress biomarkers (carbonyl groups, 3-nitrotyrosine). Furthermore, in the group of 21 patients before treatment and 23 healthy volunteers additional stress biomarkers such as thiols groups, TBARS and nitrated fibrinogen were assessed.

The study revealed prothrombotic state in newly diagnosed patients with multiple myeloma prior to treatment commencement. ROTEM parameters such as shortening of CFT(APTM, EXTEM) and increased α -angle (APTEM, FIBTEM, EXTEM) indicate hypercoagulability. Furthermore parameters marking clot firmness were elevated in FIBTEM test: A5, A10, A15, A 20, A25 and MCF, which may be due to increased gel stiffness. Clot lysis parameters did not differ significantly between the cohorts of patients and healthy volunteers according to all ROTEM tests. However in turbidimetric test we observed a higher velocity of clot lysis in the group of MM patients compared to controls.

The nitrated fibrinogen and carbonyl group content in plasma proteins were significantly higher in patients than in controls. Moreover, nitrated fibrinogen correlated with certain ROTEM parameters: A5, A10, A15, A 20, A25, CFT, MCF, α (correlation was positive except for CFT). In contrast, the concentration of nitrated proteins, thiol groups, TBARS did not differ markedly from healthy volunteers.

In conclusion, the study demonstrates a direct link between oxidative stress and hypercoagulative state in patients with multiple myeloma. Equally, our study

does not confirm the causal relationship between nitrated fibrinogen and viscoelastic properties of a clot. The pathogenesis of hypercoagulable state in multiple myeloma is complex, and involvement of inflammation and oxidative stress is probably one of, but not the only factor that may have impact on it.