THE ROLE OF ANTI-PHOSPHOLIPID SYNDROME AUTOANTIBODIES IN CIRCULATORY SYSTEM AND CARDIO-CEREBRO- VASCULAR DISEASES

A Thesis submitted

By

Hisham Yousif Mohammed Ali

M.B.;Ch.B, M.Sc.

To

The Council of the College of Medicine

University of Mosul

In partial fulfillment of the requirements for

Doctor of Philosophy Degree

In

Microbiology/Bacteriology

Supervised By

Prof. Dr. Zainalabideen A. Abdullah

2006 A.C. **1427 A.H.**

ABSTRACT

Objectives: 1.To study the role of anti-phospholipid autoantibodies among circulatory system and cardio- cerebro- vascular events in patients under 50 years of age. 2. To identify the types and effective isotype of some important antiphospholipid antibodies which are lupus anticoagulant (LA), anticardiolipin (aCL), anti-beta2 glycoprotein I dependent (anti- β 2-GPI), and anti-phosphatidyl serine (aPS) in the studied diseases. 3. To find out any concomitant effect of autoantibodies not specific to antiphospholipid syndrome in particular antinuclear antibody (ANA), rheumatoid factor (RF), and anticardiolipin of Venereal Disease Research Laboratory (VDRL) test. 4. To find out the prevalence rate of any associated cases of thrombocytopenia (TP) as a subsequent effect of these autoantibodies. 5- To correlate the results of the elements studied with the serum concentration of both C reactive protein (CRP) and C4 complement.

Subjects and Methods: This study was carried out on 150 patients and 30 healthy individuals as a control. The patients were suffering from different cardiac, cerebral, and arterial or venous thromboembolic events attending mainly the Teaching and General Hospitals in Mosul, Dohuk, and Erbil Cities, during the period between 1st March 2004 and 1st March 2005. The studied cases were under 50 years of age, and had no recognizable risk factors and were not diagnosed previously as systemic lupus erythematosus. The cases were categorized into 3 main groups. The first consisted of 50 patients with deep vein thrombosis of the legs (DVT), the second included 50 patients with stroke and/or TIAs, and the third enrolled 50 patients with myocardial infarction and/or angina. The activated partial thromboplastin time (APTT) was used for LA estimation and ELISA assay was used to test for aCL (IgG& IgM), aβ 2-GPI (IgG & IgM), and aPS (IgG & IgM). The ANA, RF, VDRL, CRP, and C4 complement component were tested by different immunoserological methods. The thrombocytopenic status was diagnosed by estimation of platelets counts.

Results: The DVT related to APS was diagnosed in 21/50 (42%) of patients and the correlation was significant with the LA ($P < 0.05$), total IgG aCL isotype ($P < 0.025$), and IgG a β 2-GPI ($P < 0.025$) while, the correlation was lacking for IgG aPS. The strokes and/or TIAs related to APS were diagnosed in 22/50 (44%) of patients and a significant correlation was reported among patients with IgG plus IgM aCL ($p< 0.05$), IgG aβ 2-GPI ($p< 0.05$), and IgG aPS ($p< 0.05$). The cases of MI and/or angina related to APS were diagnosed in 20/50 (40%) and a significant association was found with IgG aCL isotype (concentrations

above 30 units/ml), IgG aβ 2-GPI ($p< 0.025$), and IgG aPS ($p< 0.05$).On the other hand, the correlation was lacking for IgM isotype of all the APLAs tested in the studied patients. Different combined profiles of APLAs were detected, but the aCL plus aβ 2-GPI was the predominant profile detected in 20% of cases with DVT and in 18% with stroke and MI and/or angina respectively. It was found that high CRP levels (≥ 12 mg/l) were significantly ($p < 0.05$) detected among APLAs positive patients than in negative ones. The raised CRP concentrations were reported in 23.8% APLAs patients with DVT events, 36.4% stroke and/or TIAs, and 40% premature coronary events. In addition, cases with TP status were diagnosed in 19% DVT patients, 22.7% stroke and/or TIAs, and 30% MI and/or angina. The ANA positive test was detected in APLAs patients with DVT (14.3%), stroke and/or TIAs (22.7%), and MI and/or angina (15%). Moreover, the RF positive test was recorded in APLAs patients who suffered from DVT (14.3%), stroke (13.6%), and MI and/or angina (10%). Among APLAs patients, low C4 levels were estimated in14.3% of DVT, 13.6% stroke, and 15% MI and/or angina cases. The FP-VDRL test was found in 38.1% DVT and APLAs positive test, 50% stroke, and 40% MI and/or angina patients.

Conclusions: The LA, aCL, and aβ 2- GPI were found to be the predominant antibodies in DVT patients. The aCL, aβ 2- GPI, and aPS antibodies have shown to play a significant role in the development of stroke and/or TIAs while, aβ 2-GPI and aPS antibodies play a significant role in MI and/or angina events. The IgG class of all the APLAs was found to be the effective isotype. In APLAs positive patients, the ANA and RF positive tests and low C4 levels were detected in some cases and may represent active disease forms with risk of recurrences or evolving cases into other autoimmune disorders. Therefore, a panel testing for APLAs specific and non-specific parameters in suspected patients is a prudent for the diagnosis of this syndrome.

دور الأجسام المضادة الذاتية لمتلازمة الدهون الفوسفاتية في أمراض جهازالدوران والقلب والدماغ والأوعية الدموية

رسالة تقدم بها

هشام يوسف محمد علي

إلى
مجلس كلية الطب في جامعة الموصل
وهي جزء من متطلبات شهادة الدكتوراه فلسفة

في
الأحياء المجهرية (جراثيم)

بأشراف
الأستاذ الدكتور
زين العابدين عبد العزيز عبد الله

١٤٢٦ هـ **2006 م**

الأهداف: ١- دراسة دور الأجسام المضادة الذاتية لمتلازمة الدهون الفوسفاتية في حدوث أمراض جهاز الدوران والقلب والدماغ والأوعية الدموية. ٢- تحديد النوع المؤثر من الأجسام المضادة وهي مانع التخثر الذؤابي (LA) , المضادات للدهون القلبية (aCL) , و الأجسام المضادة البيتا كليكوبروتين (aβ 2-GPI), و المضادات للفوسفاتيدل سيرن (aPS) . ٣- معرفة مدى تأثير الأجسام المضادة الذاتية الأخرى مثل مضادات النواة (ANA) , العامل الرثوي (RF) , وفحص السفلس (VDRL) . ٤- إيجاد نسبة تواجد حالات نقص الأقراص الدموية المتلازمة مع هذه الأجسام المضادة للدهون الفوسفاتية. ٥- دراسة العلاقة بين تواجد هذه الأجسام المضادة مع التركيز المصلي للبروتين الغعال- س (CRP) والجزء الرابع (C4) .

المشاركون و طرق البحث: أجريت هذه الدراسة خلال الفترة من ٢٠٠٤/٣/١ ولغاية ٢٠٠٥/٣/١ وشملت ١٥٠ مريضا مصابا بأزمات قلبية ودماغيه وتخثر الأوعية الدموية للساق و ٣٠ شخصا سليما كمجموعة ضابطة. تم جمع العينات من المستشفيات التعليمية لمدن الموصل, دهوك, واربيل. المرضى الذين شملتهم الدراسة كانت أعمارهم تحت سن الخمسين سنة وليست لديهم عوامل خطورة للإصابة بهذه الأزمات ولم يكونوا مصابين بداء الذئبة الأحمراري. تم تقسيم المرضى إلى ثلاث مجاميع. الأولى تضمنت ٥٠ مريضا مصابا بتخثر الأوعية الدموية للساق , الثانية تكونت من ٥٠ مصابا بنوبات السكتة الدماغية, والثالثة كانت مكونة من ٥٠ مصابا بأزمات قلبية مثل احتشاء العضلة القلبية و الذبحة الصدرية. تم إجراء الدراسة على عينات من البلازما واستخدمت APTT لفحص مانع التخثر الذؤابي (LA) ومصل الدم لبقية الفحوصات السيرواوجية والمناعية . استخدم فحص المقايسة الأنزيمية المناعية لقياس كمية و نسبة المضادات للدهون الفوسفاتية, وفحص اللاتيكس التلازني لقياس تركيز مضادات النواة والعامل الرثوي والبروتين الفعال- س , وفحص الانتشار المناعي لقياس تركيز الجزء الرابع (C 4).

النتائج: شخصت متلازمة الدهون الفوسفاتية لدى ٥٠/٢١ (٤٢٪) من المرضى المصابين بتخثر الأوعية الدموية للساق وتبين وجود زيادة معنوية لكل من عامل مانع التخثر الذؤابي (ب < ٥. و.), الأجسام المضادة- ج للمضادات القلبية (ب < ٥ ٢. و.) والبيتا ٢ كليكوبروتين (ب < ٥ ٢. و.) . و تم تشخيص هذه المتلازمة لدى ٥٠/٢٢ (٤٤٪) من المرضى المصابين بأزمات السكتة الدماغية مع تواجد علاقة معنوية مع نسبة الأجسام المضادة نوع ج + م للمضادات القلبية (ب < ٥. و.), والبيتا ٢ كليكوبروتين (ب < ٥. و.), والمضادات للفوسفاتيدل سيرين (ب < ٥. و.). وكذلك شخصت المتلازمة عند ٥٠/٢٠ (٤٠٪) من حالات متلازمة الدهون الفوسفاتية لدى المرضى المصابين باحتشاء العضلة القلبية والذبحة الصدرية وسجلت زيادة معنوية بالنسبة للأجسام المضادة ج البيتا ٢ كليكوبروتين (ب < ٥ ٢. و.) والفوسفاتيدل سيرن (ب < ٥. و.). لم تسجل علاقة معنوية بالنسبة للأجسام المضادة م لوحدها بالنسبة للأجسام المضادة للدهون الفوسفاتية التي تم قياسها لدى جميع المرضى الذين شملتهم الدراسة. تم الكشف عن أنواع مختلفة من مترابطات الأجسام المضادة للدهون الفوسفاتية, لكن الأكثر شيوعا كانت مضادات الدهون القلبية + مضادات البيتا ٢ كليكوبروتين والتي كانت متواجدة لدى ٢٠٪ من المصابين بتخثر الأوعية الدموية, ١٨٪ من المصابين بنوبات السكتة الدماغية والأزمات القلبية على التوالي. و لوحظ

ارتفاع تركيز البروتين الفعال– س (≤ ١٢ ملغ/لتر) سجلت مع زيادة معنوية (ب < ٥. و.) لدى المرضى موجبي المضادات الفوسفاتية مقارنة مع المرضى سالبي المضادات والمصابين

بنوبات السكتة الدماغية والقلبية (ب < ٥. و.) ومقارنة مع المجموعة الضابطة. ارتفاع هذه البروتينيات سجلت لدى ٨و٢٣ % من مرضى تخثر الأوعية الدموية للساق, ٤و٣٦ % من حالات أزمات السكتة الدماغية, و ٤٠٪ من النوبات القلبية. إضافة إلى ذلك حالات نقص الأقراص الدموية شخصت لدى ١٩٪ من المصابين بتخثر الساق, ٧و٢٢ % من السكتة الدماغية, و ١٥٪ من حالات الأزمات القلبية. إيجابية فحص مضادات النواة سجلت لدى ٣و١٤ % من مرضى المجموعة الأولى, ٦و١٣ % من المجموعة الثانية, و ١٠٪ من المجموعة الثالثة. إما إيجابية فحص العامل الرثوي كانت بنسبة ٣و١٤ % من مرضى التخثر, ٦و١٣ % من نوبات السكتة الدماغية, و ١٥٪ من النوبات القلبية. وكذلك سجلت حالات ذات انخفاض ملموس في تركيز الجزء الرابع عند ٣و١٤ % من مرضى المجموعة الأولى, ٦و١٣ % من المجموعة الثانية, ١٥٪ من المجموعة الثالثة. وتم الكشف عن حالات الموجبة الكاذبة لفحص السفلس (FP-VDRL) لدى ١و٣٨ % من حالات التخثر, ٥٠٪ لدى حالات أزمات السكتة الدماغية, و ٤٠٪ لدى مرضى النوبات القلبية.

الاستنتاجات: ان مضادات مانع التخثر الذؤابي, المضادات القلبية, و مضادات البيتا ٢ كليكوبروتين لهل دور معنوي في حدوث حالات تخثر أوعية الساقين , بينما المضادات القلبية والبيتا ٢ كلوبيولين والفوسفاتديل سيرين لها دور فعال في حدوث نوبات السكتة الدماغية. كذلك تبين بان مضادات البيتا ٢ كليكوبروتين والفوسفاتيدل سيرين لها دور أساسي في حدوث الأزمات القلبية. تم الكشف بان الأجسام المضادة ج للمضادات للدهون الفوسفاتية له دور أساسي في حدوث هذه الأزمات. إيجابية الأجسام المضادة للنواة , العامل الرثوي, وانخفاض في تركيز الجزء الرابع سجلت لدى قسم من المرضى. نستنتج من هذه الدراسة بأنه يجب إجراء عدة فحوصات للأجسام المضادة الخاصة للدهون الفوسفاتية واختبارات أخرى ذات علاقة لدى المرضى المشتبه إصابتهم بهذه المتلازمة للوصول إلى التشخيص الدقيق.