

t-PA y PAI en pacientes afectos de Síndrome de Raynaud en tratamiento con un análogo estable de la prostaciclina*

Paolo Pola - Demetrio de Martini - Laura Gerardino

Divisione di Angiologia. Cattedra di Metodologia Clinica Medica.
(Director: Paolo Pola).
Università Cattolica del Sacro Cuore. Roma (Italia)

RESUMEN

Se efectúa un estudio con el intento de correlacionar el restablecimiento de la actividad fibrinolítica local con las manifestaciones clínicas en pacientes con Fenómeno de Raynaud. Sabemos que tal sistema está influenciado por las variaciones de sus componentes debidos a factores endógenos y exógenos. Entre ellos tienen importante papel el t-PA y el PAI-1. El u-PA, por contra, no presenta modificaciones. Para estas pruebas, las muestras han sido recogidas todas a la misma hora, aproximadamente a la mitad de la mañana. Hemos observado que la mejoría clínica se corresponde con el aumento de la actividad fibrinolítica en los fenómenos de Raynaud tratados con un análogo estable de la Prostaciclina.

SUMMARY

An study was made in order to determinate the relationship between the restauration of the local fibrinolitic activity and the clinical signs in patients with a Raynaud's Phenomenon. It is known that local fibrinolitic activity is a system influenced by changes into its components produced by exogenous and endogenous factors. An important role is represented by the t-PA and PAI-1. On the contrary, u-PA doesn't change. Samples were all taken at the same time, approximately at the middle of the morning. In patients with Raynaud's Phenomenon treated with a Prostacilin stable analogous, we have perceived a clinical improvement, corresponding with a fibrinolitic activity increase.

Introducción

El sistema fibrinolítico está constituido por factores plasmáticos, endoteliales y plaquetarios, cuyo papel

es mantener la permeabilidad e integridad de la circulación arterial y venosa, equilibrando la bilancia hemostática con mecanismos específicamente antagonistas en relación a los coagulativos. El sistema viene regulado en su interior por una articu-

lada interacción entre factores activadores (t-PA, u-PA) e inhibidores (PAI-1, PAI-2, alfa-2-antiplasmina) dedicados al control de la transformación del plasminógeno en plasmina.

La actividad fibrinolítica del plasma resulta influenciada negativamente por diversos factores exógenos y endógenos, como la edad, el fumar, la hipertensión arterial, la obesidad, la hiperlipidemia, la diabetes mellitus, la escasa actividad física, la terapéutica estrogénica, los cuales, también a través de esta vía asumen el papel de factores de riesgo colaborando a la aparición y evolución de patologías vasculares a nivel cerebral, coronario y periférico (8, 11).

Una reducción de la actividad fibrinolítica local también parece envuelta en el determinismo de algunas patologías de la microcirculación. Ello ha sido, en efecto, de modo suficientemente demostrado en pacientes afectos de Síndrome de Raynaud por enfermedades del conectivo (5, 10, 12) y, con datos menos unívocos, en sujetos con Enfermedad de Raynaud primitiva (10). La diversidad de resultados obtenidos en esta patología cabe atribuirla, probablemente, a la complejidad de los mecanismos patogénicos basales, sobre los cuales del resto existe todavía mucha incertidumbre y que no siempre consienten ser relacionados con las eventuales variaciones fibrinolíticas locales.

Desde el momento en que un importante papel en el mecanismo de activación y regulación de la fibrinó-

* Traducido del original en italiano por la Redacción.

lisis local es, probablemente, desarrollado por prostanoides endógenos, entre ellos en particular la prostaciclina, nos ha parecido útil emplear un derivado estable de dicha sustancia a fin de influir sobre los mecanismos de acción en la base del angiopasmo.

Estas adquisiciones, si reflejan una responsabilidad y patogénica del sistema fibrinolítico en el determinismo de estas manifestaciones, permiten creer que la recuperación de una normal actividad fibrinolítica puede influir favorablemente sobre las manifestaciones angiospásticas (2, 6, 14).

Por tanto, a fin de contribuir a definir la relación entre fibrinólisis y síndromes vasospásticos, hemos efectuado un estudio sobre pacientes afectos de fenómeno de Raynaud primitivo o secundario, efectuando la dosificación de la actividad plasmática del t-PA y del PAI en condiciones basales, durante y tras tratamiento con un análogo estable de la prostaciclina.

Pacientes y métodos

Se han estudiado 14 pacientes con fenómeno de Raynaud internados en la Divisione di Angiologia dell'Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma, en 10 casos de tipo primitivo y en 4 secundario a Esclerosis Sistémica Progresiva (ESP). En todos los pacientes el inicio de la sintomatología era de algo más de dos años, en su mayor parte en edad juvenil. La edad media de los sujetos examinados, un hombre y trece mujeres, era de 48,35 años (rango 34-72). Entre ellos uno fumaba unos 15 cigarrillos al día, 3 eran fumadores ocasionales, 2 exfumadores y los 8 restantes no habían fumado jamás.

Las manifestaciones clínicas estaban representadas en un caso por una acrocanosis grave, en dos casos por lesiones tróficas distales (necrosis parcelaria de las yemas digitales), en cinco casos por persistente reducción de la temperatura cu-

tánea en la extremidad, crisis angiospásticas de repetición diaria y aparición espontánea o provocada por variaciones incluso mínimas de la temperatura externa; en los 7 casos restantes las condiciones basales eran normales, con episodios isquémicos típicos a continuación de exponerlos a bajas temperaturas.

Todos los pacientes había efectuado antes tratamiento convencional con calcioantagonistas y otros fármacos vasoactivos, sin obtener, sin embargo, beneficio alguno.

Tras un «wash-out» farmacológico, al menos de una semana, los pacientes han sido sometidos a tratamiento con un análogo estable de la Prostaciclina (Iloprost, gentilmente cedido por Shering s.p.a., que agradecemos), a la dosis de 0,5-2 ng/kg./min., según la tolerancia individual, administrado por vía endovenosa en infusión diaria continua graduada en una duración de 6 horas. El tratamiento se ha prolongado en una media de 18,7 días (rango, 14-29).

Antes del inicio del tratamiento se han efectuado, entre otros, los siguientes exámenes: oximetría transcutánea a nivel del dorso de la mano en la proximidad de los dedos, fotopletismografía de los dedos de las manos de base y tras «cold-test, TAP, PTT, fibrinogenemia, examen hemocromocitométrico con fórmula leucocitaria y plaquetaria, VES, dosaje de la actividad plasmática del t-PA y del PAI-I. En los casos de ESP se ha determinado además, el fenómeno L.E., la crioglobulinemia, las fracciones de las inmunoglobulinas plasmáticas, los anticuerpos anti-DNA, anti-núcleo, anti-músculo liso, anti-mitocondrio.

A la mitad del ciclo de tratamiento se ha efectuado una monitorización fotopletismográfica y de la tensión transcutánea de oxígeno en toda la duración de la infusión del Iloprost y en las seis horas sucesivas en un total de doce horas.

Al final del ciclo terapéutico se han repetido la plethysmografía y la oximetría de control.

En el 7º y en el 14º día de tratamiento se han obtenido muestras de sangre para el dosaje de la actividad plasmática del t-PA y del PAI-I.

Estas últimas determinaciones han sido seguidas siempre por la obtención venosa por la vena antecubital tras un minuto de estasis, efectuado en todos los pacientes a media mañana, al menos tras ocho horas de abstinencia de fumar, recogida en una probeta siliconada conteniendo 0,1 ml. de Citrato sódico (en la proporción de 9:1). Un mililitro de la muestra ha sido acidificado en los dos minutos de la obtención mediante la unión de un mililitro de Acetato Buffer y centrifugado en dos minutos a la temperatura de 4°C y velocidad de 3.000 giros por 20 minutos. Lo flotante así obtenido ha sido recogido en microcubetas que contenían ácido clorhídrico 1 Molar, en la proporción de 15 partes a una e inmediatamente congelado a -20°C. Las muestras obtenidas se han conservado no más de tres meses antes de la dosificación. Esto se ha efectuado con técnicas basadas en substratos cromogénicos y lectura espectrofotométrica a 45 mm de longitud de onda (kit COA-SET de la Kabi diagnóstica). Todas las determinaciones se han efectuado dos veces a la vez sobre la misma muestra y el resultado considerado se ha obtenido de la media de ambos valores.

Resultados

Todos los pacientes han cumplido el tratamiento previsto de los días, que en algunos casos ha sido prolongado cerca de dos semanas más. Los efectos colaterales han sido de escasa entidad en la mayor parte de los pacientes (enrojecimiento de la cara con cefalea intermitente) y sólo en dos casos se han caracterizado por náuseas seguidas de vómito, por

Tabla I

Caso	Edad	tpab	tpa7	tpa14	paib	pai7	pai14	fib	pia
1	45	4,8	4,1	5,1	60	51,7	28	233	252
2	34	2,8	2,4	8	58,6	44,8	11,5	434	312
3	51	2,6	3,3	4,4	54,7	54	28	366	194
4	45	7,5	7,6	8,1	34,6	0	0	264	335
5	34	1,4	4,4	6,3	62,3	45,9	24,6	269	190
6	37	0,12	4,8	5,7	68,5	31,5	0	431	246
7	39	1,2	1	1,6	57,8	56	63,3	304	262
8	63	0,8	1,8	5,2	60,5	50,4	34,2	270	181
9	72	4,5	3	4,9	65,2	57	78,1	394	226
10	43	6,4	8,6	9,4	23,8	25,5	0,17	276	174
11	52	6,9	6,1	9,2	55,3	57,8	29,4	337	136
12	44	0,84	1,2	1	7,8	4,9	3,4	333	236
13	68	0,37	0	2,32	1,7	0	0	353	108
14	50	0,31	0,38	0,40	6,9	5,2	0	329	318
NO.	14	14	14	14	14	14	14	14	14
MEAN	48,35715	2,895715	3,477143	5,115715	44,12143	34,62143	21,47643	328,071	233,571
MED	45,00000	2,000000	3,150000	5,150000	56,55000	45,35000	18,05000	331,000	231,000
SDEV	12,02950	2,635713	2,636243	2,960314	24,06872	23,00716	24,80723	63,01583	58,75859

En esta Tabla, están indicados caso por caso los valores de t-PA basal (tpab), al 7.º día del tratamiento (tpa7) y al 14.º día (tpa14), los niveles de PAI basal (paib), al 7.º día (pai7) y al 14.º día de tratamiento (pai14); estos datos vienen dados en Unidades Internacionales. Se indican, además: la edad de cada paciente, el valor del fibrinógeno hemático (fib) en mg/dl y el recuento de plaquetas (pia) ($\times 10^9$). En cada uno de estos datos se ha calculado la media, la mediana y la desviación «Standard».

otra parte solucionados ambos por la reducción de la velocidad de infusión del fármaco. En paciente alguno se han observado manifestaciones de tipo hemorrágico ni modificaciones significativas de los parámetros de la crisis sanguínea y de la función hepática y renal.

Los exámenes efectuados en condiciones basales (examen hemocromocitométrico con fórmula leucocitaria, recuento de plaquetas y fibrinogenemia) han mostrado valores dentro de los límites de la normalidad, excepto dos casos en los que el valor del fibrinógeno hemático superaba los 400 mg/dl. En los pacientes afectos de ESP los exámenes inmunológicos efectuados sólo han demostrado una positividad de los anticuerpos anti-núcleo (con «pattern» groseramente punteado); en estos casos la determinación de la

VES ha dado valores superiores a los límites normales (media 35,2, rango 10-66).

La monitorización fotopletismográfica durante la infusión de Iloprost ha demostrado un aumento de la amplitud de la onda esfígmica en doce sujetos sobre catorce; incremento que se prolongaba varias horas tras el término del tratamiento, con masiva evidencia en torno a la III-IV.ª hora. Al mismo tiempo ha sido posible observar una mejoría en la presión parcial transcutánea del oxígeno en cinco sujetos sobre seis, que presentaban alteraciones de tales valores en la oximetría basal. Estos resultados han sido confirmados luego en el control fotopletismográfico y oximétrico efectuado al término del ciclo terapéutico.

La actividad del t-PA ha resultado como media (Tabla I):

- en condiciones basales 2,89 U.I. (D.S.: 2,63)
- al 7.º día de tratamiento 3,74 U.I. (D.S.: 2,63)
- al 14.º día de tratamiento 5,11 U.I. (D.S.: 2,96).

Este último valor ha resultado estadísticamente significativo* tanto en la confrontación basal ($p < 0,05$) como en la del primer control ($p < 0,05$).

Los valores medios de actividad del PAI-1 han sido (Tabla I):

- en condiciones basales 44,12 U.I. (D.S.: 24,06)
- al 7.º día de tratamiento 34,62 U.I. (D.S.: 23,00)
- al 14.º día de tratamiento 24,47 U.I. (D.S.: 24,80).

Son resultados significativos* estadísticamente ($p < 0,05$) la diferen-

* El análisis estadístico se ha efectuado utilizando el «test» del *t* de Student por datos emparejados.

cia hallada entre el valor del primer control y el basal ($p < 0.05$), así como el resultado del segundo control, tanto en la comparación del basal ($p < 0.05$) como del primer control ($p < 0.05$).

Mas precisamente por cuanto se refiere al PAI-1, en 11 casos las tres determinaciones han evidenciado una constante reducción de los valores del control basal al final del tratamiento, en 2 casos un aumento aunque modesto y en un sujeto afecto de ESP una sustancial ausencia de variaciones. Análogamente, los valores del t-PA en 11 casos han mostrado un aumento del control basal al final del tratamiento (aumento que, por otra parte, ha sido de escasa entidad en 4 sujetos, uno de los cuales afecto de ESP), en dos pacientes no se han presentado modificaciones significativas y en un sujeto afecto de esclerodermia sólo un discreto aumento.

En 11 casos las tres determinaciones han evidenciado una constante reducción de los valores del PAI-1 del control basal al final del tratamiento y un aumento de los niveles plasmáticos del t-PA, aumento que por otra parte en cuatro sujetos ha sido de escasa entidad (uno de ellos se hallaba afecto de ESP). Dos pacientes han presentado, por contra, ausencia de modificaciones significativas de los niveles de t-PA además un incremento aunque modesto de los del PAI (entre estos una se hallaba afecto de esclerodermia). Por último, en un sujeto afecto de ESP se ha observado una sustancial ausencia de variaciones del PAI frente a un moderado aumento del t-PA plasmático.

Desde el punto de vista clínico, 13 pacientes (92,8%) han presentado una significativa mejoría clínica, con una reducción de más del 50% de la frecuencia, duración e intensidad de las crisis; entre estos, en un caso se ha asistido a la completa resolución de la sintomatología durante el

período de observación. Sin embargo, hay que subrayar que en los cuatro sujetos con ESP la entidad de la mejoría ha sido inferior a la de los pacientes con fenómeno de Raynaud primitivo. En el sujeto afecto de acrocianosis la reducción de las crisis ha resultado inferior al 50%, por lo que se ha considerado que no responde.

Discusión y conclusiones

En nuestro estudio hemos procurado relacionar el restablecimiento de la actividad fibrinolítica local con las manifestaciones clínicas en un grupo de pacientes afectados de fenómeno de Raynaud.

Como es sabido tal sistema está influenciado en las variaciones de sus componentes por numerosos factores exógenos y endógenos. Entre éstos, importante papel tiene el ritmo circadiano: el t-PA libre en el plasma no es dosificable en las primeras horas de la mañana, aumentando en el curso del día hasta la tarde, de modo paralelo a un descenso de la actividad del PAI-1. El u-PA, por contra, no presenta modificaciones (motivo por el cual nuestra muestra ha sido recogida toda a la misma hora, a mitad aproximadamente de la mañana) (9).

También el humo del cigarrillo posee una acción depresiva sobre la fibrinolisis. En cuanto se refiere a nuestro grupo, era bastante homogéneo, incluyendo dos fumadores ocasionales y un solo fumador habitual, que presentaba los más bajos niveles de actividad del t-PA y muy altos de PAI-1 en condiciones basales.

Ninguna de las pacientes en estudio recibía tratamiento estrogénico.

Por último, en cuanto se refiere a los otros factores de riesgo vascular, los sujetos considerados por nosotros no presentaban hipertensión arterial, diabetes mellitus, dislipemia y/o exceso ponderal.

Sabemos que en el angiospas-

mo hay modificaciones locales del endotelio y de la actividad plaquetaria de tipo secretor y metabólico, alteraciones de la viscosidad hemática y de la agregabilidad plaquetaria que, conceptualmente, parece pueden desarrollar un papel patogénico, aunque queda todavía por demostrar la importancia en relación a aquellos factores de tiempo ya individualizados (alteraciones del tono simpático, modificaciones de las presiones de perfusión local, factores humorales, tal la serotonina) (6). En las formas secundarias las alteraciones del sistema fibrinolítico son presumiblemente reconducibles a las lesiones anatómico-patológicas de la pared vascular por cualquier causa determinante (5). En efecto, en las colagenopatías es posible documentar un alargamiento del tiempo de lisis de las euglobulinas (10), con reducción de la liberación de t-PA por las células endoteliales y aumento de un inhibidor de las fibrinolisis, si bien todavía no definido (1) y en los sujetos con enfermedad profesional por instrumentos vibrantes se observa una reducción de la actividad fibrinolítica (5).

En la Enfermedad de Raynaud, en la que no son documentables alteraciones parietales, las modificaciones de la actividad fibrinolítica local son observables pero aparecen de más incierta definición (5).

El compromiso de la fibrinolisis local en los sujetos de fenómeno de Raynaud, en presencia o no de alteraciones parietales, no puede existir sin significado clínico, si bien todavía no precisado de modo exacto, por lo cual parece lógica la corrección de tal déficit y por tanto la recuperación de la actividad funcional normal. Una posibilidad farmacológica para conseguirlo en la actualidad es el uso de un derivado estable de la Prostaciclina, desde el momento que esto parece poder conseguir la liberación de t-PA por las células endoteliales con meca-

nismo CAMP dependiente (7, 15) y la activación de la fibrinólisis (3, 4, 13).

En nuestro estudio hemos sometido a tratamiento con Iloprost a sujetos afectos de fenómeno de Raynaud primitivo (10 pacientes) o secundario a ESP (4 pacientes). Ha sido posible observar un aumento significativo de la actividad del t-PA plasmático al 14.º día de tratamiento y una significativa reducción del PAI-1 hasta el 7.º día de tratamiento en el grupo de pacientes globalmente considerados. Hay que precisar que tales resultados derivan de los 10 enfermos con Enfermedad de Raynaud, ya que los 4 pacientes afectos de ESP no han proporcionado modificaciones estadísticamente significativas de los dos parámetros.

Cabe pues la hipótesis de que la prostaciclina pueda actuar en dos frentes: por un lado, por su acción citoprotectora estimulando la liberación del activador hístico del plasminógeno por parte de las células endoteliales, por otro, probablemente por acción directa sobre el metabolismo de las plaquetas, induciendo una disminución de la producción de t-PA. El hecho de que el aumento del t-PA se observe tras numerosos días de la reducción del PAI hace pensar que ello no sólo se halle en relación con las variaciones de este último, sino a la verdadera y propia síntesis y liberación de una nueva cuota de t-PA.

En conclusión, nuestros resultados evidencian una correspondencia en-

tre mejoría clínica e incremento de la actividad fibrinolítica en pacientes con fenómeno de Raynaud tratados con un análogo estable de la prostaciclina.

BIBLIOGRAFIA

1. ANGLES-CANO, E.: Endothelial damage and hypofibrinolysis in Systemic Lupus Erythematosus (lett). «Thromb. Haemostas.», 1988; 61(2): 322.
2. BELCH, J. F., DRURY, J. K., CABELL, H.: Intermittent epoprostenol (prostacyclin) infusion in patients with Raynaud's phenomenon. «Lancet», 1983; 1: 313-315.
3. BERTELE' V., MUSSONI, L., DEL ROSSO, G., PINTUCCI, G., CARRIERO, M. R., MERATI, M. G., LIBRETTI, A., DE GAETANO, G.: Defective fibrinolytic response in atherosclerotic patients-Effect of Iloprost and its possible mechanism of action. «Thromb. Haemostas.», 1988; 60(2): 141-144.
4. BERTELE' V., MUSSONI, L., PINTUCCI, G., DEL ROSSO, G., ROMANO, G., DE GAETANO, G., LIBRETTI, A.: The inhibitory effect of aspirin on fibrinolysis is reversed by Iloprost, a prostacyclin analogue. «Thromb. Haemostas.», 1989; 61(2): 286-288.
5. BLUNT, R. J., GEORGE, A. J., HURLOW, R. A., STRACHAN, C. J. L., STUART, J.: Hyperviscosity and thrombotic changes in idiopathic and secondary Raynaud's syndrome. «Br. J. Haematol.», 1980; 45: 651-658.
6. COFFMAN, J. D.: Pathogenesis and treatment of Raynaud's phenomenon. «Cardiovasc. Drug. Ther.», 1990; 4: 45-51.
7. CRUTCHLEY, D. J., CONANAN, L. B., MAYNARD, J. R.: Stimulation of fibrinolytic activity in human skin fi-
- broblasts by prostaglandin E1, E2 and I2. «J. Pharmacol. Exp. Ther.», 1982; 222: 544.
8. FRANCIS, R. B.: Clinical disorders of fibrinolysis: a critical review. «Blut», 1989; 59: 1-14.
9. GRIMAUDO V., HAUERT, J., BACHMANN, F., KRUITHOF, E. K. O.: Diurnal variation of the fibrinolytic system. «Thromb. Haemostas.», 1988; 59(3): 495-499.
10. HOLLAND, C. D., JAYSON, M. I. V.: Venous blood fibrinolysis and fibrinolytic potential in Raynaud's phenomenon (RP) and systemic sclerosis (SS). «Ann. Rheum. Dis.», 1981; 40: 518-9.
11. KRISHNAMURTI, C., TANG, D. B., BARR, C. F., ALVING, B. M.: Plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor activities in a reference population. «Am. J. Clin. Pathol.», 1988; 89(6): 747-752.
12. MUNKVAD, S., GRAM, J., JESPERSEN, J.: Depressed plasma fibrinolytic activity in a group of patients with connective tissue diseases. «Scand. J. Rheumatology», 1989; 18: 277-282.
13. MUSIAL, J., WILCZYNNSKA, M., SLADEK, K., CIERNIEWSKI, C. S., NIZANKOWSKI, R., SZCZEKLIK, A.: Fibrinolytic activity of prostacyclin and Iloprost in patients with peripheral arterial disease. «Prostaglandins», 1986; 31(1): 61-70.
14. RADEMAKER, M., COOKE, E. D., ALMOND, N. E., BEACHAM, J. A., SMITH, R. E., MANT, T. G. K., KIRBY, J. D.: Comparison of intravenous infusion of Iloprost and oral nifedipine in treatment of Raynaud's phenomenon in patients with systemic sclerosis: a double blind randomized study. «Br. Med. J.», 1989; 298: 561-564.
15. SHNEIDER, J.: Stimulation of the plasma fibrinolytic activity in rats by the prostacyclin analogue CG 4203. «Thromb. Res.», 1987; 48: 233-244.