

Inflammation och koagulation vid kavernom

Vid sjukdomen kavernöst angiom uppstår missbildade blodkärl i hjärnan, ryggmärgen eller ögats näthinna. Forskare från Uppsala universitet har visat att vita blodkroppar och proteinstrukturer som är kopplade till immunsvaret ansamlas i anslutning till de missbildade kärlen. Fynden stöder att inflammation har betydelse för utvecklingen av kavernöst angiom och visar på möjligheten att ta fram en biomarkör för sjukdomen. Samma forskningsgrupp har även i detalj studerat koagulation och funnit stabila blodklottrar i vissa kärlmissbildningar. Publicerade, kliniska studier har visat minskad blödning hos CCM-patienter som under lång tid behandlats med läkemedel som hämmar blodets levring.

Våra blodkärl är fundamentala för att alla våra organ ska fungera till sin fulla kapacitet genom leverans av blod innehållande syre och näringsämnen samt att förslas bort slaggprodukter från vävnaderna. Blodkärlets insida består av en unik celltyp, endotelceller, som är

komponerade på ett sätt som gör att de normalt klarar av blodkontakt utan att svara samtidigt som de kan svara snabbt vid stimuli eller skada. Endotelcellerna är förankrade i varandra genom att uttrycka olika proteiner som gynnar att kontakten dem emellan bi-

behålls. I vår hjärna är dessa cellkontakter tätare och specifikt kontrollerade genom den så kallade blod-hjärnbarriären som utgör ett skydd för hjärnan. Blod-hjärnbarriären består av endotelceller i kontakt med pericyter (bindvävs-celler) och astrocyter (gliacel-

Forskargruppen samlad i trappan. Från vänster
uppfifrån: Janniz Jönsson, Veronica Sundell,
Favour Onyeogaziri, Emeli Hermansson,
Maximiliano Arce, Ross Smith, Hua Huang,
Maria Globisch, Petra Magnusson och Charlotte
Rorsman. Saknas på bilden gör Ying Sun.





Vid förlust av funktionell CCM i hjärnans blodkärl ökar endotelcellerna i antal och kärllmissbildningar, så kallade kavernom, bildas vilka får en hallonliknande form och CCM beskrivs ofta som en benign kärltumör.

ler) som sluter tätt an till blodkärls utsida och tillsammans förhindrar läckage ut i hjärnvävnaden, samtidigt som transport av näringsämnen, framför allt glukos och exempelvis aminosyror är noggrant kontrollerad genom specifika receptorer som finns på endotelcellernas yta. En grupp av proteiner som är viktiga för att bibehålla tät kontakt mellan endotelcellerna är cerebral cavernous malformation (CCM) och som när de är dysfunktionella orsakar sjukdomen med samma namn, CCM. Vid förlust av funktionell CCM i hjärnans blodkärl ökar endotelcellerna i antal och kärllmissbildningar, så kallade kavernom, bildas vilka får en hallonliknande form och CCM beskrivs ofta som en benign kärltumör. CCM-kavernom bildas specifikt i venösa kapillärer/venor och avstånd uppstår mellan endotelcellerna på grund av dysfunktionella cellkontakter vilket gör att risken för läckage ökar. CCM-patienter kan bland annat råka ut för hjärnblödningar vilka endast kan åtgärdas med hjälp av kirurgi om kärllskadans placering möjliggör detta. I dag finns det ingen farmakologisk behandling för CCM-patienter.

Sjukdomen CCM kan antingen vara av en ärftlig genetisk karaktär, familjär CCM, eller sporadisk. Familjär CCM beror på mutationer i någon av de tre CCM-generna CCM1/KRIT1, CCM2 eller CCM3/PDCD10 som specifikt orsakar funktionella konsekvenser hos endotelcellerna i hjärnan. Familjär CCM hör till gruppen sällsynta sjukdomar och drabbar 1–5/10.000 i befolkningspopulationen.^{1,2} Symtom på den familjära formen av sjukdomen uppkommer vanligtvis hos barn och unga vuxna i form av huvudvärk, krampanfall och andra neurologiska symtom som exempelvis synrubbingar. Vid familjär CCM bildas det över tid flertalet kavernom hos patienterna. Dessa kavernom har en förtunnad och missbildad kärllstruktur som riskerar att brista och skapa allvarlig hjärnblödning

hos patienten. Den andra formen av CCM kallas sporadisk CCM vilken är betydligt mer förekommande än familjär CCM och drabbar 1/200. Hos de flesta med sporadisk CCM orsakar kärllmissbildningen inga symtom. Vid sporadisk CCM bildas det vanligtvis bara en kärllmissbildning och om kavernomet är placerat så att kirurgiskt avlägsnande är möjligt kan patienten eventuellt befrias från följdkomplikationer.

INFLAMMATION OCH NETOS VID CCM

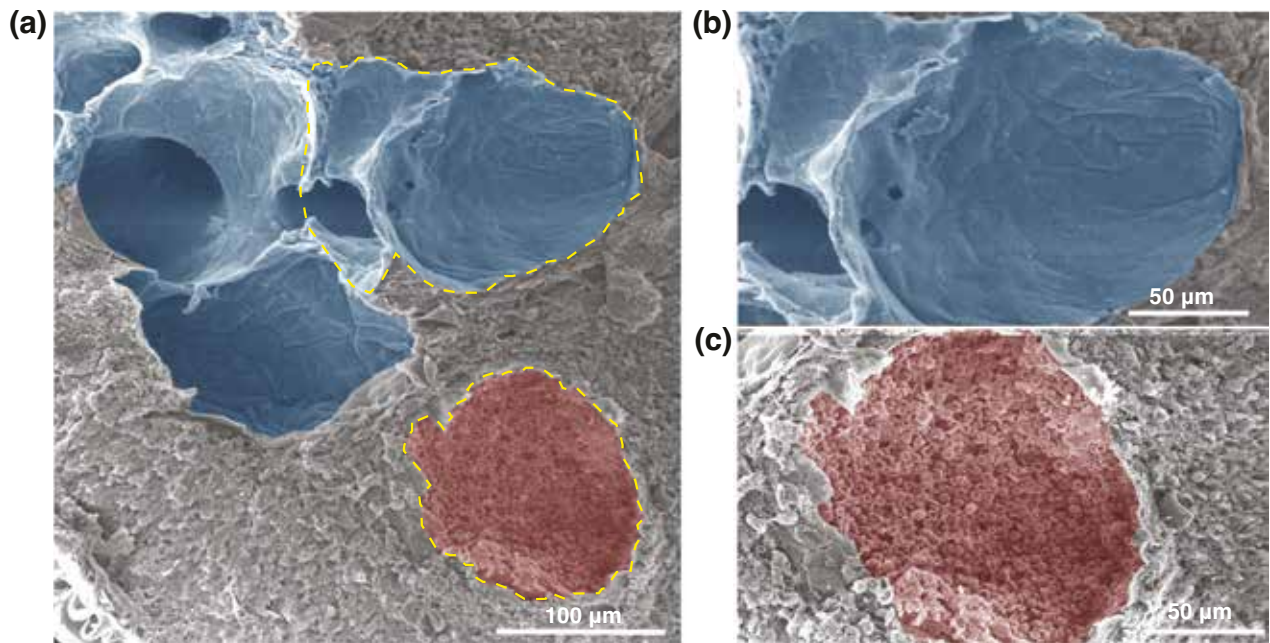
Vid CCM förändras endotelcellerna på så sätt att de aktiveras, förlorar sina cellkontakter, blir mer genomsläppliga för vätska och det utvecklas inflammation i blodkärllmissbildningarna. Denna inflammation drivs av inflammatoriska komponenter som interleukin-6 (IL-6), IL-1 β , CD14, VEGF, TNF- α med flera.^{3,4} Dessa cytokiner lockar till sig immunceller och vid CCM har det visat sig i experimentella djurmodeller att neutrofiler, en av våra viktigaste vita blodkroppsceller som snabbt och effektivt bekämpar exempelvis bakterier, förekommer i höga nivåer i hjärnan hos CCM-sjuka möss jämfört med de som är friska.⁴ Som en del i sitt försvar mot bakterier kan neutrofiler producera nätliknande strukturer bestående av DNA-trådar och proteiner som cellerna frisätter vilket leder till effektiv eliminering av inkräktaren. Denna process att producera nätliknande strukturer så kallade NETs kallas för NETos (NET=neutrophil extracellular traps). Men även om neutrofilerna har ett syfte med att bilda NETs, kan denna produktion gå överstyr och i sig trigga inflammatoriska processer ytterligare. Exempelvis har NETos varit en bidragande orsak till de lungeffekter som drabbar covid 19-patienter.⁵ Även vid cancer kan NETs bildas inne i tumören, läcka ut och via blodcirkulationen nå njurarna där de kan fastna och orsaka njurinsufficiens.⁶ Betydelsen av NETos i CCM är inte klarlagd. Men i

djurmodeller av CCM har det visats att om man på enzymatisk väg avlägsnar det DNA som neutrofilerna frisätter så gynnar det blodkärnen på så vis att det läckage som normalt pågår vid CCM minskar, sannolikt på grund av förbättrad cellkontakt och minskad inflammation.⁴ Det är för tidigt att avgöra betydelsen av NETos hos CCM-patienter, men forskning har visat förekomst av NETs i ett litet urval av CCM-patienter.

KOAGULATION VID CCM

Blodlevring eller blodkoagulation som är en del av hemostasen, är kroppens strategi för att förhindra blodförlust vid vävnadsskada och att läka den endotel-skada som uppstått. Hemostas är även en del av normal sårhäkning och i processen ingår även nedbrytning av leverat blod så kallad fibrinolys med hjälp av enzymer. Vid en kärllskada frisätts proteiner som von Willebrand-faktor (vWF) från endotelcellerna ut i blodet samt exponering sker av de proteiner som normalt omger blodkärlets utsida (exempelvis kollagen, fibronectin) så att de kommer i kontakt med blodet. Detta leder till aktivering av blodets minsta cellkomponenter, blodplättarna eller trombocyterna, som fäster till blodkärllväggen där de binder in till vWF. I denna process klyvs proteinet fibrinogen av trombin till fibrin som formas till ett nätverk av trådar tillsammans med trombocyter och röda blodkroppar vilket leder till att en blodklott bildas.

Själva orsaken till blödning vid CCM är inte helt klarlagd. Men i prekliniska studier har forskargrupper visat att blodkärlets endotelceller i hjärnan hos möss med CCM har ett ökat uttryck av trombomodulin, ett protein som hämmar koagulation.⁷ Men faktum är att kavernom kan vara både blödningsbenägna och samtidigt också bidra till ökad koagulation av blodet. Det har länge varit ett faktum att blodlevring förekommer vid CCM men



Figur 1. Hemostas i CCM-kärlmissbildningar. (a) Svepelektronmikroskopbild av hjärnan från en mus med CCM där olika kärlmissbildningar synliggjorts genom färgläggning. (b) Kärlmissbildning (blå) utan inbindning av blodceller. (c) Kärlmissbildning (röd) med koagulationskaraktär där blodceller bundit in längs hela kärlväggen.

dess roll har inte varit helt klarlagd. Nyligen har vår forskningsgrupp visat att trombocytaktivering och blodkoagulering förekommer till hög grad vid CCM och att de blodkoagel som bildas är både kompakta och har hämmande fibrinolys genom ökad förekomst av proteinet plasminogen activator inhibitor (PAI-1).⁸ Detta protein PAI-1 har som uppgift att blockera de enzym som tuggar ner blodkoagel i mindre bitar av fibrin så att blodklotten löses upp. Det är specifikt endotelcellerna i CCM-kavernom som producerar PAI-1. Resultaten visar att hos odlade endotelceller som utsätts för ett flöde som hämmas av exempelvis blodkoagel stimuleras endotelcellerna till produktion av PAI-1, en effekt som delvis normaliseras när endotelcellerna utsätts för ett normalt flöde. Vid ingående studie av blodkoagel i djurmodeller av CCM visades det att vid avsaknad av CCM3 i blodkärlens endotelceller ökar förekomsten av blodproteinet fibrin och dessutom fibronektin som tillsammans med fibrin

har påvisat stabil blodlevering hos patienter med ateroskleros. Samtidigt visades det med högupplösta bilder som tagits med svepelektronmikroskop att de röda blodkropparna (även kallade erythrocyter) i blodklotten var så sammandragna att de fått en polyhedral, kantig form och bildat så kallade polyhedrocyter.⁸ Denna förändring i de röda blodkropparnas form förbättrar blodcellernas möjlighet att komma i kontakt med varandra och på så vis generera ett blodkoagel som effektivt förhindrar blödning. Men samtidigt bidrar den kompakta strukturen till en försvärad fibrinolys av blodkoaglet vilket förvärras ytterligare av ökad produktion av PAI-1 från omgivande endotelceller. Bildandet av polyhedrocyter i blodklottar är mer förekommande där blodflödet är lägre, som på den venösa sidan av kärlbädden vilket även är den del av kärlen som drabbas av CCM-kärlmissbildningar.⁹ Så mycket talar för att det låga blodflödet i sig driver CCM och bidrar till ökad blodlevering och

blodklottar som kvarstår längre på grund av defekt fibrinolys. Detta är ett område som kräver mer forskning för ökad förståelse om CCM.

KÄRLHETEROGENITET I CCM

I en frisk vävnad uttrycker blodkärlens endotelceller skyddande proteiner som håller blodkärlscellerna vilande samtidigt som de kan vara i kontakt med blodflödet utan att reagera på blodets komponenter. Dessa skyddande proteiner är bland annat trombomodulin, endothelial protein C receptor och annexin 5 samt produktion av kväveoxid från endotelcellerna varav samtliga bidrar till normal hemostas. Vid inflammation eller sårhäkning aktiveras endotelcellerna genom att uppreglera proteiner som stimulerar interaktion med trombocytterna, samtidigt som de skyddande proteinerna nedregleras. Vid CCM ökar mängden trombomodulin i hjärnans blodkärl vilket bidrar till ökad blödningsbenägenhet samtidigt som märkligt nog ökad blodlevering är på-



I denna process klyvs proteinet fibrinogen av trombin till fibrin som formas till ett nätverk av trådar tillsammans med trombocyter och röda blodkroppar vilket leder till att en blodklott bildas.





Forskningen har även visat att en och samma kärlmissbildning kan samtidigt vara både blödnings- och koagulationsbenägen genom att i en del av kärlet nedreglera trombomodulin samtidigt som vWF uppregleras i en annan del av kavernet.

visad. Orsaken till detta kan vara att blodkärnen vid CCM har en blandad karaktär. Vi har visat med vår forskning att CCM-kärlmissbildningar kan ha en blödningskaraktär, det vill säga kärlmissbildningar som försöker bibehålla normal hemostas genom ökat uttryck av antikoagulationsproteinet trombomodulin. Sedan finns det CCM-kärlmissbildningar som kan ha en ökad koagulationskaraktär genom ökad produktion och frisättning av koagulationsproteinet vWF eller högre förekomst av det fibrinolyshämmande proteinet PAI-1. Forskningen har även visat att en och samma kärlmissbildning kan samtidigt vara både blödnings- och koagulationsbenägen genom att i en del av kärlet nedreglera trombomodulin samtidigt som vWF uppregleras i en annan del av kavernet.⁸

BEHANDLING AV CCM OCH UTVECKLINGEN FRAMÅT

Som beskrivet så kan CCM-patienter drabbas av hjärnblödning eller stroke och vid familjär CCM där flera kavernom kan förekomma kan oron vara stor för att ytterligare blödningar ska uppkomma. Av just denna anledning kan förskrivande av koagulationshämmande läkemedel till en CCM-patient för behandling av exempelvis kardiovaskulär sjukdom skapa oro för ökad risk för hjärnblödning. I ett antal befolkningsstudier har det visat sig att CCM-patienter som behandlas med blodförtunnande läkemedel faktiskt löper minskad risk för blödning. En möjlig orsak till detta kan vara att hämning av blodlevring minskar den påfrestning som CCM-kärl rimligen utsätts för när ett blodkoagel blockerar blodets flöde i blodkärnen. Blodklotten kan på så vis orsaka att blodflödet utövar ett ökat tryck på intellig-

gande kärlmissbildningar med svaga kärlväggar på grund av dysfunktionella endotelceller, en hjärnblödning uppstår.

CCM är en komplex sjukdom där allt mer kunskap framkommit genom den forskning som bedrivs. Vi vet i dag hur CCM-muterade endotelcellers karaktär förändras, hur kärlmissbildningarna växer till, vilka potentiella biomarkörer som delvis reflekterar sjukdomen, samt rollen av hemostas vid CCM.¹⁰ Men än mer forskning behövs för att förstå CCM med målet att ge patienterna förebyggande och även en möjlig behandling. Samarbete mellan de kliniker som möter CCM-patienter och forskare inom CCM-forskningsfältet är av stor vikt för framgång. Dessa kliniker och forskare tillsammans med engagerade CCM-patientorganisationer kan gemensamt verka för en patientgrupp med mycket svåra besvär.



PEETRA MAGNUSSON
Docent och forskare vid Institutionen för immunologi, genetik och patologi, Uppsala universitet
petra.magnusson@igp.uu.se

REFERENSER

1. Choquet H, Pawlikowska L, Lawton MT, Kim H. Genetics of cerebral cavernous malformations: Current status and future prospects. *J Neurosurg Sci* 2015; 59:211–220.
2. Liquori CL, Berg MJ, Squitieri F, Leedom TP, Ptacek L, Johnson EW, Marchuk DA. Deletions in CCM2 are a common cause of cerebral cavernous malformations. *Am J Hum Genet* 2007; 80:69–75. <https://doi.org/10.1086/510439>.
3. Girard R, Zeineddine HA, Koskimäki J, Fam MD, Cao Y, Shi C, Moore T, Lightle R, Stadnik A, Chaudagar K, Polster S, Shenkar R, Duggan R, Leclerc R, Whitehead KJ, Li DY, Awad IA. Plasma Biomarkers of Inflammation and Angiogenesis Predict Cerebral Cavernous Malformation Symptomatic Hemorrhage or Lesional Growth. *Circ Research* 2018; 122:1716–1721. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.108.538769>.

4. Yau ACY, Globisch MA, Onyeogaziri FC, Conze LL, Smith R, Jauhiainen S, Corada M, Orsenigo F, Huang H, Herre M, Olsson A-K, Malinverno M, Sundell V, Rezaei Jahromi B, Niemelä M, Laakso A, Garlanda C, Mantovani A, Lampugnani MG, Dejana E, Magnusson PU. Inflammation and neutrophil extracellular traps in cerebral cavernous malformation. *Cell Mol Life Sci* 2022; 79:206. <https://doi.org/10.1007/s00018-022-04224-2>.
5. Leppkes M, Knopf J, Naschberger E, Lindemann A, Singh J, Herrmann I, Stürzl M, Staats L, Mahajan A, Schauer C, Kremer AN, Völkl S, Amann K, Evert K, Falkeis C, Wehrfritz A, Rieker RJ, Hartmann A, Kremer AE, Neurath MF, Munoz LE, Schett G, Hermann M. Vascular occlusion by neutrophil extracellular traps in COVID-19. *EBioMedicine* 2020; 58:10225. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2020.102925>.
6. Olsson AK, Cedervall J. NETosis in cancer—platelet neutrophil crosstalk promotes tumor-associated pathology. *Front Immunol* 2016; 7:2–9. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00373>.
7. Lopez-Ramirez MA, Pham A, Girard R, Wyseure T, Hale P, Yamashita A, Koskimaki J, Polster S, Saadat L, Romero IA, Esmon CT, Lagarrigue F, Awad IA, Mosnier LO, Ginsberg MH. Cerebral cavernous malformations form an anticoagulant vascular domain in humans and mice. *Blood* 2019; 133:193–204. <https://doi.org/10.1182/blood-2018-06-856062>.
8. Globisch MA, Onyeogaziri FC, Jauhiainen S, Yau A, Orsenigo F, Conze LL, Arce M, Corada M, Smith R, Rorsman C, Sundell V, Fernando D, Daniel G, Mattsson O, Savander HS, Wanders A, Rezaei Jahromi B, Laakso A, Niemelä M, Dejana E, Magnusson PU. Immunothrombosis and vascular heterogeneity in cerebral cavernous malformation. *Blood* 2022, ahead of print.
9. Orsenigo F, Conze LL, Jauhiainen S, Corada M, Lazzaroni F, Malinverno M, Sundell V, Cunha SI, Brannstrom J, Globisch MA, Maderna C, Lampugnani MG, Magnusson PU, Dejana E. Mapping endothelial-cell diversity in cerebral cavernous malformations at single-cell resolution. *Elife* 2020; 9:e61413. <https://doi.org/10.7554/eLife.61413>.
10. Globisch MA, Onyeogaziri FC, Smith RO, Arce M, Magnusson PU. Dysregulated hemostasis and immunothrombosis in cerebral cavernous malformation. *IJMS* 2022; 23:12575. <https://doi.org/10.3390/ijms232012575>.

