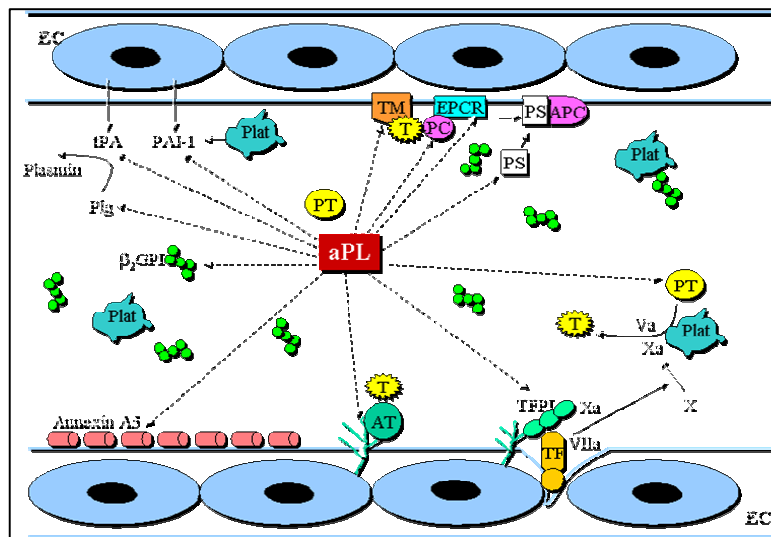


Resumen de la charla dada en el Simposio ("Avances en Trombosis") Conjunto CLAHT-MLTD en el **21th International Thrombosis Congress** en Milán, Italia, 6-9 Julio 2010

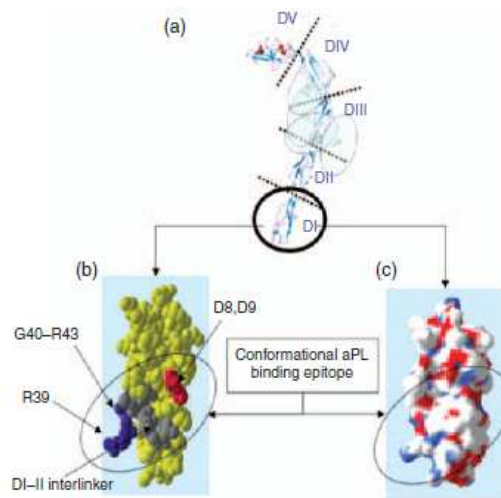
¿Que novedades hay en el síndrome antifosfolípido?

Dr. Ricardo Forastiero, Universidad Favaloro, Fundación Favaloro, Buenos Aires, Argentina
rforastiero@favaloro.edu.ar

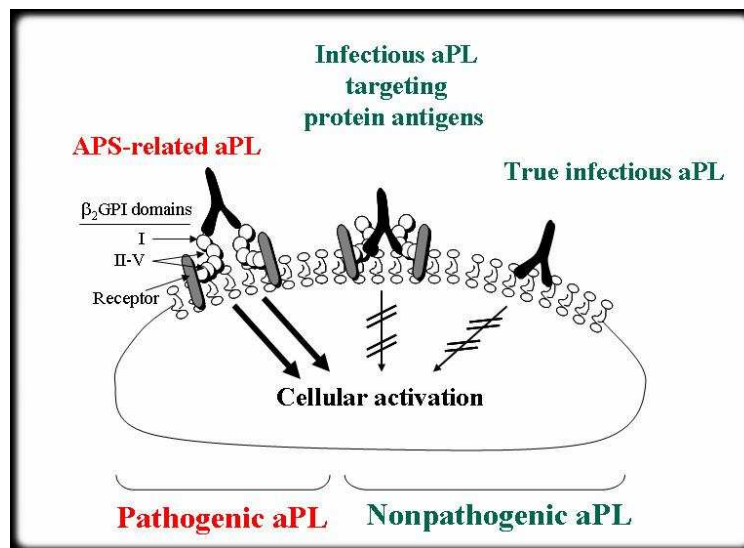
Los anticuerpos antifosfolípidos (aPL) presentes en el síndrome antifosfolípido (APS) son autoanticuerpos dirigidos contra proteínas que unen fosfolípidos. La β_2 -glicoproteína I (β_2 GPI) y la protrombina (PT) son el target antigénico en más del 90%. Sin embargo hay aPL dirigidos contra otras proteínas que intervienen en los mecanismos de coagulación y fibrinólisis como se indica en la figura (Forastiero et al, Current Rheumatol Reviews 2005).



La β_2 GPI contiene 5 dominios (I a V) y el dominio V contiene la región de unión a fosfolípidos. La mayoría de los aPL relacionados al APS están dirigidos contra epitopes localizados en el dominio I a diferencia de los aPL de pacientes sin el APS o en aquellos con infecciones como la lepra que tienen anticuerpos anti- β_2 GPI ($\alpha\beta_2$ GPI) dirigidos contra epitopes localizados en distintos epitopes de los dominios II-V (Ioannou et al, Lupus 2010). El epitope en el dominio I no es lineal y esta constituido por diferentes residuos (R39, G40-G43, etc) que en la estructura terciaria están juntos como se indica en la figura.



La diferencia en el epítopo y en la especificidad antigénica podría explicar las diferencias en la patogenicidad de los aPL del APS y aquellos relacionados a infecciones, como se indica en el modelo de la figura (Forastiero et al, *New Research on Autoantibodies*. Claude T. Petrelli, eds. Nova Science Publishers, Inc, ed 2008, chapter 5, pp 131-149).



El síndrome antifosfolípido es una trombofilia adquirida caracterizada por manifestaciones clínicas trombóticas u obstétricas en asociación con niveles elevados de aPL. Los últimos criterios diagnósticos (por consenso de expertos) fueron publicados a comienzos de 2006. Las ventajas de estos criterios actualizados es que se incorporan definiciones más claras y precisas de las manifestaciones clínicas, se aconseja estratificar a los grupos de pacientes y desde el punto de vista del laboratorio se definen más claramente los títulos moderados

o fuertes de aPL. Además se incorporo definitivamente la evaluación de aβ₂GPI. También se recomienda categorizar a los pacientes de acuerdo al perfil de aPL positivos.

Journal of Thrombosis and Haemostasis, 4: 295–306

SPECIAL ARTICLE

2006

International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS)

S. MIYAKIS,* M. D. LOCKSHIN,† T. ATSUMI,‡ D. W. BRANCH,§ R. L. BREY,¶ R. CERVERA,** R. H. W. M. DERKSEN,†† P. G. DE GROOT,†† T. KOIKE,‡ P. L. MERONI,‡‡ G. REBER,§§ Y. SHOENFELD,¶¶ A. TINCANI,** P. G. VLACHOYIANNOPOULOS††† and S. A. KRILIS*

Criterios clínicos

Trombosis vascular

Uno o más episodios de trombosis arterial y/o venosa en cualquier órgano o tejido, confirmada por estudios de imágenes o histopatológicos (a excepción de trombosis venosa superficial).

Clasificar a los pacientes con APS con presencia o ausencia de factores de riesgo adicionales como:

pacientes con un primer episodio de IAM o stroke después de los 55 años (hombres) o 65 años (mujeres) en presencia de cualquiera de los factores de riesgo establecidos para enfermedad cardiovascular. Pacientes con neoplasias y pacientes con otros factores importantes de riesgo de trombosis (inmovilización prolongada, etc). Las trombofilias congénitas también deben ser consideradas.

Morbilidad obstétrica

- Uno o más muerte intrauterina (>10th semanas de gestación) de fetos morfológicamente normales documentado por ultrasonido o por examen directo del feto, o
- Uno o más nacimientos prematuros (<34th semanas de gestación) de neonatos morfológicamente normales debido a eclampsia o pre-eclampsia severa o insuficiencia placentaria severa (peso de placenta <10th percentilo y/o infartos placentarios afectando >20% de la placenta), o
- Tres o más abortos tempranos (<10th semanas de gestación) excluyendo causas maternas anatómicas u hormonales y causas paternas y maternas cromosómicas

Criterios de laboratorio

- aCL (IgG y/o IgM), título moderado o alto (>40 GPL o MPL, o >99th percentilo), en al menos 2 oportunidades separadas más de 12 semanas, por ELISA estandarizado para medir aCL dependientes de β_2 -GPI
- Anticoagulante lúpico, en al menos 2 oportunidades separadas más de 12 semanas (ISTH guidelines)
- a β_2 GPI (IgG y/o IgM), (>99th percentilo) en al menos 2 oportunidades separadas más de 12 semanas, por ELISA estandarizado

Categorizar pacientes de acuerdo al tipo de aPL presente:

I	cualquier combinación de aPL
IIa	sólo LA
IIb	sólo aCL
IIc	sólo a β_2 GPI

Las recomendaciones además incluyen:

- o Definición de definite APS: 1 criterio clínico + 1 criterio de laboratorio
- o Estudiar aPL al menos 12 semanas después del episodio clínico
- o No diagnosticar APS en el caso de encontrar aPL positivos si la manifestación clínica ocurrió hace más de 5 años
- o Se desaconseja el uso del término APS secundario y se propone por ejemplo "APS asociado a SLE"

En los criterios 2006 del APS hay una serie de patologías clínicas y de datos de laboratorio que no fueron incluidos:

- o Enfermedad valvular cardiaca asociada a aPL
- o Livedo reticularis asociada a PL
- o Trombocitopenia asociada a aPL (<100 x 10⁹/l)
- o Nefropatía asociada a aPL
- o aCL-IgA
- o a β_2 GPI-IgA
- o aPS (antifosfatidilserina)
- o aPE (antifosfatidiletanolamina)
- o aPT (anti-protrombina)
- o aPS/PT (anti-complejo fosfatidilserina-protrombina)

Luego de la publicación de los criterios en el año 2006, hubo una serie de conocimientos y publicaciones científicas posteriores. Entre ellas el saber que no todos los a β_2 GPI son patogénicos y que aquellos que reconocen el dominio I de la proteína son los que tienen relevancia clínica, el concepto de que el perfil de aPL es muy importante para definir el riesgo de eventos clínicos del APS y también que hay publicaciones recientes de estudios prospectivos que señalan que los aPT o los aPS/PT son factores de riesgo del APS.

La positividad múltiple en los ensayos de aPL (LA+aCL+a β_2 GPI) se halló asociada retrospectivamente a un riesgo mayor de trombosis y morbilidad obstétrica y se obtuvieron títulos más altos de a β_2 GPI en aquellos pacientes con triple positividad que en aquellos con doble positividad (aCL+a β_2 GPI) (Pengo et al, *Thromb Haemost* 2005; Ruffatti et al, *Thromb Haemost* 2006).

En un estudio prospectivo durante 10 años con una mediana de seguimiento de 45 meses demostramos que la triple positividad de LA+a β_2 GPI-IgG+aPT-IgG en el subgrupo de pacientes con LA (n=142 del total de 196 positivos para LA y/o aCL) dio el mayor riesgo anual de trombosis (primer evento o recurrencia) como se muestra en la tabla (Forastiero et al, *J Thromb Haemost* 2005)

	<i>n</i>	<i>Thrombosis (n)</i>	<i>Rate of thrombosis (% pat-year)</i>	<i>Multivariate Hazard ratio (95% CI)</i>	<i>p</i>
LA	30	2	1.6	reference	-
LA + aPT	34	5	5.5	1.59 (0.95-2.15)	0.22
LA + aβ_2GPI	29	7	5.6	1.62 (1.00-2.39)	0.08
LA + aPT + aβ_2GPI	49	19	8.4	2.60 (1.35-5.01)	0.004

Recientemente en otro estudio prospectivo multicéntrico (Pengo et al, *J Thromb Haemost* 2010) que evaluó la evolución clínica de 160 pacientes con APS que presentaban el perfil de triple positividad (LA+aCL+a β_2 GPI) se encontró que la incidencia anual de trombosis durante el seguimiento fue de:

- 12.2% (95%CI, 9.6–14.8) luego de 1 año
- 26.1% (95%CI, 22.3–29.9) luego de 5 años
- 44.2% (95%CI, 38.6–49.8) después de 10 años

La conclusión fue que los pacientes con triple positividad tienen un alto riesgo de recurrencia de eventos tromboembólicos a pesar de la terapia antitrombótica.

En otro estudio (Forastiero et al, Lupus 2010) que incluyó pacientes incorporados desde el 2006 al 2009, encontramos que en los pacientes con APS la categoría I (de acuerdo a los criterios 2006) de aPL al igual que la triple positividad (LA+aCL+aβ₂GPI) fue más prevalente que en aquellos pacientes sin complicaciones clínicas (non-APS). La cuadruple positividad (LA+aCL+aβ₂GPI+aPT) fue aún más estadísticamente significativa como se muestra en la tabla.

LA/aCL/aβ ₂ GPI	APS	Non-APS	P OR (95%CI)
Type I (any combination)	61 (62.9%)	32 (35.5%)	0,0002 3.1 (1.7-5.6)
LA/aCL/aβ₂GPI/aPT			
+/+/-	35 (36.1%)	12 (13.3%)	0,0004 3.7 (1.7-7.6)
+/+/+	26 (26.8%)	4 (4.4%)	<0.0001 7.9 (2.6-23.6)

En base a los estudios publicados en estos últimos años el grupo del Dr. Pengo de Italia propuso una serie de recomendaciones para mejorar la definición de APS (The Open Autoimmunity Journal 2010). En los pacientes con *trombosis* sugiere considerar a los pacientes con triple positividad (LA+aCL>40unidades+aβ₂GPI>percentilo 99th) como población de alto riesgo (APS definitivo), a aquellos con doble positividad (LA negativo, aCL>40unidades + aβ₂GPI>percentilo 99th) como pacientes de bajo riesgo (probable APS) y a aquellos con simple positividad (para LA, aCL o aβ₂GPI) como pacientes sin APS.

En las pacientes con *morbilidad obstétrica* sugiere considerar a las pacientes con triple positividad (LA+aCL>40unidades+aβ₂GPI>percentilo 99th) como población de alto riesgo (APS definitivo), a aquellos con doble positividad (LA negativo, aCL>40unidades + aβ₂GPI>percentilo 99th) o simple positividad (aCL>percentilo 99th o aβ₂GPI>percentilo 99th) como pacientes de bajo riesgo (probable APS obstétrico). Esta definición obstétrica también se basa en un estudio prospectivo multicéntrico (Boffa et al, Thromb Haemost 2009) de 160 pacientes con APS en Europa en donde la mayoría de las mujeres con síntomas obstétricos fueron positivas solo en el ensayo de aCL-IgG.

En una comunicación reciente de la ISTH (J Thromb Haemost 2009) se actualizaron las guías para el estudio de laboratorio del LA y se dio énfasis particularmente en:

1. la selección de pacientes considerados apropiados para evaluar LA
2. los métodos detallados para la extracción de sangre y el procesamiento del plasma
3. la elección de ensayos de screening recomendados son el APTT y el dRVVT con reactivos sensibles
4. como calcular los puntos de corte para cada ensayo en cada etapa del diagnóstico
5. la interpretación y como informar los resultados

En 2003 (Simmelink et al, J Thromb Haemost) se propuso un método para diferenciar la actividad de LA que depende de $\alpha\beta_2$ GPI de aquella dependiente de aPT. Esta basado en una prueba confirmatoria de APTT donde se usan vesículas de cardiolipina. Los LA dependientes de $\alpha\beta_2$ GPI muestran acortamiento del APTT pero los que dependen de aPT muestran prolongación de los resultados de APTT. Se demostró en un estudio retrospectivo (de Laat, Blood 2004) que los LA dependientes de $\alpha\beta_2$ GPI correlacionaban con la historia de trombosis. En un estudio multicéntrico y multinacional se corroboró -en muestras de 300 pacientes con LA- que la detección de los LA dependientes de $\alpha\beta_2$ GPI se correlaciona con la historia de trombosis venosa. Sin embargo este ensayo solo es sensible si se usa citrato de sodio 109nM y no 129mM para la extracción de sangre (manuscrito enviado a J Thromb Haemost). La concentración de calcio es crítica porque modifica la interacción de los $\alpha\beta_2$ GPI con las superficies fosfolipídicas.

	B2GPI dependent LA patients	B2GPI independent LA patients (with thrombosis)	OR arterial thrombosis (95% CI)	OR venous thrombosis (95% CI)	OR thrombosis (95% CI)
Plasma 109 mM					
Buenos Aires (n=71)	111 (87)	128 (67)	1.3 (0.8 – 2.3)	2.3 (1.4 – 3.9)	3.3 (1.9 – 5.8)
Krakow					
Nancy (n=26)					
Utrecht (n=58)					
Plasma 129 mM					
Ljubjana (n=14)	40 (24)	46 (36)	0.6 (0.2 – 1.6)	0.7 (0.3 – 1.7)	0.4 (0.1 – 1.1)
Nancy (n=5)					
Geneva (n=67)					

En un estudio multicéntrico publicado en 2009 (de Laat, J Thromb Haemost) en 442 pacientes positivos para $\alpha\beta_2$ GPI, se corroboró que la detección de $\alpha\beta_2$ GPI-IgG anti-dominio I se asociaba a la historia de trombosis (OR 3.5) y de morbilidad obstétrica (OR 2.4).

En el último congreso de aPL realizado en Galveston-USA en abril de 2010 se realizaron reuniones simultáneas de expertos para evaluar los criterios clínicos y de laboratorio del APS. Las recomendaciones que surgieron serán publicadas a comienzos de 2011. En el grupo que evaluó los ensayos de aPL que no forman parte de los criterios 2006, se propuso que los aPS/PT podrían ser considerados ensayo primario de aPL para confirmar la presencia de LA y para diagnosticar el APS. Además que la evaluación de los aPT debería ser considerada para estudiar el riesgo trombotico de los pacientes con aPL.

En el wet workshop realizado en el mismo congreso se evaluaron nuevas metodologías para ensayar la presencia de aCL, a β_2 GPI y a β_2 GPI anti-dominio I. Los nuevos ensayos automatizados mostraron excelente sensibilidad clínica, especificidad y valor predictivo positivo en comparación con los ensayos de ELISA usados actualmente. Se testearon diferentes calibradores monoclonales y policlonales que demostraron su utilidad para la calibración de estos ensayos inmunológicos.

Luego del 13th APLA Congress, Galveston, USA, April 2010 y 56th SSC Meeting, ISTH, Cairo, Egypt, May 2010; se hicieron varias propuestas para el diagnostico de aPL dentro del marco de la ISTH. Entre ellas la de realizar un estudio multicéntrico, multinacional para evaluar la utilidad del ensayo funcional de resistencia a la anexina A5 y además otro estudio para confirmar la relevancia clínica del ensayo de a β_2 GPI anti-dominio I. En ambos casos se propone correlacionar estos nuevos ensayos con la clasificación de aPL en categorías como se recomienda en los criterios de 2006.

Conclusiones:

1. El riesgo de las manifestaciones clínicas del APS aumenta progresivamente con el numero de ensayos positivos de aPL
2. el perfil de positividad múltiple de aPL parece ser el único perfil de aPL que identifica pacientes de alto riesgo trombotico
3. la detección de a β_2 GPI anti-dominio I parece ser una herramienta útil para definir el perfil clínico de los pacientes con APS
4. la evaluación de aPT o de aPS/PT podría ayudar en definir pacientes de alto riesgo
5. la medición de LA, aCL y a β_2 GPI permanecerá aun por un tiempo como la manera establecida para definir el perfil y el riesgo de los pacientes positivos para aPL