

Tópicos especiales en la enfermedad
Tromboembólica venosa - síndrome antifosfolípido

Special issues on VTE treatment
Antiphospholipid syndrome

Actualización y nuevas pruebas diagnósticas

Update and new diagnostic tests

Forastiero R

*Instituto de Medicina Traslacional, Trasplante y Bioingeniería (IMeTTyB),
Universidad Favaloro-CONICET*

rforastiero@favaloro.edu.ar



III CURSO
EDUCACIONAL
DE LA ISTH.
EDUCACIONAL IV

HEMATOLOGÍA
Volumen 20 • Número Extraordinario
XII Congreso del Grupo CAHT: 268-272
Septiembre 2016

Palabras clave: Anticuerpos antifosfolípidos,
Síndrome antifosfolípido,
Trombosis.

Keywords: Antiphospholipid antibodies,
Thrombosis,
Antiphospholipid syndrome.

Historia del síndrome antifosfolípido

Los primeros anticuerpos antifosfolípidos (aFL) o reaginas fueron detectados en 1906 a través de los ensayos usados para la evaluación de pacientes con sífilis. En 1941 se demostró que en el ensayo de VDRL para sífilis, el antígeno contenía principalmente cardiolipina como uno de sus componentes. Ya en esos primeros años, a través de la evaluación con ese ensayo, se reconoció que muchos pacientes no padecían clínicamente de sífilis, pero tenían resultados positivos en el ensayo de laboratorio. A esas reacciones se las conocía como “falsos positivos biológicos para sífilis”. En 1952 se publicó el hallazgo de un inhibidor que prolongaba los ensayos dependientes de fosfolípidos. Como esos pacientes tenían lupus eritematoso sistémico (LES)

como enfermedad de base, se comenzó a denominar a esos inhibidores circulantes como inhibidor o anticoagulante lúpico (AL). El AL era detectado sólo a través de la prolongación del APTT. A partir de ese momento se incrementó el número de pacientes reportados con AL y, simultáneamente, de reacciones falsas positivas para sífilis⁽¹⁾. La primera asociación clínica del AL fue reportada en 1954 en pacientes con complicaciones obstétricas. En 1963 se publicó la asociación clínica con trombosis. También es importante recordar que algunos pacientes tienen tendencia hemorrágica. Teniendo en cuenta la asociación entre VDRL y AL se pensó que los aFL podrían ser anticuerpos con especificidad contra la cardiolipina. A comienzos de la década del 80

se diseñó un RIA para evaluar la presencia de anticuerpos anticardiolipina (aCL). El ensayo de RIA fue rápidamente (1983) reemplazado inmovilizando cardiolipina en placas de ensayos de ELISA. Con la incorporación del ensayo de aCL, los pacientes comenzaron a ser evaluados para detectar aCL y AL. Desde ese momento se vio que muchos pacientes tenían ambos resultados positivos en forma simultánea, pero también había un grupo importante de pacientes que sólo presentaban actividad de AL o de aCL. A partir de ese momento, los pacientes con esos aFL y que presentaban historia de complicaciones clínicas trombóticas u obstétricas, fueron denominados como pacientes con síndrome antifosfolípido (SAF)⁽²⁾. El SAF es una enfermedad autoinmune que se define por la presencia de aFL en el plasma de pacientes con complicaciones trombóticas tanto en territorio venoso como arterial y/o con morbilidad obstétrica (abortos a repetición, muerte fetal, retardo del crecimiento intrauterino, eclampsia, etc.)^(3,4).

En 1990 se mostró evidencia de que los aFL en realidad se unen a los fosfolípidos aniónicos en forma indirecta uniéndose primeramente a proteínas con alta afinidad por los fosfolípidos. Esa proteína se conoce como b₂ glicoproteína I (b₂GPI) y fue reconocida como el principal antígeno de los aFL presentes en pacientes con enfermedades autoinmunes. Luego se demostró que la protrombina humana era el segundo antígeno en importancia hacia el cual estaban dirigidos algunos aFL. Rápidamente se diseñaron ensayos inmunológicos para detectar anticuerpos anti-b₂GPI (ab₂GPI) y anticuerpos anti-protrombina (aPT).

En 1999 se presentaron oficialmente los criterios clínicos y de laboratorio para diagnosticar el SAF. Son conocidos como los criterios de SAF de Sapporo⁽⁴⁾. Los aFL presentes en pacientes con SAF están dirigidos principalmente contra 2 proteínas plasmáticas: b₂GPI y protrombina. Por el contrario, los aFL que se encuentran en individuos con infecciones están dirigidos particularmente contra estructuras fosfolípicas. La excepción más categórica es en lepra, donde los aFL están dirigidos en su mayoría contra b₂GPI. Más recientemente el consenso de expertos ha actualizado los criterios clínicos y de laboratorio para diagnosticar este síndrome⁽⁴⁾. Los aFL en el plasma de pacientes pueden ser detectados como actividad de AL a través de la prolongación de pruebas de coagulación dependientes de fosfolípidos o a través de ensayos en fase sólida como los ELISAs

para aCL o ab₂GPI. Para el diagnóstico de SAF se requiere que los aFL sean demostrados en al menos 2 oportunidades con un período no menor a 12 semanas entre ambas evaluaciones de laboratorio. Los aCL y/o ab₂GPI de isotipo IgG y/o IgM deben estar presentes en títulos moderados o altos.

Algunas consideraciones sobre el diagnóstico de laboratorio y el perfil de aFL

Los ensayos para detectar aCL y ab₂GPI muestran en general una estandarización aún no muy adecuada. Hay diversos problemas analíticos y post-analíticos. Las unidades de expresión recomendadas son GPL y MPL para aCL de isotipo IgG e IgM. Para ab₂GPI las unidades de consenso son UI/ml y se está en la etapa final de validación (Institute for Reference Materials and Measurement) de los calibradores poli y monoclonales⁽⁵⁾. La mayoría de los métodos usados en los laboratorios son ELISAs, pero nuevas tecnologías están actualmente disponibles con la ventaja de la automatización. En el último taller de aFL todos los ensayos evaluados (clásicos y nuevos) tuvieron excelente sensibilidad y especificidad clínica⁽⁶⁾. El tema de los puntos de corte de los ensayos inmunológicos sigue siendo controvertido. La última recomendación sugiere calcular el percentilo 99 de la distribución de resultados en población normal^(4,7). Valores por encima de ese punto de corte se interpretarían como positivos. Sin embargo, para el ensayo de aCL la mejor recomendación es usar el punto de corte de 40 unidades GPL o MPL para definir el SAF. Además, debería determinarse el punto de corte clínico o sea aquél que tiene implicancia en el diagnóstico del SAF⁽⁸⁾. Valores entre el punto de corte negativo (< percentilo 99) y 40 unidades se deben informar como indeterminados (significación clínica incierta).

En 2009 se publicó una guía para la realización del AL que no reemplaza las anteriores sino más bien tiene el objetivo de reforzar algunos conceptos de la práctica diaria. Se enfatizan varios aspectos como la selección de pacientes para minimizar los pedidos inapropiados de AL, los métodos de procesamiento de las muestras de sangre; la elección de ensayos de detección se limita al dRVVT y APTT sensible a AL, el cálculo de los puntos de corte recomendados para cada etapa del diagnóstico de laboratorio y la interpretación de los resultados en situaciones generales y particulares⁽⁹⁾. Se debe considerar la presencia de un

AL débil cuando se obtiene prolongación de sólo una de las 2 ó 3 pruebas de detección usadas o las prolongaciones de las pruebas no son muy pronunciadas, aunque alcance para definir la presencia del AL. Hay que considerar que la expresión en las pruebas de coagulación de los aFL está directamente relacionada a la concentración de los anticuerpos (aCL y/o ab_2GPI) en sangre. La mayoría de los casos de pacientes con AL débil dan resultados negativos en los ensayos de ELISA. Los AL sin aCL y ab_2GPI tienden a ser transitorios y se negativizan a los 6-12 meses. El significado clínico del AL débil es de escasa relevancia y con bajo potencial como factor de riesgo⁽⁸⁾. El riesgo tromboembólico asociado a aCL y ab_2GPI se incrementa en forma paralela con el título de anticuerpos y cuando los pacientes tienen combinación de aFL. Distintos trabajos publicados en los últimos años han remarcado, a través de estudios prospectivos, que el perfil de positividad de los aFL es importante para definir el riesgo clínico de los pacientes. El concepto actual es que la triple positividad (AL + ab_2GPI + aCL) confiere un mayor riesgo al desarrollo del primer evento de trombosis o a la recurrencia tromboembólica⁽¹¹⁻¹³⁾. El perfil de aFL inicial es también importante para definir el comportamiento a futuro de positividad en los pacientes. El 98% de los pacientes con triple positividad confirman su patrón de resultados a los 12 meses, mientras que aquéllos con doble positividad lo hacen en el 84% de los casos y aquéllos con positividad simple solamente en el 40% de los casos⁽¹⁴⁾. El riesgo de eventos clínicos aumenta progresivamente con el número de ensayos

positivos de aFL y la positividad múltiple en aFL parece ser el único perfil que identifica pacientes de alto riesgo de trombosis. En base a estos hallazgos se ha propuesto recategorizar a los pacientes con aFL tanto con enfermedad trombotica como mujeres con complicaciones obstétricas⁽¹⁵⁾.

Es probable que la triple positividad sea debido a los ab_2GPI dirigidos contra el dominio I de la $\beta_2\text{GPI}$. La detección de los ab_2GPI -D1 parece ser un excelente biomarcador de riesgo y evaluación de SAF^(6,16).

La familia de aFL (**Tabla 1**) incluye además otros anticuerpos tales como aPT y anti-complejo PT-fosfatidilserina (aPT/PS). La triple positividad para AL, $\text{IgGa}\beta_2\text{GPI}$, e IgGaPT demostró el mayor riesgo anual de trombosis en un estudio prospectivo⁽¹⁷⁾ y los aPT-IgG en pacientes con LES demostraron ser un predictor muy útil de trombosis⁽¹⁸⁾. Recientemente se evaluó el potencial clínico de la combinación de 6 tipos de aFL y se halló que el perfil que identifica pacientes con el riesgo más alto de SAF es aquél que combina AL + ab_2GPI + aPS/PT en pacientes con LES⁽¹⁹⁾. La evaluación de aPS/PT podría ayudar a definir pacientes de riesgo. Hay algunos ensayos comerciales para la detección de aPS/PT y en un ensayo internacional multicéntrico demostró ser un marcador de confirmación de la presencia de AL y además se asoció fuertemente a la presencia de SAF y en particular el isotipo IgG ⁽²⁰⁾. Considerando el conocimiento actual y los diferentes perfiles de aFL se propone incluir en la definición del SAF la categorización del riesgo clínico (**Tabla 2**)^(21,22).

Tabla 1. Familia de anticuerpos antifosfolípidos y su prevalencia estimada en el síndrome antifosfolípido (SAF)

Anticuerpo	Incluido en los criterios del SAF	Prevalencia (%)
Inhibidor lúpico	Sí	~55
Anticardiolipina IgG/IgM	Sí	~80
Anti- β_2 glicoproteína I IgG/IgM	Sí	~40
Anticardiolipina IgA	No	10-40
Anti- β_2 glicoproteína I IgA	No	10-40
Anti-protrombina	No	~30
Anti-fosfatidilserina/protrombina	No	~50
Anti-fosfatidiletanolamina	No	~50
Anti-fosfatidilserina	No	~60
Anti-ácido fosfatídico	No	~70
Anti-fosfatidilinositol	No	~70
Anti-dominio I β_2 glicoproteína I	No	~40

Tabla 2. Propuesta actual de categorización del SAF

SAF definido	Al menos triple positividad de aFL (riesgo clínico alto)
SAF probable	Doble positividad de aFL (riesgo clínico moderado)
SAF posible o no-SAF	Positividad simple (riesgo clínico bajo)

Declaración de conflictos de interés:

El autor declara que no posee conflictos de interés.

Bibliografía

- Forastiero R. Antigen specificity of antiphospholipid syndrome-related antiphospholipid antibodies. *The Open Autoimmunity Journal*. 2010, 2:21-27.
- Ruiz-Irastorza G, Crowther M, Branch W, Khamashta MA. Antiphospholipid syndrome. *Lancet*. 2010,376:1498–1509.
- Wilson W, Gharavi A, Koike T, Lockshin M, Branch W, Piette J et al. International consensus statement on the preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome. *Arthritis Rheum*. 1999,42:1309-1311.
- Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost*. 2006,4:295-306.
- Lakos G, Favaloro E, Harris EN et al. International consensus guidelines on anticardiolipin and anti-bb₂-glycoprotein I testing. Report from the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. *Arthritis Rheum*. 2012,64:1-10.
- Forastiero R, Papalardo E, Watkins M et al. Evaluation of different Immunoassays for the detection of antiphospholipid antibodies: Report of a wet workshop during the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. *Clin Chim Acta*. 2014,428:99-105.
- Bertolaccini ML, Amengual O, Andreoli L et al. APS Task Force on Laboratory Diagnostics and Trends: report from the 14th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Rio de Janeiro, Brazil, September 2013. *Autoimmun Rev*. 2014,13:917-930.
- Forastiero R. Punto de corte de ensayos para anticuerpos antifosfolípidos y valor clínico del anticoagulante lúpico débil. *Hematología*. 2013,17:142-146.
- Pengo V, Tripodi A, Reber G et al. On behalf of the Scientific and Standardization Committee on Lupus Anticoagulant/Phospholipid- dependent antibodies. Update of the Guidelines for Lupus Anticoagulant detection. *J Thromb Haemost*. 2009, 7:1737-1740.
- Martinuzzo ME, Cerrato GS, Iglesias Varela ML, Adameczuk YP, Forastiero RR. New guidelines for LA: sensitivity and specificity of cut off values calculated with plasmas from healthy controls in mixing and confirmatory tests. *Int J Lab Hematol*. 2012,34:208-213.
- Hernández-Molina G, Espericueta-Arriola G, Cabral AR. The role of lupus anticoagulant and triple marker positivity as risk factors for rethrombosis in patients with primary antiphospholipid syndrome. *Clin Exp Rheumatol*. 2013, 31: 382-388.
- Pengo V, Ruffatti A, Legnani C et al. Clinical course of high-risk patients diagnosed with antiphospholipid syndrome. *J Thromb Haemost*. 2010,8:237-242.
- Pengo V, Ruffatti A, Legnani C et al. Incidence of a first thromboembolic event in asymptomatic carriers of high-risk antiphospholipid antibody profile: a multicenter prospective study. *Blood*. 2011;1,8:4714-4718.
- Pengo V, Ruffatti A, Del Ross T et al. Confirmation of the initial of the antiphospholipid antibody positivity depends on antiphospholipid antibody profile. *J Thromb Haemost*. 2013,11:1053-1058.

15. Pengo V, Banzato A, Bison E, Denas G, Padayattil S, Ruffatti A. Antiphospholipid syndrome: critical analysis of the diagnostic path. *Lupus*. 2010,19:428-431.
16. de Groot P, Urbanus R. The significance of autoantibodies against β_2 glycoprotein I. *Blood*. 2012,120:266-274.
17. Forastiero R, Martinuzzo M, Pombo G et al. A prospective study of antibodies to β_2 glycoprotein I and prothrombin and risk of thrombosis. *J Thromb Haemost*. 2005,3:1231-1238.
18. Bizzaro N, Ghirardello A, Zampieri S et al. Anti-prothrombin antibodies predict thrombosis in patients with systemic lupus erythematosus: a 15-year longitudinal study. *J Thromb Haemost*. 2007,5:1158-1164.
19. Sciascia S, Murru V, Sanna G et al. Clinical accuracy for diagnosis of antiphospholipid syndrome in systemic lupus erythematosus: evaluation of 23 possible combinations of antiphospholipid antibody specificities. *J Thromb Haemost*. 2012,10:2512-2518.
20. Amengual O, Forastiero R, Sugiura-Ogasawara M et al. International multicentre study to assess the role of phosphatidylserine-dependent anti prothrombin antibodies for antiphospholipid syndrome diagnosis. *Lupus*. 2016 (in press).
21. Forastiero R. Multiple antiphospholipid antibodies positivity and antiphospholipid syndrome criteria re-evaluation. *Lupus*. 2014,23:1252-1254.
22. Forastiero R, Martinuzzo M. The emerging role of multiple antiphospholipid antibodies positivity in patients with antiphospholipid syndrome. *Expert RevClin Immunol*. 2015,11:1255-1263.