

Desafíos en la interpretación del perfil de los anticuerpos antifosfolípidos

Challenges in the interpretation of antiphospholipid antibodies profile

Forastiero R

MedicaTec SRL, ManLab, Buenos Aires, Argentina

ricardoforastiero@gmail.com



**SIMPOSIO II
ANTICUERPOS
ANTIFOSFOLÍPIDOS:
DE LA MESADA A LAS
DECISIONES CLÍNICAS.
PARTE 1: DE LA MESADA**

HEMATOLOGÍA
Volumen 22 • Número Extraordinario
XIII Congreso del Grupo CAHT: 68-72
Septiembre 2018

Palabras claves: síndrome antifosfolípido, trombosis, anticuerpos antifosfolípidos.

Keywords: antiphospholipid syndrome, thrombosis, antiphospholipid antibodies.

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 en-

fermedad de base, se comenzó a denominar a esos inhibidores circulantes como inhibidor o anticoagulante lúpico (AL). 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) remplazado 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 β_2 glicoproteína I (β_2 GPI) 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- β_2 GPI (a β_2 GPI) 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⁽³⁾. Los aFL presentes en pacientes con SAF están dirigidos principalmente contra 2 proteínas plasmáticas: β_2 GPI y protrombina. Por el contrario, los aFL que se encuentran en individuos con infecciones están dirigidos particularmente contra estructuras fosfolipídicas. La excepción más categórica es en la lepra, donde los aFL están dirigidos en su mayoría contra β_2 GPI. Hace 12 años el consenso de expertos actualizó 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 a β_2 GPI. 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 a β_2 GPI de isotipo IgG y/o IgM deben estar presentes en títulos moderados o altos^(5,6). La presencia en forma persistente de al menos uno de los 3 aFL mencionados es suficiente para el diagnóstico de SAF cuando se presentan en individuos con complicaciones trombóticas y/u obstétricas⁽⁴⁾.

Rol clínico creciente del perfil de aFL

En los criterios revisados del SAF en 2006⁽⁴⁾, se recomendó la clasificación de los pacientes teniendo en cuenta la existencia de al menos 2 aFL positivos en forma simultánea (tipo I) o cuando están en forma aislada (tipo IIa, IIb o IIc). El objetivo fue evaluar si el riesgo clínico en pacientes con distintos perfiles de aFL es diferente. Desde el punto de vista clínico es muy importante conocer si los individuos con los mismos rasgos clínicos, pero con perfiles de laboratorio diferentes, son comparables o no en su riesgo a futuro de recurrencias de eventos.

Los primeros estudios publicados demostraron que la presencia de AL o de aCL a títulos mayores de 40 unidades GPL correlacionaban con los rasgos clínicos del SAF⁽²⁾. Sin embargo, la persistencia en los pacientes de AL aislado y actividad funcional débil es considerada de menor significación clínica⁽⁷⁾. La definición de AL débil no está definida, pero se considera 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 a β_2 GPI) 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 a β_2 GPI tienden a ser transitorios y se negativizan a los 6-12 meses. El riesgo tromboembólico 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 transcendental para definir el riesgo clínico de los pacientes. El concepto más aceptado es que la triple positividad (AL + a β_2 GPI + aCL) confiere un mayor riesgo al desarrollo

del primer evento de trombosis o a la recurrencia tromboembólica⁽⁸⁻¹⁰⁾.

El perfil de aFL inicial es también importante en 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 simple positividad solamente en el 40% de los casos⁽¹¹⁾. 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 la última década se han estudiado y publicado varios estudios en donde se determinaron otros integrantes de la familia de aFL que no forman parte de los criterios de laboratorio del SAF. En particular,

se ha demostrado que la actividad de los $\alpha\beta_2$ GPI de la mayoría de los pacientes con SAF está dirigida contra un epítopo localizado en el dominio I de la proteína. Actualmente los $\alpha\beta_2$ GPI-D1 específicos pueden ser detectados en forma automatizada por inmunoensayos de quimioluminiscencia. Es probable que la triple positividad sea debida a los $\alpha\beta_2$ GPI dirigidos contra el dominio I de la β_2 GPI. La detección de los $\alpha\beta_2$ GPI-D1 parece ser un excelente biomarcador de riesgo y evaluación de SAF^(12,13). Sin embargo, aún faltan estudios prospectivos que avallen los datos previos.

La familia de aFL (**Tabla 1**) incluye, además, otros anticuerpos que no son parte de los criterios de laboratorio del SAF, tales como aPT y anti-complejo PT-fosfatidilserina (aPT/PS)^(1,2). Hay varios estudios publicados recientemente que remarcan la utilidad clínica de la detección de estos aFL.

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

Anticuerpo	Incluido en los criterios del SAF	%
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

La triple positividad para AL, IgG $\alpha\beta_2$ GPI, e IgG aPT demostró el mayor riesgo anual de trombosis en un estudio prospectivo⁽¹⁴⁾ y los aPT-IgG en pacientes con LES demostraron ser un predictor muy útil de trombosis⁽¹⁵⁾. Evaluando el potencial clínico de la combinación de 6 tipos de aFL se halló que el perfil que identifica pacientes con el riesgo más alto de SAF es aquél que combina AL + $\alpha\beta_2$ GPI + aPS/PT en pacientes con LES⁽¹⁶⁾. La evaluación de aPS/PT podría ayudar a definir pacientes de riesgo.

Hay algunos ensayos comerciales de ELISA 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⁽¹⁷⁾. En un estudio prospectivo publicado en 2017, incluimos 180 pacientes seguidos durante una media de 31 meses donde, además de los aFL incluidos en el SAF, se evaluaron los aPS/PT. En 29 pacientes (16%) se produjo al menos un episodio

de trombosis (16 venosos y 13 arteriales) durante el seguimiento. En 10 casos fue primer evento y en 19 recurrencias. La incidencia de trombosis fue de 4.7%/pacientes/año. La mayor incidencia de trombosis (HR 2.9, CI95% 1.2-3.9) se encontró en pacientes con AL/aCL/ a β_2 GPI y resultados positivos para aPS/PT en comparación con pacientes con triple o doble positividad⁽¹⁸⁾.

La evaluación de estos nuevos anticuerpos a β_2 GPI-D1 y aPS/PT parece ser significativa y luego de estudios

clínicos adicionales quizás puedan ser incluidos como criterios secundarios del diagnóstico de laboratorio del SAF. En forma preliminar, y considerando los diferentes perfiles de aFL, se ha propuesto recategorizar a los pacientes con aFL tanto con enfermedad trombótica como mujeres con complicaciones obstétricas (**Tabla 2**)^(19,20). En una reciente comunicación se han resumido algunas consideraciones del diagnóstico de laboratorio del SAF⁽²¹⁾.

Tabla 2. Propuesta de categorización del SAF

SAF	Al menos triple positividad de aFL (riesgo clínico alto)
Probable SAF	Doble positividad de aFL (riesgo clínico moderado)
Posible o no-SAF	Simple positividad (riesgo clínico bajo)

Algunos grupos de investigadores han propuesto cuantificar el riesgo de eventos clínicos en el SAF usando un índice de aFL (aPL-S) incluyendo la evaluación múltiple de aFL (AL/aCL/ a β_2 GPI/aPS/PT) y asignando un valor clínico determinado para cada ensayo y su título. Se ha demostrado que la asociación con los rasgos clínicos del SAF aumenta en forma correlativa con el índice de aPL-S y sería un marcador cuantitativo muy útil en el SAF. En una reciente publicación se añadió la evaluación de a β_2 GPI-D1 en el aPL-S en una cohorte de 157 pacientes con SAF y 106 con enfermedades autoinmunes sin SAF. La conclusión fue que la combinación de estos nuevos aFL mostró el mayor valor predictivo positivo para SAF y una fuerte correlación con el aPL-S⁽²²⁾, lo que permite identificar pacientes con mayor riesgo en la práctica clínica. Existe además otro índice denominado GAPSS (Global APS Score) que toma en cuenta el perfil de aFL (AL/aCL/ a β_2 GPI/aPS/PT) y los factores de riesgo cardiovasculares clásicos (hiperlipidemia, hipertensión arterial). En una reciente revisión los autores evaluaron 10 estudios que incluían 2273 pacientes⁽²³⁾. Siete estudios usaban el GAPSS tradicional y 3 el aGAPSS (ajustado sin evaluar aPS/PT). En pacientes con trombosis venosa y/o arterial el GAPSS promedio fue de 10.6, en individuos sin manifestaciones clínicas trombóticas de 7.01 y en mujeres con morbilidad obstétrica de 8.79. Los mayores valores de estos índices fueron encontrados en pacientes con trombosis arterial (12.2) y en aquéllos con recurrencias de manifestaciones clínicas (13.7). Por lo tanto, el GAPSS parece ser una herramienta muy útil para establecer el riesgo de trombosis o pérdidas fetales en pacientes con aFL.

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.
- García D, Erkan D. Diagnosis and Management of the Antiphospholipid Syndrome. *N Engl J Med*. 2018; 378: 2010-2021.
- Wilson W, Gharavi A, Koike T y col. International consensus statement on the preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome. *Arthritis Rheum*. 1999; 42: 1309-1311.
- Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T y col. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost*. 2006; 4: 295-306.
- Forastiero R, Papalardo E, Watkins M y col. 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 y col. 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.
- Pengo V, Testa S, Martinelli I y col. Incidence of a first thrombotic event in carriers of isolated lupus anticoagulant. *Thromb Res*. 2015; 135: 46-49.
- 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 y col. Clinical course of high-risk patients diagnosed with antiphospholipid syndrome. *J Thromb Haemost*. 2010; 8: 237-242.

10. Pengo V, Ruffatti A, Legnani C y col. Incidence of a first thromboembolic event in asymptomatic carriers of high-risk antiphospholipid antibody profile: a multicenter prospective study. *Blood*. 2011; 118: 4714-4718.
11. Pengo V, Ruffatti A, Del Ross T y col. Confirmation of the initial of the antiphospholipid antibody positivity depends on antiphospholipid antibody profile. *J Thromb Haemost*. 2013; 11: 1053-1058.
12. de Groot P, Urbanus R. The significance of autoantibodies against to β_2 glycoprotein I. *Blood*. 2012, 120: 266-274.
13. Mahler M, Norman G, Meroni P, Khamashta M. Autoantibodies to domain 1 of beta 2 glycoprotein 1: A promising candidate biomarker for risk management in antiphospholipid syndrome. *Autoimmun Rev*. 2012; 12: 313-317.
14. Forastiero R, Martinuzzo M, Pombo G y col. A prospective study of antibodies to β_2 glycoprotein I and prothrombin and risk of thrombosis. *J Thromb Haemost*. 2005; 3: 1231-1238.
15. Bizzaro N, Ghirardello A, Zampieri S y col. Anti-prothrombin antibodies predict thrombosis in patients with systemic lupus erythematosus: a 15-year longitudinal study. *J Thromb Haemost*. 2007; 5: 1158-1164.
16. Sciascia S, Murru V, Sanna G y col. 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.
17. Amengual O, Forastiero R, Sugiura-Ogasawara M y col. Evaluation of phosphatidylserine-dependent antiprothrombin antibody testing for the diagnosis of antiphospholipid syndrome: results of an international multicentre study. *Lupus*. 2017; 26: 266-276.
18. Forastiero R, Martinuzzo M, Rossi A, Puente D, Colorio C. Impact of adding antiphosphatidylserine/prothrombin antibodies in the thrombotic risk of patients with APS laboratory criteria: a prospective study. XXVth Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. Berlin, Germany. *Res Pract Thromb Haemost*. 2017; 1: 1093 (PB 1447).
19. Forastiero R. Multiple antiphospholipid antibodies positivity and antiphospholipid syndrome criteria re-evaluation. *Lupus*. 2014; 23: 1252-1254.
20. Forastiero R, Martinuzzo M. The emerging role of multiple antiphospholipid antibodies positivity in patients with antiphospholipid syndrome. *Expert Rev Clin Immunol*. 2015; 11: 1255-1263.
21. Devreese K, Ortel T, Pengo V, de Laat B. Laboratory criteria for antiphospholipid syndrome: communication from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost*. 2018; 16: 809-813.
22. Nakamura H, Oku K, Amengual O y col. First-Line, Non-Criteria Antiphospholipid Antibody Testing for the Diagnosis of Antiphospholipid Syndrome in Clinical Practice: A Combination of Anti- β_2 -Glycoprotein I Domain I and Anti-Phosphatidylserine/Prothrombin Complex Antibodies Tests. *Arthritis Care Res*. 2018;70: 627-634.
23. Sciascia S, Radin M, Sanna G, Cecchi I, Roccatello D, Bertolaccini ML. Clinical utility of the global anti-phospholipid syndrome score for risk stratification: a pooled analysis. *Rheumatology (Oxford)*. 2018; 57: 661-665.