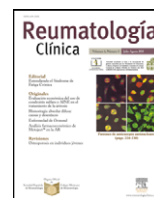


Reumatología Clínica

www.reumatologiaclinica.org



Formación médica continuada

Mecanismos patogénicos de los anticuerpos antifosfolípidos[☆]

Carlos A. Núñez-Álvarez y Javier Cabiedes*

Laboratorio de Inmunología, Departamento de Inmunología y Reumatología, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, México D.F., México

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 2 de octubre de 2009
Aceptado el 9 de octubre de 2009
On-line el xxx

Palabras clave:

Síndrome de antifosfolípidos
Anticuerpos antifosfolípidos
Anticuerpos anti- β_2 Glicoproteína-I

R E S U M E N

El síndrome de antifosfolípidos (SaF) es una enfermedad autoinmune caracterizada por abortos recurrentes, eventos trombóticos (arteriales o venosos) y hemocitopenias asociadas con títulos altos de aFL séricos. Se han descrito dos presentaciones de SaF: el SaF primario, que se presenta como entidad única y el SaF secundario o asociado principalmente a LEG.

Los aFL son un grupo heterogéneo de inmunoglobulinas dirigidas contra diversos componentes o factores proteicos. En 1990, tres grupos de investigadores identificaron a la β_2 GP-I como el principal blanco antigénico de los aFL presentes en los pacientes con SaF. Diversos trabajos han mostrado que existe más de un mecanismo patogénico involucrado en el desarrollo del SaF. Las manifestaciones clínicas mejor documentadas son los abortos recurrentes y las alteraciones trombóticas. Lo anterior se fundamenta en las evidencias observadas in vivo en modelos animales e in vitro causadas por los anticuerpos anti- β_2 GP-I ($\alpha\beta_2$ GP-I) de pacientes con SaF o de origen animal.

La presente revisión tiene como objetivo mostrar los mecanismos patogénicos que participan en el desarrollo del SaF. Presentamos, además, las evidencias que muestran que los $\alpha\beta_2$ GP-I inducen un estado proinflamatorio, proadhesivo y procoagulante.

© 2009 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Pathogenic mechanisms of the anti-phospholipid antibodies

A B S T R A C T

The antiphospholipid syndrome (APS) is an autoimmune disease characterized by recurrent fetal loss, thrombotic events (arterial or venous) and hemocytopenic disorders associated to high titers of circulating aPL. Two variants of the APS have been described. Primary APS is a clinical entity without evidence of any other autoimmune disease and secondary APS is a clinical disorder mainly associated with Systemic Lupus Erythematosus (SLE). aPL are a widely group of immunoglobulins directed against different components or proteins factors. In 1990 three groups of researchers identified that β_2 GP-I is the mainly antigenic target of aPL in APS patients. There are evidences that show that more than one pathogenic mechanism is involved in the development of the APS. The best documented clinical manifestations associated with the APS are recurrent fetal loss and thrombotic disorders. The latter is based on observations in vivo in animal models and in vitro on the effects caused by $\alpha\beta_2$ GP-I antibodies from patients with APS or from animals which cause experimental APS.

The objective of the present paper is to show the pathogenic mechanisms that participate in the development of the APS. We also presented evidence that shows that $\alpha\beta_2$ GP-I induces pro-inflammatory, pro-adhesive and pro-coagulant disorder.

© 2009 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Keywords:

Antiphospholipid syndrome
Antiphospholipid antibodies
Anti- β_2 Glycoprotein-I antibodies

Introducción

La primera descripción del síndrome de antifosfolípidos (SaF) la hizo en 1963 Bowie et al en un grupo de pacientes con lupus eritematoso generalizado (LEG) que desarrollaron eventos trombóticos, a pesar de tener en circulación anticoagulante lúpico circulante¹. Dos décadas más tarde, en un estudio realizado en pacientes con LEG se observó que los fenómenos trombóticos se asociaban a la presencia de anticuerpos anticardiolipina (aCL)

[☆] Nota: Sección acreditada por el SEAFORMEC. Para más información consultar en <http://www.reumatologiaclinica.org>.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: cabiedesj@yahoo.com (J. Cabiedes).

circulantes², por lo que Graham Hugues lo definió como síndrome de aCL³. Sin embargo, posteriormente se demostró que los sueros de estos pacientes reaccionaban no solo contra CL, sino que también lo hacían contra otros fosfolípidos; por lo que el nombre del síndrome se modificó extendiéndose a SaF. Posteriormente, observaron que además de los eventos trombóticos (venosos o arteriales), la presencia de aCL se asociaba con pérdidas fetales recurrentes, alteraciones neurológicas, trombocitopenia, anemia hemolítica y *Livedo reticularis*; manifestaciones que forman parte de los criterios de clasificación de los pacientes con SaF, el cual se puede asociar con otras enfermedades autoinmunes. La asociación mejor estudiada es con LEG, que se define como SaF secundario (SaFS)⁴, o en pacientes con manifestaciones clínicas del SaF pero sin manifestaciones de otro padecimiento autoinmune, el cual se conoce como SaF primario (SaFP)⁵⁻⁷. En 1990, 3 grupos de investigadores de manera casi simultánea demostraron que el principal blanco antigénico de los anticuerpos antifosfolípidos (aFL) es la β_2 -glicoproteína-I (β_2 GP-I)⁸⁻¹⁰. Dicho suceso cambió el rumbo de las investigaciones relacionadas con el SaF y, en consecuencia, el estudio de la β_2 GP-I en la patogenia del SaF despertó un gran interés.

En el presente trabajo, revisamos aspectos relevantes de las evidencias relacionadas con los posibles mecanismos patogénicos de los aFL o β_2 GP-I en la patogenia del SaF.

Síndrome de antifosfolípidos

El SaF es un padecimiento autoinmune de etiología desconocida, que es el resultado de la interacción de factores ambientales (v. g. infecciones), hormonales (v. g. mayor prevalencia en mujeres) y genéticos (asociación con moléculas del CPH v. g. HLA-DR4, -DR7, -DR53). Actualmente, el SaF se define como la entidad clínica que se asocia con la presencia de eventos trombóticos (arteriales y/o venosos), abortos de repetición, *Livedo reticularis*, trombocitopenia, anemia hemolítica y alteraciones neurológicas con títulos altos de aFL circulantes¹¹.

Anticuerpos antifosfolípidos

Los aFL son una familia heterogénea de inmunoglobulinas que reconocen diferentes componentes o factores proteicos (v. g. anexina V, protrombina, proteína C, proteína S, entre otros), de los cuales los de mayor relevancia son los dirigidos contra la β_2 GP-I. Como consecuencia de la importante asociación de los $\alpha\beta_2$ GP-I de isotipo IgG/IgM, estos fueron incluidos como parte de los criterios de clasificación para el SaF en el 2006¹². Es importante mencionar que el término que se le dio a la β_2 GP-I como cofactor de los aFL es incorrecto, ya que por definición un cofactor es una molécula orgánica pequeña necesaria para la actividad de las enzimas. Por ello, no debe emplearse para definir a las moléculas que reconocen los aFL asociados a enfermedades autoinmunes. Adicionalmente, la importancia de los $\alpha\beta_2$ GP-I fue demostrada también en nuestro laboratorio en 1995 en pacientes con SaF¹³. En el presente trabajo revisamos los mecanismos patogénicos de los $\alpha\beta_2$ GP-I en el SaF que tienen mayor sustento científico.

β_2 Glicoproteína-I (β_2 GP-I)

La β_2 GP-I o apolipoproteína H es una proteína plasmática presente en todos los individuos a concentración aproximada de 200 μ g/ml. Estudios realizados en nuestro laboratorio muestran una mayor concentración en individuos sanos de sexo femenino¹⁴. La β_2 GP-I es una cadena polipeptídica altamente glicosilada constituida por 326 aminoácidos, su peso molecular es de 50 kDa y aproximadamente el 30% de su peso lo constituyen los carbohidratos. El gen de la β_2 GP-I se localiza en el cromosoma 17q23-qter. La

β_2 GP-I posee 5 dominios homólogos de aproximadamente 60 aminoácidos cada uno. El sitio de unión de la β_2 GP-I a fosfolípidos de carga negativa (v. g. cardiolipina, fosfatidilserina y fosfatidilinositol) u otras moléculas como el heparán sulfato, se localiza en el quinto (v) dominio (secuencia de aminoácidos ²⁸¹CKNKEKCC²⁸⁸) debido a que los 4 residuos de lisina (K) le confieren a dicha secuencia una carga positiva. No obstante, la β_2 GP-I fue descrita desde 1961 y su papel fisiológico no fue identificado hasta que se asoció con los aFL⁸⁻¹⁰. Así comenzó a entenderse que participa en los procesos fisiológicos de anticoagulación¹⁵.

Mecanismos patogénicos de los aFL

De acuerdo con el trabajo de Espinoza et al¹⁶, los posibles mecanismos patogénicos de los aFL se pueden agrupar de manera general en: 1) efecto sobre los mecanismos procoagulantes y anticoagulantes que se llevan a cabo en las membranas de algunas células y 2) activación de células blanco e inducción de la expresión y secreción de diversas moléculas.

En el estudio de los mecanismos patogénicos de los aFL, los diferentes grupos de investigadores han centrado su atención en los eventos trombóticos y en los abortos asociados a los aFL. Sin embargo, debido a la heterogeneidad de las manifestaciones clínicas, es probable que más de un mecanismo fisiopatológico participe en el desarrollo de la enfermedad.

Está claro que el SaF es una enfermedad mediada por anticuerpos. Dicha afirmación se basa en una perspectiva enfocada hacia el profundo y exhaustivo estudio de los aFL. Sin embargo, actualmente existen evidencias que muestran que los elementos de la respuesta inmune celular, específicamente linfocitos T CD4⁺, complementan o desempeñan una importante función en los mecanismos fisiopatogénicos que ocurren en el SaF.

Alteración de los mecanismos de coagulación/ anticoagulación

Las evidencias experimentales muestran que algunos pacientes con SaF pueden tener anticuerpos que reconocen proteína C, proteína S y trombomodulina^{17,18}, alterando los sistemas de coagulación/anticoagulación en los que participan generando un estado protrombótico. Además, se ha demostrado que la β_2 GP-I inhibe la unión de la proteína C a fosfolípidos, favoreciendo dicho evento¹⁹. Cosgriff en 1981 reportó que la actividad anti-trombina III (inhibidor principal de los factores IXa, Xa y trombina) puede estar alterada en pacientes con SaF²⁰.

Otra molécula involucrada es la anexina V (proteína que tiene un papel trombomodulador en la circulación placentaria y tiene una alta afinidad por fosfolípidos de carga negativa). En el 2000, Lakos et al informaron de que algunos pacientes con SaF presentan en circulación anticuerpos dirigidos contra anexina V²¹. La presencia de anticuerpos anti-anexina V es controvertido. En 2001, Pasquier et al y Nojima et al midieron anticuerpos anti-anexina V en pacientes con SaF y no encontraron asociación alguna^{22,23}.

Por otro lado, si bien se ha demostrado que la β_2 GP-I posee propiedades anticoagulantes, la unión de los $\alpha\beta_2$ GP-I a la β_2 GP-I aumenta la afinidad de esta última a los fosfolípidos aniónicos de las membranas celulares; con lo que compiten la β_2 GP-I libre con el complejo $\alpha\beta_2$ GP-I/ β_2 GP-I por los fosfolípidos con carga negativa, alterando las reacciones hemostáticas.

Monocitos, células endoteliales y daño tisular asociado a la presencia de aFL

Una proteína clave en la activación de la cascada de la coagulación es el factor tisular (FT), el cual forma complejos con el factor

viii y fosfolípidos, activando a los factores ix y x. Cuando el endotelio vascular se encuentra íntegro, no hay expresión del FT en la superficie de las células. Sin embargo, cuando se activa bajo ciertos estímulos o se pierde su integridad, se expresa el FT en las células endoteliales y en los monocitos circulantes. Reverter et al demostraron en ensayos in vitro que hay aumento en la expresión de FT en monocitos en presencia de aCL de isotipo IgG, provenientes de pacientes con SaF que habían presentado episodios trombóticos. En contraste, el efecto no se presentó en presencia de anticuerpos aCL de isotipo IgG purificados de pacientes con LEG que no habían presentado eventos trombóticos^{24,25}. Adicionalmente, el aumento de FT también se produjo en presencia de anticuerpos $\alpha\beta_2$ GP-I provenientes de pacientes con SaF. Dobado-Barrios et al mostraron en 1999 que los niveles de RNAm del FT en células mononucleares de pacientes con SaFP estaban aumentados, en comparación con las células mononucleares de sujetos sanos, y que los niveles de expresión eran mayores en aquellos pacientes que habían presentado eventos trombóticos²⁶. Con relación a las células endoteliales (CE), las cuales participan directamente en la regulación de la hemostasia, la presencia de $\alpha\beta_2$ GP-I de isotipo IgG purificados de pacientes con SaF indujo la expresión de FT y de moléculas de adhesión (E-selectina, ICAM-2 y VCAM-1); lo que favorece un estado procoagulante^{27,28}. Adicionalmente, Meroni et al demostraron en cultivos de CE que el incremento de moléculas de adhesión se ve acompañado de aumento en la expresión de las citocinas proinflamatorias IL-1 β e IL-6²⁹. Pierangeli et al demostraron, de manera elegante, en un modelo murino de SaF que la presencia de $\alpha\beta_2$ GP-I purificados de pacientes con SaF induce la expresión de moléculas de adhesión y la adhesión de leucocitos al endotelio vascular³⁰.

Por otro lado, varios grupos han demostrado la participación del sistema del complemento, específicamente la activación de C3, C4 y C5, en la resorción fetal y en eventos trombóticos en modelos murinos³¹⁻³⁴.

Recientemente, se ha demostrado daño tisular a nivel placentario en la pérdida fetal asociada al SaF. Di Simone et al mostraron en un sistema in vitro la unión de $\alpha\beta_2$ GP-I a citotrofoblastos, lo que afecta a su capacidad invasiva³⁵. Además, la unión de los $\alpha\beta_2$ GP-I disminuyó la síntesis de gonadotropina coriónica humana (GCH). Durante su proceso de maduración, los trofoblastos exponen en la cara externa de la membrana citoplásmica fosfolípidos de carga negativa, lo que favorece la unión del complejo $\alpha\beta_2$ GP-I/ β_2 GP-I. La formación del complejo inmune activa el proceso trombótico con activación de las plaquetas vía los receptores Fc γ II de alta afinidad por la porción Fc de los complejos inmunes³⁶ y, de manera conjunta, diversos mecanismos que favorecen los eventos trombóticos.

Inmunidad celular y SaF

La primera evidencia que muestra la importancia de los linfocitos T en el SaF fue reportada por Blank et al en 1995. La doctora Blank et al documentaron que la transferencia de células de médula ósea con linfocitos T o depletadas de estos, provenientes de ratones con SaF experimental, a ratones singénicos irradiados induce el desarrollo de manifestaciones clínicas del SaF (trombocitopenia, prolongación del tiempo de tromboplastina parcial activada y resorción fetal) solo en aquellas ratonas a las que se les transfirió células de médula ósea que contenían linfocitos T³⁷. Aunado a lo anterior, los pacientes con SaF presentaban $\alpha\beta_2$ GP-I circulantes de isotipos IgG e IgA, lo que sugería, desde antes de los experimentos publicados por Blank, que existe colaboración entre los linfocitos T y B en la activación de la respuesta autoinmune en pacientes con SaF. Lo anterior ha sido confirmado in vitro, en ensayos en los cuales se ha podido constatar que las células mononucleares de sangre periférica (CMNSP) de pacientes con SaF tienen un efecto

proliferativo mayor en presencia de β_2 GP-I que las CMNSP de sujetos sanos³⁸. Estudios realizados en nuestro laboratorio confirman el fenómeno³⁹, ya que en ausencia de linfocitos T CD4⁺ disminuye de manera significativa el efecto proliferativo específico inducido por la β_2 GP-I. Arai et al en 2001 mostraron que el efecto proliferativo de la β_2 GP-I se localiza en el V dominio, en el sitio de unión a fosfolípidos⁴⁰. Otro segmento de la proteína que es importante en la activación celular es el que incluye al aminoácido de la posición 247^{40,41}, en la cual existe un polimorfismo de los aminoácidos leucina y valina. Un trabajo realizado por Ito et al muestra una mayor proliferación de CMNSP contra un péptido que contiene dicho polimorfismo (aminoácidos 244-264)⁴¹. En 2003, documentamos que existe asociación entre el polimorfismo valina en la posición 247 de la β_2 GP-I con títulos altos de $\alpha\beta_2$ GP-I de isotipo IgG y eventos trombóticos⁴².

En el estudio de Arai et al⁴⁰, detectaron en los sobrenadantes de cultivos de CMNSP provenientes de pacientes con SaF, una elevada producción de IL-6 e INF γ y anticuerpos $\alpha\beta_2$ GP-I generados in vitro. La inhibición de la IL-6 con anticuerpos monoclonales (AcMo) específicos inhibió la producción de $\alpha\beta_2$ GP-I, en tanto que la inhibición del INF γ con AcMo específicos no afectó a la síntesis de estos. En nuestro laboratorio, obtuvimos y caracterizamos clonas de linfocitos B de una paciente con SaF que presentaba constantemente títulos altos de $\alpha\beta_2$ GP-I de isotipos IgG, IgA e IgM séricos⁴³. Los cultivos de las células B transformadas con el virus de Epstein-Barr mostraron una alta producción de IL-6, la cual se asoció con la producción in vitro de $\alpha\beta_2$ GP-I⁴³.

Además de los linfocitos T y B, existen otras células que participan en el desarrollo de las manifestaciones clínicas del SaF. Recientemente, el grupo de Salmon et al documentó la importancia de los neutrófilos en la generación de resorción fetal³³. En un modelo murino de SaF experimental, mostraron que la ausencia de neutrófilos disminuyó la resorción fetal inducida por aFL de isotipo IgG provenientes de pacientes con SaF³³.

Citocinas

El papel de las citocinas también ha sido evaluado en el SaF. El número de estudios al respecto es menor, comparado con los estudios de aFL. Una de las características que convergen entre la respuesta inmune celular y humoral es la regulación por citocinas, las cuales regulan la respuesta inmunológica. Actualmente, se sabe que diversos estímulos tienen efectos sobre el balance o la generación de citocinas pro o antiinflamatorias y en base a dicha síntesis se han clasificado en Th1, Th2⁴⁴ y recientemente en Th17⁴⁵. El papel de las citocinas en el SaF fue demostrado por Krause et al en 1999⁴⁶ en un modelo de SaF experimental. Krause indujo SaF inyectando a ratones BALB/c con un AcMo con actividad aCL, denominada H3, el cual fue obtenido de un sujeto sano. La actividad del AcMo H3 fue neutralizada con un anticuerpo antiidiotipo (anti-H3). Como control administraron un anticuerpo antiidiotipo irrelevante. El tratamiento con el anti-H3 disminuyó significativamente el número de células Th2 (productoras de IL-4 e IL-6) y aumentó las Th1 (productoras de IL-2 e INF γ), con lo que demostraron la importancia del balance Th1/Th2. En el mismo año, Visvanthan y McNeil mostraron en cultivos de CMNSP provenientes de pacientes con SaF una mayor producción in vitro de INF γ que de IL-4, lo que sugiere una polarización Th1⁴⁷. Los autores sugieren que la producción aumentada de INF γ podría estar relacionada con las pérdidas fetales asociadas al SaF, ya que durante el embarazo la producción de citocinas es polarizada hacia una respuesta Th2. Karakantza et al mostraron in vitro un incremento en la producción de INF γ por linfocitos T CD4⁺ de pacientes con SaF⁴⁸. Lo anterior puede estar apoyado también por una alta producción de TNF α , como demostró Berman en 2005 en un modelo de ratones deficientes de TNF α , en los cuales

hubo un bajo porcentaje de resorción fetal cuando se les administró aFL purificados de pacientes con SaF⁴⁹.

Por el contrario, Ito et al estimularon CMNSP de pacientes con SaF con β_2 GP-I purificada humana y observaron una alta producción de INF γ e IL-4 in vitro, respuesta conocida como Th0⁴¹. Un año más tarde, Arai et al reportaron una alta producción de INF γ e IL6 (patrón Th0) por clonas de linfocitos T CD4⁺ autorreactivos⁴⁰.

La regulación por citocinas en el SaF juega un papel importante. Sin embargo, los resultados publicados son muy heterogéneos, probablemente debido a las características *per se* del síndrome. Sin embargo, cabe destacar varios puntos: 1) los estudios documentados se han realizado principalmente in vitro; 2) la heterogeneidad de los experimentos dificulta el análisis de los resultados (v. g. cultivos estimulados con β_2 GP-I nativa y/o desnaturalizada, citocinas determinadas, entre otros) y 3) los patrones de citocinas en los modelos murinos son más consistentes que en el humano. Los avances en el estudio del SaF y la participación de elementos de la respuesta inmune requieren de más estudios para una mejor interpretación de los fenómenos.

El SaF como estado proinflamatorio

El SaF era considerado como una entidad clínica no inflamatoria. Sin embargo, las evidencias recientes sugieren que es una entidad o estado proinflamatorio. Recientemente, Hamid et al estudiaron la expresión de 18.400 genes in vitro en células endoteliales provenientes de cordón umbilical (HUVEC)⁵⁰. Incubaron dichas células con $\alpha\beta_2$ GP-I de isotipo IgG purificados de pacientes con SaFP, posteriormente aislaron el RNA total y mediante microarreglos analizaron el patrón de expresión de los genes. Comparado con los anticuerpos control, donde no se observó expresión importante de genes, la presencia de $\alpha\beta_2$ GP-I indujo la expresión de 101 genes. Entre los genes sobreexpresados, observaron que un importante número de estos correspondían a genes de quimiocinas (CCL20, CXCL3, CXCL1, CXCL5, CXCL2 y CXCL1), los cuales están involucrados en el reclutamiento, quimiotaxis y proliferación de células mononucleares y/o granulocitos. Esto apoya la hipótesis de que el SaF es un estado proinflamatorio. Los hallazgos apoyan los estudios in vivo e in vitro que muestran el incremento de adhesión celular a CE, causada por los $\alpha\beta_2$ GP-I y, en consecuencia, el reclutamiento de células inflamatorias, principalmente macrófagos, en la placenta⁵¹ y neutrófilos; lo que puede causar la pérdida de los productos en las pacientes embarazadas con SaF.

Finalmente, si bien en el SaF el proceso inflamatorio no es bien aceptado, debido a que los principales estudios muestran el síndrome como una enfermedad mediada por anticuerpos, las evidencias muestran que los $\alpha\beta_2$ GP-I de pacientes con SaF inducen la activación del endotelio vascular vía expresión de moléculas de adhesión, reclutamiento de células inflamatorias (v. g. neutrófilos y macrófagos), probablemente por la activación de quimiocinas, y participación del complemento. Como resultado de lo anterior, los $\alpha\beta_2$ GP-I en pacientes con SaF son capaces de inducir un entorno proinflamatorio, proadhesivo y procoagulante, mecanismos involucrados en la patogénesis del síndrome.

Conclusiones

El SaF es un padecimiento autoinmune de origen multifactorial. Puede presentarse con otros procesos autoinmunes (principalmente LEG), al cual se conoce como SaF secundario, o bien existe una entidad en la que solo se presentan las manifestaciones clínicas del síndrome, conocido como SaF primario. El principal blanco antigénico de los aFL presentes en pacientes con SaF es la β_2 GP-I. Sin embargo, pueden existir anticuerpos contra otras proteínas (anexina V, protrombina, etc.).

Los estudiosos de los mecanismos patogénicos de los $\alpha\beta_2$ GP-I han centrado su atención principalmente en los eventos trombóticos y abortos de repetición. Sin embargo, debido a la heterogeneidad de las manifestaciones clínicas presentes en estos pacientes existe una alta posibilidad de que más de un mecanismo fisiopatológico esté involucrado. De manera general, los mecanismos patogénicos del SaF se pueden clasificar en dos: 1) los que alteran los mecanismos pro y anticoagulantes y 2) los que activan células y consecuentemente aumentan la expresión y secreción de diversas moléculas.

Adicionalmente, se ha demostrado la participación de linfocitos T CD4⁺ autorreactivos específicos contra β_2 GP-I como parte de los componentes de la respuesta inmune celular en el SaF. Finalmente, las evidencias muestran que los $\alpha\beta_2$ GP-I tienen la capacidad de inducir un entorno proinflamatorio, proadhesivo y procoagulante, procesos involucrados en los mecanismos patogénicos del SaF.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Bowie EJ, Thompson JH, Pascuzzi CA, Owen CA. Thrombosis in systemic lupus erythematosus despite circulating anticoagulants. *J Lab Clin Med.* 1963;62:416-30.
- Harris EN, Gharavi AE, Boey ML, Patel BM, Macworth-Young CG, Loizou S, et al. Anticardiolipin antibodies: detection by radioimmunoassay and association with thrombosis in systemic lupus erythematosus. *Lancet.* 1983;2:1211-4.
- Hughes GRV, Harris EN, Gharavi AE. The anticardiolipin syndrome. *J Rheumatol.* 1986;13:486-9.
- Alarcón-Segovia D, Delezé M, Oria CV, Sánchez-Guerrero J, Gómez-Pacheco L, Cabiedes J, et al. Antiphospholipid antibodies and the antiphospholipid syndrome in systemic lupus erythematosus. A prospective analysis of 500 consecutive patients. *Medicine.* 1989;68:353-65.
- Alarcón-Segovia D, Sanchez-Guerrero J. Primary Antiphospholipid Syndrome. *J Rheumatol.* 1989;16:482-8.
- Mackworth-Young CG, Loizou S, Walport MJ. Primary antiphospholipid syndrome: features of patients with raised anticardiolipin antibodies and no other disorder. *Ann Rheum Dis.* 1989;48:362-7.
- Asherson RA, Khamashta MA, Ordi-Ros J, Derksen RHW, Machin S, Barquero J, et al. The "primary" antiphospholipid syndrome: major clinical and serological features. *Medicine.* 1989;68:366-74.
- McNeil PH, Simpson RJ, Chesterman CN, Krilis SA. Antiphospholipid antibodies are directed against complex antigen that include a lipid binding inhibitor of coagulation: β_2 -glycoprotein I (apolipoprotein H). *Proc Natl Acad Sci USA.* 1990;87:4120-4.
- Galli M, Comfurius P, Maasen C, Hemker HC, De Baets MH, Van Breda-Vriesman PJC, et al. Anticardiolipin antibodies directed not to cardiolipin but to plasma protein cofactor. *Lancet.* 1990;335:1544-7.
- Matsuura E, Igarashi Y, Fujimoto M, Ichikawa K, Koike T. Anticardiolipin cofactor(s) and differential diagnosis of autoimmune disease (letter). *Lancet.* 1990;336:177-8.
- Alarcón-Segovia D, Cabral AR. The anti-phospholipid antibody syndrome: clinical and serological aspects. *Baillieres Clin Rheumatol.* 2000;14:139-50.
- Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey SRL, Cervera R, et al. International Consensus statement on an update of the classification criteria for definite APS. *J Thromb Haemost.* 2006;4:295-306.
- Cabiedes J, Cabral AR, Alarcón-Segovia D. Clinical manifestations of the antiphospholipid syndrome in systemic lupus erythematosus patients associate more strongly with anti- β_2 -glycoprotein I than with antiphospholipid antibodies. *J Rheumatol.* 1995;22:1899-906.
- Gómez Suarez EI, Cabiedes J. Estandarización de un inmunoensayo de captura para la determinación de los niveles séricos de β_2 GP-I en sujetos sanos y en pacientes con SaF primario y asociado a LEG. Tesis de Licenciatura. UAM-INCMSZ. 2005.
- Alarcón-Segovia D. Pathogenic potential of anti-phospholipid antibodies. *J Rheumatol.* 1988;15:890-3.
- Espinoza G, Cervera R, Font J, Shoenfeld Y. Antiphospholipid syndrome: pathogenic mechanism. *Autoimmun Rev.* 2003;2:86-93.
- Pengo V, Biasiolo A, Brocco T, Tonetto S, Ruffatti A. Autoantibodies to phospholipid-binding plasma proteins in patients with thrombosis and phospholipid-reactive antibodies. *Thromb Haemost.* 1996;75:721-4.
- Oosting JD, Preissner KT, Derksen RHW, De Groot PG. Autoantibodies directed against the epidermal growth factor-like domains of thrombomodulin inhibit protein C activation in vitro. *Br J Haematol.* 1993;85:761-8.
- Mori T, Takeya H, Nishioka H, Gabazza EC, Suzuki K. β_2 -glycoprotein I modulates the anticoagulant activity of protein C on the phospholipid surface. *Thromb Haemost.* 1996;75:49-55.

- 397 20. Cosgriff PM, Martin BA. Low functional and high antigenic antithrombin III level
398 in a patient with the lupus anticoagulant and recurrent thrombosis. *Arthritis*
399 *Rheum.* 1981;24:94-6.
- 400 21. Lakos G, Kiss E, Regeczy N, Tarjan P, Soltesz P, Zeher M, et al. Antiprothrombin
401 and antiannexin V antibodies imply risk of thrombosis in patients with systemic
402 autoimmune diseases. *J Rheumatol.* 2000;27:924-9.
- 403 22. Pasquier E, Amiral J, de Saint ML, Mottier D. A cross sectional study of
404 antiphospholipid-protein antibodies in patients with venous thromboembolism.
405 *Thromb Haemost.* 2001;86:538-42.
- 406 23. Nojima J, Kuratsune H, Suehisa E, Futsukaichi Y, Yamanishi H, Machii T, et al.
407 Association between the prevalence of antibodies to beta(2)-glycoprotein I,
408 trothrombin, protein C, protein S, and annexin V in patients with systemic
409 lupus erythematosus and thrombotic and thrombocytopenic complications.
410 *Clin Chem.* 2001;47:1008-15.
- 411 24. Reverter JC, Tàssies D, Font J, Monteagudo J, Escolar G, Ingelmo M, et al. Hyper-
412 coagulable state in patients with antiphospholipid syndrome is related to high
413 induced tissue factor expression on monocytes and to low free protein S. *Arterio-*
414 *scler Thromb Vasc Biol.* 1996;16:1319-26.
- 415 25. Reverter JC, Tàssies D, Font J, Khamashta MA, Ichikawa K, Cervera R, et al. Effects
416 of human monoclonal anticardiolipin antibodies on platelet function and on
417 tissue factor expression on monocytes. *Arthritis Rheum.* 1998;41:1420-7.
- 418 26. Dobado-Barrios PM, Lopez-Pedreza C, Velasco F, Aguirre MA, Torres A, Cuadrado
419 MJ. Increased levels of tissue factor mRNA in mononuclear blood
420 cells of patients with primary antiphospholipid syndrome. *Thromb Haemost.*
421 1999;82:1578-82.
- 422 27. Oosting JD, Derksen RHW, Blokzijl L, Sixma JJ, de Groot PG. Antiphospholipid
423 antibody positive sera enhance endothelial cell procoagulant activity: studies
424 in a thrombosis model. *Thromb Haemost.* 1992;68:278-84.
- 425 28. Branch DW, Rodgers GM. Induction of endothelial cell tissue factor activity by
426 sera from patients with antiphospholipid syndrome: a possible mechanism of
427 thrombosis. *Am J Obstet Gynecol.* 1993;168:206-10.
- 428 29. Meroni PL, Raschi E, Camera M, Testoni C, Nicoletti F, Tincani A, et al. Endothelial
429 activation by aPL: a potential pathogenetic mechanism for the clinical
430 manifestations of the syndrome. *J Autoimmun.* 2000;15:237-40.
- 431 30. Pierangeli SS, Colden-Stanfield M, Liu X, Barker JH, Anderson GL, Harris EN.
432 Antiphospholipid antibodies from antiphospholipid syndrome patients activate
433 endothelial cells in vitro and in vivo. *Circulation.* 1999;99:1997-2002.
- 434 31. Salmon JE, Girardi G, Holers M. Complement activation as a mediator of antiphospholipid
435 antibodies induced pregnancy loss and thrombosis. *Ann Rheum Dis.* 2002;61:46-50.
- 436 32. Pierangeli SS, Espinola RG, Liu X, Harris EN. Thrombogenic effects of antiphospholipid
437 antibodies are mediated by intercellular cell adhesion molecule-1,
438 vascular cell adhesion molecule-1 and P-selectin. *Circ Res.* 2001;88:245-50.
- 439 33. Girardi G, Berman J, Redecha P, Spruce L, Thruman JM, Kraus D, et al. Complement C5a
440 receptors and neutrophils mediate fetal injury in the Antiphospholipid syndrome. *J Clin Invest.* 2003;112:1644-54.
- 441 34. Pierangeli SS, Girardi G, Vega-Ostertag M, Liu X, Espinola RG, Salmon JE. Requirement
442 of activation of complement C3 and C5 for antiphospholipid antibody-mediated
443 thrombophilia. *Arthritis Rheum.* 2005;52:2120-4.
- 444 35. Di Simone N, Raschi E, Testoni C, Castellani R, D'Asta M, Shi T, et al. Pathogenic
445 role of anti-beta 2 glycoprotein I antibodies in antiphospholipid associated fetal
446 loss: characterization of beta 2 glycoprotein I binding to trophoblast cells and
447 functional effects of anti-beta 2 glycoprotein I antibodies in vitro. *Ann Rheum Dis.* 2005;64:462-7.
- 448 36. Shi W, Chong BH, Chesterman CN. beta-2-glycoprotein I is a requirement for
449 anticardiolipin antibodies binding to activated platelets: differences with lupus
450 anticoagulants. *Blood.* 1993;81:1255-62.
- 451 37. Blank M, Krause I, Lanir N, Vardi P, Gilburd B, Tincani A, et al. Transfer of experimental
452 antiphospholipid syndrome by bone marrow cell transplantation: the importance
453 of the T cell. *Arthritis Rheum.* 1995;38:115-22.
- 454 38. Kuwana M. Autoreactive CD4+ T cells to beta-2 glycoprotein-I in patients with
455 antiphospholipid syndrome. *Autoimmun Rev.* 2003;2:192-8.
- 456 39. Núñez-Álvarez CA, Ortega A, Hernández-Ramírez DF, Pascual-Ramos V, Martínez
457 Castillo A, Cabral C, et al. Proliferación de células mononucleares de sangre
458 periférica (CMNSP) de una paciente con SaFP inducida por β_2 GP-I de fenotipo
459 valina o leucina (V/L)²⁴⁷. *Reumatol Clin.* 2008;4:30.
- 460 40. Arai T, Yoshida K, Kaburaki J, Inoko H, Ikeda Y, Kawakami Y, et al. Autoreactive
461 CD4+ T-cell clones to beta-glycoprotein I in patients with APS: preferential
462 recognition of the major phospholipid-binding site. *Blood.* 2001;98:
463 1889-96.
- 464 41. Ito H, Matsushita S, Tokano Y, Nishimura H, Takana Y, Fujisao S, et al. Analysis of
465 T cell responses to the beta2-glycoprotein I-derived peptide library in patients
466 with anti-beta2-glycoprotein I antibody associated autoimmunity. *Hum Immunol.* 2000;61:366-77.
- 467 42. Prieto GA, Cabral AR, Zapata-Zuniga M, Simon AJ, Villa AR, Alarcón-Segovia D, et al. Valine/valine
468 genotype at position 247 of the β_2 -glycoprotein I gene in Mexican patients with
469 primary antiphospholipid syndrome: association with anti- β_2 -glycoprotein I
470 antibodies. *Arthritis Rheum.* 2003;48:471-4.
- 471 43. Núñez-Álvarez CA, Hernández-Ramírez DF, Calderón B, Cabral AR, Cabiedes J. Caracterización
472 de clonas de linfocitos B obtenidos de una paciente con SaF Primario. *Reumatol Clin.* 2009;5:55.
- 473 44. Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. Two types of murine
474 helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities
475 and secreted proteins. 1986. *J Immunol.* 2005;175:5-14.
- 476 45. Ouyang W, Kolls JK, Zheng Y. The biological functions of T helper 17 cell effector
477 cytokines in inflammation. *Immunity.* 2008;28:454-67.
- 478 46. Krause I, Blank M, Levi Y, Koike T, Barak V, Shoenfeld Y. Anti-idiotypic immunomodulation
479 of experimental anti-phospholipid syndrome via effect on Th1/Th2 expression. *Clin Exp Immunol.* 1999;117:190-7.
- 480 47. Visvanathan S, McNeil P. Cellular Immunity to beta2-Glycoprotein-1 in patients with the
481 Antiphospholipid Syndrome. *J Immunol.* 1999;162:6919-25.
- 482 48. Karakantza M, Theodorou GL, Meimaris N, Mouzaki A, John E, Andonopoulos AP, et al. Type 1
483 and type 2 cytokine-producing CD4+ and CD8+ T cells in primary antiphospholipid
484 syndrome. *Ann Hematol.* 2004;83:704-11.
- 485 49. Berman J, Girardi G, Salmon JE. TNF-alpha is a critical effector and a target for therapy
486 in antiphospholipid antibody-induced pregnancy loss. *J Immunol.* 2005;174:485-90.
- 487 50. Hamid C, Norgate K, Cruz DPD, Kamashta MA, Arno M, Pearson JD, et al. Anti β_2 GP-I
488 antibody-induced endothelial cell gene expression profiling reveals induction of
489 novel pro-inflammatory genes potentially involved in primary antiphospholipid
490 syndrome. *Ann Rheum Dis.* 2007;66:1000-7.
- 491 51. Stone S, Pijnenborg R, Vercautysse L, Poston R, Khamashta MA, Hunt BJ, et al. The
492 placental bed in pregnancies complicated by primary antiphospholipid syndrome. *Placenta.* 2006;27:457-67.
- 493
494
495
496
497
498
499
500