

## Αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα: εργαστηριακός προσδιορισμός, διαγνωστική αξία και ανοσοπαθογενετικός ρόλος

Μ. ΖΑΚΑΛΚΑ

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα, δηλαδή κυρίως τα αντικαρδιολιπινικά αντισώματα, το αντιπηκτικό του λύκου και τα αντισώματα έναντι της β2-γλυκοπρωτεΐνης I (αντι-β2GP I), έχουν, ως *in vitro* αντιγονικούς επιτόπους, πρωτεΐνες πλάσματος που συνδέονται με συμπλέγματα αρνητικά φορτισμένων φωσφολιπιδίων-μεμβράνης και η παρουσία τους *in vivo* στον ορό έχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση με την κλινική εκδήλωση αρτηριακών ή/και φλεβικών θρομβώσεων και επιπλοκών της κύησης. Η εργαστηριακή διερεύνηση των αντικαρδιολιπινικών αντισωμάτων και των αντι-β2 GP I αντισωμάτων γίνεται με ELISA και του αντιπηκτικού του λύκου γίνεται με δοκιμασίες πήξεως. Το Αντιφωσφολιπιδικό Σύνδρομο διακρίνεται σε πρωτοπαθές και δευτεροπαθές. Το δευτεροπαθές σχετίζεται με αυτοάνοσα νοσήματα και συχνότερα με το Συστηματικό Ερυθηματώδη Λύκο (ΣΕΛ), ενώ τα αντικαρδιολιπινικά αντισώματα ανιχνεύονται και σε πολλές άλλες καταστάσεις (λοιμώξεις, κακοήθειες, φάρμακα). Η συμπτωματολογία του Αντιφωσφολιπιδικού Συνδρόμου, πέρα από τις αρτηριακές ή/και φλεβικές θρομβώσεις και τις επιπλοκές κύησης, είναι πολυσυστηματική και η εξ αποκλεισμού διάγνωση του πρωτοπαθούς Αντιφωσφολιπιδικού Συνδρόμου από το δευτεροπαθές, στα πλαίσια ΣΕΛ, έχει ιδιαίτερο κλινικό ενδιαφέρον. Οι πρόσφατες επικρατέστερες θεωρίες για τον ανοσοπαθογενετικό μηχανισμό με τον οποίο τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα συμμετέχουν στην πρόκληση θρόμβωσης είναι η ενεργοποίηση ή/και απόπτωση των ενδοθηλιακών κυττάρων των αγγείων, το οξειδωτικό τραύμα των ενδοθηλιακών κυττάρων και η μεταβολή της λειτουργίας των συνδεδεμένων με φωσφολιποειδή πρωτεϊνών που εμπλέκονται στη ρύθμιση της πήξεως ή ο συνδυασμός τους. Ακόμα, στην παθογένεση της πρόκλησης επιπλοκών της κύησης, εμπλέκεται η διαταραχή της ισορροπίας των προσταγλανδινών, η



Ρευματολόγος

---

**ΠΙΝΑΚΑΣ 1. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ<sup>5</sup>**


---

<b>1906</b>	Αντίδραση Wasserman (Reagin)
<b>1941</b>	Reagin συνδέει καρδιολιπίνη
<b>1952</b>	Ψευδώς-θετική δοκιμασία για σύφιλη
<b>1959</b>	Απαραίτητος συμπράγοντας για θετικό αντιπηκτικό του λύκου
<b>1960</b>	Αντιπηκτικό του λύκου (LA): συσχέτιση με θρόμβωση
<b>1970</b>	Αντιπηκτικό του λύκου (LA) οφείλεται σε ανοσοσφαιρίνη (αυτοαντίσωμα)
<b>1975</b>	Αντιπηκτικό του λύκου (LA): συσχέτιση με υποτροπιάζουσες απόβολες
<b>1983</b>	Αντικαρδιολιπινικά αντισώματα: ανίχνευση με RIA (ανοσο-ραδιο-τεχνική δοκιμασία)
<b>1985</b>	Αντικαρδιολιπινικά αντισώματα: ανίχνευση με ELISA (ανοσο-ενζυμική τεχνική)
<b>1980</b>	Κλινική περιγραφή του Αντιφωσφολιπιδικού Σύνδρομου
<b>1987</b>	Διαγνωστικά κριτήρια για το Αντιφωσφολιπιδικό Σύνδρομο
<b>1989</b>	Αντιπηκτικό του λύκου (LA) και αντικαρδιολιπινικά αντισώματα (ACA): ξεχωριστές ομάδες αντισωμάτων
<b>1990</b>	Απαραίτητος συμπράγοντας για τη σύνδεση των αντικαρδιολιπινικών αντισωμάτων
<b>1990</b>	Συμπράγοντας αντικαρδιολιπινικών: β2-γλυκοπρωτεΐνη I
<b>1991</b>	Συμπράγοντας του αντιπηκτικού του λύκου: προθρομβίνη
<b>1991</b>	Παθθητική ανοσοποίηση σε πειραματόζωα
<b>1992</b>	Ενεργητική ανοσοποίηση σε πειραματόζωα
<b>1992</b>	Συμπράγοντας του αντιπηκτικού του λύκου: β2-γλυκοπρωτεΐνη I
<b>1992</b>	Αντι-β2-γλυκοπρωτεΐνη I: συσχέτιση με θρόμβωση
<b>1994</b>	Σημείο σύνδεσης των φωσφολιπιδίων: πέμπτο πεδίο της β2-γλυκοπρωτεΐνης I

αναστολή αντιπηκτικών παραγόντων του αίματος και η μείωση ή αναστολή της αντιθρομβωτικής προστασίας της αννεξίνης V.

Ελληνική Ρευματολογία 2007, 18(1):36-51

**Όροι ευρετηρίου:** αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα (aPL), αντικαρδιολιπινικά αντισώματα (aCL), αντιπηκτικό του λύκου (LA), αντι-β2-γλυκοπρωτεΐνη I (αντι-β2-GP I), πρωτοπαθές Αντιφωσφολιπιδικό Σύνδρομο, δευτεροπαθές Αντιφωσφολιπιδικό Σύνδρομο, Αντιφωσφολιπιδικό Σύνδρομο στα πλαίσια ΣΕΛ.

## ΑΝΤΙΦΩΣΦΟΛΙΠΙΔΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ

### Ορισμός

Τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα (aPL) είναι

μία μεγάλη ετερογενής οικογένεια ανοσοσφαιρινών, οι οποίες, παρά το όνομά τους, δεν συνδέονται στα φωσφολιπίδια, αλλά κατευθύνονται προς αντιγόνα-πρωτεΐνες του πλάσματος, συνδεδεμένες ή και όχι με φωσφοδιαστέρες (γλυκερίνη), οι οποίοι προσδένονται σε αρνητικά φορτισμένες επιφάνειες με μεγάλη περιεκτικότητα σε φωσφολιπίδια (συμπλέγματα ενεργοποιητή της προθρομβίνης πλούσια σε δεσμούς Ca<sup>2+</sup> στη μεμβράνη ενδοθηλιακών κυττάρων, συμπλέγματα β2-γλυκοπρωτεΐνης I – καρδιολιπίνης στη μεμβράνη ενδοθηλιακών κυττάρων, συμπλέγματα αννεξίνης V - φωσφολιπιδίων στη μεμβράνη κυττάρων της συγκυτιοτροφοβλάστης).

Μερικοί από τους αντιγονικούς στόχους των αντισωμάτων είναι η β2-γλυκοπρωτεΐνη I (β2-GP I), η προθρομβίνη, η αννεξίνη V, η ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C, η πρωτεΐνη S, η φωσφατιδυλοσερίνη

**ΠΙΝΑΚΑΣ 2. ΑΙΤΙΑ ΠΡΟΚΛΗΣΗΣ ΤΟΥ ΛΟΙΜΩΔΟΥΣ ΤΥΠΟΥ ΑΝΤΙΦΩΣΦΟΛΙΠΙΔΙΚΟΥ ΣΥΝΔΡΟΜΟΥ (ΜΕ ΘΕΤΙΚΑ aCL, ΜΕ Η ΧΩΡΙΣ ΦΛΕΒΙΚΕΣ ΘΡΟΜΒΩΣΕΙΣ)<sup>12</sup>**

**1. Ιοί**

Ηπατίτιδα Α, Β και C  
EBV (Ιός Epstein-Bar)  
HIV  
CMV (Κυτταρομεγαλοϊός)  
Παρβοϊός Β19  
Αδενοϊοί  
Ανεμοβλογιά  
Ευλογιά  
Παρωτίτιδα  
Ερυθρά  
HTLV-1

**2. Βακτήρια**

Λέπρα  
Φυματίωση (M. pneumoniae, M. penetrans)  
Σαλμονέλλα  
Βακτηριακή ενδοκαρδίτιδα  
Klebsiella  
Σταφυλόκοκκοι  
Στρεπτόκοκκοι (ρευματικός πυρετός)  
Coxiella burnetii (Q fever ή κηλιδώδης πυρετός)

**3. Σπείροχαίτες**

Σύφιλη  
Λεπτόσπειρα  
Lyme disease (Borrelia burgdorferi)

**4. Παράσιτα**

Ελονοσία (πλασμώδιο Laveran)  
Τοξοπλάσμωση  
Καλα-αζάρ (σπλαχνική λείσμανίαση)

**5. Μύκητες**

Pneumocystis carinii

(PS), η θρομβομοντουλίνη (TM), η φωσφατατιδυλαιθανολαμίνη (PE), η φωσφατατιδυλοχολίνη (PC), το υψηλού και χαμηλού μοριακού βάρους κινινογόνο, ο παράγοντας πήξεως XII, ο ιστικός ενεργοποιητής του πλασμινογόνου (t-PA), οι οξειδωμένες χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (oxLDL), η φωσφατατιδυλ-ινοσιτόλη (PI)<sup>1</sup>. Ερευνάται εάν τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα έχουν διασταυρούμενη αντίδραση με νευρογενή

φωσφολιπίδια (σφιγγομυελίνη, κεφαλίνη), με αποτέλεσμα καταστροφή νευρικών δομών με φωσφολιπίδια (πιθανή πρόκληση απομυελινωτικών - μυελοκλαστικών συνδρόμων).

Τα ευρέως εργαστηριακά προσδιοριζόμενα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα είναι:

1. το αντιπηκτικό του λύκου (LA),
2. τα αντικαρδιολιπινικά αντισώματα aCL (IgG και IgM),
3. τα αντισώματα αντι-β2-γλυκοπρωτεΐνης I (IgG και IgM).

Τα καινούρια αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα που θα προσδιορίζονται στο άμεσο μέλλον στα ανοσολογικά εργαστήρια είναι:

1. αντικαρδιολιπινικά αντισώματα IgA,
2. αντισώματα αντι-β2-γλυκοπρωτεΐνης I IgA,
3. αντισώματα έναντι προθρομβίνης,
4. αντισώματα έναντι πρωτεΐνης C,
5. αντισώματα έναντι φωσφατιδυλοσερίνης,
6. αντισώματα του συμπλέγματος φωσφατιδυλοσερίνης-προθρομβίνης (aPS/PT),
7. αντισώματα έναντι αννεξίνης V,
8. ένα μείγμα διαφορετικών φωσφολιπιδίων (AphL ELISA Kit)<sup>2,3</sup>.

**Εργαστηριακός προσδιορισμός - Ιστορική αναδρομή**

Οι μέθοδοι προσδιορισμού αυτών των αντισωμάτων ξεκίνησαν στις αρχές του αιώνα ως εργαστηριακό περιέργο με τις συφιλιδοαντιδράσεις (χωρίς επίγνωση της σημασίας των σημερινών προσδιοριζόμενων αντιγονικών επιτόπων), στις οποίες αντί για ώχρο τρεπόννημα χρησιμοποιείτο ως αντιγόνο εκχύλισμα από καρδιά βοός, που περιείχε καρδιολιπίνη-χοληστερόλη (μιτοχονδριακά φωσφολιποειδή), όπως οι Wassermann (σύνδεση συμπληρώματος), VDRL (Venereal Disease Research Laboratory - κροκίδωση), RPR (Rapid Plasma Reagin - συγκόλληση) κ.ά. (πίνακας 1).

Οι «βιολογικά ψευδώς θετικές συφιλιδοαντιδράσεις», όπως αποκαλέσθηκαν, περιγράφησαν αργότερα σε ασθενείς με συστηματικό Ερυθρηματώδη Λύκο (ΣΕΛ). Στους ασθενείς αυ-

**ΑΛΓΟΡΙΘΜΟΣ 1. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΟΥ ΑΝΤΙΦΩΣΦΟΛΙΠΙΔΙΚΟΥ ΣΥΝΔΡΟΜΟΥ<sup>6</sup>**



τούς, τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα συνδέονται στην αρνητικά φορτισμένη καρδιολιπίνη και προκαλούν κροκίδωση ή συγκόλληση, ακριβώς όπως τα αντισυφιλιδικά αντισώματα στο ορό των συφιλιδικών. Ψευδώς θετική VDRL ή RPR εμφανίζεται στο 50% των ατόμων με αντικαρδιολιπινικά

αντισώματα, όμως δεν συνιστάται ως επιπρόσθετος εργαστηριακός έλεγχος των ασθενών με ύποπτο Αντιφωσφολιπιδικό Σύνδρομο και οι ασθενείς με ψευδώς θετική VDRL μόνο (και αρνητικά τα άλλα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα) δεν παρουσιάζουν αυξημένο κίνδυνο για θρόμβωση ή

**ΠΙΝΑΚΑΣ 3. ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΤΙΚΟΣ ΠΙΝΑΚΑΣ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΕΙΩΝ ΣΤΙΣ ΟΠΟΙΕΣ ΔΙΝΧΝΕΥΟΝΤΑΙ ΑΝΤΙΦΩΣΦΟΛΙΠΙΔΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ<sup>12,19</sup>**

**I. Αυτοάνοσα νοσήματα**

Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος, Πρωτοπαθές Αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο, Ρευματοειδής Αρθρίτιδα, Συστηματικό Σκληρόδερμα, Δερματομυοσίτιδα-πολυμυοσίτιδα, Μικτή νόσος συνδετικού ιστού, Πρωτοπαθές Σύνδρομο Sjögren, Αγγειίτιδες [Γιγαντοκυτταρική-Κροταφική αρτηρίτιδα / ρευματική πολυμυαλγία, Αρτηρίτιδα Takayasu, Οζώδης Πολυαρτηρίτιδα, Μικροσκοπική Πολυαγγειίτιδα, Νόσος Αδαμαντιάδη-Behçet, Υποτροπιάζουσα Πολυχονδρίτιδα, Δερματική Λευκοκυτταροκλαστική αγγειίτιδα, Μεσεντέρια φλεγμονώδης φλεβοαποφρακτική νόσος, Τριχοειδίτιδα, άλλες αγγειίτιδες (ΚΝΣ, νεφρικών αρτηριών, όρχεων, κ.ά.)], Ψωριασική αρθρίτιδα, Αυτοάνοση Αιμολυτική Αναιμία, Ιδιοπαθής Θρομβοπενική Πορφύρα, Σακχαρώδης Διαβήτης, Θυρεοειδίτιδα Hashimoto, Μυασθένεια Gravis, Πρωτοπαθής χολική κίρρωση, Φλεγμονώδεις νόσοι του εντέρου

**II. Αντιδράσεις σε φάρμακα**

Φαινοθειαζίνες, κλωροπρομαζίνη, προκαϊναμίδη, υδραλαζίνη, κινιδίνη, φαινυτοΐνη, σουλφοναμίδες, φανσαρόνη, κοκαΐνη, κυκλοσπορίνη, μυτομυκίνη, ιντερλευκίνη-2 (IL-2), ιντερφερόνη-α, κινίνη, εθουσοξιμίδη, κλωροθειαζίδη, από του στόματος αντισυλληπτικά

**III. Αιματολογικές ασθένειες**

Θρομβωτική Θρομβοπενική Πορφύρα, δρεπανοκυτταρική αναιμία, αληθής πολυκυτταραιμία, μυελοϊνώση, νόσος von Willebrand

**IV. Παραπρωτεΐναιμίες**

Μονοκλωνικές γαμμαπάθειες, Πολλαπλούν Μυέλωμα, μακροσφαιριναιμία Waldenström

**V. Αιματολογικές κακοήθειες (λευχαιμίες)**

Λεμφοβλαστική (LL), Μονοκυτταρική, Μυελοειδής (ML), Μυελομονοκυτταρική (MML), εκ τριχτών κυττάρων (Hairy cell L)

**VI. Λεμφοϋπερπλαστικές διαταραχές**

Non-Hodgkin λέμφωμα (NHL), δερματικό T-λέμφωμα, σπληνικό λέμφωμα, περιφερικό T-λέμφωμα

**VII. Συμπαγείς κακοήθειες όγκοι (κυρίως επιθηλιακοί βλενοπαραγωγικοί)**

Θύμωμα, καρκίνος πνεύμονα, νεφρού (υπερνέφρωμα), παχέος εντέρου, ήπατος, προστάτη, ωθηκών ή τραχείας

**VIII. GVHD (αντίδραση μοσχεύματος έναντι ξενιστή)**

Αλλογενής μεταμόσχευση μυελού, μεταμόσχευση νεφρού

**IX. Λοιμώξεις (οξείες αυτοπεριοριζόμενες και χρόνιες)**

Βακτηριακές, ιϊκές (και HIV), πρωτοζωικές, λοιμώξεις από σπειροχαΐτες και από μύκητες

**X. Καρδιαγγειακή νόσος**

Άμεση επαναπόφραξη αγγείου μετά από by-pass ή PTCA

**XI. Διάφορες καταστάσεις**

Ασθενείς με νεφρική ανεπάρκεια σε αιμοδιύλιση, νόσος Kohlmeier-Degos, σύνδρομο Kleinefelter

νοσηρότητα στην κύηση. Οι ασθενείς αυτοί που εξετάστηκαν είχαν αρνητικές τις ειδικές δοκιμασίες ακινητοποίησης του ωχρού τρεπονήματος (TPI) και τη δοκιμασία φθορίζουσας ανίχνευσης του αντισώματος του τρεπονήματος (FTA-ABS). Σε αυτούς τους ασθενείς περιγράφηκε, αρχικά, ένας μη ειδικός ανασταλτής της

πήξης, ο οποίος προκαλούσε παράταση του χρόνου πήξης, χωρίς μείωση κανενός παράγοντα της πήξης, ενώ δεν φαινόταν να συνοδεύεται με αιμορραγική διάθεση. Ο παράγοντας αυτός ονομάστηκε «αντιπηκτικό λύκου» (LA) από τους Feinstein και Rapaport το 1972. Το 1963, ο Bowie και οι συνεργάτες του

περιέγραψαν, σε ασθενείς με ΣΕΛ που είχαν αυτόν τον ανασταλτή, το παράδοξο της αυξημένης συχνότητας θρομβωτικών επιπλοκών (θρομβοφιλία).

Σε αντίθεση με το όνομά τους, τα αντισώματα του αντιπηκτικού του λύκου συνδέονται με θρομβοεμβολικά επεισόδια και όχι με αιμορραγία. Τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα δύνανται να αλληλεπιδράσουν και με την αντιπηκτική οδό (αναστολή της αναστολής της πήξης) και με την προπηκτική οδό. Αν και η επιφάνεια των φωσφολιπιδίων που χρησιμοποιούνται στις περισσότερες εργαστηριακές δοκιμασίες πήξης ευνοεί την αναστολή των προπηκτικών οδών -και γι' αυτό ευνοείται η παράταση της πήξης- in vivo το μικροπεριβάλλον της κυτταρικής μεμβράνης πιθανώς προκαλεί μεγαλύτερη αναστολή των αντιπηκτικών οδών και γι' αυτό προκαλούνται θρομβώσεις<sup>4</sup>.

Αργότερα, τόσο το LA όσο και η βιολογικώς ψευδώς θετικές συφιλιδοαντιδράσεις, διαπιστώθηκε ότι συνοδεύονταν από θρομβώσεις, μαιευτικές επιπλοκές και θρομβοπενία. Το σύνδρομο αυτό ονομάστηκε «Αντιφωσφολιπιδικό Σύνδρομο» (APS) ή «Σύνδρομο Hughes», από τον πρώτο περιγράψαντα το σύνδρομο.

## ΑΝΤΙΦΩΣΦΟΛΙΠΙΔΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ

Η αναγνώριση ότι ένας σημαντικός αριθμός εκδηλώσεων του Συστηματικού Ερυθματώδους Λύκου (ΣΕΛ) έχει θρομβωτική και όχι φλεγμονώδη βάση μπορεί να θεωρηθεί μία από τις περισσότερο ενδιαφέρουσες ανακαλύψεις στην κλινική ρευματολογία και ανοσολογία. Το Αντιφωσφολιπιδικό Σύνδρομο αποδείχθηκε ότι είναι συχνή κατάσταση σε ασθενείς με ΣΕΛ και άλλα αυτοάνοσα νοσήματα, αλλά μπορεί να υπάρχει και χωρίς άλλη συνοδό αυτοάνοση κατάσταση, γεγονός που οδήγησε στην ονομασία «Πρωτοπαθές Αντιφωσφολιπιδικό Σύνδρομο» (PAPS). Το σύνδρομο αυτό θεωρείται το πρώτο αυτοάνοσο θρομβοφιλικό σύνδρομο για το οποίο θεσπίστηκαν προκαταρκτικά διαγνωστικά κριτήρια (The 8th International Symposium on Antiphospholipid Antibodies (aPL) at Sapporo, 1999) που έχουν ειδικότητα 0,71%, ευαισθησία 0,98% και θετική και αρνητική προγνωστική αξία 0,95% και 0,88%, αντίστοιχα.

## Κλινικά κριτήρια

### 1. Αγγειακή θρόμβωση

- Ένα ή περισσότερα επεισόδια αρτηριακής ή φλεβικής ή θρόμβωσης μικρού αγγείου σε οποιοδήποτε ιστό ή όργανο.

- Η θρόμβωση μπορεί να επιβεβαιωθεί με απεικονιστικές μεθόδους ή υπερήχους ή ιστοπαθολογικά, με εξαίρεση την επιπολής φλεβική θρόμβωση.

- Για την ιστοπαθολογική επιβεβαίωση, η θρόμβωση δεν θα πρέπει να συνοδεύεται από σημαντική φλεγμονή του αγγειακού τοιχώματος.

### 2. Νοσηρότητα της κύησης

- Ένας ή περισσότεροι ανεξήγητοι θάνατοι ενός μορφολογικά φυσιολογικού εμβρύου κατά ή μετά από τη 10η εβδομάδα της κύησης, με φυσιολογική μορφολογία του εμβρύου που έχει επιβεβαιωθεί με υπερήχους ή με απευθείας εξέταση του εμβρύου.

- Μια ή περισσότερες πρόωρες γεννήσεις ενός μορφολογικά φυσιολογικού νεογνού κατά ή πριν την 34η εβδομάδα της κύησης, λόγω βαριάς προεκλαμψίας, εκλαμψίας ή βαριάς πλακουντιακής ανεπάρκειας.

- Τρεις ή περισσότερες ανεξήγητες αυτόματες αποβολές πριν τη 10η εβδομάδα της κύησης, με αποκλεισμό μητρικής ανατομικής ή ορμονικής διαταραχής και πατρικής ή μητρικής χρωμοσωμιακής αιτίας.

## Εργαστηριακά κριτήρια

1. Αντικαρδιολιπινικά αντισώματα IgG και/ή IgM ισοτύπου στο αίμα, σε μέτριο ή υψηλό τίτλο, σε 2 ή περισσότερες εξετάσεις σε απόσταση τουλάχιστον 6 εβδομάδων, που έχουν προσδιοριστεί με προτυποποιημένες μεθόδους ενζυμικού ανοσοπροσροφητικού προσδιορισμού για αντικαρδιολιπινικά αντισώματα, τα οποία εξαρτώνται από τη β2-γλυκοπρωτεΐνη 1.

2. Αντιπηκτικά λύκου, παρόντα σε πλάσμα σε 2 ή περισσότερες περιπτώσεις εξέτασης, που απέχουν τουλάχιστον 6 εβδομάδες μεταξύ τους, τα οποία έχουν ελεγχθεί σύμφωνα με τις οδηγίες της Διεθνούς Εταιρίας Θρόμβωσης και Αιμόστασης

(Επιστημονική Υποεπιτροπή για τα Αντιπηκτικά Λύκου - εξαρτώμενα από αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα) στα ακόλουθα στάδια: α) παράταση του χρόνου πήξης των δοκιμασιών που εξαρτώνται από φωσφολιπίδια κατά τη διενέργεια των αδρών δοκιμασιών πήξης, π.χ. ενεργοποιημένος χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης, χρόνος πήξης καολίνης, χρόνος αραιωμένης προθρομβίνης, χρόνος Textarin, β) αδυναμία να αποκατασταθεί στα φυσιολογικά επίπεδα ο παρατεταμένος χρόνος όταν προστίθεται φυσιολογικό πλάσμα φτωχό σε αιμοπετάλια, γ) βράχυνση ή αποκατάσταση του χρόνου πήξης όταν προστεθούν φωσφολιπίδια, δ) αποκλεισμός άλλων παθήσεων της πήξης, π.χ. ανασταλτής παράγοντα VIII ή παρουσία ηπαρίνης.

#### Διάγνωση Αντιφωσφολιπιδικού Συνδρόμου

Βέβαιο Αντιφωσφολιπιδικό Σύνδρομο θεωρείται αυτό στο οποίο υπάρχει τουλάχιστον ένα κλινικό και ένα εργαστηριακό κριτήριο:

- Η οριστική διάγνωση Αντιφωσφολιπιδικού Συνδρόμου απαιτεί την παρουσία τουλάχιστον ενός από τα κλινικά κριτήρια και τουλάχιστον ενός από τα εργαστηριακά κριτήρια. Δεν υπάρχουν χρονικά όρια όσον αφορά στην παρουσία κλινικών και εργαστηριακών ευρημάτων.
- Τα ακόλουθα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα δεν περιλαμβάνονται στα εργαστηριακά κριτήρια: αντικαρδιολιπινικά αντισώματα IgA, αντισώματα β2-γλυκοπρωτεΐνης I έναντι άλλων φωσφολιπιδίων, πλην της συνδεδεμένης με την καρδιολιπίνη β2-γλυκοπρωτεΐνης I.
- Το όριο που ξεχωρίζει τα υψηλά και μέτρια επίπεδα καρδιολιπίνης από τα χαμηλά δεν έχει καθοριστεί και πρέπει να βασίζεται σε μελέτες πληθυσμού. Πολλές μελέτες χρησιμοποιούν 15 ή 20 διεθνείς μονάδες «φωσφολιπιδίου» ως όριο που διαχωρίζει τα χαμηλά από τα μέτρια επίπεδα αντικαρδιολιπινικών αντισωμάτων. Άλλοι θέτουν ως όριο τις 2-2,5 φορές των μέσων επιπέδων αντισωμάτων καρδιολιπίνης στο γενικό πληθυσμό. Μέχρι την επίτευξη κάποιας διεθνούς συμφωνίας, αυτές οι προσεγγίσεις φαίνονται λογικές<sup>6</sup>.

Τη δεκαετία του '80 έγινε δυνατή η ανάπτυξη καλύτερων δοκιμασιών για την ανίχνευση τόσο του LA όσο και των αντικαρδιολιπινικών αντισωμάτων (αCL), τα οποία προσδιορίζονται με σύνδεση των αντισωμάτων σε καρδιολιπίνες στερεάς φάσης (solid phase assays). Χρησιμοποιείται ανοσοενζυμική προσροφητική μέθοδος ELISA και αναγνωρίζονται και προσδιορίζονται ποσοτικά ειδικές τάξεις υποτύπων IgG, IgM και IgA, που εξαρτώνται από τη β2-γλυκοπρωτεΐνη I, η οποία είναι ένας απαραίτητος συμπαράγοντας της αναστολής της πήξης. Τα αντισώματα αυτά δεν αναγνωρίζουν ως αντιγόνο μόνο το φωσφολιπίδιο καρδιολιπίνη, αλλά αναγνωρίζουν το σύμπλεγμα καρδιολιπίνης με μία πρωτεΐνη του ορού που λέγεται β2-γλυκοπρωτεΐνη I. Η πρωτεΐνη αυτή υπάρχει στον ανθρώπινο ορό, αλλά και στον βόειο ορό (buffer), ο οποίος χρησιμοποιείται για να δεσμεύσει τις μη ειδικές θέσεις συνδέσεως των ανοσοσφαιρινών του προς εξέταση ορού πάνω στο πλακίδιο πολυστυρενίου της ELISA. Συνεπώς τα αCL αντισώματα που σχετίζονται με το Αντιφωσφολιπιδικό Σύνδρομο είναι β2-GP I εξαρτώμενα και είναι θρομβογόνα.

Αντιθέτως, τα αντιφωσφολιπιδικά που συνδέονται με καρδιολιπίνη ή άλλα φωσφολιπίδια, ανεξαρτήτως της παρουσίας β2-GP I, συνοδεύουν λοιμώξεις και άλλες μη αυτοάνοσες καταστάσεις (η ELISA είναι θετική και σε αυτές τις καταστάσεις: η παρατήρηση είναι ερευνητικού ανοσολογικού εργαστηρίου και όχι εργαστηρίου ρουτίνας). Με τη μέθοδο ELISA, επίπεδα αντικαρδιολιπινικών αντισωμάτων IgG και IgM 10-20 μονάδες (GPL για την IgG και MPL για την IgM) θεωρούνται χαμηλά, 20-80 μονάδες θεωρούνται μέτρια, ενώ πάνω από 80 μονάδες θεωρούνται υψηλά. Τα αντισώματα θεωρούνται θετικά όταν εμφανίζουν μέτριους ή/και υψηλούς τίτλους σε δύο συνεχόμενες μετρήσεις με διαφορά έξι (6) εβδομάδων<sup>7,8</sup>.

Η β2-GP I (απολιποπρωτεΐνη-H) είναι ένας πρωτεϊνικός αντιπηκτικός συμπαράγοντας, ο οποίος παρουσιάζει αντιγονικό επίτοπο μετά από τη στερεοσκοπική αναδιαμόρφωση που υφίσταται με την ιοντική σύνδεσή του με αρνητικά φωτισμένα φωσφολιπίδια (κυρίως φωσφατατιδυλαιθανολα-

μίνη) της μεμβράνης των ενδοθηλιακών κυττάρων (Αντιφωσφολιπιδικό Σύνδρομο = Σύνδρομο Αντιφωσφολιπιδικών Συμπαράγοντων). Το αντίσωμα κατά της β2-GP I συνδέεται με ένα οκταπεπτιδίο στο πέμπτο πεδίο της β2-GP I in vitro, ενώ in vivo το αντίσωμα αυτό συνδέεται με το σύμπλεγμα β2-GP I και φωσφατιδυλοσερίνης της μεμβράνης των ενεργοποιημένων ή των αποπτωτικών ενδοθηλιακών κυττάρων.

Αντισώματα κατά της β2-GP I (IgG, IgM και IgA) στο εργαστήριο είναι αυτά που ανιχνεύονται με δοκιμασίες ELISA, στις οποίες το πλακίδιο πολυστυρενίου δεν έχει επιστροφή με καρδιολιπίνη, αλλά με κεκαθαρμένη β2-GP I, συνεπώς τα αντί-β2-GP I αντισώματα συνδέονται με το αντιγόνο τους ανεξαρτήτως της παρουσίας φωσφολιπιδίου. Για να γίνει ισχυρή αυτή η σύνδεση πρέπει να υπάρχει μεγάλη συγκέντρωση, αλλά και αλλαγή στη διαμόρφωση του μορίου του αντιγόνου (της β2-GP I) πάνω στο πλακίδιο της ELISA. Αυτό επιτυγχάνεται με ακτινοβόληση του πλακιδίου πολυστυρενίου, με γ ακτινοβολία. Αν και τα αντί-β2-GP I παρουσιάζουν διασταυρούμενες αντιδράσεις με τα aCL αντισώματα (και τότε θεωρείται περισσότερο ισχυρή η εργαστηριακή επιβεβαίωση του αυτοάνοσου Αντιφωσφολιπιδικού Συνδρόμου, πρωτοπαθούς και δευτεροπαθούς), θεωρούνται ιδιαίτερη κατηγορία. Πρόσφατες μελέτες κλινικών συσχετίσεων έδειξαν ότι τα αντί-β2-GP I αντισώματα είναι ισχυρότεροι δείκτες θρομβώσεων από τα aCL αντισώματα, εν τούτοις τα αποτελέσματα από τα εμπορικά kits δεν έχουν επιβεβαιώσει τις συσχετίσεις αυτές και γι' αυτό δεν συνιστάται η αναζήτησή τους, από την Επιτροπή του Sarpogo, για την καθημερινή διαγνωστική προσέγγιση των ασθενών. Όμως, λόγω της μεγαλύτερης ειδικότητας των αντισωμάτων έναντι της αντί-β2-GP I, η αναζήτησή τους συνιστάται σε περιπτώσεις άτυπων κλινικών εκδηλώσεων Αντιφωσφολιπιδικού Συνδρόμου ή οριακά θετικών aCL αντισωμάτων (σε χαμηλούς τίτλους) ή/και αντιπηκτικό του λύκου LA(+/-), καθώς και σε περιπτώσεις με ισχυρές κλινικές ενδείξεις και aCL και LA αρνητικά.

Το αντιπηκτικό του λύκου (lupus anticoagulant

- LA) είναι ένας παράγοντας του πλάσματος που εμποδίζει, σε in vitro δοκιμασίες πήξεως (οι οποίες εξαρτώνται από φωσφολιπίδια), τη μετατροπή της προθρομβίνης σε θρομβίνη, με αποτέλεσμα την αύξηση του χρόνου ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης (Activated Partial Thromboplastin Time - aPTT). Οι δοκιμασίες πήξεως για το LA αναγνωρίζουν ως αντιγονικούς επιτόπους τις πρωτεΐνες-συμπαράγοντες β2-GP I και προθρομβίνη (παράγοντα πήξεως II), συνδεδεμένες με στερεές, αρνητικά φορτισμένες, φωσφολιπιδικές δομές. Επομένως, σε περιπτώσεις θετικού LA και αρνητικών aCL δεν αναγνωρίζεται αντίσωμα που να συνδέει την β2-GP I. Ενώ τις περισσότερες φορές, παρουσία αντιπηκτικού του λύκου, ο χρόνος προθρομβίνης (Prothrombin Time - PT) είναι φυσιολογικός, όταν είναι παρατεταμένος πρέπει να προσδιοριστεί το επίπεδο της προθρομβίνης, γιατί η έλλειψή της (λόγω ηπατικής νόσου, έλλειψη βιταμίνης K ή επίκτητου ανασταλτή του παράγοντα II σε αυτοάνοσο νόσημα, π.χ. ΣΕΛ) συνοδεύεται από αιμορραγία, ιδιαίτερα κατά τη διάρκεια επεμβατικών ιατρικών χειρισμών -και όχι από υπερπηκτικότητα<sup>4,8,12</sup>.

Η εργαστηριακή διερεύνηση της ύπαρξης του LA ακολουθεί τρία βασικά στάδια:

- 1. Στάδιο πρώτο: κατατοπιστικές δοκιμασίες (screening tests),**
- 2. Στάδιο δεύτερο: δοκιμασίες αναμίξεως (mixing tests),**
- 3. Στάδιο τρίτο: επιβεβαιωτικές δοκιμασίες (confirmative tests).**

Πρώτη κατατοπιστική δοκιμασία είναι ο χρόνος ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης (aPTT), ο οποίος είναι παρατεταμένος. Άλλες αξιόπιστες κατατοπιστικές δοκιμασίες είναι: α) η δοκιμασία αναστολής της αραιάς θρομβοπλαστίνης (dTTI), β) ο χρόνος πήξεως με καολίνη (KCT - ευαίσθητος σε αντί II), γ) ο χρόνος πήξεως dilute Russell Viper Venum Test (dRVVT - ευαίσθητος σε αντί-β2-GP I).

Είναι σημαντικό ότι ένας φυσιολογικός aPTT δεν αποκλείει την παρουσία LA και γι' αυτό ένας ασθενής με πρώτο θρομβωτικό επεισόδιο πρέπει να ελέγχεται για aPL αντισώματα και με άλλες



μεθόδους που είναι ευαίσθητες στα αντισώματα του αντιπηκτικού του λύκου (όπως dRVVT κ.ά.). Η dRVVT ενεργοποιεί κατευθείαν τον παράγοντα X και γι' αυτό, προσπερνώντας τους παράγοντες που απαιτούνται για το ενδογενές μονοπάτι της πήξης, απαιτείται μικρότερη ποσότητα φωσφολιπιδίων που θα αλληλεπιδράσει στην αντίδραση, καθιστώντας την ιδιαίτερα αξιόπιστη.

Στις δοκιμασίες αναμίξεως γίνεται ανάμιξη του παθολογικού με φυσιολογικό πλάσμα, σε αναλογία 1:1, και επανεκτέλεση της παρατεταμένης δοκιμασίας πήξεως (κατά προτίμηση της ίδιας που χρησιμοποιήθηκε στο προηγούμενο στάδιο). Όταν έχουμε διόρθωση του χρόνου πήξης, τότε υπάρχει έλλειψη παράγοντα πήξεως ή ύπαρξη επίκτητου αναστολέα (αντισώματα στον VIII ή στον V παράγοντα) στο εξεταζόμενο πλάσμα, ενώ όταν συνεχίζεται η ύπαρξη παράτασης του χρόνου πήξεως εκτελούνται οι επιβεβαιωτικές δοκιμασίες. Στις επιβεβαιωτικές δοκιμασίες το αντιδραστήριο είναι εμπλουτισμένο με φωσφολιπίδιο (TTI confirmative, dRVVT confirmative και HP-PL neutralization, λυοφιλοποιημένα αιμοπετάλια)<sup>8-12</sup>.

Τα aPL αντισώματα είναι πολυκλωνικά και πολυειδικά και οι όροι aCL και LA δεν αποτελούν συνώνυμα, αλλά αλληλοεπικαλύπτονται μερικώς, όπως συμβαίνει και με την αντί-β2-GP I και τον αντιπαράγοντα II (αντισώματα έναντι προθρομβίνης). Περίπου 80% των ασθενών με αντιπηκτικό του λύκου έχουν αντικαρδιολιπινικά αντισώματα και 20% με θετικά aCL έχουν θετικό LA. Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι το LA είναι λιγότερο ευαίσθητο, αλλά περισσότερο ειδικό από τα aCL για το APS. Τα aCL ανιχνεύονται σε 1-5% του φυσιολογικού πληθυσμού, ενώ το LA είναι θετικό σε μικρότερο ποσοστό φυσιολογικών ατόμων, κυρίως σε άτομα μεγάλης ηλικίας με χρόνια νοσήματα, και επηρεάζεται από φάρμακα (χλωροπρομαζίνη) και χρόνιες λοιμώξεις (HIV και λέπρα).

Οι δύο μέθοδοι -aCL με ELISA και δοκιμασίες πήξεως για αντιπηκτικό του λύκου (LA)- δεν αναγνωρίζουν απαραίτητα τα ίδια αντισώματα, είναι συμπληρωματικές και είναι απαραίτητο να πραγματοποιούνται και οι δύο σε διερεύνηση ρουτίνας

(στην πράξη το 30% των ασθενών είναι θετικό σε μία μόνο από τις δύο). Το LA συνδέεται κυρίως με φλεβικές θρομβώσεις (αυτό που συνδέεται με β2-GP I) απ' ό,τι τα aCL αντισώματα. Τα aCL θεωρούνται ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για αρτηριακές θρομβώσεις και μέτριοι / υψηλοί τίτλοι προδικάζουν συνεχόμενα θρομβωτικά επεισόδια. Η αρνητική προγνωστική αξία είναι μεγάλη για την ELISA των aCL, της αντί-β2-GP I και του LA, ενώ η θετική προγνωστική αξία δεν είναι τόσο μεγάλη.

Οι Lee και συν. βρήκαν ότι η αναζήτηση της αντί-β2-GP I δεν απομονώνει επιπρόσθετες ασθενείς με Αντιφωσφολιπιδικό Σύνδρομο, ανάμεσα σε αυτές με συχνές αποβολές ή εμβρυϊκούς θανάτους, που είναι αρνητικές για aCL. Η ELISA της αντί-β2-GP I είναι αρνητική σε λοιμώξεις, ενώ μπορεί σε ορισμένες λοιμώξεις καταστάσεις (νόσο Lyme - *Borrelia burgdorferi*, AIDS - HIV, λεπτοσπείρωση - *leptospira*, σύφιλη - *treponema palladium*, άλλες σπειροχαιτώσεις - μη συφιλιδικά τρεπονήματα, διάφορες ιώσεις κ.λπ.) να παρουσιάζονται θετικά aCL, κυρίως IgM, σε χαμηλούς έως μέτριους τίτλους και παροδικά (περίπου για 6 εβδομάδες), συνήθως λόγω διασταυρούμενης αντίδρασης των φωσφολιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης και των οργανιλίων των βακτηρίων ή των παρασίτων ή των ιών με την καρδιολιπίνη (πίνακας 2). Με την αποδρομή της νόσου εξαφανίζονται και τα αντισώματα<sup>10,12</sup>.

### Ταξινόμηση των Αντιφωσφολιπιδικών Συνδρόμων – Εργαστηριακός έλεγχος σε ανεξήγητη θρόμβωση

#### 1. Πρωτοπαθές Αντιφωσφολιπιδικό Σύνδρομο (Πρωτοπαθές ΑΦΣ).

#### 2. Δευτεροπαθές αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο (Δευτεροπαθές ΑΦΣ).

- Αυτοάνοσες νόσοι: Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος (ΣΕΛ), Νόσος τύπου-λύκου (lupus-like), πιθανός ΣΕΛ, άλλες αυτοάνοσες νόσοι (π.χ. νοσήματα του συνδετικού ιστού, αγγειίτιδες)
- Λοιμώξεις
- Κακοήθειες

**ΠΙΝΑΚΑΣ 4. ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΑ ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΣΕΛ ΤΟΥ ΑΜΕΡΙΚΑΝΙΚΟΥ ΚΟΛΛΕΓΙΟΥ ΡΕΥΜΑΤΟΛΟΓΙΑΣ (ACR) ΠΟΥ ΜΠΟΡΕΙ ΚΑΙ ΝΑ ΕΜΦΑΝΙΣΤΟΥΝ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΠΡΩΤΟΠΑΘΕΣ ΑΝΤΙΦΩΣΦΟΛΙΠΙΔΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ<sup>12</sup>**

**ACR ΚΡΙΤΗΡΙΑ**

**Ορογονίτιδα**

Πλευρίτιδα  
Περικαρδίτιδα

**ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΗ ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗ ΣΕ ΠΡΩΤΟΠΑΘΕΣ ΑΦΣ**

Πνευμονική εμβολή  
Αριστερή καρδιακή ανεπάρκεια  
Έμφραγμα μυοκαρδίου, ουραιμία

**Νεφροπάθεια**

Διαταραχή νεφρικών αγγείων  
(π.χ. θρόμβωση νεφρικής αρτηρίας ή φλέβας, νεφρική θρομβωτική αγγειοπάθεια)

**Νευρολογικές διαταραχές**

Επιληψία  
Ψύχωση

Θρομβωτική αγγειακή εγκεφαλική νόσος  
Θρομβωτική εγκεφαλική μικροαγγειοπάθεια

**Αιματολογικές διαταραχές**

Θρομβοκυτταροπενία

Απευθείας σχετιζόμενη με αντιφωσφολιπιδικά abs (aPL)

Αιμολυτική αναιμία

Απευθείας σχετιζόμενη με αντιφωσφολιπιδικά abs (aPL)

**Ανοσολογικές διαταραχές**

Ψευδώς θετικά standard test σύφιλης (VDRL, RPR, TPI, FTA-ABS)  
Αντισώματα έναντι διπλής έλικας DNA (ds DNA)  
ANA

Ορολογική εξέταση αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων (aPL-test)

Ανιχνεύονται με ELISA

Ανιχνεύονται σε χαμηλούς τίτλους μόνο (<1:320)

- Φάρμακα
- Άλλα (π.χ. ασθενείς σε αιμοδιύλιση)<sup>12</sup>.  
Το πρωτοπαθές Αντιφωσφολιπιδικό διαφορο-διαγιγνώσκεται από άλλες αυτοάνοσες θρομβοφιλικές καταστάσεις, όπως είναι το HITT (θρομβοπενία και θρόμβωση από ηπαρίνη), η σποραδική ιδιοπαθής θρομβοπενική πορφύρα, η θρομβοφιλία οφειλόμενη σε αντίσωμα στον von Willebrand (Factor IX), η θρομβοφιλία σχετιζόμενη με αντίσωμα έναντι

της αντιθρομβίνης<sup>16,17</sup>. Για τους ανωτέρω λόγους σε μία ανεξήγητη θρόμβωση χρειάζεται ο κάτωθι έλεγχος (αλγόριθμος 1):

1. Γενική αίματος και μικροσκοπική εξέταση επιχρίσματος περιφερικού αίματος (π.χ. για ύπαρξη σχιστοκυττάρων),
2. Πρωτεΐνη C,
3. Αντίδραση ενεργοποιημένης πρωτεΐνης C (αναλογία) [παράγοντας V (Leiden), APC-αντί-

δραση στην ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C],

4. Πρωτεΐνη S (ελεύθερη και ολική),
5. Αντιθρομβίνη III,
6. Χρόνος ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστικής (αΡΤΤ),
7. Χρόνος προθρομβίνης (ΡΤ),
8. Χρόνος ραπιλάσης (Reptilase),
9. Συγκέντρωση ινωδογόνου,
10. Προϊόντα διάσπασης ινωδογόνου,
11. Συγκέντρωση πλασμινογόνου,
12. Ομοκουστεΐνη ορού και ούρων,
13. Αντιπυρηνικά αντισώματα,
14. Παράγοντες συμπληρώματος (C3, C4 και CH50),
15. Αντιπηκτικό του λύκου (LA),
16. Αντικαρδιολιπινικά αντισώματα (IgG και IgM),
17. Ορολογικές δοκιμασίες σύφιλης.

Άλλες εργαστηριακές δοκιμασίες που γίνονται περιλαμβάνουν: α) το αντικαρδιολιπινικό αντίσωμα (IgA), β) το αντίσωμα β2-γλυκοπρωτεΐνης I, και γ) τα αντισώματα έναντι άλλων φωσφολιπιδίων. Όταν υπάρχουν ισχυρές κλινικές ενδείξεις για ΑΦΣ, ενώ αCL και LA είναι αρνητικά, μπορούμε να εξετάσουμε την αντιφωσφατιδυλοσερίνη, το αντιφωσφατιδικό οξύ, την αντιφωσφατιδυλοϊνσιτόλη, την αντιφωσφατιδυλοαιθανολαμίνη και την αντιφωσφατιδυλοχολίνη. Όταν συνυπάρχει ανεπάρκεια πρωτεΐνης S και αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα ο κίνδυνος θρομβώσεων είναι πολύ μεγαλύτερος, γι' αυτό πρέπει να γίνονται όλες οι προηγούμενες δοκιμασίες<sup>5</sup>.

#### ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ ΓΙΑ ΑΝΑΖΗΤΗΣΗ ΑΝΤΙΦΩΣΦΟΛΙΠΙΔΙΚΩΝ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ

Οι κλινικές ενδείξεις αναζήτησης Αντικαρδιολιπινικών αντισωμάτων και Αντιπηκτικού του λύκου περιλαμβάνουν τα κάτωθι:

1. Αυτόματη φλεβική θρόμβωση σε άτομο ηλικίας <45 ετών (εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση, πνευμονική εμβολή),
2. Αρτηριακή απόφραξη σε άτομο ηλικίας <45 ετών (έμφραγμα του μυοκαρδίου, ισχαιμικό έμφρακτο), χωρίς παράγοντες κινδύνου,

3. Υποτροπιάζουσες απώλειες εμβρύου 1ου και 2ου τριμήνου και πρώιμη σοβαρή προ-εκλαμψία,

4. Αξιολόγηση του κινδύνου θρόμβωσης σε περιπτώσεις ασθενών με ΣΕΛ (Συστηματικό Ερυθηματώδη Λύκο) ή άλλα νοσήματα του συνδετικού ιστού,

5. Διερεύνηση διαταραχών πιθανώς οφειλόμενων σε υπερπηκτικές καταστάσεις (θρομβοφιλίες), όπως ισχαιμική οπτική νευροπάθεια, χορεία, δικτυωτή πελίδνωση κ.ά.,

6. Ανεξήγητη θρομβοπενία,

7. Παρουσία ψευδώς θετικής συφιλοαντίδρασης (RPR),

8. Διερεύνηση περιστατικών με κλινικά και εργαστηριακά κριτήρια Συστηματικού Ερυθηματώδους Λύκου για την επιβεβαίωση της διάγνωσης (καινούριο κριτήριο - ανοσολογική διαταραχή).

Άλλες μη χαρακτηριστικές κλινικές εκδηλώσεις είναι:

1. Αίμα: Αυτοάνοση Αιμολυτική Αναιμία, θρομβοπενία,

2. Καρδιά: έμφραγμα μυοκαρδίου και ισχαιμική καρδιακή νόσος, ενδοκαρδίτιδα Libman-Sachs (ψευδολοιμώδης-ακροχορδονώδης ενδοκαρδίτιδα), πάχυνση ή εκβλαστήσεις και δυσλειτουργία μιτροειδούς - αορτής, ενδοκαρδιακοί θρόμβοι, αποφράξεις μοσχευμάτων μετά από by-pass στεφανιαίων αγγείων και μετά από αγγειοπλαστική, οξεία και χρόνια μυοκαρδιοπάθεια, ενώ δυναμικά μπορεί να συμπεριληφθεί και η συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια,

3. Πνεύμονες: πνευμονική εμβολή, χρόνια πνευμονική υπέρταση, αιμορραγική κυψελίτιδα,

4. Δέρμα: δικτυωτή πελίδνωση, εξελκώσεις, ερυθηματώδεις κηλίδες, επώδυνη ψηλαφητή πορφύρα, αιμορραγικές φυσαλίδες, νέκρωση, γάγγραινα, υπονύχιες αιμορραγίες,

5. ΚΝΣ και οφθαλμός: αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια, επεισόδια παροδικής εγκεφαλικής ισχαιμίας και παροδικής αμαύρωσης, σπασμοί, άνοια από πολλαπλά μικροεμφράγματα, τύφλωση, ισχαιμική οπτική νευρίτιδα, αγγειοαποφρακτική χοριο-αμφιβληστροειδοπάθεια, εγκάρσια μυελο-

πάθεια, σύνδρομο Guillain-Barré, σύνδρομο που μοιάζει με Σκλήρυνση κατά Πλάκας, ημικρανία, χορεία,

6. Νεφροί: απόφραξη νεφρικής αρτηρίας ή κλάδων, απόφραξη ενδονεφρικών αρτηριδίων, απόφραξη τριχοειδών σπειράματος, απόφραξη νεφρικής φλέβας (υπέρταση μέτρια έως κακοήθης, λευκωματουρία, έκπτωση νεφρικής λειτουργίας),

7. Γαστρεντερικό: ηπατική νέκρωση, μη λιθιασική χολοκυστίτιδα, σύνδρομο Budd-Chiari, έμφρακτα/έλκη εντέρου,

8. Οστά: άσηπτη νέκρωση, νέκρωση μυελού των οστών,

9. Ενδοκρινείς αδένες: επινεφριδιακή ανεπάρκεια, υποφυσισμός<sup>5, 7, 12, 18</sup>.

## ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Η διαφορική διάγνωση περιλαμβάνει (πίνακας 3):

A. Καταστάσεις που προδιαθέτουν σε φλεβοθρόμβωση: Χρήση αντισυλληπτικών *per os*, κακοήθειες, νεφρωσικό σύνδρομο, πολυκυτταραιμία, θρομβοκυττάρωση, νόσος Αδαμαντιάδη–Behçet, ανεπάρκειες αντιπηκτικών παραγόντων (ανεπάρκεια αντιθρομβίνης III, πρωτεΐνης C ή πρωτεΐνης S), δυσινωδογοναιμία, παροξυσμική νυχτερινή αιμοσφαιρινουρία, ομοκυστινουρία.

B. Καταστάσεις που προδιαθέτουν σε αρτηριακή απόφραξη: Υπερλιπιδαιμίες, Σακχαρώδης Διαβήτης, υπέρταση, αγγειϊτίδες, δρεπανοκυτταρική αναιμία, νόσος Buerger (αποφρακτική θρομβοαγγειϊτιδα).

Γ. Διαφοροδιάγνωση του καταστροφικού Αντιφωσφολιπιδικού Συνδρόμου (θρομβωτική μικροαγγειοπάθεια σε τρία τουλάχιστον διαφορετικά όργανα σε μια περίοδο ημερών ή εβδομάδων με παθολογοανατομικές αποδείξεις πολλαπλών εμφράκτων σε μικρά και μεγάλα αγγεία): Θρομβωτική Θρομβοπενική Πορφύρα, Διάχυτη Ενδοαγγειακή Πήξη, ενεργός Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος, Αιμολυτικό Ουραιμικό Σύνδρομο<sup>6, 12-18</sup>.

## ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΠΡΩΤΟΠΑΘΟΥΣ ΑΝΤΙΦΩΣΦΟΛΙΠΙΔΙΚΟΥ ΣΥΝΔΡΟΜΟΥ ΑΠΟ ΔΕΥΤΕΡΟΠΑΘΕΣ ΑΝΤΙΦΩΣΦΟΛΙΠΙΔΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΣΤΑ ΠΛΑΙΣΙΑ ΣΕΛ

Η μέση συχνότητα ανίχνευσης των aCL και του LA σε ασθενείς με ΣΕΛ είναι 31%, ενώ αντισώματα έναντι της β2-GP I ανευρίσκονται στο 35% των ασθενών με ΣΕΛ. Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι η επίπτωση της θρομβοεμβολικής νόσου σε ασθενείς με ΣΕΛ και θετικά aCL ή/και LA κυμαίνεται στο 35-42%, αλλά και η χρόνια και σταθερή παρουσία των aPL (όχι μόνο σε περιόδους έξαρσης του ΣΕΛ) είναι παράγοντας κινδύνου για θρόμβωση και εμφάνιση του Αντιφωσφολιπιδικού Συνδρόμου (όπως επί μακρόν υψηλοί τίτλοι IgG aCL).

Η διερεύνηση για τη συνύπαρξη φλεγμονώδους αγγειοπάθειας είναι ο καλύτερος δείκτης επικινδυνότητας των aPL, ενώ η προσπάθεια ελάττωσης του τίτλου τους με ανοσοτροποιοτική θεραπεία -απουσία κλινικών σημείων (όπως αιμολυτική αναιμία, θρομβοπενία, καταστροφικό APS - θρομβωτική μικροαγγειοπάθεια)- δεν είναι σκόπιμη. Σε ασθενείς με ΣΕΛ και aPL και θετικό ιστορικό θρομβώσεων και αποβολών απαιτείται διά βίου αντιπηκτική και αντι-αιμοπεταλιακή αγωγή, γιατί η κλινική πορεία του δευτεροπαθούς APS είναι ανεξάρτητη από την ενεργότητα του ΣΕΛ, αλλά η παρουσία του σαφώς επηρεάζει την πρόγνωση. Η παρουσία αναιμίας, θρομβοπενίας και δικτυωτής πελίδνωσης είναι μεγαλύτερη, ενώ είναι μικρότερη η επίπτωση αποβολών και αρτηριακών αποφράξεων στο ΑΦΣ σε έδαφος ΣΕΛ, σε σχέση με το πρωτοπαθές. Η εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση, τα έλκη στις κνήμες και η θρομβοπενία τείνουν να παρουσιάζονται νωρίς στην πορεία ασθενών με ΣΕΛ και θετικό LA. Τις περισσότερες φορές όμως κατά τη διάγνωση, ευρήματα συμβατά με ΣΕΛ είναι εμφανή και, επομένως, πριν να ορισθεί ως πρωτοπαθές το Αντιφωσφολιπιδικό Σύνδρομο, το κλινικό ιστορικό και ο εργαστηριακός έλεγχος είναι απαραίτητα. Ο υψηλός τίτλος ANA, η ύπαρξη αντί-ds DNA και αντί-Sm, καθώς και η παρουσία λεμφοπενίας, θα πρέπει να εγείρουν την πιθανότητα ΣΕΛ. Επίσης, η βαλβιδική νόσος, η αιμολυτική αναιμία, η ουδε-

τεροπενία και το χαμηλό συμπλήρωμα C4 είναι ισχυρές ενδείξεις δευτεροπαθούς APS σε έδαφος ΣΕΛ (πίνακας 4).

Ο Piette έχει προτείνει ως κριτήρια αποκλεισμού για το πρωτοπαθές Αντιφωσφολιπιδικό Σύνδρομο (PAPS) τα εξής: εξάνθημα παρειάς, δισκοειδής λύκος, φωτοευαισθησία, στοματικά έλκη, αρθρίτιδα, ορογονίτιδα, υψηλός τίτλος αντιπυρηνικών αντισωμάτων (ANA), φαινόμενο Raynaud<sup>5,6,11,12</sup>. Η παρουσία θρομβοεμβολικών επεισοδίων και υψηλών τίτλων IgG aCL αυξάνει τη θνητότητα του ΣΕΛ στα πλαίσια δευτεροπαθούς APS<sup>6,7,12,14</sup>.

Προτεινόμενα εμπειρικά κριτήρια αποκλεισμού για τη διάκριση πρωτοπαθούς από σχετιζόμενο με ΣΕΛ Αντιφωσφολιπιδικό Σύνδρομο είναι τα κάτωθι:

- Εξάνθημα παρειών (πεταλούδας)
- Δισκοειδές εξάνθημα
- Έλκη στόματος ή φάρυγγος (εξαιρείται η εξέλκωση ή διάτρηση του ρινικού διαφράγματος)
- Αληθινή αρθρίτιδα
- Πλευρίτιδα, σε απουσία πνευμονικής εμβολής ή αριστερής καρδιακής ανεπάρκειας
- Περικαρδίτιδα, σε απουσία εμφράγματος ή ουραιμίας
- Επίμονη πρωτεϊνουρία μεγαλύτερη από 0,5gr/24ώρες εξαιτίας σπειραματονεφρίτιδας επιβεβαιωμένης με βιοψία, που οφείλεται σε ανοσοσυμπλέγματα
- Λεμφοπενία με λιγότερα από 1000/μl λεμφοκύτταρα
- Αντισώματα έναντι διπλής έλικας DNA (ds DNA) προσδιοριζόμενα με RIA ή Crithidia ανοσοφθορισμό
- Αντι-ENA αντισώματα
- ANA σε τίτλο μεγαλύτερο από 1:320
- Θεραπεία με φάρμακα που είναι γνωστό ότι προκαλούν την εμφάνιση αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων (aPL).

Η παρουσία ενός από αυτά τα κριτήρια αποκλείει τη διάγνωση του πρωτοπαθούς Αντιφωσφολιπιδικού Συνδρόμου. Η παρακολούθηση του ασθενούς για περισσότερο από 5 χρόνια μετά από την πρώτη κλινική συμπτωματολογία

είναι απαραίτητη για να αποκλεισθεί (σχεδόν εντελώς) η επακόλουθη εκδήλωση του ΣΕΛ<sup>12</sup>.

## ΑΝΟΣΟΠΑΘΟΓΕΝΕΤΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ

Η επίδραση των aPL εκτιμάται καλύτερα από παθογενετική σκοπιά, με έμφαση σε δύο σημεία: στη φύση και το μέγεθος των επηρεαζόμενων αγγείων και στην οξύτητα ή τη χρονιότητα της θρομβωτικής βλάβης. Τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα συμμετέχουν στην παθογένεια των αρτηριακών και φλεβικών θρομβώσεων, καθώς και των αποβολών, και έχουν προταθεί αρκετές υποθέσεις για την εξήγηση των κυτταρικών και μοριακών μηχανισμών. Μια πρώτη θεωρία ενοχοποιεί την ενεργοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων με τη σύνδεση των αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων σε αυτά, όπως αποδεικνύεται ερευνητικά από την αύξηση της έκφρασης των μορίων προσκόλλησης, την έκκριση κυτοκινών και την επίταση του μεταβολισμού των προσταγλανδινών. Τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα αναγνωρίζουν την β2-γλυκοπρωτεΐνη I που είναι συνδεδεμένη με τα ευρισκόμενα σε κατάσταση ηρεμίας ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων, αν και η βάση για την αλληλεπίδραση της β2-γλυκοπρωτεΐνης I με τα ενδοθηλιακά κύτταρα παραμένει άγνωστη. Προτείνεται ότι ο καταλυτικός ρόλος της γλυκοπρωτεΐνης β2-GPI είναι η δημιουργία νέο-επιτόπων, με τη σύνδεσή της σε ανιονικά φωσφολιπίδια, ή η συμβολή της στην αλλαγή δυναμικού της μεμβράνης και στην αποκάλυψη κρυπτικών αντιγονικών επιτόπων, που αποτελούν στόχο των aPL αντισωμάτων στη μεμβράνη των ενδοθηλιακών κυττάρων, με αποτέλεσμα τη διευκόλυνση της απομάκρυνσής τους από τα μακροφάγα (απόπτωση) ή την ενεργοποίησή τους που οδηγεί σε προθρομβωτική κατάσταση.

Μια δεύτερη θεωρία εστιάζει σε οξειδωτικό τραύμα των ενδοθηλιακών κυττάρων. Η οξειδωση της χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης (LDL), ενός μείζονος παράγοντα αθηροσκλήρωσης, προκαλεί κινητοποίηση των μακροφάγων, οδηγώντας σε ενεργοποίησή τους και επακόλουθη καταστροφή των ενδοθηλιακών κυττάρων. Ακόμη,

σχηματίζονται αντισώματα έναντι της οξειδωθείσας LDL που βρίσκονται σε σύνδεση με μια ομάδα αντικαρδιολιπινικών αντισωμάτων και, επιπλέον, υπάρχουν ενδείξεις ότι ομάδα αντικαρδιολιπινικών αντισωμάτων εμφανίζουν διασταυρούμενη αντίδραση με την οξειδωθείσα LDL. Καθώς τα αντικαρδιολιπινικά αντισώματα συνδέονται με την οξειδωθείσα καρδιολιπίνη, θέτουν την υπόθεση ότι τα αντικαρδιολιπινικά αντισώματα αναγνωρίζουν τα οξειδωμένα φωσφολιποειδή, τις συνδεδεμένες με φωσφολιποειδή πρωτεΐνες ή και τα δύο. Τα aPL ασκώντας καταλυτική επίδραση στη αθηροσκληρωτική διαδικασία επιταχύνουν, με τη θρομβωτική μικροαγγειοπάθεια βραδείας εξέλιξης που προκαλούν, την εμφάνιση προοδευτικής ισχαιμίας από θρόμβωση και την σιωπηρά εξελισσόμενη οργανική ανεπάρκεια (αθηροσκληρωση – μυοκαρδική ισχαιμία) σε ασθενείς με ΣΕΛ και APS ή σε ασθενείς με πρωτοπαθές APS, αλλά και σε άτομα με θετικά aPL χωρίς κλινικές εκδηλώσεις του συνδρόμου.

Μια τρίτη θεωρία προτείνει ότι τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα αλληλεπιδρούν ή τροποποιούν τη λειτουργία των συνδεδεμένων με φωσφολιποειδή πρωτεϊνών που εμπλέκονται στη ρύθμιση της πήξης. Αν και λίγα είναι γνωστά για τη βιολογική λειτουργία της β2-γλυκοπρωτεΐνης Ι, φαίνεται ότι δρα ως φυσικό αντιπηκτικό. Έχουν, επίσης, προταθεί μηχανισμοί με τους οποίους τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα αλληλεπιδρούν με τις ρυθμιστικές λειτουργίες της προθρομβίνης, της πρωτεΐνης C, της αννεξίνης V και του ιστικού παράγοντα του πλασμινογόνου.

Τελευταία, η θρόμβωση στο Αντιφωσφολιπιδικό Σύνδρομο έχει συνδεθεί με τη θρομβοπενία και τη θρόμβωση από ηπαρίνη (HITT Σύνδρομο). Και τα δύο σύνδρομα προκαλούν πολλαπλές θρομβώσεις σε αρτηρίες και σε φλέβες. Στο HITT Σύνδρομο, το σημείο της θρόμβωσης καθορίζεται από προϋπάρχουσα αγγειακή βλάβη (θεωρία του δεύτερου πλήγματος - second hit), ενώ στο Αντιφωσφολιπιδικό Σύνδρομο υπάρχει μεγάλη συχνότητα υποτροπών από όμοια θρομβωτικά συμβάντα. Μια δεύτερη αιτία, όπως το αγγειακό

τραύμα, μπορεί να είναι απαραίτητη για να συμβεί θρόμβωση και στα δύο σύνδρομα. Παραμένει ακαθόριστο ποιο κυτταρικό φωσφολιποειδές και ποια συνδεδεμένη με φωσφολιποειδή πρωτεΐνη είναι ο στόχος των αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων in vivo. Η απουσία ανιονικών φωσφολιποειδών στην κυτταρική επιφάνεια και η φαινομενική απουσία δραστηριοποίησης των αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων με τα ανέπαφα κύτταρα θέτουν την υπόθεση ότι, για τη σύνδεση των αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων, είναι αναγκαία κάποια διαταραχή της κυτταρικής μεμβράνης. Πράγματι, κάποια αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα αντιδρούν με ενεργοποιημένα αιμοπετάλια που έχουν υποστεί απώλεια της φυσιολογικής ασύμμετρου διάταξης των μεμβρανικών φωσφολιποειδών και εκθέτουν ανιονικά φωσφολιποειδή στην κυτταρική τους επιφάνεια.

Όσον αφορά στους παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς που ενέχονται στις επιπλοκές κυήσεως, υποστηρίζεται ότι αυτοί σχετίζονται με μειωμένη παραγωγή προστακυκλίνης, αυξημένη παραγωγή θρομβοξάνης από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, αναστολή της ηπαρίνο-εξαρτώμενης αντιθρομβίνης III, αναστολή της ενεργοποίησης των πρωτεϊνών C και S, ενεργοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων και των αιμοπεταλίων (αγγειοπάθεια και θρόμβωση των αγγείων του πλακούντα), αυξημένη έκφραση μορίων προσκόλλησης, μείωση της παραγωγής της αννεξίνης V ή/και αναστολή της δράσης της στον πλακούντα (αντισώματα έναντι αννεξίνης V - φωσφατιδυλοσερίνης). Εκδηλώσεις APS στο νεογνό (κυρίως θρομβώσεις) έχουν περιγραφεί, αλλά είναι σπάνιες (πιθανή διέλευση IgM aCL από τον πλακούντα), όπως επίσης έχουν περιγραφεί θρομβώσεις της μητέρας κατά την κύηση, τον τοκετό και τη λοχεία (η κύηση είναι από μόνη της προδιαθεσικός παράγοντας θρομβώσεων).

Γιατί όμως δεν εμφανίζουν θρομβώσεις ή αποβολές άτομα που έχουν θετικά αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα για μεγάλο χρονικό διάστημα και παραμένουν ασυμπτωματικά; Ακόμη, γιατί άλλα άτομα εμφανίζουν μόνο υποτροπιάζουσες θρομβώσεις (αρτηριακές ή/και φλεβικές) σε συγκεκρι-

μένες περιοχές, όπως και άλλα εμφανίζουν μόνο υποτροπιάζουσες αποβολές 1ου ή 2ου τριμήνου κύησης; Όλα αυτά είναι ανεξήγητα ερωτήματα, όσο αφορά στον παθογενετικό ρόλο των αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων στον καθορισμό του κινδύνου θρομβώσεων, που χρήζουν διερεύνησης και μελλοντικής απάντησης<sup>20-24</sup>.

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ευχαριστώ θερμά, για την βοήθειά της, την κ. Αλεξάνδρα Τσιρογιάννη, Επιμελήτρια Α΄ του Τμήματος Ανοσολογίας-Ιστοσυμβατότητας του ΠΓΝΑ “Ο Ευαγγελισμός”, η συμβολή της οποίας υπήρξε πολύτιμη στη συγγραφή αυτής της εργασίας λόγω της μεγάλης της εμπειρίας στα αυτοαντισώματα.

## ABSTRACT

### **Antiphospholipid antibodies: terminology, laboratory investigation, clinical significance and immunopathogenic involvement**

M. Zakalka

*Rheumatologist*

The antiphospholipid antibodies (aPL) mainly consist of the anticardiolipin antibodies (aCL), the lupus anticoagulant (LA) and the antibodies against  $\beta 2$ -glycoprotein I (anti- $\beta 2$  GP I); in vitro they recognize, as antigenic epitopes, plasma proteins which are bound to negatively charged phospholipids-membrane components; their serum presence in vivo presents a statistically significant correlation with the clinical manifestation of arterial and/or venous thrombosis and the recurrent pregnancy loss. The laboratory methodology employed for the detection of anticardiolipin antibodies and of anti- $\beta 2$  GP I consists of, mainly, ELISA techniques, while for the lupus anticoagulant we mainly use the clotting-based tests. There are two types of Antiphospholipid Syndrome, the primary and the secondary. The secondary has been related to autoimmune diseases, more often to Systemic Lupus Erythematosus (SLE), however anticardiolipin antibodies have been detected in

many conditions (infections, malignancies, drugs). The Antiphospholipid Syndrome has multisystemic clinical manifestations, apart from the thrombosis in arterial and/or venous sites and the pregnancy morbidity. Moreover, the differential diagnosis by exclusion of the primary Antiphospholipid Syndrome from the secondary one, in the course of SLE, has essential clinical interest. The recent prominent theories for the immunopathogenic mechanism of the antiphospholipid antibodies involvement in the thrombosis' induction are: the activation and/or apoptosis of vascular endothelial cells, the oxidant damage of the endothelial cells and the functional impairment of the proteins which are bound to phospholipids and are involved in the regulation of the coagulant factors' activity or their combination. Furthermore, in the pathogenesis of recurrent fetal loss, the derangement of the prostaglandins' balance, the inhibition of the blood anticoagulant factors and the reduction or inactivation of the antithrombotic shield of annexin V are involved.

Hellenic Rheumatology 2007; 18(1):36-51

**Key words:** *antiphospholipid antibodies (aPL), anticardiolipin antibodies (aCL), lupus anticoagulant (LA), anti- $\beta 2$ -glycoprotein I (anti- $\beta 2$ -GP I), primary Antiphospholipid Syndrome, secondary Antiphospholipid Syndrome, Antiphospholipid Syndrome in the course of SLE.*

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Kotzin L, West B, Sterling G. Systemic Lupus Erythematosus. Antiphospholipid antibodies and the antiphospholipid antibody syndrome. In: Clinical Immunology, Principles and practice, 2nd edition. Mosby International Limited, Vol. 2, London 2001, pp.60.20-21.
2. Hansen KE. Antiphospholipid antibody syndrome. In: Rheumatology secrets, 2nd edition. Hanley and Belfus Inc, Philadelphia 2002, pp.184-192.
3. Galli M. Antiphospholipid syndrome: definition and treatment. The Hematology Journal 2002; 3(Suppl.2):183-187.

4. Asherson RA, Cervera R. The antiphospholipid syndrome. In: Kelley WN, Ruddy S, Harris Ed, Sledge CD (eds). *Textbook of Rheumatology*, 5th edition. WB Saunders and Company, Philadelphia 1997, pp.1057-1064.
5. Khamashta MA, Hughes GRY. The antiphospholipid antibody syndrome. In: *Oxford Textbook of Rheumatology*, 2nd edition. Oxford Medical Publications, Vol. 2, New York 1998, pp.1202-1216.
6. Αντιφωσφολιπιδικό Σύνδρομο. Τεύχος Πρακτικών Ημερίδας της Ελληνικής Αιματολογικής Εταιρείας, Τμήμα Αιμόστασης. Αθήνα, 5 Οκτωβρίου 2001, σελ. 9-95.
7. Harris EN, Khamashta MA. Antiphospholipid syndrome. In: Hochberg M, Silman A, Smolen J, Weinblatt M, Weisman M(eds). *Rheumatology*, 3rd edition. Mosby, Vol. Two, Toronto 2003, pp.1445-1453.
8. Bauer KA, Goodnight SH, Ridker PM. Hypercoagulable States – Translation of Risk Factors to Clinical practice. In: *Hematology (American Society of Hematology – Education Program Book)*, Washington DC 1998, pp.255-73.
9. Shapiro S, Long M. Hematology: coagulation problems. In: Lahita RG (ed). *Systemic Lupus Erythematosus*, 3rd edition. Academic Press, New York 1999, pp.871-85.
10. Triplett DA. Indiana University School of Medicine and Midwest Hemostasis and Thrombosis Laboratories: Use of the Dilute Russell Viper Venom Time (dRVVT) - Its Importance and Pitfalls. *Journal of Autoimmunity* 2000; 15:173-178.
11. Carreras LO, Forastiero RR, Martinuzzo ME. Which are the Best Biological Markers of the Antiphospholipid Syndrome? *Journal of Autoimmunity* 2000; 15:163-172.
12. Asherson RA, Cervera R, Lie JT. The antiphospholipid syndromes. In: Lahita RG (ed). *Systemic Lupus Erythematosus*, 3rd edition. Academic Press, New York 1999, pp.829-70.
13. Isenberg D, Horsfall A. Systemic Lupus Erythematosus. The Antiphospholipid Antibody Syndrome and Lupus. In: *Oxford Textbook of Rheumatology*, 2nd edition. Oxford Medical Publication, Vol. 2, New York 1998, pp.1159-1160.
14. Harris EN. Antiphospholipid syndrome. In: Klippel JH, Dieppe PA (eds). *Rheumatology*, 2nd edition. Mosby, London 1998, pp.35.1-6.
15. Τσέλιος Κ, Σκένδρος Π, Κουντουράς Ι, Μπούρα Π. Αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο: ανάλυση επιδημιολογικών, κλινικών και ανοσιακών ευρημάτων. *Ελληνική Ρευματολογία* 2002; 13(1):54-64.
16. Greaves M. Autoimmune thrombophilic syndromes. *Haematologica* 1999; (B4)EHA-4:32-5 (Educational book, 4th Congress of the European Haematology Association).
17. Gruel Y. Antiphospholipid Syndrome and Heparin-induced Thrombocytopenia: Update on Similarities and Differences. *Journal of Autoimmunity* 2000; 15:265-8.
18. Hughes G. Speculations on APS in the Coming Millennium. *J Autoimmunity* 2000; 15:269-71.
19. Asherson RA. Antiphospholipid Antibodies, Malignancies and Paraproteinemias. *J Autoimmunity* 2000; 15:117-22.
20. Vlahoyiannopoulos PG, Kanellopoulos PG, Ioannidis PA et al. Atherosclerosis in premenopausal women with antiphospholipid syndrome and systemic lupus erythematosus: a controlled study. *Rheumatology* 2003, 42:645-51.
21. Koike T, Matsura E. Immunology of anti-phospholipid antibodies. In: Lahita RG (ed). *Systemic Lupus Erythematosus*, 3rd edition. Academic Press, New York 1999, pp.813-27.
22. Merrill JT. Pathogenesis and Treatment of the anti-phospholipid syndrome. In: Lahita RG (ed). *Systemic Lupus Erythematosus*, 3rd edition. Academic Press, New York 1999, pp.887-908.
23. Meroni PL, Raschi E, Camera M et al. Endothelial Activation by aPL: A Potential Pathogenetic Mechanism for the Clinical Manifestations of the Syndrome. *Journal of Autoimmunity* 2000; 15:237-240.
24. Roubey RAS. Antiphospholipid antibody syndrome. In: Koopman WJ (ed). *Arthritis and Allied Conditions: a Textbook of Rheumatology*, 13th edition. Lipincott, Williams and Wilkins, Philadelphia 1997, pp.1393-406.