

Giorn. It. Ost. Gin. Vol. XXIX - n. 4
Aprile 2007

La sindrome da anticorpi antifosfolipidi e la gravidanza

A. MILITELLO, M. ROMANO, R. GIORDANO, E. LO MAGNO, N.C. PLACENTI, C. NAPOLI

RIASSUNTO: La sindrome da anticorpi antifosfolipidi e la gravidanza.

A. MILITELLO, M. ROMANO, R. GIORDANO, E. LO MAGNO, N.C. PLACENTI, C. NAPOLI

Gli anticorpi antifosfolipidi sono anticorpi (Ab) circolanti diretti contro i fosfolipidi e associati a trombosi arteriose e venose, trombocitopenia e/o aborti ricorrenti. Gli anticorpi anticardiolipina sono stati riconosciuti come marker di un aumentato rischio di trombosi. L'associazione tra Ab antifosfolipidi e aumentato rischio di trombosi nei pazienti con sindrome da Ab antifosfolipidi è probabilmente causata da molti meccanismi, tra cui l'effetto che gli Ab esplicano sulle proteine leganti i fosfolipidi, come la B2-glicoproteina I e la protrombina.

Esami di laboratorio: 1) "test della miscela"; 2) test specifici per i fattori della via intrinseca della coagulazione; 3) misura dell'attività di uno o più di questi fattori; 4) test al veleno di vipera di Russell; 5) test aggiuntivi.

Trattamento: è preferibile non utilizzare cumarinici in gravidanza per il rischio di embriopatie e di perdite fetali, ma queste possono essere evitate se si sostituiscono con l'eparina alla 6^a settimana di gestazione. Le eparine a basso peso molecolare sono più sicure e più convenienti di quelle non frazionate, e oggi sono i farmaci di scelta da utilizzare in gravidanza.

SUMMARY: The anti-phospholipid antibodies syndrome and the pregnancy.

A. MILITELLO, M. ROMANO, R. GIORDANO, E. LO MAGNO, N.C. PLACENTI, C. NAPOLI

The anti-phospholipid antibodies are circulating antibodies to phospholipids associated with venous and arterial thrombosis, thrombocytopenia and/or recurrent pregnancy loss. Anticardiolipin antibodies (aCL) have been recognized as a marker for an increased risk of thrombosis. The association between antiphospholipid antibodies and an increased risk of thrombosis in antiphospholipid syndrome patients is probably caused by numerous mechanism including the effects of antibodies to phospholipid binding proteins such as beta(2)-glycoprotein I and prothrombin.

Laboratory markers: 1) Mixing Study for prolonged PTT; 2) Specific one-stage assays for factors of the intrinsic system; 3) Measured activity of one or more of these factors; 4) Russel Viper Venom Test (RVVT); 5) Additional tests.

Treatment: coumarins are unsuitable for use during pregnancy because of risk of embryopathy and risk of fetal bleeding. Coumarin embryopathy can be avoided if heparin is substituted by 6 week's gestation. Low-molecular-weight heparins (LMWHs) are safer and more convenient than unfractionated heparin (UFH). LMWH is now the agent of choice for use during pregnancy.

KEY WORDS: Anticorpi antifosfolipidi - Anticorpi anticardiolipina - Trombosi artero-venose - Aborti spontanei ricorrenti
Sindrome da anticorpi antifosfolipidi.

Anti-Phospholipid Antibodies - Anticardiolipin antibodies - Arterial and venous thrombosis - Recurrent pregnancy loss
Anti-Phospholipid antibodies Syndrome.

Introduzione

Nel corso della gravidanza fisiologica l'emostasi va incontro a importanti modificazioni, con significativo aumento delle concentrazioni plasmatiche di alcuni

fattori chiave nell'equilibrio del sistema emostatico e con riduzione dell'attività del sistema fibrinolitico e degli inibitori fisiologici della coagulazione.

Queste modificazioni, che favoriscono l'emostasi nel delicato momento del parto e del distacco placentare, inducono uno stato protrombotico.

Fin dagli anni '80 è noto che cause congenite (deficit di proteina C, proteina S o antitrombina) o acquisite (anticorpi antifosfolipidi) di trombofilia, intesa come una condizione clinica in cui la paziente dimostra, per cause congenite o acquisite una inusuale predispo-

Università degli Studi di Catania
Dipartimento di Scienze Microbiologiche e Scienze Ginecologiche
Sezione di Ginecologia
(Direttore: A. Cianci)

© Copyright 2007, CIC Edizioni Internazionali, Roma

sizione alla trombosi arterovenosa, possono essere associate a complicanze ostetriche quali gli aborti tardivi (eventi del secondo trimestre, o comunque successivi alle 24-28 settimane di gestazione, a seconda della definizione adottata dai diversi Autori).

In questo nostro studio, prenderemo in analisi la correlazione tra gli eventi trombotici e la presenza di anticorpi antifosfolipidi che sono un'eterogenea famiglia di immunoglobuline, dirette contro varie combinazioni di fosfolipidi. L'associazione tra anticorpi antifosfolipidi (aPL), evidenziati dalla positività del test per il Lupus Anticoagulant (LAC) o del test degli anticorpi anticardiolipina (aCL), ed un particolare quadro clinico caratterizzato da trombosi, perdite fetali ricorrenti o trombocitopenia, è stata battezzata negli anni '80 "Sindrome da anticorpi antifosfolipidi" (APS).

Originariamente descritta in pazienti con Lupus Sistemico e quindi come parte del quadro della malattia (sindrome secondaria), la APS è stata descritta anche in soggetti senza alcuna altra patologia se non quella legata alla sindrome stessa (sindrome primaria).

Tra le caratteristiche cliniche vi sono: 1) trombosi venose; 2) trombosi arteriose; 3) perdite fetali ricorrenti; 4) trombocitopenia. Fanno parte delle caratteristiche di laboratorio: 1) IgG aCL (livello medio-alto); 2) IgM aCL (livello medio-elevato); 3) LAC positivo.

Il riscontro di un dato clinico e di un dato di laboratorio è sufficiente per la diagnosi. Il test per aPL deve essere positivo in almeno due occasioni a distanza di più di tre mesi.

Recentemente, durante l'8° Simposio Internazionale sugli Anticorpi Antifosfolipidi, tenutosi a Sapporo in Giappone nell'ottobre 1998, è stato raggiunto un accordo internazionale sui criteri di classificazione. Lo scopo di questo sforzo era quello di fornire dei requisiti rigidi e inconfutabili per poter creare dei gruppi di pazienti assolutamente omogenei, adatti per la elaborazione di studi controllati. Si è pertanto privilegiata la individuazione delle caratteristiche essenziali della APS che emergono dalla osservazione degli studi clinici prospettici da un lato e dai modelli sperimentali dall'altro. Il Simposio ha scelto come criteri classificativi della Sindrome da Antifosfolipidi i seguenti criteri clinici:

1) Trombosi vascolari: uno o più episodi di trombosi arteriose, venose o dei piccoli vasi, in qualsiasi organo o tessuto, confermate da tecniche di imaging, doppler o dall'istopatologia;

2) Patologia ostetrica:

- a) Una o più morti fetali oltre la 10^a settimana;
- b) Uno o più parti prima della 34^a settimana, accompagnati da preeclampsia o severa insufficienza placentare;
- c) Tre o più aborti prima della 10^a settimana.

Richiesti: 1 o più criteri clinici ed 1 o più criteri la-

boratoristici nello stesso paziente.

La formazione del trombo dipende da diversi meccanismi.

Gli anticorpi antifosfolipidi (aPL) hanno mostrato di alterare il processo di coagulazione a differenti livelli, attraverso meccanismi diversi e non necessariamente alternativi.

I meccanismi patogenetici principali sono stati correlati all'interferenza con le reazioni dell'emostasi e con le cellule coinvolte nella coagulazione.

Risultati sperimentali mostrano in maniera consistente che gli aPL possono interferire con il sistema della proteina C, una delle maggiori vie antitrombotiche fosfolipido-dipendenti, in molteplici modi.

È stata suggerita un'inibizione della formazione della trombina, dell'attivazione della proteina C attraverso gli anticorpi anti-trombomodulina e l'acquisizione di una resistenza alla proteina C attivata e di un deficit della proteina C/S.

Un lavoro più recente si è focalizzato sul ruolo delle proteine leganti i fosfolipidi ed i corrispondenti anticorpi.

Gli aPL e la Beta2-glicoproteina I possono interferire anche con la via fibrinolitica attraverso la trombomodulina, attivando l'inibitore della fibrinolisi trombina-inducibile e aumentando l'attività dell'inibitore I dell'attivatore del plasminogeno.

Questi risultati suggeriscono che l'interferenza degli aPL sull'attività fibrinolitica può essere una delle cause di diatesi trombofilica nell'APS.

Studi più recenti riportano la presenza di anticorpi diretti verso il fattore XII in un numero significativo di pazienti con APS e suggeriscono che questa presenza possa determinare un deficit acquisito di fattore XII.

Il fattore XII della coagulazione, precalcicreina, e il chininogeno ad alto peso molecolare sono noti come proteine plasmatiche di contatto nella via intrinseca della coagulazione. Deficit di queste proteine non sono associati a sanguinamento clinicamente evidente, nonostante un marcato prolungamento del tempo di coagulazione *surface-activated in vitro*.

Paradossalmente alcuni studi suggeriscono che queste proteine abbiano funzioni anticoagulanti e profibrinolitiche. Infatti, un loro deficit è stato associato a trombosi ricorrenti. Inoltre studi riportano la presenza di autoanticorpi verso le proteine di contatto in pazienti con LES, trombosi e perdite fetali ricorrenti.

Questi autoanticorpi sono spesso in associazione con gli aPL ed il Lupus Anticoagulant. In caso di trombosi sostenuta da anticorpi antifosfolipidi, sappiamo che questa sindrome è sostenuta dalla presenza nel plasma di anticorpi diretti contro i fosfolipidi anionici, o contro i complessi di alcune proteine (proteina C, proteina S, rotombina, beta2-glicoproteina I) e i fosfolipidi.

In un certo numero di pazienti la presenza degli anticorpi è associata all'insorgenza di sintomi trombotici venosi e/o arteriosi, aborti ripetuti e piastrinopenia.

Diagnosi

La diagnosi di laboratorio può essere effettuata mediante metodi diretti che evidenziano la presenza degli anticorpi in fase solida, usando come antigene catturante la cardioliipina (ricerca degli anticorpi anticardioliipina) e mediante metodi indiretti che sfruttano l'interferenza che gli anticorpi hanno sui test classici della coagulazione dipendenti dai fosfolipidi (ricerca dell'anticoagulante lupico, LA).

A causa della impossibilità di identificare con un singolo test le diverse classi di LA, i comitati di standardizzazione, hanno stabilito una strategia diagnostica basata su tre criteri principali. Il primo criterio impone che uno (o più) dei test fosfolipidi-dipendenti sia prolungato oltre i limiti della norma (test di screening). Bisogna poi dimostrare che il prolungamento sia effettivamente dovuto alla presenza di un anticoagulante circolante (test della miscela per il secondo criterio). Il terzo criterio impone di provare che l'inibitore sia diretto contro i fosfolipidi (test di conferma).

In teoria, qualsiasi test fosfolipide-dipendente, che esplori globalmente o in parte la cascata coagulatoria e sia eseguito su plasma filtrato, sarebbe idoneo a svelare la presenza del LA. In pratica, il test più usato per ragioni storiche e di comodità è l'APTT, che non è però idoneo allo screening, a causa della sua scarsa sensibilità.

Test più sensibili sono il tempo di coagulazione al caolino (KCT) e il test al veleno di vipera Russell diluito (dRVVT). Il test della miscela si esegue con qualunque dei test di screening precedentemente esaminati e consiste nella ripetizione del test su una miscela plasma paziente/plasma normale. La persistenza del prolungamento del tempo di coagulazione eseguito sulla miscela, suggerisce la presenza di un anticoagulante circolante. I test di conferma sono per lo più basati sull'incremento o la diminuzione della concentrazione dei fosfolipidi, o sull'uso di fosfolipidi a conformazione particolare. Il tempo di coagulazione di un test fosfolipide-dipendente, prolungato per la presenza del LA, si accorcia sensibilmente fino a correggere quasi completamente il difetto, se ripetuto aumentando la concentrazione dei fosfolipidi.

Al contrario, il test si prolungherà se viene diminuita la concentrazione dei fosfolipidi. Esistono numerosi test di conferma, ed esistono diverse fonti possibili di fosfolipidi. Fra i test di conferma più usati ricordiamo l'APTT con aggiunta di lisato piastrinico quale fonte di fosfolipidi. Il test di conferma può an-

che essere eseguito con il dRVVT con aggiunta di fosfolipidi concentrati. Anche il tempo di protrombina (PT), se eseguito con tromboplastina opportunamente diluita, si può considerare nell'armamentario del laboratorio per la diagnostica del LA.

L'uso di silice micronizzata in combinazione con fosfolipidi a bassa concentrazione può essere un buon sostituto del KCT nella procedura di screening.

La ripetizione del test con fosfolipidi a più alta concentrazione consente di disporre di un test di conferma facilmente automatizzabile e di semplice esecuzione.

Infine, fra le procedure di conferma di più recente introduzione bisogna ricordare l'APTT eseguito mediante fosfolipidi a conformazione esagonale. Quest'ultima conformazione renderebbe i fosfolipidi più disponibili a legare il LA che verrebbe, pertanto, riconosciuto con una maggiore sensibilità e specificità.

Tutte le procedure di conferma non hanno risolto definitivamente il problema della specificità. False positività in plasmici con inibitori diretti contro il Fattore V o VIII sono purtroppo di frequente riscontro con qualunque delle procedure sopra ricordate.

La storia clinica del paziente, che sarà evidentemente di tipo emorragico in caso di inibitore diretto contro il Fattore V o VIII, aiuterà a risolvere eventuali dubbi.

La presenza di anticorpi anticardioliipina, rivelati in fase solida, non deve essere considerato un criterio di conferma per il LA. Infatti, non è infrequente che le due positività non coesistano nello stesso paziente.

Materiali e metodi

Il nostro studio ha lo scopo di valutare la prevalenza di anticorpi antifosfolipidi in donne con aborti spontanei ricorrenti; in donne con normali gravidanze a termine e in donne che non hanno mai avuto gravidanze. Sono stati ritrovati anticorpi antifosfolipidi in donne con predisposizione a trombosi arteriose e venose, aborti spontanei ricorrenti e trombocitopenia. Queste donne, inoltre non avevano nessuna malattia connettivale. In questo studio abbiamo determinato la prevalenza degli anticorpi antifosfolipidi in 81 donne che hanno avuto aborti spontanei ricorrenti (3 o più perdite fetali); in 88 donne con gravidanze normali; e in 64 donne che non hanno mai avuto gravidanze.

Dal nostro studio sono state escluse le donne in cui l'aumento degli anticorpi antifosfolipidi era dovuto a cause quali tumori maligni, farmaci, infezioni, LES, ecc.

Un altro studio da noi condotto si è anche occupato di stabilire la relazione tra i vari tipi di anticorpi antifosfolipidi e aborti spontanei ricorrenti. Precisamen-

te abbiamo effettuato un *cross-sectional study* con tre gruppi di donne provenienti da tre diverse cliniche reumatologiche e affette da Lupus Eritematoso Sistemico (LES) e con positività anamnestica per una o più gravidanze. Le pazienti, inoltre, sono state sottoposte a un questionario riguardante le pregresse gravidanze. Le donne esaminate sono state in numero di 42. Nell'arco di tre mesi sono stati condotti i prelievi in due diverse occasioni per rilevare la presenza di anticorpi anticardiolipina e Lupus Anticoagulant (LAC); in entrambe le occasioni sono stati effettuati cinque diversi test per il LAC e per gli anticorpi anticardiolipina. Le pazienti erano considerate positive al test se uno o più test erano anormali in entrambe le occasioni.

Risultati

Nel primo studio gli anticorpi antifosfolipidi sono stati ritrovati nel 16% delle donne con aborti spontanei e con una prevalenza statistica maggiore rispetto alle donne con normali gravidanze a termine (7%), così come rispetto alle donne che non hanno mai avuto gravidanze (3%). Una falsa positività VDRL e agli anticorpi IgG anticardiolipina sono state più specifiche per le perdite fetali rispetto al LAC o agli anticorpi della classe IgM anticardiolipina.

Nel secondo studio abbiamo riscontrato una prevalenza statisticamente significativa tra positività al LAC e aborti spontanei ricorrenti (odds ratio [OR] 4.8; 95% intervallo di confidenza [IC], 1.0 a 23.6) e tra positività agli anticorpi anticardiolipina e pregresso aborto spontaneo (OR, 20.0; 95% IC, 1.3 a 97.0).

Le donne con episodi multipli di aborti ricorrenti erano positive al LAC e 4 di esse erano anche positive ad altri anticorpi antifosfolipidi. Se le pazienti erano positive al LAC e/o agli anticorpi anticardiolipina in modo transitorio, l'associazione con aborti ricorrenti non variava molto.

All'interno del gruppo di pazienti positivi al LAC, abbiamo osservato un'associazione più forte tra la presenza di 6 o più test positivi e aborti rispetto alle pa-

zienti con numero di test positivi da 2 a 5. Quindi più test positivi, maggiore l'associazione con gli aborti spontanei ricorrenti. Invece un singolo test non è in grado di stabilire nessuna associazione statisticamente significativa con gli aborti.

I test di cui ci siamo avvalsi sono descritti nel paragrafo della diagnosi.

Discussioni

Con il primo studio abbiamo dimostrato il ruolo che gli anticorpi antifosfolipidi giocano in alcuni casi di poliabortività ricorrente, come dimostra la maggiore prevalenza di questi aborti in donne positive ai test per gli anticorpi antifosfolipidi.

Il risultato del secondo studio mostra che attraverso l'esecuzione di test multipli per il LAC o gli anticorpi anticardiolipina in più di un'occasione, si riscontra la presenza di un'associazione statisticamente significativa tra la presenza di questi anticorpi e la poliabortività spontanea.

Conclusioni

La Sindrome da anticorpi antifosfolipidi è dovuta alla presenza di anticorpi circolanti diretti verso i fosfolipidi e si associa a trombosi arteriosa e venosa, ad aborti spontanei ricorrenti e a trombocitopenia. La trombosi è causata da meccanismi multipli, ma tutte interferiscono con i meccanismi dell'emostasi.

Nei nostri studi abbiamo dimostrato l'esistenza di un'associazione tra anticorpi antifosfolipidi circolanti e poliabortività ricorrente.

I test effettuati sono stati molteplici e questo perché è stato dimostrato che un singolo test non è predittivo di aborti a differenza dell'utilizzo di più test, grazie ai quali l'associazione statistica è sicuramente significativa. I nostri studi si prefiggono di dare un nuovo approccio diagnostico al problema della poliabortività ricorrente grazie a test diagnostici multipli.

Bibliografia

1. BALLEM P. *Acquired thrombophilia in pregnancy*. Semin Thromb Hemost 1998;24:41S-7S.
2. BATES SM, GREER IA, HIRSH J, GINSBERG JS. *The seventh ACCP conference on antithrombotic and thrombolytic therapy*. Chest 2004; 126:627S-644S.
3. BRILL-EDWARDS P, GINSBERG JS, GENT M, HIRSH J, BURROWS R, KEARON C, GEERTS W, KOVACS M, WEITZ JI, ROBINSIN S, WHITTOM R, COUTRE G. *Safety of withholding heparin in pregnant women with a history of venous thromboembolism*. N Engl J Med 2000;343:1439-44.
4. BURNS MM. *Emerging concepts in the diagnosis and management of venous thromboembolism during pregnancy*. J Thromb Thrombolysis 2000;10:59-68.
5. CHAN WS, ANAND S, GINSBERG JS. *Anticoagulation of pregnant women with mechanical heart valves-A systematic review of the literature*. Arch Inter Med 2000;160:191-6.
6. DE STEFANO V, FINAZZI G, MANNUCCI PM. *Inherited thrombophilia: pathogenesis, clinical syndromes and management*. Blood 1996;87:3531-44.
7. FORESTIER F, SOLE Y, AIACH M, GELAS MA, DAFFOS

- F. *Absence of transplacental passage of fragmin during the second and third trimester of pregnancy*. *Thromb Haemost* 1992; 68:652-6.
8. GUZMAN ER, FORSTER JK, VINTZILEOS AM, ANANTH CV, WALTERS C, GIPSON K. *Pregnancy outcomes in woman treated with elective vs. ultrasound-indicated cervical cerclage*. *Ultras Obst Gynecol* 1998;12:301-3.
 9. INFANTE-RIVARD C, RIVARD GE, YOTOV WV, GENIN E, GUIGUET M, WEINBERG C, GAUTHIER R, FEOLI-FONSECA JC. *Absence of association of Thrombophilia polymorphism with intrauterine growth restriction*. *N England J Med* 2002;347(1):19-25.
 10. ITURBE-ALESSIO I, FONSECA MC, MUTCHINIK O, SANTOS MA, et al. *Risks of anticoagulant therapy in pregnant women with artificial heart valves*. *NEJM* 1986;315:1390-93.
 11. KENT N, LEDUC L, CRANE J, FARINE D, HODGES S, REID GJ, VAN AERD J. *Prevention and treatment of venous thromboembolism (VTE) in Obstetrics*. *J SOGC* 2000;22(9): 736-749.
 12. KHAMASTA MA. *Management of thrombosis and pregnancy loss in the antiphospholipid syndrome*. *Lupus* 1998;Suppl2:162-5.
 13. LETZKY E, DE SWIET M. *Thromboembolism in pregnancy and its management*. *Br J Haematol* 1987;57:543-52, 722.
 14. LEVINE JS, BRANCH DW, RAUCH J. *The antiphospholipid syndrome*. *N Engl J Med* 2002;346:752-63.
 15. MARTINELLI I, DE STEFANO V, TAIOLI E, PACIARONI K, ROSSI E, MANNUCCI PM. *Inherited thrombophilia and first venous thromboembolism during pregnancy and puerperium*. *Thromb Haemost* 2002;87:791-5.
 16. MCCOLL M, RAMSAY JE, TAIT RC, et al. *Risk factors for pregnancy associated venous thromboembolism*. *Thromb Haemost* 1997;8:1183-88.
 17. MACKLON NS, GREER IA. *Venous Thromboembolic disease in obstetrics and gynaecology: the Scottish experience*. *Scot Med J* 1996;41:83-6.
 18. MONREAL M, LAFOZ E, OLIVE A, DEL RIO L, VEDIA C. *Comparison of subcutaneous unfractionated heparin with a low molecular weight heparin (Fragmin) in patients with venous thromboembolism and contraindications to coumarin*. *Thromb Haemost* 1994;71:7-11.
 19. O'DONNELL J, PERRY DJ. *Pharmacotherapy of hyperhomocysteinaemia in patients with thrombophilia*. *Expert Opin Pharmacother* 2002;3(11):1591-8.
 20. RAY JG, CHAN WS. *Deep vein thrombosis during pregnancy and the puerperium: a metanalysis of the period of risk and the leg of presentation*. *Obstet Gynecol Surv* 1999;54:265-71.
 21. *Report of the ROCC Working Party on prophylaxis against thromboembolism in gynaecology and obstetrics*. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists, London: The College; 1995.
 22. CREASY RK, RESNIK R. *Maternal-Fetal Medicine* Elsevier Saunders 1999; Cap. 47: 821-826.
 23. SHIFFMAN RL. *Continuous low-dose antibiotics and cerclage for recurrent second-trimester pregnancy loss*. *J Reprod Med* 2000;45:323-6.
 24. TOUWEN BCL. *Examination of the child with minor neurological dysfunctions*. *Clin Dev Med* 1979;71:1-141.
 25. WONG V, CHENG CH, CHAN KC. *Fetal and neonatal outcome of exposure to anticoagulants during pregnancy*. *Am J Med Genet* 1993;45:17-21.