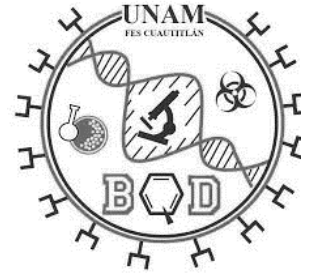




Universidad Nacional Autónoma de México



Facultad de Estudios Superiores
Cuautitlán

Hidroxiclороquina como tratamiento en el síndrome de anticuerpos antifosfolípido: evidencia documental

Tesis

Que para obtener el título de:

Licenciada en Bioquímica Diagnóstica

Presenta:

Diana Martínez Trillanes

Asesora de tesis:

M. en C. Beatriz Lucía González Maldonado

Cuautitlán Izcalli, Estado de México
(2019)



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Dedicatorias

A mi misma, porque hace unos años jamás me hubiera imaginado lograr terminar una carrera y una tesis. Porque mi camino no fue fácil y estuvo lleno de diferentes obstáculos y sin embargo aquí estoy.

Agradecimientos personales

A mis padres por todo el esfuerzo y amor que me brindaron en todos los aspectos. Por siempre escucharme y darme palabras de aliento, además de mostrarme que hay una solución para todo. Les agradezco que me hayan dado una buena educación y valores. Finalmente gracias por estar a mi lado y hacerme la persona que soy.

A mi hermano por ser mi mejor amigo desde siempre, por las risas y todos los momentos juntos. Se que siempre podré contar con tu apoyo y tu amor.

A Benjamin por haberme visto en mis peores momentos y seguir ahí, por creer en mi incluso cuando yo no creía, por siempre animarme y ayudarme a ver las cosas desde otro punto de vista. Espero que la vida me permita tener muchos años de vida para seguir celebrando más éxitos juntos.

A Daisy y Emi que desde hace mucho forman parte de mi familia y mi corazón, gracias por el apoyo que siempre me han brindado y por todos los momentos tan bonitos que hemos compartido juntos.

A mis amigos de la universidad, Aby, Quero, Iliana, Diego, Ricardo y Abel, quienes me ayudaron y crecieron conmigo en esta carrera, y también por hacer de esta experiencia más divertida y llena de risas.

A mis profesores más cercanos, por verme no solo como una alumna más, si no como una persona, interesarse por mi desarrollo y ayudarme a ser mejor profesional y persona.

Índice general

Índice de figuras.....	iv
Índice de tablas.....	iv
Lista de abreviaturas.....	v
Resumen.....	1
1. Introducción.....	2
2. Objetivos.....	4
2.1 Objetivo general.....	4
2.2 Objetivos particulares.....	4
3. Marco teórico.....	5
3.1 Aspectos generales.....	5
3.1.1 Definición y tipos.....	5
3.1.2 Características clínicas	7
3.1.3 Moléculas involucradas.....	10
3.1.4 Mecanismos patológico.....	16
3.1.5 Epidemiología.....	24
3.2 Criterios clínicos y diagnóstico.....	25
3.3 Tratamiento.....	30
3.3.1 Anticoagulantes orales	31
3.4 Hidroxicloroquina.....	32
3.4.1 Aspectos farmacológicos	33
3.4.2 Mecanismos de acción molecular en el síndrome antifosfolípido primario.....	36
3.4.2.1 Propiedades lisosomotrópicas e inhibición del TCR.....	36
3.4.2.2 Inhibición de la señalización de TLR	37
3.4.2.3 Otras teorías.....	38
4 Discusión.....	41
5 Conclusiones.....	46
6 Referencias	47

Índice de figuras

Figura 1. Síndrome posflebítico en paciente con SAF.....	9
Figura 2. Estructura 3D de la β 2-GPI.....	11
Figura 3. Estructura 3D de la protrombina.....	12
Figura 4. Estructura 3D de las anexinas A2 y A5.....	13
Figura 5. Estructura 3D del factor plaquetario 4.....	15
Figura 6. Desarrollo de la forma inmunogénica de la β 2-GPI y el complejo con los anticuerpos en el síndrome antifosfolípido	19
Figura 7. Cambios conformacionales de β 2-GPI.....	20
Figura 8. Activación celular por medio de aFL.....	23
Figura 9. Conocimientos recientes en la fisiopatología de los aFL y el SAF.....	25
Figura 10. Esquema de un ELISA para medir la forma de tiol libre de β 2-GPI.....	29
Figura 11. Estructura química de la HCQ.....	33
Figura 12. Farmacocinética de la hidroxicloroquina.....	35
Figura 13. La HCQ y los TLRs.....	38
Figura 14. Mecanismo patogénico antifosfolípido (aFL) y su alteración por HCQ.....	39

Índice de tablas

Tabla 1. Manifestaciones clínicas del SAF.....	8
Tabla 2. Manifestaciones clínicas del SAF a nivel global y en Latinoamérica.....	10
Tabla 3. Blancos moleculares y mecanismos de señalización en células activadas por anticuerpos antifosfolípidos	21
Tabla 4. Criterios clínicos para el diagnóstico del SAF.....	26
Tabla 5. Criterios de laboratorio para el diagnóstico del SAF.....	26
Tabla 6. Comparación de costos entre fármacos.....	42

Lista de abreviaturas

a β ₂ -GPI:	Anticuerpos anti-beta 2 glicoproteína I
aCL:	Anticuerpos anticardiolipina
aFL:	Anticuerpos antifosfolípido
AKt:	Proteína cinasa B (PKB)
AL:	Anticoagulante lúpico
AnnA2:	Autoanticuerpos nucleares anti-neuronales tipo 2
anti-DI:	antidominio I
AP-1:	Proteína activadora 1
ApoER2:	Receptor 2 de la apolipoproteína E
ARN:	Ácido ribonucleico
β ₂ -GPI:	Beta 2 glicoproteína I
BFP:	Prueba de falsos positivos biológicos para sífilis
c-Jun:	Proteína codificada por el gen JUN
CE:	Células endoteliales
DI:	Dominio I
DII:	Dominio II
DIII:	Dominio III
DIV:	Dominio IV
DOACs:	Anticoagulantes orales directos
dRVVT:	Tiempo del veneno de víbora de Russell diluido
DV:	Dominio V
ELISA:	Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas
eNOS:	Oxido nítrico sintasa
ERK-1/2:	Extracellular signal-regulated kinases 1 and 2 (Cinasas reguladas por señales extracelulares 1 y 2)
FA:	Fosfatasa alcalina
Fc- γ :	Receptor Fc (fragmento cristalizabile) γ
Flt-1:	VEGF receptor 1
FT:	Factor tisular
GP:	Glicoproteína

GPL: unidad que se refiere a 1 microgramo de IgG

HCQ: Hidroxicloroquina

HELLP: Hemolisis, enzimas de hígado elevadas y trombocitopenia

ICAM-1: Molécula 1 de adhesión intracelular

IFN: Interferón

INR: Razón normalizada internacional

LDGs: Granulocitos de baja densidad

LES: Lupus eritematoso sistémico

LIA: Inmunoensayo en línea

LPS: Lipopolisacárido

MAC: Complejo de ataque a la membrana

MAPK: Proteína cinasa activada por mitógenos

MEK-1: Cinasa 1 de MAPK

MHC: Molécula de histocompatibilidad

MPB: Maleimidil-propionil biocitina

MPL: unidad que se refiere a 1 microgramo de IgM

mTORC: Mammalian target of rapamycin complex 1 (Blanco de mamíferos del complejo de rapamicina)

NETs: Neutrophil extracellular traps (trampas extracelulares de neutrófilos)

NF- κ B: Factor nuclear κ B

NO: Óxido nítrico

NOACs: Anticoagulantes orales no antagonistas de la vitamina K

Nox2: NADPH oxidasa 2

ODN: Oligodeoxinucléotido

PCR: Proteína C reactiva

pDC: Células dendríticas plasmocitoides

PF4: Factor plaquetario 4

PI3K: Cinasa de fosfatidilinositol 3

PP2A: Proteína fosfatasa 2A

PSGL-1: Glicoproteína ligando 1 a P-selectina

ROS: Reactive oxygen species (especies reactivas de oxígeno)

SAF: Síndrome antifosfolípido

TCA: Tiempo de cefalina activada
TCR: Receptor de célula T
TLR: Receptor de tipo Toll
TNF: Factor de necrosis tumoral
TP: Tiempo de protrombina
TTPa: Tiempo de tromboplastina parcial activada
TTD: Tiempo de tromboplastina diluida
VCAM-1: Molécula de adhesión vascular 1
VEGF: Factor de crecimiento endotelial vascular

Resumen

El síndrome antifosfolípido (SAF) es una trombofilia adquirida y autoinmune caracterizada por trombosis recurrentes y morbilidad en el embarazo provocadas por la presencia persistente de anticuerpos antifosfolípido (aFL). Este síndrome se puede clasificar en primario, secundario y catastrófico. Entre los principales anticuerpos que desencadenan esta enfermedad se encuentran el anticoagulante lúpico (AL), la anticardiolipina (aCL) y los $\alpha\beta_2$ -GPI, aunque pueden estar involucradas diferentes moléculas y otros procesos moleculares. Su diagnóstico se da a partir de los criterios de Sapporo que incluyen criterios de laboratorio (identificación de anticuerpos) y clínicos. Durante décadas el tratamiento para esta enfermedad no ha sufrido ningún cambio y se basa en la administración de anticoagulantes orales por tiempo indefinido, que su única función es reducir las manifestaciones clínicas y diversos efectos adversos, además de que son incapaces de eliminar o disminuir los niveles de aFL, que son los verdaderos causantes de esta enfermedad. Entre los medicamentos que se han propuesto como tratamiento alternativo a esta enfermedad se encuentra la hidroxicloroquina (HCQ). La HCQ es un agente quimioterapéutico utilizado como antimalárico y actualmente como tratamiento en enfermedades autoinmunes. Este fármaco ha cobrado interés debido a que se ha descubierto que tiene efectos específicos sobre el sistema inmune y las moléculas causantes de este síndrome. En este trabajo se muestran las evidencias documentales de que la HCQ es una opción viable para el tratamiento del SAF primario.

1. Introducción

El síndrome antifosfolípido (SAF) es una enfermedad inusual que se caracteriza principalmente por un riesgo trombótico alto, que puede ocurrir en la circulación arterial o venosa, morbilidad en el embarazo y la presencia de autoanticuerpos específicos llamados anticuerpos antifosfolípidos (aFL). Entre estos anticuerpos se encuentran el anticoagulante lúpico (AL), la anticardiolipina (aCL) y los $\alpha\beta_2$ -GPI, los cuales se cuantifican en sangre y pueden presentarse los tres, dos o solo uno, de forma persistente (por más de 12 meses) de acuerdo con la gravedad. Este síndrome se clasifica en primario, secundario y catastrófico dependiendo de sus manifestaciones.

Las moléculas y los procesos patológicos involucrados en este síndrome son varios. Se cree que la enfermedad se desarrolla debido a un previo estado procoagulante del individuo, que puede ser una infección, una cirugía, entre otras. La enfermedad se desarrolla hasta que hay un “second hit” que potencializa la formación de trombos. A partir del desarrollo de la enfermedad se puede lograr su diagnóstico por medio de los criterios de Sapporo.

Su tratamiento ha seguido sin cambios durante 30 años. Además, se ha demostrado que es ineficiente ya que los pacientes sufren de recaídas, efectos tóxicos y secundarios, añadiendo que los anticoagulantes que se utilizan no son dirigidos a las moléculas que ocasionan el síndrome, por lo que sólo tratan la sintomatología, pero no van directo a la causa.

La hidroxiclороquina (HCQ) es un fármaco que se conoce hace años, aunque recientemente se ha visto su utilidad en las enfermedades autoinmunes, entre ellas el SAF. Se trata de un medicamento que ha causado gran interés ya que se ha observado su eficacia en distintos ensayos además de tener ciertos mecanismos y dianas moleculares que coinciden con la patología de esta enfermedad.

El propósito de este trabajo es dar una vasta explicación del SAF, desde su historia, sus manifestaciones, su diagnóstico, lo que se sabe actualmente de este

síndrome a nivel molecular, así como el tratamiento. También se proporciona una amplia revisión de la farmacología de la HCQ, sus mecanismos de acción que se han demostrado y algunos otros que son posibles teorías.

Finalmente se discute porque se cree que el tratamiento actual debería ser modificado, o al menos considerarse en utilizar medicamentos más específicos y seguros, como la HCQ, que permitan una mejor recuperación de los pacientes y menores reincidencias.

2. Objetivos

2.1 Objetivo general

Analizar la evidencia bibliográfica de las propiedades moleculares y farmacológicas de la hidroxicloroquina, mostrando las ventajas y desventajas de su uso, con el fin de evaluar su implementación en el tratamiento de primera línea en el síndrome antifosfolípido primario.

2.2 Objetivos particulares

- Describir la fisiopatología y características moleculares del síndrome antifosfolípido primario por medio de una revisión documental con el fin de entender la enfermedad.
- Analizar si el uso de anticoagulantes es el único tratamiento de primera línea en el síndrome antifosfolípido primario, comparando sus resultados contra otros medicamentos obtenidos de diferentes escritos, para verificar su eficacia.
- Mostrar las evidencias farmacológicas que apoyen la teoría del uso de la hidroxicloroquina como alternativa en el tratamiento del síndrome antifosfolípido primario, a través de la inspección de artículos y concluir si su empleo sería eficaz.
- Explicar si la hidroxicloroquina es un fármaco específico hacia las dianas inmunológicas y moleculares del síndrome antifosfolípido, por medio de la visualización de algunos diagramas e imágenes para confirmar que este medicamento sirve para el tratamiento de este síndrome.

3. Marco teórico

3.1 Aspectos Generales

3.1.1. Definición y tipos

El síndrome antifosfolípido (SAF) es una enfermedad sistémica autoinmune caracterizada, por la aparición de fenómenos trombóticos arteriales y/o venosos recurrentes, abortos o pérdidas fetales, y alteraciones hematológicas (trombocitopenia o anemia hemolítica) en presencia de títulos elevados de anticuerpos séricos (IgG o IgM) dirigidos contra fosfolípidos y proteínas de la membrana celular. Estos últimos son anticuerpos anticardiolipina (aCL), anticoagulante lúpico (AL) y anticuerpos anti-beta 2 glicoproteína I ($\alpha\beta_2$ -GPI) llamados en conjunto anticuerpos antifosfolípidos (aFL) (Macías, et al, 2012).

Los fosfolípidos son los principales constituyentes de las membranas celulares. Entre estas moléculas tenemos a la cardiolipina, que es el fosfolípido presente en la membrana mitocondrial interna y en la membrana plasmática bacteriana, donde está designada a la producción de ATP (Paradies, et al, 2014). Los aCL fueron los primeros aFL descritos en 1906 por Wassermann cuando desarrollaba un examen serológico para diagnosticar sífilis.

La historia del SAF comenzó desde 1940, cuando se dio a conocer que los falsos positivos biológicos para sífilis (BFP) podrían relacionarse con la autoinmunidad, pues estos pacientes presentaban lupus eritematoso sistémico (LES) o alguna enfermedad autoinmune relacionada. Se trató de utilizar la prueba BFP para el diagnóstico de LES, pero al paso de los años se vio que este no era un ensayo práctico para su diagnóstico.

Pangborn identificó, en 1941, el antígeno de estos anticuerpos en extracto de corazón de res y lo llamó cardiolipina. Es importante recalcar que existen aCL reales y no reales. Los reales son aquellos que no requieren soporte de una proteína plasmática para reconocer a la cardiolipina, ya que por sí sola es muy pequeña para producir una respuesta inmune sin un cofactor del suero unido selectivamente a liposomas compuestos de fosfolípidos aniónicos (Erkan y Lockshin, 2017).

Otro aFL importante es el AL, que fue descubierto por primera vez en 1950 en pacientes con LES con prolongación en los tiempos de coagulación. Al inicio se creía que era causante de hemorragias, pero fue entre 1970 y 1980 que se demostró que el AL es una inmunoglobulina de isotipo IgG o IgM que actúa como inhibidor dirigido contra los fosfolípidos de la cascada de coagulación, particularmente en el paso de conversión de protrombina a trombina (Erkan y Lockshin, 2017).

La presencia de estas inmunoglobulinas constituye un criterio de laboratorio en el diagnóstico del SAF y su hallazgo está asociado a eventos trombóticos. La positividad del AL ha emergido en la mayoría de los estudios como el predictor más fuerte de morbilidad en el embarazo (Hoxha, et al, 2016).

En 1983, se sugirió realizar la cuantificación de aCL mediante ELISA y después de varias conferencias fue que, gracias a Graham Hughes, Nigel Harris y Azzudin Gharavi, este ensayo fue estandarizado e internacionalizado, el término aFL fue utilizado por primera vez en el contexto clínico. El primer encuentro internacional sobre los aFL y su síndrome asociado, SAF, tomó lugar en 1984 en Londres (Erkan y Lockshin, 2017).

Fue en 1985 que Ronald Asherson descubrió que había pacientes con SAF y que no tenían LES diagnosticable y lo llamó el “síndrome del cisne negro”. A partir de esto en 1989, Asherson y Charles Mackworth-Young en Inglaterra y Alarcón-Segovia en México caracterizaron los tres tipos de SAF: SAF primario, SAF secundario y SAF catastrófico (Erkan y Lockshin, 2017).

El SAF primario se distingue por no asociarse a ninguna enfermedad subyacente, es decir, sus características clínicas carecen de algún elemento que pueda sugerir lupus u otra afección autoinmune (Macías, et al, 2012). Se ha sugerido que el SAF primario es precursor del LES, pues se ha observado que aparece en promedio 5 años antes del desarrollo del lupus. Para algunos autores estas dos enfermedades son una misma entidad con varias manifestaciones (Belizna, et al, 2018b).

Por otra parte, se denomina SAF secundario al síndrome que está asociado a otras enfermedades autoinmunes, como LES (Noureldine, et al, 2018). Además de

lo mencionado anteriormente, existen diferencias entre el primario y el secundario respecto a sus características clínicas y de laboratorio, genéticas e histológicas.

Basados en información reciente y de acuerdo con los criterios de diagnóstico del SAF, las manifestaciones que nos permitirían distinguir el primario del secundario es la presencia de artralgias y artritis, manifestaciones vasculares como infarto al miocardio, *livedo reticularis*, epilepsia, corea, migraña, leucopenia y anemia hemolítica autoinmune, además de que en el secundario la trombosis glomerular y el daño renal son más severos. Adicionalmente, en el SAF primario un porcentaje mayor de trombosis venosa superficial es observado, el dolor de cabeza se presenta frecuentemente, depresión e hipertensión pulmonar secundaria, así como una menor progresión a neuropatía (Belizna, et al, 2018b).

Los patrones de autoanticuerpos también difieren, así como las alteraciones en la biogénesis de la mitocondria y función, el estrés oxidativo en el SAF primario, la presencia de interferón (IFN) y varios genes que median la señalización de la aterosclerosis e inflamación en el SAF secundario. (Belizna, et al, 2018b).

Otro tipo es el SAF catastrófico, que es una variante inusual y fatal. Desde su primer descubrimiento, se han descrito alrededor de 500 pacientes (Erkan y Lockshin, 2017). Se distingue de las formas clásicas por su gravedad. Sobreviene en circunstancias particulares tales como infección, intervención quirúrgica, ciertos tratamientos medicamentosos o la interrupción de un tratamiento con anticoagulantes. El número de órganos alcanzado es superior a 3 y afecta por orden de frecuencia decreciente, a riñones, pulmones, sistema nervioso central y piel. Esta entidad se caracteriza por un cuadro de fracaso multivisceral vinculado a microtrombosis multifocales (Noureldine, et al, 2018).

3.1.2 Características clínicas

En el síndrome antifosfolípido existen pacientes asintomáticos y sintomáticos. Estos últimos pueden presentar diferentes manifestaciones clínicas en distintos órganos y sistemas. Los criterios para el diagnóstico del SAF, se llaman criterios de Sapporo y fueron propuestos por primera vez en 1999 y actualizados en el

Decimoprimer Congreso de Anticuerpos Antifosfolípidos en Sidney en 2006. Estos criterios solo describen la presencia de trombosis y manifestaciones obstétricas, aunque se han documentado muchos más signos y síntomas que no se incluyen actualmente (García y Erkan, 2018). En la tabla 1 se describen todas las manifestaciones clínicas reportadas en el síndrome antifosfolípido.

Tabla 1 Manifestaciones clínicas del SAF (Conte, et al, 2008; García y Erkan, 2018)

Aparatos	Manifestaciones
Cutáneo	Ulceraciones cutáneas, hemorragia subungueal en pequeñas manchas, púrpura necrótica, necrosis distales, livedo reticularis y vasculopatía livedoide.
Cardiovascular	Infarto del miocardio, valvulopatías mitrales o aórticas, embolias, insuficiencia cardíaca, endocarditis pseudoinfecciosa o infecciosa, trombosis venosas superficiales o profundas de los miembros inferiores o superiores, de la vena cava y trombosis arteriales.
Nervioso	Disfunciones cognitivas, cambios subcorticales de la materia blanca, accidentes vasculares cerebrales transitorios o constituidos, oclusión de la arteria o vena retiniana, tromboflebitis cerebrales, corea, síndrome extrapiramidal, epilepsia, jaqueca, demencia y mielitis transversa.
Reproductor	Abortos espontáneos, muerte fetal <i>in utero</i> , nacimiento prematuro, retraso de crecimiento <i>in utero</i> , hematoma retro-placentario, infarto placentario, eclampsia y toxemia gravídica.
Respiratorio	Embolias pulmonares, hipertensión arterial pulmonar, síndrome de distrés respiratorio agudo y hemorragia intraalveolar.
Digestivo	Trombosis venosa portal, suprahepática o mesentérica; colecistitis alitiásica, pancreatitis e hiperplasia nodular regenerativa hepática.
Renal	Trombosis arteriales o venosas, microangiopatía trombótica, insuficiencia renal e hipertensión arterial.
Endócrino	Insuficiencia suprarrenal por trombosis venosa bilateral, distiroiditis y afecciones hipotálamo-hipofisarias excepcionales.
Hematológico	Trombocitopenia, anemia hemolítica y síndrome HELLP.

Las trombosis constituyen la principal complicación clínica del SAF y las más comunes son las que afectan al sistema venoso profundo de las extremidades inferiores que pueden acompañarse de tromboembolismo pulmonar. La

recurrencia de episodios tromboembólicos puede conducir al desarrollo de una hipertensión pulmonar crónica incrementando de manera significativa el riesgo de morbilidad y mortalidad de los pacientes (ver figura 1) (Conte, et al, 2008; García y Erkan, 2018).



Figura 1. Síndrome posflebítico en paciente con SAF. En la fotografía se observa una extremidad de un paciente de nacionalidad mexicana de 52 años de edad con síndrome posflebítico y úlcera distal cicatricial como manifestaciones de un posible SAF primario no identificado previamente que evolucionó a un SAF catastrófico. El síndrome posflebítico o postrombótico es la insuficiencia venosa crónica sintomática que aparece después de una trombosis venosa profunda. La úlcera fue causada debido a los periodos prolongados que flujo sanguíneo deficiente debido a una trombosis. (Del Carpio, et al, 2017)

Una de las más graves complicaciones es la morbilidad obstétrica. Se caracteriza por complicaciones en etapas tempranas, como los abortos recurrentes antes de la décima semana de gestación, o complicaciones tardías como muerte del feto a partir de la décima semana de gestación y nacimientos prematuros antes de la semana 34 debido a insuficiencia placentaria, lo que puede resultar en la restricción del crecimiento intrauterino, preeclampsia, eclampsia, desprendimiento prematuro de la placenta y aparición del síndrome HELLP (Sciascia, et al, 2016).

A pesar de que existen pocos datos estadísticos de la enfermedad, se han observado ligeras diferencias entre las manifestaciones clínicas presentadas a nivel global en comparación con Latinoamérica. La tabla 2 recopila los porcentajes en los que se presentan estas manifestaciones.

Tabla 2. Manifestaciones clínicas del SAF a nivel global y en Latinoamérica (Macias, et al, 2012; CENETEC, 2010)

Manifestaciones clínicas	Global (%)	Latinoamérica (%)
Trombosis venosa profunda	32	31
Trombocitopenia	22	27
Livedo reticularis	20	32
Infarto cerebral	13	10
Tromboembolismo pulmonar	9	5
Abortos	8	No hay datos
Ataque isquémico transitorio	7	No hay datos
Anemia hemolítica	7	19
Migraña	No hay datos	25
Úlceras cutáneas	No hay datos	14
Amaurosis fugaz	No hay datos	14
Microtrombosis pulmonar	No hay datos	7

3.1.3 Moléculas involucradas

El SAF se caracteriza por la presencia de aFL en el plasma o suero de pacientes con trombosis o complicaciones en el embarazo; estos anticuerpos representan una familia heterogénea de auto y aloanticuerpos de especificidad amplia, descubiertos por el aumento de los tiempos de coagulación dependientes de los fosfolípidos, es decir, el tiempo de protrombina (TP) superior a 14 segundos y el tiempo de tromboelastina parcial mayor (TTPa) a 45 segundos.

Algunos autores insisten en que el nombre “anticuerpo antifosfolípido” es incorrecto ya que los aFL están dirigidos no solamente contra los fosfolípidos, sino también contra las proteínas plasmáticas con afinidad por fosfolípidos aniónicos, tales como la β 2-GPI, la protrombina, algunas anexinas, factores plaquetarios, entre otros (Erkan y Lockshin, 2017). A continuación, se describen las moléculas más relevantes en la patología del síndrome antifosfolípido:

- β 2-GPI

Es una proteína plasmática de 50 kDa compuesta por 326 aminoácidos, abundante en plasma, con evidencia de papeles importantes en la inmunidad innata y la coagulación (figura 2). Identificada como el principal cofactor de los aCL, la protrombina y la anexina V (Conte, et al, 2008). Está compuesta de 5 dominios, numerados del I al IV (DI a DV). El DV está cargado positivamente, lo que le permite unirse a fosfolípidos aniónicos, como la fosfatidilserina. La β 2-GPI es una glicoproteína expresada en células apoptóticas, lo que permite identificarlas y fagocitarlas.

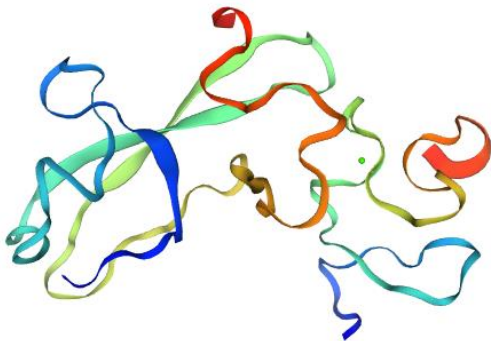


Figura 2. Estructura 3D de la β 2-GPI. En condiciones fisiológicas normales, β 2-GPI es producida en el hígado y existe de manera predominante en circulación en su forma libre como tior, la cual es mucho menos inmunogénica a comparación de su forma oxidada. El rol de la β 2-GPI es complejo, se cree que actúa como un anticoagulante natural que media muchas funciones como la remoción de liposomas, cuerpos apoptóticos y micropartículas (Biozentrum, 2010a).

Varios estudios han mostrado que los anticuerpos a β 2-GPI, sean monoclonales de ratón o derivados de pacientes, inducen un fenotipo protrombótico generado con lipopolisacáridos o alguna lesión en la pared de los vasos sanguíneos. Se ha observado que los anticuerpos anti-DI son patogénicos, mientras que aquellos dirigidos contra otros dominios no lo son; además de que la IgM anti-DI no tiene actividad protrombótica y que la IgA se asocia a trombosis y manifestaciones obstétricas (Erkan y Lockshin, 2017).

Durante el embarazo, los anticuerpos a β 2-GPI se unen a la β 2-GPI en los trofoblastos de la placenta resultando en la activación de los neutrófilos por medio del FT y el complemento provocando daño en los trofoblastos, inhibición del

crecimiento y la diferenciación celular y finalmente en pérdida fetal (Chaturvedi y McCrae, 2017).

- Protrombina

Los anticuerpos anti-protrombina son comúnmente encontrados en pacientes con SAF. A pesar de que la protrombina es un factor de coagulación importante (figura 3), los anticuerpos anti-protrombina no se correlacionan con la trombosis. Se ha demostrado que los autoanticuerpos anti-protrombina unidos con fosfatidilserina muestran una mejor correlación de estos anticuerpos con la trombosis, ya que la protrombina experimenta un cambio conformacional exponiendo un epítipo oculto, permitiendo su unión a la fosfatidilserina que permite que los anticuerpos se unan a ella. Los anticuerpos dirigidos contra este epítipo se correlacionan mejor con la trombosis que los anticuerpos contra el resto de la molécula de protrombina. En casos raros, los anticuerpos antiprotrombina pueden provocar hemorragia debido a la disminución de la protrombina (Erkan y Lockshin, 2017).

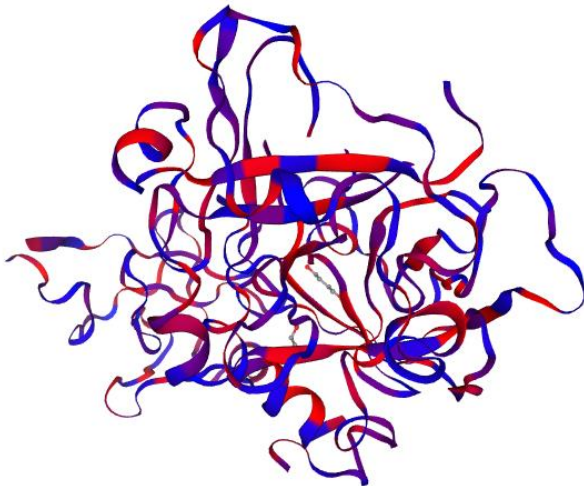


Figura 3. Estructura 3D de la protrombina. La protrombina es la molécula precursora de la trombina en la cascada de coagulación permitiendo la conversión de fibrinógeno a fibrina. Se activa por medio del activador de trombina compuesto del factor Va, Xa, calcio y fosfolípidos de membrana. Una vez convertida en trombina realiza diferentes actividades biológicas, entre las más importantes son: activación de la proteína C junto con la trombomodulina, activación de C5 del complemento y la activación plaquetaria. (Biozentrum, 2010b)

- Anexina A2 y A5

Las anexinas constituyen a una gran familia de proteínas unidas a fosfolípidos y reguladas por el calcio (figura 4). Tienen muchas funciones relacionadas con procesos mediados por la membrana celular como la exocitosis, endocitosis, organización y conductancia de canales iónicos. La anexina A2 es un receptor del activador tisular del plasminógeno de las células endoteliales y de la β 2-GPI. Se ha demostrado que títulos altos de autoanticuerpos antianexina A2 se correlacionan con la trombosis. Se cree que el mecanismo por el cual la anexina A2 está involucrada en el SAF es por la disrupción de su función fibrinolítica por los autoanticuerpos (Erkan y Lockshin, 2017; Noureldine, et al, 2018).

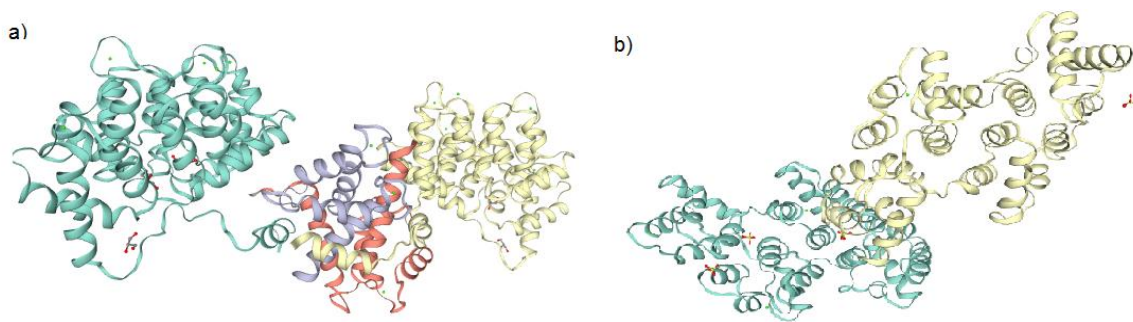


Figura 4. Estructura 3D de las anexinas A2 y A5. (a) Estructura 3D de la anexina A2. Esta anexina esta involucrada en diversos procesos celulares como la motilidad celular, la unión de los complejos de proteínas asociadas a la membrana con el citoesqueleto y actina, la endocitosis, fibrinólisis, la formación de canales iónicos y las interacciones de la matriz celular. Al unirse al calcio se encarga de organizar la exocitosis de proteínas intracelulares hacia el espacio extracelular. (b) Estructura 3D de la anexina A5. Actualmente su función en condiciones normales es poco conocida, aunque se sabe que forma un escudo que inhibe la actividad procoagulante de los fosfolípidos ya que se una a la fosfatidilserina. (Biozentrum, 2017 y Biozentrum, 1994)

Basado en modelos animales, β 2-GPI, protrombina y anexina A2 han sido identificadas como antígenos importantes en el SAF. Se sugiere un rol menor de la anexina A2 debido a que a pesar de que su inhibición puede inhibir la fibrinólisis, la ausencia del plasminógeno no causa riesgo de trombosis en humanos (Erkan y Lockshin, 2017).

La anexina A5 se une a la fosfatidilserina y forma arreglos bidimensionales haciendo un “escudo anticoagulante” sobre la bicapa fosfolípídica, lo que inhibe la

actividad procoagulante de los fosfolípidos, ya que son cofactores requeridos para reacciones de la coagulación, entre ellas las reacciones Xasa mediadas por IXa y por el factor tisular VIIa, la reacción de IXasa mediada por el factor tisular VIIa y la reacción de la protrombinasa (Erkan y Lockshin, 2017; Noureldine, et al, 2018).

En presencia de β_2 -GPI y anticuerpos $\alpha\beta_2$ -GPI, este escudo es destruido, por lo que se desencadena la acción procoagulante de la fosfatidilserina. Esto puede provocar problemas en el embarazo ya que se sabe que hay una gran cantidad de anexina A5 en la placenta (Chaturvedi y McCrae, 2017).

Por otra parte, varios estudios sugieren que los anticuerpos antianexina A5 se correlacionan con la manifestación del SAF. Las IgG antianexina A5 se presentan en pacientes con complicaciones en el embarazo, pero no en aquellos con trombosis venosa o arterial (Becarevic, 2016).

- Factor plaquetario 4 (PF4 o CXCL4) y quimiocinas derivadas de plaquetas
PF4 es una molécula de 8 kDa perteneciente a la familia de las quimiocinas y que circula como tetrámero (figura 5). Se ha demostrado que PF4 actúa como una plataforma donde se unen dos moléculas de β_2 -GPI. De acuerdo con este modelo, el DI de β_2 -GPI se vuelve accesible por reconocimiento de $\alpha\beta_2$ -GPI, mientras que el DV está disponible para interactuar con otras proteínas de la membrana plaquetaria. El complejo multimérico $(PF4)_4 - (\beta_2\text{-GPI})_2 - \alpha\beta_2\text{-GPI}$ puede existir en solución. Las plaquetas de individuos sanos cebadas con pequeñas cantidades de trombina, sólo pueden ser activadas cuando PF4, β_2 -GPI y $\alpha\beta_2$ -GPI están presentes y asociadas con la fosforilación de la MAPK p38.

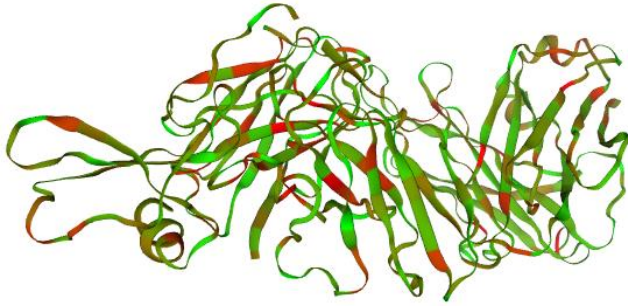


Figura 5. Estructura 3D del factor plaquetario 4. Este factor es liberado durante la agregación plaquetaria y neutraliza el efecto anticoagulante de la heparina al unirse a ella. También tiene funciones quimiotácticas sobre los neutrófilos y los monocitos e inhibe la proliferación de células endoteliales. (Biozentrum, 2016)

La dimerización natural de β_2 -GPI es necesaria para un reconocimiento más efectivo por el $\alpha\beta_2$ -GPI y que el complejo completo sea un activador plaquetario potente, que es importante para la activación endotelial y el fibrinógeno (en modelos de ratones con trombosis). Niveles en plasma de varias quimiocinas derivadas de plaquetas como PF4, la variante de PF4 o CXCL4L1, CXCL7 y CCL5 son elevadas en pacientes con SAF pero no en pacientes con LES, enfermedad coronaria arterial o controles saludables, indicando activación de plaquetas en pacientes con SAF, lo que sugiere que la activación plaquetaria en el SAF es inducida por el complejo $(PF4)_4 - (\beta_2\text{-GPI})_2 - \alpha\beta_2\text{-GPI}$ (Erkan y Lockshin, 2017; Noureldine, et al, 2018).

- Otras proteínas

Otros estudios sugieren que los aCL reales (que no requieren soporte de una proteína plasmática) pueden inducir un estado protrombótico en ratones. No se ha probado que estos anticuerpos funcionen en la ausencia de proteínas naturales ya que en modelos *in vivo* muchas moléculas candidatas están presentes. Los aCL medidos con pruebas actuales se correlacionan muy poco a la trombosis comparado con el AL. Por ejemplo, existen pacientes que presentan estos autoanticuerpos y no tienen riesgo de desarrollar una trombosis como los que

padecen sífilis o lepra. La cardiolipina es muy pequeña para suscitar una respuesta inmune por sí sola (Erkan y Lockshin, 2017).

Además de los aFL más comunes (β_2 -GPI, aCL, AL, anticuerpos antiprotrombina, entre otros), se han encontrado otros autoanticuerpos, como los dirigidos a la proteína S, proteína C, inhibidor de la vía del factor tisular, factor X, XI y XII. Éstos han sido encontrados en pequeños subgrupos de pacientes con SAF. Algunos se correlacionan con manifestaciones clínicas y a pesar de los mecanismos propuestos ninguno ha sido probado en modelos *in vivo*. No hay evidencia convincente de que jueguen un papel en la trombosis o las complicaciones en el embarazo por SAF (Erkan y Lockshin, 2017)

3.1.4 Mecanismos patológicos

Los aFL tienen una gran cantidad de actividades, regulando vías que llevan a la expresión de un fenotipo protrombótico. Ese riesgo es mayor si además hay factores que predispongan a presentar una trombosis, como hipertensión, hiperlipidemia o ciertas situaciones como cirugías, inmovilización, administración de estrógenos o embarazo (López-Santiago, 2016).

Debe aclararse que su presencia no siempre es patológica, principalmente cuando ocurre la presencia de un solo tipo de anticuerpo. Se ha visto que existen aFL transitorios durante algunas infecciones. En estos casos los pacientes son menos propensos a desarrollar manifestaciones del SAF como trombosis (Pengo y Denas, 2018; Conte, et al, 2008).

Durante la muerte celular es posible que se generen autoanticuerpos contra otras moléculas que se encuentren presentes o similares. La superficie de las células apoptóticas contiene fosfolípidos aniónicos (como la fosfatidilserina) que no están presentes en la superficie de células sanas, permitiendo la interacción de proteínas que se unen a los fosfolípidos, como la β_2 -GPI o la protrombina, generando epítomos inmunogénicos, lo que puede aumentar si se induce con algunas otras moléculas, como el LPS bacteriano (Erkan y Lockshin, 2017; Yalavarthi, et al, 2015; Grayson y Kaplan, 2016).

Actualmente se reconoce que los aFL se producen por linfocitos B autoreactivas dirigidas a diferentes moléculas de la membrana celular, aunque su sola presencia no puede causar manifestaciones tromboembólicas. El SAF se desarrolla hasta después de una condición procoagulante conocida como “segundo golpe” (second hit), resultado de la formación de complejos inmunes de anticuerpos $\alpha\beta_2$ -GPI y β_2 -GPI. (Signorelli, et al, 2018).

Muchas infecciones virales están acompañadas con la aparición de aFL. Se ha observado que los aCL están presentes de manera común en personas con infecciones virales, principalmente VIH, hepatitis B, hepatitis C y parvovirus B19. También se ha observado la presencia de $\alpha\beta_2$ -GPI en pacientes con Epstein-Barr (Mendoza-Pinto, et al, 2018).

Entre las infecciones bacterianas que se han relacionado con la presencia de aFL están las causadas por *Coxiella burnetii*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Streptococcus sp*, *Mycobacterium tuberculosis* y *Mycobacterium leprae*. Otros estudios han relacionado la presencia de *Helicobacter pylori* y *Borrelia burgdorferi* con SAF y aFL. En muchos casos, más de un agente se ha identificado como la fuente de la infección.

La activación de mecanismos autoinmunes ya ha sido asociada anteriormente con varios parásitos, en este caso, en pacientes con malaria, leishmaniasis visceral y toxoplasmosis se han encontrado aCL (IgG e IgM) y $\alpha\beta_2$ -GPI (IgG). Son el tipo de infecciones que más bajo porcentaje presentan en pacientes con SAF diagnosticado (4.1%), junto con las infecciones fúngicas (1.4%) (Mendoza-Pinto, et al, 2018).

La presencia de infecciones en pacientes con SAF es un apoyo a la hipótesis del mimetismo molecular, que está basada en la gran similitud entre los aminoácidos de los péptidos derivados de la β_2 -GPI y los de algunos agentes patógenos. Se ha demostrado la gran homología entre proteínas de la membrana de diferentes bacterias y proteínas virales con varios epítomos para anticuerpos monoclonales $\alpha\beta_2$ -GPI derivados de pacientes con SAF. El mimetismo molecular puede desencadenar SAF experimental *in vivo* en ratones inmunizados con

microorganismos patógenos que tienen similitud estructural con algunos péptidos, de modo que todos desarrollan anticuerpos aCL y a β_2 -GPI (Blank, et al, 2002).

Algunas vacunas tienen la capacidad de provocar la producción de autoanticuerpos debido a este mimetismo molecular, como es el toxoide tetánico con la β_2 -GPI y la vacuna contra el virus del papiloma humano. Tanto la vacuna contra influenza estacional y pandémica tienen la capacidad de inducir la producción de aFL, sobre todo en pacientes con LES (Mendoza-Pinto, et al, 2018 y Cruz-Tapias, et al, 2012).

También pueden suceder reacciones cruzadas, como es el caso de *Streptococcus pyogenes*. La proteína M y la β_2 -GPI comparten similitud en sus péptidos, lo que podría explicar el gran parecido de manifestaciones clínicas entre la fiebre reumática y el SAF. En pacientes con sífilis también se han encontrado estos autoanticuerpos, aunque no poseen actividad de AL y no reconocen la fosfatidilserina, lo que podría explicar porque no hay hipercoagulabilidad en estos pacientes, además, requieren de β_2 -GPI para unirse a los fosfolípidos. (Mendoza-Pinto, et al, 2018)

El SAF se caracteriza por la presencia de estrés oxidativo e inflamación sistémica. La sobreproducción de especies reactivas de oxígeno (ROS) resulta en un microambiente oxidativo que exacerba la inflamación, induce la muerte celular y daño de tejidos. Pacientes con SAF tienen niveles altos de citocinas proinflamatorias circulantes como IL-6 y TNF, junto con marcadores de estrés oxidativo e inflamación como la proteína amiloide sérica A, PCR, 8-isoprostano y la prostaglandina E2 (El-Assad, et al, 2016).

A pesar de que existen varias moléculas contra las cuales se crean los aFL, la molécula que principalmente se cree que es la causante del síndrome es la β_2 -GPI. Su DV contiene una inserción de 6 residuos, una extensión de un C19 terminal y un puente disulfuro adicional que incluye una cisteína con un carbono terminal DV está cargada positivamente por lo que tiene afinidad por fosfolípidos aniónicos

Después de que ocurre el “segundo golpe” es cuando la β_2 -GPI se abre en forma de J en un arreglo estirado de DI-IV, con DV en un ángulo recto con respecto a los otros dominios. El sitio de unión al fosfolípido (superficie celular) está localizado al fondo de DV y consiste en 14 residuos de aminoácidos cargados y un bucle hidrofóbico. En este caso la superficie celular puede pertenecer a un neutrófilo, plaqueta, monocito o célula endotelial, para desencadenar la trombosis (Signorelli, et al, 2018). Cuando β_2 -GPI se une a la capa de lípidos, DI con IV señalan hacia afuera de la capa de lípidos y en este caso el sitio potencial de unión para autoanticuerpos a β_2 -GPI en DI queda completamente expuesta (Figura 6) (Erkan y Lockshin, 2017).

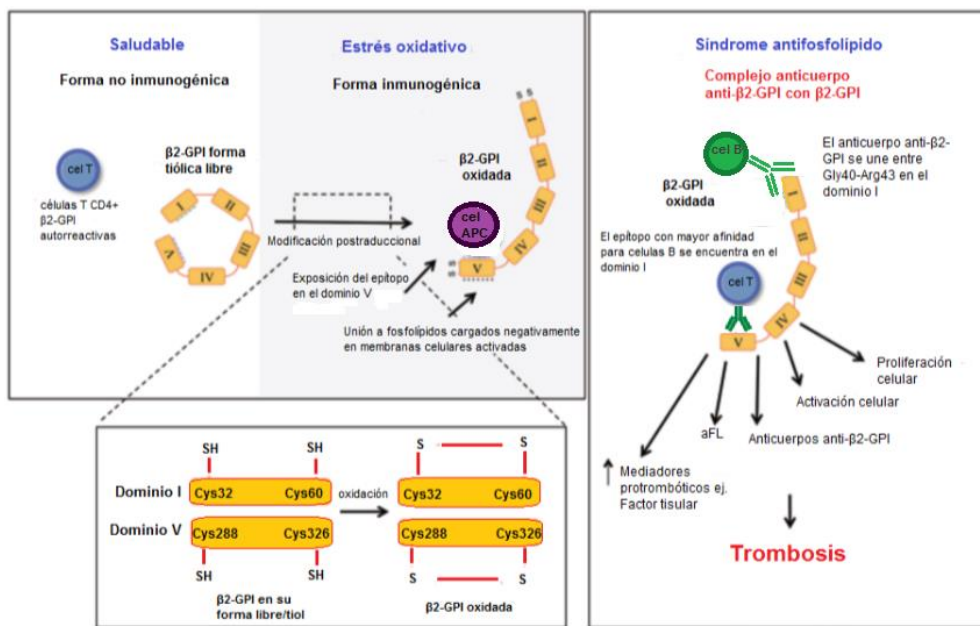


Figura 6. Desarrollo de la forma inmunogénica de la β_2 -GPI y el complejo con los anticuerpos en el síndrome antifosfolípido. Durante el estrés oxidativo, la forma libre como tiol puede pasar por una modificación postraduccional para tomar la forma inmunogénica, β_2 -GPI oxidado después de unirse a los fosfolípidos. Células T CD4+ autorreactivas hacia β_2 -GPI reconocen epítomos expuestos localizados en el dominio V. Un complejo es formado entre β_2 -GPI oxidado, células T CD4+ autorreactivas y β_2 -GPI oxidado disparando la producción de anticuerpos antifosfolípido, específicamente de $\alpha\beta_2$ -GPI, dando la proliferación celular y liberación de citocinas proinflamatorias (Erkan y Lockshin, 2017).

En plasma, la β_2 -GPI se presenta como una proteína circular en la que DI interactúa con DV (Figura 7). Al unirse a superficies aniónicas (SAF), la proteína se abre y muestra una forma de palo de hockey o J (Figura 7, B). La forma circular podría indicar que los epítomos DI y DV están protegidos y que los autoanticuerpos

contra DI reconocen β_2 -GPI solo cuando están unidos a esta superficie y no cuando está en circulación (Figura 7, C). Ya que β_2 -GPI se une a su receptor celular por su dominio DV, y ya que la unión es mejorada debido a los autoanticuerpos, la unión debe ser mediada por un epítipo oculto en DV que es expresado hasta que la molécula se abre (Erkan y Lockshin, 2017).

Por otra parte, por medio de experimentos de dispersión de rayos x en ángulo pequeño, se ha observado que en solución β_2 -GPI toma una forma de S con un bucle adicional entre DII y DIII. También se ha observado que esta glicoproteína adapta diferentes formas dependiendo del pH, fuerza iónica y en presencia de ciertos cationes, lo que muestra que es una molécula flexible con varias conformaciones (Erkan y Lockshin, 2017).

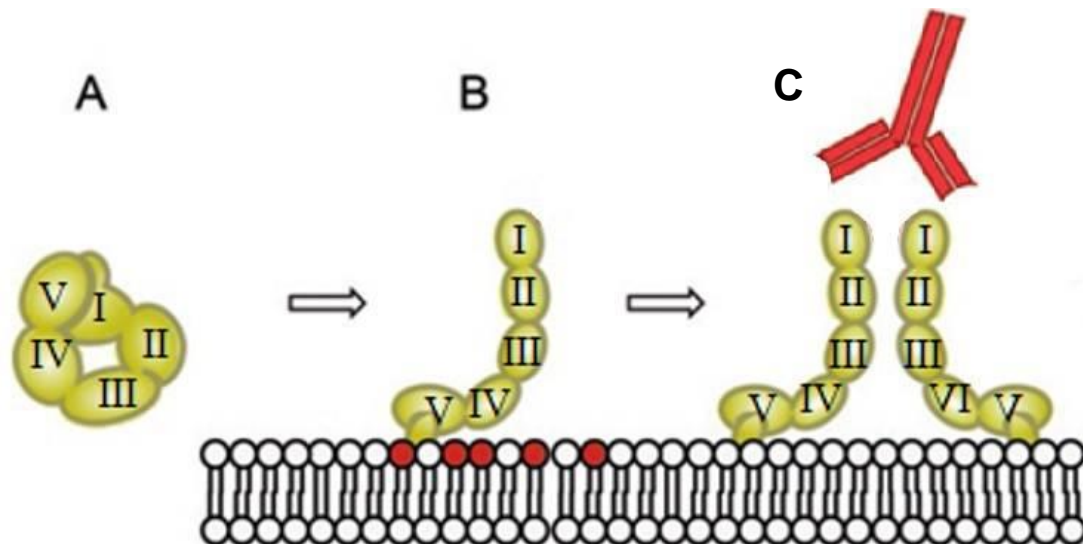


Figura 7. Cambios conformacionales de β_2 -GPI. (A) β_2 -GPI circulando en plasma. (B) unión a fosfolípidos aniónicos abre la estructura de β_2 -GPI. (C) La unión de autoanticuerpos estabiliza la conformación estirada de dimeros de β_2 -GPI.

La inhibición de la anticoagulación por parte de la proteína C fue el primer mecanismo descubierto por los aFL que se dio a conocer. Estos anticuerpos inhiben la actividad de la proteína C, por lo tanto, no permiten la inactivación de los factores V y VIII. Este mecanismo se lleva a cabo por $\alpha\beta_2$ -GPI y anticuerpos antiprotrombina. Los aFL también inhiben la unión de la heparina y activación de la

antitrombina, así como la actividad del inhibidor del FT (Chaturvedi y McCrae, 2017).

Los anticuerpos antifosfolípidos también inhiben la habilidad de la β_2 -GPI para estimular al activador tisular del plasminógeno, lo cual inhibe la fibrinólisis. Tienen la capacidad activar el complemento. También se ha visto que los pacientes con SAF tienen altos niveles de factor XI, lo cual es un factor de riesgo para el desarrollo de trombosis. Los $\alpha\beta_2$ -GPI activan células endoteliales, monocitos, neutrófilos y plaquetas (Chaturvedi y McCrae, 2017).

La activación de células endoteliales promueve un fenotipo procoagulante. Estas células activadas aumentan su expresión de moléculas de adhesión, FvW, FT y citocinas proinflamatorias. Esto se logra ya que los aFL activan a las células endoteliales por medio de la MAPK p38 y la subsecuente activación y translocación nuclear del $\text{NF-}\kappa\beta$, donde induce la expresión de aproximadamente 5000 genes, entre los que destacan IL-8 e IL-6. Su activación resulta en la producción de mediadores proinflamatorios como IL-1, IL-6, E-selectina, ICAM-1 y VCAM-1 (ver tabla 3) (Chaturvedi y McCrae, 2017).

Tabla 3. Blancos moleculares y mecanismos de señalización en células activadas por anticuerpos antifosfolípidos.

Célula	Receptores	Vía de señalización
Célula endotelial	Principales: TLR4, Anexina A2, ApoER2. Otros: TLR2, calreticulina, nucleolina y receptores del complemento	<i>MAPK p38, mTOR, Ras-ERK, NF-$\kappa\beta$, PP2A/eNOS.</i>
Monocito	Principales: Anexina A2, TLR4, TLR2 (1/6) Otros: TLR7 y 8, CD14 y clatrina.	<i>MAPK p38, MEK-1/ERK, NF-$\kappa\beta$/Rel, NLRP3, NOX2 y c-Jun/AP-1.</i>
Plaqueta	Principales: Gplba de GPIb-V-IX, ApoER2. Otros: TLR2	<i>MAPK p38, ERK-1/2, PI3K/Akt</i>
Neutrófilo	Principales: NETs, PSGL-1. Otros: receptores C, TLR4 y Fc- γ .	?

Los aFL también pueden inducir la activación del mTORC en células endoteliales para inducir la formación de túnica íntima (hiperplasia del endotelio), que se observa en el SAF catastrófico. Por medio de la señalización a través del receptor de ApoER2 se antagoniza la eNOS resultando en la disminución de producción de NO (Noureldine, et al, 2018).

Los aFL también pueden activar monocitos por diferentes vías como MAPK p38, MEK-1/ERK, NF- κ B/Rel, c-Jun, AP-1, Nox2, TLR7/8 y el inflamasoma NLPR3, dando la producción de citocinas proinflamatorias como TNF- α e IL-1 β (ver tabla 3). Por otro lado, se ha visto que los monocitos de pacientes con SAF tienen niveles mayores de VEGF y su receptor Flt-1. El TLR-2 media la internalización de aFL hacia la célula y su activación resulta en la producción de mediadores proinflamatorios, principalmente FT (Noureldine, et al, 2018).

Se cree que existe una unión directa de los aFL con algunos TLR. Si bien no se ha demostrado que haya una unión directa entre la β_2 -GPI y el TLR 4 se ha demostrado que la eliminación de éste y el TLR 2 es suficiente para abolir los efectos de los aFL. También se tiene la creencia de que el LPS podría ser un activador del TLR 4 o podría funcionar como un puente. (Müller-Calleja y Lackner, 2017).

Es poco lo que se sabe sobre los neutrófilos en el SAF, pero en ratones se ha visto que a β_2 -GPI monoclonales pueden activar neutrófilos dando la liberación de gránulos, la producción de peróxido de hidrógeno y expresión de FT, IL-8 y NETs por medio del TLR4 y el receptor de C5a. Los pacientes con SAF tienen una gran cantidad de LDGs, una subpoblación de neutrófilos, de origen desconocido, que liberan NETs de manera exagerada. (Vreede, et al, 2017)

Los neutrófilos de pacientes con SAF muestran una membrana mitocondrial alterada, que sería una posible prueba del daño por estrés oxidativo, así como disminución de glutatión intracelular. Suelen mostrar un fenotipo proinflamatorio caracterizado por genes relacionados con IFN, señalización por TLR y activación del Fc- γ . Además, se ha demostrado que existe un aumento en los niveles de

NETs en la circulación de pacientes con SAF primario, en comparación con controles sanos (Erkan y Lockshin, 2017; Vreede, et al, 2017)

En modelos animales, al antagonizar complemento se da la protección contra la pérdida del embarazo y la trombosis. Por otra parte, se ha visto que la delección del TLR4 protege contra trombosis venosa y arterial. Los TLR7 y 8 tienen una respuesta exagerada a los aFL, dando la producción de IL-1 β (Erkan y Lockshin, 2017).

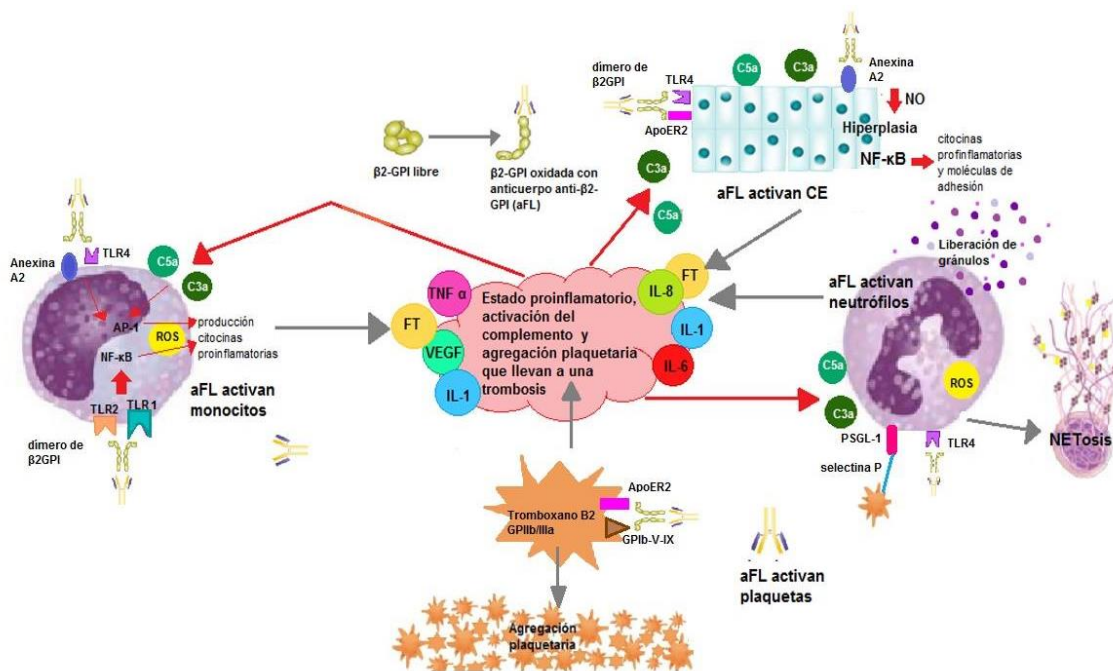


Figura 8. Activación celular por medio de aFL. La forma libre de la β_2 -GPI puede pasar a su forma oxidada por acción del estrés oxidativo, provocando la unión con anticuerpos antifosfolípido y formando dímeros. Estos complejos (β_2 -GPI - $\alpha\beta_2$ -GPI) y los anticuerpos antifosfolípido solos, son los responsables de la fisiopatología del SAF. En células endoteliales pueden disminuir la producción de NO, activar la producción de mediadores proinflamatorios y provocar hiperplasia (solo en SAF catastrófico). En los neutrófilos pueden activar la liberación de gránulos, producción de ROS (H_2O_2) y desencadenan la NETosis. En las plaquetas pueden unirse a su superficie provocando la agregación plaquetaria por medio de la inducción de la producción de tromboxano B2 y GPIIb/IIIa. También pueden activar monocitos por diferentes receptores llevando a la producción de citocinas proinflamatorias y ROS. Estos anticuerpos tienen la capacidad de activar el complemento por medio de C5a o C3a que resulta en amplificación de la coagulación e inhibición de la fibrinólisis.

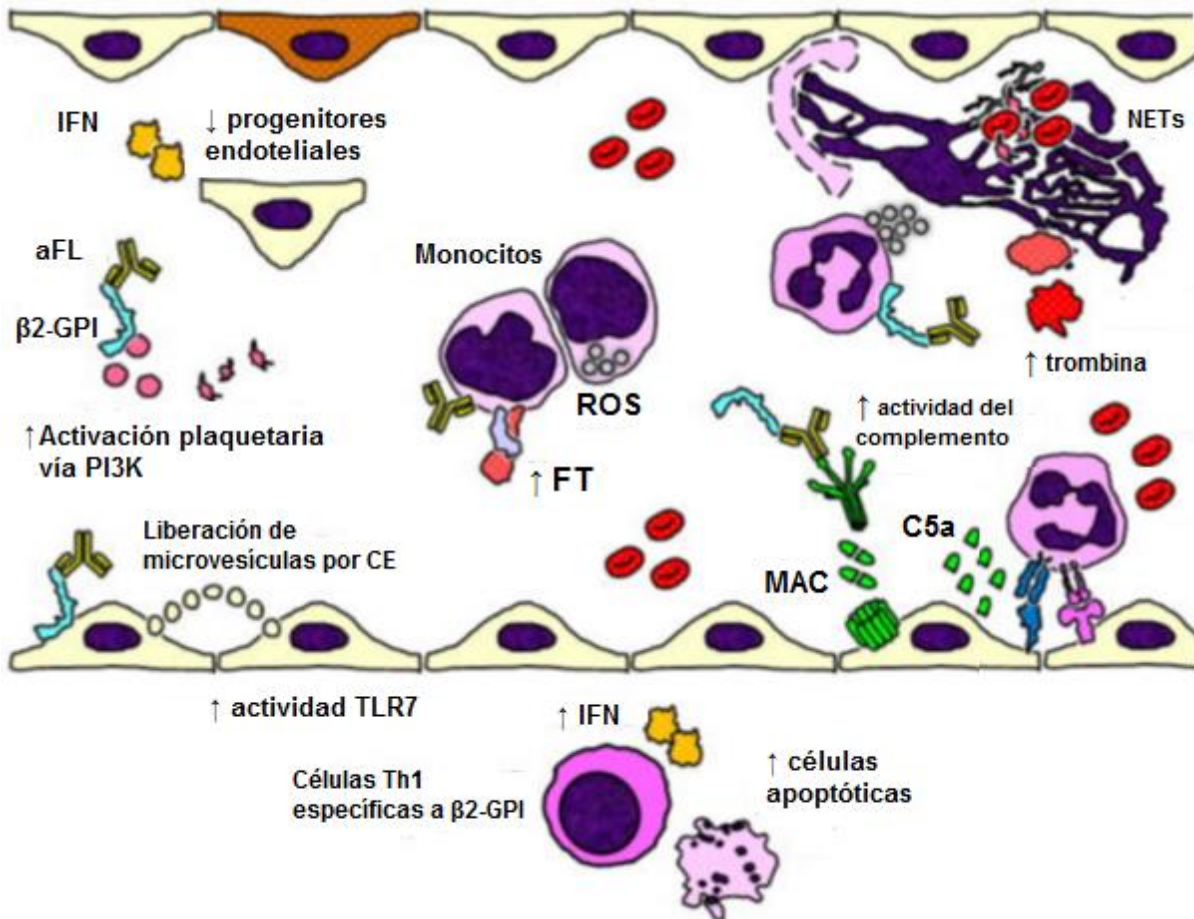


Figura 9. Conocimientos recientes en la fisiopatología de los aFL y el SAF. Comenzando en la parte inferior de la figura y moviéndose aproximadamente en el sentido de las agujas del reloj: en la pared vascular de las placas ateroscleróticas, los linfocitos TH1 específicas de la β_2 -GPI desencadenan la muerte celular y liberan IFN. Las células endoteliales (CE) liberan vesículas (como micropartículas) que activan TLR7 en otras CE mediante el suministro de ARN monocatenario. La activación plaquetaria mediada por aFL se basa en la PI3K. Los IFN de tipo I reducen la función de los progenitores endoteliales circulantes restaurativos, lo que puede conducir a la acumulación de daño endotelial a lo largo del tiempo. El aFL independiente del cofactor activa los monocitos a través de ROS, lo que resulta en un aumento de la expresión del FT. En respuesta a la aFL, los neutrófilos liberan NETs, que ayudan a facilitar la activación de la trombina. La activación del complemento, especialmente a través de la vía clásica, conduce al ensamblaje del complejo de ataque a la membrana (MAC) en la superficie endotelial, a la vez que facilita el reclutamiento y la activación de las células inflamatorias. Recuperado de Vreede, et al, 2017.

3.1.5. Epidemiología

El número de estudios epidemiológicos del SAF es muy limitado, aunque existen algunos datos que permiten estimar su distribución. Entre el 30 al 40% de pacientes con LES es positivo para aFL. En Norteamérica existe una prevalencia de LES entre 18 al 27% (Erkan y Lockshin, 2017).

El SAF, así como el LES, suele presentarse más frecuentemente en mujeres y en pacientes de entre 15 a 50 años (Cervera, et al, 2009). De acuerdo con la Alianza de pruebas clínicas y trabajo internacional del SAF (APS ACTION) de 638 pacientes la relación mujer/hombre fueron de 4.2 para pacientes con SAF y LES, 2.7 para pacientes con SAF y sin LES y 1.4 en pacientes mujeres sin LES y sin morbilidad obstétrica (Erkan y Lockshin, 2017).

No se tiene una distribución racial conocida en su totalidad, de acuerdo con Uthman et al (2005), reportan una prevalencia de aFL en SAF primario o relacionado a LES de 7 a 53% en hispanos (Erkan y Lockshin, 2017).

La prevalencia de los aFL aumenta con la edad y se ha observado que aproximadamente el 50% de pacientes de edad avanzada con enfermedades crónicas son positivos para aFL, además de ser predominantemente hombres y tener mayor tendencia a la trombosis arterial (Cervera, et al, 2009).

La prevalencia de aFL en población sana, es de 1 a 5%, confiriendo un riesgo absoluto de trombosis < al 1%, alcanzando hasta el 10% en mujeres con una historia de pérdida fetal previa y > 10% en aquellos sujetos que suspenden el anticoagulante posterior a un evento trombotico venoso (CENETEC, 2010).

3.2 Criterios clínicos y diagnóstico

De acuerdo con los criterios de clasificación, el SAF se define con base en la presencia de al menos, un criterio clínico y un hallazgo de laboratorio. El diagnóstico se basa en los criterios de Sapporo. La última actualización de estos criterios en 2006 incluyó a los a β_2 -GPI dentro de los hallazgos de laboratorio y se recomendó clasificar a los pacientes de acuerdo con los tipos de aFL que presentaban, ya sea solo un tipo, dos tipos o los tres tipos (ver tabla 4 y 5) (Cruz, 2016; Chaturvedi y McCrae, 2017).

Los criterios de Sapporo no incorporan varias de las manifestaciones clínicas presentadas en este síndrome, como son la trombocitopenia, anemia hemolítica, microangiopatía trombotica aguda, vegetaciones valvulares o engrosamiento,

livedo reticularis o racemosa, vasculopatía livedoide, disfunción cognitiva o cambios en la materia blanca subcortical (García y Erkan, 2018).

Tabla 4. Criterios clínicos para el diagnóstico del SAF.

Criterios clínicos
1. Trombosis vascular: Uno o más episodios de trombosis arterial, venosa o de vasos pequeños, en cualquier tejido u órgano.
2. Morbilidad en el embarazo <ul style="list-style-type: none"> - Una o más muertes inexplicables de un feto morfológicamente normal durante o después de la décima semana de gestación. - Uno o más nacimientos prematuros de un neonato morfológicamente normal después de la trigésima cuarta semana de gestación por eclampsia, preeclampsia severa o insuficiencia placentaria. - Tres o más abortos consecutivos, espontáneos y sin razón aparente antes de la décima semana de gestación, con anomalías maternas-anatómicas u hormonales con exclusión de causas cromosómicas.

Tabla 5. Criterios de laboratorio para el diagnóstico del SAF

Criterios de laboratorios
1. Anticoagulante lúpico presente en el plasma, en dos o más ocasiones con mínimo 12 semanas de separación, detectadas de acuerdo con las guías de la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia.
2. Anticuerpo anticardiolipina de isotipo IgG o IgM en suero o plasma, presente en títulos medios a altos (≥ 40 GPL o MPL o mayor al percentil 99), en dos o más ocasiones, con al menos 12 semanas de separación, medidas por ELISA.
3. Anticuerpos anti β_2 -GPI de isotipo IgG o IgM en suero o plasma (en títulos mayores al percentil 99) presente en dos o más ocasiones, con al menos 12 semanas de separación, medidos por ELISA.

Los ensayos de aCL por ELISA y AL son las primeras determinaciones que deben ser usadas para el diagnóstico de SAF, no obstante, la prueba de aCL por ELISA es sensible, pero no muy específica para el diagnóstico del SAF. Una prueba más específica es la determinación de a β_2 -GPI IgG por ELISA. El ensayo del AL

identifica autoanticuerpos contra protrombina o β_2 -GPI, el ensayo de aCL detectan aCL y/o $\alpha\beta_2$ -GPI, y finalmente el ensayo de β_2 -GPI solo detecta $\alpha\beta_2$ -GPI (Macías, et al, 2012; Pengo, et al, 2016).

Los anticuerpos antifosfolípidos no sólo son marcadores para el diagnóstico del SAF, también se consideran factores de riesgo para trombosis y complicaciones en el embarazo, que comúnmente son multifactoriales. (García y Erkan, 2018)

Dada la frecuencia de asociación, siempre que se diagnostica un SAF es preciso descartar la existencia de algún proceso autoinmune, sobre todo LES. Se deben incluir en el diagnóstico diferencial las etiologías de trombosis en el adulto, como estados de trombofilia congénitos que predisponen al desarrollo de eventos trombóticos (déficit de antitrombina, proteína S o C, plasminógeno, mutación del factor V Leiden, y gen de la protrombina G20210A, disfibrinogenemia) o patologías asociadas (ateroesclerosis, intervención quirúrgica e inmovilización, púrpura trombótica y trombopénica, síndrome nefrótico, cánceres, síndrome linfoma y mieloproliferativos, anticonceptivos orales, infecciones). Estas condiciones pueden distinguirse del SAF por la ausencia de pruebas iniciales positivas para los aFL o el fracaso para confirmar resultados positivos después de 12 semanas (Macías, et al, 2012).

No todos los ensayos que tengan presentes aFL son clínicamente significativos, durante las infecciones se presentan títulos transitorios y bajos de aFL, con isotipo IgM, y no tienen consecuencias clínicas. El tipo de anticuerpos más común durante las infecciones es el aCL. Si se realiza un LIA se puede diferenciar entre pacientes con aFL por infección o asintomáticos y con SAF (Mendoza-Pinto, et al, 2018).

Los puntos importantes a destacar al realizar las pruebas son: el AL se correlaciona mejor con el SAF que el hallazgo de aCL o $\alpha\beta_2$ -GPI; un título de moderado a elevado (≥ 40 GPL o MPL o \geq percentil 99) de aCL o $\alpha\beta_2$ -GPI de isotipo IgG o IgM se relaciona más con eventos clínicos producidos por el SAF que el hallazgo de títulos bajos; la IgG está más relacionada que la IgM con el SAF; y

un resultado positivo para las tres pruebas (AL, aCL y a β_2 -GPI, triple positivo) es más relevante que sólo una o dos pruebas positivas (García y Erkan, 2018).

El hallazgo de solamente IgA en cantidades moderadas a elevadas, ya sean aCL o a β_2 -GPI, es poco común y aún se desconoce si es relevante a nivel clínico. La mayoría de los pacientes que los presentan son pacientes con trombosis o pérdidas fetales, algunas veces con otra manifestación que no está dentro de los criterios y sin presencia de otros aFL. A esta clase de pacientes se les ha denominado “aFL seronegativos” (García y Erkan, 2018; Chaturvedi y McCrae, 2017).

Se han encontrado más anticuerpos directos contra diferentes moléculas como la fosfatidilserina, fosfatidiletanolamina, anexina II, anexina A5 y complejos de cardiolipina y vimentina en estos pacientes aFL seronegativos. Algunos antígenos como los complejos de vimentina y cardiolipina son comunes en pacientes con enfermedades reumatológicas, pero aun así no se sabe el significado de la presencia de estos anticuerpos en el SAF (Chaturvedi y McCrae, 2017).

Los hallazgos en laboratorio pueden clasificarse de acuerdo con el riesgo que representan: un perfil de riesgo elevado se define por un resultado positivo para AL con o sin títulos moderados a elevados de IgG o IgM de aCL o a β_2 -GPI; un perfil de riesgo moderado se caracteriza por un resultado negativo para AL con títulos moderados a elevados de IgG o IgM de aCL o a β_2 -GPI; un perfil de bajo riesgo se presenta cuando hay un resultado negativo para AL y títulos bajos de IgG o IgM de aCL o a β_2 -GPI (20 a 39 GPL o MPL) (García y Erkan, 2018).

Se ha propuesto el uso de β_2 -GPI como biomarcador, ya que se ha comprobado que la forma de tiol libre de β_2 -GPI juega un papel protector en el SAF, además de que los pacientes con SAF tienen mayores niveles de β_2 -GPI total u oxidado comparado con individuos sanos y pacientes con otras enfermedades autoinmunes (figura 10). Los niveles de β_2 -GPI oxidado es calculando restando la concentración de la forma de tiol al total de β_2 -GPI (Erkan y Lockshin, 2017).

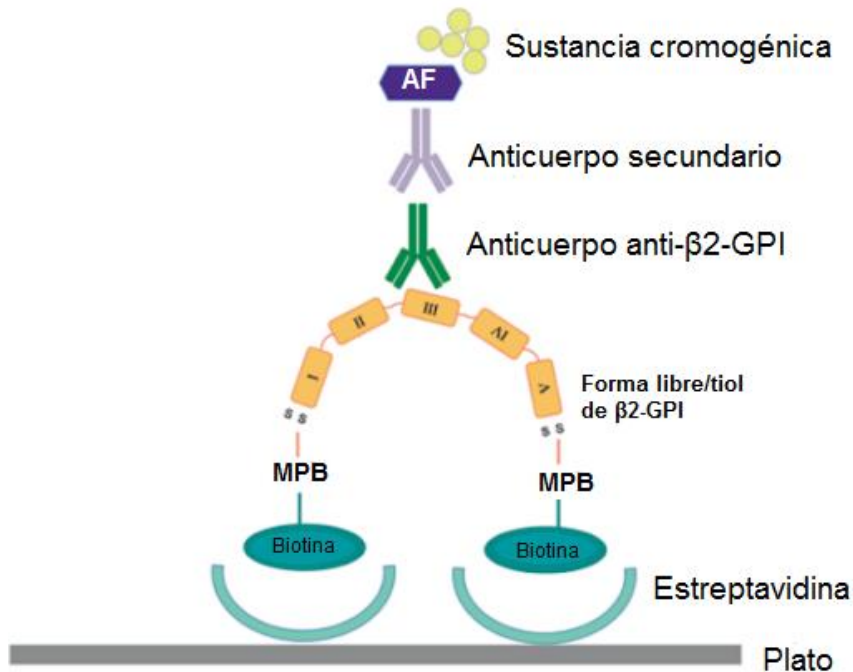


Figura 10. Esquema de un ELISA para medir la forma de tiol libre de β_2 -GPI. Ésta se une a la estreptavidina por medio de la biotina conjugada con maleimidil-propionil biotina (MPB) para inmobilizarla. La precipitación con acetona remueve la sustancia que no se haya unido y la β_2 -GPI libre y en forma de tiol unida se cuantifica con $\alpha\beta_2$ -GPI. Se detecta utilizando un segundo anticuerpo, fosfatasa alcalina (FA) y la sustancia cromogénica para-nitrofenilfosfato. (Erkan y Lockshin, 2017)

Otras propuestas han sido la cuantificación de anticuerpos antifosfatidilserina. Cada vez hay mayor evidencia de que los anticuerpos que reconocen el complejo fosfatidilserina y protrombina están involucrados en la patogénesis, por lo que también se les está dando importancia en el diagnóstico. Se ha visto que estos anticuerpos activan las células endoteliales produciendo sustancias procoagulantes, así como podrían contribuir a la pérdida del embarazo por trombosis microvascular.

Se ha visto que la adición de anticuerpos antifosfatidilserina a los criterios actuales contribuye a la identificación de pacientes con antecedentes de trombosis y/o morbilidad relacionada con el embarazo que no se diagnosticarían utilizando los criterios Sapporo, además de ser un factor de riesgo independiente para la actividad del AL y que ocurre en pacientes con LES o SAF negativos para AL con trombosis y pérdida del embarazo. Se sabe que estos anticuerpos están más

asociados con la morbilidad relacionada con el embarazo (Erkan y Lockshin, 2017; Peterson, et al, 2016).

También es posible detectar indicios de esta enfermedad por alargamiento de los tiempos de coagulación dependientes de fosfolípidos a partir de plasma citratado pobre en plaquetas (doblemente centrifugado) con el fin de eliminar el máximo de plaquetas, que son ricas en fosfolípidos aniónicos en su membrana. Las pruebas utilizadas son el tiempo de cefalina activada (TCA) simple o sensibilizada, tiempo de tromboplastina diluida (TTD) y tiempo de veneno de víbora Russell diluido (dRVVT) (Conte, et al, 2008).

Debido a que hay muchos pacientes que utilizan antagonistas de la vitamina K, como warfarina, se utiliza el INR como monitoreo, que es una prueba complementaria que permite su monitoreo. Su medición en presencia de aFL necesita una evaluación rigurosa ya que interfieren con el TPPa y el TP (Braham, et al, 2016).

3.3 Tratamiento

La primera consideración en los pacientes que tienen aFL persistentemente positivos y que no han desarrollado trombosis, será evitar o controlar los factores de riesgo trombóticos tales como: tabaquismo, presión arterial, sedentarismo, diabetes mellitus, colesterol y triglicéridos, hipertensión arterial y obesidad (CENETEC, 2010)

También se deben tomar en cuenta otros tipos de riesgos como el uso de anticonceptivos orales, inmovilización prolongada, terapia hormonal post-menopausia, embarazo, periodo postparto y profilaxis durante procedimiento quirúrgicos (Erkan y Lockshin, 2017).

Actualmente no existe algún medicamento que tenga autorización en el mercado para tratar el SAF. Hay guías internacionales que recomiendan el uso de anticoagulantes orales, heparina de bajo peso molecular o fármacos

antiplaquetarios para prevenir episodios trombóticos y problemas en el embarazo (Belizna, et al, 2018a).

3.3.1 Anticoagulantes orales

Los pacientes positivos para aFL asintomáticos, especialmente los pacientes triple positivos, tienen mayor riesgo de un evento trombótico. Aún existe un debate sobre cómo debe tratarse a este grupo de pacientes. No está claro si la aspirina de dosis baja (81 mg) puede o no influenciar sobre el riesgo trombótico. Su uso ha sido asociado a un menor riesgo de presentar una primera trombosis, aunque no es significativo comparado con pacientes que no la utilizan (Limper, et al, 2018; Tektonidou, et al, 2019).

El tratamiento base para el SAF siguen siendo los antagonistas de la vitamina K. Sin embargo, a pesar de las guías internacionales el porcentaje de reincidencia en el SAF se mantiene alto (alrededor de 20-21% a los 5 años para SAF con trombosis y 20-28% para SAF con complicaciones obstétrica). El rango de sobrevivencia en este tipo de pacientes es de un 90% a 10 años y del 65% a los 15 años (Belizna, et al, 2018a; Limper, et al, 2018).

Los pacientes con presencia de aFL persistente y con historia de trombosis venosa deben ser tratados con warfarina con el objetivo de llegar a un INR de 2.0 o 3.0. Este tratamiento ha demostrado proteger contra trombosis venosas recurrentes. Ningún estudio ha demostrado la duración de la anticoagulación en pacientes con aFL y es por ello que algunos autores apoyan el uso de aspirina, aunque esta combinación ha parecido ser ineficiente y aumenta la toxicidad (Erkan y Lockshin, 2017; Tektonidou, et al, 2019).

Con la introducción de la combinación de aspirina de baja dosis y la heparina de bajo peso molecular, la mayoría de las pérdidas fetales pueden ser prevenidas en el SAF obstétrico. Incluso se ha demostrado que es más eficaz que utilizando solamente aspirina. Sin embargo, aún pueden ocurrir complicaciones en el embarazo como preclamsia, bajo peso al nacer, nacimiento prematuro y muertes fetales a pesar del tratamiento (Limper, et al, 2018; Tektonidou, et al, 2019).

A pesar del tratamiento con anticoagulantes orales un número significativo de pacientes desarrolla recurrencias siendo la causa de mortalidad más frecuente en SAF. Además, presentan interacción con diversos alimentos y fármacos, requieren monitoreo, fluctúan su actividad por el consumo de alcohol, el ejercicio y el tabaco. Finalmente es importante recalcar que sólo ayudan a disminuir las manifestaciones clínicas y no disminuyen los niveles de aFL (Alba, 2015).

Los anticoagulantes orales directos (direct oral anticoagulants, DOACs o también llamados non-vitamin K antagonist oral anticoagulants, NOACs) se desarrollaron como alternativas a la warfarina, y se ha visto que en el SAF son efectivos, inclusive podrían ser una mejor opción para el tratamiento trombótico (Pengo y Denas, 2018).

Su mecanismo de acción consiste en la inhibición directa del factor Xa (rivaroxabán, apixabán, adoxabán) o de trombina (etexilato de dabigatrán). Además de sus efectos anticoagulantes tienen la capacidad de modular la inflamación. A pesar de esto aún se hacen estudios para saber si su uso es seguro y eficaz en pacientes con SAF, y hasta que no se compruebe deben ser evitados (Signorelli, et al, 2018).

Un problema general de los anticoagulantes es que interfieren con algunas pruebas de laboratorio. Tanto la heparina como los anticoagulantes orales directos pueden llevar a falsos positivos en pruebas para AL, incluso cuando tienen un TTPa normal. Se han reportado prolongación del TTPa y dRVVT en pacientes que toman rivaroxabán, dabigatrán o heparina de bajo peso molecular. La warfarina también afecta de manera variable los tiempos de coagulación en pruebas de AL (Chaturvedi y McCrae, 2017).

3.4 Hidroxicloroquina

La HCQ es un agente quimioterapéutico que, proveniente de la quinina, actúa contra las formas eritrocíticas de parásitos de malaria; es una base débil y anfipática con capacidad de cruzar bien las membranas celulares. Actualmente se

ha visto su uso clínico en el tratamiento de enfermedades autoinmunes como LES y artritis reumatoide (Browning, 2014).

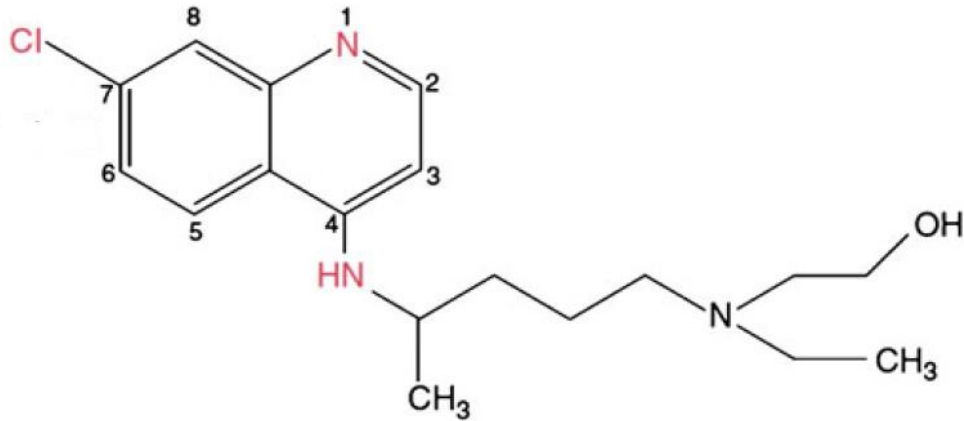


Figura 11. Estructura química de la HCQ. Es una 4-aminoquinolina alquilada y un derivado hidroxil de la cloroquina. Debido a su estructura es una base débil y una molécula anfipática basada en los dos anillos aromáticos fusionados que tienen dobles enlaces conjugados (el núcleo 4-aminoquinolina).

3.4.1 Aspectos farmacológicos

Generalmente se administra por vía oral y se absorbe casi por completo entre una 2 a 4 horas. Su absorción no se afecta por la ingestión de alimento, aunque existe una variabilidad entre individuos. Tiene un gran volumen de distribución (44,257 L) debido al extenso secuestro por los tejidos. La disposición se da en tres fases: distribución de la sangre a los tejidos, equilibrio entre sangre y tejidos y liberación a sangre. Estas fases tienen vidas medias de 3 a 8 horas, 40 a 216 horas y 30 a 60 días, respectivamente (Shippey, et al, 2018; Browning, 2014).

El pico de concentración en plasma es aproximadamente entre 3 y 12 horas. Se adhiere en un 30 a 70% a proteínas plasmáticas. Su eliminación es de importancia en las enfermedades autoinmunes, en las que se administran durante años, ya que tienen una vida media de eliminación terminal de 40 días (Shippey, et al, 2018; Browning, 2014).

Es importante recalcar que no difiere su distribución entre pacientes de raza negra, ya que el secuestro de melanina no es un factor importante en la

farmacocinética, aunque su concentración en tejidos si depende de la cantidad de melanina en los diferentes órganos. Se ha observado que, en mamíferos pigmentados, el ojo tiene de las más altas concentraciones, aunque también se puede concentrar en el hígado, pulmones, riñones, corazón, músculos, piel y cabello. Se ha observado que incluso después de varios años de no consumir HCQ, puede seguir almacenada en tejidos (Browning, 2014).

Su metabolismo se da por desalquilación en el hígado, aunque no por completo, ya que el anillo de quinolina es resistente a las enzimas, dando a metabolitos como desetilcloroquina y la bisdesetilcloroquina, los cuales son altamente tóxicos y la desetilhidroxicloroquina cuenta con una mayor proporción terapéutica. Las enzimas CYP2C8 y CYP3A4 del citocromo P450 son responsables de su degradación. Aproximadamente entre un 30 a 79% se metaboliza y de un 21 a 70% se excreta sin metabolismo. La inhibición de las enzimas del citocromo puede provocar variaciones en los metabolitos, como son el ketoconazol o la cimetidina que inhiben la CYP3A4 impidiendo la formación de la desetilcloroquina (Shippey, et al, 2018; Browning, 2014).

La HCQ se elimina principalmente por hígado y riñones. Aproximadamente un 40 a 60% se excreta sin cambios o metabolizada por los riñones, un 8 a 25% sin cambios o metabolizada en heces, un 5% por medio de la piel y un 25 a 45% se almacena en diferentes tejidos. Un mal funcionamiento de riñones o hígado disminuiría su excreción y podría provocar un mayor riesgo de retinopatía. De igual manera la alcalinización de la orina disminuye su excreción y su acidificación aumenta su excreción. (Shippey, et al, 2018; Browning, 2014)

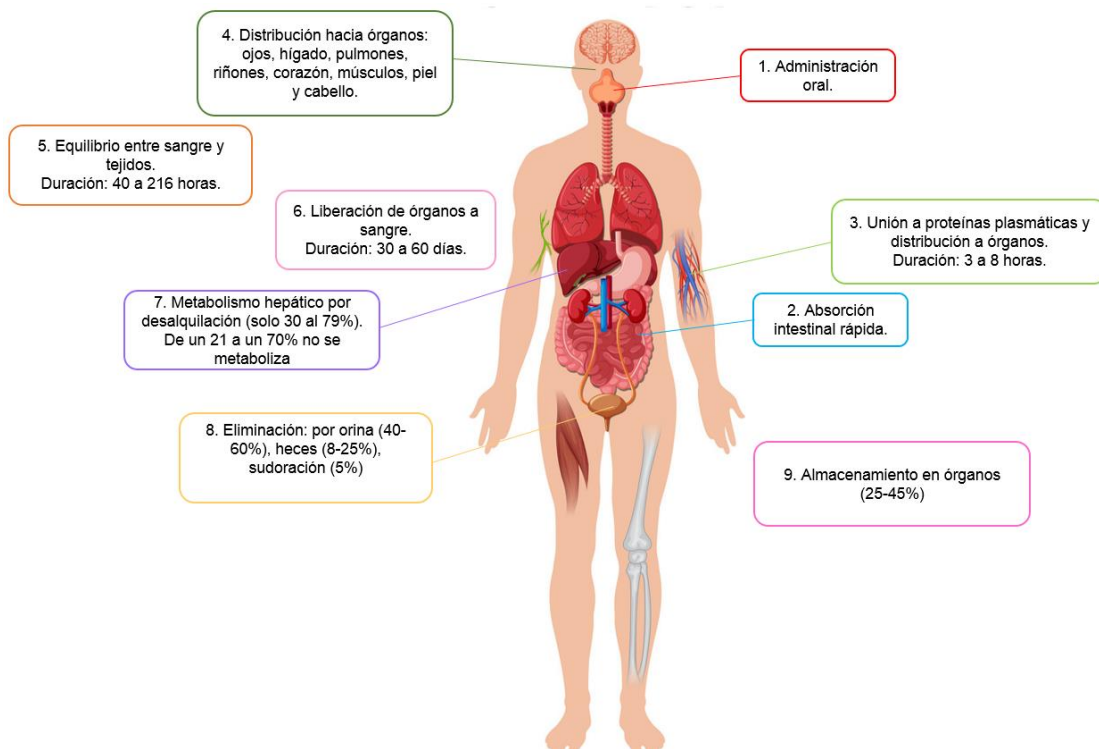


Figura 12. Farmacocinética de la HCQ. La HCQ es administrada por vía oral y se absorbe rápidamente. Se une a proteínas en un 45% y se distribuye a los órganos, tiene mayor afinidad por órganos que contienen melanina como los ojos, el hígado, los pulmones, los riñones, el corazón, los músculos, la piel y el cabello. Posterior al equilibrio entre sangre y tejidos, se da la liberación a sangre para que un porcentaje sea metabolizado en el hígado. Un gran porcentaje es eliminado sin metabolizarse. Su eliminación se da por vía renal, por medio de las heces o por la sudoración. Parte del medicamento se almacena en órganos,

Presenta diversos efectos adversos, por lo que requiere de vigilancia por parte del médico. El más común es la retinopatía, también puede observarse la hiperpigmentación, miopatía y reacciones en la piel como la pustulosis exantemática, aunque son muy raros. La retinopatía es la pérdida permanente e irreversible de la visión y el riesgo aumenta con las dosis elevadas de HCQ y su acumulación. La prevalencia de las personas que usan el medicamento durante menos de 10 años es inferior al 2%, aunque se sabe que la prevalencia si se utiliza 20 años asciende hasta un 20%. Debido a esto se recomienda que los pacientes bajo este tratamiento deben someterse a un examen de rutina de retina. Como precaución se recomienda que la dosis no sea mayor a 66.5 mg/kg de acuerdo con el peso corporal real (Shippey, et al, 2018).

Debido a que la HCQ tiene la capacidad de atravesar la placenta, se recomienda que no sean utilizada durante el embarazo. También se ha observado que es excretada en pequeñas cantidades en la leche materna. Se sabe que las 4-aminoquinolinas han sido asociadas con daños al sistema nervioso central, ototoxicidad y hemorragias en la retina en fetos (Sanofi, 2018)

Sin embargo, existen varios estudios que sugieren que es seguro su uso en pacientes embarazadas con LES, que no posee efectos teratogénicos en el embarazo y no produce anomalías fetales directamente atribuibles a la HCQ. Actualmente la Liga Europea Contra el Reumatismo respalda la eficacia y seguridad de la HCQ durante el embarazo (Sciascia, et al, 2016).

3.4.2. Mecanismos de acción molecular en el SAF

3.4.2.1 Propiedades lisosomotrópicas e inhibición del TCR

Se le denomina lisosomotropismo a la propiedad de una molécula de acumularse en los lisosomas y otros compartimentos intracelulares ácidos debido a la protonación u secuestro del fármaco. La HCQ tiene la capacidad de difundir sin carga dentro del lisosoma debido a que es una molécula hidrofóbica y una base débil. Una vez dentro del lisosoma es protonada en sus dos residuos básicos lo que le impide difundir hacia fuera, resultando en su acumulación irreversible (Hu, et al, 2017).

Todo lo anterior provoca una elevación del pH lisosomal. El lisosoma en estado normal tiene un pH aproximadamente entre 4 y 5 debido al transporte activo de protones del citosol al lisosoma, por el contrario, el citosol y el medio extracelular tienen un pH de 7.4 (Browning, 2014).

Se cree que las enfermedades autoinmunes son causadas por una falla en la selección negativa de los linfocitos. Los pacientes con estas enfermedades expresan suficientes MHC unidos a péptidos propios generando linfocitos T con TCR autorreactivos. Debido a que no son eliminadas estas células, pueden ser estimuladas por antígenos propios y proliferar causando daño (Browning, 2014).

La alcalinización del lisosoma afecta la actividad de muchas proteasas ácidas que digieren diferentes macromoléculas y disminuye la unión de péptidos autoantigénicos con las MHC II debido a la disminución de la actividad de las aspartil proteasas, catepsina D y catepsina B. Todo esto lleva a la inhibición de la proteólisis (Hu, et al, 2017).

Las células T con TCRs autoreactivos serían menos estimuladas y la autoinmunidad sería menos activa. Los autoantígenos tienen menos afinidad por la MHC II y es por esto que la HCQ tienen preferencia en la inhibición de la autoinmunidad y no afecta la inmunidad a agentes exógenos. (Hu, et al, 2017).

Los efectos tóxicos ocurren cuando los lisosomas expuestos acumulan proteínas no degradadas por las enzimas lisosomales llevando a su apoptosis, disrupción del autofagia y daño oxidativo. El pH lisosomal elevado puede inhibir la disociación receptor-enzima dando posibles efectos tóxicos. Algunos autores sostienen que los diversos efectos de la HCQ dependen de su concentración. (Browning, 2014)

3.4.2.2. Inhibición de la señalización de TLR

Los TLR intracelulares, tienen la capacidad de reconocer complejos de ácidos nucleicos propios como los que se encuentran en la artritis reumatoide y LES. Uno de estos complejos es el oligodeoxinucleotido C_pG (C_pG ODN). Específicamente, estas moléculas son reconocidas por los TLRs de linfocitos B y células dendríticas plasmocitoides (pDC) induciendo la producción de IFN I y α y otras citocinas proinflamatorias llevando a la patología de las enfermedades autoinmunes (Browning, 2014).

La HCQ tiene la capacidad de inhibir la función de TLRs intracelular por medio de la inhibición de C_pG a concentraciones nanomolares, además de que se ha demostrado que puede ser un antagonista directo de los TLRs, ya que se une en el epítipo entre el ácido nucleico y el TLR (Hu, et al, 2017).

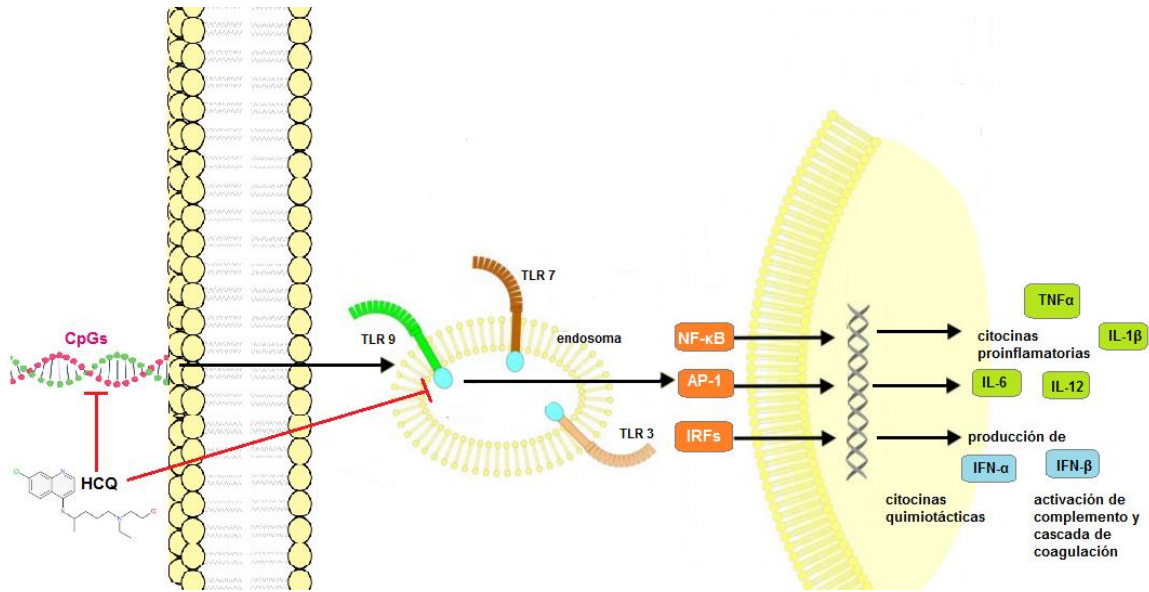


Figura 13. La HCQ y los TLRs. La HCQ actúa como antagonista directo de los TLR intracelulares 7 y 9, impidiendo la unión con CpG, impidiendo así una vía que desencadena la producción de citosinas proinflamatorias como IFN- α , IFN- β , IL-6, IL-12, IL-1 β y TNF- α .

3.4.2.3. Otras teorías

Otra de las teorías importantes es que se ha observado que puede reducir la unión de la β_2 -GPI con anticuerpos antifosfolípido. La unión de la HCQ a las proteínas es débil y reversible. Se cree que el fármaco interactúa tanto con la β_2 -GPI como con la IgG debido a que revierte la unión individual de las proteínas con los fosfolípidos y además reduce la afinidad por las bicapas. De acuerdo con el estudio de Rand, et al (2008), puede ser que el fármaco disminuya los niveles aparentes de los anticuerpos reduciendo su unión a superficies de cardiolipina utilizadas para los ensayos. Los efectos sobre el AL solo se observan a concentraciones altas de HCQ. Aún no se sabe específicamente su diana molecular (β_2 -GPI o los aFL) (Bezati, et al, 2015; Rand, et al, 2008).

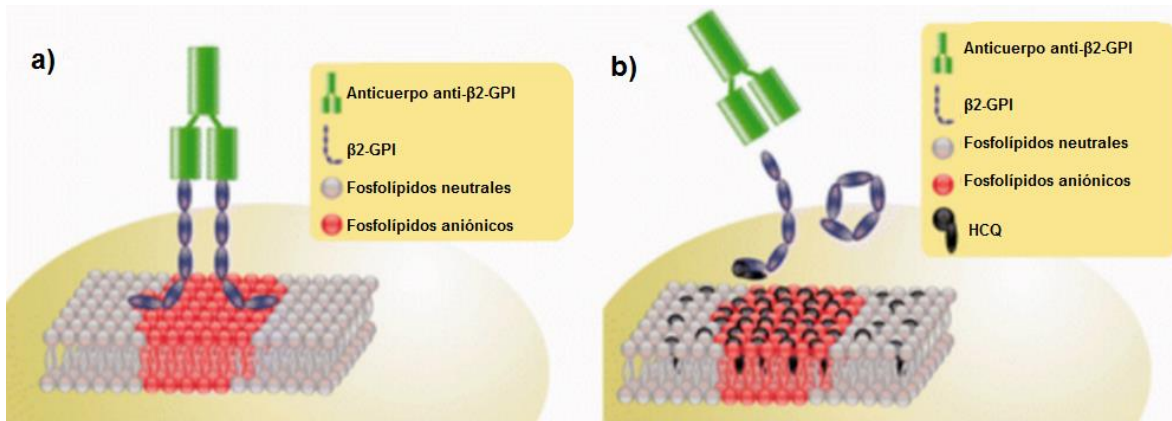


Figura 14. Mecanismo patogénico antifosfolípido (aFL) y su alteración por HCQ. (a) En el mecanismo patógeno aFL del síndrome antifosfolípido (SAF), la β 2-glicoproteína I (β 2GPI) se une a los fosfolípidos aniónicos expuestos que sufren un cambio conformacional en el proceso, lo que expone a los epítomos antigénicos que conducen a la unión de anticuerpos anti- β 2GPI. (b) La adición de HCQ da como resultado la interrupción del complejo de IgG- β 2GPI a través de la inserción en la bicapa lipídica y / o el bloqueo del epítipo de unión a fosfolípidos en el dominio V de β 2GPI. Recuperado de Bezati 2015.

Por otra parte, se ha visto que la HCQ puede alterar el almacenamiento de calcio en el retículo endoplásmico por medio de los canales de calcio reduciendo tanto el pico inicial de calcio como su flujo de entrada. La elevación de calcio intracelular activa la calmodulina que se une a la calcineurina, que activa el factor nuclear de linfocitos T activados, llevando a la secreción de IL-2 desencadenando la diferenciación y crecimiento de estas células. En resumen, la HCQ es capaz de bloquear la activación de linfocitos T inhibiendo su activación dependiente de calcio (Hu, et al, 2017)

También se ha observado que pueden inhibir la producción de ciertas citocinas (IL5, 17, 22 y TNF alfa) o modular ciertos eventos en las vías de señalización afectando la activación de células. Por otra parte, se ha observado que la HCQ protege el escudo anticoagulante de la anexina A5 en el embarazo (Browning, 2014; Chaturvedi y McCrae, 2017).

Un estudio reciente demostró que inhibe la translocación de Nox2 de monocitos endosomal en respuesta a estimulantes como TNF α , IL-1 β y aFL. Esto fue acompañado por la mitigación de la formación de trombos mediada por Nox2 inducida por aFL *in vivo*. Respecto a las NETs se ha demostrado que antagoniza

la liberación de ellas, aunque estudios adicionales deben continuar explorando la intersección de la HCQ, los monocitos/neutrófilos activados y el SAF (ver tabla 4) (Vreede, et al, 2017; Urbanski, et al, 2018).

Estudios retrospectivos recientes han sugerido un efecto beneficioso de la HCQ en los embarazos con SAF. En un modelo de ratón de SAF obstétrico, se demostró recientemente que la HCQ previene la muerte fetal y los cambios metabólicos placentarios. Yendo más lejos, demostraron que los aFL se localizan especialmente en la placenta y el cerebro fetal en desarrollo, y que la HCQ mitiga la deposición complementaria en ambos sitios (que se correlacionó con niveles más bajos de C3a y C5a en la sangre) (Vreede, et al, 2017).

4. Discusión

Actualmente diferentes investigadores se han dado a la tarea de buscar opciones para el tratamiento del SAF, debido a las deficiencias que tiene el tratamiento actual. En los últimos años se ha dado de nuevo el interés por la HCQ, que parece ser una opción viable por diferentes motivos.

Iniciando por sus ventajas, la HCQ presenta varios beneficios en el aspecto farmacológico. Su vida media de eliminación terminal es de 40 días, lo que permitiría a los pacientes tomar dosis muy bajas para el tratamiento y así mismo podría disminuir la toxicidad del medicamento y los efectos adversos que se ocasionarían al administrarse.

Estudios recientes han demostrado la poca reincidencia que tienen los pacientes que son tratados con la HCQ, por lo que se podría decir que no tendrá que repetir el tratamiento durante varios momentos en su vida.

A pesar de esto, es un medicamento que debe de mantenerse bajo vigilancia por el médico, ya que si la dosis es aumentada se eleva el riesgo de padecer algunos de sus efectos secundarios, entre ellos la retinopatía, que es el principal problema de consumir este fármaco por tiempo prolongado.

En cuanto a costos, la HCQ es un medicamento que en México tiene un costo de \$540 MXN aproximadamente una caja con 20 tabletas de 200 mg. Es un medicamento que se toma por más de 1 año al igual que el ácido acetil salicílico y el rivaroxabán. La HCQ es más económica que el rivaroxabán, pero mas costoso que el ácido acetil salicílico. La comparación con la enoxaparina (la heparina de bajo peso molecular comercializada en México) y la warfarina es complicada ya que cada una se da hasta que el paciente alcance un INR adecuado. En cuanto a la HCQ, se retoma el beneficio que presenta ya que, una vez terminado el tratamiento, hay un bajo porcentaje de recaídas, a diferencia de los anticoagulantes orales que, si bien pueden ser menos costosos, deben ser tomada por tiempo indefinido hasta que el paciente no presente riesgo de trombosis (ver tabla 6).

Tabla 6. Comparación de costos entre fármacos.

a)			
Fármaco	Cantidad	Dosis	Marcas comerciales
Ácido acetil salicílico (100 mg)	30 tabletas	1 c/ 24 hrs	Asa 100, aspirina protect
Warfarina (5 mg)	30 tabletas	1 c/24 hrs	Generico, Coumadin
Enoxaparina (60 mg)	2 ampolletas de 0.6 ml	1 mg/kg/24 hrs	Clexane, Bolentax
Rivaroxaban (20 mg)	28 comprimidos	1 c/ 24 hrs	Xarelto
Hidroxicloroquina (200 mg)	20 tabletas	1 c/ 24 hrs	Plaquenil
b)			
Fármaco	Precio promedio	Costo durante 10 días	Costo al año
Ácido acetil salicílico (100 mg)	\$ 25-80		\$ 300- 960
Warfarina (5 mg)	\$30- 478		
Enoxaparina (60 mg)	\$600-1,400	\$6,000- 14,000	
Rivaroxaban (20 mg)	\$ 1,800- 2,160		\$ 23,130- 27,756
Hidroxicloroquina (200 mg)	\$ 525-555		\$ 9, 581-10,128

(a) Se describen las presentaciones comerciales disponibles en México y las dosis de cada medicamento utilizado o propuesto en el tratamiento del SAF. (b) Se realizó un precio promedio de cada presentación de los medicamentos, así como su costo durante determinado tiempo: 1 año para el ácido acetil salicílico, rivaroxabán y la HCQ ya que son medicamentos utilizados a largo plazo; 10 días para la enoxaparina (heparina de bajo peso molecular comercializada en México) ya que se da máximo por 10 días o hasta que el paciente tenga un INR adecuado; no se describen costos a largo plazo para la warfarina ya que el tiempo de tratamiento depende de cada paciente y su INR. Adaptado de PLM, 2018.

Por otro lado, se sabe que varios de los mecanismos moleculares de la HCQ son los adecuados para la eliminación de los aFL y la regulación del sistema inmune. Primero tenemos su capacidad de aumentar el pH lisosomal, que desencadenan en la disminución en la unión de la MHC II a antígenos peptídicos, haciendo menor la activación de linfocitos T autorreactivos. Este mecanismo de acción permitiría que disminuyera la formación de los anticuerpos, evitando que se desarrolle la enfermedad.

Igualmente tenemos que la HCQ es capaz de inhibir la función de los TLR 7 y 9. Estos TLR son receptores clave en las enfermedades autoinmunes, ya que se sabe de su participación en el desarrollo del perfil proinflamatorio que se presenta en estos casos. Al inhibir la función de estos se pueden evitar que se presenten los efectos provocados por la activación de diferentes citocinas y la generación del síndrome autoinmune.

Así mismo, se ha comprobado como este fármaco puede interrumpir la unión del anticuerpo con la β 2GPI, que como se sabe, esta glicoproteína es uno de los

principales antígenos en este síndrome. Al inhibir que el anticuerpo se adhiera a ella se detiene la evolución de la patología del SAF.

Finalmente, tenemos la inhibición de las NETs y el complemento. Ambos son procesos que, al limitarse, detendrían la patología de la enfermedad y disminuiría la respuesta inmunológica tan exagerada que se presenta en este síndrome.

La mayoría de todos estos mecanismos se han demostrado en animales de laboratorio, y aunque son pocos, también existen estudios en humanos que demuestran que la HCQ si es útil y ayuda a disminuir los títulos de anticuerpos antifosfolípido de manera directa.

Nuri y colaboradores realizaron el primer estudio en 2017 donde se observan los efectos de la HCQ a largo plazo (12 meses) en pacientes con SAF primario. Cerca de la mitad de estos pacientes eran positivos a los tres tipos de aFL, mientras que los otros eran positivos a dos tipos y solo cerca del 10% eran positivos a un tipo de aFL. Ellos encontraron que estos anticuerpos ($\alpha\beta_2$ -GPI IgG, $\alpha\beta_2$ -GPI IgM y aCL IgG) se disminuyeron de manera significativa además de que hubo una ligera disminución en trombosis arteriales.

Se ha visto en varias ocasiones la reducción en la incidencia de nuevas trombosis venosas en SAF primario al añadirse a la terapia tradicional, así como también sus beneficios en el lupus y SAF secundario. Inclusive se ha comparado el rango de sobrevivencia en pacientes que usan antimaláricos y los que no (95% contra 68% respectivamente) (Belizna, et al, 2018a).

En los casos obstétricos se ha visto que al adicionar la HCQ a la terapia tradicional resulta en una reducción de abortos espontáneos (del 81 al 19%). Por otra parte, varios estudios demuestran que los grupos donde se utiliza este fármaco tienen mayor porcentaje de bebés nacidos, mayor duración del embarazo, mayor rango de labor vaginal espontánea y un menor riesgo de complicaciones en la placenta (Signorelli, et al, 2018).

La desventaja en todos estos estudios es que se han hecho en grupos pequeños de personas y en periodos cortos, aunque son un primer vistazo a la eficacia de la HCQ, deben de hacerse estudios más completos.

Actualmente se está realizando el primer estudio que incluye a 53 centros de salud de 16 países donde se pretende utilizar la HCQ para prevenir la reincidencia de trombosis y eventos obstétricos en SAF primario. Este estudio se llama HIBISCUS (Hydroxychloroquine for the secondary prevention of thrombotic and obstetrical events in primary antiphospholipid syndrome) (Belizna, et al, 2018a).

HIBISCUS es un estudio de fase 3 en el que se evalúa la HCQ contra un placebo en pacientes con SAF primario. Este sería el primer estudio que debido al gran número de pacientes podría dar una conclusión sobre la eficacia de este fármaco.

Por otro lado, tenemos la terapia tradicional con la que se trata a la mayoría de los pacientes con SAF y que no ha cambiado en años. Si bien los mecanismos de acción de los anticoagulantes son muy conocidos, no son muy efectivos ni mucho menos son específicos a las dianas moleculares que se presentan en el SAF y que se han descubierto recientemente. No conforme esto, se sabe que presentan muchos efectos tóxicos y secundarios.

El manejo de los antagonistas de la vitamina K como la warfarina es problemático debido a sus numerosas interacciones farmacológicas con otros fármacos y alimentos, además de su monitoreo frecuente. Su uso requiere un control de laboratorio rígido y se monitoriza utilizando la proporción normalizada internacional (INR), que se deriva del tiempo de protrombina (TP) y el índice de sensibilidad internacional (ISI). Sin embargo, se ha demostrado que algunos ensayos de TP son sensibles a los efectos del AL, lo que lleva a un TP prolongado y, en consecuencia, a valores INR falsos.

Además, la presencia de aFL en la muestra de plasma de un paciente puede tener implicaciones importantes para la dosificación de la terapia con warfarina debido a una sobreestimación del INR. Como alternativa están los ensayos del factor X cromogénico (CFX) ya que sus resultados son independientes de los fosfolípidos, pero no son muy utilizados ya que son costosos, tardados y sólo se realizan en algunos laboratorios.

El uso de los DOACs o NOACs está descartado ya que por el momento se están realizando ensayos para mostrar su potencial en pacientes con SAF y al

desconocer mucho de ellos, no se consideran seguros. Recientemente Dufrost (2016) descubrió que los pacientes con aFL triple positivos que utilizaron DOACs presentaron cuádruple riesgo de recurrencia de trombosis.

La HCQ, a pesar de carecer de estudios más completos que respalden y aprueben su uso en el tratamiento del SAF, presenta varios puntos a favor y pruebas que la hacen parecer una alternativa prometedora. Este medicamento podría ser una nueva opción al tratamiento clásico de esta enfermedad y tendría la capacidad de reemplazarlo e inclusive ser una de las mejores opciones comparado con los DOACs y los otros tratamientos inmunológicos.

5. Conclusiones

- De acuerdo a los diferentes documentos se verificó que la hidroxiclороquina es un fármaco potencialmente útil para el tratamiento del síndrome antifosfolípidos, ya que posee mecanismos de acción específicos, poca probabilidad de efectos secundarios y recaídas, así como por su eficacia.
- Se describió al síndrome antifosfolípido conforme a los escritos revisados como una enfermedad autoinmune caracterizada por la presencia de anticuerpos antifosfolípidos, que son los causantes de la fisiopatología
- Acorde a los diferentes estudios analizados, se mostró que el uso de anticoagulantes como único tratamiento es deficiente, ya que solamente ocultan algunos síntomas y poseen varios efectos secundarios no deseados.
- Como se pudo observar, existe bastante información farmacológica de que la hidroxiclороquina debería usarse como tratamiento de primera línea en el SAF, aunque aún deben realizarse y concretarse algunas investigaciones para tener información más completa.
- Gracias a los diversos diagramas e imágenes se dio evidencia de que la hidroxiclороquina tiene dianas compatibles con la patología del SAF, como son algunos receptores y la β 2-GPI.

6. Referencias

- Alba, P. (2015). Uso de nuevos anticoagulantes orales en síndrome antifosfolípido. *Revista de la Facultad de Ciencias Médicas*. 72(1): 5-6
- Becarevic, M. (2016). The IgG and IgM isotypes of anti-annexin A5 antibodies: relevance for primary antiphospholipid syndrome. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*. 42: (553-557)
- Belizna, C., et al. (2018a). HIBISCUS: Hydroxychloroquine for the secondary prevention of thrombotic and obstetrical events in primary antiphospholipid syndrome. *Autoimmunity Reviews*. doi: 10.1016/j.autrev.2018.05.012
- Belizna, C., et al. (2018b). Primary antiphospholipid syndrome and antiphospholipid syndrome associated to systemic lupus: Are they different entities?. *Autoimmunity Reviews*. 17 (2018): 739-745
- Bezati, E., et al. (2015). A new trick for an ancient drug: quinine dissociates antiphospholipid immune complexes. *Lupus*. 24 (1): 32-41
- Biozentrum. (1994). UniProt. [base de datos]. Recuperado de: <https://www.uniprot.org/uniprot/P08758>
- Biozentrum. (2010a). *UniProt*. [base de datos]. Recuperado de: <https://www.uniprot.org/uniprot/P02749>
- Biozentrum. (2010b). *UniProt*. [base de datos]. Recuperado de: <https://www.uniprot.org/uniprot/P00734>
- Biozentrum. (2016). UniProt. [base de datos]. Recuperado de: <https://www.uniprot.org/uniprot/P02776>
- Biozentrum. (2017). *UniProt*. [base de datos]. Recuperado de: <https://www.uniprot.org/uniprot/P07355>

- Blank, M., et al. (2002). Bacterial induction of autoantibodies to beta2-glycoprotein-I accounts for the infectious etiology of antiphospholipid syndrome. *Journal of Clinical investigation*. 109: 797-804
- Braham, S., et al. (2016). Evaluation of a new PT-INR monitoring system in patients with the antiphospholipid syndrome. *International Journal of Laboratory Hematology*. 38: 497-504
- Browning, D. (2014). Hydroxychloroquine and chloroquine retinopathy. New York: Springer
- Centro Nacional de Excelencia Tecnológica en Salud-México (CENETEC), editores. Guía de práctica clínica, tratamiento de síndrome de anticuerpos antifosfolípido primario en el adulto: Secretaria de Salud; 2010
- Cervera, R., et al. (2009). The Euro-Phospholipid Project: epidemiology of antiphospholipid syndrome in Europe. *Lupus*. 18:889-893
- Chaturvedi, S. y McCrae, K. (2017). Diagnosis and management of the antiphospholipid syndrome. *Blood Reviews*. 31(6): 406-417
- Conte, A., et al. (2008). Síndrome de anticuerpos antifosfolípidos. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*. 42(2):271-278
- Cruz, D.G. (2016). Síndrome de anticuerpos antifosfolipídicos; patogénesis, diagnóstico y tratamiento. *Revista de Hematología de México*. 17(4):256-261
- Cruz-Tapias, P., et al. (2012). Infections and vaccines in the etiology of antiphospholipid syndrome. *Current Opinion in Rheumatology*. 24: 389-393
- Del Carpio, L. et al. (2017). Síndrome antifosfolípidos catastrófico. Reporte de caso y revisión bibliográfica. *Gaceta Médica de México*. 153: 531-536
- Diccionario de Especialidades Farmacéuticas. (2018). México: PLM.
- Dufrost, V. (2016). Direct oral anticoagulants use in antiphospholipid syndrome: are these drugs an effective and safe alternative to warfarine? A systematic review of the literature. *Current Theumatology Reports*. 18: 74

- El-Assad, F., et al. (2016). Posttranslational forms of beta 2-glycoprotein I in the pathogenesis of the antiphospholipid syndrome. *Thrombosis Journal*. 14(1): 20g
- Erkan, D. y Lockshin, M. (2017). *Antiphospholipid Syndrome Current Research Highlights and Clinical Insights*. New York: Springer
- García, D. y Erkan, D. (2018). Diagnosis and Management of the Antiphospholipid Syndrome. *The New England Journal of Medicine*. 378(21): 2010-2021
- Grayson, P., y Kaplan, M. (2016). At the bench: neutrophil extracellular traps (NETs) highlight novel aspects of innate immune system involvement in autoimmune diseases. *Journal of Leukocyte biology*. 2016(99): 253-264
- Hoxha, A., et al. (2016). Detection of lupus anticoagulant in the era of direct oral anticoagulants. *Autoimmunity Reviews*. 16: 173-178
- Hu, C., et al. (2017). The pharmacological mechanisms and therapeutic activities of hydroxychloroquine in rheumatic and related diseases. *Current Medicinal Chemistry*. 24: 2241-2249
- Limper, M., et al. (2018). Antiphospholipid syndrome: state of the art on clinical practice guidelines. *Rheumatic & Musculoskeletal Diseases*. doi: 10.1136/rmdopen-2018-000785
- López-Santiago, N. (2016). Pruebas de coagulación. *Acta Pediátrica de México*. 37 (4): 241-245
- Macías, J.M., Barco, N.M. y Barreda, F.E. (2012). Trombofilia y síndrome antifosfolipídico: A propósito de un caso. *Revista Médico-Científica "Luz y Vida"*. 3(1): 56-60
- Mendoza-Pinto, C., et al, (2018). Role of infectious diseases in the antiphospholipid syndrome (including its catastrophic variant). *Current Rheumatology Reports* 20(62): 1-7

- Müller-Calleja, N., y Lackner, K. (2017). Mechanisms of Cellular Activation in the Antiphospholipid Syndrome. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 44(05), 483–492
- Noureldine, M., et al. (2018). Insights into the diagnosis and pathogenesis of the antiphospholipid syndrome. *Seminars in Arthritis & Rheumatism*. 48(5): 806-866
- Nuri, E., et al. (2017). Long-term use of hydroxychloroquine reduces antiphospholipid antibody levels in patients with primary antiphospholipid syndrome. *Immunology Research*. 2017 (65): 17-24
- Paradies, G., et al. (2014). Functional role of cardiolipin in mitochondrial bioenergetics. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1837(4): 408-417
- Pengo, V., et al. (2016). APS- diagnostics and challenges for the future. *Autoimmunity Reviews*. 15(1031-1033)
- Pengo, V. y Denas, G. (2018). Diagnostics and treatment of thrombotic antiphospholipid syndrome (APS): A personal perspective. *Thrombosis Research*. 169: 35-40
- Peterson, L., et al. (2016). Antibodies to phosphatidylserine/prothrombin complex in antiphospholipid syndrome: analytical and clinical perspectives. *Advances in Clinical Chemistry*. 73: 2-22
- Rand, J., et al. (2008). Hydroxychloroquine directly reduces the binding of antiphospholipid bilayers. *Blood*. 112 (5): 1687-1695
- Sanofi. (2018). Product monography: Plaquenil. Quebec, Canada: *Sanofi products*. Recuperado de: <http://products.sanofi.ca/en/plaquenil.pdf>
- Sciascia, S, et al. (2016). The impact of hydroxychloroquine treatment on pregnancy outcome in women with antiphospholipid antibodies. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. (214): 273.e1-8
- Shippey, E., et al. (2018). Hydroxychloroquine: An old drug with new relevance. *Cleveland Clinic Journal of Medicine*. 85 (6): 459-467

- Signorelli, F., et al. (2018). New and upcoming treatments in antiphospholipid syndrome: A comprehensive review. *Pharmacological Research*. 113: 108-120
- Tektonidou; M., et al. (2019). Management of thrombotic and obstetric antiphospholipid syndrome: a systematic literatúra review informing the EULAR recommendations for the management of antophopholipid syndrome in adults. *Rheumatic and Musculoesketal Diseases*. doi: 10.1136/rmdopen-2019-000924
- Urbanski, G., et al. (2018). Hydroxychloroquine partially prevents endothelial dysfunction induced by anti-beta-2-GPI antibodies in an in vivo mouse model of antiphospholipid syndrome. *PloS one*, 13(11), e.0206814
- Uthman, I., et al. (2005). Ethnic and geographical variation in antiphospholipid (Hughes) syndrome. *Annals of Rheumatic Diseases*. 64:1671-1676
- Vreede, A., et al. (2017). Antiphospholipid syndrome: an update for clinicians and scientists. *Current opinion in rheumatology*, 29(5), 458-466
- Yalavarthi, S., et al. (2015). Release of neutrophil extracellular traps by neutrophils stimulated with antiphospholipid antibodies; a newly identified mechanism of thrombosis in the antiphospholipid síndrome. *Arthritis Rheumatology*. 2015 (67): 2990-3003