

## Anticuerpos antifosfolipídicos: detección y relevancia clínica

### 1. Introducción

En el laboratorio, lo que clásicamente define al Síndrome Antifosfolipídico (SAF) es la presencia persistente de los denominados anticuerpos antifosfolipídicos (aPL) (1). Estos constituyen una familia heterogénea de autoanticuerpos que están dirigidos frente a proteínas que intervienen en la cascada de la coagulación y que tienen afinidad por los fosfolípidos de las superficies celulares (2).

Los anticuerpos con mayor relevancia clínica son los incluidos en los requerimientos de laboratorio de los criterios de clasificación del SAF (3). Estos anticuerpos, denominados anticuerpos antifosfolipídicos clásicos, son los anti-cardiolipina y anti- $\beta$ 2-glicoproteína I de isotipo IgG e IgM y el anticoagulante lúpico. Deben ser positivos a título medio-alto, al menos uno de ellos, en dos determinaciones separadas como mínimo 12 semanas para cumplir el requerimiento de laboratorio. También se requiere que no hayan transcurrido más de 5 años entre la positividad de los aPL y las manifestaciones clínicas sugestivas de SAF.

Además de estos anticuerpos incluidos en los criterios de clasificación, también se han descrito anticuerpos frente a otros fosfolípidos y cofactores, frente a dominios concretos de los cofactores o de isotipo IgA. Estos nuevos anticuerpos, o anticuerpos antifosfolipídicos no clásicos, tienen significaciones clínicas aún por establecer y su posible papel etiopatogénico es mucho menos conocido. No obstante, en un estudio publicado en 2017, un 37% de pacientes con SAF seronegativo eran positivos, como mínimo, para uno de los anticuerpos no clásicos, hecho que refuerza la indicación para su estudio (4).

Hay que tener en cuenta que, además de en el SAF primario, en el LES o en otras patologías reumáticas como la artritis reumatoide, los aPL pueden aparecer también en patologías inflamatorias, malignas e infecciosas (VIH, VHC, VHB, lepra, sífilis) o en relación a la toma de determinados fármacos (clorpromacina, fenotiacinas, procainamida, antibióticos) (5). En estos casos, suelen aparecer a títulos bajos, son transitorios y no se asocian a trombosis. Por el contrario, los aPL relacionados con patología autoinmunitaria se encuentran a títulos medios-altos, tienen mayor afinidad y son persistentes.

Este hecho pone en evidencia que no toda positividad en un ensayo para aPL tiene asociado el mismo riesgo de trombosis ni las mismas implicaciones clínicas y terapéuticas.

### 2. Anticuerpos antifosfolipídicos clásicos

#### 2.1. Anticoagulante lúpico

Es el primer test que puso en evidencia la presencia de los aPL. Fue descrito por primera vez en 1952 en pacientes con LES, en los cuales se obtenían resultados falsos positivos para el test

# Catlab Informa

reagínico de la sífilis, una prueba basada en la detección de anticuerpos anti-cardiolipina (aCL). El mismo año, se describió un inhibidor de la coagulación en pacientes con LES que causaba un alargamiento de la coagulación plasmática y debido a la frecuente asociación de este anticoagulante con el LES, en 1972 se introdujo el término anticoagulante lúpico (6). No obstante, más adelante se comprobó que estos anticoagulantes solo actuaban como tales in vitro y, con la identificación del SAF, se demostró que el AL se asociaba, paradójicamente, a procesos trombóticos in vivo (1).

El test del anticoagulante lúpico es un ensayo funcional que identifica, mediante pruebas coagulométricas, la presencia de anticuerpos que pueden interferir en las reacciones de coagulación mediadas por fosfolípidos.

## 2.1.1. Técnicas de laboratorio

Las pruebas para la determinación del AL son muy sensibles a las condiciones pre analíticas y analíticas (7). El plasma se deteriora con facilidad y hay que separar las plaquetas para evitar que sus fosfolípidos de membrana interfieran en las pruebas coagulométricas. Para ello, es necesario realizar una doble centrifugación del plasma antes de congelarlo para su posterior procesamiento.

Según las recomendaciones de la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia (ISTH), el British Committee for Standards in Haematology (BCSH) y el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) publicadas en 2014 (8), los procedimientos de laboratorio para la detección de un anticoagulante tipo lupus deben incluir una serie de pruebas:

- Cribado: para evidenciar la prolongación de, al menos, una prueba de coagulación dependiente de fosfolípidos
- Mezcla: para demostrar la presencia de un inhibidor mediante el estudio de mezclas
- Confirmación: para confirmar la naturaleza dependiente de fosfolípidos del inhibidor

Las pruebas de cribado más frecuentemente utilizadas son:

- El tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa)
- El test del veneno de víbora de Russell diluido (dVVRT)
- El Silica Clotting Time (SCT)

Se recomienda emplear 2 pruebas ya que ninguna de ellas de forma aislada tiene una sensibilidad del 100%, y que una de ellas sea el dVVRT. Si alguna de ellas está alargada, se debe evidenciar la presencia del inhibidor mediante el estudio de mezclas. Para ello, se repite la misma prueba pero mezclando el plasma del paciente con plasma normal. Si la adición de plasma no corrige el resultado, indica la presencia de un inhibidor. Por el contrario, una corrección del resultado puede indicar, por ejemplo, un déficit de algún factor de la coagulación o la presencia de anticoagulantes. Finalmente, para confirmar la presencia del inhibidor, se repite la prueba coagulométrica alterada añadiendo a la muestra un exceso de fosfolípidos. La adición de estos fosfolípidos debe corregir la alteración coagulométrica.

# Catlab Informa

Recientemente se ha propuesto modificar el orden clásico cribado-mezcla-confirmación para el estudio del AL, dado que las pruebas de mezclas podrían introducir un factor de dilución en el caso de aPL a títulos bajos que negativizaran el estudio dando resultados falsos negativos. Por ello, actualmente se recomienda cambiar el orden por cribado-confirmación-mezcla, incluso omitiendo el estudio de mezclas cuando no haya evidencias de otras causas que causen el alargamiento de las pruebas de coagulación. Para descartar estas otras causas de alargamiento de las pruebas de coagulación, es indispensable que los perfiles de estudio de AL incluyan pruebas coagulométricas de cribado - tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPa), tiempo de protrombina (TP) y tiempo de trombina - para identificar coagulopatías no diagnosticadas o terapias con anticoagulantes que no hayan sido reportadas y que sean las responsables de la alteración de los test.

Es importante que cada laboratorio establezca su propio algoritmo de estudio en función de las pruebas coagulométricas utilizadas ya que no existe una estrategia diagnóstica única.

## 2.1.2. Valoración de los resultados

La importancia clínica del hallazgo del AL radica en que su detección es un criterio de laboratorio incluido en los criterios de clasificación del SAF. Diversos estudios han puesto de manifiesto que los anticuerpos que causan el fenómeno del AL constituyen el principal factor de riesgo para el desarrollo de fenómenos trombóticos y morbilidad obstétrica en pacientes con SAF (3).

Con el fin de reducir la variabilidad intra e interlaboratorio se recomienda el uso de ratios para informar de los resultados de los test empleados en el estudio del AL (3). Para el test de cribado se usa el ratio entre el tiempo de coagulación de la muestra y un tiempo de coagulación de referencia obtenido mediante el cálculo del tiempo de coagulación medio de una cohorte de individuos sanos. Si este ratio es superior al punto de corte establecido, indica un test de cribado positivo.

Para el test de confirmación se usa el mismo ratio pero después se normaliza dividiendo el ratio test cribado/ratio test confirmación y en el informe final el resultado se expresa como ratio normalizado. Del mismo modo, si este es superior al punto de corte, se considera que el AL es positivo.

Se recomienda que el laboratorio, además de informar del resultado de las pruebas, haga un informe interpretativo que incluya una conclusión positiva/negativa global del test (8).

A la hora de interpretar los resultados del AL también hay que tener en cuenta que los reactantes de fase aguda, como el factor VIII, pueden interferir en las pruebas de cribado, por lo que no se recomienda la determinación del AL en la fase aguda de las trombosis (9). Asimismo, la presencia de heparina no fraccionada, heparina de bajo peso molecular o de anticoagulantes orales dificulta, o incluso hace imposible, la interpretación de los resultados (9). Los nuevos anticoagulantes (dabigatran, rivaroxaban, apixaban,...) interfieren de forma total con la prueba y hacen que el AL no sea valorable durante su toma (8).

# Catlab Informa

## 2.2. Anticuerpos anti-cardiolipina y anti-β2-glicoproteína I de isotipo IgG/IgM

Los anticuerpos anti-cardiolipina (aCL) fueron los siguientes aPL identificados tras el AL. En 1990 se describió que la unión de los aCL al antígeno requería de la presencia de un cofactor, la β2-glicoproteína I (β2GPI), y más adelante se ha podido conocer que los aCL no reconocen en realidad a la CL, sino que están dirigidos frente a un neoepítipo que aparece en la molécula de β2GPI tras sufrir un cambio conformacional al unirse a la CL.

Este descubrimiento permitió la posterior identificación de los anticuerpos anti-β2glicoproteína I (aβ2GPI) y distinguir entre dos subpoblaciones de aCL (10): los dependientes de cofactor (β2GPI), que se asocian a las manifestaciones clínicas del SAF, y los no dependientes, que no suelen asociarse a dichas manifestaciones, sino a infecciones.

### 2.2.1. Técnicas de laboratorio

Los aCL reconocen la β2GPI cuando esta está unida a la cardiolipina (CL). Por este motivo, para el estudio de los aCL, hay que usar placas de enzoinmunoanálisis (ELISA) recubiertas de CL y saturadas con β2GPI (2) para formar el complejo β2GPI/CL.

Los ensayos para detectar los anticuerpos anti-β2-glicoproteína I aislada requieren de placas de ELISA cargadas negativamente mediante irradiación (indispensable para que se produzcan los cambios conformacionales en la molécula de β2GPI) y recubiertas con la proteína β2GPI purificada y unida directamente a la placa sin necesidad de la CL. Los ensayos para detectar los aβ2GPI son más reproducibles y comparables que los de detección de aCL, pero son menos sensibles que los aCL lo que hace que los aCL sean positivos con más frecuencia.

Actualmente, se han desarrollado ensayos de quimioluminiscencia (CLIA) para la detección de aCL y aβ2GPI (11). Estos ensayos parece ser que son más específicos y presentan un coeficiente de variación (CV%) muy inferior al del ELISA (12). También se han comercializado ensayos con revelado fluoroenzimático (FEIA), los cuales tienen características similares a los ensayos de ELISA.

### 2.2.2. Valoración de los resultados

Los resultados de los aCL suelen comunicarse de forma cuantitativa en GPL (G phospholipid unit) (para los de clase IgG) y MPL (M phospholipid unit) (para los de clase IgM). La importancia clínica de estos anticuerpos va ligada a su inclusión como criterio de laboratorio para el cumplimiento de los criterios de clasificación del SAF. Para ser aceptados como criterio de laboratorio, se requiere que su título sea medio-alto (>40 GPL o MPL o por encima del percentil 99 de la población general), y que tengan resultado positivo, por lo menos, en dos ocasiones con una separación entre ellas de 12 semanas (3).

La relevancia clínica de los aβ2GPI también radica en su importancia para satisfacer el criterio de laboratorio de los criterios de clasificación del SAF. Las recomendaciones de consenso consideran un resultado positivo, solamente, cuando de supere el percentil 99 de la población general (3). La positividad de los aβ2GPI en el SAF oscila alrededor del 50% (13),

# Catlab Informa

correlacionándose bastante con los aCL. Los pacientes con SAF y a $\beta$ 2GPI presentan un riesgo aumentado de presentar trombosis (14).

No es infrecuente que un paciente sea positivo para aCL y negativo para a $\beta$ 2GPI, lo cual puede ser debido a la distinta presentación de los dominios de la  $\beta$ 2GPI en ambos tipos de ensayos. Ciertos autores utilizan también esta teoría para explicar la existencia de sueros que no reaccionan en los ELISA de aCL y sí en los de a $\beta$ 2GPI, posiblemente porque el anticuerpo se une al dominio V de la  $\beta$ 2GPI, normalmente oculto tras la unión de la  $\beta$ 2GPI a la CL (el dominio V contiene el sitio crítico de unión a los fosfolípidos aniónicos), si bien esta combinación es infrecuente (15)(16). Concentraciones bajas de aCL y/o a $\beta$ 2GPI y AL negativo tienen un significado clínico dudoso y el diagnóstico de SAF es inconcluyente.

Se considera que el riesgo de SAF aumenta con la presencia simultánea de varios aPL, siendo la triple positividad (positividad para AL, aCL y a $\beta$ 2GPI), la positividad para AL, la persistencia de aCL a niveles altos o moderados y el isotipo IgG para los aPL, los hallazgos que con más probabilidad de asocian a SAF (17)(18).

### 3. Nuevos anticuerpos antifosfolipídicos o no clásicos

Se han descrito otros anticuerpos antifosfolipídicos que, aunque no están incluidos en los criterios de clasificación actuales, también están relacionados de una manera u otra con las manifestaciones clínicas del SAF. Estos anticuerpos, también denominados anticuerpos antifosfolipídicos no clásicos son, principalmente los anti-protrombina (aPT) y anti-complejo protrombina/fosfatidilserina (aPT/PS), los anti-dominio I de la  $\beta$ 2GPI y los anticuerpos aPL de isotipo IgA.

También se han descrito otros aPL dirigidos frente a cardiolipina/vimentina, frente a las anexinas A2 y A5, las proteínas C y S de la cascada de la coagulación, frente a fosfolípidos distintos de la cardiolipina como los anti-fosfatidil-etanolamina, etc. con un significado clínico todavía poco claro.

#### 3.1. Anticuerpos anti-protrombina y anti-complejo protrombina/fosfatidilserina de isotipo IgG / IgM

Los anticuerpos anti-protrombina (aPT) fueron detectados por primera vez en 1983 e inicialmente se les dio mucha importancia por considerarlos los posibles causantes del fenómeno anticoagulante lúpico. Sin embargo, posteriormente se vio que la mayoría de los pacientes con AL positivo presentan una combinación de anticuerpos con especificidad anti- $\beta$ 2GPI y anti-protrombina.

##### 3.1.1. Técnicas de laboratorio

Los anticuerpos anti-PT y anti-PT/PS IgG/IgM se determinan mediante ELISA. Del mismo modo que ocurre con los ELISA para la detección de a $\beta$ 2GPI, en los ensayos de aPT hay que usar placas irradiadas para favorecer la adecuada unión del antígeno. En el caso de los ensayos para detectar anticuerpos anti-PT/PS, se usan placas recubiertas del fosfolípido fosfatidilserina para conseguir

# Catlab Informa

la unión del antígeno y la posterior exposición de los neoepítopes de la protrombina que serán reconocidos por los autoanticuerpos.

## 3.1.2. Valoración de los resultados

A diferencia de los ELISA para  $\beta$ 2GPI, los ensayos para detectar anti-PT han resultado ser muy poco específicos (19) y han generado multitud de publicaciones con resultados contradictorios entre su presencia y las manifestaciones clínicas del SAF. (20). Los aPS/PT parecen conferir un factor de riesgo de trombosis mayor que los aPT, y aunque los aPT y los aPT/PS pueden detectarse en el mismo paciente, cada uno de estos anticuerpos parece formar parte de una población distinta de anticuerpos (21).

Por el contrario, publicaciones recientes han demostrado la marcada asociación de la presencia de anti-PT/PS IgG con las manifestaciones clínicas del SAF y con la presencia de AL, y existe una coincidencia entre la presencia de ambos anticuerpos mayor del 95% (19)(22) (23), con la ventaja añadida de que los aPT/PS se pueden determinar durante la toma de anticoagulantes. Los anticuerpos anti-PT/PS se correlacionan estrechamente con la trombosis, tanto arterial como venosa (21) y con las complicaciones obstétricas del SAF (22).

La determinación de los aPT/PS en la práctica clínica podría ser útil para establecer el riesgo de trombosis en pacientes con trombosis previas o con LES. Actualmente está en debate la posibilidad de incluirlos en los criterios de clasificación del SAF, en particular para aquellos pacientes que son seronegativos para los aPL clásicos, puesto que un paciente con aPT/PS mantenidos tras 12 semanas o más se podría considerar como un SAF probable.

## 3.2. Anticuerpos IgG anti-dominio 1 de la $\beta$ 2-glicoproteína 1

La  $\beta$ 2GPI tiene 5 dominios homólogos (D1-D5). La mayoría de los a $\beta$ 2GPI descritos están dirigidos frente a epítopes de los D1, D4 o D5 de la molécula de  $\beta$ 2GPI (24) y se cree que estos anticuerpos pueden causar manifestaciones clínicas distintas (25). El D5 de la molécula de  $\beta$ 2GPI es el sitio de unión de esta a los fosfolípidos aniónicos de membrana y esta unión causa un cambio conformacional en la molécula de  $\beta$ 2GPI que expone epítopes ocultos en el dominio 1 (D1), los cuales permiten la generación de la respuesta autoinmune (26)(27).

### 3.2.1. Técnicas de laboratorio

Existen tanto ELISAS como técnicas de CLIA para el estudio de los anticuerpos IgG anti-dominio 1 de la  $\beta$ 2-glicoproteína I (a $\beta$ 2GPI-D1) (28).

### 3.2.2. Valoración de los resultados

Los a $\beta$ 2GPI-D1 se consideran como un subgrupo patogénico de a $\beta$ 2GPI y están más fuertemente asociados a trombosis (predominantemente venosa) y a morbilidad en el embarazo en pacientes con SAF que los a $\beta$ 2GPI frente a otros dominios.

# Catlab Informa

Un 27% de los pacientes con SAF seropositivo tienen a $\beta$ 2GPI-D1, mientras que los pacientes con SAF seronegativo no los presentan (4). Este dato no es sorprendente ya que por definición los pacientes con SAF seronegativo tienen los a $\beta$ 2GPI negativos, pero sin embargo no todos los pacientes con a $\beta$ 2GPI positivos presentan a $\beta$ 2GPI frente al D1. Esto es debido a que, si bien los ensayos de detección de a $\beta$ 2GPI-D1 son más específicos para SAF que los que detectan a $\beta$ 2GPI, son también menos sensibles, pues los ensayos de detección de a $\beta$ 2GPI también detectan los anticuerpos frente epítopes de otros dominios de la molécula de  $\beta$ 2GPI, los cuales también podrían ser patogénicos.

Aunque hay mayor prevalencia y mayores títulos de a $\beta$ 2GPI-D1 en los pacientes con triple positividad a $\beta$ 2GPI/CL, a $\beta$ 2GPI y AL que en aquellos con positividad doble o única (29), un estudio de 2016 no encontró que añadir la determinación de los a $\beta$ 2GPI-D1 al panel rutinario de aPL aportara mayor precisión diagnóstica (30) dado que los a $\beta$ 2GPI son casi tan específicos como los a $\beta$ 2GPI-D1, pero son más sensibles y la concordancia entre los a $\beta$ 2GPI-D1 y los a $\beta$ 2GPI es alta.

No obstante, y aunque hacen falta un mayor número de estudios de validación para su posible uso en la práctica clínica diaria, debido a la mayor especificidad de los a $\beta$ 2GPI-D1 y a su relación con los fenómenos trombóticos (31), algunos autores apuntan su utilidad como marcadores de riesgo trombótico (32) (33) (28).

### 3.3. Anticuerpos antifosfolipídicos de isotipo IgA

Los aPL de isotipo IgA no forman parte de los test diagnósticos rutinarios para el diagnóstico del SAF y su utilidad como biomarcador está aún en debate. Varios estudios no han encontrado una mayor potencia diagnóstica al añadir la determinación de los aCL IgA y a $\beta$ 2GPI IgA al panel clásico de aPL IgG e IgM (34), seguramente debido a que los aPL IgA suelen coexistir con los autoanticuerpos de isotipo IgG e IgM y a la baja prevalencia de este isotipo. No obstante, algunos estudios han demostrado que el isotipo IgA tiene una mayor especificidad en la detección del SAF y que correlaciona mejor con los fenómenos trombóticos que el isotipo IgM (aunque menor que el IgG), por lo que algunos autores han propuesto la sustitución del estudio del isotipo IgM por el isotipo IgA (35).

#### 3.3.1. Técnicas de laboratorio

Los aPL de isotipo IgA se estudian por las mismas técnicas que los de isotipo IgG o IgM.

#### 3.3.2. Valoración de los resultados

Los anticuerpos antifosfolipídicos de isotipo IgA aCL y a $\beta$ 2GPI están presentes en algunos pacientes con criterios clínicos de SAF que por las técnicas habituales habían sido considerados seronegativos. Un estudio de 2013 (36) sugiere que el estudio de la presencia de a $\beta$ 2GPI IgA puede ser útil en estos casos y propone su determinación cuando los isotipos IgG e IgM hayan sido negativos. No obstante, de las 5892 muestras de pacientes analizadas en este estudio, en solo 57 (<1%) se detectó la presencia aislada de a $\beta$ 2GPI IgA, lo que limita la utilidad de estas recomendaciones a un grupo muy concreto de pacientes.

# Catlab Informa

## 4. Cuando solicitar un estudio de aPL

En general, se recomienda que se haga detección de aPL en pacientes menores de 50 años, con trombo embolismo arterial o venoso de causa desconocida, en trombosis de localización inusual o en complicaciones trombóticas del embarazo asociadas a trastorno autoinmune. También se recomienda determinar el AL en los casos de prolongación inexplicada del TTPa.

Los títulos de aPL no suelen variar a lo largo de la evolución clínica. Por lo tanto, una vez identificado en anticuerpo y confirmado a las 12 semanas no es necesario determinarlo con una frecuencia mayor que una vez al año. En todo caso, la persistencia de los aPL, como se ha comentado anteriormente, se ha asociado a mayor riesgo de SAF (17). Tampoco presentan utilidad en la valoración del efecto de la terapia anticoagulante, aunque esta puede interferir en la detección del AL.

**Mireia Fonolleda**

Immunología

CATLAB

Tel. 93.748.56.00 - ext. 35035 / 628 16 85 00

[mfonolleda@catlab.cat](mailto:mfonolleda@catlab.cat)

[www.catlab.cat](http://www.catlab.cat)

---



# Catlab Informa

## Bibliografía

1. Khamashta MA HG. Antiphospholipid antibodies and Antiphospholipid Syndrome. *Curr Opin Rheumatol*. 1995;7(5):389–94.
2. Matsuura E, Igarashi Y, Yasuda T, Triplett DA, Koike T. Anticardiolipin antibodies recognize  $\beta$ 2-glycoprotein I structure altered by interacting with an oxygen modified solid phase surface. *J Exp Med*. 1994;179(2):457–62.
3. S. Miyakis, M.D. Lockshin, T. Atsumi, D.W. Branch, R.L. Brey, R. Cervera, R.H.W.M. Derksen, P.G. De Groot, T. Koike, P.L. Meroni GR, Y. Shonefeld, A. Tincani, P. G. Vlachoyiannopoulos S. AK. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost*. 2006;4(2):295–306.
4. Zohoury N, Bertolaccini ML, Rodriguez-Garcia JL, Shums Z, Ateka-Barrutia O, Sorice M, et al. Closing the serological gap in the antiphospholipid syndrome: The value of “non-criteria” antiphospholipid antibodies. *J Rheumatol*. 2017;44(11):1597–602.
5. Gharavi AE, Sammaritano LR, Wen J, Miyawaki N, Morse JH, Zarrabi MH, et al. Characteristics of human immunodeficiency virus and chlorpromazine induced antiphospholipid antibodies: Effect of  $\beta$ 2 glycoprotein I on binding to phospholipid. *J Rheumatol*. 1994;21(1):94–9.
6. Feinstein DI, Rapaport SI. Acquired inhibitors of blood coagulation. *Prog Hemost Thromb*. 1972;1:75–95.
7. Brandt JT, Triplett DA, Alving B, Scharrer I. Criteria for the diagnosis of lupus anticoagulants: an update. On behalf of the Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibody of the Scientific and Standardisation Committee of the ISTH. *Thromb Haemost*. 1995 Oct;74(4):1185–90.
8. Moore GW. Recent guidelines and recommendations for laboratory detection of lupus anticoagulants. *Semin Thromb Hemost*. 2014;40(2):163–71.
9. Tripodi A. Testing for lupus anticoagulants: all that a clinician should know. *Lupus*. 2009;18(4):291–8.
10. Forastiero RR, Martinuzzo ME, Kordich LC, Carreras LO. Reactivity to  $\beta$ 2 glycoprotein I clearly differentiates anticardiolipin antibodies from antiphospholipid syndrome and syphilis. *Thromb Haemost*. 1996 May;75(5):717–20.
11. De Moerloose P, Reber G, Musial J, Arnout J. Analytical and clinical performance of a new, automated assay panel for the diagnosis of antiphospholipid syndrome. *J Thromb Haemost*. 2010;8(7):1540–6.
12. Bettacchioli E, Nafai S, Renaudineau Y. News and meta-analysis regarding anti- $\beta$ 2 glycoprotein I antibodies and their determination. *Clin Immunol*. 2019;205(June):106–15.
13. Teixeira M, Reverter JC, Ssies DTA. Anti- $\beta$ 2-glycoprotein I antibodies: A useful marker for the antiphospholipid Syndrome. *Br J Rheumatol*. 1997;36:113–6.

# Catlab Informa

14. Teixeira M, Reverter JC, Ssies DTA. Anti- $\beta$ 2 glycoprotein antibodies: a useful marker for the antiphospholipid syndrome. *Br J Rheumatol*. 1997;36(1):113–6.
15. Hunt J, Krilis S. The fifth domain of  $\beta$ 2-glycoprotein I contains a phospholipid binding site (Cys281-Cys288) and a region recognized by anticardiolipin antibodies. *J Immunol* [Internet]. 1994 Jan 15;152(2):653 LP – 659. Available from: <http://www.jimmunol.org/content/152/2/653.abstract>
16. Hunt JE, Simpson RJ, Krilis SA. Identification of a region of  $\beta$ 2-glycoprotein I critical for lipid binding and anti-cardiolipin antibody cofactor activity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993;90(6):2141–5.
17. Cuadrado MJ, Brey R, Crowther M, Derksen R, Erkan D, Krilis S. Evidence-based recommendations for the prevention and long-term management of thrombosis in antiphospholipid antibody-positive patients: Report of a Task Force at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. *Lupus*. 2011;20(2):206–18.
18. Pengo V. A contribution to the debate on the laboratory criteria that define the antiphospholipid syndrome. *J Thromb Haemost*. 2008;6:1048–9.
19. Atsumi T, Ieko M, Bertolaccini ML, Ichikawa K, Tsutsumi A, Matsuura E, et al. Association of autoantibodies against the phosphatidylserine-prothrombin complex with manifestations of the antiphospholipid syndrome and with the presence of lupus anticoagulant. *Arthritis Rheum*. 2000;43(9):1982–93.
20. Bertolaccini ML, Sciascia S, Murru V, Garcia-fernandez C, Sanna G, Khamashta MA. Prevalence of antibodies to prothrombin in solid phase (aPT) and to phosphatidylserine-prothrombin complex (aPS/PT) in patients with and without lupus anticoagulant. *Thromb Haemosst*. 2013;109:207–13.
21. Sciascia S, Sanna G, Murru V, Roccatello D, Khamashta MA, Bertolaccini ML. Anti-prothrombin (aPT) and anti-phosphatidylserine/prothrombin (aPS/PT) antibodies and the risk of thrombosis in the antiphospholipid syndrome a systematic review. *Thromb Haemost*. 2013;111(2):354–64.
22. Vlasea A, Gil A, Cuesta M V, Arribas F. Antiphosphatidylserine/Prothrombin Antibodies (aPS/PT) as potential markers of Antiphospholipid Syndrome. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2013;19(3):289–96.
23. Meroni PL, Chighizola CB, Rovelli F, Gerosa M. Antiphospholipid syndrome in 2014: more clinical manifestations , novel pathogenic players and emerging biomarkers. *Arthritis Res Ther* [Internet]. 2014;16(209):1–14. Available from: *Arthritis Research & Therapy*
24. De Laat B, Van Berkel M, Urbanus RT, Siregar B, De Groot PG, Gebbink MF, et al. Immune responses against domain 1 of  $\beta$ 2-glycoprotein I are driven by conformational changes: Domain 1 of  $\beta$ 2-glycoprotein 1 harbors a cryptic immunogenic epitope. *Arthritis Rheum*. 2011;63(12):3960–8.
25. Chighizola CB, Gerosa M, Meroni PL. New tests to detect antiphospholipid antibodies: Anti-domain 1  $\beta$ 2 glycoprotein I antibodies. *Curr Rheumatol Rep*. 2014;16(2):1–9.
26. Meroni PL. Anti- $\beta$ 2 glycoprotein I epitope specificity: from experimental models to diagnostic tools. *Lupus*. 2016;25(8):905–10.
27. Isenberg DA, Rahman A. Binding of antiphospholipid antibodies to discontinuous epitopes on domain 1 of Human  $\beta$ 2-Glycoprotein I. *Arthritis Rheum*. 2007;56(1):280–90.
28. Yin D, Chayoua W, Kelchtermans H, de Groot PG, Moore GW, Gris J-C, et al. Detection of anti-domain I antibodies by chemiluminescence enables the identification of high-risk antiphospholipid syndrome patients: a multicenter multiplatform study. *J Thromb*

# Catlab Informa

Haemost. 2020 Feb;18(2):463-478.

29. Andreoli L, Chighizola CB, Nalli C, Gerosa M, Borghi MO, Pregnolato F, et al. Clinical characterization of antiphospholipid syndrome by detection of IgG antibodies against  $\beta$ 2-glycoprotein I domain 1 and domain 4/5: Ratio of anti-domain 1 to anti-domain 4/5 as a useful new biomarker for antiphospholipid syndrome. *Arthritis Rheumatol*. 2015;67(8):2196–204.
30. De Craemer AS, Musial J, Devreese KMJ. Role of anti-domain 1  $\beta$ 2-glycoprotein I antibodies in the diagnosis and risk stratification of antiphospholipid syndrome. *J Thromb Haemost*. 2016;14(9):1779–87.
31. Radin M, Cecchi I, Roccatello D, Meroni PL, Sciascia S. Prevalence and thrombotic risk assessment of anti- $\beta$ 2 glycoprotein I domain 1 antibodies: A systematic review. Vol. 44, *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*. 2018. p. 466–74.
32. De Laat B, Pengo V, Pabinger I, Musial J, Voskuyl AE, Bultink IEM, et al. The association between circulating antibodies against domain 1 of  $\beta$ 2-glycoprotein I and thrombosis: An international multicenter study. *J Thromb Haemost*. 2009;7(11):1767–73.
33. Liu T, Gu J, Wan L, Hu Q, Teng J, Liu H, et al. Anti- $\beta$ 2GPI domain 1 antibodies stratify high risk of thrombosis and late pregnancy morbidity in a large cohort of Chinese patients with antiphospholipid syndrome. *Thromb Res*. 2019 Nov;185:142–9.
34. Meijide H, Sciascia S, Sanna G, Khamashta MA, Bertolaccini ML. The clinical relevance of IgA anticardiolipin and IgA anti- $\beta$ 2 glycoprotein I antiphospholipid antibodies. A systematic review. *Autoimmun Rev*. 2013;12(3):421–5.
35. Pericleous C, Ferreira I, Borghi O, Pregnolato F, McDonnell T, Garza-Garcia A, et al. Measuring IgA anti- $\beta$ 2 glycoprotein I and IgG/IgA anti-domain 1 antibodies adds value to current serological assays for the antiphospholipid syndrome. *PLoS One*. 2016;11(6):1–15.
36. Murthy V, Willis R, Romay-Penabad Z, Ruiz-Limón P, Martínez-Martínez LA, Jatwani S, et al. Value of isolated IgA anti- $\beta$ 2-glycoprotein I positivity in the diagnosis of the antiphospholipid syndrome. *Arthritis Rheum*. 2013;65(12):3186–93.
37. Staub HL, Bertolaccini ML, Khamashta MA. Anti-phosphatidylethanolamine antibody, thromboembolic events and the antiphospholipid syndrome. *Autoimmun Rev* [Internet]. 2012;12(2):230–4. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.autrev.2012.07.008>
38. Sanmarco M. Clinical significance of antiphosphatidylethanolamine antibodies in the so-called “seronegative antiphospholipid syndrome.” *Autoimmun Rev* [Internet]. 2009;9(2):90–2. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.autrev.2009.03.007>
39. Sanmarco M, Bardin N. The contribution of antiphosphatidylethanolamine antibodies in the diagnosis of the antiphospholipid syndrome. *Lupus*. 2012;21(7):727–8.