

artículo original

Niveles de anticuerpos anti-anexina A5 y manifestaciones de síndrome antifosfolípido primario obstétrico

Alba Soledad Arietti¹, Valeria Cristina Pedano¹, Viviana Neme¹, Agustina Racca¹, Vanessa Sotelo¹, María Soledad Rozzatti¹, Carla Gobbi², Mercedes Vigliano³, Paula Alba², Marcela Demarchi¹

¹Sección Inmunología, Servicio de Bioquímica Hospital Córdoba. ²Unidad de Reumatología, Cátedra de Semiología, Hospital Córdoba, FCM, UNC. ³Cátedra de Clínica Médica I, Hospital Córdoba, FCM, UNC.

RESUMEN

Palabras clave:

anexina A5, anticuerpos anti-anexina A5, síndrome antifosfolípidos obstétrico.

El Síndrome Antifosfolípidos (SAF) describe un trastorno trombofílico autoinmune caracterizado por complicaciones obstétricas. La Anexina A5 (Anx A5) es una proteína que se estudia como un nuevo autoantígeno presente en el SAF, la presencia de autoanticuerpos frente a Anx A5 podría causar trombosis placentaria y pérdida del embarazo.

El objetivo de este estudio fue analizar los niveles de IgG e IgM anti-Anx A5 en mujeres con SAF primario obstétrico y su asociación con diferentes complicaciones en una población de la ciudad de Córdoba.

Se trabajó con muestras de pacientes puerperas que asistieron al Hospital Córdoba y al Hospital Materno Neonatal durante los años 2013-2017 con diagnóstico de SAF obstétrico y un grupo control formado por pacientes con embarazos normales.

En la mayoría de las pacientes estudiadas, los niveles de IgG e IgM anti-Anx A5 se encontraron por debajo del rango de referencia, se mostró un aumento estadísticamente significativo de los niveles de IgG en pacientes con SAF respecto al grupo control. Pero no existieron asociaciones específicas entre los niveles de anticuerpo y los tres tipos de manifestaciones clínicas presentes en los criterios de clasificación.

Estos hallazgos podrían sugerir una relación entre los anticuerpos anti-Anx A5 con el SAF obstétrico.

ABSTRACT

Key words:

annexin A5, Anx A5 antibodies, obstetric antiphospholipid syndrome.

Antiphospholipid Syndrome (APS) describes an autoimmune thrombophilic disorder characterized by obstetric complications. Annexin A5 (Anx A5) is a protein that is studied as a new autoantigen present in APS, the presence of autoantibodies against Anx A5 could cause placental thrombosis and possibly pregnancy loss.

The aim of this study was to analyze levels of IgG and IgM anti-Anx A5 in women with primary obstetric APS and its association with different complications in a population of the city of Córdoba.

We worked with samples of puerperal patients who attended the Córdoba Hospital and the Maternal Neonatal Hospital during the years 2013-2017 with a diagnosis of obstetric APS and a control group formed by patients with normal pregnancies.

In most of the patients studied, levels of IgG and IgM anti-Anx A5 were below the reference range, is demonstrate an increase statistically significant in the levels of the IgG in patients with APS compared with control group. But there were no specific associations between antibody levels and the three types of obstetric clinical manifestations present in the classification criteria.

These findings could suggest a relationship between anti-Anx A5 antibodies and obstetric APS.

Introducción

El Síndrome Antifosfolípido (SAF) se define como una enfermedad autoinmune y/o una condición protrombótica caracterizada por la presencia de anticuerpos antifosfolípidos (AcPL) circulantes, así como trombosis (trombosis arterial, venosa o microvascular), complicaciones obstétricas y, ocasionalmente, trombocitopenia^{1,2}. Puede ser aislado (primario) o asociado con otras enfermedades autoinmunes sistémicas (secundario), principalmente lupus eritematoso sistémico (LES) (en alrededor del 30% de los pacientes)¹.

La importancia del reconocimiento del SAF obstétrico radica en que se trata de una de las pocas causas tratables de complicaciones obstétricas. Además, su manejo adecuado puede evitar las complicaciones tromboembólicas maternas asociadas a los AcPL durante el embarazo y puerperio. No obstante, debido a que la prevalencia de AcPL en la población sana es de hasta un 5%, no se recomienda su determinación de rutina en pacientes embarazadas previamente sanas³.

El diagnóstico del SAF ha sido testigo de una evolución notable en el transcurso de los últimos 25 años y se ha demostrado que los anticuerpos contra los fosfolípidos son los principales agentes responsables de la enfermedad⁴. Inicialmente se pensó que los AcPL reaccionaban directamente con los fosfolípidos de carga negativa; sin embargo, se ha demostrado que también están dirigidos contra epitopes de determinadas proteínas denominadas cofactores³.

En 1999, en un consenso internacional se desarrollaron los criterios de clasificación de SAF, que se conocieron como los criterios de Sapporo. Estos fueron actualizados posteriormente en 2006 en una reunión en Sydney y ahora se conocen como criterios de Sydney⁴.

Según los criterios de clasificación de Sydney 2006, el SAF está presente si al menos uno de los criterios clínicos y uno de los criterios de laboratorio se cumplen (Cuadro 1)⁵.

Las manifestaciones obstétricas del SAF incluyen abortos recurrentes, pérdidas fetales, retraso en el crecimiento intrauterino, prematuridad, desprendimiento placentario y preeclampsia. El consenso Internacional de Sapporo y Sydney han definido los criterios de clasificación obstétricos (Cuadro 1). Con respecto al SAF obstétrico, algunos estudios han demostrado que los niveles de AcPL en el primer trimestre de embarazo presentaron modestas disminuciones en los posteriores controles, y en las pacientes con resultados negativos los títulos nunca aumentaron. Esta disminución podría deberse a la hemodilución dada por el aumento del volumen intravascular fisiológico del embarazo o a una posible unión del anticuerpo a la placenta, como se demostró en algunos modelos animales y en pacientes⁶.

Actualmente se están estudiando nuevas especificidades de AcPL para la identificación de SAF en pacientes con características clínicas sugestivas, lo cual será especialmente útil para aquellos pacientes con resultados negativos recurrentes en las pruebas de laboratorio incluidas en los criterios actuales⁷.

Una de estas especificidades en estudio es la Anexina A5 (Anx A5), una proteína de unión a fosfolípidos, calcio-dependiente con potentes propiedades anticoagulantes.

Cuadro 1. Criterios revisados de clasificación de SAF Sydney (2004)

Criterios Clínicos

1. Trombosis Vascular

Uno o más episodios clínicos de trombosis arterial, venosa o de pequeños vasos en algún órgano o tejido. La trombosis debe ser confirmada por criterios objetivos validados (estudios de imágenes o de histopatología). Para la confirmación histopatológica, la trombosis debería estar presente sin evidencia significativa de inflamación en la pared del vaso.

2. Historia Obstétrica Adversa

- a) Una o más muertes no explicadas de fetos normales, después de las 10 semanas de gestación, con morfología fetal normal documentada por ecografía o examen directo del feto, o
- b) Uno o más nacimientos prematuros de neonatos morfológicamente normales antes o en la semana 34 de gestación por preeclampsia o eclampsia severa o insuficiencia placentaria, o
- c) Tres o más abortos espontáneos consecutivos no explicados antes de la semana 10 de gestación, en los que se hayan excluido anomalías anatómicas y hormonales maternas y causas cromosómicas maternas y paternas.

Criterios de Laboratorio

1. Presencia de Anticoagulante Lúpico en plasma en 2 o más ocasiones separadas por 12 semanas, detectado de acuerdo a las guías de la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia.
2. Anticuerpos Anticardiolipina Isotipo IgG o IgM en suero o plasma, a títulos medios o altos (es decir, >40 GPL o MPL, o > percentilo 99), en dos o más determinaciones separadas por 12 semanas, medidas por un ELISA estandarizado.
3. Anticuerpos Anti-β2 glicoproteína I Isotipos IgG o IgM en suero o plasma, (> percentilo 99), en dos o más determinaciones separadas por 12 semanas, medidas por un ELISA estandarizado acorde a los procedimientos recomendados.

El papel trombo-regulador de la Anx A5 proviene de su capacidad para formar un escudo cristalino bidimensional antitrombótico sobre las membranas plasmáticas, evitando así que los factores de coagulación se unan a las superficies fosfolípídicas^{8,9}.

Está altamente expresada en las membranas apicales de los sincitiotroblastos vellosos placentarios, en la interfase entre el feto y la placenta. Los datos disponibles apoyan el concepto de que la proteína desempeña su papel trombomodulador dentro de la circulación sanguínea placentaria, protegiendo los fosfolípidos de la membrana apical que se exponen cuando existe algún tipo de daño en el tejido. Este mecanismo eficiente de reparación de la membrana debe operar en la placenta para prevenir el inicio de la coagulación de la sangre, lo que podría amenazar la vida del feto^{8,10}.

Existe evidencia significativa de que los AcPL pueden interferir con la unión de Anx A5 a fosfolípidos y, de este modo, pueden promover pérdidas de embarazo y trombosis¹⁰.

Se ha documentado que debido al hecho de que Anx A5 se encuentra en el lado apical del sincitiotroblasto placentario, y se expone en grandes cantidades a las células inmunes circulantes, esto podría provocar la generación de anticuerpos dirigidos contra ella, es decir anticuerpos anti-anexina A5 (Ac anti-Anx A5)¹¹.

Estos anticuerpos fueron descubiertos por primera vez

en 1994 por Matsuda y col. en mujeres con pérdidas fetales recurrentes o PE y en pacientes con LES y AL positivo y/o anticuerpos aCL. Desde entonces los anticuerpos anti-Anx A5 han sido foco de investigación^{12,13}.

Sin embargo, la correlación entre los Ac anti-Anx A5 (isotipos IgG y/o IgM) y los eventos trombóticos o la morbilidad del embarazo sigue siendo controvertida, lo que indica una clara necesidad de caracterizar la relevancia clínica de estos anticuerpos⁹.

Objetivo: Analizar los niveles de anticuerpos anti-Anx A5 en mujeres con SAF primario obstétrico y su asociación con diferentes complicaciones en una población de la Ciudad de Córdoba.

Materiales y métodos

Se realizó un estudio comparativo, descriptivo, de corte transversal, de pacientes con SAF Primario asistidos en el Hospital Córdoba y Materno Neonatal de la ciudad de Córdoba durante los años 2013-2017.

Muestras y sujetos en estudio

Se trabajó con muestras de suero conservadas a -20°C, de pacientes que fueron evaluadas previamente por el Servicio de Reumatología del Hospital Córdoba.

- **Grupo SAF:** 49 pacientes puérperas entre 18 y 40 años con diagnóstico de SAF obstétrico acorde a los criterios Sydney⁵.
- **Grupo Control:** 51 pacientes puérperas sanas, de entre 18 y 40 años, con embarazos normales sin antecedentes de abortos, muerte fetal, preeclampsia, retraso del crecimiento intrauterino, ni enfermedad autoinmune.

Todas las pacientes firmaron un consentimiento informado, aprobado por el Comité Institucional de Ética de la Investigación en Salud del Adulto (CIEIS).

Las pacientes del grupo SAF se clasificaron en tres subgrupos de acuerdo a las manifestaciones clínicas asociadas a la morbilidad en el embarazo acorde a los criterios Sydney 2006⁵, para evaluar el comportamiento de los Ac anti-Anx A5 en cada uno de ellos.

- **Grupo 1 (más de 3 abortos):** Pacientes con más de tres abortos.
- **Grupo 2 (muerte fetal):** Pacientes con al menos una muerte fetal.
- **Grupo 3 (otras complicaciones):** Pacientes con al menos un parto prematuro por preeclampsia/eclampsia o insuficiencia placentaria.

Los estudios de laboratorio fueron realizados en el Servicio de Bioquímica, Sección Inmunología del Hospital Córdoba.

Se determinaron niveles de Ac anti-Anx A5 (IgG e IgM) por ELISA comercial (Anti-Annexin V IgG/IgM – BioSystems). Los resultados fueron expresados en U/ml. Los valores de referencia asignados por el fabricante son: negativo (<5), indeterminado (5-10), positivo (>10); para Ac anti-Anx A5

IgG/IgM.

Para el análisis de los datos, se realizó estadística descriptiva utilizando medidas de dispersión (media y desvío estándar) para datos cuantitativos y los cualitativos se describieron con frecuencias absolutas y relativas (porcentajes). Para los primeros, se realizaron pruebas de normalidad (Test de Shapiro Wilk y Test de Kolmogorov-Smirnov) para analizar la naturaleza de las variables. Se rechazó que tuvieran distribución gaussiana, por lo que se realizaron tests no paramétricos para el análisis de los datos. Para ver las diferencias entre grupos, se aplicó el test de Wilcoxon. Los datos categóricos se analizaron a través de tests de Chi cuadrado.

Además, se evaluó la exactitud diagnóstica por medio de curvas ROC. Se utilizó software INFostat versión profesional y el software Medcalc versión demo. P-valor <0,05 fueron considerados significativos.

Resultados

Se analizaron los datos de 100 pacientes, de los cuales 51 fueron pacientes control, y 49 fueron pacientes con distintas manifestaciones de SAF obstétrico. En la Tabla 1 se observan las edades de las pacientes, y los valores de Ac anti-Anx A5 IgG e IgM para ambos grupos de pacientes.

Tomando como valores de referencia el intervalo asignado por el ELISA comercial que se utilizó, los resultados se muestran en la Tabla 2, donde se observa la cantidad de pacientes con resultados positivos, indeterminados o negativos en el grupo control y en las pacientes con SAF. Se puede ver que de acuerdo a los valores de referencia, el 98% de las mujeres del grupo control obtuvieron resultados negativos; mientras que del grupo de mujeres con SAF un 84% obtuvo resultados negativos, un 12% fue indeterminado y un 4% fue positivo.

Se compararon los valores obtenidos para las dos

Tabla 1. Características poblacionales de las pacientes incluidas en el estudio, de acuerdo al grupo al que pertenecía.

Variable	Pacientes control	Pacientes con SAF
Nº de pacientes	51	49
Edad	26 +/- 7	34 +/- 6
Anx IgG*	1,9 (0,6 - 16,7)	2,8 (0,7 - 13,5)
Anx IgM*	1,8 (0,3 - 15,2)	2,1 (0,3 - 11,3)

*Mediana (min - max)

Tabla 2. Número de pacientes con valores positivos, indeterminados o negativos de Ac anti-Anx A5 IgG e IgM; según los valores de referencia que brinda el ELISA comercial utilizado; para el grupo control y el grupo con SAF.

	Pacientes control		Pacientes con SAF	
	aAnx-G	aAnx-M	aAnx-G	aAnx-M
Positivos (> 10 U/ml)	1	1	2	1
Indeterminados (5-10 U/ml)	0	1	6	0
Negativos (< 5 U/ml)	50	49	41	48
Total	51		49	

Figura 1. Valores promedio de Ac anti-Anx A5 IgG (Fig. A) y anti-Anx A5 IgM (Fig. B) para ambos grupos de pacientes. Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p >0,05).

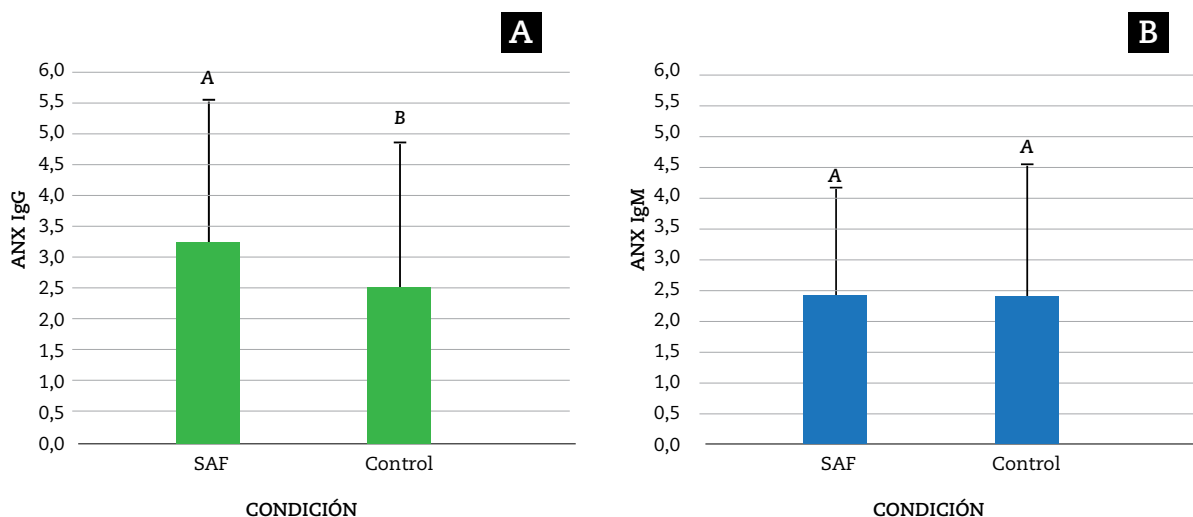


Tabla 3. Exactitud diagnóstica de Ac anti-Anx A5 para IgG e IgM.

	Area bajo la curva	Cut-off	IC	Sensibilidad	Especificidad	LR+	LR-
aAnx-G	0,603	≤2 U/ml	0,501 - 0,699	65,31	53,85	1,41	0,64
aAnx-M	0,531	≤1,7 U/ml	0,429 - 0,631	67,35	44,23	1,21	0,74

inmunoglobulinas, para analizar si existían diferencias significativas en los grupos; independientemente de la clasificación del ELISA comercial. En el caso de la Ac anti-Anx A5 IgG (Figura 1 A), el valor promedio obtenido para el grupo control fue de 2,54±2,30; mientras que para el grupo con SAF fue de 3,24±2,33. Estas diferencias fueron estadísticamente significativas (p=0,0473). En el caso de la IgM, las diferencias no fueron estadísticamente significativas (p=0,5645) (Figura 1 B), los valores promedio fueron de 2,38±2,12 para el grupo control y de 2,42±1,72 para el grupo con SAF. En ambos grupos, y para ambos isotipos, se puede observar que los valores promedio son menores a los valores de referencia suministrados por el ELISA comercial.

Debido a que la mayoría de los pacientes arrojaron resultados por debajo del punto de corte asignado por el fabricante, se intentó evaluar la utilidad diagnóstica del Ac anti-Anx A5 (IgG/IgM) para discriminar pacientes con SAF obstétrico, y se realizaron curvas ROC para poder evaluar la sensibilidad y la especificidad frente al grupo control. Para el isotipo IgG se obtuvieron valores de sensibilidad de 65,31 y de especificidad de 53,85; mientras que para el isotipo IgM, los valores de sensibilidad y especificidad fueron de 67,35 y 44,23, respectivamente (Tabla 3). El área bajo la curva de ambos isotipos fue de 0,603 para IgG y de 0,531 para IgM. Si bien la sensibilidad de la técnica es más elevada para IgM, el área bajo la curva es menor que la que se obtuvo para IgG.

En la Figura 2 se puede observar que al comparar las áreas bajo la curva correspondientes a IgG e IgM del test anti-Anx A5, no existió una diferencia estadísticamente significativa entre ambas (0,606 vs 0,531; valor p: 0,271). Se puede observar que si bien la exactitud diagnóstica del test no es muy buena para ninguna de los dos isotipos, los valores de

Figura 2. Comparación de curvas ROC para los isotipos IgG e IgM de anti-Anx A5 en pacientes del grupo control y del grupo son SAF.

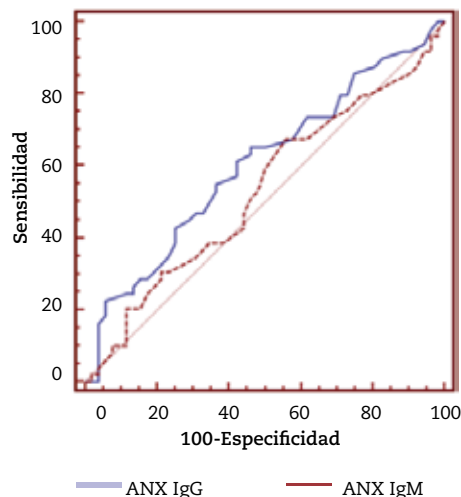


Tabla 4. N° de pacientes (y porcentaje) con casos positivos para: más de 3 abortos, muerte fetal y otras complicaciones; de acuerdo a los valores de Ac anti-Anx A5 para IgG.

	<5 U/ml	5-20 U/ml	>10 U/ml	valor p
>3 abortos	28 (82%)	4 (12%)	2 (6%)	0,6293
muerte fetal	29 (80%)	3 (12%)	2 (8%)	0,367
otras	17 (80%)	2 (10%)	2 (10%)	0,2321

Tabla 5. N° de pacientes (y porcentaje) con casos positivos para: más de 3 abortos, muerte fetal, y otras complicaciones; de acuerdo a los valores de Ac anti-Anx A5 para IgM.

	<5 U/ml	>10 U/ml	valor p
>3 abortos	33 (97%)	1 (3%)	>0,9999
muerte fetal	25 (100%)	0 (0%)	0,4898
otras	21 (100%)	0 (0%)	>0,9999

IgG son mejores que los que se obtuvieron para IgM.

A partir de este análisis, no fue posible utilizar los valores de cut-off asignados por las curvas ROC para discriminar pacientes con SAF obstétrico de pacientes sanas, ya que la sensibilidad y la especificidad del test no fueron buenas.

Debido a esto, se realizaron pruebas de potencia con las proporciones de casos positivos en controles y pacientes con SAF obstétrico, para los resultados obtenidos con los valores de referencia del ELISA comercial, y para los puntos de corte identificados a través de las curvas ROC. En el primer caso, el número mínimo de pacientes necesario en cada grupo para detectar diferencias entre los grupos fue de 94 pacientes para la IgG y de 256 pacientes para la IgM. Para el segundo caso, el número de pacientes mínimo que se obtuvo con el test de potencia fue de 62 para IgG y de 1139 para IgM.

Por último, las pacientes del grupo SAF se clasificaron en tres subgrupos de acuerdo a las manifestaciones clínicas de SAF obstétrico que presentaron, para evaluar el comportamiento de los Ac anti-Anx A5 en cada uno de ellos.

En las pacientes estudiadas, se observaron que de las 49 pacientes con SAF hubo 34 (69%) casos dentro del Grupo 1 (más de 3 abortos), 25 (51%) casos dentro del Grupo 2 (muerte fetal) y 21 (43%) casos dentro del Grupo 3 (otras complicaciones).

Cuando se analizaron los valores de Ac anti-Anx A5 para IgG en cada grupo (Tabla 4), se observó que la mayoría de las pacientes que presentaron alguna de las tres manifestaciones presentaron valores <5 U/ml. El 82% de las mujeres que tuvieron más de 3 abortos, el 80% de las que tuvieron muerte fetal y el 80% de las que tuvieron otras complicaciones, obtuvieron valores <5 U/ml para Ac anti-Anx A5 para IgG.

Lo mismo ocurrió cuando se analizaron las manifestaciones clínicas según los valores de Ac anti-Anx A5 para IgM (Tabla 5). En este caso, también se observó que la mayoría de las pacientes que presentaron alguna de las tres manifestaciones presentaron valores <5 U/ml. En este caso, para valores de Ac anti-Anx para IgM >10 U/ml, solo se observó un caso de más de 3 abortos. En todas las manifestaciones, los resultados fueron no significativos estadísticamente (valor p >0,05).

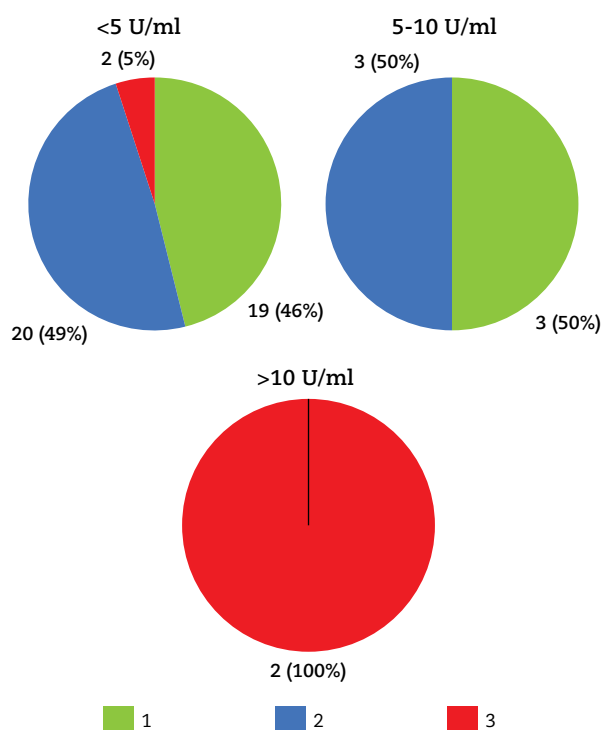
Luego, se analizó si existía alguna diferencia entre los niveles de Ac anti-Anx A5 y la cantidad de manifestaciones clínicas presentadas, independientemente del tipo de manifestación que presentaron las pacientes. Se observó que de las 49 pacientes con SAF, 22 tuvieron una sola manifestación (45%), 23 tuvieron 2 manifestaciones (47%) y solo 4 tuvieron las tres manifestaciones (8%).

Como se mencionó anteriormente, en el caso de los resultados de Ac anti-Anx A5 para IgM, una sola paciente obtuvo resultados >10 U/ml y presentó una sola

manifestación (más de 3 abortos) (valor p: 0,5345).

En el caso de los resultados de Ac anti-Anx A5 para IgG, en la Figura 3 se puede observar que el total de las pacientes que tuvieron valores >10 U/ml tuvieron las 3 manifestaciones posibles. En las que tuvieron valores <5 U/ml, un 46% tuvo una sola manifestación y un 49% tuvo 2 manifestaciones. En este caso, los resultados fueron estadísticamente significativos (valor p <0,0001).

Figura 3. Porcentaje (y n° de pacientes) con 1 manifestación, 2 manifestaciones o 3 manifestaciones, de acuerdo a los valores obtenidos para Ac anti-Anx A5 para IgG.



Discusión

Aunque en el SAF obstétrico la relación entre pérdida gestacional y la presencia de AcPL es formalmente conocida, la presencia de otros anticuerpos como los anti-Anx A5 se han encontrado positivos en algunas pacientes con abortos recurrentes¹².

En el presente trabajo se estudiaron los niveles séricos de Ac anti-Anx A5 (IgG/IgM) en mujeres con diferentes formas clínicas de SAF obstétrico y en un grupo control de mujeres con embarazos sin complicaciones. Se pudo observar que los valores hallados de Ac anti-Anx A5 en ambos grupos de pacientes se encontraron por debajo del intervalo de referencia dado por el fabricante.

Para el isotipo IgM, no se encontró una diferencia significativa entre los resultados de ambos grupos de pacientes. Pero es importante destacar que si bien la mayoría de los valores hallados están dentro de los valores normales se encontró una diferencia estadísticamente significativa en los niveles de IgG del Ac anti-Anx A5 entre las pacientes

con SAF obstétrico y el grupo control, mostrando que en pacientes con SAF los valores de estos anticuerpos se encuentran aumentados en relación a las pacientes sanas.

Nuestros resultados podrían compararse con otros estudios realizados en las últimas décadas en mujeres de diferentes poblaciones. Un estudio del año 2011 realizado en Arabia informó una elevación significativa de IgM e IgG anti-Anx A5 en pacientes con pérdidas recurrentes de embarazo en comparación con los controles sanos¹⁴. Este último se corresponde con resultados de otros estudios como el de Matsubayashi y col. en el año 2001, que también mostró esta asociación¹⁵, y también con otro realizado por Nojima y col. que han informado que el isotipo IgG de los anticuerpos anti-Anx A5 fue el único factor de riesgo significativo para las pérdidas fetales en pacientes con SAF secundario a LES¹⁶.

Contrariamente a estos, investigaciones del año 2010, como el de Alijotas-Reig y col. realizado en Barcelona¹⁷ y el de Rezk y col. en Egipto¹⁸, han informado que los anticuerpos anti-Anx A5 no fueron significativos en la predicción de pérdidas recurrentes de embarazo.

Las discordancias observadas podrían atribuirse a la falta de técnicas de detección debidamente estandarizadas, lo que conduce a una gran discrepancia metodológica, en los puntos de corte aplicados en diferentes ensayos, y con frecuencia a la combinación de valores de los distintos isotipos (IgG/IgM) de los anticuerpos.

También se evaluó en el presente trabajo, la utilidad diagnóstica de los Ac anti-Anx A5 mediante curvas ROC y se pudo evidenciar que el test no mostró una buena sensibilidad y especificidad para discriminar pacientes con SAF obstétrico de pacientes sanas. Como en el isotipo IgG se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos, creemos que se podría mejorar la exactitud diagnóstica del test aumentando el número de pacientes.

Debido a esto, se realizaron pruebas de potencia donde se encontró que sería necesario aumentar el tamaño muestral para mostrar con mayor claridad las diferencias entre pacientes con SAF obstétrico y pacientes sanas.

Sin embargo, más allá de que no existen criterios establecidos para la determinación de los Ac anti-Anx A5, podría también ser de utilidad realizar una segunda determinación con 12 semanas de diferencia conforme a lo requerido por los criterios de Sydney 2006 en relación a los otros AcPL, ya que se considera que un solo resultado negativo de la prueba no puede descartar enfermedad² y para evitar la detección de anticuerpos transitorios, como suele ocurrir en las enfermedades infecciosas¹⁷.

Por último, también se realizó un análisis entre los subgrupos de pacientes con distintas complicaciones SAF obstétrico clasificados según los criterios clínicos Sydney 2006, donde se compararon los valores de Ac anti-Anx A5. En este caso, no hubo diferencia estadísticamente significativa en los valores de IgG e IgM entre los tres subgrupos, por lo que no se pudo asociar a los Ac anti-Anx A5 con alguna característica clínica específica.

Analizando también este último punto, se observó si existía alguna diferencia entre los niveles del anticuerpo obtenido y la presentación de una, dos o los tres tipos de manifestaciones clínicas en las que se subdividió el grupo de pacientes con SAF obstétrico.

En el caso del isotipo IgG, se observó que el total de las pacientes que tuvieron valores >10 U/ml tuvieron las 3 manifestaciones posibles, es decir pertenecían a los tres subgrupos de pacientes con SAF obstétrico. Mostrando resultados estadísticamente significativos (valor $p < 0,0001$) comparándose con las pacientes que tuvieron valores de anti-Anx A5 por debajo de 10 U/ml.

Este último análisis podría asociar al isotipo IgG del Ac anti-Anx A5 con el riesgo del paciente con SAF obstétrico de desarrollar mayor cantidad de complicaciones en el embarazo, pero no puntualmente con alguna de ellas.

Una de las cuestiones inexplicadas en el SAF es por qué algunos pacientes desarrollan eventos tromboticos y otros presentan morbilidad en el embarazo, mientras que una minoría de pacientes también puede desarrollar una forma "catastrófica" potencialmente mortal y otros nunca desarrollan ninguna manifestación relacionada. En este contexto, la evaluación del riesgo del paciente de desarrollar una manifestación clínica y poder relacionarla con un AcPL particular es de crucial importancia⁷. Por lo que existen muchos estudios que han reportado una fuerte asociación entre los diferentes perfiles de anticuerpos y las manifestaciones clínicas de SAF, tanto tromboticas como obstétricas².

Conclusiones

Los niveles de anticuerpos anti-Anx A5 isotipo IgG mostraron niveles más elevados en pacientes con SAF obstétrico, pero no se asociaron con manifestaciones obstétricas específicas. Estos hallazgos podrían sugerir una posible relación entre los anticuerpos anti-Anx A5 con el SAF obstétrico. Futuras investigaciones podrían establecer cuál es la utilidad de estos anticuerpos para el diagnóstico y/o el pronóstico de la enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA

1. D'Ippolito S, Meroni PL, Koike T, Veglia M, Scambia G, Di Simone N. Obstetric antiphospholipid syndrome: A recent classification for an old defined disorder. *Autoimmunity Reviews*. 2014; (13):901-08.
2. Mallhi SC, Neerja Kushwaha M, Chatterjee BT, Philip CJ. Antiphospholipid syndrome: A diagnostic challenge. *Medical Journal Armed Forces India*. 2016; (72):31-36.
3. Esteve-Valverde E, Ferrer-Oliveras R, Alijotas-Reig J. Síndrome antifosfolípido obstétrico. *Revista Clínica Española*. 2015; (3):135-45.
4. Misasi R, Capozzi A, Longo A, Recalchi S, Lococo E, Alessandri C, et al. "New" Antigenic Targets and Methodological Approaches for Refining Laboratory Diagnosis of Antiphospholipid Syndrome. *Journal of Immunology Research*. 2015; (2015):1-13.
5. Miyakis S, Lockshin M, Lockshin D, Atrumi T, Branch DW, Brey RL, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2006; (4):295-306.

6. Yelnik CM, Flint Porter T, Ware Branch D, Laskin CA, Merrill JT, Guerra MM, et al. Changes in Antiphospholipid Antibody Titers During Pregnancy: Effects on Pregnancy Outcomes. *ARTHRITIS & RHEUMATOLOGY*. 2016. (68); 8:1964-69.
7. Bertolaccini ML, Sanna G. Recent advances in understanding antiphospholipid syndrome. *F1000Research*. 2016; (5):1-9.
8. Bouter A, Carneille R, Gounou C, Bouvet F, Degrelle SA, Evain-Brion D, et al. Review: Annexin-A5 and cell membrane repair. *Trophoblast Research*. 2015; (29):43-49.
9. Shulan Z, Ziyang W, Jing L, Xiaoting W, Liubing L, et al. Evaluation of the clinical relevance of anti-annexin-A5 antibodies in Chinese patients with antiphospholipid syndrome. *Clin Rheumatol*. 2017; (36):407-12.
10. Rand JH, Wu XX, Quinn AS, Taatjes DJ. The annexin A5-mediated pathogenic mechanism in the antiphospholipid syndrome: role in pregnancy losses and thrombosis. *Lupus*. 2010; (19):460-69.
11. Bećarević Mirjana. The IgG and IgM isotypes of anti-annexin A5 antibodies: relevance for primary antiphospholipid syndrome. *J Thromb Thrombolysis*. 2016.
12. Mejía-Mejía MV, Segura Cardona AM, Velásquez Escobar MC, Arango White MC, Abad Restrepo J, Orrego Vélez M, et al. Descripción de la presencia de anticuerpos antiannexina V, cardiolipina y B₂ glicoproteína I en mujeres con pérdidas gestacionales recurrentes en la ciudad de Medellín, Colombia. *Revista colombiana de obstetricia y ginecología*. 2012; (63):368-75.
13. Matsuda J, Gotoh M, Saitoh N, Gohch K, Tsukamoto M, Yamamoto T. Anti-annexin antibody in the sera of patients with habitual fetal loss or preeclampsia. *Trombosis research*. 1994; (75) 1:105-106.
14. Sater MS, Finan RR, Mustafa FE, Wassim GM, Almawi Y. Anti-annexin V IgM and IgG autoantibodies and the risk of idiopathic recurrent spontaneous miscarriage. *J Reprod Immunol*. 2011; (89) 1:78-83.
15. Matsubayashi H, Arai T, Izumi S, Sugi T, McIntyre JA, Akino T. Antiannexin V antibodies in patients with early pregnancy loss of implantation failure. *Fertil Steril*. 2001; (26):694-9.
16. Nojima J, Kuratsune H, Suehisa E, Futsukaichi Y, Yamanishi H, Machii T, et al. Association between the Prevalence of Antibodies to b2-Glycoprotein I, Prothrombin, Protein C, Protein S, and Annexin V in Patients with Systemic Lupus Erythematosus and Thrombotic and Thrombocytopenic Complications. *Clinical Chemistry*. 2001; (6):1008-15.
17. Alijotas-Reig J, Ferrer-Oliveras R, Rodrigo-Anoro MJ, Farran-Codina I, Llubra-Olivé E, Vilardell-Tarres M, et al. Anti-annexin A5 antibodies in women with spontaneous pregnancy loss. *Med Clin (Barc)*. 2010; (10) 134:433-38.
18. Rezk A, Abdel-Hafeez N, Rageh IM, Abdalla W. Anti-annexin as a marker in patients with recurrent miscarriages. *Middle East Fertility Society Journal*. 2010; (15)1:47-50.