

CAT
Critically Appraised Topic

Klinische relevantie van verhoogde titers van aB2GPI bij het antifosfolipidensyndroom.

Author: Dr. C. Trouvé
Supervisor: Dr. J. Emmerechts
Date: 11/05/2012

CLINICAL BOTTOM LINE

Het antifosfolipidensyndroom is een belangrijke oorzaak voor trombo-embolische complicaties en zwangerschapsmorbiditeit. Volgens de huidige richtlijnen wordt de diagnose gesteld op basis van zowel klinische als biochemische kenmerken. Daar de symptomatologie van het antifosfolipidensyndroom divers en weinig specifiek is, speelt het laboratoriumonderzoek dus een cruciale rol bij het stellen van de diagnose.

De oorspronkelijke richtlijnen (Sapporo criteria) werden in 1999 gepubliceerd en suggereerden dat de diagnose moest gesteld worden aan de hand van de aanwezigheid van zowel (tenminste) een klinisch als een biochemisch criterium. De hernieuwde richtlijnen (Sydney criteria - 2006) bevatten als voornaamste wijziging de introductie van een nieuw antilichaam, genaamd anti-bèta-glycoproteïne₂, voor het diagnosticeren van het antifosfolipidensyndroom.

Niettegenstaande dat de huidige richtlijnen het bepalen van anti-bèta-glycoproteïne als diagnostisch criterium beschrijven, blijft het klinisch nut ervan een heikelpunt en staat dit in de literatuur vaak ter discussie. In deze CAT wordt in de literatuur dan ook de klinische relevantie van het bepalen van anti-bèta-glycoproteïne₂ nagegaan om tot een wetenschappelijk onderbouwde conclusie te komen of we in het AZ Sint Jan (Brugge) deze testen al dan niet zullen aanbieden.

In de Sydney criteria wordt geen onderscheid gemaakt tussen de verschillende iso-vormen van de te bepalen antilichamen. Over het algemeen geldt een consensus dat IgG de klinisch meest relevante iso-vormen zijn van de antistoffen betrokken bij het antifosfolipidensyndroom. Dit wordt echter betwist. Ook hier wordt in de literatuur nagegaan welke iso-vorm de voorkeur geniet, indien klinische relevantie aanwezig blijkt.

Daar momenteel door het RIZIV slechts wordt tussengekomen in het bepalen van lupus anticoagulans en I anti-cardiolipine antistoffen (IgM of IgG) ter diagnosestelling van het antifosfolipidensyndroom, wordt in deze CAT tenslotte ook nagegaan op welke manier we de verschillende diagnostische testen voor het antifosfolipidensyndroom kunnen aanbieden en hoe we dit in de praktijk zullen teweegbrengen (cfr. aanvraagbrief, rapportering, ...).

CLINICAL/DIAGNOSTIC SCENARIO

Het antifosfolipidensyndroom (APS) is een auto-immune aandoening gekenmerkt door het voorkomen van trombo-embolische complicaties en zwangerschapsmorbiditeit en de aanwezigheid van persistent verhoogde titers van antifosfolipiden-antistoffen (APA's).

Historiek. De ontdekking van APA's dateert reeds van het begin van de 20^{ste} eeuw bij de ontdekking van vals-positieve syfilis-testen en het bestaan van een niet-specifieke stollingsremmer. In 1907 ontwikkelde Wasserman et al. een complement fixatie assay voor de diagnose van syfilis, waarbij hij als antigeen gebruik maakte van fosfolipiden (PL) die geëxtraheerd werden uit leverweefsel van foetussen met congenitale syfilis (10-4). Later werd de naam 'cardiolipine' toegekend daar men dit anionisch PL overwegend extraheerde uit runderharten. Door grootschaalse screeningsprogramma's in die tijd, werd vastgesteld dat grote subpopulaties die positief testten, klinisch geen symptomen van syfilis vertoonden. Moore en Mohr behoorden in 1956 tot een van de eersten die beschreven dat deze (transiënt) vals-positieve (althans voor syfilis) testen te wijten konden zijn aan een gevarieerd aanbod aan infecties naast syfilis. Ook rond die periode werd de link gelegd tussen de persistente aanwezigheid van vals-positieve testen en een verhoogd risico op de aanwezigheid van systemische lupus erythematosus (SLE) en andere gerelateerde auto-immune aandoeningen. Conley en Hartmann ontdekten simultaan de aanwezigheid van een verworven circulerende remmer dewelke in staat was de stollingstijd in vitro te verlengen. Later werd in 1963 de associatie van deze stollingremmer met in vivo trombolitische events gemaakt. In 1972 introduceerde Feinstein en Rapaport de term 'lupus anticoagulant' (LAC) waarmee een remmer van de PL-afhankelijke stolling werd bedoeld (n.b.

deze benaming werd ondanks het feit dat de meerderheid van de patiënten met verhoogde LAC's geen SLE hebben, om historische redenen behouden). In 1983 ontwikkelde Harris en medewerkers een radio-immunoassay voor de detectie van anti-cardiolipine-antistoffen (aCL) en twee jaar later de eerste kwantitatieve ELISA. Na toepassing van deze testen op een grote populatie van SLE-patiënten werd de associatie van een verhoogde titer van aCL en het frequenter voorkomen van trombo-embolische events en zwangerschapsmorbiditeit hard gemaakt. Deze waarnemingen vormden de basis voor het ontstaan van een nieuwe entiteit, het zogenaamde APS.

In 1990 werd door 3 onafhankelijke groepen ontdekt dat aCL's en LAC's niet gericht waren tegen PL zelf, maar tegen co-factoren met hoe affiniteit voor PL, met bèta-2-glycoproteïne1 (B2GP1) als voornaamste. Echter niet alle APA's zijn B2GP2-afhankelijk, zodat hieruit niet kan geconcludeerd worden dat dit één homogene groep antistoffen betreft.

Pathofysiologie. Verschillende pathofysiologische mechanismen die de trombo-embolische events bij het APS kunnen verklaren zijn beschreven. In een recente review benadrukt Pierangeli et al. het belang van activatie van endotheelcellen, monocyten, bloedplaatjes en trofoblasten bewerkstelligd door de binding van APA aan B2GP2. Die activatie resulteert in een pro-trombotische en pro-inflammatoire status dewelke tenslotte leidt tot trombose en herhaaldelijk foetaal overlijden.

Kliniek. Het APS omhelst verschillende klinische manifestaties waarvan (vooral veneuze) trombose en zwangerschapscomplicaties de belangrijkste vormen. Trombotische events kunnen in elk vaatbed voorkomen, zowel veneus (mesenteriaal, portaal, intracranieel, retinaal) als arterieel

(cerebraal, cardiaal, mesenteriaal, (ad-)renaal). Diep veneuze trombozes (DVT) en longembolieën zijn echter de meest voorkomende. De zwangerschapscomplicaties hebben betrekking tot herhaaldelijk foetaal overlijden. Verschillende andere symptomen worden eveneens gerelateerd aan het APS zoals migraine, trombocytopenie, chorea, myelopathie, epilepsie, nefropathie, huidulcera en livedo reticularis. Deze laatste wordt beschreven bij een vierde van de APS-patiënten en zou een merker zijn voor de ontwikkeling van arteriële trombose. De meest ernstige vorm van het APS, m.n. catastrofaal APS, wordt gekenmerkt door microvasculaire trombose gepaard met multi-orgaan falen en leidt in 50% van de gevallen tot overlijden.

Diagnose. De richtlijnen voor de diagnose van het APS omvatten twee luiken: enerzijds klinische en anderzijds laboratorium criteria. In 1999 werd in Sapporo (Japan) een eerste editie voorgesteld. Deze criteria werden in 2006 herzien volgens de Sydney-criteria. De belangrijkste verandering die daarin werd ingevoerd was de inclusie van aB2GPI, deze invoering staat echter ter discussie en wordt besproken in deze CAT.

Klinische criteria (1 of meer episode van veneuze, arteriële of microvasculaire trombose en/of zwangerschapsmorbiditeit):

- Trombose: radiografisch of histologisch bewezen trombose in eender welk orgaan
- Zwangerschapsmorbiditeit: onverklaard foetaal overlijden >10w post-menstrueel OF 1 of meer

premature geboorten met als oorzaak (pre-)eclampsie of placentale insufficiëntie OF 3 of meer miskramen zonder aantoonbare oorzaak (zoals erfelijke aandoeningen of anatomische/hormonale aandoeningen van de moeder).

Laboratorium criteria (de aanwezigheid van 1 of meer aPL, op 2 of meer verschillende metingen met een tussenperiode van 12 weken en niet meer dan 5 jaar na klinische manifestatie):

- aCL: IgG of IgM in matige of hoge titer (>40 units GPL of MPL of >99ste percentiel)
- anti-B2GPI: IgG of IgM in matige of hoge titer (>40 units GPL of MPL of >99ste percentiel)
- LAC: gedetecteerd a.d.h.v. gepubliceerde richtlijnen (ISTH, (4))

De klinische criteria zijn zoals te zien vrij divers en weinig specifiek voor één bepaalde aandoening. De laboratoriumcriteria wegen dan ook zwaar door bij de diagnose. Het belang van een gestandaardiseerde methode voor de bepaling van aPL is meermaals aangehaald. De assays die worden gehanteerd bij het bepalen van de aPL omhelsen een tweeluik: de eerste groep omvat de immunologische assays (ELISA's) die antilichamen zelf detecteren en een tweede groep de stollingsanalyzers die deze indirect meten.

SEARCH TERMS

- 1) MeSH Database (PubMed): MeSH term: "antiphospholipid syndrome; antiphospholipid antibodies; anticardiolipin antibodies; antibodies antiphospholipid syndrome profile; beta2-glycoprotein; sapporo criteria; sydney criteria; lupus anticoagulant antiphospholipid syndrome"
- 2) Pubmed (Medline; from 1966), SUMSearch (<http://sumsearch.uthscsa.edu/>), National Guideline Clearinghouse (<http://www.ngc.org/>), Institute for Clinical Systems Improvement (<http://www.icsi.org/>), The National Institute for

RELEVANT EVIDENCE/REFERENCES

1	Martinuzzo M. Laboratory Criteria of Antiphospholipid Syndrome Need to be Updated or Strictly Followed? <i>The Open Autoimmunity Journal</i> , 2010, 2, 28-37
2	Pengo V. A contribution to the debate on the laboratory criteria that define the antiphospholipid syndrome. <i>J Thromb Haemost</i> 2008;6:1048-9
3	Devreese K, Hoylaerts M. Laboratory diagnosis of the antiphospholipid syndrome: a plethora of obstacles to overcome. <i>Eur J of Haematology</i> 83 (1-16)
4	Pengo V, Tripodi A, Reber G, et al. On behalf of the Scientific and Standardization Committee on Lupus Anticoagulant/Phospholipid-dependent antibodies. Update of the Guidelines for Lupus Anticoagulant detection. <i>J Thromb Haemost</i> 2009; 7: 1737-40.
5	Tektonidou MG, Laskari K, Moutsopoulos HM. Risk Factors for Thrombosis and Primary Thrombosis Prevention in Patients With Systemic Lupus erythematosus With or Without Antiphospholipid Antibodies <i>Arthritis Rheum</i> 2009; 61: 29-36
6	Devreese K, Hoylaerts M. Challenges in the antiphospholipid syndrome. <i>Clin Chem</i> 2010; 56:6 930-940)
7	Galli M, Luciani D, Bertolini G, Barbui T. Lupus anticoagulants are stronger risk factors for thrombosis than anticardiolipin antibodies in the antiphospholipid syndrome: a systematic review of the literature. <i>Blood</i> 2003; 101, 1827-32
8	Galli M, Luciani D, Bertolini G, Barbui T. Anti-β2-glycoprotein I, antiprothrombin antibodies and the risk of thrombosis in the antiphospholipid syndrome. <i>Blood</i> 2003; 102: 2717-23.
9	Pengo V, Biasiolo A, Pegoraro C, Cucchini U, Noventa F, Iliceto S. Antibody profiles for the diagnosis of antiphospholipid syndrome. <i>Thromb Haemost</i> 2005; 93: 1147-52.
10	Opatrny L, David M, Kahn SR, Shrier I, Rey E. Association between antiphospholipid antibodies and recurrent fetal loss in women without autoimmune disease: a meta-analysis. <i>J Rheumatol</i> 2006; 33: 2214-21
11	Ruffatti A, Tonello M, Del Ross T, Cavazzana A, Grava C, Noventa F, et al. Antibody profile and clinical course in primary antiphospholipid syndrome with pregnancy morbidity. <i>Thromb Haemost</i> 2006; 96: 337-41
12	Pengo V, Ruffatti A. Clinical course of high-risk patients diagnosed with antiphospholipid syndrome. <i>J Thromb Haemost</i> 2010; 8: 237-42
13	Guillermo Ruiz-Irastorza, Kamashta M. Antiphospholipid Syndrome. <i>Lancet</i> 2010; 376:1498-1509
14	Danowski A, Kickler TS, Petri M. Anti-beta2-glycoprotein I: prevalence, clinical correlations, and importance of persistent positivity in patients with antiphospholipid syndrome and systemic lupus erythematosus. <i>J Rheumatol</i> 2006; 33: 1775-79.
15	Pengo V, Tripodi A, Reber G, Rand JH, Ortel TL, Galli M, de Groot PG. Official communication of the Scientific and Standardization Committee on lupus anticoagulant/phospholipid-dependent antibodies: update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. <i>J Thromb Haemost</i> 2009;7:1737- 40. 28. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin
16	Urbanus RT, Siegerink B, Roest M, Rosendaal FR, de Groot PG, Algra A. Antiphospholipid antibodies and risk of myocardial infarction and ischaemic stroke in young women in the RATIO study: a case-control study. [Epub ahead of print] <i>The Lancet</i> Sept 28, 2009 as DOI 10.1016/S1474-4422(09)70239-X
17	Runchey SS, Folsom AR, Tsai MY, Cushman M, McGovern PD. Anticardiolipin antibodies as a risk factor for venous thromboembolism in a population-based prospective study. <i>Br J. Haematol</i> 2002; 119: 1005-10
18	Bizzaro N, Ghirardello A, Zampier S, Iaccarino L, Tozzoli R, Ruffatti A, et al. Anti-prothrombin antibodies predict thrombosis in patients with systemic lupus erythematosus: a 15-year longitudinal study. <i>J Thromb Haemost</i> 2007; 5: 1158-64.
19	Galli M, Borrelli G, Jacobsen EM, Marfisi RM, Finazzi G, Marchioli R, et al. Clinical significance of different antiphospholipid antibodies in the WAPS (warfarin in the antiphospholipid syndrome) study. <i>Blood</i> 2007; 110: 1178-73
20	Zoghalmi-Rintelen C, Vormittag R, Sailor T, Lehr S, Quehenberger P, Rumpold H, et al. The presence of IgG antibodies against beta-2-glycoprotein I predicts the risk of thrombosis in patients with lupus anticoagulant. <i>J Thromb Haemost</i> 2005; 3: 1160-65.
21	Martinez-Berriotxo et al. Transiently positive anticardiolipin antibodies do not increase the risk of thrombosis in patients with systemic lupus erythematosus. <i>Lupus</i> 2007; 16: 810-16
23	de Laat B, Pengo V, Pabinger I, Musial J, Voskuyl AE, Bultink IE, et al. The association between circulating antibodies against domain I of beta2-glycoprotein I and thrombosis: an international multicenter study. <i>J Thromb Haemost</i> 2009; 7: 1767 – 73.
24	Nash MJ, Camilleri RS, Kunka S, Mackie IJ, Machin SJ, Cohen H. The anticardiolipin assay is required for

	sensitive screening for antiphospholipid antibodies. J Thromb Haemost 2004; 2: 1077-81
25	Devreese, K. The laboratory diagnosis of the antiphospholipid syndrome 2008
26	Galli M, Reber G, De Moerloose P, de Groot P. Invitation to a debate on the serological criteria that define the antiphospholipid syndrome. J Thromb Haemost 2008; 6: 399-401
27	Pierangeli SS, Liu XW, Barker JH. Induction of thrombosis in a mouse model by IgG, IgM and IgA immunoglobulines from patients with the antiphospholipid syndroms. Thromb Haemost 1995; 74:1361-7
28	Naess IA, Christiansen SC, Cannegieter SC, Rosendaal FR, Hammerstroem J. A prospective study of anticardiolipin antibodies as risk factor for venous thrombosis in a general population (the HUNT study). J Thromb Haemost 2006; 4: 44-49.
29	Swadzba J, Iwaniec T, Musial J Revised classification criteria for antiphospholipid syndrome and the thrombotic risk in patients with auto-immune disease. J Thromb Haemost 2007; 5: 1883-9
31	Lakos G, Pierangeli S. International consensus guidelines on anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I testing. Artr and Rheum 2012; 64:1-10
32	Paramsothy K, Wells PS Prevalence of antiphospholipid antibodies in idiopathic venous thromboembolism. Blood 2004; 104: abstract 529
34	Forasteiro R, Martinuzzo M, Pombo G, Puente D, Rossi A, Celebrin L, et al. A prospective study of antibodies to beta2-glycoprotein I and prothrombin, and risk of thrombosis. J Thromb Haemost 2005; 3: 1231-38.
35	De Groot P, Lutters B, Meijers J. Lupus anticoagulants and the risk of a first episode of deep venous thrombosis. J Thromb Haemost 2005; 3:1993-7
36	Danowski A, Kickler T, Petri M. Anti-beta2-glycoprotein I: prevalence, clinical correlations, and importance of persistent positivity in patients with antiphospholipid syndrome and systemic lupus erythematosus. J Rheumatol 2006; 33: 1775-1775
38	Faden D, Tincani A, Tanzi P, Spatola L, Lojacono A, Tarantini M, Balestrieri G. Anti-beta 2 glycoprotein I antibodies in a general obstetric population: preliminary results on the prevalence and correlation with pregnancy outcome. Anti-beta2 glycoprotein I antibodies are associated with some obstetrical complications, mainly preeclampsia-eclampsia. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 1997; 73: 37-42.
39	R.R. Forastiero, M.E. Martinuzzo, G.S. Cerrato, L.C. Kordich, L.O. Carreras Relationship of anti beta2-glycoprotein I and anti prothrombin antibodies to thrombosis and pregnancy loss in patients with antiphospholipid antibodies Thromb. Haemost., 78 (1997), pp. 1008-1014
40	Lee RM, Branch DW, Silver R M. Immunoglobulin A anti-beta2-glycoprotein antibodies in women who experience unexplained recurrent spontaneous abortion and unexplained fetal death. Am J Obstet Gynecol 2001; 185: 748-53
41	Lee E.Y., Moon Hee-Born. Does the anti-beta2 glycoprotein I provide additional information in patients with thrombosis? Thrombosis research 2003; 29-32
42	Nash J, Cohen H. The anticardiolipin assay is required for sensitive screening for antiphospholipid antibodies. J Thromb Haemost 2004; 2:1077-81
43	Ebeling F, Vahthera E. Beta-2-glycoprotein I antibodies in patients with thrombosis. J Clin Lab Invest 2003; 63:111-118
44	Tincani A, Meroni P. Antiphospholipid antibody profile: implications for the evaluation and management of patients. Lupus 2012; 16:432-435
47	Galli M, Antiphospholipid antibodies and thrombosis: do test patterns identify the patient's risk? Thromb res 2004; 114, 597-601
48	Pengo V, Biasiolo A. Antibody profiles for the diagnosis of antiphospholipid syndrome. Throm Haemost 2005; 93: 1147-52
49	Greaves M, Cohen H, Machin SJ, Mackie I. Guidelines on the investigation and management of the antiphospholipid syndrome. Br J Haematol 2000; 109: 704 – 15.
50	McNally T, Purdy G, Mackie IJ, Machin SJ, Isenberg DA. The use of an anti-b2-glycoprotein-I assay for discrimination between anticardiolipin antibodies associated with infection and increased risk of thrombosis. Br J Haematol 1995; 91: 471 –3.
51	Arnout J, Vermynen J. Current status and implications of autoimmune antiphospholipid antibodies in relation to thrombotic disease. J Throm Hemost 2003; 1:931-942
52	De laet B, de Groot P. High-avidity anti-beta2glycoprotein I antibodies that recognize epitope Gly40-Arg43 in domain I of beta-glycoprotein I cause LAC, and their presence strongly correlates with thrombosis. Blood 2005; 105: 1540-5
53	P.G. de Groot, J.C. Meijers, R. T. Urbanus. Recent developments in our understanding of the antiphospholipid syndrome. Int. Jnl. Lab. Hem. 2012, 34, 223-231

APPRAISAL

De diagnosestelling van het APS is geen evidente zaak. De klinische criteria zijn zoals vermeld divers en aspecifiek, en ook de biochemische parameters kunnen bij diverse niet-APS gerelateerde problematiek verhoogd zijn (1). Toch hebben de belangrijkste problemen betrekking tot de laboratorium-criteria, m.n. de grote inter- en intrarun-variabiliteit van de testen (vooral bij stalen met lage titers antistoffen (16-oud)), alsook de variabiliteit tussen de resultaten van de verschillende laboratoria onderling, gebrek aan strikte richtlijnen m.b.t de uitvoering van de analyses, de lage concordantie tussen de berekeningen van de cut-off waarden voor de verschillende testen en tenslotte de moeilijkheid de persisterende aanwezigheid van verhoogde titers aan te tonen (1,3). Naast de gekende analytische beperkingen voor het meten van de verschillende antistoffen, is ook de klinische relevantie van deze testen een vaak bediscussieerd thema in de literatuur.

LAC. LAC's worden gedetecteerd op basis van de eigenschap dat zij *in vitro* interfereren met PL-afhankelijke stappen betrokken bij de stollingscascade. Herziene richtlijnen omtrent de multi-step procedure werden in 2009 op de Scientific and Standardisation Committee (SSC) vergadering van de International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH) in Boston voorgesteld en bevatten een screenings-, mixing- en confirmatiestap. (4, 6). LAC's zijn zeer sterk geassocieerd met trombo-embolische events en zwangerschapsmorbiditeit in kader van het antifosfolipidensyndroom (7,8,9,10,11). De superieure correlatie met trombose in vergelijking met de andere aCL's wordt tevens in verscheidene studies bewezen. (K-22) Een Nederlandse *case-control* studie bij vrouwen onder de 50 jaar toonde een 40-voudig verhoogd risico op CVA en een 5-voudig verhoogd risico op AMI (16) bij de aanwezigheid van LAC. Een meta-analyse van Opatrny staft de correlatie tussen de aanwezigheid van LAC's en recidiverende miskramen voor de 24^{ste} zwangerschapsweek (10). De detectie van LAC's is echter gecompliceerd en arbeidsintensief (3) en pas in 2009 werd door de publicatie van bovenvermelde herziene richtlijnen enigszins duidelijkheid verschaft m.b.t. uitvoering en interpretatie van de analyses waarmee een stap voorwaarts werd gemaakt i.k.v. de nodige standaardisatie (15).

Eén van de grootste tekortkomingen van deze bepaling is echter de gevoeligheid voor anti-stollingstherapie. Aangeraden wordt de bepaling uit te voeren bij een INR van <1.5 met een eventuele bridging therapie met LMWH (cave: minstens 12h voor staalname gestopt)(6).

Referentie	Type studie	Omvang	Besluit	PRO	CONTRA
Galli 2003 (7)	Review	N=4184	Correlatie LAC en trombose vrijwel altijd significant.	X	
Galli 2003 (8)	Review	N=5102	Correlatie LAC en trombose vrijwel altijd significant (OR 5.71-9.40 CI 95%).	X	
Pengo 2005 (9)	Prospectief	N= 618	LAC als onafhankelijke risico-factor voor trombo-embolische events (OR 4,4 CI 1.5-13.3).	X	
Opatrny 2006 (10)	Meta-analyse	25 studies	Correlatie LAC en recidiverende miskramen (OR 7.79 CI 2.30-26.45).	X	
Ruffatti 2006 (11)	Retrospectief	N= 600	Correlatie tussen LAC en zwangerschapsmorbiditeit.	X	
Urbanus 2009 (16)	Prospectief	N= 378	Correlatie tussen LAC en AMI (OR 5.3 CI 1.4-20.8) en CVA (OR 43.1 CI 12.2-152).	X	

Tabel 1. Correlatie LAC en trombose/zwangerschapsmorbiditeit.

VRAGEN

- 1. Wat is de klinische relevantie van de aanwezigheid van verhoogde titers aCL in het antifosfolipidensyndroom en welke zijn de relevante isotypes?**
- 2. Wat is de klinische relevantie van de aanwezigheid van verhoogde titers aB2GPI in het antifosfolipidensyndroom en welke zijn de relevante isotypes?**
- 3. Wat zijn de praktische implicaties voor de diagnosestelling van het antifosfolipidensyndroom m.a.w. welke testen zullen we onder welke voorwaarden kosten-efficiënt aanbieden aan de clinici?**

Vraag 1: Wat is de klinische relevantie van de aanwezigheid van verhoogde aCL-titers in het antifosfolipidensyndroom en welke zijn de relevante isotypes ?

Omtrent het nut van de bepaling van aCL bestaat in de literatuur heel wat discussie. Deze is deels gebaseerd op de methodologische problemen die deze bepaling met zich meebrengt (verschillende studies tonen namelijk de grote inter-laboratorium variabiliteit, intra- en interrun variatie en de variabiliteit tussen verschillende commerciële kits en in-house methodes aan) (2,25) maar ook het klinisch nut wordt in de literatuur betwist.

In de meta-analyse van Galli (7) wordt de correlatie tussen aanwezigheid van verhoogde titers aCL en trombose gestaafd (OR's tot 3.66, zie tabel 2). Wanneer de specifieke trombose-events werden geanalyseerd bleek dat vooral bij arteriële tromboses (CVA en AMI) verhoogde titers van aCL een rol spelen (OR tot 6.67 en 18 resp., zie tabel 2). Bij veneuze tromboses (DVT) werd slechts in 1 van de 8 bestudeerde associaties een significante correlatie bekomen.

Bij de gezonde populatie konden zowel Runchey (17) als Naes (28) eveneens geen significante correlatie waarnemen tussen aanwezigheid van verhoogde titers aCL (IgM/IgG) en veneuze trombose.

De correlatie tussen verhoogde titers IgG aCL en zwangerschapsmorbiditeit bij patiënten zonder auto-immuunziekte werd in de meta-analyse van Opatrny aangetoond (OR 3.56, zie infra).

- ⇒ Bij de gezonde populatie kan een verband aangetoond worden tussen verhoogde titers aCL en arteriële trombose en zwangerschapsmorbiditeit
- ⇒ Bij de gezonde populatie kan geen verband worden aangetoond tussen verhoogde titers aCL en veneuze trombose

Bij patiënten met auto-immune aandoeningen wordt in verschillende artikels een afwezige correlatie aangetoond tussen de aanwezigheid van verhoogde titers aCL (IgG/IgM) en trombose en zwangerschapsmorbiditeit (18,19,21,5), zie infra). Martinez vond in zijn prospectieve studie bij diezelfde patiëntenpopulatie wel een significant verband tussen de aanwezigheid van verhoogde titers IgG aCL en arteriële trombose (OR 7.63, zie infra).

- ⇒ Bij patiënten met auto-immune aandoeningen kan geen verband worden aangetoond tussen verhoogde titers aCL en veneuze trombose en zwangerschapsmorbiditeit

⇒ Sommige studies tonen wel een verband bij patiënten met auto-immune aandoeningen tussen verhoogde titers aCL en arteriële trombose.

Een retrospectieve studie van Nash kon het belang van geïsoleerde verhoogde titers van aCL uitwijzen: maar liefst 26.04% van de patiënten die voldeden aan de klinische Sydney-criteria van het APS waren negatief getest op LAC en aB2GPI en vertoonden dus een geïsoleerde stijging van aCL IgM/IgG. Ook hij vond een grotere associatie tussen deze verhoogde titers en arteriële eerder dan veneuze trombose (14,21, zie infra) (24).

Tektonidou vond in zijn prospectieve studie echter geen correlatie tussen verhoogde titers aCL en trombose en zwangerschapsmorbiditeit (5), wat ook in verschillende andere studies het geval was (9,17,18,19,28).

Eén van de grootste tekortkomingen betreft de lage specificiteit van de aCL-ELISA's. Deze assays detecteren immers verschillende soorten antistoffen: B2GPI-onafhankelijke aCL of de antilichamen die hoofdzakelijk bij infecties voorkomen, de lage-affiniteit aB2GPI's en antilichamen tegen cryptische of neo-epitopen van B2GPI die tot uiting komen na vorming van het PL-B2GPI-complex (2). B2GPI afhankelijke en – onafhankelijke antifosfolipidenantistoffen moeten worden onderscheiden gezien hun verschil in pathogeniciteit. B2GPI-afhankelijke ELISA's worden daarom in het algemeen aangeraden (25), doch wordt dit echter niet duidelijk omschreven in de hernieuwde Sydney-criteria. In de huidige richtlijnen worden enkel hoge en medium titers geïnccludeerd, wat de specificiteit enigszins verhoogt.

In de literatuur is de evidentie van de klinische relevantie van de bepaling van aCL bij de diagnose van het antifosfolipidensyndroom dus nog niet rechtlijnig, en verschillende studies en reviews wordt zelfs helemaal geen correlatie gevonden tussen verhoogde titers aCL en trombose en zwangerschapsmorbiditeit. Galli stelt in haar 'Invitation to a debate on the serological criteria that define the antiphospholipid syndrome' de plaats van deze marker bij de diagnose van het APS dan ook in vraag (26). Het nut van de bepaling van aCL werd reeds in 2002 op de ISTH meeting in Boston twijfel getrokken waarbij nieuwe criteria werden voorgesteld betreffende de laboratoriumdiagnose van het APS. Volgens deze criteria zouden de patiënten onderverdeeld worden in vier verschillende groepen. De eerste groep zou de patiënten omvatten die positief testen op zowel LAC als aB2GPI, de tweede groep op enkel LAC, de derde groep op enkel aB2GPI en tenslotte de vierde groep waar de patiënten positief testen op andere aPL (bijv. antirotrombine). Toen reeds werden de aCL's reeds niet meer vermeld, omdat reeds toen het idee begon te ontstaan dat op termijn de bepaling van aCL zouden vervangen worden door de bepaling van B2GPI (25). Deze voorstellen werden uiteindelijk niet doorgevoerd, daar verder onderzoek daaromtrent onontbeerlijk was.

In 2008 stelde Galli opnieuw voor de bepaling van aCL te schrappen als criterium voor de diagnose van APS (26) en dit werd dat jaar op de SSC vergadering betreffende LAC/PL-afhankelijke antistoffen aan de sprekers voorgesteld. Negen van de dertien sprekers waren echter tegenstanders van het schrappen van aCL als serologisch criterium voor de diagnose van APS. Als onderbouwing brachten ze het nut ervan naar boven m.b.t. research en ook tot de klinische praktijk indien de titers hoog genoeg zijn (3)

⇒ Volgens onze literatuurstudie bestaat in de literatuur weinig evidentie dat verhoogde titers aCL gerelateerd zijn aan het voorkomen van veneuze tromboses. Bij de gezonde populatie is er wel evidentie dat deze antistoffen correleren met arteriële trombose, en bij patiënten met auto-immuunziekten zowel met arteriële trombose als zwangerschapsmorbiditeit. De exacte betekenis van

deze antistoffen moet dus nog worden bestudeerd alvorens correct te concluderen dat de bepaling ervan klinische relevantie mist.

N.B. Verhoogde IgA aCL's zijn niet als diagnostische merker opgenomen in de Sydney-criteria. Er bestaat in de literatuur echter discussie of deze al dan niet hun rol hebben bij patiënten die klinisch sterk het vermoeden van APS suggereren en waarbij de IgG- en IgM- isotypes van aCL negatief zijn (16). Een studie van Pierangeli et al. toont de rol van IgA aCL's aan bij trombus-vorming bij muizen (27). Geïsoleerde IgA aCL's worden eveneens beschreven in enkele studies, maar in de meeste gevallen komt dit iso-type voor in aanwezigheid van IgM- en/of IgG-isotypes (31).

Referentie	Type studie	Omvang	Populatie	Outcome	BESLUIT
Galli 2003	Review	5 studies 5 studies 3 studies 4 studies		trombose CVA AMI DVT	5/5 sign. OR's 6/8 associaties sign. 5/6 associaties sign. O 1/8 associaties sign. O
Runchey 2003	Retrospectief	N= 317	Geen AI	Veneuze trombose	OR 0.85 CI 95% 0.43-1.78
Opatnry* 2006	Meta-analyse	N= 3631	Geen AI	Recidiverende miskramen	OR 3.56 CI 95% 1.48-8.59
Naes 2006	Prospectief	N = 508	Gezonde populatie	Veneuze trombose	OR 1.1 CI 95% 0.71-1.74
Bizzaro 2007	Prospectief	N= 101	SLE	Trombose	OR 0.3 CI 95% 0.1-1.3
Galli 2007	Prospectief	N= 112	LAC+	Trombose/ zwangerschapsmorbiditeit	Geen sign. correlatie
Martinez 2007	Prospectief	N= 237	SLE	Arteriële trombose Veneuze trombose	OR 7.63, 95% CI 2.00-29.08 Geen sign. correlatie
Tektonidou 2009	Prospectief	N=288	SLE	Trombose	Geen sign. correlatie
Prado 2012	Meta-analyse	6 studies met >200 pt		Pre-eclampsie	pooled OR 3.86 (95% CI 1.32-10.93)

Isotypes Over het algemeen wordt beschouwd dat enkel de IgG isotypes van de APA's klinische relevantie vertonen. Veel studies die dit wetenschappelijk kunnen onderbouwen zijn momenteel echter niet voorhanden, daar de meeste studies vaak enkel IgG beschouwen of geen onderscheid maken tussen IgM- of IgG-isotype.

Een studie die vaak wordt geciteerd betreffende dit onderwerp is de WAPS studie van Galli (19). Deze kon bij 112 patiënten geen significante correlatie weerhouden tussen de aanwezigheid van verhoogde titers van IgM aCL's en zowel anamnestiche als prospectieve (follow-up periode van 4 jaar) trombo-embolische events of zwangerschapsmorbiditeit. Dit gold echter ook voor het IgG-isotype van deze antistoffen. Runchney en Naess (17,28) worden ook daaromtrent vaak geciteerd, doch ook zij konden zowel voor IgM als IgG geen correlatie bekomen met trombose.

Swadzak kon echter wel een significant verschil concluderen tussen IgM aCL en IgG aCL betreffende het risico op klinische complicaties waarbij het risico verdubbelt bij aanwezigheid van IgG-aCL tov het IgM-isotype (OR resp. 4.15 95% CI 2.42-7.12 en OR 2.2 95% CI 1.31-3.70)(29).

Galli kon slechts 1 van de 8 bestudeerde associaties een correlatie maken tussen aCL en veneuze trombose, en dit betrof enkel het IgG-isotype (7).

Studies die wel een correlatie bekwamen tussen de aanwezigheid van IgM aCL zijn waren in de bestudeerde literatuur niet voorhanden.

Ref.	Type studie	Omvang	Populatie	Outcome	Besluit
Galli 2007	Retrospectief	N= 112	APS patiënten	Trombose/ zwangerschapsmorb.	Niet sign.
Runchey 2002	Retrospectief	N= 317	Geen AI	<u>VENEUZE</u> trombose	OR 0.85 CI 95% 0.43-1.78
Naes 2006	Prospectief	N = 508	Geen AI	<u>VENEUZE</u> trombose	OR 1.1 CI 95% 0.71-1.74
Locht 2003	Retrospectief	N= 82	Trombose	Geïsoleerde IgM+ bij CVA (aB2GPI-)	56% 46/82 P<0.00007
Domingues 2011	Retrospectief	N= 1567	Trombose	<u>VENEUZE</u> trombose <u>ARTERIELE</u> trombose	Niet sign. OR 1.68 (95% CI 1.16-2.44) p=0.0081
Schwadzak 2010	Retrospectief	N= 235	SLE	Trombose/ Zwangerschapsmorb.	OR 2.2 (95% CI 1.31-3.70)
Pengo 2010	Retrospectief	N= 160	APS Triple+	Prevalentie isotypes aCL	94% IgG+ 6% IgM+
Lockshin 2012	Prospectief	N=144	Zwangere vrouwen	Zwangerschapsmorb.	Geen sign. correlatie

Tabel 2. Belang van IgM

Vraag 2: Wat is de klinische relevantie van de aanwezigheid van verhoogde aB2GPI-titers in het antifosfolipidensyndroom en welke zijn de relevante isotypes ?

Trombose Zoghiami-Rintelen et al. vonden bij een populatie LAC-positieve patiënten de correlatie tussen de aanwezigheid van IgG-aBGP1 en trombose (odds ratio=4.0 95% CI 1.2-13.1) en dan vooral veneuze trombose (odds ratio=5.2 95% CI 1.5-18)(20).

Ook de studie van Forastiero wees op de correlatie tussen verhoogde titers aB2GPI en trombose bij LAC positieve patiënten, waarbij aB2GPI uit deze studie als onafhankelijke risico factor van trombose uitkwam ($p < 0.001$) (34).

De Groot et al. concludeerde in zijn *case-control* studie een verhoogd risico op DVT bij de aanwezigheid van aBGP2 (odds ratio=2.4 95% CI 1.3-4.2). (35)

Danowski et al. toonde een correlatie aan tussen (persisterend) verhoogde titers aBPG1 en arteriële en veneuze trombose (resp. odds ratio's van 5.32 CI 1.33-21.2 en 6.37 CI 1.82-22.31). Tevens werd een sterke associatie tussen het voorkomen van LAC en aBGP2 gevonden ($p < 0.0001$)(36).

In een Nederlandse *case-control* studie (zie supra 'LAC') kon Urbanus et al. een tweevoudig verhoogd risico op CVA aantonen, maar geen verhoogd risico op AMI. In diezelfde studie kon tevens opnieuw geen verhoogd risico op zowel AMI als CVA worden aangetoond bij verhoogde titers aCL. (37).

⇒ Verhoogde titers aB2GPI zijn (onafhankelijk) gecorreleerd aan een verhoogd risico op veneuze en arteriële (vooral cerebro-vasculaire-) trombose

Referentie	Type studie	Omvang	Outcome	Besluit
Galli 2003	Systematic review		Trombose Arteriële trombose	17/22 associaties sign. correlatie 5/22 associaties sign. correlatie
Zoghiami 2005	Retrospectief	N= 87	Trombose Veneuze trombose	OR 4.0 , 95% (CI 1.2-13.1) OR 5.2 , 95% (CI 1.5-18.0)
Forastiero 2005	Prospectief	N= 194	Trombose	Onafh. risicofactor $p < 0.001$
de Groot 2005	Case control	N= 743	DVT	OR 2.4 (95% CI 1.3-4.2)
Danowski 2006	Retrospectief	N=418	Arteriële trombose Veneuze trombose	OR 5.32 (95% CI 1.33-21.2) OR 6.37 (95% CI 1.82-22.31)
Urbanus 2009	Case control	N=378	CVA AMI	OR 2.4 (95% (CI 95%1.4-3.7) OR 0.9 (CI 95% 0.5-1.6)

Tabel 3. Correlatie aB2GPI en trombose.

Zwangerschapsmorbiditeit In vergelijking met de studies die verricht zijn met betrekking tot trombose, zijn de studies over zwangerschapsmorbiditeit eerder gering en eerder niet-conclusief.

Een artikel van Faden beschrijft de associatie tussen IgM/IgG-aB2GPI en zwangerschapscomplicaties (vooral pre-eclampsie gerelateerd) (38). In het artikel van Forastiero lijkt enkel IgM-aB2GPI geassocieerd met herhaaldelijke miskramen (39). Terwijl in de NOHA studie IgG-aB2GPI uitkomt als onafhankelijke risicofactor. In de meta-analyse van Opatrny werd een niet-significante correlatie gevonden tussen het voorkomen van medium tot hoge titers IgM/IgG aB2GPI en herhaaldelijke miskramen. Een publicatie van Danowski uit datzelfde jaar kon tevens geen significante correlatie weerhouden tussen de aanwezigheid van aB2GPI en het voorkomen van zwangerschapsmorbiditeit. Tenslotte vond ook Lee in zijn studie geen significante correlatie (40).

⇒ De correlatie tussen verhoogde titers aB2GPI en zwangerschapsmorbiditeit is inconclusief. Het belang van de antistoffen in deze setting moet nog verder onderzocht worden.

Referentie	Type studie	Omvang	Populatie	Outcome	Besluit
Lee 1997	Prospectief	N= 510	Zwangere vrouwen	Kans op eclampsie bij - B2GPI+ - B2GPI-	10% 0.8%
Forastiero 1997	Retrospectief	N= 233		Miskramen bij: IgM aB2GPI IgG aB2GPI	OR 2.6 (95% CI 1.1-6.1) Geen sign. correlatie
Opatrny 2006	Meta-analyse	N=3631		Recidiverende miskramen	OR 3.56 (CI 95% 1.48-8.59)
Tincani 2010	Retrospectief	N= 175	APS	Belang van isotypes bij <i>pure obstetric</i> APS	45% (15/33) IgM+ 15% (5/33)IgG+

Tabel 4. Correlatie tussen B2GPI en zwangerschapsmorbiditeit.

Single positiviteit. Een vaak geciteerde studie betreft deze van Y.E. Lee et al. waarin hij het belang van single-positiviteit van de aPL's nagaat. Hij concludeert dat 9.2% (7/76) van de trombotische events kon worden verklaard door verhoogde aB2GPI in afwezigheid van andere aPL's. (N.B. De correlatie tussen single-positiviteit van LAC en trombose was het grootst met 38.2% (29/85) van de patiënten die een trombotisch event hadden meegemaakt en 11.8% (9/35) van deze patiënten had enkel verhoogde aCL's) (41).

De resultaten Nash et al wijzen erop dat 9.4% (9/96) van de patiënten met klinische Sapporo-criteria enkel verhoogde aB2GPI vertonen in afwezigheid van LAC en verhoogde aCL's. (42)

Ook Ebeling et al. kon het belang van single-positiviteit van aB2PGI aantonen (ongeveer 1.5% of 55/5037). Wanneer deze patiëntengroepen werden vergeleken in functie van aard van het trombo-embolisch event leek vooral bij patiënten met een voorgeschiedenis van DVT van de onderste ledematen of long-embolie een geïsoleerde aB2GPI-stijging voor te komen. Dit wordt in het artikel echter nergens gestaafd aan de hand van cijfermateriaal (43).

Danowksi bekam in zijn studie een percentage van 9.0% (37/418) waarbij enkel aB2GPI (niet verder te specificeren naar subtype) gestegen was. (14)

Een recente studie van Tincani et al. wees uit dat 37% (64/175) van de patiënten die voldeden aan de klinische Sapporo-criteria van het APS single-positiviteit vertoonden. Bovendien leek het in 75% van deze gevallen (49/175) over een geïsoleerde verhoging van aB2GPI te gaan, terwijl verhoogde geïsoleerde titers van LAC en aCL minder voorkwamen (resp. 19% en 6%) (44).

⇒ Tot 28% van de APS gevallen kan verklaard worden door de geïsoleerde aanwezigheid van aB2GPI

Referentie	Type studie	Omvang	Populatie	Outcome	Besluit
Ebeling 2002	Retro-spectief	N=5036	VG trombose/ zwangerschapsmorb	Geïsoleerde IgG B2BGPI	1.5%
Lee 2003	Retro-spectief	N=96	Pt met klinische APS	Geïsoleerde B2GPI	9.2%
Nash 2004	Retro-spectief	N= 96	Pt met klinische APS	Geïsoleerde B2GPI	9.4%
Danowksi	Retro-spectief	N=418	SLE pt met klinische APS	Geïsoleerde B2GPI	9.0%
Tincani 2010	Retro-spectief	N=175	Pt met klinische APS	Geïsoleerde B2GPI	28%
Boffa 2010	Prospectief	N=109	Pt met klinische APS	Geïsoleerde IgM B2BGPI	5%

Tabel 5. Geïsoleerde positiviteit aB2GPI.

Isotype. De rol van de verschillende isotypes van aB2GPI is een belangrijk issue. In de meeste studies werden echter enkel IgG's bestudeerd, of werd geen rekening gehouden met de verschillende isotypes.

In de review van Galli (8) werden in 61% (20/33) en in 47% (7/15) van de bestudeerde associaties een significante correlatie bekomen bij IgG- respectievelijk IgM-aB2GPI.

Forastiero toont in zijn prospectieve studie aan dat enkel het IgG-isotype aB2GPI als een onafhankelijke risicofactor op trombose kan beschouwd worden ($p < 0.01$) (34).

In de WAPS studie van Galli (19) wordt geen significante correlatie aangetoond tussen de aanwezigheid van IgM-aB2GPI en anamnestiche trombo-embolische events of zwangerschapsmorbiditeit.

In de meta-analyse van Opatrny (10) werden twee gewichtige studies gevonden die de correlatie tussen verhoogde IgM aB2GPI en herhaaldelijke miskramen naging. Deze konden echter niet vergeleken worden daar verschillende assays werden gebruikt voor de bepaling van de antistoffen. Bij de ene studie (10-16) werd gebruik gemaakt van een assay met anticardiolipine en gepurificeerde B2GPI en vond geen significante correlatie tussen verhoogde titers en herhaaldelijke miskramen (OR 2.02, 95% CI 0.26-15.96). Bij de andere studie kon de OR moeilijk berekend worden, daar in de controle groep geen miskramen waren opgetreden (10-35).

Ref.	Type studie	Omvang	Outcome	Besluit
Galli 2003	Systematic review		Correlatie met trombose/ zwangerschapsmorb. IgM	47% vd associaties sign. correlatie
Forastiero 2005	Retro-spectief	N=197	Trombose	Enkel IgG als onafh risicofactor p<0.01
Forastiero 1997	Retrospectief	N= 233	Miskramen bij: IgM aB2GPI IgG aB2GPI	OR 2.6 (95% CI 1.1-6.1) Geen sign. correlatie
Opatrny 2004	Meta-analyse	N=3631	Trombose/ zwangerschapsmorb IgM	Geen sign. correlatie
Galli 2007	Retro-spectief	N=107	Trombose/ zwangerschapsmorb IgM	Geen sign. correlatie
Tincani 2010	Retro-spectief	N= 175	Belang van isotypes bij <i>pure obstetric</i> APS	45% (15/33) IgM+ 15% (5/33) IgG+

Tabel 6. Belang van IgM-aB2GPI.

Multi-positiviteit. Y.E. Lee merkte in bovenvermelde studie tevens de correlatie op tussen multi-positiviteit en trombose. In de patiënten waarbij aan twee van de drie laboratorium Sapporo-criteria werd voldaan leek dan vooral aB2GP gecorreleerd te zijn met trombose: bij LAC+/aB2GPI+ patiënten of aCL+/aB2GPI+ patiënten kwam trombose meer voor dan LAC+/aCL+ patiënten (45.8%, 40.1% vs. 21.4%).

Ook de Groot merkte in zijn studie de correlatie tussen de bi-positiviteit van vooral aB2GPI en LAC en trombose op (OR van LAC+/aB2GPI- 3.6 (95% CI 1.2-10.9) naar OR van 10.1 (95% CI 1.3-79.8) bij LAC+/aB2GPI+) (35).

In de studie van Pengo et al. ondervond men een significante correlatie tussen triple-positiviteit van aPL's en veneuze en arteriële trombose (OR 33.3 CI 7.0-157.6). Tevens bleek de combinatie LAC-/aCL+/aB2GPI+ licht significant te correleren met trombo-embolische events (OR 2.2, CI 1.0-5.2, p=0.056) en sterk significant met zwangerschapscomplicaties (OR 10.8, CI 2.9-40.8). Voor andere combinaties werden geen correlaties gevonden (48).

Ook Ruffati et al. onderstreept in zijn studie het belang van multi-positiviteit. Hij bewam OR's van 112.5 (CI 19-957, p<0.001) wat de correlatie tussen triple-positiviteit en trombose betrof, en 16.2 (CI 0.9-292, p<0.01) voor zwangerschapscomplicaties (11).

De resultaten van Galli et al. liggen in dezelfde lijn: zij vond ook een significante correlatie tussen de aCL/B2GPI-positiviteit en trombose (47).

Een follow-up studie van Pengo (12-56 quid) toonde bij 30% een recidief van een trombo-embolisch event bij patiënten met triple-positiviteit, zelfs wanneer zij onder anti-coagulantia-therapie stonden.

Tektodinou (5) kon in zijn studie geen verband aantonen tussen de aanwezigheid van twee positieve APL antistoffen (LAC+aCL+, aB2GPI+aCL+ en LAC+aB2GPI+) en trombose. Wel bekwam hij een significante correlatie met triple-positiviteit en trombose (OR 6.3, 95% CI 1.76-22.54; p 0.005).

Verhoogde titers van meerdere aPL's lijken dus een hoofdrol te spelen in de prognose van APS-patiënten. Reeds in 2002 wordt het belang hiervan onderstreept door Galli die voorstelde APS-patiënten onder te verdelen in vier groepen naargelang hun positiviteit betreffende de aPL (zie *supra* 'aCL'). Heden ten dage bestaat geen strikte richtlijn die betrekking heeft op de risico-stratificatie van APS-patiënten. Uit de literatuur blijkt echter ontegenstrijdig de sterke correlatie tussen triple-positiviteit van de aPL en klinische outcome (m.n. recidiverende trombose en zwangerschapscomplicaties).

Auteur	Studie	Conclusie	
Y.E. Lee (2003)	Retrospectief N=76	LAC+/aB2GPI+	Trombose in 45.8%
		ACL+/aB2GPI+	Trombose in 40.1%
		LAC+/aCL+	Trombose in 21.4%
de Groot (2005)	Case control N=743	LAC+/aB2GPI-	OR 3.6 95% CI 1.2-10.9
		LAC+/aB2GPI+	OR 10.1 95% CI 1.3-79.8
Pengo (2005)		Triple positiviteit	OR 33.3 95% CI 1.2-10.9
		LAC-/B2GPI+/aCL+	OR 2.2 95% CI 1.0-6.2 TROMBOSE
		Andere combinaties	Geen sign. correlatie
Ruffati (2006)	Retrospectief N=600	Triple positiviteit	OR 112.5 95% CI 19-957 TROMBOSE
			OR 16.2 95% CI 0.9-292 MISKRAMEN
Tektonidou (2009)		Duo- positiviteit	=> Geen correlatie
		Triple-positiviteit	OR 6.3 95% CI 1.75-22.54
Pengo (2007)	Prospectief	30% van de patiënten met triple-positiviteit doet een recidief, zelfs wanneer deze patiënten onder anti-coagulantia staan	
Pengo (2010)	Retrospectief	Cumulatieve incidentie van trombotische events bij patiënten met triple+ na 5 jaar is 26.1% (95% CI 22.3-29.6), na 10 jaar 44.6% (95% CI 38.6-49.8)	

Tabel 7. Triple-positiviteit APA.

- ⇒ Multiple-positiviteit betreffende de aPL's hebben een belangrijke prognostische waarde, in het bijzonder triple-positiviteit
- ⇒ Betreffende duo-positiviteit lijkt van de drie merkers aB2GPI de meest doorslaggevende te zijn

N.B. Specificiteit en domein I gerichte aB2GPI

Een groot minpunt aan de aB2GPI-ELISA's is de lage specificiteit. Deze assays detecteren immers alle antilichamen die reageren met B2GPI, zo ook lage-affiniteit antilichamen of antilichamen zonder pro-trombotische eigenschappen. Ook bij niet-APS gerelateerde aandoeningen zoals bepaalde infecties (bijv. EBV) wordt aanwezigheid van aB2GPI in lage titers beschreven (49). Een hogere specificiteit dan aCL wordt echter vermoed op basis van de resultaten van Mc Nally et al. die in zijn studie verhoogde titers van aCL vond bij 6% van 63 tuberculosepatiënten en bij 5% van 42 patiënten die een Klebsiella-infectie doormaakten, terwijl aB2GPI bij beide patiëntengroepen compleet negatief was (50).

Verschillende groepen onderzochten reeds uitvoerig de verschillende epitopen dewelke herkend worden door aB2GPI. Zoals vermeld is B2GPI een polypeptide bestaande uit 5 homologe domeinen, de zogenaamde sushi-domeinen (51). Antilichamen tegen B2GPI kunnen tegen alle 5 domeinen gericht zijn, doch werd recent aangetoond dat enkel de antilichamen gericht op een specifiek epitoom van domein I (anti DI) LAC activiteit heeft. De Laat toonde de correlatie aan tussen aanwezigheid van IgG anti DI en trombose (OR 18.9), terwijl geen correlatie te bekomen was bij antilichamen gericht tegen andere epitopen. Diezelfde auteur kon deze gegevens bevestigen in een multicenter studie waarbij hij tot een odds-ratio van 3.5 kwam (95% CI 2.3-5.4) voor trombose en voor zwangerschapscomplicaties odds ratio van 2.4 (95% CI 1.4-4.3) (23).

Antilichamen gericht tegen het domein I van B2GPI lijken dus meer correlatie te bieden met trombose dan de aB2GPI in huidige vorm en zouden de specificiteit verhogen. In een heel recent artikel van de Groot (53) wordt het belang van deze specifieke anti DI aB2GPI bij de diagnose van het APS benadrukt. Hij schuift deze antistoffen naar voor als mogelijks de enige 'echt' pathogene in kader van het antifosfolipidensyndroom. Dit zou in de diagnose een voordeel bieden in die zin dat de drie assays (LAC, aCL en aB2GPI) zouden kunnen vervangen worden door één assay. De Laat en collega's kwamen recent echter tot de conclusie dat er verschillende types van anti DI antilichamen bestaan, en dat na toevoeging van normaal plasma bepaalde types antistoffen de trombine-vorming in vitro stimuleerden en andere net inhibeerden. (53-2011b): het verhaal is dus complexer dan het lijkt. Grootschalige studies zullen nog moeten uitmaken of zij inderdaad de enige pathogene antistoffen zijn.

3. Wat zijn de praktische implicaties voor de diagnosestelling van het antifosfolipidensyndroom m.a.w. welke testen zullen we onder welke voorwaarden kosten-efficiënt aanbieden aan de clinici?

Voor de diagnose van het APS zijn 5 verschillende bepalingen voorhanden: LAC, IgM- aCL, IgG-aCL, IgM-aB2GPI en IgG-aB2GPI. Voorlopig wordt door het laboratorium van AZ Sint-Jan Brugge enkel de eerste drie testen aangeboden aan de clinici. Echter volgens de richtlijnen, en de resultaten van deze literatuurstudie geldt aB2GP als waardevolle diagnostische merker, en geeft deze belangrijke informatie weer betreffende het risico-profiel van de patiënt.

Voor deze bepaling wordt voorlopig echter nog niet tussengekomen door het RIZIV en worden enkel LAC en I isotype van aCL (IgM of IgG) terugbetaald.

Onderstaande tabel geeft een kostberekening weer betreffende de bepaling van IgM en IgG aB2GPI op Immunocap250 (Thermo Fisher Scientific- NV Phadia).

EliA Beta-Glycoproteine I IgG Well = 14-5532-01 (4 x 12 Wells)	EUR 317,28 excl BTW	EUR 6.61
EliA Beta-Glycoproteine I IgM Well = 14-5533-01 (4 x 12 Wells)	EUR 317,28 excl. BTW	EUR 6.61
Conjugaat: EliA IgG = 83-1017-01 (300 testen)	EUR 394.37	EUR 0.95
Conjugaat EliA IgM = 83-1017-02 (300 testen)	EUR 394.37	EUR 0.95
Totaal per test (- korting Phadia 28%)		EUR 5.44

N.B. De kost van de uitvoerende MLT kan tot het minieme herleid worden aangezien deze testen op hetzelfde moment en dezelfde manier kunnen worden uitgevoerd zoals de aCL (deze worden momenteel ook op de Immunocap250 geanalyseerd).

In de meeste ziekenhuizen waar aB2GPI wordt aangeboden, valt de kost van deze bepaling ten laste van de patiënt. Vaak wordt vanuit het laboratorium gewerkt met diagnoseregels (bijv. enkel aanvragen indien LAC- en aCL-negatief en toch een ernstig klinisch vermoeden). Echter uit deze literatuurstudie blijkt dat een gewichtig deel van de patiënten met het APS single-positiviteit vertoont voor aB2GPI en dat deze antistoffen ook een belangrijke plaats heeft in de risicostratificatie.

Voorstel bepaling aB2GP:

Wanneer? Bij een patiënt met voorgeschiedenis van arteriële en/of veneuze trombose en/of zwangerschapsmorbiditeit zoals beschreven in de klinische criteria (Sydney 2006) waarbij geen andere oorzaak wordt aangetoond:

Wat? LAC, IgM aCL, IgG aCL, IgM B2GPI, IgG B2GPI.

Wanneer? 2 bepalingen van de volledige subset met een interval van 12 weken.

To do/ACTIONS

- Literatuur opvolgen (cfr studies m.b.t. verschillende isotypes, m.b.t. anti-domein I B2GP antilichamen)
- Bespreken met clinici of we deze B2GP-antilichamen zullen aanbieden en hoe we dit zullen tarifieren
- Oppuntstelling validatie van B2GPI-antilichamen op Immunocap250