

LAVORO ORIGINALE

Sindrome da anticorpi antifosfolipidi primaria e iperomocisteinemia: studio di un gruppo di 29 pazienti*

Primary antiphospholipid syndrome and hyperhomocysteinemia: a study of a group of 29 patients

T. Del Ross, A. Ruffatti, M. Tonello, G. Salmistraro, A. Calligaro,
M. Favaro, M. Ciprian, S. Todesco

Cattedra e U.O.C. di Reumatologia, Università di Padova

SUMMARY

Objective. *In order to investigate the potential role of hyperhomocysteinemia as an additional risk factor for thrombotic events, we studied its prevalence in patients with primary antiphospholipid syndrome (APS) and evaluated its association with different clinical features.*

Methods. *We enrolled 29 patients without any current evidence of underlying connective tissue disorder and fulfilling the Sapporo preliminary classification criteria for APS.*

Results. *Ten (34,4%) patients showed mild hyperhomocysteinemia ($18,34 \mu\text{mol/L} \pm 2,04 \text{DS}$). Nine had history of cerebrovascular disease, isolated (3 cases) or more often (6 cases) in association with other APS features. All patients, but one, showed multiple ischemic cerebral lesions. Seven of the 10 patients with hyperhomocysteinemia had multiple antiphospholipid antibody positivity and presented more frequently (6 cases) multidistrictual vascular involvement.*

Conclusions. *The frequency of hyperhomocysteinemia in patients with primary APS is not negligible and appears to be associated with cerebral microangiopathic disease, multiple antiphospholipid antibody positivity and the simultaneous involvement of different vascular districts. For this reason and because hyperhomocysteinemia can be easily corrected with safe and relatively inexpensive therapeutic interventions, we advocate the measurement of homocysteinemia in every patient affected by APS and possibly in subjects with positive antiphospholipid antibody without a history of thrombosis.*

Reumatismo, 2006; 58(4):283-287

INTRODUZIONE

La Sindrome da anticorpi antifosfolipidi (APS), descritta per la prima volta venti anni fa (1), è una malattia autoimmune in cui la positività degli anticorpi antifosfolipidi (aPL) si associa a manifestazioni trombotiche (venose e/o arteriose e/o del microcircolo) e/o a complicanze ostetriche ben definite. Può essere primaria (PAPS) quando si presenta in forma isolata, o secondaria, quando è associata ad un'altra malattia autoimmune. I criteri

preliminari per la classificazione della Sindrome sono quelli convenuti a Sapporo nel corso dell'Ottavo Simposio Internazionale sugli aPL (2).

L'iperomocisteinemia (Hcy) è una condizione, congenita o acquisita, in cui sono presenti elevati livelli plasmatici di omocisteina, aminoacido solforato che deriva dalla metilazione di un aminoacido essenziale, la metionina. A sua volta l'omocisteina è metabolizzata attraverso due vie principali e il suo livello plasmatico può aumentare a causa di mutazioni dei geni che codificano gli enzimi coinvolti nel suo metabolismo o per la carenza di folati, vitamina B12 e B6, utilizzati come co-enzimi e co-substrati. Più spesso l'Hcy è il risultato dell'interazione fra fattori genetici e fattori ambientali.

L'associazione dell'Hcy severa ($>100 \mu\text{mol/L}$) con malattia vascolare aterosclerotica e trombotica è stata vista per la prima volta in pazienti con omocistinuria, una rara malattia genetica caratterizzata

*Lavoro premiato al XLII Congresso Nazionale SIR, Verona 2005

Indirizzo per la corrispondenza:

Dott.ssa Teresa Del Ross

Cattedra e U.O.C. di Reumatologia

Università di Padova

Via Giustiniani, 2 - 35128 Padova

E-mail: teresa.delross@sanita.padova.it

dal deficit dell'enzima cistationina- β -sintetasi. Successivamente numerosi studi epidemiologici hanno messo in relazione anche l'Hcy moderata (30-100 $\mu\text{mol/L}$) e lieve (15-30 $\mu\text{mol/L}$) con un aumentato rischio di malattia trombotica, sia arteriosa che venosa, ma tale associazione, documentata soprattutto da studi di tipo "case-control" e "cross-sectional", non è stata inequivocabilmente confermata dagli studi prospettici (3).

Abbiamo studiato la prevalenza dell'Hcy in un gruppo di pazienti affetti da PAPS e la sua distribuzione in rapporto ai principali impegni clinici, al fine di verificare se anche l'Hcy possa essere annoverata fra i fattori di rischio addizionali nel paziente con aPL e debba quindi essere presa in considerazione nella stratificazione del rischio trombotico. Infatti, secondo una teoria prevalente, nella APS come in altre situazioni di trombofilia, la trombosi sarebbe innescata dalla presenza concomitante di un secondo evento o fattore di rischio (4).

CASISTICA E METODI

Il gruppo studiato era composto da 29 pazienti (pz) affetti da PAPS definita secondo i criteri di Sapporo (2). Le caratteristiche demografiche dei pazienti erano le seguenti:

- sesso: 22 femmine e 7 maschi;
- età media: 49,24 aa \pm 12,77 DS, range 30-71 aa.

Le caratteristiche cliniche suggestive per APS venivano rilevate sulla base dei sintomi clinici e confermate dagli opportuni esami strumentali.

In ogni pz venivano determinati gli anticorpi Lupus Anticoagulant (LA) e anticardiolipina (aCL) β 2 glicoproteina-I dipendenti di classe IgG e IgM. I LA venivano ricercati nei plasmi poveri di piastrine utilizzando una serie di tests emocoagulativi in accordo con le linee guida della Società Internazionale di Trombosi ed Emostasi (5).

Venivano utilizzati come tests di screening il tempo di veleno di vipera Russel (RVVT) ed il tempo di tromboplastina parziale attivata (APTT). I plasmi con allungamento di RVVT e/o APTT erano poi valutati con il test di mixing e, nei plasmi positivi al test di mixing, veniva eseguito il test di conferma. Gli aCL di isotipo IgG e IgM venivano ricercati con un sistema immunoenzimatico in fase solida (ELISA) "home made" in accordo con le direttive del Consensus Europeo (6). Il cut-off, calcolato come media + 2,5 DS dei valori di 100 soggetti sani, era 8,8 GPL (IgG antiphospholipid units) per gli aCL IgG e 9,3 MPL (IgM antiphospholipid

units) per gli aCL IgM. Per entrambi gli isotipi erano arbitrariamente considerati medi i livelli compresi fra 20 e 80 e alti i livelli superiori ad 80.

L'omocisteinemia era determinata con la metodica FPIA (metodo immunoenzimatico a rilevazione con fluorescenza polarizzata). Seguendo le indicazioni della letteratura abbiamo considerato come livelli alti quelli $>100 \mu\text{mol/L}$, come moderati quelli tra 30 e $100 \mu\text{mol/L}$, come lievi quelli fra 15 e $30 \mu\text{mol/L}$.

RISULTATI

Al momento della diagnosi i pz avevano presentato le manifestazioni cliniche riportate nella tabella I. L'interessamento del distretto vascolare venoso si era verificato complessivamente in 16 pz (55,1%), in 6 casi come manifestazione isolata, negli altri 10 unitamente ad altre manifestazioni della APS. Dei 16 pz con precedenti trombosi venose, 12 avevano avuto trombosi venosa profonda (TVP) agli arti inferiori, complicata in 4 casi da embolia polmonare (TEP) ed associata in 3 a tromboflebite superficiale; 3 pz avevano avuto solo tromboflebite superficiale e 1 trombosi dei seni venosi cerebrali. L'interessamento del distretto cerebrovascolare si era verificato complessivamente in 16 pz (55,1%), in 6 come impegno isolato e nei rimanenti 10 congiuntamente ad altre manifestazioni della APS. Cinque pz avevano avuto stroke e 5 avevano presentato uno o più TIA. La RMN cerebrale mostrava lesioni ischemiche anche in altri 6 pazienti, 2 dei quali avevano avuto crisi epilettiche e 4 episodi vertiginosi ricorrenti, associati in un caso a deficit

Tabella I - Distribuzione delle manifestazioni cliniche nei pazienti affetti da PAPS.

Manifestazioni cliniche	N. pazienti	%
Trombosi venosa (TV)	6	20,6
Malattia cerebrovascolare (CVD)	6	20,6
Trombosi arteriosa (TA)	1	3,4
TV + CVD	7	24,1
TV + TA	1	3,4
TV + TA + CVD	2	6,8
Complicanze ostetriche (CO)	5	17,2
CO + CVD	1	3,4

Tabella II - Distribuzione degli aPL nei pazienti con PAPS.

aPL	N. pazienti	%
LA	3	10,3
aCL G medio o alto	6	20,6
aCL M medio o alto	5	17,2
LA + aCL G	7	24,1
LA + aCL M	1	3,4
LA + aCL G + aCL M	4	13,7
aCL G + aCL M	3	10,3

mnesici. Le lesioni ischemiche cerebrali erano multiple in 13 casi e caratterizzate da infarto isolato negli altri 3.

L'interessamento del restante albero vascolare arterioso si era verificato in un totale di 4 pz (13,7%): come impegno esclusivo in un caso, che presentava trombosi arteriosa periferica e infarto polmonare; insieme alle altre manifestazioni della APS negli altri 3 casi, come illustrato in tabella I.

Delle 16 pz di sesso femminile con esperienza di gravidanza, 6 (37,5%) avevano avuto le manifestazioni ostetriche della sindrome, in 5 casi come impegno esclusivo e in una pz insieme ad altre manifestazioni della APS (Tab. I).

La distribuzione degli aPL nei pz è illustrata nella tabella II, dove si può osservare che la positività più frequente, da sola o in associazione, è quella per aCL G, presente in 20 casi (68,9%), seguita da quella per il LA, presente in 15 (51,7%).

L'omocisteinemia risultava aumentata in 10 pz (34,4%). In tutti i casi l'Hcy era lieve (media 18,34 $\mu\text{mol/L} \pm 2,04$ DS, range 15,6-21,9). La distribuzione degli impegni clinici nei pz con Hcy è mostrata nella tabella III (colonna centrale). Nove pz avevano interessamento del distretto cerebrovascolare, 3 in forma isolata, 4 congiuntamente a TVP, un pz insieme a TVP e trombosi arteriosa periferica e una pz insieme a manifestazioni ostetriche. La decima e ultima pz con Hcy presentava TEP e trombosi arteriosa (infarto del miocardio). L'Hcy era presente in 9 dei 16 (56,25%) pz affetti da PAPS con malattia cerebrovascolare. Otto su 9 avevano lesioni ischemiche multiple, associate in 3 casi ad un'area infartuale di maggior dimensione. La nona pz aveva una lesione infartuale isolata. I relativi quadri clinici erano stati: ictus in 3 casi, TIA in 2, crisi epilettiche in 1 ed episodi ricorrenti di vertigini soggettive in 3, associate in un pz a deficit mnesici.

L'Hcy era presente in 6 dei 16 (37,5%) pz con PAPS e impegno del letto vascolare venoso; tuttavia nessun pz presentava l'impegno venoso esclusivo. Infatti in 4 pz vi era associato l'impegno cerebrovascolare, in 1 la trombosi arteriosa e in 1 entrambe le manifestazioni.

Due dei 4 (50%) pz con PAPS e trombosi arteriosa presentavano Hcy; in un caso la trombosi arteriosa era associata a TEP e nell'altro a TVP e lesioni ischemiche cerebrali.

L'unica delle 6 (16,6%) pz con le manifestazioni ostetriche della APS che presentava Hcy, aveva in aggiunta l'interessamento cerebrovascolare.

Per quanto riguarda il profilo anticorpale dei pazienti con Hcy, come illustrato in tabella IV (co-

Tabella III - Distribuzione degli impegni clinici nei pz affetti da PAPS con e senza Hcy.

Manifestazioni cliniche	Hcy+ (10)pz		Hcy-(19)pz	
	n.	%	n.	%
Trombosi venosa (TV)	0		6	(31,5%)
Malattia cerebrovascolare (CVD)	3	(30%)	3	(15,7%)
Trombosi arteriosa (TA)	0		1	(5,2%)
TV + CVD	4	(40%)	3	(15,7%)
TV + TA	1	(10%)	0	
TV+ CVD +TA	1	(10%)	1	(5,2%)
Complicanze ostetriche (CO)	0		5	(26,3%)
CO + CVD	1	(10%)	0	

Tabella IV - Distribuzione degli aPL nei pazienti affetti da PAPS con e senza Hcy.

Manifestazioni cliniche	Hcy +		Hcy -	
	n.	%	n.	%
LA	1	(10%)	2	(10%)
aCL G medio o alto	1	(10%)	3	(15,7)
aCL M medio o alto	1	(10%)	5	(26,3)
LA + aCL G	5	(50%)	3	(15,7)
LA + aCL M	0		1	(5,2)
LA + aCL G + aCL M	2	(20%)	2	(10%)
aCL G + aCL M	0		3	(15,7%)

lonna centrale), la positività riscontrata più frequentemente era data dall'associazione di LA e aCL G, rilevata nel 50% dei casi, mentre in 2 casi (20%) era presente l'associazione di LA, aCL G e aCL M e negli altri 3 (30%) era presente la positività isolata rispettivamente per LA, aCL G e aCL M.

CONCLUSIONI

L'esiguità del gruppo studiato non permette analisi e conclusioni di significatività statistica. L'osservazione dei risultati offre però spunto per alcune considerazioni.

La frequenza dell'Hcy (34,4%) nel nostro gruppo di pazienti non appare trascurabile, considerato che nella popolazione generale è intorno al 5% (7).

Quando si confronta la distribuzione degli impegni clinici con la presenza o meno dell'Hcy, si osserva, come mostra la tabella III, che nei pz con Hcy non sono mai presenti in forma isolata la trombosi venosa, la trombosi arteriosa e le manifestazioni ostetriche. Invece la malattia cerebrovascolare in forma isolata appare lievemente prevalente nei pz con Hcy (30% versus 15,7%). Tale impegno poi prevale nettamente nei pz con Hcy quando è presente insieme ad altri manifestazioni cliniche della APS (60% versus 20,9%). Inoltre va messo in rilievo che in questi pz la RMN cerebrale documentava prevalentemente microlesioni ischemiche multiple; questo suggerisce che l'Hcy possa favorire l'interessamento del microcircolo cerebrale piuttosto che la trombosi dei vasi di calibro maggiore. Tale osservazione risulta in sintonia con quanto è già stato descritto in letteratura nell'Hcy isolata (8).

È interessante sottolineare che il 70% dei pz con Hcy presentava una positività antifosfolipidica multipla che invece era presente solo nel 46,6% dei pz senza Hcy (Tab. IV).

A tal proposito diverse evidenze indicano che la positività multipla è associata con una forma più severa di APS, poiché risulta aumentato il rischio di trombosi (9). I nostri dati suggeriscono che l'Hcy aggiunta alla positività multipla potrebbe favorire la multidistrettualità dell'APS.

Infatti, mentre nel gruppo con Hcy in 6 di 7 pz con positività multipla erano variamente associati la TVP, la malattia cerebrovascolare, la trombosi arteriosa e le complicanze ostetriche, nel gruppo senza Hcy solo 3 di 9 pz con positività multipla avevano un interessamento multidistrettuale, mentre gli altri 6 presentavano l'impegno di un singolo distretto vascolare.

Le nostre osservazioni suggeriscono che nei pz positivi per aPL anche l'Hcy dovrebbe essere considerata tra i fattori di rischio trombotico reversibili (fumo, stato post-operatorio, immobilizzazione prolungata, gravidanza e puerperio, contraccettivi orali e terapia ormonale sostitutiva, etc.) noti come possibile "second it" (fattore o evento scatenante la trombosi) (10). Poiché l'associazione tra Hcy e PAPS non sembra rara e dato che la terapia vitaminica per correggere l'Hcy è poco costosa e ben tollerata, appare ragionevole proporre la determinazione del livello di omocisteinemia nei pz con APS e anche nei soggetti ripetutamente positivi per aPL privi di manifestazioni cliniche di tipo trombotico.

Gli Autori ringraziano il Dott. Eugenio Capodica e il Dott. Francesco Boin per i suggerimenti.

RIASSUNTO

Scopo dello studio è verificare se l'iperomocisteinemia (Hcy) rappresenti un fattore di rischio trombotico addizionale nella Sindrome da anticorpi antifosfolipidi (APS). In un gruppo di 29 pazienti affetti da APS primaria abbiamo riscontrato una prevalenza non trascurabile (34,4%) di Hcy. La correlazione con le manifestazioni cliniche della APS suggerisce che l'Hcy possa favorire l'impegno del microcircolo cerebrale e, in associazione alla positività antifosfolipidica multipla, la multidistrettualità degli impegni vascolari. Dato che l'Hcy è facilmente correggibile con la terapia vitaminica, appare utile il dosaggio dell'omocisteinemia nella APS e anche nei pazienti positivi per anticorpi antifosfolipidi senza manifestazioni trombotiche.

Parole chiave - Anticorpi antifosfolipidi, sindrome da anticorpi antifosfolipidi, iperomocisteinemia.

Key words - *Antiphospholipid antibodies, antiphospholipid syndrome, hyperomocysteinemia.*

BIBLIOGRAFIA

1. Hughes GRV, Harris EN, Gharavi EN. The anticardiolipin syndrome. *J Rheumatol* 1986; 13: 486-9.
2. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC, et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of a international workshop. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 1309-11.
3. Cattaneo M. Hyperomocysteinemia, Atherosclerosis and Thrombosis. *Thromb Haemost* 1999; 81: 165-76.
4. Levine JS, Branch DW, Rauch J. The antiphospholipid syndrome. *N Engl J Med* 2002; 346: 752-63.
5. Brandt JT, Triplett DA, Alving B, Scharrer I. Criteria for diagnosis of lupus anticoagulant: an update. On behalf of the Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibody of the Scientific and Standardisation Committee of the ISTH. *Thromb Haemost* 1995; 74: 1185-90.
6. Tincani A, Balestrieri G, Allegri F, Cinquini M, Viannelli M, Taglietti M, et al. Overview on anticardiolipin ELISA standardisation. *J Autoimmun* 2000; 15: 195-7.
7. Franco Rf, Reitsma PH. Genetic risk factors of venous thrombosis. *Hum Gen* 2001; 109: 369-84.
8. Fassbender K, Mielke O, Bertsch T, Nafe B, Froschen S, Hennerici M. Homocysteine in cerebral macroangiography and microangiopathy. *The Lancet* 1999; 353: 1586-7.
9. Neville C, Rauch J, Kassis J, Chang ER, Joseph L, Le Comte M, et al. Thromboembolic risk in patients with high titre and multiple antiphospholipid antibodies. *Thromb Haemost* 2003; 90: 108-15.
10. Erkan D, Yazici Y, Peterson MG, Sammaritano L, Lockshin MD. A cross-sectional study of clinical thrombotic risk factors and preventive treatments in antiphospholipid syndrome. *Rheumatol* 2002; 41: 924-9.