Αθήνα, 2022

Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών

ΘΡΟΜΒΩΣΗ – ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΑ – ΙΑΤΡΙΚΗ ΤΩΝ ΜΕΤΑΓΓΙΣΕΩΝ

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

«Ο ρόλος των αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων σε ασθενείς με λοίμωξη από τον ιό SARS-CoV-2 και η πιθανή συμμετοχή τους στην παθογένεση θρόμβωσης»

Περίληψη

Η λοίμωξη από τον ιό SARS-CoV-2 περιλαμβάνει ανάμεσα στις κλινικές της εκδηλώσεις μια υπερπηκτική κατάσταση που προσομοιάζει στο αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο (antiphospholipid syndrome-APS), το οποίο χαρακτηρίζεται από θρομβωτικά επεισόδια και παρουσία αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων{antiphospholipid antibodies-(aPL-Abs), συμπεριλαμβανομένου και του LA}. Στους ασθενείς με λοίμωξη COVID-19, έχουν διαπιστωθεί aPL αντισώματα, των οποίων η σχέση με τα θρομβωτικά επεισόδια που παρατηρούνται στη νόσο, όπως και η πορεία τους μέσα στον χρόνο (εμμένουσα ή παροδική), δεν είναι ακόμα πλήρως κατανοητή. Αυτό μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι οι περισσότερες μελέτες στηρίχθηκαν σε μικρό αριθμό ασθενών, στην πλειονότητά τους απαρτίζονταν από ηλικιωμένα άτομα, στα οποία παρατηρείται ούτως ή άλλως αυξημένη παρουσία αυτοαντισωμάτων, τα aPL αντισώματα μετρήθηκαν μόνο σε μια χρονική περίοδο, αντί σε δυο, ενώ παράλληλα δεν

χρησιμοποιήθηκαν και οι ίδιες τυποποιημένες μέθοδοι ανίχνευσης των aPL-Abs από όλους τους ερευνητές. Ο μικρός αριθμός μελετών που επιβεβαίωσε την παρουσία των συγκεκριμένων αντισωμάτων σε δεύτερο δείγμα, ανέδειξε ότι τα επίπεδα των aPL-Abs μεταβλήθηκαν ελάχιστα. Εξαίρεση αποτελούσε το αντιπηκτικό του Λύκου, τα επίπεδα του οποίου μειώθηκαν. Οι διαταραχές πήξης και η υπερπηκτική κατάσταση που παρατηρούνται στην λοίμωξη COVID-19 είναι ένα φαινόμενο ανεξάρτητο της παρουσίας των aPL αντισωμάτων και διαπιστώνονται κυρίως στην έναρξη της νόσου. Η θρόμβωση εμφανίζεται αργότερα στους ασθενείς με παρουσία aPL αντισωμάτων, τα οποία πιθανόν να αποτελούν έναν επιπρόσθετο προθρομβωτικό παράγοντα. Συνοδά, η έλλειψη της Β2 γλυκοπρωτεΐνης (κύριο aPL αντιγόνο, που προκύπτει από μειωμένη παραγωγή αφενός και αυξημένη κατανάλωση αφετέρου), είναι πολύ συχνή στην λοίμωξη COVID-19 και σχετίζεται με μεγαλύτερη προδιάθεση σε επιπλοκές. Θα μπορούσε να αποτελεί επιπλέον προθρομβωτικό μηχανισμό, επαγόμενο από την αναστολή των φυσιολογικών της λειτουργιών, κυρίως της αντιπηκτικής της δράσης. Στην παρούσα εργασία γίνεται ανασκόπηση της βιβλιογραφίας αναφορικά με το ρόλο των aPL αντισωμάτων και τη συμμετοχή τους στην παθογένεση της θρόμβωσης στους ασθενείς με λοίμωξη COVID-19. Παρατίθεται επίσης απλή καταγραφή της παρουσίας aPL αντισωμάτων σε σειρά 50 ασθενών με λοίμωξη COVID-19 από το Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο «ΑΤΤΙΚΟΝ».

Σημεία κλειδιά: COVID-19, θρόμβωση, αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο, αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα, αυτοανοσία, έλλειψη B2GP1

Abstract:

COVID-19 clinical features include a hypercoagulable state that resembles the antiphospholipid syndrome (APS), a disease characterized by thrombosis and presence

of antiphospholipid antibodies (aPL-Abs-including LA). The relationship between aPL-Abs presence and the appearance of thrombi as well as the transience or permanence of aPL-Abs in COVID-19 patients is not sufficiently clear. This could be influenced by the fact that most of the studies carried out were conducted on small populations enriched with elderly patients in which aPL-Abs was measured only at a single point and they were performed with non-standardized assays. The few studies that confirmed aPL-Abs in a second measurement showed that aPL-Abs levels hardly changed, with the exception of the lupus anticoagulant that commonly reduced. COVID-19 coagulopathy is an aPL-Abs independent phenomenon closely associated with the onset of the disease. Thrombosis occurs later in patients with aPL-Abs presence, which is likely an additional prothrombotic factor. B2-glycoprotein deficiency (main aPL antigen caused both by low production and consumption) is very common during the SARS-CoV2 infection and has been associated with a greater predisposition to COVID-19 complications. This could be a new prothrombotic mechanism that may be caused by the blockage of its physiological functions, the anticoagulant state being the most important. In this project, we cite a bibliographical review with the most recent studies concerning the role of aPL-Abs in COVID-19 infection and their involvement in the accompanying thrombotic events of the disease, alongside with reports on a series of 50 patients with COVID-19 infection from ATTIKON General Hospital of Athens, concerning the aPL-Abs occurrence.

Keywords: COVID-19; thrombosis; antiphospholipid syndrome; antiphospholipid antibodies; autoimmunity, B2GP1 deficiency

Ευχαριστίες

Με την ολοκλήρωση της μεταπτυχιακής διπλωματικής μου εργασίας, θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες σε όλους όσους συνέβαλλαν στην εκπόνησή της. Ευχαριστώ θερμά την επιβλέπουσα καθηγήτριά μου, κυρία Κοκόρη Στυλιανή, για την

εμπιστοσύνη που μου έδειξε, αναθέτοντάς μου το συγκεκριμένο θέμα, την επιστημονική της καθοδήγηση, τις υποδείξεις της, την επιμονή της, το αμείωτο ενδιαφέρον και την υποστήριξη που έδειξε από την αρχή μέχρι το τέλος.

Ένα θερμό ευχαριστώ στην κυρία Ευδοξία Ράπτη, τεχνολόγο στο ΠΓΝΑ «ΑΤΤΙΚΟΝ», για την σημαντική της βοήθεια στη συλλογή των περιστατικών και επεξεργασία των δειγμάτων για τα aPL αντισώματα στους ασθενείς με λοίμωξη COVID-19.

Θερμές ευχαριστίες στις υπεύθυνες καθηγήτριες του μεταπτυχιακού προγράμματος, την κα Μαριάννα Πολίτου και την κα Ανθή Τραυλού για τη δυνατότητα που μου έδωσαν να παρακολουθήσω το συγκεκριμένο μεταπτυχιακό πρόγραμμα σπουδών.

Συνοδά θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στην οικογένειά μου και το σύζυγό μου για όλη τη στήριξη, τη συμπαράσταση και την κατανόησή τους, σε όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

Στο σύντροφό μου, Αναστάσιο και στους γονείς μου, Νικόλαο και Καλλιόπη.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΚΥΡΙΩΣ ΚΕΙΜΕΝΟ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

ΑΝΤΙΦΩΣΦΟΛΙΠΙΔΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ (Antiphospholipid Syndrome-APS)

Μηχανισμοί παραγωγής aPL-Abs

Συμπαράγοντες:

- Β2-γλυκοπρωτεΐνη Ι (β2GPI)

- Προθρομβίνη

Η συμβολή των αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων (aPL-Abs) στην παθογένεια του APS:

- Μηχανισμός θρόμβωσης στο APS

- Αλληλεπίδραση των aPL-Abs με τα ενδοθηλιακά κύτταρα

- Η επίδραση των aPL-Abs στην οδό της πρωτεΐνης C

- Ο ρόλος του ιστικού παράγοντα στο APS

Περιβαλλοντικοί παράγοντες που μπορεί να οδηγήσουν σε εμφάνιση aPL-Abs

- Ιογενείς λοιμώξεις

- Βακτηριακές λοιμώξεις

- Συμβιωτικό μικροβίωμα

- Εμβόλια/ Εμβόλια COVID-19 και aPL-Abs

- Φάρμακα

SARS-COV-2 ΚΑΙ COVID-19 ΛΟΙΜΩΞΗ

Υπερπηκτική κατάσταση και οξέα θρομβωτικά επεισόδια από τον ιό SARS-CoV-2

Δείκτες φλεγμονής και έκρηξη κυτταροκινών στη COVID-19 λοίμωξη

ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΦΩΣΦΟΛΙΠΙΔΙΚΩΝ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΣΤΗΝ ΘΡΟΜΒΩΣΗ ΑΠΟ ΤΟΝ ΙΟ SARS-CoV-2

aPL αντισώματα που σχετίζονται με θρόμβωση έναντι εκείνων που ανιχνεύονται μόνο εργαστηριακά

Κατευθυντήριες οδηγίες για τον έλεγχο των aPL αντισωμάτων και οι οριακές τιμές τους

Αποτελέσματα από τη βιβλιογραφική ανασκόπηση: Είναι παρόντα τα aPL αντισώματα στην COVID-19 λοίμωξη?

Συστηματικό σφάλμα στην Βιβλιογραφία

Συχνότητα των aPL-Abs στην COVID-19 λοίμωξη

Επίπεδα aPL αντισωμάτων στους ασθενείς που είναι θετικοί στην λοίμωξη COVID-19

aPL-Abs κλασσικών κριτηρίων (εξαιρώντας το LA)

aPL αντισώματα εκτός κριτηρίων (non-criteria aPL-Abs)

Πολλαπλή θετικότητα στα aPL-Abs

Παραμονή των aPL αντισωμάτων έναντι της παροδικής εμφάνισης

Η παροδική εμφάνιση των aPL-Abs σαν κοινό χαρακτηριστικό σοβαρών ιογενών λοιμώξεων

Η παρουσία aPL αντισωμάτων στους ασθενείς με COVID-19 λοίμωξη αποτελεί παράγοντα κινδύνου για θρόμβωση?

Μέθοδοι καθορισμού των aPL-Abs που εντάσσονται στα κριτήρια

Μέθοδοι καθορισμού των aPL-Abs εκτός κριτηρίων

Μέθοδοι καθορισμού των anti-SARS-CoV-2 αντισωμάτων

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ:

- Συχνότητα aPL-Abs στους ασθενείς με λοίμωξη COVID-19

- Μεταβλητότητα των αντισωμάτων στο χρόνο στους ασθενείς με λοίμωξη COVID-19

- Εξέλιξη της κλινικής εικόνας των ασθενών με λοίμωξη COVID-19

Πρόσφατα δεδομένα-Συνολική ανασκόπηση:

- Συνέπειες των aPL-Abs στην κλινική πράξη, σε ασθενείς με λοίμωξη COVID-19

- Παραμονή των aPL-Abs

- Συζήτηση τελικής ανασκόπησης

- Περιορισμοί της ανασκόπησης

ΑΠΛΗ ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ

ΕΠΙΛΟΓΟΣ

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ (με αλφαβητική σειρά)

Κυρίως κείμενο

Εισαγωγή

Τα έτη 2021-2022, ανέτειλαν με την ελπίδα να κατανικηθεί η πανδημία από τη λοίμωξη COVID-19 (Corona Virus Disease 2019) με την πλήρη εφαρμογή ενός παγκόσμιου εμβολιαστικού πλάνου. Η λοίμωξη αυτή είναι μια λοιμώδης νόσος που προκαλείται από έναν RNA ιό (+ ssRNA), με γονιδίωμα μονόκλωνου RNA θετικής πολικότητας που ονομάζεται «κορονοϊός που προκαλεί το σοβαρό οξύ αναπνευστικό σύνδρομο τύπου 2», γνωστός με το διεθνές όνομα SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome - coronavirus 2). Η έναρξη της έξαρσης της νόσου έγινε στην πόλη Γουχάν της Κίνας το φθινόπωρο του 2019 και γρήγορα επεκτάθηκε σε ολόκληρη την υφήλιο. Η νόσος χαρακτηρίζεται από υψηλά ποσοστά θνησιμότητας και θνητότητας, με πορεία εξαιρετικά απρόβλεπτη και φάσμα εκδηλώσεων που κυμαίνεται από την ασυμπτωματική νόσηση μέχρι την πολύ σοβαρή μορφή της νόσου, με θανατηφόρες επιπλοκές, όπως τη διάχυτη ενδαγγειακή πήξη (DIC) και το σύνδρομο της οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας (ARDS). Οι ηλικιωμένοι, το ανδρικό φύλο και οι χρόνιες συννοσηρότητες αποτελούν παράγοντες κινδύνου με την χειρότερη πρόγνωση.

Η υπερπηκτική κατάσταση με την οποία συνδέεται η λοίμωξη COVID-19 αποτελεί ένα από τα κύρια χαρακτηριστικά της νόσου και επηρεάζει αρνητικά την πρόγνωση. Ενώ

τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα (aPL-Abs) έχουν διαπιστωθεί στον ορό των ασθενών με COVID-19 λοίμωξη, ο ρόλος τους στην δημιουργία της θρόμβωσης είναι ακόμα αβέβαιος. Τα aPL-Abs σχετίζονται με το αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο (APS), μια επίκτητη θρομβοφιλική κατάσταση άνοσης αρχής, που προδιαθέτει είτε σε επαναλαμβανόμενα επεισόδια αρτηριακής και φλεβικής θρόμβωσης είτε σε απώλεια εμβρύου και άλλες γυναικολογικές επιπλοκές. Έχει πολυπαραγοντική αιτιολογία και οι λοιμώξεις αποτελούν έναν από τους περιβαλλοντικούς παράγοντες που μπορούν να πυροδοτήσουν τη νόσο. Η μοριακή μίμηση σαν μηχανισμός, μπορεί να οδηγήσει στη δημιουργία αντισωμάτων, μέσω διασταυρούμενης αντίδρασης μεταξύ μικροβίων και επιτόπων του ιδίου του οργανισμού, συμπεριλαμβανομένων στους επιτόπους και τα συμπλέγματα πρωτεϊνών-φωσφολιπιδίων. Επιπρόσθετα, οι ασυμπτωματικοί και οι μη θεραπευμένοι ασθενείς με προ-υπάρχοντα aPL-Abs, μπορούν μέσω λοιμώξεων να αναπτύξουν μια εξαιρετικά φλεγμονώδη κατάσταση και να εκδηλώσουν APS, ένα σενάριο που είναι δυνατό να αναπτυχθεί ακόμα και μετά από οποιοδήποτε εμβολιασμό, συμπεριλαμβανομένων σαφώς και των εμβολίων έναντι του SARS-CoV-2. Η παρούσα εργασία αφορά σε ανασκόπηση της βιβλιογραφίας πάνω στις τρέχουσες εξελίξεις για τη συμμετοχή των aPL αντισωμάτων στη θρόμβωση που προκαλεί η λοίμωξη COVID-19.

Αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο (APS)

Ως αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο (APS), σύμφωνα με την ανασκόπηση των Ε.Βριτσάλη/Χ.Αντωνιάδη, «ορίζεται το σύνδρομο της μέσω αντισωμάτων μεσολαβούμενης θρόμβωσης, που χαρακτηρίζεται από το συνδυασμό κυκλοφορούντων αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων (aPL-Abs), αγγειακών θρομβώσεων ή/και πολλαπλών εμβρυϊκών αποβολών/επιπλοκών κύησης.

Είναι αυτοάνοσο νόσημα που μπορεί να προσβάλει οποιοδήποτε ιστό ή όργανο του σώματος με πιο συχνές θέσεις θρόμβωσης τις εν τω βάθει φλέβες των κάτω άκρων και το αρτηριακό δίκτυο του εγκεφάλου.

Για τον χαρακτηρισμό του APS, σύμφωνα με τα αναγνωρισμένα κριτήρια ταξινόμησης Sapporo (revised Sapporo classification criteria), απαιτείται ένα θετικό αποτέλεσμα για ένα ή περισσότερα από τα κλασσικά αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα (aPL-Abs): {το IgG ή IgM αντίσωμα έναντι της καρδιολιπίνης [aCL] ή/και το IgG ή IgM αντίσωμα έναντι της β2 γλυκοπρωτεϊνης I [aβ2GPI] ή/και το αντιπηκτικό του λύκου [LA]}, και ένα κλινικό κριτήριο όπως: ένα επεισόδιο θρόμβωσης ή συγκεκριμένες επιπλοκές της κύησης (Πίνακας 1/2).

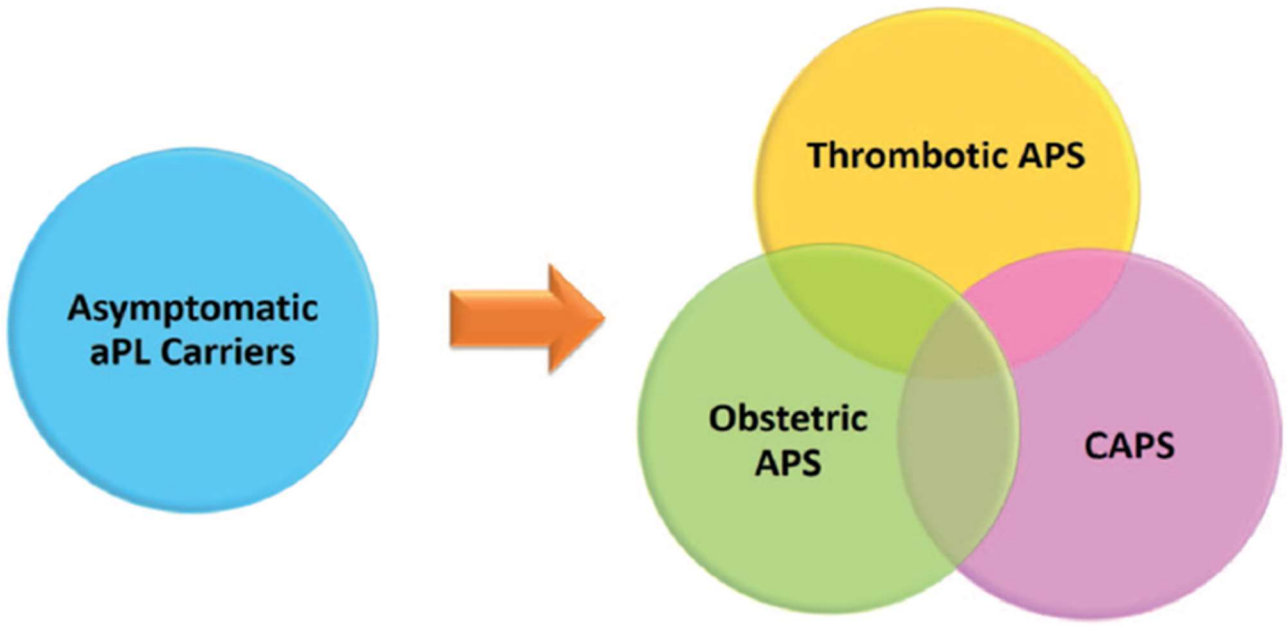
Εκτός από τις θρομβώσεις και τις επιπλοκές της κύησης έχουν περιγραφεί και άλλες κλινικές εκδηλώσεις, όπως η εμμένουσα θρομβοπενία, η αιμολυτική αναιμία, η δικτυωτή πελίωση, η APS νεφροπάθεια και οι διαταραχές μνήμης, οι οποίες αναφέρονται ως «εκδηλώσεις εκτός κριτηρίων» (non-criteria or extra-criteria manifestations)».

Table 1: Clinical manifestations of antiphospholipid syndrome.	
Items	**Clinical manifestations**
Vascular thrombosis	Arterial thrombosis, venous thrombosis, small-vessel thrombosis
Pregnancy morbidities	Three consecutive miscarriages before the 10th week of gestation, fetal death after the 10th week of gestation, preterm delivery due to preeclampsia/eclampsia or intrauterine growth restriction
"Non-criteria" clinical manifestations	Persistent thrombocytopenia, livedo reticularis/racemosa, autoimmune hemolytic anemia, cardiac valve disease, skin ulcers, APS nephropathy, cognitive dysfunction, chorea, seizure disorder, longitudinal myelitis

Table 2: Classification criteria for antiphospholipid syndrome.	
Laboratory criteria	**Clinical criteria**
The presence of antiphospholipid antibodies on ≥2 occasions ≥12 weeks apart: a) Presence of lupus anticoagulant in plasma b) Medium- to high-titer anti-cardiolipin antibodies of IgG or IgM isoforms c) Medium- to high-titer anti-beta-2 glycoprotein I antibodies of IgG or IgM isoforms	Vascular thrombosis: ≥1 clinical episode of arterial, venous, or small-vessel thrombosis Pregnancy morbidity: a) ≥1 unexplained death of a morphologically normal fetus at ≥10 weeks of gestation b) ≥1 premature delivery of a morphologically normal fetus at <34 weeks gestation because of: *i)* Severe preeclampsia or eclampsia defined according to standard definition *ii)* Recognized features of placental insufficiency c) ≥3 unexplained consecutive miscarriages at <10 weeks gestation, with maternal and paternal factors (anatomic, hormonal or chromosomal abnormalities) excluded

Πίνακας 1/2: Κλινικές εκδηλώσεις και κριτήρια του αντιφωσφολιπιδικού συνδρόμου (UpToDate)

Το APS ταξινομείται σε πρωτοπαθές, που συμβαίνει de novo, σε δευτεροπαθές, όπου συνδέεται με άλλο υποκείμενο αυτοάνοσο νόσημα, όπως τον Συστηματικό Ερυθηματώδη Λύκο (ΣΕΛ) και τελευταία στο καταστροφικό APS (CAPS), το οποίο χαρακτηρίζεται από πολυοργανική ανεπάρκεια με σημαντικά μεγάλη θνησιμότητα, εξαιτίας πολλαπλών αποφρακτικών συμβαμάτων στα αγγεία της μικροκυκλοφορίας και αποτελεί το 1% του APS.



Εικόνα 1: Επικαλυπτόμενο κλινικό φάσμα του APS

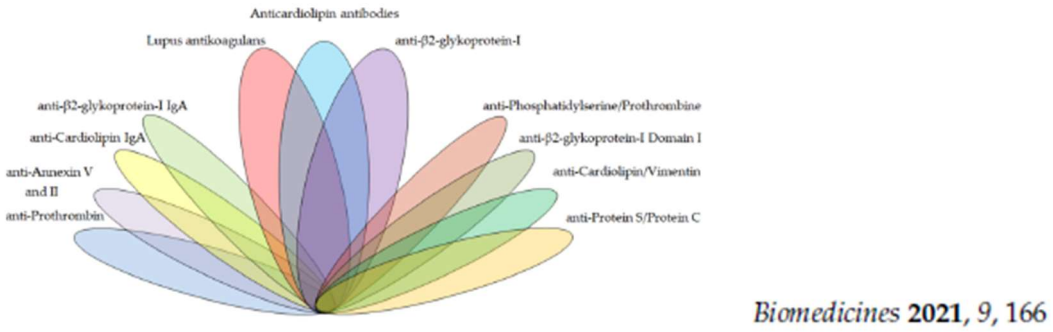
Συνολικά, τα aPL αντισώματα (aPL-Abs) ανευρίσκονται στο 1-5% του πληθυσμού, δεν αναπτύσσουν όμως όλοι APS. Ο επιπολασμός του είναι 50 περιπτώσεις ανά 100.000 πληθυσμό και η ετήσια επίπτωσή του 2,1 ασθενείς ανά 100.000 πληθυσμό.

Μέσα από μελέτες παρατήρησης, τα aPL-Abs διαπιστώθηκαν στο 13% των ασθενών με αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, στο 11% των ασθενών με ισχαιμία μυοκαρδίου και στο 9,5% των ασθενών με εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση.

«Τα aPL-Abs μπορεί να ανιχνευθούν είτε μέσω φωσφολιπιδο-εξαρτώμενων δοκιμασιών πήξης, όπου εμφανίζονται ως μη ειδικοί αναστολείς της, όπως το αντιπηκτικό του λύκου (LA), είτε μέσω ανοσολογικών μεθόδων κυρίως λόγω της ικανότητάς τους να συνδέονται με σταθεροποιημένη σε κυτταρικές μεμβράνες (ακινητοποιημένη) καρδιολιπίνη (CL), και για το λόγο αυτό ονομάζονται και αντικαρδιολιπινικά αντισώματα (aCL-Abs). Εργαστηριακές μελέτες που αφορούν στην κάθαρση συγγένειας των aCL-Abs οδήγησαν στην ανακάλυψη ότι σε αντίθεση με τον

προτεινόμενο όρο «αντιφωσφολιπιδικά», τα αυτοαντισώματα αυτά δεν συνδέονται με τα αρνητικά φορτισμένα φωσφολιπίδια της κυτταρικής μεμβράνης per-se, αλλά με πρωτεΐνες-μεσολαβητές (συμπαράγοντες, cofactors), που με τη σειρά τους συνδέονται με τα ανιοντικά φωσφολιποειδή όταν αυτά εκτίθενται στην επιφάνεια της κυτταρικής μεμβράνης των κυττάρων του πλάσματος ή των ενδοθηλιακών κυττάρων.

Η β2-γλυκοπρωτείνη Ι (β2GPI) φαίνεται να είναι ο πιο σημαντικός συμπαράγοντας στην παθογένεια του APS, αφού θεωρείται κύριος αντιγονικός στόχος των aCL-Abs. Τα αντισώματα με δραστηριότητα αντιπηκτικού του λύκου, βρέθηκε ότι στρέφονται είτε έναντι της β2GPI, είτε έναντι της προθρομβίνης της συνδεόμενης με ανιοντικά φωσφολιποειδή. Έχουν περιγραφεί και άλλες φωσφολιπιδοσυνδετικές πρωτεΐνες ως αντιγονικοί στόχοι των aPL, όπως η πρωτείνη C, η πρωτείνη S, η HMWK και η αννεξίνη V».



Εικόνα 2: Πιθανοί αντιγονικοί στόχοι των αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων

Biomarkers	Methods	Reference
Lupus anticoagulant (LA)	DRVVT aPTT	Liu [24], Choi [25], Pengo [66], Linnemann [68]
Anti-β2-glycoprotein-I (anti-β2GPI) IgG, IgM	ELISA EliA CLIA MFFIA MLDA LIA	Miykis [16], Liu [24], Misasi [27], Serrano [39] Vanouverchelde [78], Bor [79], Chayoua [83] Janek [33], Chayoua [83], Salma [84] Chayoua [83], Chayoua [85], Grossi [86] Misasi [27], Bevers [87], Egerer [88] Park [65], Egerer [88], Thaler [89], Roggenbuck [90], Nalli [91]
Anti-cardiolipin (aCL) IgG, IgM	ELISA EliA CLIA MFFIA MLDA LIA	Miykis [16], Liu [24] Vanouverchelde [78], Bor [79], Chayoua [83] Janek [33], Chayoua [83], Salma [84] Chayoua [83], Chayoua [85], Grossi [86] [Misasi [27], Bevers [87], Egerer [88] Park [65], Egerer [88], Thaler [89], Roggenbuck [90], Nalli [91]
Anti-β2-glycoprotein-I domain I (anti-DI)	ELISA CLIA	Serrano [39] Slavik [40]
Anti-β2-glycoprotein-I IgA	ELISA EliA CLIA MFFIA	Ruiz-Garcia [44], Vlagea [45] Chayoua [46] Chayoua [46] Chayoua [46]
Anti-cardiolipin IgA	CLIA	Liu [24]
Anti-prothrombin (anti-PT) Anti-phosphatidylserine/prothrombin (anti-PS/PT)	ELISA	Liu [24], Shi [54]
Anti-annexin V Anti-annexin II	ELISA	Canas [57]
Anti-cardiolipin/vimentin (aCL/Vim)	ELISA	Ortona [58]
Anti-protein S/protein C (anti-PS/PC)	LIA	Arachchillage [59]
Anti-phosphatidic acid (anti-PA) Anti-phosphatidylserine (anti-PS) Anti-phosphatidyletanolamine (anti-PE) Anti-phosphatidylinositol (anti-PI) Anti-phosphatidylcholine (aPC) Anti-phosphatidylglycerol (aPG) Anti-lyso-bis-phosphatidic acid (anti-LBPA) Anti-mixture of phospholipids (APhL)	ELISA LIA	Castanon [64] Park [65]

Biomedicines **2021**, *9*, 166

Πίνακας 3: Σύνοψη των διαθέσιμων μεθόδων για την ανίχνευση των βιοδεικτών.

Μηχανισμοί παραγωγής των aPL αντισωμάτων

Η παραγωγή των aPL-Abs αποτελεί σύνθετη και άγνωστη διαδικασία και περιλαμβάνει μια πολυπαραγοντική αλληλεπίδραση μεταξύ γενετικής προδιάθεσης και περιβαλλοντικών παραγόντων.

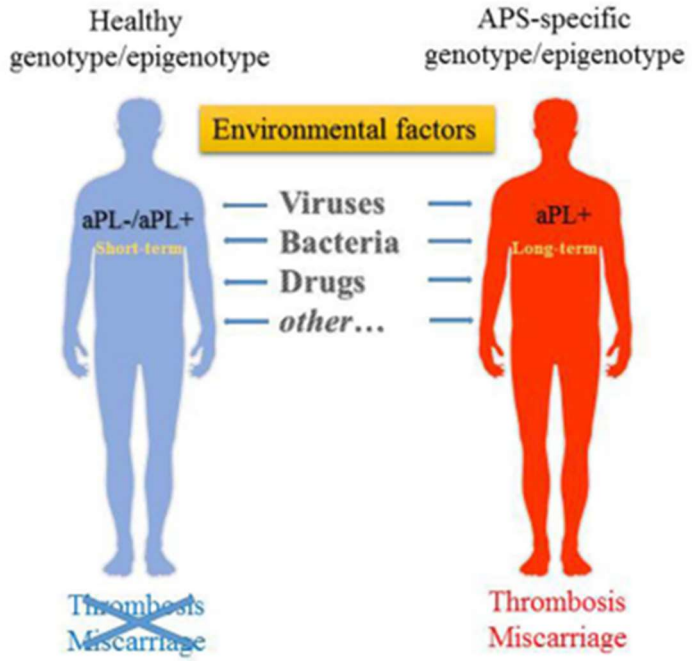
Οι λοιμογόνοι παράγοντες οδηγούν στην παραγωγή aPL-Abs μέσω: αντιγόνο-εξαρτώμενων μηχανισμών, όπως της μοριακής μίμησης (molecular mimicry) ή μέσω ενός αντιγόνο-ανεξάρτητου τρόπου, όπως η διάσπαση της ανοσολογικής ανοχής λόγω της φλεγμονής.

Η μοριακή μίμηση θεωρείται η πιο επικρατούσα αιτιολογία για την συσχέτιση των λοιμώξεων με τις κλινικές εκδηλώσεις που προκαλούνται από τα aPL-Abs και το APS. Αντιπροσωπεύει ένα «φαινόμενο ομοιότητας», ως προς τη δομή και τη λειτουργία, των αντιγόνων του ξένου οργανισμού και του ξενιστή. Σαν αποτέλεσμα, η αυτό-ανοχή περιορίζεται και η ανοσιακή απάντηση που είναι ειδική για ένα συγκεκριμένο παθογόνο, στρέφεται και εναντίον αντιγόνων του οργανισμού. Υπάρχουν ισχυρά στοιχεία ότι η δομή ιών και βακτηρίων παρουσιάζει εξαιρετική ομολογία με πεπτίδια που προέρχονται από την β2GPI, συμβάλλοντας έτσι στην επιλογή των Τ και Β κυττάρων που συμμετέχουν στις διασταυρούμενες αντιδράσεις.

Οι λοιμώξεις μπορούν να προκαλέσουν δομικές αλλαγές στην β2GPI οδηγώντας στην δημιουργία anti-β2GPI αντισωμάτων. Συγκεκριμένα, η β2GPI φάνηκε να αλληλεπιδρά με την πρωτεΐνη επιφανείας Η του πυογόνου στρεπτόκοκκου, εκθέτοντας έναν κρυμμένο επίτοπο της περιοχής Ι της β2GPI και πυροδοτώντας έτσι την παραγωγή aPL-Abs. Επιπλέον, η τροποποίηση των καθοριστικών αντιγόνων του ξενιστή μετά από κάποια ιστική βλάβη και η δημιουργία νέο-επιτόπων, μπορεί να οδηγήσει στην μοριακή μίμηση. Η φλεγμονή μπορεί να παίζει ρόλο στην τροποποίηση των πρωτεϊνών, επάγοντας την δημιουργία νέο-επιτόπων, οι οποίοι αναγνωρίζονται από τα αντισώματα ως ξένα. Στο πλαίσιο ενεργοποίησης του έμφυτου ανοσιακού συστήματος και ενός

προφλεγμονώδους περιβάλλοντος, η αλληλεπίδραση της β2GPI με ανιοντικά PL, μπορεί να οδηγήσει στην εμφάνιση νέων επιτόπων στα Τ κύτταρα, που δεν παρατηρούνται κανονικά σε μη αυτό-ανοσοποιημένα άτομα, αλλά φαίνεται να είναι αποτέλεσμα τροποποίησης των μονοπατιών παρουσίασης των αντιγόνων.

Στον καταρράκτη της φλεγμονής, το οξειδωτικό στρες είναι ένας μηχανισμός κλειδί που επηρεάζει την μετα-μεταγραφική τροποποίηση των πρωτεϊνών και/ή μεταβάλλει τη διπλοστιβάδα της μεμβράνης μέσω της υπεροξείδωσης των λιπιδίων της. Επιπρόσθετα, δραστικές μορφές οξυγόνου μπορεί να ενισχύσουν την ανοσογονικότητα της β2GPI. Υψηλά επίπεδα κυκλοφορούντων συμπλεγμάτων οξειδωμένης χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης και β2GPI (oxLDL/B2GPI), αναγνωρίζονται από τα anti-β2GPI και φάνηκε να σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο αρτηριακής θρόμβωσης σε ασθενείς με APS και ΣΕΛ.



Εικόνα 3: Περιβαλλοντικοί παράγοντες που μπορούν να επάγουν την δημιουργία aPL-Abs. Η παραγωγή των aPL-Abs μπορεί να προκληθεί και σε άτομα με γενετική προδιάθεση και σε

άτομα χωρίς κάποιο παθολογικό υπόβαθρο. Η μακρά παραμονή των aPL-Abs σε άτομα με γενετικό υπόβαθρο μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη του APS.

Επιπρόσθετα, πολλές μελέτες αναφέρουν ότι αντισώματα έναντι της υπομονάδας I της β2GPI (anti-DI), σχετίζονται με έναν ιδιαίτερα αυξημένο κίνδυνο θρόμβωσης και σε μικρότερο βαθμό, με επιπλοκές εγκυμοσύνης. Αυτό συμβαίνει ιδιαίτερα στους ασθενείς με τριπλή θετικότητα στα aPL-Abs, όπου έχουν τον υψηλότερο κίνδυνο θρόμβωσης και τις πιο σοβαρές μορφές APS.

Ένας από τους μηχανισμούς που είναι υπεύθυνοι για το υψηλό ποσοστό θρόμβωσης είναι η αυξημένη έκφραση του ιστικού παράγοντα (TF) των μονοκυττάρων, μεσολαβούμενη από τα αντι-DI αντισώματα. Τα δεδομένα αυτά είναι λίγο αμφιλεγόμενα και υπάρχει ακόμα αμφιβολία για το αν θα προσέθετε στην προγνωστική αξία των τεστ για τα κλασσικά aPL-Abs, η ανίχνευση anti-DI αντισωμάτων ή όχι.

Ανιοντικές ενώσεις που έχουν την ικανότητα να συνδέονται με την β2GPI, φαίνεται να αποτελούν ένα δυναμικό παίκτη στον παθογόνο φαύλο κύκλο παραγωγής αντι-β2GPI στο APS. Το μοντέλο που προτείνεται είναι το εξής: η πρόσληψη μέσω του FcγRI των μακροφάγων, των συμπλεγμάτων β2GPI/anti-β2GPI/ανιοντικών επιφανειών, οδηγεί στην αναγνώριση και παρουσίαση των β2GPI κρυπτικών επιτόπων. Η επακόλουθη ενεργοποίηση των β2GPI δραστικών CD4+ T κυττάρων πυροδοτεί την παραγωγή αντι-β2GPI από τα B κύτταρα, καθιερώνοντας έναν αυτό-ανανεούμενο κύκλο.

Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, τα οξειδωμένα μόρια LDL, που είναι φωσφολιπίδια που εκφράζονται στα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια ή παρουσιάζονται πάνω σε αποπτωτικά σωματίδια, μπορούν δυναμικά να λειτουργήσουν ως πηγή ανιοντικών επιφανειών, που δημιουργούν σταθερά συμπλέγματα με τη β2GPI και οδηγούν σε παραγωγή aPL αντισωμάτων με τον μηχανισμό που περιγράφηκε παραπάνω.

Τα αποπτωτικά κύτταρα μπορούν επίσης να λειτουργήσουν ως ανοσογόνοι παράγοντες και να επάγουν την παραγωγή aPL-Abs. Από την άλλη πλευρά, η διαρκής έκθεση των αντιγονικών περιοχών-στόχων, από τα αποπτωτικά κύτταρα, μπορεί να προάγει την αυτοανοσία μέσω της διατήρησης της φλεγμονής, ιδιαίτερα στα πλαίσια υψηλής ιντερφερόνης γ (IFN).

Παρά τους μηχανισμούς αυτούς, δεν είναι ακόμη ξεκάθαρος ο τρόπος με τον οποίο τα aPL-Abs προκαλούν θρόμβωση και γυναικολογικές επιπλοκές. Έχει προταθεί η θεωρία των 2 κτυπημάτων, όπου τα aPL-Abs και η όλη προπηκτική κατάσταση (πρώτο κτύπημα/first hit), μπορούν να προκαλέσουν θρομβωτικά φαινόμενα μόνο με την παρουσία ενός φλεγμονώδους δεύτερου ερεθίσματος (second hit), όπως είναι το τραύμα, η αγγειακή βλάβη, το χειρουργείο, η εγκυμοσύνη, η ηλικία, η υπέρταση, ο διαβήτης, η παχυσαρκία.

Η αιτιολογία του APS αποδίδεται στην αλληλεπίδραση γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων. Αυτές οι αλληλεπιδράσεις, που διαδραματίζονται σε επιγενετικό επίπεδο, μπορούν να πυροδοτήσουν αυτοάνοσες εκδηλώσεις. Οι επιγενετικές μεταβολές μπορούν να ρυθμίσουν τις λειτουργίες των CD4+, CD8+ και Β κυττάρων και φαίνεται να οδηγούν στην ωρίμανση αυτής της υψηλής συγγένειας ανταπόκρισης των αντισωμάτων.

Βλέπουμε επομένως, ότι περιβαλλοντικοί πυροδοτικοί παράγοντες όπως βακτήρια, ιοί, συμβιωτικά βακτήρια, εμβόλια, φάρμακα και άλλοι παράγοντες είναι δυνατόν να παράγουν ένα ευρύ φάσμα aPL αντισωμάτων και να προκαλέσουν APS με διάφορους μηχανισμούς, σε ασθενείς με γενετική προδιάθεση. Τα aPL-Abs όμως που εμφανίζονται μετά από λοιμώξεις, είναι παροδικά και δεν συνοδεύονται από τις κλινικές εκδηλώσεις του APS, όπως είναι η θρόμβωση.

Ας εξηγήσουμε όμως περισσότερο τον μηχανισμό της «διπλού κτυπήματος/double hit» που εμπλέκεται στην παθογένεια του APS:

Σύμφωνα με τα όσα αναφέρονται στην ανασκόπηση των Ε. Βριτσάλη / Χ. Αντωνιάδη, «η αρχική ενεργοποίηση (first hit), έγκειται σε μία αρχική βλάβη που έχει σαν αποτέλεσμα την έκφραση αρνητικά φορτισμένων φωσφολιποειδών στην επιφάνεια κυττάρων του αίματος (αιμοπετάλια, μονοκύτταρα), στα ενδοθηλιακά κύτταρα ή στους τροφοβλάστες. Τα δυνητικά αντιδραστικά αυτά φωσφολιποειδή καλύπτονται από φωσφολιπιδο-συνδετικές πρωτεΐνες όπως η β2GPI και η προθρομβίνη. Επί υπάρξεως αντισωμάτων εναντίον των φωσφολιπιδοσυνδετικών αυτών πρωτεϊνών, τα τελευταία συγκεντρώνονται στην κυτταρική επιφάνεια, συνδέονται μέσω του Fc τμήματός τους με τον υποδοχέα των κυττάρων FcγRII και επάγουν ισχυρές διεργασίες που προάγουν τη θρόμβωση, όπως απελευθέρωση ADP, σεροτονίνης και μικροκυστιδίων, βιοσύνθεση TXA2, έκφραση ιστικού παράγοντα και εκτόπιση της ενδοθηλιακής θειικής ηπαρίνης (αντιπηκτική ουσία επιφάνειας ενδοθηλιακών κυττάρων). Φαίνεται ότι αυτή η στενή κυτταρική σύνδεση των aPL εμπλέκεται περισσότερο στην παθογένεια των θρομβώσεων στο APS, από την αλληλεπίδραση αντισώματος aPL-αντιγόνου.»

Συμπαράγοντες (cofactors)

1. Β2-γλυκοπρωτεΐνη Ι (β2GPI)

«Η β2GPI είναι μία υψηλά γλυκοζυλιωμένη πρωτεΐνη μονής αλύσου στο πλάσμα (200μgr/mL), που αποτελείται από 5 ομόλογες υπομονάδες (sushi-domains). Σε φυσιολογικές συνθήκες η β2GPI είναι ένα ασθενές αντιπηκτικό, γιατί μπορεί να αναστείλει τις φωσφολίπιδο-εξαρτώμενες αντιδράσεις της αιμόστασης, ανταγωνιζόμενη τους παράγοντες πήξης που εξαρτώνται από τη βιταμίνη Κ, ΙΙ, VII, IX και Χ, έχει όμως χαμηλή συγγένεια σύνδεσης για τις φυσιολογικές φωσφολιπιδικές επιφάνειες της κυτταρικής μεμβράνης. Οι φυσιολογικά προάγουσες την πήξη φωσφολιπιδικές επιφάνειες περιέχουν χαμηλές συγκεντρώσεις αρνητικά φορτισμένων φωσφολιπιδίων. Από πειραματικές μελέτες αναδείχθηκε ότι η συγγένεια σύνδεσης της β2GPI αυξάνεται για τα ανιοντικά φωσφολιποειδή, όπως η καρδιολιπίνη, η

φωσφατιδυλοσερίνη, η φωσφατιδυλοϊνοσιτόλη, όταν αυτά εκφράζονται στην επιφάνεια της μεμβράνης των κυττάρων κατόπιν ενεργοποίησης ή απόπτωσης αυτών. Η σύνδεση της β2GPI με τα αρνητικά φορτισμένα φωσφολιποειδή γίνεται μέσω μιας θετικά φορτισμένης αλληλουχίας αμινοξέων (cys281-cys288) που βρίσκεται στην 5η υπομονάδα του μορίου της β2GPI. Όμως, η συγγένεια σύνδεσης των παραγόντων πήξης για τις ίδιες ανιοντικές φωσφολιποειδικές επιφάνειες είναι δύο ή και τρεις φορές μεγαλύτερη.

Τα δεδομένα αυτά βοηθούν στην κατανόηση του γεγονότος ότι η β2GPI είναι από μόνη της μια πολύ ασθενής αντιπηκτική πρωτεΐνη.

Διάφοροι ερευνητές, απέδειξαν πειραματικά ότι η συγγένεια σύνδεσης της β2GPI με τις ανιοντικές φωσφολιποειδικές επιφάνειες αυξάνεται δραματικά παρουσία αντισωμάτων αντι-β2GPI με κυρίως LA δραστηριότητες. Αυτή η ισχυρή σύνδεση φάνηκε να εξαρτάται από την ικανότητα των αντισωμάτων αυτών να σχηματίζουν σταθερά δισθενή συμπλέγματα (1 αντίσωμα με 2 μόρια β2GPI) πάνω στη φωσφολιποειδική επιφάνεια. Ο προτεινόμενος μηχανισμός με τον οποίο το αντίσωμα (αντι-β2GPI-LA) σχηματίζει σταθερά δισθενή συμπλέγματα (1Ab-2β2GPI) πάνω στη φωσφολιπιδική επιφάνεια είναι ο ακόλουθος: Η ελεύθερη β2GPI ή και τα μονοσθενή συμπλέγματα β2GPI-Ab που σχηματίζονται στην κυκλοφορία συνδέονται με χαμηλή συγγένεια πάνω σε αρνητικά φορτισμένη φωσφολιπιδική επιφάνεια, όπως συμβαίνει στις ενεργοποιημένες κυτταρικές μεμβράνες. Σε αυτές τις επιφάνειες, η κινητικότητα της β2GPI είναι μεγάλη, αφού η σύνδεσή της βασίζεται σε ιοντικές αλληλεπιδράσεις. Τα aPL-Abs μπορεί επίσης να σχηματίσουν χαμηλής συγγένειας μονοσθενή συμπλέγματα με τη β2GPI τη συνδεόμενη με τα φωσφολιπίδια. Σε συνάρτηση με τον αναγνωρίσιμο επίτοπο, την κινητικότητα της αρθρωτής περιοχής του αντισώματος, την πυκνότητα της συνδεδεμένης β2GPI και την κινητικότητά της, σχηματίζονται σταθερά δισθενή συμπλέγματα. Είναι κατανοητό ότι τέτοια δισθενή συμπλέγματα παραμένουν «στερεώς

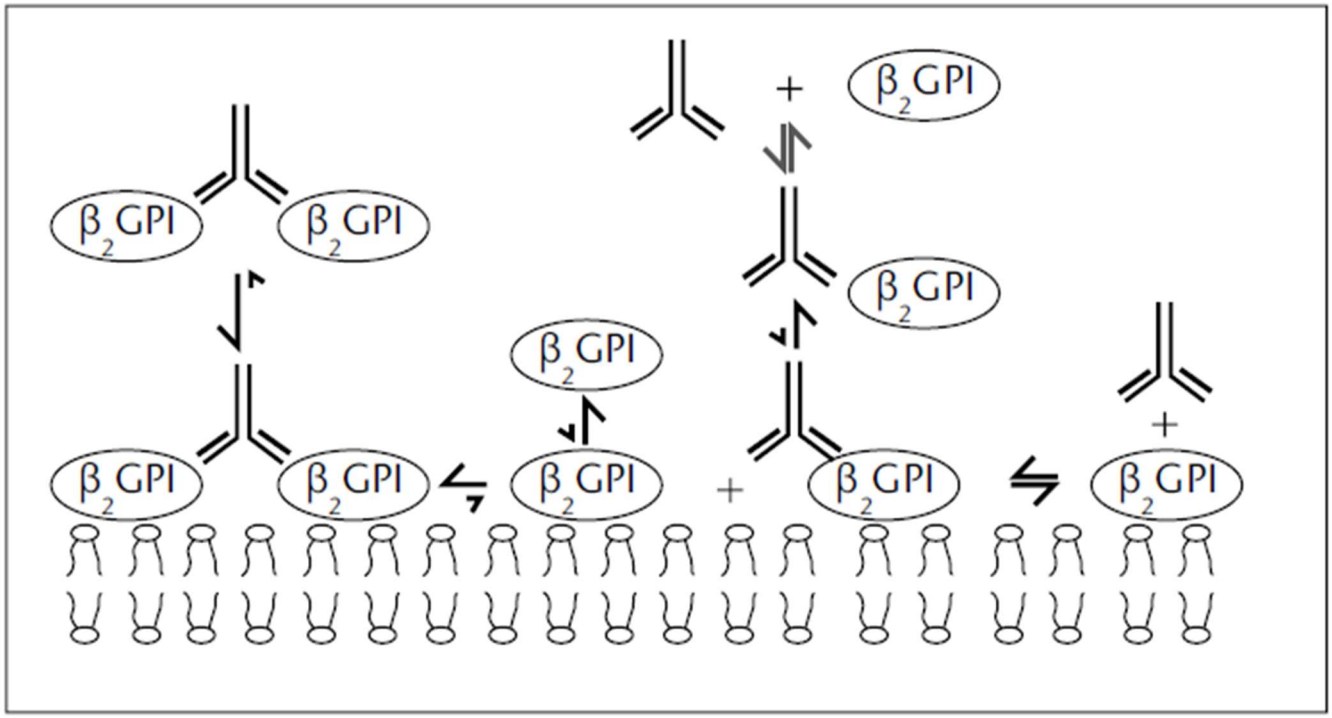
προσκολλημένα» στις μεμβράνες των ενεργοποιημένων κυττάρων και διευκολύνουν περαιτέρω τη θρόμβωση, προάγοντας την ενεργοποίηση των κυττάρων είτε μέσω αλληλεπίδρασής τους με τον Fc κυτταρικό υποδοχέα είτε με το σύστημα του συμπληρώματος.

Ένας άλλος προβληματισμός που τέθηκε είναι το πως τα aPL εμφανίζουν αντι-β2GPI δραστηριότητα, ενώ η σύνδεσή τους με την κυκλοφορούσα β2GPI στο πλάσμα είναι φτωχή λόγω χαμηλής συγγένειας σύνδεσής τους με αυτή. Έτσι αναπτύχθηκαν και στηρίχθηκαν πειραματικά δύο θεωρίες, οι οποίες δεν αποκλείουν αναγκαστικά η μία την άλλη. Κοινή βάση και των δύο είναι ότι τα aPL συνδέονται με τη δεσμευμένη στην καρδιολιπίνη β2GPI ή σε κάποιο άλλο ανιοντικό φωσφολιποειδές της κυτταρικής μεμβράνης.

Σύμφωνα με την πρώτη θεωρία της «αλλαγής διαμόρφωσης» (conformational alterations), η σύνδεση της β2GPI με τα ανιοντικά φωσφολιποειδή έχει ως αποτέλεσμα αλλαγή στη διαμόρφωση του μορίου β2GPI στο χώρο και έκφραση νέων επιτόπων ή έκφραση «κρυμμένων» επιτόπων.

Οι «κρυμμένοι» αυτοί επίτοποι βρίσκονται στην 4η υπομονάδα, είναι συνήθως καλυμμένοι από την 3η υπομονάδα και απαιτείται αλλαγή της διαμόρφωσης του μορίου της β2GPI για να αποκαλυφθούν και να αναγνωρισθούν από ειδικά αντισώματα.

Σύμφωνα με τη δεύτερη θεωρία της «αντιγονικής πυκνότητας» (antigenic density), η συσσώρευση ή η αυξημένη πυκνότητα ακινητοποιημένων αντιγόνων, όπως μπορεί να συμβεί στις επιφάνειες ενεργοποιημένων κυττάρων τα οποία εκφράζουν ανιοντικά φωσφολιποειδή, και η συσσώρευση μορίων β2GPI, επιτρέπει δισθενή ή και πολυσθενή σταθερή σύνδεση των aPL επιτρέποντάς τους έτσι να δράσουν τοπικά (εικόνα 4).



Εικόνα 4: Προτεινόμενος μηχανισμός με τον οποίο η β2GPI εξαρτώμενη από το LA σχηματίζει σταθερά συμπλέγματα στις φωσφολιπιδικές μεμβράνες. Arnout J. Thromb Haemost 1998; 79:79-86.

2. Προθρομβίνη

Η προθρομβίνη, μία άλλη φωσφολιπιδο-συνδεόμενη πρωτεΐνη, προτάθηκε για πρώτη φορά ως ο πιθανός συμπαράγοντας για το LA από τον Loeiiger το 1959. Από τότε, πολλές ερευνητικές ομάδες, χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της διασταυρούμενης ανοσοηλεκτροφόρησης, απέδειξαν την παρουσία συμπλεγμάτων προθρομβίνης-αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων σε μεγάλο (70%) ποσοστό LA (+) ασθενών.

Πολύ αργότερα οι Horbach και συν. περιέγραψαν ότι η πλειοψηφία των LA (+) δειγμάτων αντιπροσωπευόταν από ένα συνδυασμό αντισωμάτων με ειδικότητα για την προθρομβίνη και τη β2GPI, προτείνοντας έτσι ότι η ανίχνευση ειδικών αντισωμάτων έναντι της προθρομβίνης (αPT) μπορεί να εμποδίζεται από την πιθανή παρουσία αντι-β2GPI αντισωμάτων στο ίδιο δείγμα πλάσματος.

Η προθρομβίνη είναι μια γλυκοπρωτεΐνη μονής αλύσου που παράγεται στο ήπαρ. Ο ρόλος της στην πήξη αρχίζει όταν αυτή συνδέεται με τα ανιοντικά φωσφολιποειδή της κυτταρικής μεμβράνης ενδοθηλιακών ή κυττάρων του πλάσματος και υπό την επίδραση της τενάσης (xa+v+ca) μετατρέπεται σε θρομβίνη, ένα ισχυρό πρωτεολυτικό ένζυμο που πυροδοτεί τον πολυμερισμό του ινωδογόνου σε ινική. Επιπρόσθετα, η θρομβίνη συνδέεται με τη θρομβομοδουλίνη πάνω στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων και ενεργοποιεί την πρωτεΐνη C, η οποία με τη σειρά της ασκεί την αντιπηκτική της δραστηριότητα αποδομώντας τον παράγοντα V και καταστέλλοντας έτσι το σύμπλεγμα της τενάσης, στερώντας το με τον τρόπο αυτό από τον πιο σημαντικό του συμπαράγοντα. Λόγω αυτής της αρνητικής αμφίδρομης (feedback) οδού προθρομβίνης-θρομβίνης, η προθρομβίνη συμπεριφέρεται έμμεσα και ως αντιπηκτικό. Υπάρχουν πολλές ασάφειες όσον αφορά τα ανοσολογικά χαρακτηριστικά και τους μηχανισμούς δράσης των αPT. Για τη συμπεριφορά των αPT έχει προταθεί κάτι ανάλογο με αυτή των αντι-β2GPI. Τα αPT μπορεί να στρέφονται έναντι «κρυμμένων» ή νεο-επιτόπων που εκφράζονται όταν η προθρομβίνη συνδέεται με τα ανιοντικά φωσφολιποειδή, όμως είναι δυνατό χαμηλής συγγένειας αντισώματα (αPT) να συνδέονται δισθενώς με την ακινητοποιημένη προθρομβίνη στις ανιοντικές φωσφολιπιδικές επιφάνειες.

Όσο αφορά τον παθογενετικό ρόλο των aPT στην υπερπηκτική κατάσταση του APS, έχουν προταθεί κάποιοι μηχανισμοί δράσης τους στα ενδοθηλιακά κύτταρα:

1) Τα aPT αναστέλλουν τη θρομβινο-μεσολαβούμενη απελευθέρωση προστακυκλίνης από τα ενδοθηλιακά κύτταρα.

2) Τα aPT αναστέλλουν τη θρομβινο-μεσολαβούμενη ενεργοποίηση της πρωτεΐνης C πάνω στα ενδοθηλιακά κύτταρα.

3) Με βάση τη θεωρία της «διπλής ενεργοποίησης/ double hit», μετά από κάποια βλάβη ή σήμα ενεργοποίησης, τα ενδοθηλιακά κύτταρα εκφράζουν ανιοντικά φωσφολιποειδή στην επιφάνεια τους.

Η προθρομβίνη, ως φωσφολιπιδοσυνδετική πρωτεϊνη, συνδέεται με αυτά στην κυτταρική επιφάνεια. Κυκλοφορούντα aPT αναγνωρίζουν τα συμπλέγματα αυτά και συνδέονται μαζί τους. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα ενεργοποιούνται επάγοντας την απελευθέρωση προθρομβωτικών ουσιών όπως η TXA2, ο ιστικός παράγων (TF) και το ADP, με επακόλουθη ενεργοποίηση του μηχανισμού πήξης, συσσώρευση αιμοπεταλίων και θρόμβωση.

4) Τα aPT μπορεί να αυξάνουν τη χημική συγγένεια σύνδεσης της προθρομβίνης με τα ανιοντικά φωσφολιποειδή και το σύμπλεγμα aPT-PT ή πιθανώς να ανταγωνίζονται τη σύνδεση άλλων παραγόντων της πήξης στη διαθέσιμη φωσφολιποειδική επιφάνεια, έχοντας ως αποτέλεσμα την παράταση των δοκιμασιών πήξης, η οποία μπορεί να διορθωθεί με την προσθήκη φωσφολιπιδίων. Αυτό το in vitro φαινόμενο μπορεί να αποδοθεί με το εξής in vivo σενάριο:

Τα φωσφολιπιδο-συνδετικά συμπλέγματα (aPT-προθρομβίνης) ελαττώνουν τη συγκέντρωση της προθρομβίνης ή την έκταση της φωσφολιπιδικής επιφάνειας για τη δράση της τενάσης, οδηγώντας έτσι σε μια υπερπηκτική κατάσταση και επακόλουθα σε προδιάθεση για θρομβώσεις.

Η συμβολή των αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων (APL-Abs) στην παθογένεια του APS

Μια σειρά υποθέσεων έχει διατυπωθεί για τη διευκρίνηση του πιθανού ρόλου των αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων (aPL-Abs) στην παθογένεια των θρομβωτικών επεισοδίων. Φαίνεται όμως ότι τα κύρια επίπεδα αλληλεπίδρασης των aPL-Abs είναι:

1. η επιφάνεια των αιμοπεταλίων

2. η επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων

3. η επιφάνεια των μονοκυττάρων

4. το αντιπηκτικό σύστημα των πρωτεϊνών C και S

5. το ινωδολυτικό σύστημα

6. η παραγωγή εικοσανοειδών

1. Μηχανισμός θρόμβωσης στο APS σχετιζόμενος με την επιφάνεια των αιμοπεταλίων

Ανάμεσα στους υποτιθέμενους μηχανισμούς που εμπλέκονται στην παθογένεια του APS, τα αιμοπετάλια θεωρούνται ως ένας πολλά υποσχόμενος δυνητικός στόχος των κυκλοφορούντων aPL-Abs στην πρόκληση της μέσω αντισωμάτων μεσολαβούμενης θρόμβωσης. Τα αιμοπετάλια παίζουν κεντρικό ρόλο στην πρωτογενή αιμόσταση, με την προσκόλλησή τους στο κατεστραμμένο κυτταρικό τοίχωμα (το οποίο εκφράζει στην επιφάνειά του μόρια κολλαγόνου), την ακόλουθη ενεργοποίησή τους με απελευθέρωση κοκκίων, αλλαγή σχήματος και επαναδιάρθρωση της εξωτερικής φωσφολιπιδικής μεμβράνης τους, μετατρέποντάς τα σε υψηλού βαθμού προπηκτικές επιφάνειες.

Εδώ πρέπει να διευκρινίσουμε ότι η φυσιολογική αιμοπεταλιακή μεμβράνη είναι ένα διπλό φωσφολιπιδικό στρώμα με τη φωσφατιδυλοχολίνη στην εξωτερική επιφάνεια του στρώματος και τα ανιοντικά αμινοφωσφολιποειδή, όπως η φωσφατιδυλοσερίνη, στην εσωτερική επιφάνεια. Όταν ενεργοποιούνται τα αιμοπετάλια από κάποιο αγωνιστή (π.χ. κολλαγόνο, θρομβίνη), τότε συμβαίνει μια διαστρωματική μετακίνηση (flip-flop) των ανιοντικών φωσφολιποειδών, από την έσω προς την έξω επιφάνεια της μεμβράνης, προσφέροντας μια σημαντική καταλυτική επιφάνεια στη διεργασία της πήξης. Η έκταση της έκφρασης των ανιοντικών φωσφολιποειδών στην επιφάνεια της μεμβράνης των αιμοπεταλίων εξαρτάται από τον ενεργοποιητή των αιμοπεταλίων, το ιονισμένο ασβέστιο είναι ο πιο ισχυρός ενεργοποιητής, ακολουθούν δε κατά σειρά ισχύος, το σύμπλεγμα του συμπληρώματος C5b-9, το κολλαγόνο και η θρομβίνη, ενώ το ADP και

η επινεφρίνη είναι πολύ ασθενείς ενεργοποιητές. Διάφορες μελέτες έδειξαν ότι η σύνδεση των aPL-Abs στην αιμοπεταλιακή μεμβράνη είναι υψηλότερη στα ενεργοποιημένα ή κατεστραμμένα αιμοπετάλια, σε αυτά δηλαδή που εκφράζουν ανιοντικά φωσφολιποειδή στην επιφάνειά τους, και μάλιστα, ότι κάποιοι αγωνιστές, όπως το κολλαγόνο, μπορεί να είναι πιο ικανοί ενεργοποιητές των αιμοπεταλίων κατά τρόπο που τα καθιστά πιο αντιδραστικά στα aPL-Abs απ' ό,τι άλλοι αγωνιστές όπως το ADP.

Σύμφωνα με τη θεωρία του «διπλού κτυπήματος», η πιο πιθανή εξήγηση για την προθρομβωτική δραστηριότητα των aPL-Abs με αντι-β2GPI δραστηριότητα σχετιζόμενη με τα αιμοπετάλια περιλαμβάνει αρχικά την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων από κάποιο τοπικό γεγονός, όπως μια μικρού βαθμού βλάβη του ενδοθηλίου, με έκφραση υπενδοθηλιακού κολλαγόνου - ενός ισχυρού αγωνιστή των αιμοπεταλίων. Το παραπάνω γεγονός συνεπάγεται διαστρωματική μετακίνηση ανιοντικών φωσφολιποειδών στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων και σύνδεση σε αυτά μορίων β2GPI ή άλλων συμπαραγόντων. Η σύνδεση αυτή συνεπάγεται αλλαγές στη διαμόρφωση του μορίου της β2GPI και έκφραση «κρυπτικών» ή νεο-επιτόπων ή ακόμη και μεγάλη πυκνότητα μορίων β2GPI πάνω στην ανιοντική φωσφολιποειδική επιφάνεια των αιμοπεταλίων. Έτσι, αυξάνεται η χημική συγγένεια των aPL-Abs για το σύμπλεγμα β2GPI/ανιοντικά φωσφολιποειδή, αλλά ταυτόχρονα ενισχύεται και η σύνδεση της β2GPI πάνω στις φωσφολιπιδικές επιφάνειες σχηματίζοντας σταθερά δισθενή συμπλέγματα. Αυτή η στενή και σταθερή σύνδεση οδηγεί στο «δεύτερο κτύπημα», κατά τη διάρκεια του οποίου τα aPL-Abs αλληλεπιδρούν μέσω του Fc τμήματός τους με τους FcγRII υποδοχείς επιφάνειας των αιμοπεταλίων. Η ενεργοποίηση των FcγRII έχει ως αποτέλεσμα την περαιτέρω ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, που εκφράζεται με την παραγωγή TXA2, την έκκριση περιεχομένου των κοκκίων όπως Ca++, σεροτονίνης, παράγοντα VIII (FVIII), θρομβοσπονδίνης, PDF4, ADP και άλλων

ουσιών που προάγουν την περαιτέρω προσκόλληση, τη συσσώρευση και την ενεργοποίηση και άλλων αιμοπεταλίων για το σχηματισμό πρωτογενούς θρόμβου.

Μια άλλη εκδοχή του «δεύτερου κτυπήματος» υποστηρίζει ότι η σταθεροποίηση συμπλεγμάτων β2GPI/aPL-Abs πάνω στις επιφάνειες των αιμοπεταλίων μπορεί να ενεργοποιήσει το συμπλήρωμα κατά Fc-εξαρτώμενο τρόπο, το οποίο με τη σειρά του προκαλεί ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων.

2. Αλληλεπίδραση aPL-Abs με τα ενδοθηλιακά κύτταρα

Ανάμεσα στους προτεινόμενους μηχανισμούς με τους οποίους τα aPL-Abs μπορεί να προκαλέσουν δημιουργία θρόμβου θεωρήθηκε και η αλληλεπίδρασή τους με ένα άλλο εμπλεκόμενο στη διεργασία της πήξης κύτταρο, το ενδοθηλιακό κύτταρο (ΕΚ). Το ενδοθήλιο θεωρείται πλέον ως η κύρια περιοχή όπου λαμβάνει χώρα η ρύθμιση της αιμόστασης. Το φυσιολογικό ενδοθήλιο δεν επάγει τη διεργασία πήξεως, τουναντίον βοηθά στη διατήρηση της ρευστότητας του αίματος απελευθερώνοντας θρομβομοδουλίνη, θειική ηπαρίνη, πρωτεΐνη S και ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (tPA). Όταν το φυσιολογικό ενδοθήλιο διαταράσσεται, τότε χρησιμεύει ως μία επιφάνεια η οποία μπορεί να υποστηρίξει πολλά στάδια στον καταρράκτη της πήξης, παράγοντας ιστικό παράγοντα και αναστολέα του ενεργοποιητού του πλασμινογόνου (PAI) και εκφράζοντας ειδικές θέσεις σύνδεσης για αρκετούς παράγοντες πήξης. Όλα αυτά τα προθρομβωτικά συμβάντα μπορεί να μετατοπίσουν την αιμοστατική ισορροπία προς την κατεύθυνση του σχηματισμού θρόμβου. Η μετατροπή ενός φυσιολογικού αντιθρομβωτικού ενδοθηλίου σε προθρομβωτική επιφάνεια μπορεί να είναι ένας από τους παθογενετικούς μηχανισμούς πρόκλησης του υπερπηκτικού status στο APS. Τα ερωτήματα που προκύπτουν είναι εάν και με ποιον τρόπο συνδέονται τα aPL-Abs με τα ενδοθηλιακά κύτταρα και ποιες είναι οι μορφολογικές αλλαγές που επάγουν τα aPL-Abs στα ενδοθηλιακά κύτταρα.

Από πειραματικές μελέτες αναδείχθηκε ότι δεν υπάρχουν ειδικοί φωσφολιπιδικοί επίτοποι διαθέσιμοι στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων -είτε αυτά βρίσκονται σε ηρεμία είτε είναι ενεργοποιημένα και εκφράζουν ανιοντικά φωσφολιποειδή στην επιφάνειά τους- μέσω των οποίων τα aPL-Abs να μπορούν να ασκήσουν την αντιενδοθηλιακή τους δραστηριότητα. Αποδείχθηκε όμως ότι στο APS ανιχνεύονται αυτοαντισώματα έναντι μιας ετερογενούς οικογένειας δομικών πρωτεϊνών της μεμβράνης των ενδοθηλιακών κυττάρων, ασχέτων με τους ως τώρα γνωστούς φωσφολιπιδικούς επίτοπους, τα AECA (anti-endothelial cells antibodies).

Τα AECA μπορεί να συνυπάρχουν με τα aPL-Abs στο APS ως ξεχωριστός υποπληθυσμός αντισωμάτων. Το 1995, ο Del Papa και συν. απέδειξαν για πρώτη φορά ότι η β2GPI είναι αυτή που μεσολαβεί για τη σύνδεση των aPL-Abs με τα ΕΚ και ότι η ενδοθηλιακή προσκόλλησή της είναι αυτή που προσφέρει τους κατάλληλους επιτόπους για τα αντι-β2GPI aPL, είτε δημιουργώντας διαθέσιμους υψηλής πυκνότητας ανοσογονικούς επίτοπους είτε αναδεικνύοντας «κρυμμένους» επιτόπους.

Η β2GPI συνδέεται με το ενδοθήλιο μέσω μίας θετικά φορτισμένης αλληλουχίας αα Cys281-288 που βρίσκεται στην 5η υπομονάδα του μορίου της, όμως δεν είναι ξεκάθαρο σε ποιο δομικό συστατικό της ενδοθηλιακής μεμβράνης συνδέεται.

Το πιο συνηθισμένο μέσω aPL αντισωμάτων-μεσολαβούμενο θρομβο-αποφρακτικό επεισόδιο στο APS συμβαίνει στο κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ), προτείνοντας έτσι μία εκλεκτική ευαισθησία του αγγειακού ενδοθηλίου του ΚΝΣ στα aPL-Abs. Υπάρχουν πολλά στοιχεία που υποστηρίζουν την ετερογένεια των ενδοθηλιακών κυττάρων από όργανο σε όργανο όσον αφορά τα αντιγονικά χαρακτηριστικά τους, την έκκριση προσταγλανδινών, την έκφραση των μορίων προσκόλλησης και τη θρομβογόνο δραστηριότητά τους. Από πειραματικές μελέτες που έγιναν αναδείχθηκε ότι τα μονοκλωνικά αντισώματα έναντι β2GPI (mo Abs anti β2GPI) είχαν σημαντικότερα αυξημένη δραστηριότητα σύνδεσης σε εγκεφαλικά ενδοθηλιακά

κύτταρα απ' ό,τι σε ενδοθηλιακά κύτταρα ομφαλικής φλέβας, προτείνοντας έτσι μια μεγαλύτερη τάση προσκόλλησης β2GPI στα εγκεφαλικά ενδοθηλιακά κύτταρα. Επίσης αναδείχθηκε ότι η προσκόλληση της β2GPI στις κυτταρικές μεμβράνες των ενδοθηλιακών κυττάρων είναι ένα φαινόμενο κοινό τόσο της μικροκυκλοφορίας όσο και της μακροκυκλοφορίας του ΚΝΣ και ότι η σύνδεση των αντισωμάτων στον προσκολληθέντα συμπαράγοντα είναι ικανή να ενεργοποιήσει τα ενδοθηλιακά κύτταρα της μικροκυκλοφορίας. Η ενεργοποίηση του ενδοθηλίου από τα aPL-Abs έγκειται στη μετατροπή του από ένα φυσιολογικό αντιπηκτικό ενδοθήλιο σε μία επιφάνεια προσκόλλησης (προθρομβωτική επιφάνεια). Φάνηκε λοιπόν ότι τα ΕΚ τα συνδεόμενα με aPL-Abs παρουσιάζουν μια αυξημένη έκφραση μορίων προσκόλλησης ICAM-1, VCAM-1, E selectin και αυξημένη έκκριση προφλεγμονωδών κυτταροκινών. Επιπλέον, η αλληλεπίδραση των aPL-Abs με την αννεξίνη V (μια φωσφολιποειδο-συνδετική πρωτεΐνη στα ανιοντικά φωσφολιποειδή της μεμβράνης των ΕΚ) οδηγεί σε «ρήξη» της προστατευτικής ασπίδας της αννεξίνης V, επιτρέποντας έτσι στα ανιοντικά φωσφολιποειδή να ενεργοποιήσουν την πήξη. Τα aPL-Abs φαίνεται ότι δεν επηρεάζουν τον ενδοθηλιακό μεταβολισμό της PGJ2 και ότι η διαταραχή της ισορροπίας PGJ2/TxA2 στο APS συνδέεται περισσότερο με την αυξημένη έκκριση της TXA2, παρά με την ενδοθηλιακή PGI2 ως προδιαθεσικού παράγοντα θρόμβωσης.

3. Η επίδραση των aPL-Abs στην οδό της πρωτεΐνης C

Γνωρίζουμε σήμερα ότι τα aPL-Abs είναι μια ετερογενής ομάδα αυτοαντισωμάτων τα οποία μεσολαβούν στις φωσφολιπιδοεξαρτώμενες διεργασίες της πήξης. Παραδόξως, η παρουσία τους στο πλάσμα είναι μέγιστος παράγοντας κινδύνου για την ανάπτυξη αρτηριακών ή φλεβικών θρομβώσεων και όχι αιμορραγικής διάθεσης, όπως θα αναμένονταν όταν οι δοκιμασίες πήξης είναι παρατεταμένες. Για την ερμηνεία του παραδόξου αυτού αναπτύχθηκαν διάφορες θεωρίες αλληλεπίδρασης των aPL-Abs,

κυρίως με το αντιπηκτικό σύστημα της πρωτεΐνης C. Οι ελκυστικότερες απ' αυτές εστιάζονται:

1. Στην aPL μεσολαβούμενη επίκτητη αντίσταση στην ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C

2. Στην aPL μεσολαβούμενη διαταραχή της ισορροπίας στο παράδοξο φαινόμενο της θρομβίνης.

Αναλυτικότερα, όσο αφορά στην πρώτη θεωρία της επίκτητης αντίστασης στην ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C, ένας μεγάλος αριθμός δημοσιεύσεων αναφέρει ότι τα aPL-Abs αναστέλλουν τη σύνδεση των πρωτεινών C και S στα ανιοντικά φωσφολιποειδή, εμποδίζοντας έτσι τη δραστηριότητά τους και μάλιστα ότι τα aPL-Abs απαιτούν το φωσφολιποειδές P/E (φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη) για να εκφράσουν δραστηριότητα αντι-πρωτεΐνης C. Είναι γνωστό ότι μια μικρή ελάττωση στην αντιπηκτική δραστηριότητα της πρωτεΐνης-C είναι μείζων κίνδυνος θρομβώσεως. Μια άλλη, όχι αρκετά μελετημένη, άποψη είναι αυτή της παρουσίας αυτοαντισωμάτων έναντι του παράγοντα Va. Τα αυτοαντισώματα αυτά, όμως, δεν επηρεάζουν την προθρομβωτική δραστηριότητά του, αλλά προστατεύουν τον ενεργοποιημένο παράγοντα Va από την αποδόμησή του από την ενεργοποιημένη πρωτεΐνη-C.

Όσο αφορά στη θεωρία της aPL μεσολαβούμενης διαταραχής του παράδοξου φαινομένου της θρομβίνης, τα aPL-Abs αναστέλλουν το σχηματισμό θρομβίνης, δηλαδή του ενεργοποιητού της πρωτεΐνης-C. Το 1993 ο Hanson και συν. εισηγήθηκαν τη θεωρία του «παραδόξου της θρομβίνης» σύμφωνα με την οποία, η θρομβίνη ασκεί αντιπηκτική αλλά και προπηκτική δραστηριότητα σε συνάρτηση με τη συγκέντρωσή της. Έτσι, όταν σχηματίζονται μικρές ποσότητες θρομβίνης αυτή ενεργοποιεί την πρωτεΐνη-C και έτσι θεωρείται αντιπηκτικός παράγοντας. Όταν σχηματίζονται μεγαλύτερες ποσότητες θρομβίνης, τότε η ουσία αυτή μετατρέπει το ινωδογόνο σε ινική και ενεργοποιεί τους παράγοντες V και VIII, ασκώντας έτσι την προθρομβωτική

της δράση. Όταν σχηματίζονται μεγάλες ποσότητες θρομβίνης, τότε ενεργοποιούνται οι TAFI και XIII παράγοντες έχοντας μία αντιινωδολυτική απάντηση.

Η θεωρία για την προθρομβωτική δραστηριότητα των aPL-Abs σχετίζεται με την πρωτεΐνη-C, βασίζεται δε στη γνωστή δράση της πάνω στο σχηματισμό της θρομβίνης. Υπό φυσιολογικές συνθήκες κυκλοφορούν μικρές ποσότητες θρομβίνης, γεγονός που σημαίνει διαρκή ενεργοποίηση πρωτεΐνης-C. Μετά από κάποια αγγειακή βλάβη, θα υπάρχει ανεπαρκής ποσότητα κυκλοφορούσης πρωτεΐνης-C για να εμποδίσει τον ανεξέλεγκτο σχηματισμό θρόμβου. Έτσι τα aPL-Abs μπορεί να οδηγήσουν την αιμοστατική ισορροπία σε ένα περισσότερο προθρομβωτικό status.

Εν κατακλείδι, η ανεπάρκεια της πρωτεΐνης-C έχει συσχετισθεί με τη θρόμβωση στο φλεβικό κυρίως σκέλος, αν και η εξωγενής χορήγηση APC (active prot. C) μπορεί να προλάβει τις αρτηριακές θρομβώσεις σε πειραματόζωα. Το ερώτημα που προκύπτει είναι το κατά πόσο τα ίδια αντισώματα είναι υπεύθυνα και για τις αρτηριακές και τις φλεβικές θρομβώσεις. Το ασφαλές συμπέρασμα πάντως είναι ότι η αλληλεπίδραση aPL-μηχανισμού δράσης πρωτεΐνης C μπορεί να εξηγήσει σε μεγάλο βαθμό τις φλεβικές θρομβώσεις στους ασθενείς με APS.

4. Ο ρόλος του ιστικού παράγοντα στο APS

Ένας από τους κυριότερους προτεινόμενους μηχανισμούς ερμηνείας της παθογένειας των θρομβωτικών επεισοδίων στο APS, είναι το γεγονός ότι τα aPL-Abs μπορεί να επάγουν αυξημένη έκφραση ιστικού παράγοντα (tissue factor, TF) στα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων και στα μονοκύτταρα.

Ο TF είναι μια διαμεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη που απαιτείται απλώς και μόνο η έκφρασή της στην κυτταρική επιφάνεια για να καταστεί ενεργός. Λειτουργεί διπλά και ως υποδοχέας υψηλής συγγένειας και ως ενεργοποιητικό ένζυμο του παράγοντα VII (FVII). Εκτός όμως από την έναρξη της εξωγενούς οδού της πήξεως, το σύμπλεγμα TF-

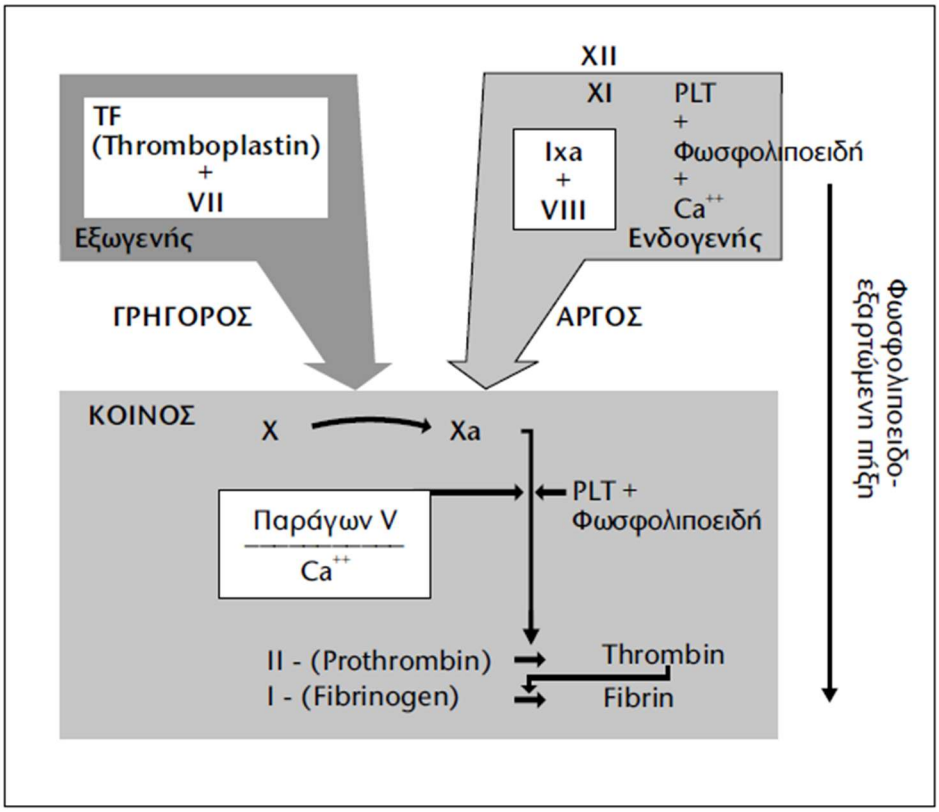
FVIIa ενεργοποιεί και την ενδογενή οδό, μετατρέποντας τον παράγοντα IX (FIX) σε ενεργοποιημένο (FIXα). Δικαίως λοιπόν θεωρείται ευρέως ως ο κύριος παράγοντας έναρξης της φυσιολογικής πήξης. Η καταλυτική δραστηριότητα του TF-VIIα στον παράγοντα X (FX) αναστέλλεται από τον αναστολέα TFPI (Tissue Factor Pathway Inhibitor), σχηματίζοντας συμπλέγματα TF-FVIIa-FX-TFPI.

Από in vivo και in vitro μελέτες, δείχθηκε ότι υπάρχει αυξημένη έκφραση του ιστικού παράγοντα στο APS, αλλά και αυξημένα επίπεδα πλάσματος του αναστολέα του ιστικού παράγοντα, υποστηρίζοντας έτσι την ενδοθηλιακή διέγερση με ενεργοποίηση της εξωγενούς οδού και ταυτόχρονη ενεργοποίηση του προστατευτικού μηχανισμού της προθρομβωτικής τάσης των ασθενών με APS και θρόμβωση.

Ο μηχανισμός με τον οποίο τα aPL-Abs μεσολαβούν για αυξημένη έκφραση του TF στο APS δεν είναι ακόμη γνωστός. Ο Arnout και συν. προτείνουν το μηχανισμό της «διπλής ενεργοποίησης», όπως αναλυτικά έχει προαναφερθεί, όπου απαιτείται μια αρχική τοπική βλάβη για να πυροδοτήσει το μηχανισμό της αντισωματο-μεσολαβούμενης θρόμβωσης, όπου η σταθερή σύνδεση των aPL-Abs με αντι-β2GPI δραστηριότητα πάνω στην επιφάνεια των μονοκύτταρων μπορεί να προκαλέσει TF-δραστηριότητα μέσω αλληλεπίδρασης του Fc τμήματος της IgG αντι-β2GPI με τους FcγRII υποδοχείς της επιφάνειας των μονοκυττάρων. Ίσως όμως και μόνο η απλή σύνδεση του Fab τμήματος της IgG αντι-β2GPI με την β2GPI στην επιφάνεια των κυττάρων να είναι από μόνη της συνεργική ή εναλλακτική οδός, μέσω της οποίας τα aPL-Abs επάγουν την αυξημένη έκφραση TF.

Άλλοι ερευνητές, έχουν προτείνει διαφορετικό θρομβογόνο μηχανισμό, σύμφωνα με τον οποίο η μεγάλη συγγένεια των aPL-Abs έναντι των φωσφολιπιδο-συνδετικών πρωτεϊνών (π.χ. β2GPI) στην επιφάνεια των κυττάρων καταργεί την προστατευτική ασπίδα της αννεξίνης V (του φυσικού αντιπηκτικού που συνδέεται με μεγάλη συγγένεια με τα ανιοντικά φωσφολιποειδή, όταν αυτά εκτίθενται και έρχονται σε επαφή

με το αίμα) και έτσι ένα αυξημένο ποσοστό ανιοντικών φωσφολιποειδών γίνεται διαθέσιμο για το σύμπλεγμα TF-FVIIa, καθώς και για άλλα συμπλέγματα πήξης.



Εικόνα 5: Οδοί πήξης του αίματος.

Τα aPL-Abs εμπλέκονται, όπως αναφέρθηκε στα μονοπάτια της πήξης και της ινωδόλυσης και πυροδοτούν βλάβη/φλεγμονή και στον πλακούντα.» (E. Vritzali, C. Antoniades, Department of Rheumatology, 2006)

Από νεότερες μελέτες αναφορικά με την παθογένεια του APS προκύπτουν τα παρακάτω:

Τα microRNAs (miRNAs) είναι μονής αλύσου μικρά μη-κωδικοποιούμενα RNA μόρια, που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην επικοινωνία μεταξύ των κυττάρων. Ελέγχουν την έκφραση των αγγελιοφόρων RNA (messenger RNA/mRNA), που περιέχουν συμπληρωματικές αλληλουχίες των miRNAs.

Μια ενδιαφέρουσα μελέτη ανέδειξε ότι η υπερέκφραση συγκεκριμένων miRNAs (miR-19b και miR-20a) σε κυτταρικές σειρές που εκφράζουν ιστικό παράγοντα (TF), μείωνε τα επίπεδα του mRNA του TF, μαζί με την προθρομβωτική του δραστηριότητα.

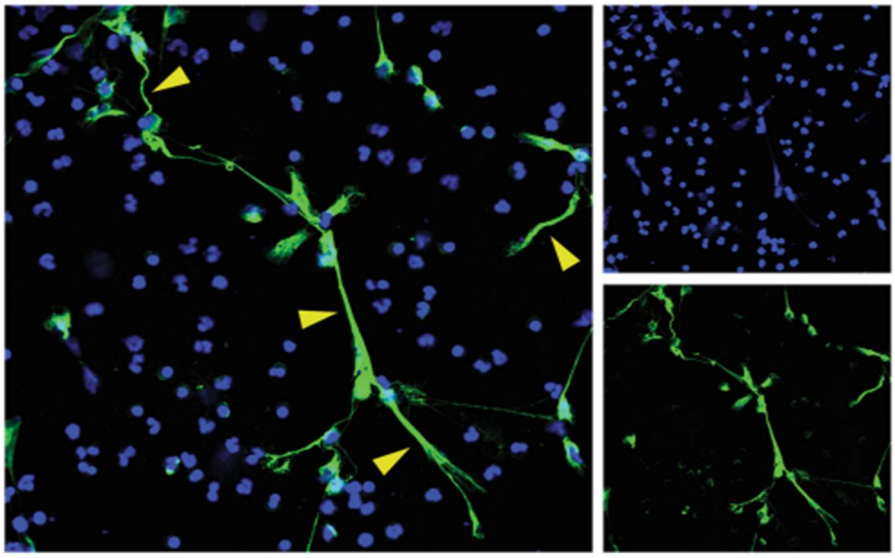
Φαίνεται ότι τα μονοκύτταρα ασθενών με APS, έχουν σημαντικά μικρότερα επίπεδα των miR-19b και miR-20a, σε σχέση με τα υγιή άτομα, προβλέποντας έτσι υψηλότερα επίπεδα TF. Ταυτόχρονα, η διαφορική έκφραση των κυκλοφορούντων miRNAs μπορούν να διακρίνουν τους ασθενείς με APS από τα υγιή άτομα, για παράδειγμα, η μεταγραφική ανάλυση των πλασματοκυτταροειδών δενδριτικών κυττάρων (plasmacytoid dendritic cells) από ασθενείς με APS και SLE υπέδειξε ότι η μειωμένη έκφραση των miRNA (miR-361-5p, miR-128-3p, miR-181a-2-3p, και άλλων) σχετίζεται με υψηλή έκφραση ιντερφερόνης τύπου I. Σαφώς χρειάζονται περισσότερες μελέτες για τον ρόλο των miRNAs στο APS και το κατά πόσο θα μπορούσαν να αποτελέσουν θεραπευτικούς στόχους.

Πολλές μελέτες από τη βιβλιογραφία για τη θρόμβωση, έχουν διαπιστώσει ότι τα ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα και συγκεκριμένα η δημιουργία των εξωκυττάριων παγιδευτικών δικτύων τους (neutrophil extracellular trap-NET), συμβάλλουν στην εξάπλωση του θρόμβου επηρεάζοντας το αρτηριακό δίκτυο, το φλεβικό δίκτυο και την μικροκυκλοφορία. Τα NETs έχουν πρόσφατα εμπλακεί στην παθογένεση του APS. Το 2015 η ομάδα των Yu Zuo και συν., ανακοίνωσε ότι ο ορός από ασθενείς με APS, όπως και τα μεμονωμένα aPL, διεγείρουν τα ουδετερόφιλα να απελευθερώσουν NETs. Η παρατήρηση αυτή επιβεβαιώθηκε σε μοντέλα ποντικών με θρόμβωση μεγάλων αγγείων aPL-Abs μεσολαβούμενων, όπου είτε η απομάκρυνση των NETs είτε η πέψη τους είναι προστατευτική. Τα ουδετερόφιλα των ασθενών με APS έχουν επιπλέον αυξημένη ικανότητα προσκόλλησης, που οφείλεται στην ενεργοποιημένη μορφή της ιντεγκρίνης Mac-1. Αυτός ο προσκολλητικός φαινότυπος (proadhesive phenotype) αυξάνει την

αλληλεπίδραση των ουδετερόφιλων με τα ενδοθηλιακά κύτταρα, ενισχύει την δημιουργία των NETs και χαμηλώνει τον ουδό της θρόμβωσης.

Ο ορός των ασθενών με πρωτοπαθές APS, έχει υψηλή δραστηριότητα του τύπου της ιντερφερόνης τύπου I. Αποδείχθηκε από την μεταγραφική ανάλυση των ουδετερόφιλων των APS ασθενών, μια υψηλή έκφραση γονιδίων σχετιζόμενων όχι μόνο με το σηματοδοτικό μονοπάτι της ιντερφερόνης αλλά και με την κυτταρική άμυνα και την προσκολλητική ικανότητα μεταξύ των κυττάρων. Συγκεκριμένα το γονίδιο που κωδικοποιεί τον γλυκοπρωτεϊνικό συνδέτη-1 της P-σελεκτίνης (PSGL-1) υπερεκφράζεται ισχυρά και συμμετέχει πιθανώς στην δημιουργία του θρόμβου. Πράγματι, ένα in vivo μοντέλο ανέδειξε ότι η ανεπάρκεια της PSGL-1 ήταν προστατευτική από την επιταχυνόμενη δημιουργία θρόμβου μεσολαβούμενης από τα aPL-Abs σε μοντέλα ποντικών.

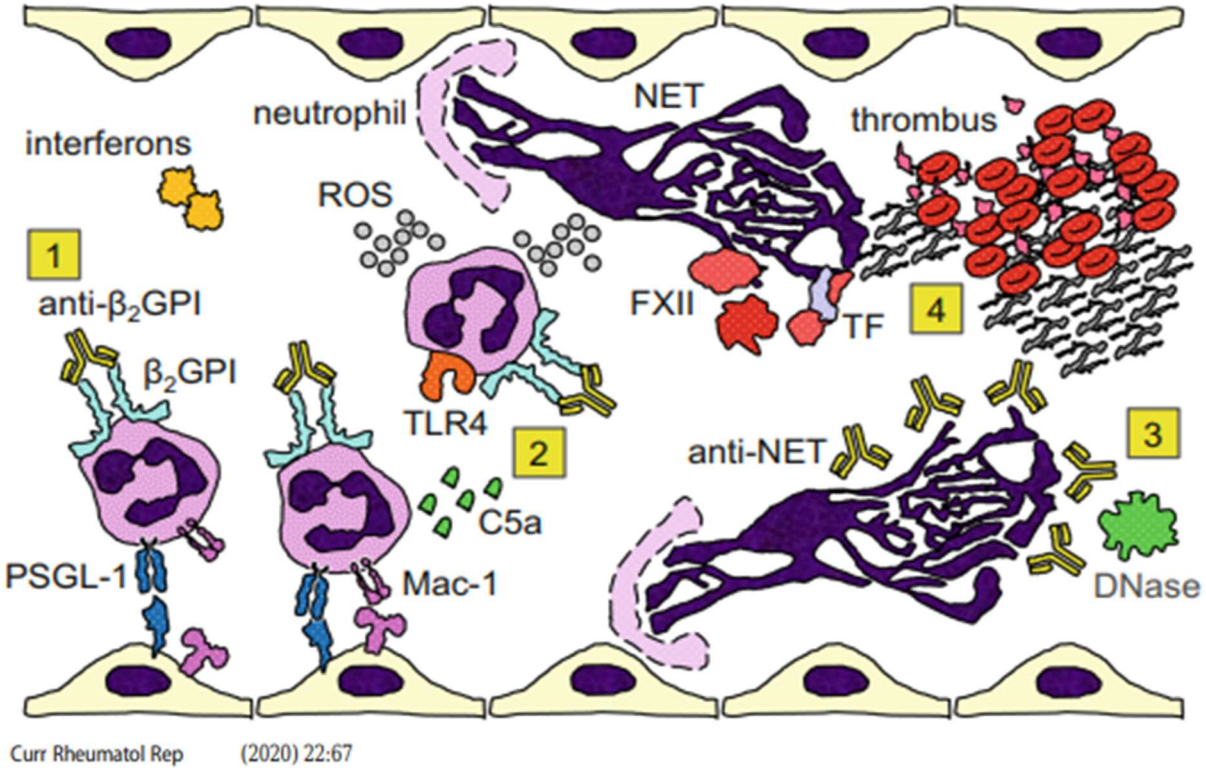
Θεραπείες που στοχεύουν στα NETs έχουν τη δυναμική να θεραπεύσουν τις θρομβώσεις, τουλάχιστον σε μια υποομάδα ασθενών με APS και πλέον οι έρευνες στρέφονται προς την κατεύθυνση αυτή.



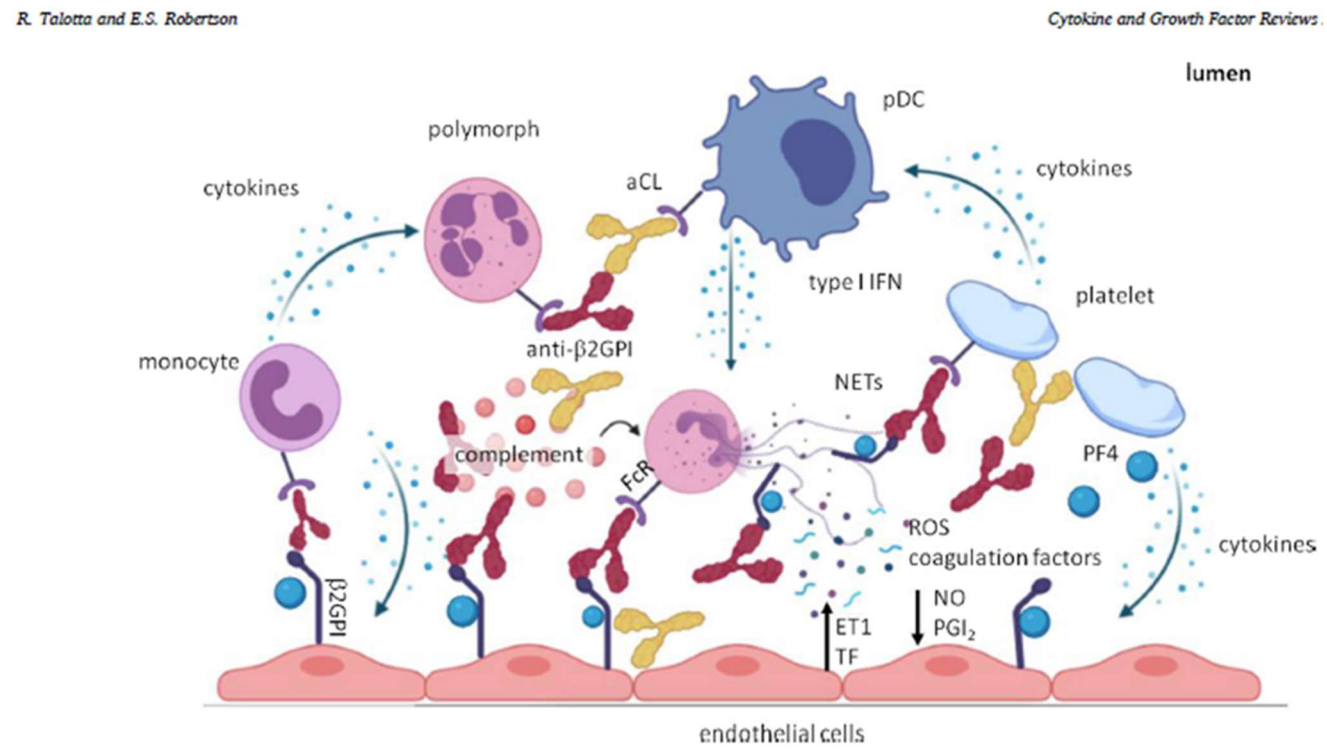
Curr Rheumatol Rep (2020) 22:67

Εικόνα 6: NETs που απελευθερώνονται από τα ουδετερόφιλα ασθενών με πρωτοπαθές APS μετά από απομόνωση από το αίμα και άμεση καλλιέργεια. Τρεις ώρες μετά από επώαση, το

DNA βάφεται με μπλέ χρώση και η ελαστάση των ουδετερόφιλων πράσινη. Οι κίτρινες κεφαλές βελών σημειώνουν κάποια παραδείγματα NETs.



Εικόνα 7: Πιθανοί μηχανισμοί απελευθέρωσης NETS στο APS: 1) Τα anti-β2GPI αναγνωρίζουν την β2-GPI στην επιφάνεια των ουδετερόφιλων, διεγείρουν την έκφραση των δεικτών PSGL-1 και Mac-1, αυξάνοντας την προσκόλληση στο ενδοθήλιο, 2) Τα APS ουδετερόφιλα, επηρεασμένα από την προσκόλληση στο ενδοθήλιο, την παραγωγή του συστατικού C5a του συμπληρώματος, την σηματοδότηση του TLR4 και πιθανά από τις ιντερφερόνες, απελευθερώνουν δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS) και NETs. 3) Anti-NET αντισώματα στο APS μπορεί να συμβάλλουν στην αποδομή των NETs από κυκλοφορούσες DNAses. 4) Τα NETs έχουν προθρομβωτικό ρόλο μέσω διάφορων μηχανισμών συμπεριλαμβανομένων της έκθεσης ιστικού παράγοντα (TF) και της ενεργοποίησης του παράγοντα XII (FXII).



Εικόνα 8: Ο πιθανός ρόλος των aPL-Abs στην παθογένεση της ανοσοθρόμβωσης. Τα αυτοαντισώματα αναγνωρίζουν τη β2GPI που είναι συνδεδεμένη με τα ανιονικά φωσφολιπίδια και προσελκύουν τα μονοκύτταρα, τα αιμοπετάλια και τα ουδετερόφιλα στο ενδοθήλιο μέσω πρόσδεσης στον FCR υποδοχέα που υπάρχει στην επιφάνειά τους. Μέσω αυτής της αλληλεπίδρασης τα μονοκύτταρα απελευθερώνουν κυτταροκίνες, προσελκύοντας επιπλέον κύτταρα του ανοσοποιητικού, πολώνοντας τα ενδοθηλιακά κύτταρα προς ένα προφλεγμονώδη και προπηκτικό φαινότυπο. Τα ουδετερόφιλα απελευθερώνουν NETs κάτω από την επίδραση της IFNα και IFNβ που παράγονται από τα πλασματοκυτταροειδή δενδριτικά κύτταρα, αλλά και άλλων μεσολαβητών, όπως των παραγόντων συμπληρώματος που ενεργοποιούνται από τα ανοσοσυμπλέγματα. Τα αιμοπετάλια παράγουν PF4, που συνδέεται με την β2GPI και ευνοεί την προσκόλληση των anti-β2GPI αντισωμάτων. Τα αιμοπετάλια μπορούν επίσης να συνδέουν απευθείας τα αντικαρδιολιπινικά αντισώματα. Τελικά, η απελευθέρωση ενδοθηλίνης Ι και ιστικού παράγοντα, εις βάρος του NO και της προσταγλανδίνης Ι2, πυροδοτεί τον καταρράκτη της πήξης.

Περιβαλλοντικοί παράγοντες που μπορεί να οδηγήσουν σε εμφάνιση aPL-Abs (Martirosan et al., 2019)

Η παρουσία των aPL-Abs δεν σχετίζεται απαραίτητα με το πρωτοπαθές APS. Είναι δυνατό να ανιχνεύονται σε μια ποικιλία κλινικών καταστάσεων όπως τα διάφορα αυτοάνοσα νοσήματα, οι λοιμώξεις, τα νεοπλάσματα, μετά από εμβολιασμό ή χορήγηση φαρμάκων κ.α, ενώ μπορεί να εμφανίζονται παροδικά και σε υγιή άτομα. Στα αυτοάνοσα νοσήματα, τα aPL-Abs είναι συνήθως εξαρτώμενα από συμπαράγοντες και έχουν ανάγκη την παρουσία φωσφολιπιδο-δεσμευτικών πρωτεϊνών, όπως η β2GPI ή/και η προθρομβίνη, που αποτελούν κύριους στόχους, ενώ τα aPL αντισώματα που εμφανίζονται μετά από λοιμώξεις συνήθως δεν απαιτούν συμπαράγοντα.

Σύμφωνα με νεότερα δεδομένα, είναι πιθανό, ότι σε ασθενείς με γενετική προδιάθεση, διαφορετικοί περιβαλλοντικοί πυροδοτικοί παράγοντες μπορεί τελικά να οδηγήσουν στην παραγωγή aPL-Abs, που με τη σειρά τους μπορεί να οδηγήσουν στην ανάπτυξη APS.

Ιογενείς λοιμώξεις

Ο ιός της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας/HIV και ο ιός της ηπατίτιδας C (HCV) είναι από τις πιο συχνές αιτίες επαγωγής aPL-Abs. Ο HIV παραμένει ο πιο κοινός λοιμώδης παράγοντας για την παραγωγή των aPL-Abs, ιδίως των aCL, στους ενήλικες αλλά και στον παιδιατρικό πληθυσμό. Στους ασθενείς με HIV μπορεί να παρατηρηθεί μια ποικιλία aPL-Abs, που περιλαμβάνει τα aCL, anti-β2GPI, LA, aPT, aPS, aPI και aPC. Τα aCL αντισώματα μπορεί κατά τη διάρκεια της λοίμωξης να είναι και παθογενετικού τύπου (pathogenic type/εξαρτώμενα από τον συμπαράγοντα β2GPI) αλλά και μετα-λοιμώδους τύπου (post-infectious type/ μη εξαρτώμενα από συμπαράγοντα). Η συχνότητα των IgG aCL στους HIV ασθενείς είναι μεταξύ 7-94% (μέσος όρος 46,5%) συγκριτικά με το 1,98% σε ομάδες ελέγχου. Τα IgM aCL είναι λιγότερο συχνά και η

κλινική τους σημασία αμφισβητείται. Εκτός από τη μειωμένη συχνότητα των anti-β2GPI, ο επιπολασμός των aCL, aPS, aPI και aPC αντισωμάτων στην HIV λοίμωξη ήταν συγκρίσιμος με αυτόν στο APS, υποδεικνύοντας την τάση να αναγνωρίζει και άλλα φωσφολιπίδια διαφορετικά της β2GPI. Είναι πιθανό, ότι τα σχετικά χαμηλά επίπεδα των anti-β2GPI και η ανεξάρτητη από συμπαράγοντα φύση των HIV-ειδικών aPL-Abs, σε σχέση με τα αντίστοιχα των αυτοάνοσων νοσημάτων, εξηγεί την σπάνια επίπτωση του APS στους HIV θετικούς ασθενείς. Η επίπτωση του LA, στους συγκεκριμένους ασθενείς, κυμαίνεται από 0-72%, όμως η εμφάνιση θρόμβωσης είναι ασυνήθης.

Ομοίως με τον ιό HIV, τα aCL αντισώματα, αποτελούν τον πιο συχνό τύπο aPL-Abs στην HCV λοίμωξη, με συχνότητα 18,6% συγκριτικά με το 1,78% του γενικού πληθυσμού. Τα συγκεκριμένα αντισώματα δεν εξαρτώνται από την β2GPI και έχουν ασθενή συσχέτιση με τα θρομβοεμβολικά επεισόδια. Οι άλλοι ηπατοτρόποι ιοί δεν έχουν μελετηθεί τόσο εκτενώς όσο ο HCV, η συχνότητα παρ' όλα αυτά των aCL αντισωμάτων στις HBV και HDV λοιμώξεις έχει υποτεθεί ότι συμμετέχει στην εμφάνιση της θρόμβωσης των ασθενών με ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα σχετιζόμενο με ηπατίτιδα. Η ανάλυση του φάσματος των κλινικών εκδηλώσεων που σχετίζονται με το APS (περιφερικές θρομβώσεις, βαλβιδοπάθεια, νεφροπάθεια κ.α) σε ασθενείς με χρόνια HIV/HCV λοίμωξη, οδήγησε στο συμπέρασμα ότι παρ' όλο που σε ορισμένες περιπτώσεις η λοίμωξη μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη APS, τις περισσότερες φορές τα aPL-Abs αποτελούν επιφαινόμενο λόγω της χρόνιας ανοσολογικής διέγερσης από τον ιό. Σε αρκετές περιπτώσεις, τα θρομβωτικά επεισόδια στην HIV ή την HCV λοίμωξη έχουν αποδοθεί σε εξωγενείς παράγοντες (αντιρετροϊκή αγωγή, ευκαιριακές λοιμώξεις), υποδηλώνοντας περιορισμένο ρόλο των aPL-Abs σε αυτά τα φαινόμενα. Στην περίπτωση της HCV λοίμωξης, ανοσολογικοί δείκτες χρόνιας λοίμωξης όπως τα αντιπυρηνικά αντισώματα, οι κρυοσφαιρίνες, τα χαμηλά επίπεδα συμπληρώματος και ο

ρευματοειδής παράγοντας πιθανά συμβάλλουν στην ανάπτυξη συμπτωμάτων που ομοιάζουν με το APS.

Η λοίμωξη από τον ιό Parvo 19, αποτελεί επίσης αρχικό ερέθισμα για την εμφάνιση αυτοανοσίας. Το πιο αξιοσημείωτο χαρακτηριστικό των aPL-Abs στους συγκεκριμένους ασθενείς είναι η αυξημένη αντιγονοδεσμευτική ικανότητά τους, παρουσία της β2GPI ως συμπαράγοντα. Τα αντισώματα στον ορό των ασθενών, είναι κυρίως IgG ισοτύπου και είναι ειδικά κατά της καρδιολιπίνης (CL) και της φωσφατιδυλοσερίνης (PS) και σε σπάνιες περιπτώσεις έναντι της φωσφατιδυλοαιθανολαμίνης (PE). Σύμφωνα με αυτές τις παρατηρήσεις, θεωρήθηκε ότι η φύση των aPL αντισωμάτων που επάγονται από την λοίμωξη με τον ιό Parvo-B19, είναι αισθητά διαφορετική από αυτή που επάγεται από άλλες ιογενείς λοιμώξεις. Η δεσμευτική τους ικανότητα, η κατανομή του ισοτύπου τους και η εξάρτησή τους από τον συμπαράγοντα θυμίζει τα aPL-Abs των αυτοάνοσων νοσημάτων, υπογραμμίζοντας έτσι τον ρόλο του ιού B19 στο να προκαλεί αυτοάνοσα συμβάματα. Οι μηχανισμοί που είναι υπεύθυνοι για την παραγωγή των aPL στην B19 λοίμωξη είναι: η διασταυρούμενη αντίδραση των anti-B19 IgG αντισωμάτων με πολλαπλά ανθρώπινα αυτοαντιγόνα (καρδιολιπίνη, κολλαγόνο τύπου II, κερατίνη, υποδοχέας τύπου I αγγειοτενσίνης II και η γλυκοπρωτεΐνη της μεμβράνης των αιμοπεταλίων IIb/IIIa), η παρουσίαση των σχετιζόμενων με την απόπτωση αυτό-αντιγόνων από τα προσβεβλημένα κύτταρα, και η δραστικότητα τύπου φωσφολιπάσης-A2 που παρατηρείται στην VPI μοναδική περιοχή της δομικής πρωτεϊνης VPI.

Άλλοι ιογενείς παράγοντες που αναφέρονται λιγότερο στην πρόκληση παροδικής ή μόνιμης αύξησης των aPL-Abs περιλαμβάνουν τους ερπητοϊούς, όπως τον κυτταρομεγαλοϊό (CMV), τον ιό Epstein-Barr (EBV), και τον ιό της Ανεμευλογιάς-Έρπητα Ζωστήρα (VZV). Οι λοιμώξεις από ιούς όπως: ο ιός του απλού έρπητα, του Δάγγειου πυρετού, ο HHV6, ο ιός της ερυθράς, της ιλαράς, της παρωτίτιδας, της

ανεμευλογιάς, συνήθως συνοδεύονται από σχετικά χαμηλό τίτλο αντισωμάτων, τα οποία μειώνονται μετά την αποδρομή της λοίμωξης και δεν σχετίζονται με θρόμβωση.

Παρά τα συνεχώς αυξανόμενα δεδομένα που υποστηρίζουν τη συμμετοχή των λοιμωδών παραγόντων στην παραγωγή των αυτοαντισωμάτων, οι επιπλοκές που σχετίζονται με τα aPL-Abs στις ιογενείς λοιμώξεις είναι σπάνιες. Η εμφάνιση αληθούς APS είναι ασυνήθης, με εξαίρεση τις περιπτώσεις όπου η αυτοανοσία προϋπάρχει της λοίμωξης. Μέσα σε αυτό το πλαίσιο, η εκτίμηση της παρουσίας aPL-Abs εξαρτώμενων από τη β2GPI, θα μπορούσε να είναι επιβοηθητική στη διαφοροποίηση των παθογόνων αυτοάνοσων aPL-Abs από τα μεταλοιμώδη.

Βακτηριακές λοιμώξεις

Είναι ευρέως αποδεκτό ότι η παθογένεση πολλών αυτοάνοσων νοσημάτων επάγεται από την ακατάλληλη ή ανεπαρκή ανταπόκριση του ανοσιακού συστήματος προς τους βακτηριακούς παράγοντες.

Αναγνωρίζεται ότι Gram-θετικά και Gram-αρνητικά βακτήρια, φαίνεται να έχουν συσχετιστεί με την παραγωγή aPL-Abs. Παρ' όλα αυτά, η παροδική άνοδος των μέσω βακτηρίων επαγόμενων aPL αντισωμάτων, μόνο περιστασιακά σχετίζεται με θρομβωτικά επεισόδια.

Το μυκόπλασμα πνευμονίας και διάφορα είδη στρεπτόκοκκου (streptococcus spp), είναι ανάμεσα στις πιο συχνές μικροβιακές λοιμώξεις, σε παιδιά και νεαρούς ενήλικες, που σχετίζονται με την παραγωγή aPL-Abs. Σημαντική άνοδος των aCL, IgG και IgM τάξεως, παρουσιάστηκε σε ασθενείς με μυκόπλασμα πνευμονίας, ιδιαίτερα σε εκείνους με σοβαρή λοίμωξη ή με παρουσία ψυχροσυγκολλητινών. Περίπου οι μισοί από τους ασθενείς με μεταστρεπτοκοκκική σπειραματονεφρίτιδα ήταν θετικοί για aCL-Abs, με μακρά παραμονή των αντισωμάτων, χωρίς όμως θρομβοεμβολικά επεισόδια. Δυο

ανεξάρτητες μελέτες ανέφεραν σπληνικά έμφρακτα δευτερογενή, σε παρουσία aPL-Abs επαγόμενα από τις συγκεκριμένες δυο λοιμώξεις.

Είναι γνωστό, ότι η λοίμωξη με το ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού είναι η πιο συχνή αιτία χρόνιας γαστρίτιδας. Μια μεγάλη μελέτη (Ram M. et al, 2013) εκτίμησε την συχνότητα των anti-H.Pylori (anti-HP) σε 1290 ασθενείς που διαγνώστηκαν με αυτοάνοσα νοσήματα, συμπεριλαμβανομένων 157 ασθενών με πρωτοπαθές και δευτεροπαθές APS και 385 υγιών ασθενών ως ομάδα ελέγχου. Όλοι οι ασθενείς εξετάστηκαν για την παρουσία aPL-Abs. Η μελέτη αποκάλυψε την υψηλότερη συχνότητα των anti-HP IgG και τα σημαντικά αυξημένα επίπεδα aCL IgM ανάμεσα στους ασθενείς με πρωτοπαθές APS. Μια άλλη μελέτη ανέδειξε αιτιολογική σχέση ανάμεσα στην λοίμωξη με H.Pylori και των aCL-Abs όλων των ισοτύπων IgA/IgG/IgM, σε 84 παιδιά, με πτώση των τιμών τους μετά την εκρίζωση του ελικοβακτηριδίου (Sarici SU et al).

Συμβιωτικό μικροβίωμα

Η δίαιτα ασκεί έναν έμμεσο ρόλο μέσω τροποποίησης της σύνθεσης και λειτουργίας του μικροβιώματος του εντέρου. Η κατανάλωση προβιοτικών παραγόντων για παράδειγμα, θεωρείται ευεργετική για την τροποποίηση και /ή αποκατάσταση του μικροβιώματος του εντέρου και είναι δυνατόν να επηρεάσει την πορεία των αυτοάνοσων νοσημάτων και του APS. Μια μελέτη των Aguiar και συν. ανέδειξε σημαντική αλλαγή στην μικροβιακή χλωρίδα του εντέρου σε ασθενείς με APS, ιδιαιτέρως μείωση των μικροβίων του γένους Bilophila και υπερανάπτυξη των μικροβίων του γένους Slackia. Η μείωση στο βουτυρικό οξύ της μικροβιακής χλωρίδας που έχει αντιφλεγμονώδη και ανοσοτροποποιητική δράση, μπορεί να ενισχύσει τον πολλαπλασιασμό των Τ κυττάρων εναντίον της β2GPI. Αντίδραση στους επιτόπους του συμβιωτικού μικροβιώματος προκύπτει μόνο αν η λειτουργία του επιθηλιακού φραγμού έχει διαταραχθεί επιτρέποντας έτσι την αυξημένη συγκέντρωση βακτηρίων

και την έκθεση των επιτόπων που διαφορετικά δεν θα εκτίθονταν, κάτω από φυσιολογικές καταστάσεις.

Το μικροβίωμα του εντέρου μπορεί με διάφορους τρόπους να τροποποιήσει τις ανοσολογικές αντιδράσεις. Η έναρξη μιας αυτοάνοσης αντίδρασης από το μικροβίωμα του εντέρου είναι πιθανό να μπορεί να χρησιμοποιήσει μηχανισμούς παρόμοιους με αυτούς των παθογόνων μικροβίων. Ο πιο ελκυστικός μηχανισμός είναι η διασταυρούμενη αντίδραση που πυροδοτείται από την συμβιωτική καρδιολιπίνη. Η καρδιολιπίνη είναι ένα αρχέγονο φωσφολιπίδιο που βρίσκεται παντού στις μεμβράνες μεταφοράς ενέργειας των προκαρυωτικών και των ευκαρυωτικών οργανισμών, αν και εντοπίζεται σε διαφορετικές θέσεις. Στα ευκαρυωτικά κύτταρα, η CL βρίσκεται σχεδόν αποκλειστικά στα μιτοχόνδρια, ενώ η CL των βακτηρίων στην επιφάνεια των μεμβρανών που έρχονται σε επαφή με το πλάσμα. Λαμβάνοντας υπόψιν το γεγονός ότι η ανθρώπινη CL φυσιολογικά δεσμεύεται από το ανοσιακό σύστημα, αλλά τα anti-CL αντισώματα είναι ευρέως παρόντα στους ασθενείς με αυτοάνοσα νοσήματα ή λοιμώξεις, η CL των βακτηρίων θα μπορούσε να θεωρηθεί ως σχετιζόμενο με βλάβη μοριακό πρότυπο (damage associated molecular pattern - DAMP) που ελευθερώνεται από τα κατεστραμμένα κύτταρα. Συνεπώς είναι λογική η παρατήρηση ότι τα βακτήρια που περιέχουν CL, όπως συμβαίνει κυρίως με τα Gram +, μπορούν να λειτουργήσουν ως πηγή για εμμένουσα διασταυρούμενη αντίδραση σε έναν γενετικά ευαίσθητο ξενιστή με επηρεασμένη αυτοανοχή. Η αλλαγή στο σχήμα της β2GPI μετά τη σύνδεσή της με την CL, οδηγεί στην παραγωγή ανοσογόνων επιτόπων πάνω στην β2GPI, ικανών να πυροδοτήσουν μια ανοσιακή απάντηση. Επομένως θα μπορούσε να υποτεθεί ότι η αρχική παθολογία που εκθέτει τις ενδογενείς και βακτηριακές CLs, που φυσιολογικά θα απομακρύνονταν, μπορεί να οδηγήσει σε αναγνώρισή τους από τους υποδοχείς DAMP και να παράγει διάφορα είδη aPL-Abs αναλόγως και της παρουσίας/εξάρτησης από συμπαράγοντα.

	aCL	aβ2GPI	LA	Thrombosis	Structure	References
VIRAL INFECTIONS						
HIV	+	+	+	+	Enveloped	(12–15)
Hepatitis C	+	+	+	+	Enveloped	(13, 15, 21)
Parvovirus B19	+	+	+	+	Non-enveloped	(23–25, 63)
CMV	+	+	+	+	Enveloped	(31, 63)
Varicella zoster virus	+	+	+	+	Enveloped	(34–37, 63)
Epstein-Barr virus (EBV)	+	+	+	+	Enveloped	(13, 38, 39, 63)
Adenovirus	+	+	–	–	Non-enveloped	(15, 15, 63)
Hepatitis A	+	–	–	+	Non-enveloped	(63)
Influenza	–	–	–	+	Enveloped	(63)
Hepatitis B	+	–	–	–	Enveloped	(22, 63, 101)
Rubella	+	–	–	–	Enveloped	(28, 63)
Measles	–	–	–	–	–	(28)
Hepatitis D	+	+	+	–	Enveloped	(22)
Human T-lymphotropic virus 1	+	–	–	–	Enveloped	(12, 63)
Mumps	+	–	–	–	Enveloped	(28, 63)
BACTERIAL INFECTIONS						
Coxiella burnetii	+	–	+	–	Gram-negative	(28, 63)
Mycoplasma pneumonia	+	+	–	+	Gram-negative	(42, 53, 55–57, 63)
Streptococcus spp.	+	+	+	+	Gram-positive	(28, 52, 63)
Mycobacterium tuberculosis	+	+	–	+	Not classified	(28, 63)
Mycobacterium leprae	+	+	+	+	Gram-positive	(62–66)
Borrelia burgdorferi	+	+	+	+	Gram-positive	(125)
Staphylococcus spp.					Gram-negative	(28, 52, 58, 59)
Treponema pallidum	+	+	–	–	Gram-negative	(10, 13, 63)
Escherichia coli	+	+	–	+	Gram-negative	(28, 52, 63)
Salmonella spp.	+	+	+	+	Gram-negative	(28, 63)
Klebsiella spp.	+				Gram-negative	(10, 28)
Fusobacterium necrophorum	+	–	+	+	Gram-negative	(60, 63)
Chlamydiae	+	+	–	–	Gram-negative	(28, 63)
Helicobacter pylori	+	+	–	–	Gram-negative	(75, 76)
PARASITIC INFECTIONS						
Plasmodium malariae	+	+	–	+	Intracellular parasites	(12, 13, 63)
Plasmodium falciparum	+	–	–		Intracellular parasites	(68)
Leptospira spp.	+	+	–	–	Extracellular parasites	(63)

Martirosyan et al. Environmental Triggers of Antiphospholipid Antibody Formation

Πίνακας 4: Βακτήρια, ιοί και παράσιτα που σχετίζονται με την δημιουργία aPL-Abs και κλινικές εκδηλώσεις.

Εμβόλια

Διάφορες αναφορές για επιπλοκές μετά από εμβολιασμούς έχουν αναφερθεί γενικά. Το εμβόλιο της γρίππης είναι το πιο συχνά αναφερόμενο στα πλαίσια της παραγωγής των aPL-Abs. Εξετάστηκε η κινητική των aCL, anti-B2GPI, LA, anti-ENA και ANA αντισωμάτων σε μια μεγάλη σειρά υγιών ατόμων. Αυξημένα επίπεδα αυτοαντισωμάτων διαπιστώθηκαν στο 15% των συμμετεχόντων 1 μήνα μετά την ανοσοποίηση. Έξι μήνες μετά, αυξημένα επίπεδα αυτοαντισωμάτων παρέμεναν στο 13% των ατόμων

υποθέτοντας μακράς δράσης επίδραση του εμβολιασμού της γρίππης συμπεριλαμβανομένου του κινδύνου για θρομβωτικά επεισόδια. Τα αποτελέσματα από τη βιβλιογραφία πάνω σε αυτό το θέμα βέβαια είναι αντιφατικά. Οι Vista και συν. μελέτησαν έναν αριθμό 101 ασθενών με ΣΕΛ με αντίστοιχη ομάδα ελέγχου σε διάστημα 2, 6 και 12 εβδομάδων μετά από τον εμβολιασμό. Η μελέτη ανέδειξε αύξηση στα aCL-Abs χωρίς όμως αύξηση στην β2GPI. Επόμενη μελέτη που σύγκρινε 45 ασθενείς με APS με 33 υγιείς εθελοντές μετά τον εμβολιασμό για H1N1, απέτυχαν να διαπιστώσουν βραχυπρόθεσμη ή μακροπρόθεσμη επιπλοκή που να σχετίζεται με τα aPL-Abs και τη θρόμβωση, υπονοώντας ότι ο εμβολιασμός έναντι της γρίπης, τουλάχιστον χωρίς κάποιο έκδοχο, είναι ασφαλής.

Από τα άλλα εμβόλια υπάρχουν μόνο ορισμένες ενδείξεις για συμμετοχή τους στην δημιουργία aPL-Abs. Διακυμάνσεις των LA, aCL και anti-β2GPI αντισωμάτων διαπιστώθηκε σε ένα μικρό αριθμό ασθενών (n=8/85) μετά από ένα μήνα από το εμβόλιο της ηπατίτιδας Β, με μείωση του τίτλου των αντισωμάτων 5 μήνες μετά. Εκδήλωση APS παρατηρήθηκε και σε έναν νεαρό ασθενή, σαν μακροπρόθεσμη επιπλοκή, μετά από εμβολιασμό έναντι της διφθερίτιδας-τετάνου. Ο ασθενής εμφάνισε θρομβωτικό επεισόδιο με σταθερά αυξημένα επίπεδα LA για περισσότερο από 3 μήνες. Άλλο επεισόδιο επιβεβαιωμένου APS διαπιστώθηκε σε ένα κορίτσι 13 ετών μετά από εμβολιασμό έναντι του ιού HPV. Η θρομβοπενία και οι αιμορραγικές εκδηλώσεις βελτιώθηκαν γρήγορα παρόλο που οι θετικοί τίτλοι των aPL-Abs παρέμειναν για 6 μήνες. Ισχυρές ενδείξεις επίσης για δημιουργία aPL-Abs διαπιστώθηκαν και μετά τον εμβολιασμό έναντι του τετάνου (TTd), που διαπιστώθηκε διασταυρούμενη αντίδραση μεταξύ anti-β2GPI/anti-tetanus toxoid σε δυο υγιείς άνδρες.

Ξεκάθαρα τα εμβόλια μοιράζονται παρόμοια μοτίβα με τα παθογόνα ώστε να μπορούν να αναπτύξουν ικανές ανοσιακές ανταποκρίσεις. Η συνολικά αναφερόμενη συχνότητα των aPL-Abs μετά τον εμβολιασμό έναντι της γρίππης είναι υψηλότερη από εκείνη

μετά από λοίμωξη. Τώρα αν αυτό το φαινόμενο συμβαίνει λόγω της δυνατότητας καλύτερης μελέτης των εμβολιασμένων ασθενών ή λόγω των εκδόχων που χρησιμοποιούνται, παραμένει άγνωστο. Πρόσφατα οι Shoenfeld και Agmon-Levin πρότειναν να ομαδοποιήσουν αυτές τις ανοσολογικές καταστάσεις σε μια οντότητα που την ονόμασαν «ASIA»-Autoimmune (Autoinfammatory) Syndrome Induced by adjuvants}-Αυτοάνοσο (φλεγμονώδες) σύνδρομο που επάγεται από τα έκδοχα, και προκαλείται από εξωτερικούς παράγοντες όπως λοιμώξεις και εμβόλια. Πρέπει να σημειωθεί ότι η συγκεκριμένη επίδραση που έχουν τα διάφορα έκδοχα, συμβαίνει μόνο σε ανθρώπους με γενετικό υπόβαθρο και λιγότερο στον γενικό πληθυσμό.

Εμβόλια κατά του SARS-CoV-2 και aPL-Abs

Αρκετούς μήνες μετά τον μαζικό εμβολιασμό κατά του SARS-CoV-2, υπήρξαν ανησυχίες αναφορικά με την πιθανή συσχέτιση των απρόσμενων θρομβοεμβολικών επεισοδίων, από τα συγκεκριμένα εμβόλια. Τα διαθέσιμα εμβόλια σήμερα είναι εκείνα που χρησιμοποιούν mRNA {mRNA-based (BNT162b2 και mRNA-1273)} και αυτά που σαν φορέα έχουν τον αδενοϊό (ChAdOx1-S και Ad26.COV2). Το προφίλ ασφάλειας του ChAdOx1-S εξετάστηκε από τον ευρωπαϊκό οργανισμό φαρμακοεπαγρύπνησης (PRAC), λόγω των πολλαπλών αναφορών θρομβωτικών επεισοδίων που αναπτύχθηκαν ημέρες με εβδομάδες μετά την πρώτη ή δεύτερη δόση του εμβολίου. Η φλεβοθρόμβωση αναφέρθηκε επίσης και στα εμβόλια Ad26.COV2, που χρησιμοποιούν σαν φορέα τον αδενοϊό. Τον Απρίλιο του 2021, το FDA σταμάτησε την κυκλοφορία του Ad26.COV2 στις ΗΠΑ μετά την διαπίστωση 6 περιπτώσεων θρομβοπενίας και θρομβώσεων των φλεβωδών κόλπων του εγκεφάλου σε γυναίκες 18 μέχρι 48 ετών.

Η σύνδεση των εμβολίων κατά του SARS-CoV-2 με τις θρομβωτικές επιπλοκές είναι ασαφής, αν και ένας ανοσομεσολαβούμενος μηχανισμός, παρόμοιος με του APS, θα μπορούσε να είναι πιθανός. Επιπλέον, η πλειονότητα των ατόμων που εμβολιάστηκαν

και ανέπτυξαν σοβαρά θρομβωτικά συμβάματα ήταν νεαρές γυναίκες, οι οποίες αποτελούν και τον πληθυσμό στόχου του APS.

Εμβόλια που χρησιμοποιούν σαν φορέα τον αδενοϊό

Πρόσφατα, υπήρξε ανησυχία όσον αφορά τις επιπλοκές που εμφανίστηκαν μετά τη διάθεση στην αγορά των εμβολίων από αδενοϊό χιμπατζή (chimpanzee adenovirus) που κωδικοποιούν την γλυκοπρωτεΐνη ChAdOx1-S (spike) του SARS-CoV-2. Αναφέρθηκαν αρκετά θρομβωτικά επεισόδια σε ασυνήθεις θέσεις όπως η μεσεντέρια ή η εγκεφαλική φλέβα/φλεβώδεις κόλποι του εγκεφάλου, σε υγιή άτομα, σε διάφορες περιοχές της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Τέτοια επεισόδια δεν εμφανίστηκαν κατά τη διάρκεια της φάσης II/III της τυχαιοποιημένης μελέτης (RCT). Στις 18 Μαρτίου 2021, ο EMA παραδέχθηκε ότι η χορήγηση του εμβολίου μπορεί να σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο θρομβοπενίας και θρόμβωσης σε ασυνήθεις θέσεις, ένα σπάνιο φαινόμενο για το οποίο δεν μπορεί να αποδειχθεί κάποια αιτιολογική συσχέτιση. Τα φαινόμενα αυτά παρατηρήθηκαν σε γυναίκες κάτω των 50 ετών, κάτι που απαιτεί πλέον αυστηρή παρακολούθηση μετά τον εμβολιασμό σε περίπτωση εμφάνισης ύποπτων συμπτωμάτων σε άτομα της συγκεκριμένης μελέτης. Παρομοίως, η καμπάνια του εμβολιασμού που χρησιμοποιεί φορέα αδενοϊού, σταμάτησε λόγω της εμφάνισης θρομβωτικών επεισοδίων σε νεαρές λήπτριες.

Η σχέση μεταξύ της θρομβοπενίας και των εμβολίων με τους συγκεκριμένους φορείς δεν είναι κάτι καινούριο. Το 2007 οι Stone και οι συν. απέδειξαν ότι η ενδοφλέβια χορήγηση ανασυνδυασμένων φορέων αδενοϊού τύπου 5 (Ad5) για γονιδιακή θεραπεία σε hCD46Ge σε διαγονιδιακά ποντίκια, απρόσμενα, οδήγησε σε ενεργοποίηση του καταρράκτη της πήξης, με ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και συσσώρευσή τους στο δικτυοενδοθηλιακό σύστημα του ήπατος.

Ειδικότερα οι ερευνητές απέδειξαν ότι ο εμβολιασμός με το Ad5 εμβόλιο, προκάλεσε γρήγορη συσσώρευση των αιμοπεταλίων, που μπορεί να αποτελεί τη βάση της

θρομβοπενίας και αύξησε την συγκέντρωση στον ορό, δεικτών που σχετίζονται με την πήξη, όπως είναι το CD62p και τα D-dimer. Η υπερέκφραση του CD62p στα αιμοπετάλια σχετίστηκε με αυξημένα επίπεδα WF στην κυκλοφορία, ενεργοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων και προσέλκυση των λευκοκυττάρων. Τελικά τα μακροφάγα και τα ενδοθηλιακά κύτταρα των κολποειδών του ήπατος προσλαμβάνουν και απομακρύνουν τα συσσωματώματα αυτά που αποτελούνται από το Ad5 εμβόλιο και τα αιμοπετάλια. Επομένως, τα αιμοπετάλια μπορεί να λειτουργήσουν ως μεταφορείς τμημάτων ιών από το σημείο της εναπόθεσης (εμβολιασμού) μέχρι το δικτυοενδοθηλιακό σύστημα, κάτι που μπορεί να εξηγήσει τη θρομβοπενία ή μια ενδεχόμενη θρομβωτική θρομβοπενική πορφύρα οφειλόμενη σε λοιμώξεις με αδενοϊούς ή μετά από εμβόλιο που χρησιμοποιεί αυτού του τύπου τους φορείς.

Πρέπει να σημειωθεί ότι τα θρομβωτικά επεισόδια παρατηρήθηκαν σε ένα μικρό αριθμό ατόμων που έλαβαν το ChAdOx1-S και το Ad2 COV2 εμβόλιο και αποτελεί σπάνιο φαινόμενο. Σε αυτά τα άτομα, η προϋπάρχουσα πιθανά παρουσία των aPL-Abs προδιάθεσε σε αυτήν την επιπλοκή, αποτελώντας το πρώτο χτύπημα, αν και αυτό δεν καθορίστηκε a priori. Παρ' όλα αυτά, έχουμε ήδη αναφέρει ότι οι λοιμώξεις με αδενοϊούς μπορούν να προκαλέσουν de novo σύνθεση αντι-β2GPI αντισωμάτων μέσω του μηχανισμού της μοριακής μίμησης.

Ένα πρόσφατο άρθρο από τους Greincher και τους συν. περιγράφει μια μικρή σειρά 9 ατόμων από Αυστρία και Γερμανία, που ανέπτυξαν θρομβωτικά επεισόδια και θρομβοπενία 4-16 ημέρες μετά το ChAdOx1-S εμβόλιο. Η μελέτη περιλάμβανε 8 γυναίκες και έναν άντρα, μέσης ηλικίας 36 ετών. Η διαταραχή αυτή εξελίχθηκε θανατηφόρα στις 4 περιπτώσεις και οι αποβιώσαντες παρουσίαζαν υψηλή θετικότητα για αντι-PF4 αντισώματα. Ένα από τα άτομα της μελέτης ήταν θετικό για aPL-Abs αλλά οι ερευνητές δεν καθόρισαν αν η κατάσταση αυτή προδιέθετε σε χειρότερη έκβαση. Το PF4 θεωρείται ο κύριος παράγοντας που αλληλεπιδρά με την β2GPI και

σύμφωνα με in vitro και in silico μελέτες, τα anti-β2GPI αντισώματα εκλεκτικά συνδέουν την β2GPI που είναι συνδεδεμένη με τον PF4. Η δημιουργία αυτού του συμπλέγματος μπορεί να οδηγήσει σε ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων μέσω φωσφορυλίωσης της p38MAPK και απελευθέρωση θρομβοξάνης Β2. Μπορεί να υποτεθεί ότι η σύνδεση των anti-β2GPI με τον συνδέτη τους, αποκαλύπτει περιοχές του επιτόπου του PF4, με αποτέλεσμα τη δημιουργία αντισωμάτων έναντι αυτού. Σαν αποτέλεσμα η διπλή δράση των αντι-β2GPI και αντι-PF4 αντισωμάτων μπορεί να αυξήσει κατά πολύ τον κίνδυνο για εκτεταμένη θρόμβωση.

Εμβόλια κατά του SARS-CoV-2 με βάση το mRNA

Ενώ κατά τη διάρκεια των μελετών δεν προέκυψαν θέματα ασφάλειας σε σχέση με την ομάδα placebo, μια περίπτωση περιέγραψε την ανάπτυξη εν τω βάθει φλεβοθρόμβωσης σε μια 66 ετών γυναίκα, χωρίς προηγουμένως η ίδια να έχει κάποιο ιστορικό, μια μέρα μετά από τη δεύτερη δόση του BNT162b2 εμβολίου. Αρκετές μελέτες έχουν αναδείξει ότι το εξωκυττάριο RNA μπορεί να συμμετέχει στον καταρράκτη της πήξης. Εξωκυττάριο RNA μπορεί να παραχθεί σε μεγάλες ποσότητες σε καταστάσεις σήψης ή καρκίνου, όπου τυπικά υπάρχει ένα προ-πηκτικό υπόβαθρο. Οι Nakazawa και συν. παρατήρησαν ότι το RNA που λαμβάνεται από διαφορετικές πηγές (rRNA, tRNA, ιογενές και τεχνητό RNA), με μέγεθος πάνω από 100 νουκλεοτίδια, μπορεί να οδηγήσει στην ενεργοποίηση της εξωγενούς οδού της πήξης μέσω εναλλακτικού μονοπατιού. Αυτός ο μηχανισμός περιλαμβάνει την δράση πρωτεάσης που ενεργοποιεί τον παράγοντα VII (FSAP) μέσω του RNA {RNA mediated activation of the factor VII-activating protease FSAP}, η οποία ενεργοποιεί τον παράγοντα VII, ανεξάρτητα από την παρουσία του ιστικού παράγοντα (TF), με δράση που μπορεί να παρακάμπτει τον αναστολέα του παράγοντα VIII (coagulation factor VIII-inhibitor bypassing activity). Τα μόρια του RNA αναφέρονται να λειτουργούν σαν φυσικό ξένο υπόστρωμα που προωθεί την ενεργοποίηση των FXII και FXI ξεκινώντας με αυτόν τον τρόπο το

μονοπάτι της πήξης. Αυτές οι επιδράσεις τυπικά μπλοκάρονται από τις RNA-άσες, οι οποίες μπορεί συνεχώς να εκλύονται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, υπογραμμίζοντας τον κεντρικό ρόλο του ενδοθηλίου στην εξουδετέρωση της προ-πηκτικής δραστηριότητας του ξένου ή ιδίου RNA που απελευθερώνεται από τους λοιμογόνους παράγοντες ή από τα αποπτωτικά κύτταρα. Είναι πιθανό τα mRNA εμβόλια να μην εξαιρούνται του κινδύνου των διαταραχών της πήξης. Ενώ το φαινόμενο αυτό συμβαίνει κυρίως στην παρεντερική χορήγηση των «γυμνών» mRNA μορφών, η διαρροή από τους λιποσωμιακούς μεταφορείς που επιτρέπουν την απελευθέρωση του mRNA, δεν μπορεί να αποκλειστεί από τα εμβόλια αυτά.

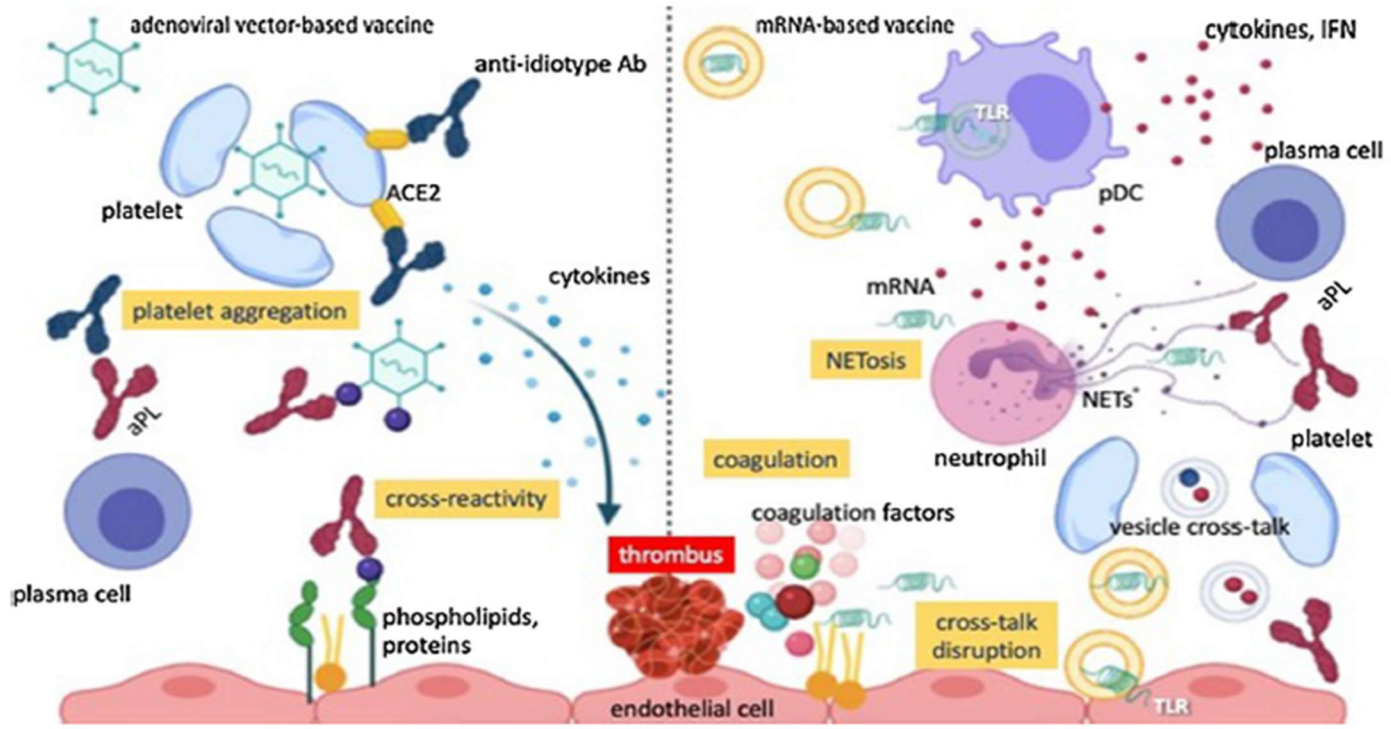
Η σχέση μεταξύ των mRNA εμβολίων και των aPL-Abs είναι άγνωστη. Τα ριβονουκλεϊκά οξέα, όπως τα mRNA, μπορούν να επάγουν μια απάντηση ιντερφερόνης τύπου I (IFN type I response) από τα κύτταρα στόχους μετά από αλληλεπίδραση με ειδικούς υποδοχείς (pattern recognition receptors-PRR) του κυτταροπλάσματος και των ενδοσωμάτων. Πολλές μελέτες έχουν υπογραμμίσει τη σχέση ανάμεσα στην απόκριση IFN τύπου I και του πρωτοπαθούς ή δευτεροπαθούς APS, το σχετιζόμενο με το ΣΕΛ. Στο APS που προκαλείται από ΣΕΛ, η τύπου I απόκριση ιντερφερόνης σχετίστηκε με μέτρια υψηλούς τίτλους αντι-β2GPI, με το χρόνο έναρξης/ενεργότητα του αντιφωσφολιπιδικού συνδρόμου αλλά και με γυναικολογικές επιπλοκές. Επιπλέον τα νουκλεϊκά οξέα μπορούν να επάγουν την παραγωγή NETs, που ευνοούν την θρόμβωση.

Λόγω της δομής τους, τα mRNA εμβόλια είναι αρκετά ανοσογόνα και μπορεί να επάγουν την ανάπτυξη APS σε ασυμπτωματικά άτομα, aPL-Abs θετικά, μετά την εγκατάσταση ενός προφλεγμονώδους περιβάλλοντος (δεύτερη ενεργοποίηση). Κάποιες μελέτες ανέφεραν μετά από έλεγχο με PET/CT, τοπικά (σε δελτοειδή μυ και λεμφαδένες) και συστηματικά σημεία φλεγμονής, σε ασθενείς που εμβολιάστηκαν με τα εμβόλια mRNA-1273 και BNT162b2. Παρά τα απεικονιστικά ευρήματα και τις

αυξημένες τιμές D-dimer, CRP και ΤΚΕ σε μια περίπτωση, οι ασθενείς ανέφεραν υποτυπώδη ή και καθόλου κλινικά συμπτώματα.

Ένα επιπλέον επιχείρημα που συνδέει τα mRNA εμβόλια με την ανοσοθρόμβωση, είναι η ομοιότητά τους σε μοριακό επίπεδο με τα κυτταρικά κυστίδια, που διαδραματίζουν κύριο ρόλο στην επικοινωνία/ομοιόσταση μεταξύ ενδοθηλιακών κυττάρων και αιμοπεταλίων. Η έκκριση και η ανταλλαγή των κυστιδίων που περιέχουν μοριακούς μεσολαβητές, έχει περιγραφεί στην πραγματικότητα σαν ένας βασικός τρόπος επικοινωνίας μεταξύ των συγκεκριμένων κυττάρων. Με βάση το μέγεθός τους, τα κυστίδια αυτά κατηγοριοποιούνται σε μικροσωματίδια (>100 νανόμετρα) ή εξωσωμάτια (exosome) (<100 νανόμετρα). Τα μικροσωματίδια και τα εξωσωμάτια μπορούν να μεταφέρουν ενεργοποιημένες κυτταροκίνες, όπως την IL-1β και νουκλεϊκά οξέα, όπως το RNA. Η φλεγμονή και η απελευθέρωση ελεύθερων ριζών οξυγόνου (ROS), έχει αποδειχθεί ότι οδηγεί στην απελευθέρωση μικροσωματιδίων από τα αιμοπετάλια πλούσια σε οξειδωμένο μιτοχονδριακό DNA, που συνδέεται με τους Toll-like υποδοχείς (TLR-9) και προκαλεί απάντηση IFN τύπου I από τα πλασματοκυτταροειδή δενδριτικά κύτταρα. Επιπλέον, στις ιογενείς λοιμώξεις, τα αιμοπετάλια διατηρούν μια στενή επαφή με τα ουδετερόφιλα και εκφράζουν TLR7, το οποίο μπορεί και αναγνωρίζει το ssRNA. Λαμβάνοντας υπόψιν την επίδραση των aPL-Abs στην επαγωγή απόκρισης ιντερφερόνης τύπου I και στην προώθηση της μετατόπισης των TLR7 και TLR8 στο ενδόσωμα των μονοκυττάρων και των πλασματοκυτταροειδών δενδριτικών κυττάρων, ένας ρόλος των aPL-Abs σε αυτήν την τόσο λεπτή ισορροπία είναι σίγουρα πιθανός. Τα επίπεδα των κυκλοφορούντων μικροσωματιδίων των ενδοθηλιακών και αιμοπεταλιακών κυττάρων, που μετριούνται σε επίπεδο κυτταρομετρίας ροής, φαίνεται να είναι σημαντικά αυξημένα σε ασθενείς με APS ή με θετικά aPL-Abs σε σχέση με τον αντίστοιχο υγιή πληθυσμό. Μια in vitro μελέτη ανέδειξε ότι αντισώματα έναντι της β2GPI μπορούν να διεγείρουν τα

ενδοθηλιακά κύτταρα μέσω ενεργοποίησης μιας φλεγμονώδους πλατφόρμας και επακόλουθης έκκρισης εξωκυττάριων κυστιδίων που περιέχουν IL-1β. Επιπλέον, τα anti-β2GPI αντισώματα φάνηκε ότι ενεργοποιούσαν τα ενδοθηλιακά κύτταρα μέσω ενός TLR7 εξαρτούμενου μονοπατιού, που αποδίδονταν τουλάχιστον εν μέρει, στην συν-έκκριση ειδικών microRNAs. Ο TLR7 μπορεί να αναγνωρίζει τα ssRNA μόρια, συμπεριλαμβανομένου και του mRNA που εμπεριέχεται στα εμβόλια κατά του SARS-CoV-2.



Εικόνα 9: Υποτιθέμενα ανοσοθρομβωτικά μονοπάτια που διεγείρουν τα εμβόλια έναντι του SARS-CoV-2. Η αριστερή πλευρά της εικόνας απεικονίζει το πιθανό σενάριο μετά από εμβόλιο με φορέα αδενοϊού. Μέσω αυτών των εμβολίων προωθείται η συσσώρευση των αιμοπεταλίων και η απομάκρυνσή τους από το δικτυοενδοθηλιακό σύστημα, οδηγώντας έτσι σε θρομβοπενία και ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων. Επιπλέον, οι επίτοποι του αδενοϊού μπορεί να παρουσιάζουν διασταυρούμενη αντίδραση με συμπλέγματα πρωτεϊνών και ανιοντικών λιπιδίων του ίδιου του οργανισμού, προκαλώντας την δημιουργία aPL-Abs. Τα αντισώματα έναντι της spike πρωτεΐνης του SARS-CoV-2 μπορούν να επάγουν ακόμα και

μετά από αρκετές εβδομάδες την παραγωγή anti-idiotype αντισωμάτων και να προκαλέσουν τη συσσώρευση αιμοπεταλίων μέσω της αλληλεπίδρασης με τον υποδοχέα των αιμοπεταλίων ACE2. Ο τελευταίος μηχανισμός θα μπορούσε να συμμετέχει και μετά από εμβολιασμό με mRNA-εμβόλια (δεξιά πλευρά της εικόνας). Η αθέμητη απελευθέρωση μικρών ποσοτήτων mRNA από τις λιποσωμιακές κάψουλες, μπορεί να ενεργοποιήσει τους Toll-like υποδοχείς των πλασματοκυτταροειδών δενδριτικών κυττάρων και να συνεισφέρει στην σύνθεση IFN τύπου I κυτταροκινών. Αυτές οι κυτταροκίνες μπορούν να επάγουν τη σύνθεση των aPL-Abs από τα πλασματοκύτταρα, και τη NETωση. Επιπλέον, το mRNA μπορεί να ενεργοποιήσει τον καταρράκτη της πήξης, μέσω ενεργοποίησης των παραγόντων VII, XI και XII.

Ab, αντίσωμα; aPL, αντιφωσφολιπιδικό αντίσωμα; ACE2, μετατρεπτικό ένζυμο αγγειοτενσίνης 2; TLR, Toll-like receptor; pDC, plasmacytoid dendritic cells; NET, neutrophil extracellular trap; IFN, ιντερφερόνη.

Αυτή η αποκλίνουσα ενεργοποίηση της οδού της πήξης, είναι μια σοβαρή επιπλοκή, ευτυχώς σπάνια, που συμβαίνει μετά από εμβολιασμό κατά του SARS-CoV-2. Ωστόσο, αποτελεί μια ιδιάζουσα πλευρά της συγκεκριμένης λοίμωξης. Τα διαθέσιμα εμβόλια κατά του SARS-CoV-2, έλαβαν πολύ γρήγορα άδεια κυκλοφορίας από τον EMA και τον FDA, κάτι που εγείρει προβληματισμούς, ιδίως όσον αφορά τις μακροπρόθεσμες επιπλοκές. Παρ΄ όλα αυτά, το όφελός τους στο να ανακόψουν την έξαρση της λοίμωξης COVID-19 ξεπερνά το ρίσκο που μπορεί να προκύψει από μακροπρόθεσμες επιπλοκές των συγκεκριμένων εμβολίων. Επίσης, τα θρομβωτικά επεισόδια που έχουν περιγραφεί είναι σπάνια και υπάρχει αμφιβολία ως προς τον υποκείμενο παθογενετικό μηχανισμό. Έχει διαπιστωθεί ότι οι αρτηριακές θρομβώσεις συμβαίνουν συχνότερα σε μεγαλύτερες ηλικίες ενώ οι νεότεροι είναι πιο πιθανό να αναπτύξουν φλεβικές θρομβώσεις.

Καταλήγοντας και λαμβάνοντας υπόψιν τις κλινικές ομοιότητες των θρομβωτικών επεισοδίων μετά τον εμβολιασμό κατά του SARS-CoV-2 και του APS, ίσως υπάρχει τελικά ένας παθογενετικός μηχανισμός, ο οποίος περιλαμβάνει προϋπάρχουσα ή και de novo εμφάνιση των aPL-Abs. Ειδικότερα, τα εμβόλια που έχουν ως φορέα αδενοϊό,

μπορεί να περιέχουν επιτόπους ικανούς να οδηγήσουν στην δημιουργία aPL-Abs μέσω του μηχανισμού της μοριακής μίμησης και να προκαλέσουν επίσης θρομβοπενία και ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων. Τα mRNA εμβόλια από την άλλη, μπορεί να πυροδοτήσουν ένα πιο σύνθετο μηχανισμό, που χαρακτηρίζεται από συμμετοχή των υποδοχέων TLRs, την ανταπόκριση ιντερφερόνης τύπου I, τη NETωση και την άμεση ενεργοποίηση του μονοπατιού της πήξης. Λόγω της λιποσωμιακής μοριακής δομής τους, τα mRNA εμβόλια μπορεί επίσης να διακόπτουν την φυσιολογική επικοινωνία μεταξύ αιμοπεταλίων και ενδοθηλιακών κυττάρων και να τα οδηγούν σε ένα προ-φλεγμονώδες και προ-πηκτικό φαινότυπο. Οι όψιμες διαταραχές πήξης που συμβαίνουν σε άτομα που εμβολιάστηκαν κατά του SARS-CoV-2 μπορεί να οφείλονται και σε anti-idiotype αντισώματα, που συνήθως αναπτύσσονται 1-3 μήνες μετά την ανοσοποίηση. Μπορεί να υποτεθεί ότι τα anti-idiotype αντισώματα που στρέφονται κατά των anti-spike αντισωμάτων, μπορούν να αναγνωρίζουν επιτόπους του ACE2, που εκφράζονται στα αιμοπετάλια. Η επακόλουθη σύνδεση των anti-idiotype αντισωμάτων στο αιμοπεταλιακό ACE2 θα μπορούσε να ευνοεί την συσσώρευση και την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων με τρόπο παρόμοιο με την COVID-19 λοίμωξη. Τα συγκεκριμένα αντισώματα ευνοούν επίσης τη δημιουργία ανοσοσυμπλεγμάτων, τα οποία ενεργοποιούν το μονοπάτι της πήξης μέσω επαφής τους με τους Fc υποδοχείς. Περαιτέρω μελέτες για την διασύνδεση των aPL-Abs με τα εμβόλια κατά του SARS-CoV-2, μπορεί να βοηθήσουν στην αναγνώριση των ατόμων που εμφανίζουν προδιάθεση και που μπορεί να βρίσκονται σε μεγαλύτερο κίνδυνο ανάπτυξης αυτών των σπάνιων αλλά σοβαρών επιπλοκών.

Φάρμακα

Ένα ευρύ φάσμα φαρμακολογικών παραγόντων που χρησιμοποιούνται στη θεραπεία αρρυθμιών, ψυχιατρικών νοσημάτων, υπέρτασης, βακτηριακών λοιμώξεων, επιληψίας, μπορούν να ενοχοποιηθούν για την παραγωγή aPL-Abs και σε ορισμένες περιπτώσεις

για την εκδήλωση APS. Η παρουσία της πλειονότητας των φαρμακο-επαγόμενων aPL αντισωμάτων συνήθως είναι παροδική και αυτά εξαφανίζονται μετά την απομάκρυνση του φαρμάκου. Τα aPL-Abs που παράγονται μετά τη λήψη προκαϊναμίδης, ανταλιμουμάμπης, ιντερφερόνης-α και άλλων φαρμάκων μπορεί να προκαλέσουν θρόμβωση. Διάφοροι μηχανισμοί έχουν προταθεί. Ο πιο αποδεκτός είναι μια μη ειδική αλληλεπίδραση των αντιαρρυθμικών φαρμάκων με φωσφολιπίδια της μεμβράνης που είναι κοντά σε διαύλους νατρίου και που μπορεί να πυροδοτήσουν ένα αρχικό γεγονός οδηγώντας στην αυτοανοσία. Από τα ψυχιατρικά φάρμακα η χλωροπρομαζίνη (CPZ) είναι από τα πιο συχνά αναφερόμενα φάρμακα για την παραγωγή aPL-Abs, ιδιαίτερα του LA, που σπάνια όμως βρέθηκε να ενοχοποιείται για θρομβώσεις.

Από τα αντιβιοτικά, η αμοξυκιλλίνη και η στρεπτομυκίνη ήταν από τους πρώτους παράγοντες που σχετίστηκαν με την παραγωγή LA αντισωμάτων. Έπειτα, ενοχοποιήθηκε και η σουλφασαλαζίνη, με την δημιουργία παροδικών IgG aCL αντισωμάτων. Παρ΄ όλα αυτά, η επαγωγή aPL-Abs από τα αντιβιοτικά, αμφισβητείται, διότι η δημιουργία των aPL-Abs μπορεί να οφείλεται και στην ίδια τη λοίμωξη.

Άλλα φάρμακα όπως η φλουβαστατίνη, η προπυλθειουρακίνη, η καρβεδιλόλη, η ανταλιμουμάμπη, το ινφλίξιμαμπ, η θαλιδομίδη και χημικοί παράγοντες όπως το ακρυλαμίδιο και η σιλικόνη έχουν ενοχοποιηθεί επίσης, όμως τα δεδομένα είναι περιορισμένα. Δέκα τουλάχιστον περιπτώσεις αγγειίτιδας και/ή θρομβωτικών εκδηλώσεων έχουν περιγραφεί και με την χρήση κοκκαΐνης.

Οι ακριβείς μηχανισμοί των αυτοάνοσων εκδηλώσεων που σχετίζονται με τα φάρμακα δεν είναι απολύτως γνωστοί. Έχει διαπιστωθεί ότι φάρμακα όπως η προκαϊναμίδη, η κινιδίνη, το βαλπροϊκό οξύ, η φαινυτοΐνη, καταστρέφουν την διπλοστιβάδα των φωσφολιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης. Οι διαταραχές της μεμβράνης, μπορεί να εμπλέκονται στην τροποποιημένη παρουσίαση νέο-αντιγόνων ή επιτόπων, οδηγώντας στις επακόλουθες αυτοάνοσες αντιδράσεις. Μεταξύ άλλων, η κατάσταση ακετυλίωσης

και τα χαρακτηριστικά του φαρμάκου τύπου απτίνης δύναται να αποτελούν πιθανούς μηχανισμούς για την δημιουργία aPL-Abs.

SARS-CoV-2 και COVID-19 λοίμωξη

Η λοίμωξη COVID-19, έχει προσβάλλει τουλάχιστον 500 εκατομμύρια ανθρώπους, ενώ έχει οδηγήσει σε θάνατο αριθμό άνω των 6 εκατομμυρίων, παγκοσμίως. Ξεκίνησε από την πόλη Γουχάν της Κίνας το 2019 και εξαπλώθηκε ταχύτατα στον κόσμο, καταλήγοντας σε πανδημία. Οι κορονοϊοί είναι RNA ιοί με περίβλημα, που προκαλούν κοινό κρυολόγημα σε ανοσοεπαρκή άτομα. Ο SARS-CoV-2 έχει κοινή δομή υποδοχέα με τον SARS-CoV ιό και χρησιμοποιεί το μετατρεπτικό ένζυμο της αγγειοτενσίνης 2 {angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2)} για να εισέλθει στα κύτταρα του ξενιστή. Μεταδίδεται κυρίως από άτομο σε άτομο μέσω στενής επαφής ή σταγονιδίων, με περίοδο επώασης κατά μέσο όρο 5 ημέρες, πριν από την εμφάνιση των συμπτωμάτων. Προκαλεί θανατηφόρα ασθένεια στο 5% των περιπτώσεων, ειδικά στον ηλικιωμένο πληθυσμό και σε ασθενείς με πολλαπλές συννοσηρότητες και έχει ένα δείκτη θνητότητας περίπου 3,4% συνολικά. Τα προηγούμενα στελέχη που είχαν ανιχνευτεί, όπως ο ιός του σοβαρού οξέος αναπνευστικού συνδρόμου (SARS-CoV) και ο κορονοϊός που προκαλεί το αναπνευστικό σύνδρομο της Μέσης Ανατολής (MERS-CoV), είναι ζωονόσοι ιοί, που προκάλεσαν έξαρση στην Κίνα και την Μέση Ανατολή, αντίστοιχα, χωρίς όμως να εξελιχθούν σε πανδημία όπως ο SARS-CoV-2.

Η λοίμωξη COVID-19 εκδηλώνεται κυρίως ως λοίμωξη του αναπνευστικού συστήματος προκαλώντας υποξαιμική αναπνευστική ανεπάρκεια. Η πορεία του είναι ετερογενής και απρόβλεπτη. Παρ’ όλα αυτά, μπορεί να συμπεριλάβει πολλαπλά οργανικά συστήματα όπως το νευρικό, το καρδιαγγειακό, το γαστρεντερικό, το αιμοποιητικό, το ανοσοποιητικό σύστημα και το ανώτερο ουροποιητικό. Θα αναφερθούμε περισσότερο σε διαταραχές από το αιμοποιητικό και το ανοσοποιητικό σύστημα.

Μια από τις πρώτες αιματολογικές εκδηλώσεις της COVID-19 λοίμωξης είναι οι διαταραχές των αιματολογικών παραμέτρων, με τη λεμφοπενία να είναι η πιο χαρακτηριστική. Στον παρακάτω πίνακα απεικονίζονται οι κυτταροπενίες συνοπτικά:

Study	Patient population	WBC, median [10^3/μL]	Leukopenia	ALC, median [10^3/μL]	Lymphopenia	Hgb, median [g/dL]	Platelets [10^3/μL]	Thrombocytopenia
Guan et al.[10]	1099 hospitalized patients	4700	33.7%	1000	83.2%	13.4	168	36.2%
Wu et al.[13]	201 hospitalized patients	5940	N/A	910	64%	N/A	180	N/A
Zhou et al.[28]	191 hospitalized patients	6200	17%	1000	40%	12.8	206	7%
Wang et al.[27]	138 hospitalized patients	4500	N/A	800	70.3%	N/A	163	N/A
Fan et al.[15]	67 hospitalized patients	4700	29.2%	1200	36.9%	14	201	20%
Huang et al.[11]	41 hospitalized patients	6200	25%	800	63%	12.6	164	5%
Young et al.[14]	18 hospitalized patients	4600	N/A	1200	39%	13.5	159	N/A

WBC – white blood cell; ALC – absolute lymphocyte count; Hgb – hemoglobin.

Πίνακας 5: Μεταβολές των αιματολογικών παραμέτρων στην COVID-19 λοίμωξη

Λεμφοπενία παρουσιάστηκε στο 96% των ασθενών με σοβαρή λοίμωξη, στο 80% στις λιγότερο σοβαρές καταστάσεις, ενώ ακολουθούσε η θρομβοπενία σε ποσοστό 36% και συνολικά η λευκοπενία με 33,7%.

Θρομβοπενία παρατηρήθηκε συχνότερα στους ασθενείς με πολύ σοβαρή λοίμωξη όπου και διαπιστώθηκε ότι ο χαμηλός αριθμός αιμοπεταλίων σχετίζεται με >5 φορές αυξημένο κίνδυνο για σοβαρή λοίμωξη COVID-19 (Lippi G. et al. Thrombocytopenia is associated with severe (COVID-19) infections: A meta-analysis, 2020). Ο μηχανισμός δεν είναι απόλυτα κατανοητός, προτάθηκε όμως ότι η θρομβοπενία μπορεί να είναι δευτεροπαθής και ως αιτίες εικάζονται η καταστροφή του ενδοθηλίου από την μηχανική αναπνοή και η επακόλουθη ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, η διαταραγμένη απόσπασή τους από τα μεγακαρυοκύτταρα προς το πνευμονικό αγγειακό δίκτυο, και η απευθείας τοξικότητα στον μυελό των οστών ως αποτέλεσμα της λοίμωξης. {(Lippi G. et al., Thrombocytopenia is associated with severe coronavirus disease 2019 (COVID-

19) infections: A meta-analysis., 2020 and Yang M. et al., Thrombocytopenia in patients with severe acute respiratory syndrome (review)}.

Υπερπηκτική κατάσταση και οξέα θρομβωτικά επεισόδια από την COVID-19 λοίμωξη

Η λοίμωξη COVID-19 είναι μια ιδιαίτερη νόσος, με ένα ευρύ φάσμα επιπλοκών που προκαλούνται κυρίως από την υπερπηκτική κατάσταση που τη συνοδεύει. Οι ασθενείς καθίστανται επιρρεπείς σε διαταραχές πήξης και σε θρομβωτικά επεισόδια, με τον παθογενετικό μηχανισμό να μην είναι ακόμα πλήρως κατανοητός. Η άμεση βλάβη του ενδοθηλίου από τον ιό SARS-CoV-2, η φλεβική στάση λόγω ακινησίας εξαιτίας της σοβαρής νόσου και η υπερπηκτική κατάσταση λόγω της φλεγμονής και της διαταραχής των κυκλοφορούντων παραγόντων πήξης, αποτελούν πιθανούς μηχανισμούς εκδήλωσης οξέων θρομβωτικών συμβαμάτων. Τα υψηλά επίπεδα D-dimer, που αποτελούν προϊόντα αποδόμησης του ινώδους και δείκτη ινωδόλυσης, έχει διαπιστωθεί ότι σχετίζονται με τις σοβαρότερες μορφές της νόσου (59,6% στις πολύ βεβαρυμένες μορφές λοίμωξης COVID-19 έναντι 43,2%) και σχετίζονται με χειρότερη πρόγνωση και υψηλή θνητότητα.

Οι Panigada και συν. μελέτησαν τους παράγοντες πήξης και άλλες παραμέτρους, συμπεριλαμβανομένων του παράγοντα von Willebrand (VWF) και εκτίμησαν με θρομβοελαστογραφία (TEG) 24 ασθενείς της ΜΕΘ με COVID-19 λοίμωξη. Οι ασθενείς είχαν φυσιολογικό προς αυξημένο αριθμό αιμοπεταλίων, φυσιολογικούς ή ελαφρά αυξημένους χρόνους προθρομβίνης (PT) και μερικής θρομβοπλαστίνης (aPTT), αυξημένο ινωδογόνο, δραματικά αυξημένα D-dimer, αυξημένους παράγοντες VIII και VWF, μειωμένα επίπεδα αντιθρομβίνης, ελαφρώς μειωμένα επίπεδα ελεύθερης πρωτεΐνης S και αυξημένα επίπεδα πρωτεΐνης C. (Panigada M et al., Hypercoagulability of COVID-19 patients in intensive care unit: A report of thromboelastography findings and other parameters of hemostasis. J Thromb Haemost., 2020).

Οι ασθενείς που βρίσκονται σε κρίσιμη κατάσταση μπορεί να έχουν παρόμοια εργαστηριακά ευρήματα με ασθενείς που πάσχουν από διάχυτη ενδαγγειακή πήξη (DIC). Επίσης, λόγω του ότι στους ασθενείς με COVID-19 λοίμωξη παρατηρούνται υψηλά επίπεδα ινωδογόνου και παράγοντα VIII, αυτό υποδεικνύει ότι σημαντική κατανάλωση των παραγόντων πήξης δεν διαπιστώνεται, όπως αντίστοιχα συμβαίνει στην DIC. Μια μελέτη παρατήρησης στην Ολλανδία, που περιλάμβανε 184 ασθενείς από τη ΜΕΘ, εκτίμησε το ποσοστό των οξέων θρομβωτικών συμβαμάτων και κανένας από τους ασθενείς δεν ανέπτυξε εκσεσημασμένη DIC. Η μελέτη ανέδειξε ότι 38% των ασθενών είχαν διαταραχές της πήξης (παράταση του PT>3s ή του aPTT >5s) στην εισαγωγή και η πιο συχνή θρομβωτική επιπλοκή ήταν η πνευμονική εμβολή (81%). Κλασσικά, η αιμορραγία εμφανίζεται στην οξεία μη αντιρροπούμενη DIC λόγω της γρήγορης κατανάλωσης των παραγόντων πήξης, ενώ η θρόμβωση επικρατεί στην χρόνια αντιρροπούμενη DIC. Ενώ, η υπερπηκτική κατάσταση που εμφανίζεται στην COVID-19 λοίμωξη προσομοιάζει στην χρόνια αντιρροπούμενη DIC, ο αριθμός των αιμοπεταλίων και οι χρόνοι aPTT είναι συνήθως φυσιολογικά (Klok FA et al. Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19. Thromb Res., 2020).

Η φλεβοθρόμβωση είναι πολύ συχνή, ιδιαίτερα στους ασθενείς με πολύ σοβαρή λοίμωξη COVID-19. Σε αρκετές μελέτες όπου έγινε νεκροψία ασθενών που κατέληξαν από τη λοίμωξη, διαπιστώθηκε σε σημαντικό ποσοστό εν τω βάθει φλεβοθρόμβωση (DVT 58%), πνευμονική εμβολή (PE 42%) και μικροαγγειακές θρομβώσεις των πνευμονικών τριχοειδών (45%), που ήταν ανεξάρτητες από τη λήψη αντιπηκτικής αγωγής. Η εκτεταμένη θρόμβωση, οι μικροθρόμβοι σε μικρά αγγεία και τριχοειδή και η αυξημένη αγγειογένεση ήταν εξαιρετικά εμφανείς σε βιοψίες πνευμονικού ιστού και η σοβαρή ενδοθηλιακή βλάβη φάνηκε να είναι η κύρια αιτία της υπερπηκτικής αυτής κατάστασης. Σε μια σειρά περιστατικών 829 ασθενών με COVID-19 λοίμωξη στην

ΜΕΘ στην Νέα Υόρκη ανέφερε ΠΕ σε 6,2% των περιπτώσεων και DVT σε 9,4%. Άλλες σειρές με μικρότερο αριθμό ασθενών αναφέρουν υψηλότερα ποσοστά VTE (20-43%), ακόμα και με λήψη θρομβοπροφύλαξης, όμως το ποσοστό είναι ακόμα υψηλότερο (65-69%) σε μελέτες που κάνουν έλεγχο ρουτίνας με υπερήχους και των δυο κάτω άκρων.

Το κύκλωμα εξωσωματικής οξυγόνωσης της κυκλοφορίας (ECMO) χρησιμοποιείται συχνά σε ασθενείς με σοβαρή υποξαιμική αναπνευστική ανεπάρκεια δευτεροπαθούς στην COVID-19 πνευμονίας. Η θρόμβωση στο κύκλωμα παρατηρήθηκε στο 16% των ασθενών της ΜΕΘ σε μια μελέτη (Helms J et al. High risk of thrombosis in patients with severe SARS-CoV-2 infection: A multicenter prospective cohort study. Intensive Care Med., 2020).

Ασθενείς που ήταν σε συνεχές φίλτρο αιμοδιήθησης στην ΜΕΘ {continuous renal replacement therapy (CRRT) in the ICU}, είχαν επίσης υψηλό ποσοστό θρομβώσεων στο εξωσωματικό κύκλωμα (96%).

Οι Bilaloglou και συν. μελέτησαν επίσης τα ποσοστά VTE σε 2505 ασθενείς στην Νέα Υόρκη νοσηλευόμενους εκτός ΜΕΘ και διαπίστωσαν ΠΕ στο 2,2% των ασθενών και DVT στο 2%. Ανάμεσα σε συνολικά 3334 νοσηλευόμενους ασθενείς (σε ΜΕΘ και εκτός ΜΕΘ) διαπιστώθηκε θρομβωτικό επεισόδιο στο 16% των ασθενών. Στους 829 ασθενείς που νοσηλεύθηκαν στη ΜΕΘ, το ποσοστό θρόμβωσης ήταν 29,4% (13,6% φλεβικό και 18,6% αρτηριακό). Στους ασθενείς εκτός ΜΕΘ, ποσοστό 11,5% παρουσίασε οποιοδήποτε θρομβωτικό επεισόδιο (3,6% φλεβικό και 8,4% αρτηριακό)/(Bilaloglu S JS. Thrombosis in hospitalized patients with COVID-19 in a New York city health system. JAMA., 2020)

Η αρτηριακή θρόμβωση (ΑΕΕ, ισχαιμία μυοκαρδίου και ισχαιμία των άκρων) παρατηρείται λιγότερα συχνά σε σχέση με τη φλεβική θρόμβωση. ΑΕΕ σημειώθηκε στο 1,6% των νοσηλευόμενων ασθενών και έμφραγμα του μυοκαρδίου στο 8,9%.

(Bilaloglu S JS. Thrombosis in hospitalized patients with COVID-19 in a New York city health system. JAMA., 2020)

Αιμορραγικές επιπλοκές εμφανίζονται σε πολύ μικρότερο ποσοστό (2,7% σε 150 ασθενείς της ΜΕΘ), με την αιμορραγία να μην είναι αυτόματη, αλλά να σχετίζεται με κάκωση κεφαλής ή την αντιπηξία (Helms J et al. High risk of thrombosis in patients with severe SARS-CoV-2 infection: A multicenter prospective cohort study. Intensive Care Med., 2020)

Δείκτες φλεγμονής και έκρηξη κυτταροκινών στη COVID-19 λοίμωξη

Η λοίμωξη με SARS-CoV-2, μπορεί να προκαλέσει ένα ευρύ φάσμα εκδηλώσεων, από ασυμπτωματική λοίμωξη (40-45% των περιπτώσεων) και ήπια νόσηση (81% των περιπτώσεων) έως σοβαρή (14% των συμπτωματικών ασθενών) και λοίμωξη επικίνδυνη για τη ζωή (5% των συμπτωματικών ασθενών). Μέσος χρόνος επώασης είναι οι 5 ημέρες, με εύρος 1-14 ημέρες. Κατά την περίοδο επώασης τα συμπτώματα μπορεί να αφορούν σε πυρετό, κακουχία, φαρυγγαλγία, διαρροϊκές κενώσεις και άλλα μη ειδικά συμπτώματα. Κατά την περίοδο αυτή, τα λευκά αιμοσφαίρια και τα λεμφοκύτταρα δεν έχουν μειωθεί ιδιαίτερα. Κατά τη δεύτερη φάση της λοίμωξης, 7-14 ημέρες μετά, ο ιός προκαλεί ιαιμία που επηρεάζει κυρίως τους πνεύμονες, το πεπτικό και την καρδιά μέσω της σύνδεσής του με τους ACE-2 υποδοχείς που αυτοί οι ιστοί εκφράζουν. Σε αυτήν τη φάση, η πνευμονία επιπλέκει την πορεία της νόσου προκαλώντας αμφοτερόπλευρα διηθήματα στους πνεύμονες και υποξαιμική αναπνευστική ανεπάρκεια. Στις σοβαρές μορφές της νόσου, ο αριθμός των λεμφοκυττάρων είναι σημαντικά χαμηλότερος και οι φλεγμονώδεις δείκτες (φερριτίνη, CRP, ΤΚΕ), οι τρανσαμινάσες (AST/ALT) και η LDH μπορεί να ανιχνεύονται στο αίμα σε υψηλές συγκεντρώσεις. Οι ασθενείς μπορεί επίσης να εμφανίσουν αυξημένα επίπεδα ιντερλευκινών (IL-2, IL-6, IL-7), G-CSF, πρωτεΐνης 10 επαγόμενης από την IFN-γ, χημειοτακτικής (chemoattractant) πρωτεΐνης-1 των μονοκυττάρων (MCP-1),

φλεγμονώδους πρωτεΐνης 1-a των μακροφάγων (MIP1-α) και TNF-a όταν εισέλθουν σε μια κατάσταση «έκρηξης κυτταροκινών», που μπορεί να οδηγήσει σε απόπτωση των λεμφοκυττάρων. Το σύνδρομο απελευθέρωσης κυτταροκινών (Cytokine release syndrome-CRS) ή η έκρηξη των κυτταροκινών είναι ένας τύπος οξείας συστηματικής φλεγμονώδους αντίδρασης που παρουσιάζεται κλασσικά με πυρετό και πολυοργανική ανεπάρκεια. Συμβαίνει συνήθως μετά από ανοσοθεραπείες (CAR-T cells ή θεραπευτικά αντισώματα) και απλοταυτόσημες αλλογενείς μεταμοσχεύσεις. Ωστόσο, βαριές ιογενείς λοιμώξεις όπως η ινφλουένζα ή ο SARS-CoV-2 μπορούν επίσης να προκαλέσουν μια ισχυρή φλεγμονώδη ανοσιακή απάντηση και έκρηξη κυτταροκινών. Οι ήπιες μορφές του CRS αντιμετωπίζονται με αντιισταμινικά, αντιπυρετικά και ενδοφλέβια υγρά, ενώ η τοσιλιζουμάμπη (tocilizumab-ένας ανταγωνιστής του υποδοχέα της IL-6) και τα στεροειδή χρησιμοποιούνται στις βεβαρυμένες καταστάσεις.

Φαίνεται λοιπόν πώς ο SARS-CoV-19 είναι ένα καινούριο στέλεχος που προκαλεί σημαντικές μεταβολές στα κύτταρα του αίματος, όπως τη λεμφοπενία και την εξάντληση των CD8+ κυττάρων στις σοβαρές περιπτώσεις, μειώνοντας με αυτόν τον τρόπο την κυτταρική ανοσιακή απάντηση. Στην μετέπειτα φάση της ιαιμίας, μπορεί να προκαλέσει σοβαρό φλεγμονώδες σύνδρομο, παρόμοιο με σύνδρομο κυτταροκινών που μπορεί να οδηγήσει και σε εισαγωγή στη ΜΕΘ. Επιπλέον, διαπιστώνονται συχνά θρομβωτικά επεισόδια, γεγονός που καθιστά τη λοίμωξη από τον ιό ιδιαίτερη, με μια παθοφυσιολογία που ακόμα ερευνάται.

Ρόλος των αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων στην λοίμωξη από τον ιό SARS-CoV-2

Η λοίμωξη από τον ιό SARS-COV-2, χαρακτηρίζεται από ένα ευρύ φάσμα κλινικών εκδηλώσεων. Έχει συσχετιστεί με μια υπερπηκτική κατάσταση, ιδιαίτερα με θρομβωτικά συμβάματα, με τις διαταραχές της πήξης να περιλαμβάνουν αυξημένες

τιμές D-Dimer, παράταση του χρόνου προθρομβίνης και θρομβοπενία, τα οποία προμηνύουν δυσμενή εξέλιξη.

Η υπερπηκτική κατάσταση στη λοίμωξη COVID-19, φαίνεται να αποτελεί ένα μίγμα διάφορων προθρομβωτικών καταστάσεων. Ανάμεσα σε αυτές, το αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο (APS) και ιδιαίτερα η καταστροφική του μορφή (cAPS), προσομοιάζει περισσότερο σε αυτό που συμβαίνει στην συγκεκριμένη λοίμωξη, κάτι που οδήγησε και στην μελέτη για την ύπαρξη αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων (aPL-Abs) σε αυτούς τους ασθενείς.

Λαμβάνοντας υπόψιν ότι:1) τα aPL-Abs σχετίζονται με θρόμβωση, 2) οι ασθενείς με COVID-19 λοίμωξη υποφέρουν από θρομβώσεις, 3) μερικές από τις παθολογικές εκδηλώσεις της λοίμωξης COVID-19 εμφανίζουν σημαντική ομοιότητα με το καταστροφικό APS, και 4) ότι τα aPL-Abs έχουν ανιχνευθεί σε πολλές μελέτες ασθενών με λοίμωξη COVID-19, πολλά ερωτήματα προκύπτουν, ένα από τα οποία είναι η σημασία που αποκτούν τα aPL-Abs και η πιθανή συμμετοχή τους στην παθολογία της COVID-19 λοίμωξης. Το APS ή το cAPS, είναι όντως χαρακτηριστικό της συγκεκριμένης λοίμωξης?

Στους ασθενείς με COVID-19 λοίμωξη, μέσα από αναδρομικές πλέον μελέτες, έχει διαπιστωθεί υψηλή συχνότητα aPL-Abs, κλασσικών κριτηρίων και μη. Παρ' όλα αυτά, οι διαφορές στην συχνότητα εμφάνισής τους μειώθηκαν όταν χρησιμοποιήθηκε ομάδα ελέγχου αντίστοιχης ηλικίας.

Η συσχέτιση των aPL-Abs με τα θρομβωτικά φαινόμενα στους συγκεκριμένους ασθενείς είναι εξαιρετικά ετερογενής. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι πολλές από τις μελέτες που πραγματοποιήθηκαν, συμπεριέλαβαν μικρό αριθμό ηλικιωμένων ασθενών στους οποίους έγινε μια μόνο μέτρηση των aPL-Abs, χωρίς προ-τυποποιημένες μεθόδους.

Στις ελάχιστες μελέτες στις οποίες έγινε και επαναληπτική μέτρηση των aPL-Abs σε προκαθορισμένο διάστημα, διαπιστώθηκε ότι τα αντισώματα αυτά ελάχιστα διαφοροποιήθηκαν μεταξύ των δύο δειγμάτων, με εξαίρεση το αντιπηκτικό του Λύκου, που συνήθως μειώνονταν.

Πρόσφατα έχουν περιγραφεί αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα που σχετίζονται με θρομβωτικά επεισόδια, τα οποία δεν περιλαμβάνονται στα γνωστά κριτήρια (extra criteria aPL-Abs). Από τα αντισώματα αυτά, ο IgA ισότυπος του anti-B2GPI και ο IgG/IgM ισότυπος του αντισώματος έναντι της φωσφατιδυλοσερίνης/προθρομβίνης (anti-PS/PT) είναι από τα πιο συχνά ανιχνεύσιμα, τα οποία συνδέονται με θρόμβωση.

Παρατηρήθηκε ότι η συχνότητα εμφάνισης των aPL αντισωμάτων σε ασθενείς με COVID-19 λοίμωξη, είτε με, είτε χωρίς θρομβωτικά επεισόδια, ποικίλει μεταξύ 21-70%, αναλόγως με τις μεθόδους που χρησιμοποιούνται για την ανίχνευσή τους και της παρουσίας του LA.

Σε μια πρόσφατη μετα-ανάλυση που περιλάμβανε 21 μελέτες (Taha, M.; Samavati, L. Antiphospholipid antibodies in COVID-19: A meta-analysis and systematic review. RMD Open, 2021), η συχνότητα ενός ή περισσότερων aPL-Abs (aCL, anti-B2GPI IgG/IgM/IgA, anti-PS/PT ή LA) ήταν 46,8%. Το LA είναι το πιο συχνό aPL αντίσωμα που σχετίζεται με την COVID-19 λοίμωξη, η παρουσία του όμως είναι παροδική και δεν έχει συνδεθεί με αυξημένο κίνδυνο θρόμβωσης.

Τα aPL-Abs, όπως έχει αναφερθεί και παραπάνω, μπορούν να εμφανιστούν στα πλαίσια διάφορων λοιμώξεων. Για την αποφυγή ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων, θεμελιοποιήθηκε η ανάγκη ελέγχου της εμμένουσας παρουσίας των aPL-Abs: Ένα θετικό δείγμα πρέπει να επιβεβαιωθεί με ένα δεύτερο θετικό τεστ, 12 εβδομάδες τουλάχιστον μετά από την πρώτη εκτίμηση.

Συγκεκριμένες λοιμώξεις όπως η ηπατίτιδα C, ο έρπης ζωστήρας και ο πυρετός Q, είναι δυνατόν να ενέχονται στις αιτίες που πυροδοτούν το APS, συμπεριλαμβανομένης και της καταστροφικής μορφής του (cAPS). Η ίδια αναφορά έχει γίνει και για την λοίμωξη COVID-19, η οποία θα μπορούσε να πυροδοτήσει τη σύνθεση aPL αντισωμάτων, είτε εκείνων που ανήκουν στα κριτήρια είτε των εκτός κριτηρίων (κυρίως του IgA anti-B2GPI). Αν και έχει παρατηρηθεί ότι η θετικότητα του LA είναι παροδική, η επικράτηση πέραν των 12 εβδομάδων των άλλων κλασσικών aPL-Abs και κυρίως των εκτός κριτηρίων, σε μεγάλες σειρές ασθενών με λοίμωξη COVID-19, δεν έχει ακόμα επαρκώς μελετηθεί.

Οι Zhang και συν., οι οποίοι περιέγραψαν για πρώτη φορά την πιθανή σχέση των aPL-Abs με την λοίμωξη COVID-19, κατέγραψαν 3 ασθενείς με αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο και θετικά anti-CL IgA και anti-B2GPI IgG/IgA. Οι Harzallah και συν. περιέγραψαν 25 ασθενείς με θετικά LAC και 5 με anti-CL ή anti-B2GPI IgG/IgM σε μια κοόρτη 56 ασθενών με Covid-19 λοίμωξη. Οι Dervesse και συν. ανέφεραν 23 από τους 31 ασθενείς θετικούς σε τουλάχιστον ένα από τα aPL-Abs των κλασσικών κριτηρίων. Η επαναλαμβανόμενη μέτρηση όμως, ένα μήνα μετά τη λοίμωξη, δεν επιβεβαίωσε τη θετικότητα των συγκεκριμένων aPL-Abs σε όλους τους ασθενείς.

Παρακάτω προσεγγίζονται κριτικά διάφορες μελέτες και δεδομένα από τη διεθνή βιβλιογραφία, ώστε να μπορέσουν να απαντηθούν κάποια από τα ερωτήματα που αναφέρθηκαν.

aPL αντισώματα που σχετίζονται με θρόμβωση έναντι εκείνων που ανιχνεύονται μόνο εργαστηριακά

(COVID-19 and Antiphospholipid Antibodies: Time for a Reality Check? Emmanuel J. Favaloro et al., 2021)

Η εργαστηριακή ανίχνευση αυτή καθ' αυτή των aPL-Abs δεν αποτελεί προθρομβωτικό παράγοντα και δεν απαιτεί φαρμακευτική παρέμβαση σε ασυμπτωματικούς ασθενείς, ακόμη και αν είναι εμμένουσα, εκτός από τις περιπτώσεις όπου εμφανίζονται υψηλοί τίτλοι και πολλαπλή θετικότητα αντισωμάτων. Είναι δυνατόν να ανιχνευτούν aPL αντισώματα σε ασυμπτωματικούς ασθενείς που να αποτελούν τυχαίο εύρημα ενώ και πολλοί ασθενείς στους οποίους ανιχνεύονται αντισώματα δεν θα αναπτύξουν θρόμβωση.

Κατευθυντήριες οδηγίες για τον έλεγχο των aPL αντισωμάτων και οι οριακές τιμές τους

Υπάρχουν πολλές ερευνητικές ομάδες που παρέχουν κατευθυντήριες οδηγίες για την εξέταση των aPL αντισωμάτων, οι οποίες δεν αναφέρονται μόνο στην ταυτοποίηση των διαφόρων τύπων των αντισωμάτων, άλλα και στον τρόπο με τον οποίο θα πρέπει να διεξάγεται η κάθε εξέταση. Υπάρχει σύσταση για συμμόρφωση σε κανόνες για τη βελτίωση της διεργαστηριακής συμφωνίας. Για παράδειγμα, για το LA, οι οδηγίες παρέχουν συμβουλές για τη χρήση πηκτικών δοκιμασιών (υγράς φάσης) και περιλαμβάνουν πληροφορίες για τις μεθόδους που μπορεί να χρησιμοποιηθούν και τον τρόπο διεξαγωγής/ερμηνείας τους. Χρειάζεται να αναφερθεί εδώ ότι οι κατασκευαστικές εταιρείες των αντιδραστηρίων για την ανίχνευση των aPL-Abs δεν υποχρεώνονται να παράγουν αντιδραστήρια με βάσει τις συγκεκριμένες κατευθυντήριες οδηγίες, οπότε κυκλοφορεί πλήθος μεθοδολογιών και αντιδραστηρίων για την ανίχνευσή τους. Έτσι, ενώ διαφορετικοί ερευνητές μπορεί να αναφέρονται στο ίδιο αντίσωμα (πχ, aCL IgG), μπορεί να προκύψουν διαφορετικά αποτελέσματα λόγω των διαφορών στις μεθόδους που χρησιμοποιούνται (πχ. ELISA vs ενζυμική ανοσοδοκιμασία χημειοφωταύγειας {CLIA}). Συνεπώς, το εύρος των αποτελεσμάτων στην βιβλιογραφία, αναφορικά με οποιοδήποτε aPL αντίσωμα, αντανακλά μια ποικιλία παραγόντων, συμπεριλαμβανομένου του τρόπου που εκτιμώνται οι κοόρτες των

ασθενών με λοίμωξη COVID-19 και της μεθοδολογίας που χρησιμοποιείται για την ανίχνευση του κάθε αντισώματος.

Επιπλέον, υπάρχουν διαφορές και στις οριακές τιμές που χρησιμοποιούν τα διάφορα εργαστήρια για να ορίσουν τα θετικά aPL-Abs. Σε γενικές γραμμές, η σύσταση υποδεικνύει την 99η εκατοστιαία θέση της καμπύλης των φυσιολογικών τιμών από τουλάχιστον 120 υγιή άτομα, ή >40 GPL ή MPL μονάδες. Ορισμένα εργαστήρια χρησιμοποιούν χαμηλότερα cut-off με αποτέλεσμα να διαπιστώνουν υψηλότερο ποσοστό aPL-Abs θετικών περιπτώσεων. Σύμφωνα με τις πρόσφατες κατευθυντήριες οδηγίες, το APS ορίζεται μόνο αν υπάρχουν μέτριοι έως υψηλοί τίτλοι aPL αντισωμάτων (δηλαδή > 40 GPL ή MPL μονάδων). Πολλές αυτοματοποιημένες μέθοδοι στερεάς φάσης για την ανίχνευση των aPL-Abs είναι πλέον διαθέσιμες (πχ, CLIA) οι οποίες χρησιμοποιούν εναλλακτικές μονάδες χημειοφωταύγειας (CU). Οι κατασκευαστές προσπαθούν να εναρμονίσουν τα όρια, που στις περισσότερες περιπτώσεις είναι περίπου 20 GPL, MPL, ή CU, όμως χρησιμοποιούνται και άλλα cut off αναλόγως του αντιδραστηρίου ή της μεθοδολογίας, όπως 8, 15 ή 40 GPL, MPL ή CU.

Αποτελέσματα από τη βιβλιογραφική ανασκόπηση:

Η ανασκόπηση της βιβλιογραφίας των Favaloro και συν., ξεκίνησε τον Φεβρουάριο του 2021, επικαιροποιήθηκε τον Μάρτιο του 2021 και αναφέρεται στην σχέση των αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων με την COVID-19 λοίμωξη.

Είναι παρόντα τα aPL αντισώματα στην COVID-19 λοίμωξη?

Μια από τις πρώτες αναφορές, όπως ήδη αναφέρθηκε, για την παρουσία των aPL-Abs στην COVID-19 λοίμωξη ήταν τον Απρίλιο του 2020 από τους Zhang και συν.. Αφορούσε 3 ασθενείς με COVID-19 λοίμωξη στη ΜΕΘ που υπέστησαν σοβαρές επιπλοκές συμπεριλαμβανομένων των πολλαπλών εγκεφαλικών εμφράκτων και στους

οποίους ανιχνεύονταν aPL αντισώματα. Η συγκεκριμένη μελέτη αναμφίβολα ώθησε σε μια ευρύτερη έρευνα για τη πιθανή συμμετοχή των aPL αντισωμάτων στις επιπλοκές της COVID-19 λοίμωξης, η οποία όμως μπορεί να επικριθεί από διάφορες απόψεις:

Πρώτον, η μεθοδολογία που χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευση των αντισωμάτων δεν ήταν καθορισμένη, όπως δεν ήταν και τα επίπεδα τους (χαμηλά ή υψηλά). Η παραμονή των aPL αντισωμάτων σε δεύτερο δείγμα στη διάρκεια του χρόνου επίσης δεν εκτιμήθηκε. Καθώς η μελέτη επικεντρώνονταν σε μια ιδιαίτερα μικρή ομάδα ασθενών, υπήρχε σαφώς συστηματικό σφάλμα επιλογής. Με άλλα λόγια, επικεντρώθηκαν σε ένα πολύ μικρό αριθμό ασθενών με σοβαρές επιπλοκές που ταυτόχρονα έτυχε να έχουν και aPL αντισώματα. Δεν υπήρχαν στοιχεία σχέσης αιτίου ή αιτιατού.

Από μια αντίθετη οπτική, το πρώτο άρθρο που βρέθηκε να αναφέρεται στην COVID-19 λοίμωξη και τα aPL αντισώματα ήταν από τους Yasri και Wiwanitkit, το 2020. Οι ερευνητές αυτοί χρησιμοποίησαν επίσημα στοιχεία από το CDC της Ταϋλάνδης, της δεύτερης χώρας στην οποία ξέσπασε η λοίμωξη COVID-19 και διαπίστωσαν ότι το APS ήταν σπάνιο στην συγκεκριμένη λοίμωξη. Από τους 2,369 ασθενείς που μελέτησαν, με 30 αναφερόμενους θανάτους, μόνο ένας ασθενής (0,04%) ταυτοποιήθηκε με APS.

Συστηματικά σφάλματα επιλογής στην Βιβλιογραφία

Θα μπορούσε να υποτεθεί ότι η συχνότητα των aPL αντισωμάτων στους COVID-19 θετικούς ασθενείς, θα είναι υψηλότερη σε μικρές σειρές ασθενών λόγω των ενδεχομένων συστηματικών σφαλμάτων επιλογής, όπως έγινε και με τους Zhang και συν. Επομένως, τα συστηματικά σφάλματα επιλογής είναι πιθανά όταν οι ερευνητές προσδιορίζουν τα aPL-Abs. Εν πρώτοις, είναι πιο πιθανό να δημοσιεύσουν τα θετικά ευρήματα παρά τα αρνητικά και αυτό είναι εξαιρετικά πιθανό όταν υπάρχουν μικρές σειρές ασθενών ή παρουσιάσεις ενός περιστατικού (single case studies). Δεύτερον, οι ερευνητές είναι δυνατό να εξετάζουν την παρουσία των aPL αντισωμάτων σε

επιλεγμένες κοόρτες COVID-19 θετικών ασθενών, όπως εκείνες με αυξημένο aPTT ή σε εκείνες που υπάρχουν κλινικές ενδείξεις για aPL αντισώματα. Σε τέτοιου είδους μελέτες είναι ίσως αναμενόμενη η σχετικά αυξημένη παρουσία aPL αντισωμάτων.

Από τη μελέτη των Favaloro και συν. αποκλείστηκαν τα μεμονωμένα περιστατικά.

Η βιβλιογραφία για τα aPL-Abs περιλαμβάνει μελέτες που εμπεριέχουν το LA, άλλα και μελέτες που δεν το περιλαμβάνουν, οπότε το ποσοστό των aPL αντισωμάτων κυμαίνεται, με γενικά υψηλότερα ποσοστά όταν το LA συμπεριλαμβάνεται.

Συχνότητα των aPL αντισωμάτων στην COVID-19 λοίμωξη

Αποκλείοντας τις μελέτες με τα μεμονωμένα περιστατικά, και συμπεριλαμβάνοντας τις μελέτες για το LA, η συχνότητα των aPL αντισωμάτων είναι 33% (διάμεση τιμή) με ενδοτεταρτημοριακό εύρος (interquartile range-IQR) μεταξύ 11 και 52%. Τα μεγαλύτερα ποσοστά οφείλονται στην παρουσία του LA, που σε ορισμένες περιπτώσεις έφτανε να αποτελεί πάνω από το 80% των περιστατικών. Η αναφερόμενη συχνότητα στα στερεάς φάσης ανιχνευόμενα aPL-Abs (solid phase aPL: aCL, aβ2GPI) ήταν γενικά χαμηλότερη, όπως απεικονίζεται και στους παρακάτω πίνακες. Μεταξύ των COVID-19 θετικών περιπτώσεων και συγκεκριμένων κατηγοριών aPL-Abs, παρουσιάζεται μια καμπυλόγραμμη συσχέτιση, που πιθανά υποδηλώνει συστηματικά σφάλματα επιλογής.

Τίτλοι aPL αντισωμάτων στους COVID-19 θετικούς ασθενείς

Σε γενικές γραμμές, τα περισσότερα aPL-Abs, ανιχνεύθηκαν σε χαμηλό τίτλο, ενώ τα υψηλότερα επίπεδα ανευρέθηκαν σπάνια.

aPL-Abs κλασσικών κριτηρίων (εξαιρώντας το LA)

Το διάγραμμα 4 περιλαμβάνει μια συνολική εικόνα των τίτλων των aPL αντισωμάτων που αναφέρονται στην βιβλιογραφία ως aPL αντισώματα «κλασσικών κριτηρίων» του APS (εκτός LA). Σε ορισμένες περιπτώσεις το εύρος των δεδομένων για τα aPL-Abs προβλεπόταν για ολόκληρη την κοόρτη των COVID-19 θετικών περιπτώσεων, ενώ σε

ορισμένες άλλες περιπτώσεις, αναφέρονταν μόνο στα θετικά για aPL περιστατικά. Η αντίληψη για τον τίτλο των aPL αντισωμάτων στους COVID-19 ασθενείς προφανώς και επηρεάζεται όταν μόνο οι θετικές περιπτώσεις συμπεριλαμβάνονται. Δύο μελέτες προέβαλαν αριθμητικά δεδομένα για μια σειρά περιπτώσεων, επιτρέποντας έτσι να υπογραμμιστεί αυτή η διαφορά. Συνεπώς, ατομικές εκτιμήσεις σε έναν ικανό αριθμό COVID-19 θετικών περιπτώσεων παρασχέθηκαν από τους Devreese και συν. και Pineton de Chambrun και συν., επιτρέποντας τον υπολογισμό των διάμεσων και των IQR τιμών των aPL-Abs και για το σύνολο των κοόρτων αλλά και ξεχωριστά για τα θετικά στα aPL περιστατικά.

Αποκλείοντας το LA, ο τίτλος για τα επίπεδα των aCL ήταν συνήθως μέσα στο εύρος του «φυσιολογικού», χρησιμοποιώντας ένα cut-off όριο των 20 μονάδων και για τους δυο ισότυπους των αντισωμάτων, IgG/IgM. Ας σημειωθεί, ότι οι διαφορετικές μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν στις μελέτες ενδεχομένως να χρησιμοποίησαν και διαφορετικές μονάδες μέτρησης. Λαμβάνοντας υπόψιν μόνο τις θετικές περιπτώσεις για τα aPL-Abs, ο τίτλος τους είναι λογικό να είναι πάνω από το cut-off, όμως ακόμη και σε αυτήν την περίπτωση οι τιμές των aPL αντισωμάτων θεωρήθηκαν χαμηλού τίτλου (<40 μονάδες). Σε ορισμένες μελέτες τα aPL-Abs είχαν υψηλότερο τίτλο, αλλά αυτές ήταν η μειονότητα και αναφέρονταν σε μικρό αριθμό ασθενών. Σε δυο μελέτες, έγινε σύγκριση ανάμεσα στις κοόρτες για την COVID-19 λοίμωξη και του κλασσικού APS. Τα δεδομένα από τη μια από αυτές τις μελέτες, του Gatto και συν. απεικονίζονται στην εικόνα 4. Οι ερευνητές αυτοί μελέτησαν έναν ικανό αριθμό ασθενών (n=122) που χωρίστηκε σε εκείνους που νοσηλεύτηκαν για την COVID-19 λοίμωξη και στους μη νοσηλευόμενους, μαζί με ξεχωριστή ομάδα ασθενών, που λειτούργησε ως ομάδα ελέγχου, με «άλλα αυτοάνοσα ρευματικά νοσήματα». Οι Borghi και συν. μελέτησαν επίσης 122 ασθενείς με COVID-19 λοίμωξη και προέβαλαν συγκριτικά δεδομένα από μια μελέτη ασθενών με APS. Και στις δυο μελέτες, οι τίτλοι των aPL-Abs από την

κοόρτη των ασθενών με APS υπερείχαν σημαντικά των αντίστοιχων τίτλων από τις κοόρτες των ασθενών με λοίμωξη COVID-19.

Στις COVID-19 μελέτες, τα πιο συχνά παρατηρούμενα «κριτήρια» aPL-Abs και ιδιαίτερα με υψηλούς τίτλους ήταν τα aCL IgG/IgM και τα aβ2GPIb IgG. Η εμφάνιση θετικού aβ2GPI IgM, ιδιαίτερα στις πιο υψηλές τιμές, παρατηρήθηκε λιγότερο συχνά.

aPL αντισώματα εκτός κριτηρίων (non-criteria aPL-Abs)

Ένας μεγάλος αριθμός των «non-criteria» aPL αντισωμάτων έχει μελετηθεί στην COVID-19 λοίμωξη, τα περισσότερα δεδομένα όμως αφορούν τα aCL IgA, aβ2GPI IgA, με τελευταίο τα aPS/aPT. Σε γενικές γραμμές, λιγότερες περιπτώσεις ασθενών με COVID-19 λοίμωξη βρέθηκαν με τα non-criteria aPL-Abs, και όπου αυτά αναφέρθηκαν, οι τίτλοι τους ήταν ανάλογοι με εκείνους των κλασσικών κριτηρίων, πάντα με ορισμένες εξαιρέσεις.

Πολλαπλή θετικότητα στα aPL-Abs

Η πολλαπλή θετικότητα στα aPL-Abs δεν ήταν συχνή και παρατηρήθηκε σε λίγα μεμονωμένα περιστατικά (πίνακας 6).

Παραμονή των aPL αντισωμάτων έναντι της παροδικής εμφάνισης

Για να αναφερθούν τα aPL αντισώματα ως ένα συγκεκριμένο χαρακτηριστικό ενός αυτοάνοσου νοσήματος, όπως το APS, πρέπει να αποδειχθεί και η παραμονή τους στο χρόνο, επαναλαμβάνοντας τον έλεγχο 12 εβδομάδες μετά την πρώτη θετικοποίηση. Οι περισσότεροι ερευνητές, αναφορικά με τη θετικότητα του LA στους Covid-19 θετικούς ασθενείς, είτε δεν πραγματοποίησαν τον επαναληπτικό έλεγχο, είτε δεν τον ανέφεραν. Επομένως, η παραμονή των aPL-Abs δεν εκτιμήθηκε στις περισσότερες μελέτες και δεν μπορεί να αποδειχθεί. Σε δυο μελέτες που προσπάθησαν να εξετάσουν την παρουσία των αντισωμάτων σε δεύτερο δείγμα, φάνηκε ότι οι περισσότεροι ασθενείς αρνητικοποίησαν τα αντισώματα, ενώ σε άλλες περιπτώσεις η επαναλαμβανόμενη

λήψη κατέστη αδύνατη λόγω του θανάτου των ασθενών. Από τα δεδομένα αυτά προκύπτει ότι η θετικότητα των aPL αντισωμάτων στους COVID-19 θετικούς ασθενείς είναι κυρίως παροδική.

Η παροδική εμφάνιση των aPL-Abs σαν κοινό χαρακτηριστικό σοβαρών ιογενών λοιμώξεων

Οι Abdel-Wahab και συν. περιέγραψαν 3 διαφορετικές ομάδες ασθενών ανάλογα με την κλινική τους εικόνα, μετά την αποδρομή κάποιας ιογενούς λοίμωξης. Η ομάδα 1 περιλάμβανε ασθενείς που πληρούσαν τα κριτήρια για APS (24,6%), η ομάδα 2 περιλάμβανε ασθενείς που είχαν παροδική αύξηση των aPL-Abs με συνοδά θρομβοεμβολικά επεισόδια (43,7%) και η τρίτη ομάδα ήταν οι ασθενείς με παροδική εμφάνιση aPL-Abs χωρίς θρομβοεμβολικά επεισόδια (31,7%). Επομένως, περιπτώσεις δευτεροπαθούς APS μετά από ιογενείς λοιμώξεις (κυρίως HCV,HIV) έχουν αναφερθεί. Περιπτώσεις δευτεροπαθούς APS μετά από λοιμώξεις που εξελίχθηκαν σε CAPS έχουν επίσης αναφερθεί και περιλαμβάνουν κυρίως τον ιό της ηπατίτιδας C, του Έρπητα Ζωστήρα, διάφορα βακτήρια, μύκητες, παράσιτα και τον οξύ πυρετό Q. Ως πυροδοτικός μηχανισμός του δευτεροπαθούς APS και του CAPS έχει προταθεί το φαινόμενο της μοριακής μίμησης που οδηγεί στην παραγωγή των aβ2GPI αυτοαντισωμάτων.

Συνεπώς, η παρουσία aPL αντισωμάτων στους COVID-19 θετικούς ασθενείς δεν είναι χαρακτηριστικό μόνο της συγκεκριμένης λοίμωξης. Ακόμα όμως δεν έχουν υπάρξει και συγκριτικές μελέτες όσον αφορά τα aPL-Abs των ασθενών με COVID-19 λοίμωξη και εκείνων που εμφανίζονται στις άλλες ιογενείς λοιμώξεις για να διαπιστώσουμε και να συγκρίνουμε την συχνότητά τους, αν είναι υψηλότερη ή χαμηλότερη. Επιπλέον, οι άλλες ιογενείς λοιμώξεις πιθανά να μην έχουν μελετηθεί και τόσο διεξοδικά όσο η COVID-19 λοίμωξη, λόγω του χαμηλότερου επιδημιολογικού φορτίου.

Η παρουσία aPL αντισωμάτων στους ασθενείς με COVID-19 λοίμωξη αποτελεί παράγοντα κινδύνου για θρόμβωση?

Λίγες μελέτες εξέτασαν το ενδεχόμενο η παρουσία aPL αντισωμάτων στους ασθενείς με COVID-19 λοίμωξη να προσθέτει επιπλέον κίνδυνο για θρομβωτικό επεισόδιο. Λίγες μελέτες επίσης διαπίστωσαν στατιστικά σημαντική διαφορά στον θρομβωτικό κίνδυνο μεταξύ των aPL-Abs θετικών ασθενών έναντι των aPL-Abs αρνητικών ή σημαντική aPL-Abs θετικότητα (μόνο για το LA) στις κοόρτες που σχετίζονταν με θρόμβωση. Εδώ υπάρχουν πολλοί εν δυνάμει συγχυτικοί παράγοντες που θα πρέπει να ληφθούν υπόψη και δεν είναι πολύ πιθανό τέτοιοι παράγοντες να συνυπολογίστηκαν σε όλες τις δημοσιεύσεις. Επομένως, η παροδική θετικότητα των aPL-Abs μπορεί να εμφανίζεται στους πιο βεβαρυμένους ασθενείς, που είναι ήδη σε αυξημένο κίνδυνο για κάποιο θρομβωτικό επεισόδιο και η παρουσία τους μπορεί να αντανακλά περισσότερο μια απλή συσχέτιση απ' ότι την αιτία για την παθοφυσιολογία των γεγονότων που ακολουθούν. Το αν η παρουσία των aPL-Abs στην COVID-19 λοίμωξη αποτελεί επιπρόσθετο παράγοντα κινδύνου στην επακόλουθη θρόμβωση, ακόμη παραμένει ανεπίλυτο ερώτημα. Σύμφωνα και με αντίστοιχα φαινόμενα που παρατηρούνται στο APS, οι ασθενείς με COVID-19 λοίμωξη με πολλαπλή θετικότητα στα aPL αντισώματα, είναι πιο πιθανό να εμφανίσουν θρομβωτικό επεισόδιο, η διπλή ή τριπλή θετικότητα όμως καταγράφηκε σε λίγους ασθενείς και σε ορισμένες μελέτες.

Table 1 Summary of literature related to antiphospholipid antibody (aPL) testing in COVID-19

Study	Case descriptions and main findings	Number of COVID-19 cases	Methods for aPL	Number of aPL positive (%)	Reported aPL levels?	Link to COVID-19 severity?	Assessed aPL persistence?	Assessed LA?	Comments
Yasri and Wiwanitkit 2020[40]	From accumulated 2,369 COVID-19 patients (as of August 4, 2020) with 30 deaths, 1 patient (0.04%) had APS	2,369	NR	?1 (0.04%)	NR	NR	NR	NR	
Lerma et al 2020[41]	64 COVID-19	64	BioPlex 2200 APLS multiplex platform (Bio-Rad) for IgG and IgM aCL and aβ2GPI. QUANTA Lite aPS/PT IgG and IgM ELISA (Inova Diagnostics)	Total 6/64 (9.4%) had positive aPL; 3 patients had aPL by aβ2GPI and aCL (1× strong IgG aβ2GPI and aCL = prior history aPL/SLE; 1× IgM aβ2GPI and aCL; 1× IgM aβ2GPI); 3 patients had aPS/PT IgM and 1× IgG)	NR	No evidence of COVID-19-related VTE in any aPL-positive patient	NR	No	
Zhang et al 2020[32]	3 cases with COVID-19 ICU	3	NR	3 cases positive for aCL IgA, aβ2GPI IgA, and IgG	NR	NR	NR	Yes (Neg)	Selection bias
Galeano-Valle et al 2020[42]	24 COVID-19 pneumonia and diagnosed DVT or PE (from 785 COVID-19 patients admitted to internal medicine ward); incidence of VTE in this population was 6.5%; none had known thrombophilia; 45.8% patients presented PE alone, 9 (37.5%) patients presented DVT alone, and 4 (16.6%) patients presented PE and DVT	24	aCL and aβ2GPI ELISA (Orgentec) aCL NRR was IgM 0–7 U/mL, IgG 0–10 U/mL; aβ2GPI NRR was IgM 0–8 U/mL, IgG 0–8 U/mL	2 patients (8.3%) weakly positive for: aCL IgM (19.3 U/mL, 15.8 U/mL); aβ2GPI IgM (14.1 U/mL, 16.2 U/mL); aCL IgG and aβ2GPI IgG negative in all patients	Yes	"Prevalence of aPL among COVID-19 patients with VTE in our cohort was low, suggesting that these might not be involved in the pathogenesis of VTE in patients with severe COVID-19 pneumonia"	NR	"LA not assessed since testing not recommended in acutely ill patients and under anticoagulant therapy"	
Previtali et al 2020[31]	75 patients deceased due to COVID-19. Serum samples, collected 24 hours before death and frozen at −20°C, were available only for 35 patients out of 75 autopsies	35	IgA, IgG, and IgM aCL and aβ2GPI by BIO-FLASH CLIA (Inova Diagnostics); manufacturer's cut-off 20 CU used. IgG and IgM aPS/PT by commercial ELISA (QUANTA Lite, Inova Diagnostics), using manufacturer's cut-off (30 units).	3/35 (8.6%) were aPL-positive: 1× aCL IgG and 2× aCL IgM but all values were low (<3× the cut-off). No patients were positive for aCL IgA or for any aβ2GP1 isotype. 3/35 (8.6%) patients were positive for aPS/PT, 1× IgG and 2× IgM, but values were <2× cut-off. No patient showed simultaneous positivity for aCL and aPS/PT	Yes	"Our patients fulfilled the main clinical diagnostic criteria for CAPS: evidence of involvement in three or more organs; development of manifestations simultaneously or in less than a week, confirmation by histopathology of small vessel occlusion in at least one organ. However, almost all the patients were negative for aPL. Only 6/35 (17.1%) patients showed very low and not relevant antibodies levels. Slightly and transient increase of aPLs may be a common finding during any kind of infection, whereas CAPS is always characterized by very high levels of aPL"	NR	No	"On the basis of our results, CAPS is probably not involved into the pathogenesis of COVID-19"
Gatto et al 2020[43]	122 COVID-19; 53 hospitalized, 69 nonhospitalized	122	IgG/IgM aβ2GPI and aCL assayed using homemade ELISA methods following European Forum on aPL antibody recommendations. Cut-off values for medium–high levels calculated as greater than 99th percentile of sera from 120 healthy blood donors matched for age and sex with study	Overall ~18%: IgG aCL: 15/112 (13.4%); IgM aCL: 3/112 (2.7%); IgA aCL: 2/121 (1.7%); IgG aβ2GPI: 7/112 (6.3%); IgM aβ2GPI: 8/112 (7.1%); IgA aβ2GPI: 4/121 (3.3%). No substantial differences in rates in hospitalized vs. nonhospitalized	Yes	No. "We could not demonstrate a significant association between positive aPL and thrombosis in this relatively large cohort of COVID-19 patients. ...thereby questioning the true pathogenic value of such findings during acute SARS-CoV-2 infection"	NR	Yes	Provided useful comparative data on other autoimmune rheumatic diseases (oARD) and APS

 © 2021. Thieme. All rights reserved.

Downloaded by: National and Kapodistrian University of Athens. Copyrighted material.

Table 1 (*Continued*)

Study	Case descriptions and main findings	Number of COVID-19 cases	Methods for aPL	Number of aPL positive (%)	Reported aPL levels?	Link to COVID-19 severity?	Assessed aPL persistence?	Assessed LA?	Comments
			population. Commercial ELISA kits (QUANTA Lite) for IgA aβ2GPI and aCL (Inova Diagnostics) following manufacturer's instructions, with cut-off values >20 SAU (standard aβ2GPI IgA unit), and >20 APL for IgA aCL, respectively						
Siguret et al 2020[44]	74 consecutive mechanically ventilated patients with COVID-19. Received prophylactic (73%) or therapeutic (27%) LMWH or UFH on admission. Thrombotic events reported in 28 patients (38%), including 26 DVT, 4 PE, 1 stroke, and 1 extensive venous catheter thrombosis	74	β2GPI-dependent aCL IgG/IgM and aβ2GPI IgG quantified using CLIA (Acustar, Werfen)	Elevated aCL IgG/IgM and/or aβ2GPI IgG antibodies, in 5/74 (18%) and 4/74 (9%), respectively	Partly. 9 patients (12%) had elevated aCL IgG/IgM and/or aβ2GI IgG (titer ranges, 23–100 CU [$N=7$], 24–237 [$N=2$], and 21–64 [$N=3$]), including 7 with positive LA and two with negative LA	No	NR	Yes (more prevalent than other aPL)	
Fan et al 2020[45]	86 patients with confirmed COVID-19. 7/86 exhibited new stroke and 6 (7%) cases were ischemic (i.e., patients with acute ischemic stroke [AIS])	86	"APS panel," including aPL (unspecified methods)	NR (12/86 [37.5%] were positive with APS panel; 7/80 [26.9%] patients without AIS; 5/6 [83.3%] patients with AIS)	No	Yes. A significantly higher prevalence of aPL observed in patients with AIS than in those without stroke (83.3 vs. 26.9%, $p<0.05$)	NR	Yes (part of "APS panel")	
Pineton de Chambrun et al 2021[46]	Assessed aPL profile in 25 patients with prolonged aPTT and confirmed SARS-CoV-2 admitted to ICU	25	aCL (IgG/M/A) (QUANTA Lite, Inova) and aβ2GPI (-IgG/M/A; Thermoscientific), and "aPL panel" (IgG/M; PHOSPO-LISA, THERADIAG; includes aPS, antiphosphatidyl ethanolamine, aCL, and aβ2GPI antibodies)	LA, aCL, aβ2GPI, and "aPL panel" were positive in 23/25 (92%), 13/25 (52%), 3/25 (12%), and 18/25 (72%) patients, respectively	Yes	NR	ND, but mentioned important for future studies to confirm APS	Yes (dRVVT)	Selection bias; assessed patients with COVID-19 and aPL identified by prolonged aPTT
Popovic et al 2021[47]	83 patients who underwent primary percutaneous coronary intervention for STEMI comprising 11 COVID-19 and 72 non-COVID	11	NR	"APS" in 4/11 COVID-19 (36.4%) (3/7 aCL; 1/7 aβ2GPI); cf. 7/72 (9.7%) non-COVID-19 (7/72 aCL; 7/72 aβ2GPI)	No	No	ND	No	aPL positivity does not in itself identify APS
Rothstein et al 2020[48]	844 hospitalized patients with COVID-19; 20 (2.4%) had confirmed ischemic stroke, and 8 (0.9%) had ICH	844	NR	aPL present in 7/9 (78%) tested patients with ischemic stroke; exclusively aCL, with no patient having	No	No	NR	Yes	

(*Continued*)

Downloaded by: National and Kapodistrian University of Athens. Copyrighted material.

Table 1 (*Continued*)

Study	Case descriptions and main findings	Number of COVID-19 cases	Methods for aPL	Number of aPL positive (%)	Reported aPL levels?	Link to COVID-19 severity?	Assessed aPL persistence?	Assessed LA?	Comments
				newly positive aβ2GPI antibodies or LA					
Devreese et al 2020[49]	31 consecutive confirmed COVID-19 patients admitted to ICU	31	aCL and aβ2GPI IgG, IgM, and IgA measured by AcuStar CLIA (Werfen). A cut-off value of 20 U/mL applied. aPS/PT IgG and IgM measured by QUANTA Lite ELISA (Inova Diagnostics) with cut-off value 30 U/mL	23/31 (74.2%) patients had at least one aPL positive. 8/31 (25.8%) patients were negative for all criteria aPL (LA, aCL, and aβ2GPI IgG and IgM). Positive aPL as follows: IgG aCL: 6/31 (19.4%); IgM aCL: 1/31 (3.2%); IgA aCL: 3/31 (9.7%); IgG aβ2GPI: 2/31 (6.5%); IgM aβ2GPI: 1/31 (3.2%)	Yes. Most aPL positive were low titers (e.g., titers of aCL IgG ranged from 22.4 to 36.2 U/mL). Triple-positive patients were rare, and titers of aCL and aβ2GPI were high only in minority of patients	No. 7/9 thrombotic patients had at least one aPL. 16/22 patients without thrombosis were aPL positive, among them two triple positives.	4/5 retested aPL-positive patients were negative on a second occasion; 5th had reduced titer; cf. original result	Yes	"The aPL antibody profiles demonstrated in COVID-19 patients have a low-risk profile for thrombosis"
Reyes et al 2020[50]	187 aPL tests requested in 2-month period of 2020; 119 non-COVID vs. 68 with COVID	68	NR	Positive/tested (%): • No thrombotic vs. thrombotic event: $n=36$ vs. 32; aCL IgG antibody 0/32 vs. 0/30. ACL IgM antibody 0/32 vs. 1/30 (3.3%). aβ2GPI IgG 0/32 vs. 0/32. Aβ2GPI IgM 0/30 vs. 1/30 (3.3%) • LA negative vs. LA positive: $n=36$ vs. 32. aCL IgG 0/34 vs. 0/28. aCL IgM antibody 0/34 vs. 1/28 (3.6%). Aβ2GPI IgG 0/35 vs. 0/27. aβ2GPI IgM 0/33 vs. 1/27 (3.7%). Prior APS 0 vs. 1 (3.3%) ($p=$NS for all)	No	No (except LA).	Not mentioned, except in introduction as important for APS diagnosis	Yes	Selection bias; assessed COVID-19 patients in whom aPL were requested
Amezcua-Guerra et al 2020[51]	21 patients hospitalized in ICU over a 1-week period, due to severe or critical COVID-19 vs. 12 controls	21	aCL, aβ2GI, aPT, aPS, antiphosphatidylinositol and antiannexin V antibodies were measured, each in IgM and IgG isotypes	12/21 (57.1%) overall: Positive aPL antibodies, *n* (%) Total group ($n=21$) vs. positive aPL group ($n=12$): aCL IgM 3 (14%) vs. 3 (25%) aCL IgG 2 (10%) vs. 2 (17%) aβ2GPI IgM 0 vs. 0 aβ2GPI IgG 1 (5%) vs. 1 (8%) aPT IgM 1 (5%) vs. 1 (8%) aPT IgG 0 vs. 0 aPS IgM 3 (14%) vs. 3 (25%) aPS IgG 2 (10%) vs. 2 (17%) Antiphosphatidylinositol IgM 0 vs. 0 Antiphosphatidylinositol IgG 0 vs. 0 Antiannexin V IgM 4 (19%) vs. 4 (33%)	No	"The occurrence of hospital outcomes was followed up to 30 days after aPL antibody measurement. Two patients presented PE despite being on heparin"	NR	No	"12/21 (57.1%) had at least one circulating aPL, vs. only 1/12 controls ($p=0.009$). The most frequently detected aPL antibodies were antiannexin V IgM (19%), aCL IgM (14%), aPS IgM (14%), aCL IgG (10%), and aPS IgG (10%). One patient had triple positivity (8%); three patients had double positivity (25%); and the

 © 2021. Thieme. All rights reserved.

Downloaded by: National and Kapodistrian University of Athens. Copyrighted material.

Table 1 (*Continued*)

Study	Case descriptions and main findings	Number of COVID-19 cases	Methods for aPL	Number of aPL positive (%)	Reported aPL levels?	Link to COVID-19 severity?	Assessed aPL persistence?	Assessed LA?	Comments
				Antiannexin V IgG 1 (5%) vs. 1 (8%)					remaining eight had single positivity (67%)"
de Ocáriz et al 2020[52]	27 COVID-19 cases that had been tested for aPL during their hospital stay	27	aCL (IgM and IgG) and aβ2GPI (IgA, IgM, IgG) by commercial ELISA (QUANTA Lite, Inova Diagnostics)	aCL in 0% (0/27) aβ2GPI in 3.7% (1/27)	No	No	NR	Yes (positivity in 6/27 [22.2%]). No double antibody positivity was found	Selection bias; COVID-19 that had been tested for aPL during their hospital stay
Cuenca Saez and Gomez-Biezna, 2020[53]	11 patients with chilblain-like lesions, some of whom had had clinical manifestations associated with SARS-CoV-2 infection up to 2 weeks prior to onset of the skin lesions. 5 later identified with COVID-19	5	NR	"All 5 COVID-19 patients had increased IgA aCL; while this increase was slightly high, it was not considered positive according to the reference parameters of the external laboratory"	No	NR	NR	Yes, but NR	
Tvito et al 2021[54]	43 consecutive COVID-19	43	aCL IgM/IgG and aβ2GPI IgM/IgG performed by commercial ELISA (ORGENTEC)	aCL and aβ2GPI negative in all patients	No	No	NR	Yes, 16/43 (37%) LA positive	
Bertin et al 2020[55]	56 COVID-19 patients. Cohort divided into moderate ($n=27$) vs. severe group ($n=29$) according to clinical presentation at sampling	56	aCL and aβ2GPI (IgG, IgM) performed by ELISA (method not otherwise reported)	Moderate vs. severe: aCL IgG 3/27 (11.1%) vs. 13/29 (44.8%) aCL IgM 3/27 (11.1%) vs. 0/29 (0%) aβ2GPI IgG 1/27 (3.4%) vs. 0/29 (0%) aβ2GPI IgM 2/27 (6.8%) vs. 2/29 (6.9%)	No	Yes. "Differences in the aPL profile between the two groups were observed only for IgG aCL. Univariate and multivariate analyses showed that the levels of IgG aCL were significantly associated with severe COVID-19 manifestations (odds ratio [OR] $=6.50$; $p=0.009$) and (OR $=8.71$; $p=0.017$), respectively"	NR	No	
Ferrari et al 2020[56]	89 consecutive patients hospitalized for COVID-19. Also, separated into severe ($n=31$) vs. nonsevere ($n=58$)	89	aCL and aβ2GPI (IgG, IgM) measured using CLIA (AcuStar, Werfen). Cut-off values to define positivity as previously calculated by reagent manufacturer, according to Sydney revised Sapporo criteria, using 99th percentile of the distribution of results in 250 apparently healthy blood bank donors harmonized to 20 U/mL for all antibodies	"71.9% patients presented at least one positive aPL test. There was no difference in prevalence between groups. For 59 patients (66.3%), the aPL positive test was an LA (median titer of 1.36 [IQR, 1.33–1.41]); for 6 cases (6.7%), it was aβ2GPI, IgG alone in 4 cases, IgM alone in 1 case, both IgG and IgM in 1 case, with a median titer of positivity of 44.7 (IQR, 23–-1,404). In 7 cases (7.9%), it was an aCL, IgG in 5 cases, IgM in 2 cases, with median titer of positivity of 36.3 (IQR, 23–260). 2 patients (2.2%) were double positive (LA + aβ2GPI for both), and 3 (3.4%) were triple positive.	Yes (but combined ranges for IgG and IgM)	No difference in aPL (or LA) positivity between severe and nonsevere COVID-19. No correlation between aPL positivity and occurrence of DVT or PE, nor with mortality during hospitalization	NR	Yes	

(*Continued*)

 © 2021. Thieme. All rights reserved.

Downloaded by: National and Kapodistrian University of Athens. Copyrighted material.

Table 1 (*Continued*)

Study	Case descriptions and main findings	Number of COVID-19 cases	Methods for aPL	Number of aPL positive (%)	Reported aPL levels?	Link to COVID-19 severity?	Assessed aPL persistence?	Assessed LA?	Comments
				All results were confirmed in a second assay."					
Pascolini et al 2021[57]	33 consecutive patients with COVID-19, 31 (94%) with interstitial pneumonia, vs. 25 age- and sex-matched patients with fever and/or pneumonia with etiologies other than COVID-19 as the pathological control group	33	aCL and aβ2GPI (IgG, IgM) assessed using FEIA (Thermo Fisher).	15/33 (45%) tested positive for at least one autoantibody, including 11 who tested positive for ANAs (33%), 8 positive for aCL (IgG and/or IgM; 24%), and 3 positive for aβ2GPI (IgG and/or IgM; 9%).	Yes	Yes. "Patients who tested positive for autoantibodies had a significantly more severe prognosis than other patients: 6/15 patients (40%) with autoantibodies died due to COVID-19 complications during hospitalization, whereas only 1/18 patients (5.5%) who did not have autoantibodies died ($p = 0.03$). Patients with poor prognosis (death due to COVID-19 complications) had a significantly higher respiratory rate at admission (23 breaths per minute vs. 17 breaths per minute; $p = 0.03$) and a higher frequency of autoantibodies (86 vs. 27%; $p = 0.008$)"	NR	No	
Hasan Ali et al 2020[58]	64 patients with COVID-19; divided into cohort with mild illness (mCOVID; 41%), discovery cohort with severe illness (sdCOVID; 22%), and confirmation cohort with severe illness (scCOVID; 38%)	64	aCL and aβ2GPI (IgG, IgA, IgM) by FEIA on a Phadia 250 analyzer (Thermo Fisher Diagnostics AG, Switzerland).	NR	Yes, partly.	Yes. "Severely ill COVID-19 patients had significantly higher aCL IgA (sdCOVID mean, 6.38 U/mL [SD, ± 0.96; $p < 0.001$]; scCOVID mean, 4.86 U/mL [SD, ± 0.84; $p < 0.001$]), aβ2GPI IgA (sdCOVID mean, 8.50 U/mL [SD, ± 3.86; $p < 0$ 0.001]; scCOVID mean, 4.71 U/mL [SD, ± 2.17; $p < 0.001$), and aCL IgM (sdCOVID mean, 4.01 U/mL [SD, ± 0.88; $p = 0$ 0.003]; scCOVID mean, 10.35 U/mL [SD, ± 5.48; $p < 0.001$]). We found significant differences only in the sdCOVID but not the scCOVID cohort with 2 other aPL antibodies: aCL IgG (sdCOVID mean, 8.23 U/mL [SD, ± 4.02; $p = 0.02$]; scCOVID mean, 2.42 [SD, ± 0.54; $p = 0.09$]) and aβ2GPI IgG (sdCOVID mean, 1.57 U/mL [SD, ± 0.23; $p = 0.002$]; scCOVID mean, 1.58 U/mL [SD, ± 0.85; $p = 0.15$]). No significant difference was found among aβ2GPI IgM among the cohorts (sdCOVID mean, 1.07 U/mL [SD, ± 0.25; $p = 0.16$]; scCOVID mean, 2.00 U/mL [SD, ± 0.72; $p = 0.16$])"	NR	No	
Zhang et al 2020[59]	20 COVID-19 patients admitted to ICU	20	aCL and aβ2GP1 (IgG, IgM, IgA) determined by CLIA (QUANTA Flash assays, Inova Diagnostics) according to manufacturer instructions. Cut-off values for positivity were set > 20 CU based on manufacturer recommendations.	10/19 patients (52.6%) had positive aCL and/or aβ2GP1, and 7/10 patients had multiple isotypes of aPLs. (n positive for separate aPL: aCL IgA 6, IgG 2, IgM 1; aβ2GP1 IgA 7, IgG 6, IgM 0; LA 1)	No	Yes. "All 4 patients who developed cerebral infarction during the hospitalization had aPLs with multiple isotypes. No thrombotic events occurred in 9 aPL negative patients. Patients positive for aPLs had lower 28-day mortality compared to those with negative for aPL (40.0 vs 88.9%, odd ratio 0.074, 95% CI 0.139–0.871, p 0.057)"	ND, but mentioned important for future studies to confirm APS	Only 1 patient in terminal-stage group had positive LA accompanied with high level of multiple aPLs (IgA aCL > 352.0 CU; IgA aβ2GP1, 396.7 CU; IgG aCL, 20.2 CU; IgG, aβ2GP1 45.5 CU)	
Tan et al 2020[60]	Review of all studies reporting acute ischemic	135	Varied/unspecified (review)	For aCL, 20% (2/10) tested positive for IgM and 42.9%	No		NR		

 © 2021. Thieme. All rights reserved.

Downloaded by: National and Kapodistrian University of Athens. Copyrighted material.

Table 1 (*Continued*)

Study	Case descriptions and main findings	Number of COVID-19 cases	Methods for aPL	Number of aPL positive (%)	Reported aPL levels?	Link to COVID-19 severity?	Assessed aPL persistence?	Assessed LA?	Comments
	stroke (AIS) occurrence in COVID-19 patients. 39 studies comprising 135 patients; pooled incidence of AIS in COVID-19 patients was 1.2%			(3/7) tested positive for IgA. No patient (0/9) tested positive for IgG aCL. For aβ2GPI: 10% (1/10) of those tested were positive for IgM, 38.5% (5/13) tested positive for IgG, and 42.9% (3/7) tested positive for IgA		"A notable number of (AIS) cases tested positive for aPL and a high mortality rate (38%) was reported (in COVID-19 AIS)"		Yes (LA reported present in 5/12 reported patients)	
Lee et al 2020[61]	28 studies included in a systematic review; 7 studies for the meta-analysis. The pooled frequency of stroke in COVID-19 patients was 1.1% (95% CI: 0.8–1.3). A total sample of 8,771 participants included in the systematic review	8,771	Varied/unspecified (review)	"The majority of studies did not capture information on presence of aPL. Of 9 studies reporting information, 7 reported positive findings for presence of aPL and 2 reported the absence of aPL"	No	No	NR	Yes, mentioned	
Tu et al 2020[62]	9 studies and 14 COVID-19 patients with cerebral venous thrombosis	14	Varied/unspecified (review)	2/14 (14.3%) patients positive for aPL	No	No	NR	NR	
Xiao et al 2020[63]	66 COVID-19 patients who were critically ill and 13 COVID-19 patients who were not critically ill	79	aCLs and aβ2GPI (IgG, IgM, IgA) by CLIA, and IgG anti-β2GPI–domain 1 (anti-β2GPI–D1). IgM and IgG anti-PS/PT by ELISA	"aPLs detected in 31/66 (47%) critical COVID-19. aPL not present among COVID-19 patients not in critical condition. IgA aβ2GPI antibody was the most commonly observed aPL in patients with COVID-19 and was present in 28.8% (19/66) of the critically ill patients, followed by IgA aCL (17/66, 25.8%) and IgG aβ2GPI (12/66, 18.2%). For multiple aPLs, IgA aβ2GPI + IgA aCLs was the most common antibody profile observed (15/66, 22.7%), followed by IgA aβ2GPI + IgA aCL + IgG aβ2GPI (10/66, 15.2%). aPL emerged ~35–39 days after disease onset"	Selected patients shown graphically	Yes. "Patients with multiple aPLs had a significantly higher incidence of cerebral infarction compared to patients who were negative for aPLs ($p = 0.023$)"	NR	Yes (2/66 [3.0%] critically ill patients were LA positive)	
Borghi et al 2020[64]	ELISA and chemiluminescence assays were used to test 122 sera of patients suffering from severe COVID-19. Of them, 16 displayed major thrombotic events	122	aCL and aβ2GPI detected by CLIA QUANTA Flash (-IgG/IgA/IgM; Inova Diagnostics, San Diego, CA) according to manufacturer instructions. Cut-off values were 20 CU. In-house ELISAs were also used for detection of aCL IgG/IgM and aβ2GPI IgG/IgA/IgM. aPS/PT IgG/IgM detected by	"aβ2GPI IgG/IgA/IgM was the most frequent in 15.6/6.6/9.0% of patients, while aCL IgG/IgM was detected in 5.7/6.6% by ELISA. Comparable values were found by CLIA. aPS/PT IgG/IgM detectable in 2.5 and 9.8% by ELISA. Reactivity against domain 1 and 4–5 of β2GPI was limited to 3/58 (5.2%) tested sera for	Provided graphically; comparison clearly showed lower aPL titers in COVID-19 patients than found in classical APS	No association between thrombosis and aPL was found	NR	No	"aPL show a low prevalence in COVID-19 patients and are not associated with major thrombotic events. aPL in COVID-19 patients are mainly directed against β2GPI but display an epitope specificity

(*Continued*)

Downloaded by: National and Kapodistrian University of Athens. Copyrighted material.

Table 1 (*Continued*)

Study	Case descriptions and main findings	Number of COVID-19 cases	Methods for aPL	Number of aPL positive (%)	Reported aPL levels?	Link to COVID-19 severity?	Assessed aPL persistence?	Assessed LA?	Comments
			commercial ELISA (otherwise unspecified)	each domain and did not correlate with aCL/aβ2GPI or with thrombosis"					different from antibodies in APS"
Woodruff et al 2020[65]	31 critically ill patients with COVID-19 and no known history of autoimmunity (later magically morphed to 52)	31 or 52?	NR	COVID-19 patients showed reactivity against rheumatoid factor (10/52), aPL (3/52), aPT (2/52); aCL IgG 2/52 (4%), aβ2GP1 IgG 2/52 (4%), aPT IgG 2/52 (4%), aPS IgG 0/52 (0%)	No	"The presence of autoreactivity could be clearly correlated with increasing serum levels of CRP"	NR	NR	
Fan et al 2020[66]	12 ICU patients with severe COVID-19 (either mechanical ventilation or on high-flow oxygen)	12	aCL (IgM, IgG) quantified using Inova ELISA; aβ2GPI using Euroimmun ELISA, both performed on Inova Quanta-Lyser 3000	2/4 (50%) patients tested positive for aPL (aCL IgG ×1; aCL IgM ×2; aβ2GPI ×2).	No	NR (all patients were severe)	NR	Yes (LA detected in 6/12 (50% patients)	
Zuo et al 2020[67]	Measured 8 types of aPL in serum samples from 172 patients hospitalized with COVID-19	172	aPL quantified in sera using: Quanta Lite kits (Inova Diagnostics Inc.) according to manufacturer instructions. aCL: IgG, IgM, IgA aβ2GPI: IgG, IgM, IgA aPS/PT: IgG, IgM	Any positive aPL 89/172 (52%), comprising: aCL: IgG 8/172 (4.7%), IgM 39/172 (23%), IgA 6/172 (3.5%) aβ2GPI: IgG 5/172 (2.9%); IgM 9/172 (5.2%), IgA 7/172 (4.1%); aPS/PT: IgG 42/172 (24%), IgM 31/172 (18%)	No	"Higher titers of aPL associated with neutrophil hyperactivity, including release of neutrophil extracellular traps (NETs), higher platelet counts, more severe respiratory disease, and lower clinical estimated glomerular filtration rate. Similar to IgG from patients with APS, IgG fractions isolated from patients with COVID-19 promoted NET release from neutrophils isolated from healthy individuals. Furthermore, injection of IgG purified from COVID-19 patient serum into mice accelerated venous thrombosis in two mouse models"	Mentioned as criteria for APS, but not mentioned for this study	No	"These findings suggest that half of patients hospitalized with COVID-19 become at least transiently positive for aPL and that these autoantibodies are potentially pathogenic"
Gazzaruso et al 2020[68]	250 COVID-19 patients from 23 studies	250	Various/unspecified (mini-review)	"As of 1 June, 2020, we identified 23 studies, in which 250 COVID-19 patients were tested for aPL; 145/250 (58%) were aPL positive. LA present in 64% tested COVID-19 patients, aCL in 9%, and aβ2GPI in 13%. When aCL isotypes reported, IgM was most frequent. In studies with aPL test details, 65% of patients (135/209) had a clinically meaningful aPL profile (LA and/or moderate-to-high titers of aCL/aβ2GPI)"	No	No	No reports of studies included information on confirmatory aPL testing at 12 weeks.	Yes	"Relevant clinical information (whether patients were receiving anticoagulation therapy at the time of LAC testing or had a history of aPL positivity/APS) was rarely provided
Le Joncour et al 2021[69]	104 COVID-19 patients hospitalized in a medicine ward; patients with thrombotic event ($n = 11$) vs. patients without thrombotic event ($n = 93$)	104	Patients tested for presence of aCL, aβ2GPI, using ELISA QUANTALite (IgG/IgM/IgA aCL; Inova Diagnostics, San Diego, CA) and FEIA (-IgG/IgM/IgA aβ2GPI; Phadia, Uppsala, Sweden), with	Overall, 49/104 (47.1%) patients had at least one aPL. aCL was noted in 35/104 (33.7%) patients, mostly IgA aCL. aβ2GPI were found in 9/104 (8.7%) patients. IgG, IgM, and IgA	No (reported as "fold ULN," otherwise undefined)	Generally, no (except: IgM aCL IgA aβ2GPI, and triple positivity—statistically higher titers in patients with thrombotic event [$n = 11$], cf. patients without thrombotic event [$n = 93$])	ND but recognized as study limitation	"A subgroup of 53 assessed for LA; 21/53 (39.6%) patients positive for LA"	"aPL, even weak and/or transient, are common in COVID-19 patients hospitalized in a medicine ward. In this prospective

 © 2021. Thieme. All rights reserved.

Downloaded by: National and Kapodistrian University of Athens. Copyrighted material.

Table 1 (*Continued*)

Study	Case descriptions and main findings	Number of COVID-19 cases	Methods for aPL	Number of aPL positive (%)	Reported aPL levels?	Link to COVID-19 severity?	Assessed aPL persistence?	Assessed LA?	Comments
			a limit of positivity fixed at 15 units/mL (99th percentile of a control population)	aβ2GPI were positive in 8.7, 2.9, and 5.8%, respectively. Double or triple aPL seropositivity was found in 11.1 and 1.9%, respectively					cohort, 64% of patients with a thrombotic event were found to have aPL. Only the presence of aCL and aβ2GPI antibodies were significantly associated with occurrence of thrombotic events. Although our results suggest that aPL are common in non-severe COVID-19, their relationship with thrombosis and COVID-19-associated coagulopathy will necessitate more dedicated studies"
Novelli et al 2021[70]	264 Medline records COVID and aPL – 230 excluded (reviews, not related) = 34 studies assessed	Total 3,288 COVID-19 patients	Various/not specified (review)	547/3,288 (16.6%) reported to be aPL positive (including LA)	No	No. "The association with aPL is not clear in the analysis of patients with thrombosis"	NR	Included	"aPL titers are not consistently defined in these studies, making the clinical course difficult to evaluate"
Frapard et al 2020[71]	37 COVID-19-related acute respiratory disease syndrome (CARDS) vs. non-COVID pneumonia-associated ARDS ($n = 31$)	37	NR	CARDS vs. non-CARDS: Any aPL: 11/37 (30%) vs. 9/31 (29%). aCL or aβ2GPI IgA: 7/37 (19%) vs. 6/31 (19%) aCL or aβ2GPI IgM or IgG: 6/37 (16%) vs. 4/31 (13%)	No	No, "prevalence of aPL was nonsignificantly different between CARDS and non-CARDS overall (11 [30%] vs. 9 [29%], $p = 0.950$], and whatever type of antibody considered. The rate of thromboembolic events was in the same range in patients with vs. without aPL (23 [48%] vs. 9 [45%], $p = 0.83$), and these findings were similar when considering separately the type of aPL antibodies (IgA vs. IgG/IgM) or the type of thrombotic event"	NR	No	
Cristiano et al 2021[72]	92 COVID-19 patients (48 late infection [LI], 44 early infection [EI]), vs. 44 control subjects (CS)	92	IgG/IgM aCL and IgG/IgM aβ2GP1 using the fully automated BIO-FLASH instrument (Inova Diagnostics, San Diego, CA) with QUANTA Flash APS aCL family and aβ2GPI family reagents (Inova Diagnostics, San Diego, CA). aPT ELISA IgG/IgM ELISA (Demeditec Diagnostics GmbH, Kiel,	EI group: 2/44 (4.54%) positive to IgG/IgM aCL or IgG/IgM aβ2GPI: 1 with IgG aCL = 27.9 CU; 1 with IgM aCL = 34.3 CU, and IgM aβ2GP1 = 31.5 CU. LI group: 3/48 (6.25%) positive to IgG/IgM aCL or IgG/IgM aβ2GPI. In particular, 1 had IgG aCL = 39.9 CU, 1 had IgM aβ2GP1	Yes	Probably not	No	No	"Low aPL prevalence, likely excluding an involvement in the pathogenesis of CAC. Interestingly, IgG/IgM aPT and antiannexin-V positive cases, detected in late infection group,

(*Continued*)

 © 2021. Thieme. All rights reserved.

Downloaded by: National and Kapodistrian University of Athens. Copyrighted material.

Table 1 (*Continued*)

Study	Case descriptions and main findings	Number of COVID-19 cases	Methods for aPL	Number of aPL positive (%)	Reported aPL levels?	Link to COVID-19 severity?	Assessed aPL persistence?	Assessed LA?	Comments
			Germany). ELISA assay (Eurospital, Trieste, Italy) for quantitative measurement of IgG and IgM antibodies against annexin-V	= 30.1 CU, and 1 had IgG aCL = 31.9 CU. CS group: 2/44 patients (4.55%) had aPL: 1 had IgG aCL = 56.7 CU; 1 IgM aCL = 41.5 CU, and IgM aβ2GP1 = 26.9 CU. CS and EI groups: No patient with IgG/IgM aPT positivity. LI group: 2 (4.16%) showed IgG aPT positivity (45.2 U/mL; 28.5 U/mL) and 3 showed IgM aPT positivity (19.1 U/mL, 20 U/mL, and 18.5 U/mL). Annexin V: IgG weak positivity (2.3%) was found in 1 patient, both in CS/EI (10.8 and 8.47U/mL, respectively). LI group: 3 patients (6.25%) showed IgG positivity (23.8 U/mL, 11.3 U/mL, and 20.9 U/mL); moreover, 3 patients showed IgM anti-annexin-V positivity (16.3 , 11.4 , and 10.6 U/mL). LI group showed statistically significant *p*-values when compared separately with CS and EI groups, both for IgG ($p = 0.0111$ and 0.0072, respectively) and IgM class ($p = 0.0072$ and 0.0019, respectively).					suggest that aPLs could temporarily increase or could trigger a 'COVID-19-induced-APS-like-syndrome' in predisposed patients"
Shi et al 2021[73]	Cultured endothelial cells were exposed to sera from 118 unique patients hospitalized with COVID-9	(118)	"We focused on IgG and IgM isotypes of two types of aPL that accounted for the majority of positive tests in a recent study: aCL and aPS/PT"	"We detected strong and consistent correlations between all four antibodies and the three markers of endothelial cell activation (E-selectin, VCAM-1, and ICAM-1). The only correlation that was not statistically significant was between anti-PS/PT IgM and VCAM-1"	NA	"Depletion of total IgG from aCL-high and aPS/PT-high samples markedly restrained upregulation of E-selectin, VCAM-1, and ICAM-1; supplementation of control serum with patient IgG was sufficient to trigger endothelial cell activation"	NA	NA	"These data are the first to reveal that patient antibodies are a driver of endothelial cell activation in COVID-19 and add important context regarding thrombo-inflammatory effects of autoantibodies in severe COVID-19"
Hamadé et al[74]	41 COVID-19 patients	41	aCL and aβ2GPI IgG/IgM determined by BioPlex 2200 (Bio-Rad)	9/41 (22%) developed VTE and 7/41 (17%) were positive for aPL of which 5 had isolated LA. The 6th patient was double aPL positive	Yes	"Among the 7 patients with aPL antibodies 2 (28.60%) had VTE. However, the incidence of VTE in patients negative for aPL was also significant as 20.6% (7/34).	ND, but mentioned important for future studies to confirm APS	Yes	"Not only the incidence of aPL was quite significant within our cohort, but also we

 © 2021. Thieme. All rights reserved.

Downloaded by: National and Kapodistrian University of Athens. Copyrighted material.

Table 1 (*Continued*)

Study	Case descriptions and main findings	Number of COVID-19 cases	Methods for aPL	Number of aPL positive (%)	Reported aPL levels?	Link to COVID-19 severity?	Assessed aPL persistence?	Assessed LA?	Comments
				(IgM aCL (147.8U/mL) and aβ2GPI (97.3U/mL). The 7th was triple positive, IgM aCL 85.6UI/mL, IgM aβ2GPI 63.0U/mL, and LA		aPL were significantly associated with the transfer to ICUs, $p = 0.018$"			observed 28.6% of VTE in aPL-positive patients"
Karahan et al 2021[75]	31 COVID-19 patients in ICU (COVID group) and 28 non-COVID-19 critically ill patients (non-COVID group)	31	aCL commercial ELISA (Orgentec Diagnostika) in a fully automatic ELISA Analyzer. aβ2GPI ELISA determined with TriturusVR Analyzer (Diagnostics Grifols, S.A. Barcelona, Spain)	"aPL were positive in 25.8% of the COVID group (8/31) and 25% of the non-COVID group (7/28). In the COVID group, aCL IgM, and IgG were positive in 6.45 and 0%, respectively (2/31 vs. 0/31). In the non-COVID group, ACA IgM was not positive in any patient, while ACA IgG was positive in 7.14% (2/28). aβ2GPI IgG and IgM tests were not positive in any patient in either the COVID or the non-COVID group. aβ2GPI IgA were positive in 6.45 and 14.29%, respectively (2/31 vs. 4/28)"	Yes (COVID group aCL IgM 14.0, 12.6; aβ2GPI IgA 12.8, >300; non-COVID group: aCL IgG 16.8, 17.4; aβ2GPI IgA 22.3, 25.7, 71.1, 116)	No. "aPLs were equally positive in critically ill patients among COVID-19 or non-COVID-19 patients. Only LA was more observed in COVID-19 patients. Thrombosis: 2/4 COVID were aPL positive vs. 0/2 non-COVID. Thrombosis negative: 7/27 COVID aPL positive vs. 7/26 non-COVID"	"After recovery of COVID-19 and other diseases requiring ICU follow-up, aPL tests were repeated. However, 1/9 aPL positive patients in the COVID-19 group and 2/7 aPL positive patients in the non-COVID group died within 28 days ($p = 0.38$). After 28 days one of the aPL positive patients in the COVID-19 group and one of the aPL positive patients in the non-COVID group also died. Among the retests taken from the remaining 11 aPL-positive patients, only one patient in the non-COVID group had a positive aβ2GPI IgA test. One patient in the non-COVID group with tested aβ2GPI IgA titer of 24.2 U/mL after 12 weeks	Yes (LA was the most common aPL present in 6/26 [23.1%] of the COVID-19 group, while 3.6% of the non-COVID group was LA positive [1/28] [$p = 0.047$])	

(*Continued*)

 © 2021. Thieme. All rights reserved.

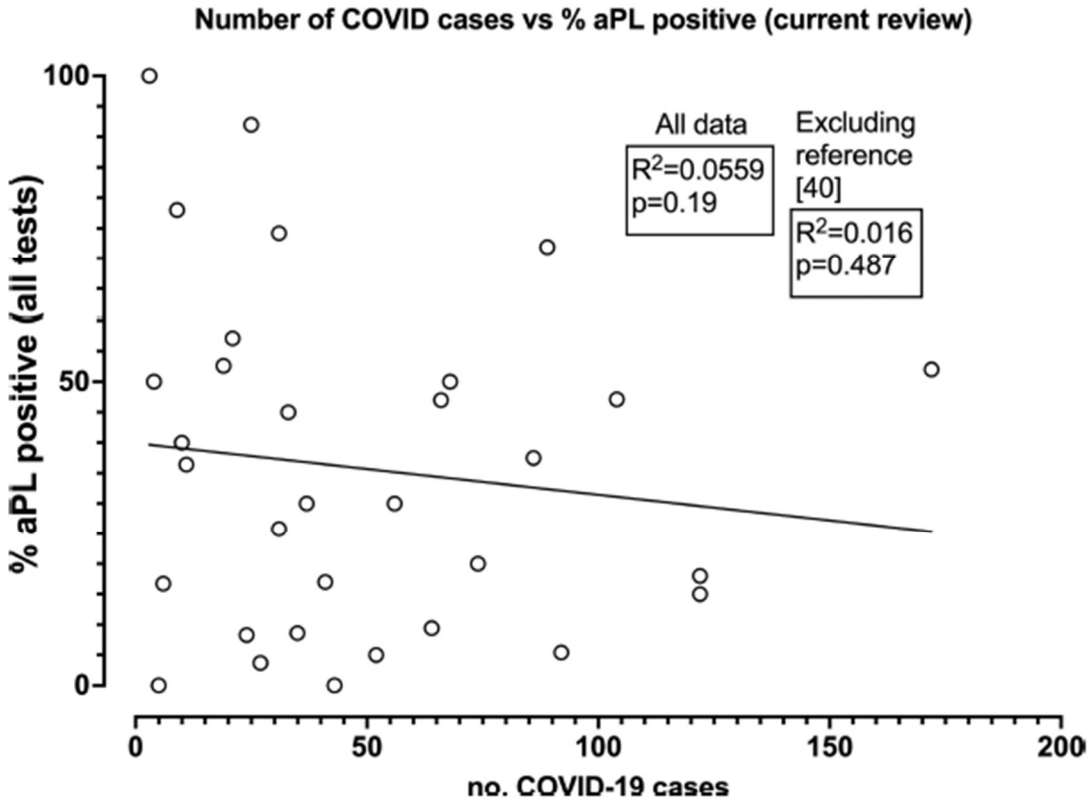
Downloaded by: National and Kapodistrian University of Athens. Copyrighted material.

Table 1 (*Continued*)

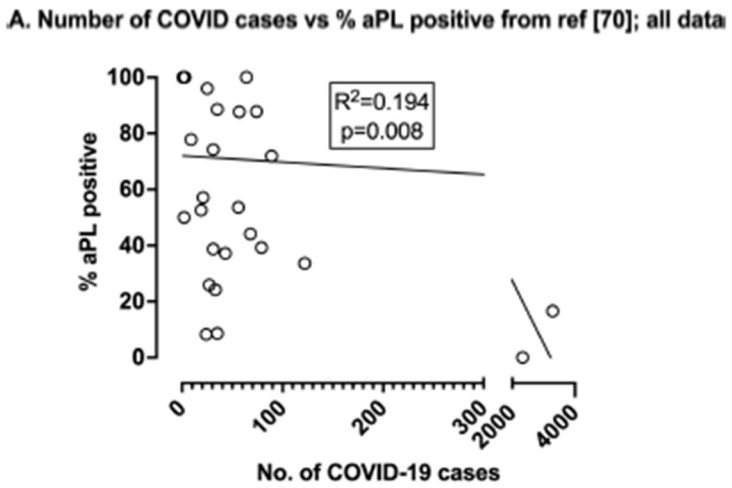
Study	Case descriptions and main findings	Number of COVID-19 cases	Methods for aPL	Number of aPL positive (%)	Reported aPL levels?	Link to COVID-19 severity?	Assessed aPL persistence?	Assessed LA?	Comments
							and was found to be significantly lower than baseline*		
Beyrouti et al 2020[76]	6 consecutive patients assessed over 2-week period in 2020 with acute ischemic stroke and COVID-19	6	Not specified	1/6 (16.7%). 5/6 IgG and IgM aCL and aβ2GP1 negative; 1× low titer IgG and IgM aβ2GP1	No	NR	NR		

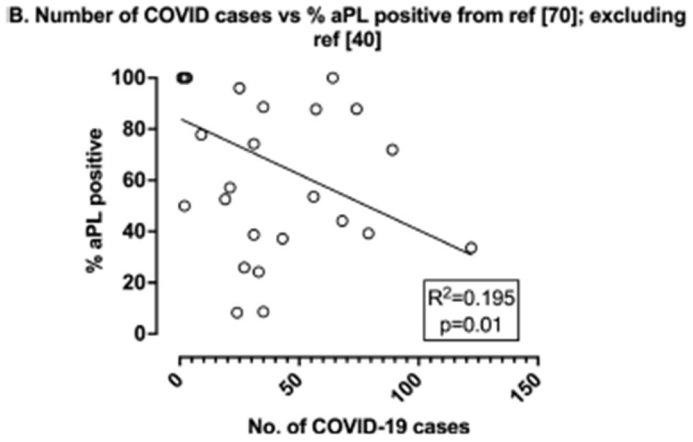
Πίνακας 6: Ανασκόπηση της βιβλιογραφίας σχετικά με την παρουσία aPL αντισωμάτων στην COVID-19 λοίμωξη.

Σημείωση: Τα δεδομένα του πίνακα δεν περιλαμβάνουν μεμονωμένα περιστατικά και είναι κατά σειρά όπως αναγράφονται στο PubMed. Μεγάλη ποικιλία μεθόδων (που δεν αναφέρονται πάντα) έχει χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση των aPL αντισωμάτων, κάτι που έχει επίδραση στα αποτελέσματα και που δεν γίνεται πάντα αντιληπτό από τους συγγραφείς. Στον πίνακα αναφέρονται και δεδομένα από περιστασιακές ανασκοπήσεις.

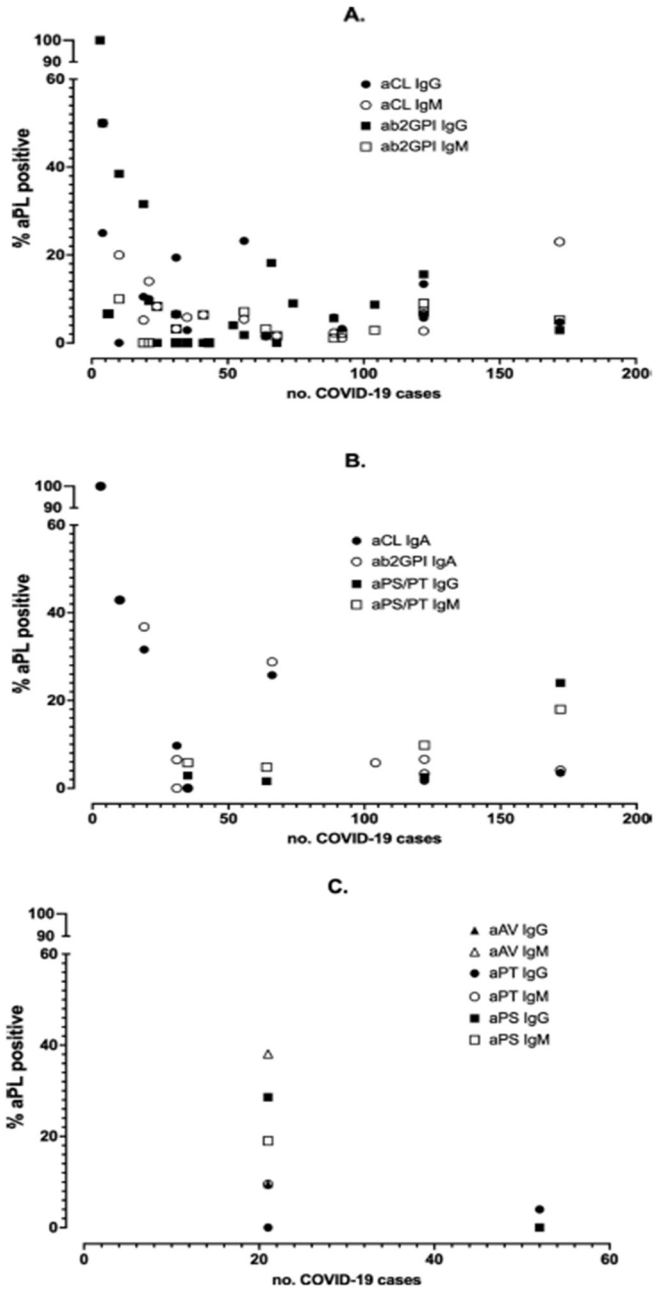


Διάγραμμα 1: Η συσχέτιση (ή μη) μεταξύ των περιπτώσεων που ήταν θετικοί στην COVID-19 λοίμωξη και στην παρουσία των aPL αντισωμάτων, όπως προκύπτει από τον πίνακα 6.

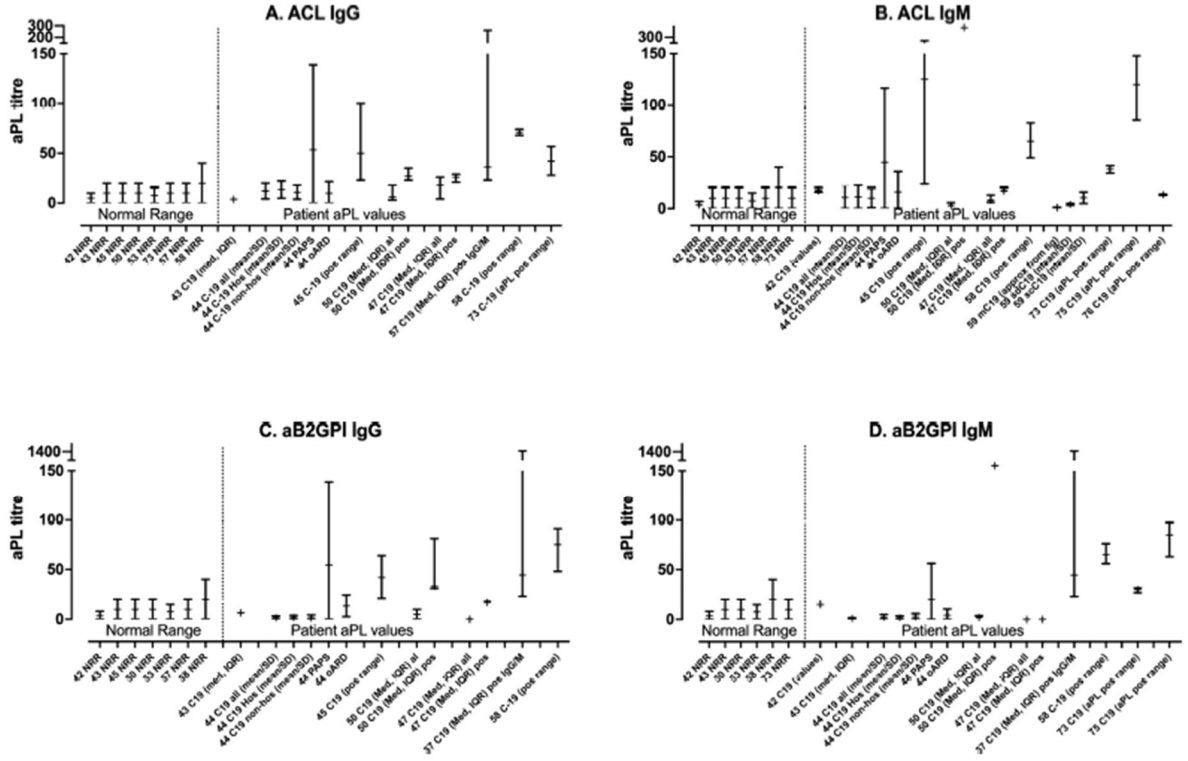




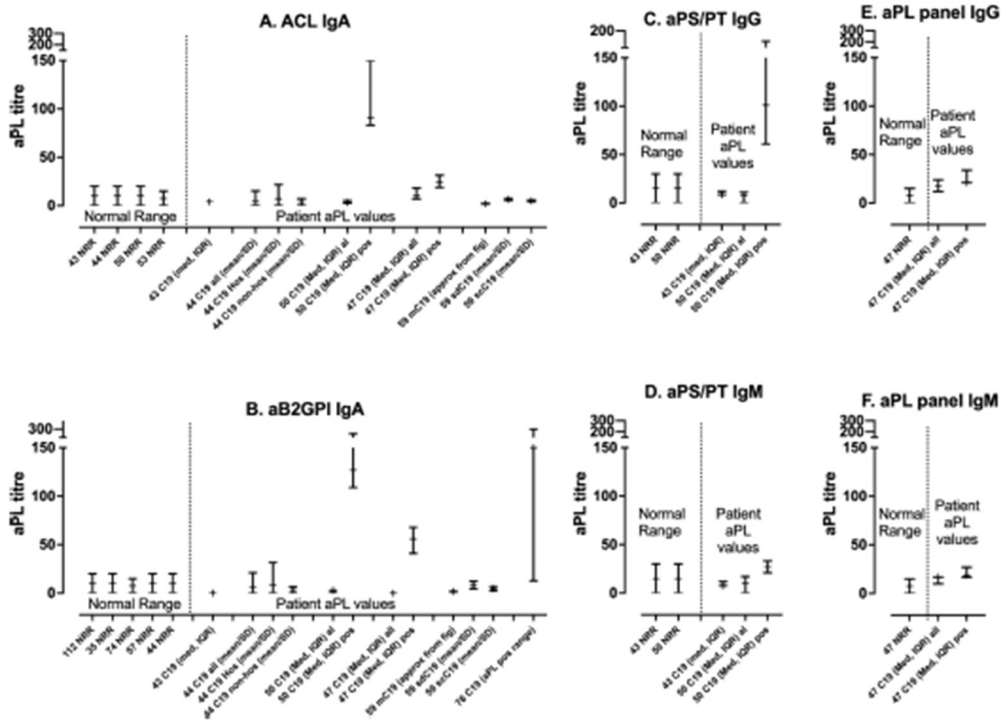
Διάγραμμα 2: Η σχέση ανάμεσα στις COVID-19 θετικές περιπτώσεις που αναφέρονται στην βιβλιογραφία και της αναλογικής αναγνώρισης των aPL αντισωμάτων, χρησιμοποιώντας δεδομένα από τους Novelli και συν. (A) Δεδομένα που περιλαμβάνουν αυτά των Yasri and Wiwanitkit που ανέφεραν μια μεμονωμένη περίπτωση APS, πιθανά με θετικά aPL-Abs, σε 2,369 COVID-19 ασθενείς. (B) Δεδομένα που δεν περιλαμβάνουν αυτά των Yasri and Wiwanitkit.



Διάγραμμα 3: Η σχέση μεταξύ των COVID-19 θετικών περιπτώσεων και της αναλογικής αναγνώρισης των aPL αντισωμάτων στερεάς φάσης, σύμφωνα με τα aPL-Abs που εξετάστηκαν. (A) aPL-Abs κλασσικών κριτηρίων, (B,C) aPL-Abs εκτός κριτηρίων. aAV αντισώματα έναντι αννεξίνης V, aPS αντισώματα έναντι φωσφατιδυλοσερίνης, aPT αντισώματα έναντι προθρομβίνης, aPS/PT αντισώματα έναντι του συμπλόκου αντιφωσφατιδυλοσερίνης/προθρομβίνης.



Διάγραμμα 4: (A-D) Περιληπτικά δεδομένα για τα aPL αντισώματα των κλασσικών κριτηρίων του APS (εκτός του LA) από τον πίνακα 6, που καταδεικνύουν το εύρος των αναμενόμενων φυσιολογικών τιμών (NRR, normal reference range) έναντι των αντίστοιχων τιμών στην COVID-19 λοίμωξη. Στον άξονα x αναγράφεται ο αριθμός αναφοράς της κάθε μελέτης. Το εύρος που αναφέρεται στην βιβλιογραφία αντανακλά τις διαφορετικές μεθόδους υπολογισμού των αντισωμάτων, και περιλαμβάνουν τη μέση +/- τυπική απόκλιση (mean +/- standard deviation - SD), τη διάμεση τιμή/ενδοτεταρτημοριακό εύρος (median/IQR) ή ατομικές εκτιμήσεις. Σε ορισμένες περιπτώσεις το εύρος αναφέρεται σε ολόκληρη την κοόρτη των COVID-19 ασθενών (περιλαμβάνοντας και τις aPL-Abs αρνητικές περιπτώσεις) και σε άλλες περιπτώσεις περιλαμβάνει μόνο τα aPL-Abs θετικά περιστατικά. Εξ΄ ορισμού, όταν μόνο θετικές περιπτώσεις περιλαμβάνονται, οι τιμές των aPL-Abs θα είναι υψηλότερες από τα NRRs ή από τις αντίστοιχες τιμές του συνόλου της μελέτης. Στις περιπτώσεις όπου το εύρος των τιμών των αντισωμάτων περιλάμβανε υψηλούς τίτλους, αυτοί ήταν από μικρούς αριθμούς περιστατικών εκτός της συνολικής COVID-19 κοόρτης.



Διάγραμμα 5: (A-F) Περιληπτικά δεδομένα για τα aPL-Abs των μη κλασσικών κριτηρίων του APS από τον πίνακα 6, καταδεικνύοντας το εύρος των φυσιολογικών τιμών (NRR) έναντι των αντίστοιχων τιμών στην COVID-19 λοίμωξη. Στον άξονα x αναγράφεται ο αριθμός αναφοράς της κάθε μελέτης. Το εύρος που αναφέρεται στην βιβλιογραφία αντανακλά τις διαφορετικές μεθόδους υπολογισμού των αντισωμάτων και περιλαμβάνουν τη μέση +/- τυπική απόκλιση (mean +/- standard deviation - SD), τη διάμεση τιμή/ενδοτεταρτημοριακό εύρος (median/IQR) ή ατομικές εκτιμήσεις. Σε ορισμένες περιπτώσεις το εύρος αναφέρεται σε ολόκληρη την κοόρτη των COVID-19 ασθενών (περιλαμβάνοντας και τις aPL-Abs αρνητικές περιπτώσεις) και σε άλλες περιπτώσεις περιλαμβάνει μόνο τα aPL-Abs θετικά περιστατικά. Εξ΄ ορισμού, όταν μόνο θετικές περιπτώσεις περιλαμβάνονται, οι τιμές των aPL-Abs θα είναι υψηλότερες από τα NRRs ή από τις αντίστοιχες τιμές του συνόλου της μελέτης. Στις περιπτώσεις όπου το εύρος των τιμών των αντισωμάτων περιλάμβανε υψηλούς τίτλους, αυτοί ήταν από μικρούς αριθμούς περιστατικών εκτός της συνολικής COVID-19 κοόρτης.

Μια επόμενη μελέτη των Olivier Vollmer και συν., (Follow-up of COVID-19 patients: LA is transient but other aPLs are persistent, Autoimmunity reviews, ELSEVIER, O. Vollmer et al.) που δημοσιεύτηκε τον Απρίλιο του 2021, προσπάθησε να δώσει απάντηση στο ερώτημα για την παραμονή του LA και άλλων αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων στο χρόνο και για το αν η λοίμωξη COVID-19 με τα συνοδά θρομβωτικά επεισόδια και την παρουσία των aPL αντισωμάτων θα μπορούσαν να θεωρηθούν ένας ασυνήθης τύπος επαγόμενου Αντιφωσφολιπιδικού Συνδρόμου (APS).

Η θετικότητα στο LA παρουσιάζει δυσκολία στην ερμηνεία της, καθώς σε πολλούς ασθενείς η ανίχνευσή του δεν έγινε με την μέτρηση του χρόνου μερικής θρομβοπλαστίνης (aPTT) και του diluted Russell's Viper Venom (dRVVT) κατά την εισαγωγή τους στο νοσοκομείο. Επιπρόσθετα, η υποκείμενη φλεγμονή, οι διαταραχές της πήξης ή η χρήση της αντιπηκτικής αγωγής θα μπορούσαν να επηρεάσουν την ανίχνευση του. Οι Siguret και συν. παρατήρησαν αστάθεια στην εκτίμηση του LA, όταν αυτό μετράται λίγες ημέρες μετά την πρώτη ανίχνευση. (Siguret V, Voicu S et al. Are antiphospholipid antibodies associated with thrombotic complications in critically ill COVID-19 patients? Thromb Res, 2020). Στην παρούσα μελέτη οι Olivier Vollmer και συν., προσπάθησαν να περιγράψουν την παρουσία και παραμονή στο χρόνο των κλασσικών aPL-Abs σε μια κοόρτη από νοσηλευόμενους ασθενείς με λοίμωξη COVID-19, θετικούς στο LA, και να εκτιμήσουν την σχέση τους με τη θρόμβωση.

Οι ασθενείς ήταν άνω των 18 ετών, είχαν RT-PCR θετικό για τον SARS-CoV-2, σοβαρή έως κρίσιμη λοίμωξη σύμφωνα με τα κριτήρια της WHO και ήταν θετικοί για το LA, στο χρονικό διάστημα που συμπεριελήφθησαν στην μελέτη.

Η εκτίμηση της δραστικότητας του LA στο πλάσμα των ασθενών έγινε με το dRVVT (STA®-Staclot dRVV Screen and confirm reagent, Stago), και το LA sensitive aPPT (STA®-PPT LA reagent, Stago), σύμφωνα με τα κριτήρια του ISTH.

Τα IgM και IgG αντισώματα έναντι της καρδιολιπίνης (aCL-Abs) εκτιμήθηκαν με ενζυμική ανοσοδοκιμασία φθορισμού - fluorescence enzyme immunoassay (FEIA) και τα anti-B2GPI με δοκιμασία 2 θέσεων ή sandwitch ELISA. Τα «εκτός κριτηρίων» aPL-Abs, εκτιμήθηκαν με τη μέθοδο ELISA.

Στην μελέτη συμπεριλήφθηκαν 79 ασθενείς με COVID-19 λοίμωξη και LA. Οι ασθενείς ήταν σε σοβαρή/κρίσιμη κατάσταση, με μέσο όρο νοσηλείας 23 ημέρες, ενώ ανάγκη υποστήριξης με μηχανική αναπνοή χρειάστηκε σε 66 ασθενείς (83,5%). Από τους ασθενείς αυτούς, οι μισοί (50,6%), παρουσίασαν ένα επεισόδιο θρόμβωσης με το 7,59% να έχουν τουλάχιστον μια υποτροπή. Όσον αφορά τον τύπο της θρόμβωσης, 75% είχαν φλεβική θρόμβωση, 25% αρτηριακή θρόμβωση και 25% είχαν θρόμβωση που σχετίζεται με τον καθετήρα, την εξωσωματική μεμβράνη οξυγόνωσης ECMO ή τη θεραπεία νεφρικής αντικατάστασης (Renal replacement Therapy circuit clotting). Σημαντικό να αναφερθεί ότι το 82,5% των ασθενών με θρόμβωση, λάμβανε προφυλακτική αντιπηκτική αγωγή είτε με ηπαρίνη χαμηλού μοριακού βάρους (LMWH), είτε με κλασσική ηπαρίνη (UFH) πριν από το πρώτο θρομβωτικό επεισόδιο. Η διάμεση υψηλότερη τιμή της CRP ήταν 286 mg/l και η διάμεση υψηλότερη τιμή των επιπέδων d-dimer ήταν 7200 μgr/l.

Πενήντα έξι ασθενείς με LA, εξετάστηκαν περαιτέρω για aPL-Abs των λοιπών κλασσικών κριτηρίων με τους 14/56 να είναι θετικοί. Τρεις ασθενείς είχαν anti-β2GPI IgM, 13 είχαν aCL IgM και ένας είχε aCL IgG. Πενήντα τρεις ασθενείς εξετάστηκαν για aPL-Abs που δεν ανήκουν στα κλασσικά κριτήρια, όπου 20 εμφανίστηκαν θετικοί για τουλάχιστον ένα aPL αντίσωμα εκτός κριτηρίων ανάμεσα στα οποία ήταν τα έναντι φωσφατιδυλοσερίνης (anti-PS), έναντι αιθανολαμίνης {anti-Phosphatidyl-ethanolamine (PE)}, έναντι προθρομβίνης (anti-PT), έναντι αννεξίνης {anti-annexin V (AV)}. Συνολικά, 29 ασθενείς ήταν θετικοί για aPL-Abs, κλασσικών κριτηρίων και μη. Επιπλέον, 53 ασθενείς με LA εξετάστηκαν για αντιπυρηνικά αντισώματα (ANAs). Οι

33 ασθενείς (62,3%) ήταν θετικοί για τα ANAs με τίτλο >1/80 και 15 (28,3%) ασθενείς είχαν τίτλο >1/320.

Από τους 79 ασθενείς με την παρουσία του LA, συγκρίθηκαν εκείνοι που εμφάνισαν θρόμβωση με εκείνους που δεν εμφάνισαν κάποιο αντίστοιχο επεισόδιο. Οι ομάδες ήταν ανάλογες όσον αφορά την ηλικία, το φύλο, το BMI, τους καρδιαγγειακούς παράγοντες κινδύνου και το προηγούμενο ιστορικό θρόμβωσης. Δεν υπήρχε διαφορά ως προς την σοβαρότητα της COVID-19 λοίμωξης και την αντιπηκτική αγωγή. Διαπιστώθηκε ισχυρή συσχέτιση μεταξύ της θρόμβωσης και της θετικότητας στα IgM aCLs {11/27 (41%) ασθενείς με θρόμβωση έναντι 2/29 (7%) ασθενείς χωρίς θρόμβωση, p= 0,004, OR=9,28 IC95 2.0 με 44.4}.

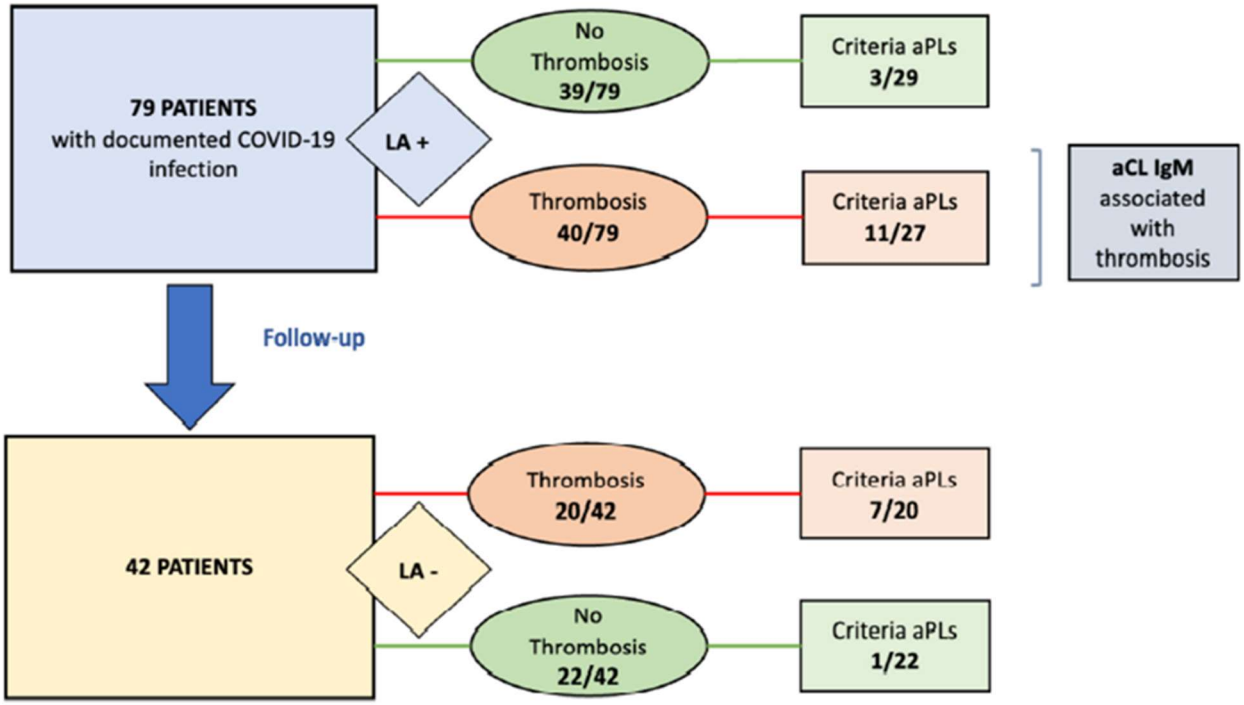
Σαράντα-δυο από τους 79 ασθενείς παρακολουθήθηκαν για aPL αντισώματα και ANAs για διάστημα τουλάχιστον 3 και μέχρι 6 μηνών μετά την πρώτη θετικοποίηση του LA. Το LA ήταν αρνητικό σε όλους τους ασθενείς. Η παρουσία των aCLs διαπιστώθηκαν σε 7/42 ασθενείς (16,7%), κυρίως τα IgM aCLs. Τα anti-B2-GPI βρέθηκαν σε 1/42 ασθενείς (2,38%). Τα «εκτός κριτηρίων» aPL-Abs διαπιστώθηκαν σε 5/42 ασθενείς (11,9%), κυρίως τα anti-PT. Συνολικά, οι 10/42 (23,8%) ασθενείς είχαν τουλάχιστον ένα θετικό aPL-Abs. Η σχέση μεταξύ θρόμβωσης και θετικότητας των aCLs IgM επιβεβαιώθηκε {5/20 (25%) ασθενείς με θρόμβωση έναντι 0/22 χωρίς θρόμβωση}. Οι 22/42 (52,4%) ασθενείς συνέχιζαν να παραμένουν θετικοί για τα ANAs με έναν τίτλο >1/80 και 11/42 (26,2%) ασθενείς με τίτλο > 1/320. Κανένας από τους 42 ασθενείς δεν είχε νέο επεισόδιο θρόμβωσης κατά τη διάρκεια του επανελέγχου και κανένας δεν παρουσίασε αυτοάνοσες εκδηλώσεις.

Στην συγκεκριμένη μελέτη διαπίστωσαν ότι το LA αντίσωμα ενώ είναι συχνό κατά την οξεία φάση της λοίμωξης COVID-19, παραμένει συνολικά, παροδικό. Σύμφωνα και με άλλες μελέτες, το LA, με την ταυτόχρονη παρουσία των IgG/IgM aCLs, εμφανίζουν ισχυρή συσχέτιση με θρομβωτικά επεισόδια και σε αυτές τις συνθήκες, η

προφυλακτική χρήση της αντιπηκτικής αγωγής είναι επιβεβλημένη. Τα aCLs, συμπεριλαμβανομένου του IgM ισοτύπου, παραμένουν στο χρόνο σε συνδυασμό με τα ANAs, οδηγώντας στην υπόθεση ότι η λοίμωξη COVID-19 διαταράσσει την ανοχή του οργανισμού και θέτει ερωτηματικά για τη διάρκεια της παρακολούθησης των ασθενών.

Γνωρίζουμε ότι οι ιογενείς λοιμώξεις διεγείρουν τα αυτοδραστικά (autoreactive) Β-κύτταρα και ότι οι ασθενείς είναι δυνατόν να παράγουν παροδικά μη παθογόνα aPL-Abs, ιδιαίτερα IgM ισοτύπου, που συνήθως δεν σχετίζονται με θρόμβωση. Επομένως, τα δυνητικά θρομβογόνα aPL αντισώματα στην COVID-19 λοίμωξη είναι μια ασυνήθης κατάσταση. Ένας πιθανός μηχανισμός για την παραγωγή των aPL-Abs είναι αυτός της μοριακής μίμησης με ορισμένες ιϊκές πρωτεΐνες. Πρόσφατες μελέτες περιγράφουν μια επαγόμενη από τον SARS-CoV-2 αγγειοπάθεια και ενδοθηλιακή βλάβη, η οποία πιθανόν αυξάνει την παθογένεια των aPL αντισωμάτων ή τα φωσφολιπίδια και την έκθεση του συμπαράγοντά τους (Magro CM, Mulvey J, Severe COVID-19: a multifaceted viral vasculopathy syndrome. Ann Diagn Pathol 2021)

Λαμβάνοντας υπόψιν την θεωρία των «δυο χτυπημάτων» που είναι ευρέως αποδεκτή ως μηχανισμός θρόμβωσης στο APS, η COVID-19 λοίμωξη θα μπορούσε να αποτελεί και το «πρώτο χτύπημα» (με τη δημιουργία των aPL-Abs) και το «δεύτερο χτύπημα» (μέσω της αγγειακής βλάβης), που αποτελούν προϋποθέσεις για θρόμβωση.



Διάγραμμα 6: Διάγραμμα ροής της μελέτης.

	Thrombosis $N = 40$	No Thrombosis $N = 39$	Univariate analysis p^*	Multivariate analysis p^{**}
Age[1]	65 [29–81]	64 [24–86]	0.51	
Sex ratio (F/M)	9/31	7/32	0.78	
BMI[2]	28 [21–41]	29 [22–31]	0.46	
Co-existing conditions (n, %)				
HTA	19(48)	16(41)	0.65	
Diabetes	14(35)	10(26)	0.46	
Smoker	3(8)	3(8)	0.99	
Respiratory disease	4(10)	6(15)	0.85	
Cardiac arrhythmia	2(5)	0	0.49	
Past medical history (n, %)				
Thrombotic events	1(3)	2(5)	0.61	
Malignancy	3(8)	1(3)	0.61	
Therapy on arrival (n, %)				
Long term LDA treatment	8(20)	3(8)	0.11	0.11
Long term anticoagulant	1(3)	0	0.99	
Thromboprophylaxis	22(55)	27(69)	0.11	0.16
LMWH	19(48)	25(64)	0.11	
UFH	3(8)	2(5)	0.99	
Thrombotic events	40(51)			
Recurrence >1/>2	6/2			
Delay between COVID-19 first symptoms and thrombosis[3]	19 [4–38]			
Delay between inflammatory peak and thrombosis[3]	6.5 [0–23]			
Anticoagulation before first thrombosis	33(83)			
Venous thrombosis	30(75)			
Pulmonary thrombosis	27(68)			
Deep or superficial vein thrombosis	5(13)			
Arterial thrombosis	10(25)			
Acute cerebral infarction	9(23)			
Mesenteric infarction	1(3)			
Myocardial infarction	0			
Catheter thrombosis	5(13)			
ECMO or RRT circuit Clotting	5(13)			
Covid-19 therapy				
Lopinavir-Ritonavir	24(60)	20(51)	0.43	
Hydroxychloroquine	7(18)	10(26)	0.38	
Remdesivir	2(5)	1(3)	0.57	
Interferon beta	2(5)	0	0.16	
Anakinra	1(3)	0	0.32	
Tocilizumab	1(3)	0	0.32	
Imaging features				
Infiltrates <25% on CT	5/34(15)	5/35(14)	0.99	
Infiltrates >50% on CT	22/34(65)	21/35(60)	0.80	
Outcome				
ICU admission (n, %)	33(83)	34(87)	0.76	
Invasive mechanical ventilation	32(80)	34(87)	0.39	
Time to hospital discharge[3]	25 [8–59]	22 [5–49]	0.31	
Death	4(10)	3(8)		
Laboratory findings during hospitalization				
Criteria aPLs (n/assessed, %)	11/27(41)	3/29(10)	**0.01**	
aCL IgM	11/27(41)	2/29(7)	**0.004**	**0.09**
aCL IgG	1/27	0	0.48	
Anti-β_2GPI IgM	2/27(7)	1/29(3)	0.60	
Anti-β_2GPI IgG	0	0		
Non-criteria aPLs	6/26(23)	7/27(26)	0.99	
PE	1/26(4)	0	0.61	
PS	0	1/27(4)	0.99	
PT	5/26(19)	5/27(19)	0.99	
AV	0	1/27(4)	0.99	
ANAs	18/27(67)	16/26(62)	0.78	
High-sensitivity CRP at the peak (mg/l)	290 [16–437]	285 [121–492]	0.09	0.46
Laboratory findings	Thrombosis	No Thrombosis		
at follow-up[4]	$N = 20$	$N = 22$		
Criteria aPLs (n/assessed, %)	7/20(35)	1/22(5)		
aCL IgM	5/20(25)	0		
aCL IgG	1/20(5)	1/22(5)		
Anti-β_2GPI IgM	0	0		
Anti-β_2GPI IgG	1/20(5)	0		
Non-criteria aPLs	5/20(25)	0		
PE	0	0		
PS	1/20(5)	0		
PT	5/20(25)	0		
AV	0	0		
ANAs	15/20(75)	7/22(32)		

Πίνακας 7: Χαρακτηριστικά και βιολογικοί παράμετροι των ασθενών με θετικό LA/λοίμωξη COVID-19 και συσχέτιση με θρομβωτικά επεισόδια.

Τον Ιούλιο του 2021 δημοσιεύτηκε μια ανασκόπηση των Stelzer και συν. από το Τύμπιγκεν της Γερμανίας, με σκοπό να εξετάσει τον ρόλο των αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων στην λοίμωξη COVID-19. (The Role of Antiphospholipid Antibodies in COVID-19, Maximilian Stelzer, 2021)

Συνολικά περιλάμβανε 20 δημοσιεύσεις με ποικίλα αποτελέσματα, ενώ είχαν αφαιρεθεί δεδομένα από μεμονωμένα περιστατικά. Μελετήθηκαν κυρίως τα aPL-Abs των κλασσικών κριτηρίων, δηλαδή τα LAC, anti-β2GPIb και το aCL.

Από τη μια πλευρά, υπήρχαν μελέτες στις οποίες παρατηρήθηκαν ορισμένα θετικά αποτελέσματα, αναφορικά με τα aPL αντισώματα, στις κοόρτες των ασθενών τους, υποδηλώνοντας ένα πιθανό παθογενετικό ρόλο των συγκεκριμένων αντισωμάτων στη λοίμωξη COVID-19. Αυτές περιλάμβαναν 31 ασθενείς με σοβαρή νόσο COVID-19, που έχρηζαν νοσηλείας στη ΜΕΘ, όπου τα αντισώματα μετρήθηκαν και έπειτα συσχετίστηκαν με την εμφάνιση θρομβωτικού επεισοδίου. Τα αποτελέσματα δεν απέδειξαν άμεση συσχέτιση των aPL αντισωμάτων με θρομβωτικές επιπλοκές και οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι η εμφανής άνοδος του LAC συνέβαινε μόνο παροδικά λόγω της σοβαρής λοίμωξης (Devreese KMJ, Linskens EA, Antiphospholipid antibodies in patients with COVID-19: a relevant observation? J Thromb Haemost, 2020).

Παρόμοιο αποτέλεσμα έδωσε και μια γαλλική δημοσίευση που επικεντρώθηκε κυρίως στο LAC και εξέτασε δείγματα από 56 νοσηλευόμενους ασθενείς με λοίμωξη COVID-19. Και εδώ παρατηρήθηκε μια τάση για παροδική άνοδο του LAC λόγω της λοίμωξης (Harzallah I, Debliquis A, Drenou B. Lupus anticoagulant is frequent in patients with Covid-19. J Thromb Haemost, 2020). Επιπλέον, όσον αφορά την συχνότητα του LAC, μια μελέτη σε ομάδα 34 ασθενών με παρατεταμένο aPTT και COVID-19 λοίμωξη διαπίστωσε την παρουσία του LAC στους 31 ασθενείς και συνέστησε περαιτέρω έρευνα για την συμμετοχή του συγκεκριμένου αντισώματος στις θρομβωτικές

επιπλοκές της λοίμωξης COVID-19. Σε μια έτερη μελέτη επίσης διαπίστωσαν την παρουσία του LAC σε 50 από τους 57 ασθενείς, αλλά έδωσαν έμφαση στο γεγονός ότι η παρουσία του LAC πριν από την εξέταση δεν μπορεί να αποκλειστεί (Helms J, Tacquard C, et al. High risk of thrombosis in patients with severe SARS-CoV-2 infection: a multicenter prospective cohort study. Intensive Care Med., 2020).

Μια μελέτη 122 ασθενών των οποίων τα επίπεδα των aPL-Abs συγκρίθηκαν με εκείνα 157 ασθενών με πρωτοπαθές APS και 91 ασθενών με άλλα αυτοάνοσα νοσήματα (other autoimmune rheumatic diseases-oARD), οδήγησαν σε συγκρίσιμα συμπεράσματα: το LAC διαπιστώθηκε στο 22,2% των ασθενών, που είναι σημαντικά υψηλότερο από αυτό που παρατηρήθηκε στα oARD, αλλά δεν συγκρίνεται με το 64,1% παρατηρείται στο pAPS (primary antiphospholipid syndrome).

Τελικά, έγινε προσπάθεια συσχέτισης της συχνότητας των aPL-Abs με την εμφάνιση θρομβωτικού επεισοδίου που διαπιστώθηκε στο 39,1% των 46 COVID-19 θετικών ασθενών, χωρίς όμως να αναγνωρίζεται κάποια σύνδεση μεταξύ τους (αν και δεν ήταν ξεκάθαρο ποια ομάδα αντιπροσωπεύουν αυτοί οι 46 ασθενείς από τους αρχικούς 122). Τα aPL αντισώματα επομένως δεν αναγνωρίσθηκαν ως δείκτης θρόμβωσης στους ασθενείς με λοίμωξη COVID-19.

Authors	Examined patients	Antibody prevalence	Thrombotic complications
Devreese et al.	31	16/31 LAC; 23/31 any aPL	9, thereof 7 positive for any aPL
Harzallah et al.	56	25/56 LAC; 5/56 IgG/IgM aCL or IgG/IgM anti-β2GPI	–
Gatto et al.	122	22.2% LAC; 13.4% IgG aCL; 2.7% IgM aCL, 6.3% IgG anti-β2GPI; 7.1% IgM anti-β2GPI	18/46
Galeano-Valle et al.	24	2/24 IgM aCL and IgM anti-β2GPI	24
Le Joncour et al.	104	35/104 aCL; 9/104 anti-β2GPI; 21/104 LAC; 49/104 any aPL	11; 64% positive for any aPL
Karahan et al.	31	8/31 any aPL; 6/26 LAC; 2/31 IgM aCL; 0/31 IgG/IgM anti-β2GPI; 2/31 IgA anti-β2GPI	–
Bowles et al.	34	31/34 LAC	–
Helms et al.	57	50/57 LAC	–
Borghi et al.	122	5.7/6.6% IgG/IgM aCL; 15.6/6.6/9.0%, IgG/IgA/IgM anti-β2GPI	16
Trahtemberg et al.	22	13/22 IgG aCL; 7/22 IgM aCL	–
Zuo et al.	172	52% any aPL	–
Amezcua-Guerra et al.	21	12/21 any aPL; 10%/14% IgG/IgM aCL	2
Hamadé et al.	41	7/41 any aPL; 5/41 LAC	9, thereof 2 positive for any aPL
Cristiano et al.	92	2/44 (early infection); 3/48 (late infection)	–
Reyes Gil et al.	68	30/68 LAC; 1/68 IgM aCL and IgM anti-β2GPI	19/30 (positive LAC)
Pineton de Chambrun et al.	25	92% LAC; 52% IgG/IgM aCL; 12% IgG/IgM anti-β2GPI	6, thereof all positive for any aPL
Xiao et al.	66 (critical condition); 13 (non-critical condition)	31/66 any aPL(IgG/IgM/IgA aCL and anti-β2GPI); 0/13 any aPL	–
Previtali et al.	35 (PM)	5/35 any aPL(IgG/IgA/IgM aCL and anti-β2GPI)	35

Curr Rheumatol Rep (2021) 23: 72

Πίνακας 8: Συνοπτικά αποτελέσματα μελετών

Πιο ορθή εκτίμηση έγινε μετά την εξέταση 24 ασθενών, που επιπρόσθετα είχαν θρομβωτικές επιπλοκές κατά την διάρκεια της θεραπείας τους. Οι συγκεκριμένοι ασθενείς ήταν σε σοβαρή κατάσταση, δεν χρειάστηκαν όμως νοσηλεία στη ΜΕΘ. Το αποτέλεσμα ήταν κατά της σύνδεσης των αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων με την παθογένεση της φλεβικής θρόμβωσης (VTE) στις σοβαρές περιπτώσεις των ασθενών με COVID-19 πνευμονία.

Σε μια αξιοσημείωτη μελέτη έγινε σύγκριση μεταξύ ασθενών σε κρίσιμη κατάσταση λόγω της λοίμωξης COVID-19 και ασθενών με παρόμοια κατάσταση χωρίς λοίμωξη COVID-19 και οδηγήθηκαν στο συμπέρασμα ότι η συχνότητα των aPL-Abs ήταν περίπου η ίδια, με μόνη διαφορά στο LAC, όπου διαπιστώθηκε υψηλότερη συγκέντρωση στους ασθενείς με τη λοίμωξη COVID-19 (Karahan S, Erol K, et al.

Antiphospholipid antibodies in COVID-19-associated pneumonia patients in intensive care unit. Mod Rheumatol., 2021).

Παρόμοιο αποτέλεσμα προέκυψε και από μια μελέτη που εστίασε στις θρομβωτικές επιπλοκές σε ένα μεγαλύτερο αριθμό 122 ασθενών όπου οι 16 είχαν σοβαρά θρομβωτικά επεισόδια. Τα anti-B2GPI IgG/IgA/IgM αντιστοιχούσαν στο 15,6/6,6/9,0% και τα aCL IgG/IgM στο 5,7/6,6% αντίστοιχα. Δεν διαπιστώθηκε καμία συσχέτιση με θρόμβωση.

Σε μια πιο εκτεταμένη μελέτη, τα aPL αντισώματα 20 βαρέως πασχόντων ασθενών χωρίς νόσο COVID-19 συγκρίθηκαν με 22 ασθενείς που βρίσκονταν αντίστοιχα σε κρίσιμη κατάσταση με COVID-19. Τα aCL IgG/IgM παρατηρήθηκαν συχνότερα στους COVID-19 ασθενείς (13/22 και 7/22 αντίστοιχα) (Trahtemberg U, Rottapel R, et al. Anticardiolipin and other antiphospholipid antibodies in critically ill COVID-19 positive and negative patients. Ann Rheum Dis., 2021).

Στον αντίποδα, υπάρχει μια μελέτη, τα αποτελέσματα της οποίας ανέδειξαν μεγαλύτερη επίδραση των aPL-Abs απ' ότι προηγουμένως. Σε ένα σύνολο 172 COVID-19 θετικών ασθενών που έλαβαν θεραπεία στο νοσοκομείο, διαπιστώθηκε παρουσία οποιουδήποτε aPL-Abs σε ένα σημαντικά υψηλό ποσοστό ασθενών (52%), ενώ με αυστηρότερο περιορισμό στα όρια, διαπιστώθηκε στο 30% των ασθενών, υποδηλώνοντας πιθανή συμμετοχή τους στην παθογένεση της COVID-19 λοίμωξης (Zuo Y, Estes SK, et al. Prothrombotic antiphospholipid antibodies in COVID-19. medRxiv, 2020).

Μια γαλλική μελέτη επικεντρώθηκε σε ασθενείς με COVID-19 λοίμωξη που δεν χρειάστηκαν νοσηλεία στη ΜΕΘ, όπου τουλάχιστον ένα από τα aPL-Abs διαπιστώθηκε στο 47,1% των ασθενών. Κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τα aPL-Abs εμφανίζονται συχνά και στην μέτριας σοβαρότητας λοίμωξη COVID-19.

Μια μελέτη από σειρά περιστατικών επικεντρώθηκε στην ανίχνευση των aPL-Abs, εξαιρώντας το LAC και διαπίστωσε υψηλό ποσοστό aPL αντισωμάτων της τάξης του 57% (Amezcua-Guerra LM, Rojas-Velasco G, et al. Presence of antiphospholipid antibodies in COVID-19: case series study. Ann Rheum Dis, 2020).

Άλλη μελέτη διαπίστωσε σημαντικό ποσοστό aPL-Abs σε ασθενείς που νοσηλεύθηκαν στη ΜΕΘ με παρουσία των αντισωμάτων σε 7 από τους 41 ασθενείς.

Μια αναδρομική μελέτη από τη Νέα Υόρκη εξέτασε το LAC, σε διάστημα 2 μηνών, σε 187 ασθενείς, όπου μόνο ορισμένοι είχαν ακόμη θετικό COVID-19 τεστ στον επανέλεγχο και διαπίστωσε υψηλές τιμές του συγκεκριμένου αντισώματος σε 30 από τους 68 θετικούς ασθενείς. Ενδιαφέρον αποτελεί το γεγονός ότι μόνο 27 από τους 119 ασθενείς με αρνητικό COVID-19 τεστ, ήταν θετικοί για το LAC. Επιπλέον, στην εξέταση των 30 ασθενών με θετικό LAC και λοίμωξη COVID-19 διαπιστώθηκαν 19 επεισόδια αρτηριακής ή φλεβικής θρόμβωσης (63%), σε αντίθεση με το 34% στους ασθενείς με LAC-αρνητικό τεστ. Ακολούθως, εξετάστηκαν και τα IgG/IgM aCLs και τα anti-β2GPI στους LAC-θετικούς ασθενείς και τα IgM αντισώματα ανιχνεύθηκαν μόνο σε έναν ασθενή. Επομένως στην συγκεκριμένη μελέτη κατέληξαν ότι υπήρχε συσχέτιση μεταξύ των υψηλών επιπέδων LAC και των θρομβωτικών επεισοδίων στους COVID-19 θετικούς ασθενείς (Reyes Gil M, Barouqa M, Assessment of lupus anticoagulant positivity in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19). JAMA Netw Open., 2020).

Μια άλλη αναδρομική μελέτη εκτίμησε την παρουσία aPL αντισωμάτων σε 25 ασθενείς με COVID-19 λοίμωξη που νοσηλεύτηκαν στη ΜΕΘ και που όλοι εμφάνισαν οξύ σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας (acute respiratory distress syndrome-ARDS). Τα αποτελέσματα ανέδειξαν ιδιαίτερα υψηλή παρουσία του LAC, σε ποσοστό 92%, τα aCL ήταν 52%, τα anti-β2GPI 12% και λοιπά αντιφωσφολιπιδικά στο 72%.

Πνευμονική εμβολή διαπιστώθηκε σε 6 ασθενείς, όπου όλοι ήταν θετικοί και για τα aPL αντισώματα.

Άλλη μελέτη διαπίστωσε ένα μικρό αριθμό ανιχνεύσιμων aPL-Abs, έθεσε όμως το ερώτημα για «ενδεχόμενο APS που επάγεται από την λοίμωξη COVID-19» λόγω της αυξημένης παρουσίας των μη-κλασσικών aPL αντισωμάτων.

Ένα αξιοσημείωτο αποτέλεσμα προήλθε από την εξέταση των aPL αντισωμάτων σε 66 ασθενείς σε κρίσιμη κατάσταση και 13 ασθενών με λιγότερο σοβαρή λοίμωξη. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι στους μη κρίσιμους ασθενείς δεν διαπιστώθηκαν aPL-Abs, ενώ από τους 66 ασθενείς σε σοβαρή κατάσταση, οι μισοί βρέθηκαν θετικοί. Αυτό οδήγησε στο συμπέρασμα ότι παρά την υποτιθέμενη παροδική μόνο αύξηση των aPL-Abs που προκαλείται από την λοίμωξη COVID-19, ένα σύνδρομο παρόμοιο με το APS θα μπορούσε πιθανά να συνδέεται με τη συγκεκριμένη λοίμωξη (Xiao M, Zhang Y, et al. Antiphospholipid antibodies in critically ill patients with COVID-19. Arthritis Rheumatol., 2020).

Περαιτέρω έρευνες εκτίμησαν το ενδεχόμενο εμφάνισης καταστροφικού αντιφωσφολιπιδικού συνδρόμου (catastrophic APS-cAPS) ως απότοκο της λοίμωξης COVID-19, χρησιμοποιώντας την κλινική πορεία και τις νεκροψίες 75 ασθενών που κατέληξαν από τη λοίμωξη στο Μπέργκαμο, ως βάση δεδομένων. Οι οροί 35 ασθενών με υποψία για πιθανό cAPS, εξετάστηκαν μετά θάνατον. Το αποτέλεσμα έδειξε ότι τα βασικά κριτήρια για το cAPS πληρούνταν, όπως η πολύ-οργανική συμμετοχή σε μικρό χρονικό διάστημα και οι θρομβώσεις μικρών αγγείων. Για τον πλήρη χαρακτηρισμό του cAPS όμως απαιτούνται και υψηλές τιμές αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων, κάτι που δεν παρατηρήθηκε. Μόνο σε 5 περιπτώσεις ανιχνεύθηκαν θετικά αντισώματα, που μόλις ξεπερνούσαν το cut off. Επομένως η συμμετοχή του cAPS στην παθογένεση της θρόμβωσης που συμβαίνει στην COVID-19 λοίμωξη δεν τεκμηριώθηκε.

Οι Devreese και συν. και Harzallah και συν. παρουσίασαν μεγαλύτερο αριθμό ασθενών με υψηλές τιμές LAC, αλλά μικρότερη συμμετοχή των aCL και anti-B2GPI. Και οι δυο δημοσιεύσεις κατέληξαν ότι μεμονωμένα, τα επίπεδα του LAC μπορούν μόνο να αυξάνονται σαν αποτέλεσμα συστηματικών ιογενών λοιμώξεων, καθώς ο μηχανισμός δημιουργίας aCL και LAC στις ιογενείς λοιμώξεις παραμένει θέμα συζήτησης.

Οι Gatto και συν. ανέδειξαν αυξημένα επίπεδα LAC, αυτό όμως που ήταν σημαντικό στην μελέτη ήταν ότι σύγκριναν τις τιμές των αντισωμάτων με αντίστοιχες τιμές σε ρευματικά νοσήματα και ειδικότερα στο APS. Η σύγκριση αυτή ανέδειξε ότι μόνο ορισμένα αντισώματα ήταν συγκρίσιμα με τις συγκεκριμένες ομάδες των ασθενών και ειδικότερα το LAC ήταν σημαντικά χαμηλότερο από τις τιμές που παρατηρούνται στο APS. Η μελέτη αυτή επομένως φανερώνει ότι η παρουσία των aPL-Abs, ένα σημαντικό κριτήριο για τη διάγνωση του APS, είναι πολύ πιο έντονη στο APS απ' ότι στην COVID-19 λοίμωξη υποδεικνύοντας ότι η συχνότητα των aPL-Abs στην οξεία λοίμωξη COVID-19 σε καμία περίπτωση δεν αγγίζει εκείνη του APS. Συνεπώς, το LAC μπορεί να είναι αυξημένο λόγω της λοίμωξης, αλλά δεν συγκρίνεται με το APS.

Παρόμοια προσέγγιση έγινε από τους Karahan και συν. οι οποίοι μετά από σύγκριση με ασθενείς σε σοβαρή κατάσταση αλλά χωρίς λοίμωξη COVID-19, βρήκαν μόνο μικρή αύξηση του LAC, ενισχύοντας την προηγούμενη άποψη.

Περαιτέρω επιβεβαίωση των παραπάνω αποτελεσμάτων γίνεται με τις δημοσιεύσεις των Galeano-Valle (οι οποίοι δεν εξέτασαν το LAC) και των Borghi και συν., οι οποίοι δεν διαπίστωσαν σημαντική αύξηση των aPL-Abs στους ασθενείς που ήταν σε σοβαρή κατάσταση.

Οι Bowles και συν. και Helms και συν. σημείωσαν υψηλές τιμές LAC στις μελέτες τους, χωρίς όμως περαιτέρω έλεγχο για άλλα aPL αντισώματα ώστε να γίνει σύγκριση.

Από την άλλη πλευρά, 8 μελέτες υποδεικνύουν ότι τα aPL αντισώματα μπορεί να έχουν μεγαλύτερη συμμετοχή στις μετρήσεις, όπως φαίνεται στις μελέτες των Zuo και συν. και Reyes Gil και συν. Παρ' όλα αυτά, ιδιαίτερη προσοχή δίνεται στις παρατηρήσεις των Chambrun και συν. και Xiao και συν. των οποίων οι ασθενείς που συμμετείχαν ήταν σε σοβαρή κατάσταση και λάμβαναν θεραπεία στη ΜΕΘ. Οι Pineton de Chambrun και συν. επισημαίνουν εντυπωσιακά υψηλά επίπεδα aPL-Abs, ιδιαίτερα για το LAC. Η σύγκριση που έγινε από τον Xiao και συν. αναδεικνύει επίσης σημαντικά υψηλότερο ποσοστό aPL-Abs στους ασθενείς με λοίμωξη COVID-19, που βρίσκονται στην οξεία φάση της λοίμωξης και αντιμετωπίζουν σοβαρή νόσο.

Η συσχέτιση των θρομβωτικών επεισοδίων με τον τίτλο των aPL αντισωμάτων παραμένει αινιγματική. Δυστυχώς δεν προβάλλουν όλες οι δημοσιεύσεις δεδομένα για την επίπτωση των θρομβώσεων, κάτι που δυσχεραίνει την ακριβή ανάλυση. Οι Pineton de Chambrun και συν. και Reyes Gil και συν. διαπίστωσαν ότι στην πλειονότητα των θρομβώσεων ανιχνεύονταν aPL αντισώματα και επομένως μια σύνδεση μεταξύ τους είναι πιθανή. Τα αποτελέσματα όμως των Previtali και συν. και Galeano-Valle και συν. ανέδειξε μικρό αριθμό αντισωμάτων παρά τις πολλές θρομβώσεις στην ομάδα που ερευνήθηκε.

Μια πρόσφατη μελέτη των Trahtemberg και συν., λαμβάνει ιδιαίτερη θέση και παρατηρεί τα aPL αντισώματα σε COVID-19 θετικούς και σε COVID-19 αρνητικούς ασθενείς με σοβαρή νόσο. Η μελέτη έδειξε ότι ανεξάρτητα από την COVID-19 λοίμωξη, τα APL αντισώματα ανιχνεύονται σε πολλές περιπτώσεις, αλλά με μεγαλύτερη συχνότητα στους COVID-19 θετικούς ασθενείς. Εντυπωσιακό ήταν το γεγονός ότι ορισμένοι ασθενείς, ειδικά εκείνοι με λοίμωξη COVID-19, είχαν ήδη aCL αντισώματα από την εισαγωγή τους. Η μελέτη ανέδειξε επίσης συσχέτιση μεταξύ των IgG aCL και της σοβαρότητας της νόσου. (Trahtemberg U, Rottapel R et al.,

Anticardiolipin and other antiphospholipid antibodies in critically ill COVID-19 positive and negative patients. Ann Rheum Dis., 2021).

Ένα ερώτημα που αναμένεται να απαντηθεί είναι η ομοιότητα της παθογένεσης της COVID-19 λοίμωξης με το APS και το αν η COVID-19 λοίμωξη μπορεί να επάγει το cAPS. Αυτό το ερώτημα βασίζεται κυρίως στις ιδιαίτερες διαταραχές της πήξης που προκαλεί η λοίμωξη COVID-19 και στην επαγόμενη υπερπηκτική κατάσταση, υποθέτοντας ότι η παραγωγή των aPL αντισωμάτων και το επακόλουθο cAPS μπορεί να είναι η αιτία της θρόμβωσης, σαν ένας μη καλά αναγνωρισμένος μηχανισμός στους ασθενείς με πολύ σοβαρή νόσο. Η υπόθεση για το cAPS στην COVID-19 λοίμωξη θα μπορούσε να αμφισβητηθεί από τις παρατηρήσεις των Previtali και συν., δεδομένης της ανίχνευσης χαμηλού τίτλου aPL αντισωμάτων στους ασθενείς της μελέτης τους, αν και ως ποσοστό είναι υψηλότερο (6,7%) του γενικού πληθυσμού. Επομένως η υπόθεση του cAPS στους περισσότερους από τους 35 ασθενείς θα μπορούσε να αποκλειστεί από τον Previtali και συν., όμως η παρουσία των aPL-Abs είναι αν μη τι άλλο, αξιοπρόσεκτη.

Όσον αφορά το υποτιθέμενο «APS που μπορεί να επάγεται από την COVID-19 λοίμωξη», ίσως χρειάζεται να υπενθυμιστούν τα κριτήρια του APS. Σύμφωνα με τα κριτήρια Sapporo χρειάζονται ένα κλινικό και ένα εργαστηριακό κριτήριο: Επομένως, μόνο οι ασθενείς με το κλινικό κριτήριο της θρόμβωσης μπορούν να συμπεριληφθούν. Τα εργαστηριακά κριτήρια από την άλλη, χρειάζονται 2 μετρήσεις των LAC, aCL ή anti-B2GPI, με μεσοδιάστημα 12 εβδομάδων, κάτι που δεν τηρήθηκε στις μελέτες. Ένα άλλο θέμα είναι και το εύρος τιμών των αντισωμάτων, που μόνο σε ορισμένες μελέτες ταιριάζουν με τα κριτήρια Sapporo.

Σύμφωνα με αυτήν την ανασκόπηση οπότε, δεν μπορεί να αποδειχθεί ότι η λοίμωξη COVID-19 επάγει ένα σύνδρομο APS, αλλά χρειάζονται περαιτέρω μελέτες που θα περιλαμβάνουν και τον επαναληπτικό έλεγχο των αντισωμάτων.

Λόγω του ότι το LAC αντίσωμα είναι πολύ συχνό στους COVID-19 θετικούς ασθενείς, μπορεί κανείς εύκολα να οδηγηθεί στο συμπέρασμα οι μετρήσεις να είναι ψευδώς θετικές, ιδιαίτερα στην περίπτωση της αυξημένης CRP, η οποία αναμένεται στην σοβαρή μορφή της νόσου. Προβληματική επίσης είναι και η εκτίμηση των αποτελεσμάτων του LAC στην περίπτωση χορήγησης αντιπηκτικής θεραπείας, όπως η κλασσική ηπαρίνη ή οι ανταγωνιστές της βιταμίνης Κ.

Αξίζει να αναφερθεί ότι παρόλο το εύρος των μελετών, η απευθείας σύγκριση είναι δύσκολο να γίνει λόγω των διαφορετικών παραμέτρων που χρησιμοποιούνται στην εκτίμηση των εκάστοτε εξετάσεων και του διαφορετικού σχεδιασμού των κοορτών των ασθενών.

Οι Cavalli και συν. που εκτίμησαν επίσης το σύνδρομο APS σε σχέση με την COVID-19 λοίμωξη, έδωσαν ιδιαίτερη σημασία στην συχνότητα εμφάνισης των APS αντισωμάτων στον υγιή πληθυσμό συγκριτικά με ασθενείς με λοίμωξη COVID-19. Υψηλότερες τιμές aPL-Abs συνολικά εμφανίστηκαν στους δεύτερους. (Cavalli E, Bramanti A, et al. Entangling COVID-19 associated thrombosis into a secondary antiphospholipid antibody syndrome: diagnostic and therapeutic perspectives (Review). Int J MolMed., 2020).

Οι Cavalli και συν., Pavoni και συν. και Favaloro και συν. προσπάθησαν να αναλύσουν στις μελέτες τους τούς περιορισμούς των δεδομένων που υπήρχαν όσον αφορά την παραμονή των aPL αντισωμάτων. Με παρόμοιο τρόπο οι Castillo-Martinez και συν. εξέτασαν το ενδεχόμενο του να είναι τα aPL αντισώματα «επιφαινόμενο» και όχι η πιθανή αιτία (Castillo-Martinez D, Torres Z et al. Are antiphospholipid antibodies just a common epiphenomenon or are they causative of immune-mediated coagulopathy in COVID-19? Clin Rheumatol., 2021).

Οι Francisco Javier Gil-Etayo και συν. σε μια πρόσφατη μελέτη (27/7/2021) με 360 ασθενείς, προσπάθησαν να εκτιμήσουν την μεταβλητότητα των επιπέδων των aPL

αντισωμάτων τη στιγμή της διάγνωσης και τουλάχιστον 180 ημέρες μετά το πρώτο δείγμα καθώς και τη συσχέτιση των συγκεκριμένων aPL-Abs με τις επιπλοκές της COVID-19 λοίμωξης. Η δυναμική των aPL αντισωμάτων συγκρίθηκε με την ανάπτυξη των anti-SARS-CoV-2 αντισωμάτων (Francisco Javier Gil-Etayo, Anti-Phospholipid Antibodies and COVID-19 Thrombosis: A Co-Star, Not a Supporting Actor, 2021).

Ήταν μια προοπτική μελέτη παρατήρησης που περιλάμβανε COVID-19 θετικούς ασθενείς που παρακολουθούνταν για τουλάχιστον 180 ημέρες από την στιγμή της εισαγωγής τους στο νοσοκομείο. Τα επίπεδα των κλασσικών και μη aPL αντισωμάτων μελετήθηκαν στην εισαγωγή και σε ένα δεύτερο δείγμα που ελήφθη τουλάχιστον 12 εβδομάδες αργότερα.

Συνολικά οι ασθενείς ήταν 360 (72% Καυκάσιοι, 24% γεννημένοι στην Κεντρική και Νότια Αμερική και 2% άλλων εθνικοτήτων). Μέσος όρος ηλικίας ήταν 58.1 έτη.

Η ομάδα των ασθενών συγκρίθηκε με ομάδα ελέγχου αποτελούμενη από 143 υγιείς εθελοντές (33 αιμοδότες και 110 εθελοντές άνω των 40 ετών που προηγουμένως είχαν ελεγχθεί για τυχόν συννοσηρότητες) με αντιπροσωπευτική ηλικία και την ίδια γεωγραφική κατανομή με την ομάδα των ασθενών. Μέσος όρος στην ομάδα ελέγχου ήταν τα 61,3 έτη ενώ δεν είχε κανένας υποκείμενο συστηματικό νόσημα ή αγγειακή παθολογία, πέραν από ελάσσονα προβλήματα που σχετίζονταν με την ηλικία.

Μέθοδοι καθορισμού των aPL-Abs που εντάσσονται στα κριτήρια

Οι IgG/IgM ισότυποι των anti-B2GPI και anti-CL καθορίστηκαν με βάση την ανοσοδοκιμασία με laser bead immunoassay (ALBIA) χρησιμοποιώντας BioPLex 2200 multiplex immunoassay system APLS. Ο ουδός θετικοποίησης για τα αντισώματα έναντι β2GPI και CL θεωρήθηκε η τιμή 18 IU/ml, ανάλογα με τη 99η εκατοστιαία τιμή που εκτιμήθηκε σε υγιή πληθυσμό.

Το LA μετρήθηκε σε ένα δείγμα 67 ασθενών χρησιμοποιώντας το HemosiL dRVVT (cutoff ratio 1,2) και το HemosiL Silica Clotting Time (cutoff ratio 1,3) assay.

Μέθοδοι καθορισμού των aPL-Abs εκτός κριτηρίων

Το IgA anti-β2GPI ταυτοποιήθηκε με το QUANTA Lite B2 GPI IgA, λόγω της χαμηλής ευαισθησίας των ανοσοδοκιμασιών με τη χρήση σφαιριδίων (bead based immunoassays) για τα αντισώματα αυτά.

Οι anti-PS/PT IgG/IgM ισότυποι εκτιμήθηκαν με βάση την ELISA, χρησιμοποιώντας το QUANTA Lite anti-PS/PT.

Οι ουδοί θετικοποίησης ήταν: >20 U/ml για το IgA anti-β2GPI, >30 U/ml για το IgG anti-PS/PT και >40 U/ml για το IgM anti-PS/PT. Οι τιμές αυτές αναλογούν με την 99η εκατοστιαία τιμή στον υγιή πληθυσμό.

Μέθοδοι καθορισμού των anti-SARS-CoV-2 αντισωμάτων

Τα IgG αντισώματα έναντι των δομικών πρωτεϊνών του COVID-19: receptor binding domain (RBD), spike 1 (S1), spike 2 (S2) και νουκλεοκαπσιδίου (NCap), ποσοτικοποιήθηκαν σε ζευγάρια δειγμάτων (in paired samples) σε 126 ασθενείς με COVID-19 λοίμωξη χρησιμοποιώντας την τεχνολογία ALBIA με το BioPlex 2200 SARS-CoV-2 IgG Panel. Χρησιμοποιήθηκε το cut off του κατασκευαστή.

Αποτελέσματα

Συχνότητα aPL-Abs στους ασθενείς με λοίμωξη COVID-19

Η μέση ηλικία των 360 ασθενών με COVID-19 λοίμωξη ήταν 59 έτη (IQR: 46,5-69) με λίγο μικρότερη τη συμμετοχή των γυναικών (41%).

Παρ΄ όλα αυτά δεν διαπιστώθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δυο φύλων: 59 (IQR: 47-68,3) έναντι 59 (IQR: 46-70,8), p=0,937.

Η διάμεση ηλικία στον πληθυσμό αναφοράς ήταν 64 έτη (IQ R: 51-75). Ο μέσος χρόνος διαχωρισμού μεταξύ των δυο δειγμάτων ήταν 21 εβδομάδες (SD: 6,2) και ο διάμεσος (median) 19,9 εβδομάδες (IQR: 16,4-24,3).

Σε 63 ασθενείς (17,5%) σημειώθηκαν aPL-Abs στο πρώτο δείγμα που συλλέχθηκε κατά την οξεία φάση της νόσου. Παρατήρησαν ότι 16 ασθενείς (4,4%) ήταν θετικοί σε τουλάχιστον ένα από τα κλασσικά κριτήρια, ενώ 47 ασθενείς (13,2%) ήταν θετικοί σε τουλάχιστον ένα από τα aPL-Abs εκτός κριτηρίων: οι 40 ασθενείς (11,1%) για το IgA anti-B2GPI και οι 15 (4,2%) για το anti-PS/PT (οποιουδήποτε ισοτύπου). Συνολικά 85% των IgA anti-B2GPI θετικών ασθενών (ν=34) ήταν αρνητικοί για τα άλλα αντισώματα (μεμονωμένη θετικότητα).

Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στη συχνότητα των aPL αντισωμάτων στην ομάδα ελέγχου σε σχέση με τους COVID-19 θετικούς ασθενείς, και στα δυο δείγματα, όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα. Το LA αντίσωμα εκτιμήθηκε σε 67 ασθενείς, όπου οι 13 (19%) ήταν θετικοί.

Antibodies	Reference Population n = 143	COVID-19 Patients (n = 360)			
		First Sample	p-Value	Second Sample	p-Value
[1] Any aPL	20 (14%)	63 (17.5%)	0.338	63 (17.5%)	0.338
[1] Classic aPL	4 (2.8%)	16 (4.4%)	0.460	15 (4.2%)	0.608
[2] Anti-B2GPI IgG	1 (0.7%)	4 (1.1%)	1.0	5 (1.4%)	1.0
[2] Anti-B2GPI IgM	4 (2.8%)	10 (2.8%)	1.0	11 (3.1%)	1.0
[3] Anti-CL IgG	2 (1.4%)	8 (2.2%)	0.732	12 (3.3%)	0.368
[3] Anti-CL IgM	4 (2.8%)	10 (2.8%)	1.0	16 (4.4%)	0.460
[2] Anti-B2GPI IgA	9 (6.3%)	40 (11.1%)	0.100	42 (11.7%)	0.072
[4] Anti-PS/PT	7 (4.9%)	15 (4.2%)	0.719	16 (4.4%)	0.827
[4] Anti-PS/PT IgG	4 (2.8%)	7 (1.9%)	0.517	8 (2.2%)	0.748
[4] Anti-PS/PT IgM	3 (2.1%)	9 (2.5%)	1.0	9 (2.5%)	1.0

[1] aPL, antiphospholipid antibody. [2] B2GPI, β2-glycoprotein-I. [3] CL, cardiolipin. [4] PS/PT, phosphatidylserine/prothrombin.

Πίνακας 9: Συχνότητα αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων στην ομάδα ελέγχου και στους ασθενείς με COVID-19 λοίμωξη (πρώτο και δεύτερο δείγμα ορού). Τα P values αναφέρονται στην ομάδα ελέγχου (reference population).

Η διάμεση τιμή στα επίπεδα των δ-διμερών (D-dimer) ήταν 715 ng/mL (IQR: 434-1349), όπου το 70% των ασθενών είχαν επίπεδα D-dimer ανώτερα του cutoff (500 ng/mL). Δεν διαπιστώθηκαν σημαντικές διαφορές (p=0,663) στα D-dimer ανάμεσα στους aPL-Abs θετικούς ασθενείς (758 ng/mL, IQR: 484-1579) σε σχέση με τους aPL-Abs αρνητικούς (696 ng/mL, IQR: 430-1323). Οι ασθενείς με θρομβωτικά επεισόδια είχαν υψηλότερα επίπεδα D-dimer (4082,5 ng/mL, IQR: 1579,8-7004,6) σε σχέση με εκείνους που δεν είχαν (665 ng/mL, IQR: 586,9-751,2, p<0,001).

Μεταβλητότητα των αντισωμάτων στο χρόνο στους COVID-19 ασθενείς

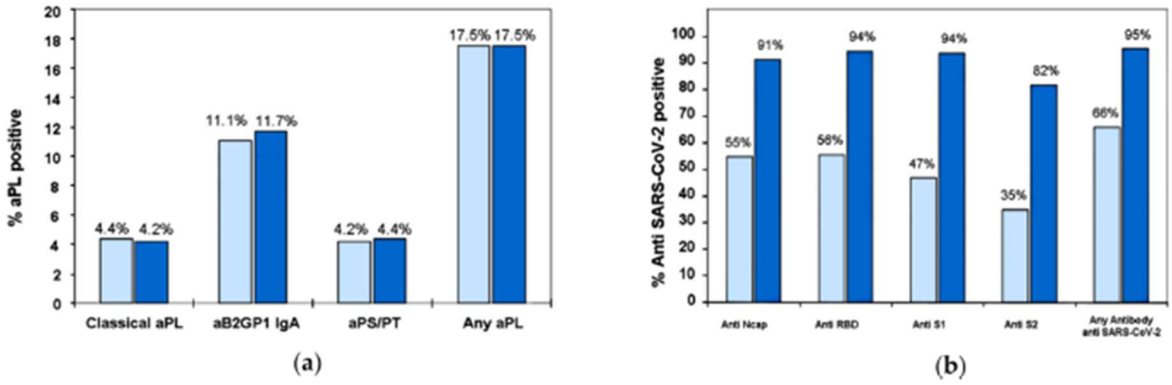
Στην ανάλυση των aPL-Abs επιπέδων σε ζεύγη δειγμάτων, παρατήρησαν ότι η διάμεση διαφορά κατά Hodges-Lehman μεταξύ των πρώτων και των δεύτερων δειγμάτων για όλα τα aPL-Abs ήταν διακριτή, με όλα τα δείγματα να είναι < 1U/mL (Πίνακας 10). Η μέγιστη διάμεση διαφορά ήταν 0,11 φορές τη διάμεση τιμή στο πρώτο δείγμα. Ωστόσο, όταν μετρήθηκαν τα επίπεδα των αντισωμάτων έναντι των αντιγόνων RBD, S1, S2 και Ncap του SARS-CoV-2, διαπιστώθηκε μια σημαντική αύξηση στον τίτλο τους, με median difference index ανάμεσα 2,82 και 7,33.

Δεν σημειώθηκαν σημαντικές διαφορές στο ποσοστό των ασθενών με aPL-Abs ανάμεσα στο πρώτο και στο δεύτερο δείγμα (διάγραμμα 7). Στην ανάλυση με βάση την «συμφωνία» των aPL-Abs στο πρώτο και το δεύτερο δείγμα, παρατήρησαν ισχυρή ομοφωνία για τα κλασσικά aPL-Abs και το IgA anti-B2GPI (Weighted kappa 0,85-0,91) (Πίνακας 11). Ασθενείς που ήταν αρνητικοί στο πρώτο δείγμα και θετικοί στο δεύτερο τοποθετήθηκαν στην γκρι ζώνη, πολύ κοντά στο cut off. Η συμφωνία στις μετρήσεις των anti-PS/PT αντισωμάτων ήταν αδύναμη (Weighted kappa 0,43-0,52).

	First Sample				Second Sample				Wicolxon Test		
Antibodies	Mean	SEM	Median	IQR	Mean	SEM	Median	IQR	Hodges–Lehmann Median Difference	*p*-Value	Median Difference Index
[1] Anti-B2GPI IgG	3.1	14.7	1.4	(1.4–1.4)	3.1	14.6	1.4	(1.4–1.4)	0	0.396	0
[1] Anti-B2GPI IgM	2.9	5.9	1.1	(0.4–2.6)	2.9	7.8	1	(0.4–2.3)	−0.1	0.153	−0.09
[2] Anti-CL IgG	3.9	16.9	1.6	(1.6–1.6)	3.8	16.8	1.6	(1.6–1.6)	0	0.275	0
[2] Anti-CL IgM	3.1	5.7	1.2	(0.5–2.7)	2.7	5.9	0.9	(0.3–2.3)	−0.1	0.019	−0.08
[1] Anti-B2GPI IgA	10.5	20.4	4.4	(2.9–7.2)	10.6	21.1	4.4	(3.2–6.9)	0.13	0.440	0.03
[3] Anti-PS/PT IgG	8	12.2	6	(5.2–7.4)	9	12.7	6.7	(5.8–8.1)	0.67	<0.001	0.11
[3] Anti-PS/PT IgM	13.3	18.4	9.3	(6.5–14.3)	13.9	16.9	9.5	(7–14.9)	0.54	0.141	0.06
[4] Anti-NCap-SARS-CoV2	34.2	38.6	14	(1–65.3)	70.4	37.3	95	(31.8–101)	39.5	<0.001	2.82
[5] Anti-RBD-SARS-CoV2	37.2	41.1	15.5	(1–86)	91.8	26.7	101	(101–101)	50.3	<0.001	3.25
[6] Anti-S1-SARS-CoV2	30.7	39.2	7.5	(0.6–70)	89.2	29.7	101	(101–101)	55	<0.001	7.33
[7] Anti-S2-SARS-CoV2	13.3	22.7	4	(0.6–15)	30.8	26.5	23	(12–40)	15.2	<0.001	3.8

[1] B2GPI, β2-glycoprotein-I. [2] CL, cardiolipin. [3] PS/PT, phosphatidylserine/prothrombin. [4] NCap, nucleocapsid. [5] RBD, receptor-binding domain. [6] S1, Spike 1. [7] S2, spike 2.

Πίνακας 10: Ανάλυση των paired samples (Wilcoxon test) των αντιφωσφολιπιδικών και των IgG anti-SARS-CoV-2 στον ορό των COVID-19 θετικών ασθενών.



Διάγραμμα 7: Συχνότητα των αντισωμάτων στο πρώτο (ανοικτό μπλε) και το δεύτερο δείγμα ορού (σκούρο μπλέ). (a) Αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα. (b). Αντισώματα έναντι του SARS-CoV-2. aPL κριτηρίων: Αντίσωμα έναντι καρδιολιπίνης ή αντισώματα έναντι β2GPI (aB2GPI) των IgG/IgM ισοτύπων.

Antibodies	Positive Patients First Sample	Positive Patients Second Sample	Weighted Kappa	95% CI	Strength Agreement
[1] Any aPL	63 (17.5%)	63 (17.5%)	0.75	(0.66–0.84)	Moderate
[1] Any classic aPL	16 (4.4%)	15 (4.2%)	0.90	(0.79–1)	Strong
[2] Anti-B2GPI IgG	4 (1.1%)	5 (1.4%)	0.89	(0.67–1)	Strong
[2] Anti-B2GPI IgM	10 (2.8%)	11 (3.1%)	0.85	(0.69–1)	Strong
[3] Anti-CL IgG	8 (2.2%)	12 (3.3%)	0.93	(0.80–1)	Almost Perfect
[3] Anti-CL IgM	10 (2.8%)	16 (4.4%)	0.91	(0.78–1)	Almost Perfect
[2] Anti-B2GPI IgA	40 (11.1%)	42 (11.7%)	0.92	(0.85–0.98)	Almost Perfect
[4] Any anti-PS/PT	15 (4.2%)	16 (4.4%)	0.43	(0.20–0.65)	Weak
[4] Anti-PS/PT IgG	7 (1.9%)	8 (2.2%)	0.52	(0.21–0.83)	Weak
[4] Anti-PS/PT IgM	9 (2.5%)	9 (2.5%)	0.43	(0.14–0.72)	Weak

[1] aPL, antiphospholipid antibody. [2] B2GPI, β2-glycoprotein-I. [3] CL, cardiolipin. [4] PS/PT, phosphatidylserine/prothrombin.

Πίνακας 11: Ανάλυση της «συμφωνίας» μεταξύ των μετρήσεων των aPL αντισωμάτων στο πρώτο και το δεύτερο δείγμα. Η δύναμη της συμφωνίας αναλύθηκε με βάση τις συστάσεις McHugh.

Η ισχυρή συμφωνία στα aPL-Abs αντιτίθεται με τα αυξημένα επίπεδα των anti-SARS-CoV-2 IgG αντισωμάτων στο δεύτερο δείγμα.

Κλινική έκβαση των COVID-19 θετικών ασθενών

Στην διάρκεια της παρακολούθησης, 97 ασθενείς (27%) είχαν αναπνευστική ανεπάρκεια και 36 ασθενείς (10%) χρειάστηκαν εισαγωγή στη ΜΕΘ. Ωστόσο, δεν διαπιστώθηκε κάποια συσχέτιση ανάμεσα στην εξέλιξη αυτή της λοίμωξης και της παρουσίας των aPL-Abs. Συνολικά σε 37 ασθενείς (10,3%), σημειώθηκαν θρομβωτικά επεισόδια (ΤΕ). Δεν διαπιστώθηκε κάποια συσχέτιση ανάμεσα στην κλινική έκβαση της νόσου, την εθνικότητα ή την παρουσία αντισωμάτων έναντι συγκεκριμένων αντιγόνων του ιού. Μόνο ένας από τους ασθενείς με θρόμβωση είχε ρευματολογικό νόσημα (Συστηματικό Ερυθηματώδη Λύκο-ΣΕΛ).

Το πιο συχνό θρομβωτικό σύμβαμα ήταν η πνευμονική εμβολή (ΠΕ) σε 24 ασθενείς, ακολουθούμενη από ισχαιμικό αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο σε 8 ασθενείς ενώ 4 είχαν εν τω βάθει φλεβοθρόμβωση (DVT) και σημειώθηκε και μια αρτηριακή θρόμβωση. Δυο ασθενείς με ΠΕ είχαν συνοδά DVT (κατηγοριοποιήθηκαν στην ομάδα των ασθενών με ΠΕ). Ο διάμεσος χρόνος εμφάνισης του πρώτου θρομβωτικού επεισοδίου, από την εισαγωγή, ήταν 6 ημέρες (IQR: 3-12,8) και ο μέσος χρόνος ήταν 12,5 ημέρες. (Διάγραμμα 8α). Τα θρομβωτικά επεισόδια στους ασθενείς που έκαναν εισαγωγή στις ΜΕΘ εμφανίστηκαν αργότερα (διάμεσος χρόνος 14 ημέρες, IQR:5,8-25) από τους υπόλοιπους ασθενείς (διάμεσος χρόνος 5,5 ημέρες, IQR: 3-8,5) αν και οι διαφορές αυτές δεν ήταν στατιστικά σημαντικές (p=0,174).

Τα θρομβωτικά επεισόδια συνέβησαν στους νεότερους ασθενείς της μελέτης. Δεν διαπιστώθηκαν σημαντικές διαφορές σε σχέση με το φύλο, τους καρδιαγγειακούς κινδύνους ή την ανάγκη για νοσηλεία στη ΜΕΘ (Πίνακας 12Α).

Στην οξεία φάση (πρώτο δείγμα), η θετικότητα των aPL αντισωμάτων δεν συσχετίστηκε με την εμφάνιση θρομβωτικών επεισοδίων (Πίνακας 12Α), αναπνευστική ανεπάρκεια ή εισαγωγή στην ΜΕΘ. Παρ' όλα αυτά, αν ληφθούν υπόψιν μόνο τα aPL-Abs των κλασσικών κριτηρίων, η συχνότητα των θρομβωτικών επεισοδίων ήταν σημαντικά μεγαλύτερη στους aPL-Abs θετικούς ασθενείς απ' ότι στους aPL-Abs αρνητικούς (RR: 3,36, 95%CI: 1,51-7,46, Πίνακας 11Α). Δεν παρατηρήθηκε σημαντική συσχέτιση του LAC με θρόμβωση, αναπνευστική ανεπάρκεια ή εισαγωγή στη ΜΕΘ.

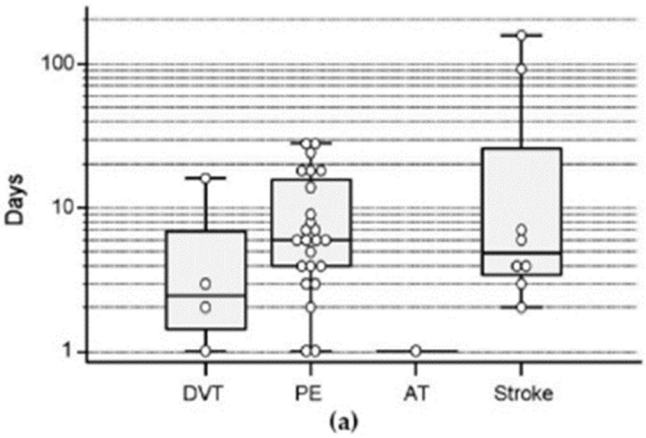
Η παρουσία των aPL-Abs στο δεύτερο δείγμα παρουσίασε σημαντική συσχέτιση με την εμφάνιση θρομβωτικών επεισοδίων (RR: 2,55, 95%CI: 1,38-4,74, p=0,003), (Διάγραμμα 9).

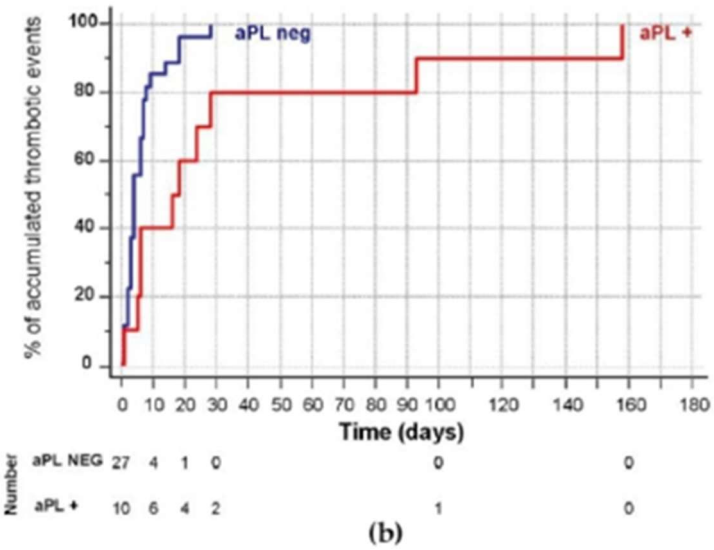
Όταν αναλύθηκαν οι τρεις τύποι των aPL-Abs ξεχωριστά, η θρόμβωση φάνηκε να συνδέεται στενά με την παρουσία των κλασσικών aPL-Abs (RR: 3,59, 95%CI: 1,61-7,9, p=0,003), του anti-B2GPI IgA (RR: 2,09, 95% CI: 1,02-4,26,p=0,047) και του anti-PS/PT (RR:3,36, 95%CI: 1,51-7,46, p=0,005). Η θετικότητα των anti-SARS-CoV-2 αντισωμάτων στο πρώτο και το δεύτερο δείγμα δεν σχετίστηκε με θρόμβωση (Πίνακας 12Α).

Τα θρομβωτικά επεισόδια μετά την εισαγωγή στο νοσοκομείο, στο πρώτο δείγμα, εμφανίστηκαν σημαντικά νωρίτερα στους aPL-Abs αρνητικούς ασθενείς (διάμεσος χρόνος 4 ημέρες, IQR: 3-7) απ΄ ότι στους aPL-Abs θετικούς (διάμεσος χρόνος 17 ημέρες, IQR: 6-25, p=0,016) (Διάγραμμα 8b). Όταν συμπεριλήφθηκε και η θετικότητα στο δεύτερο δείγμα, τα θρομβωτικά επεισόδια συνέβησαν επίσης νωρίτερα στους aPL-Abs αρνητικούς ασθενείς (Διάγραμμα 8c), με διάμεσο χρόνο 4 ημέρες (IQR: 2,5-7),

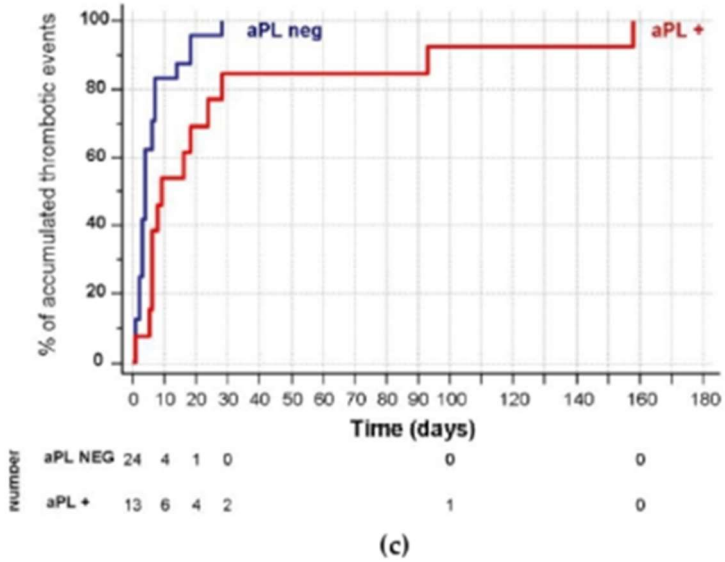
απ΄ ότι στους aPL-Abs θετικούς με στατιστικά σημαντική διαφορά (διάμεσος χρόνος 9 ημέρες, IQR: 6-25, p= 0,006). Αναλύοντας τους τρεις τύπους των aPL αντισωμάτων (κλασσικών κριτηρίων, IgA anti B2GPI και anti-PS/PT), μόνο οι IgA anti-B2GPI θετικοί ασθενείς εμφάνισαν στατιστικά μεγαλύτερο χρόνο εμφάνισης του πρώτου θρομβωτικού επεισοδίου σε σχέση με τους aPL-Abs αρνητικούς ασθενείς.

Οι μεταβλητές που συνδέθηκαν με τα θρομβωτικά επεισόδια με μια τιμή p < 0,11 τέθηκαν σε πολυπαραγοντική ανάλυση με ένα logistic regression model: αναλόγως της παρουσίας των aPL-Abs στο πρώτο δείγμα, την ηλικία και την υπέρταση (Πίνακας 12B). Η παρουσία οποιουδήποτε aPL-Abs στο πρώτο δείγμα (OR: 2,33, 95%CI: 1,03-5,29, p=0,043) αναδείχθηκε σαν ένας σημαντικός και ανεξάρτητος παράγοντας (Πίνακας 12B). Η πολυπαραγοντική ανάλυση που συμπεριέλαβε τα aPL-Abs στο δεύτερο δείγμα ανέδειξε ξεκάθαρα ότι η θετικότητα των aPL-Abs αποτελεί έναν ανεξάρτητο παράγοντα που σχετίζεται με θρόμβωση (OR: 3,71, 95% 1,71-8,05, p=0,001) (Πίνακας 12B). Από την πολυπαραγοντική ανάλυση προέκυψε επίσης, αναλύοντας ξεχωριστά τους τρεις τύπους των aPL-Abs, ότι μόνο οι ασθενείς που ήταν θετικοί για το anti-β2GPI IgA στο δεύτερο δείγμα, είχαν σημαντικά αυξημένο κίνδυνο θρόμβωσης (OR: 2,67, 95%CI: 1,02-7, p=0,046).





(b)



(c)

Διάγραμμα 8: Ημέρες από την εισαγωγή όπου εμφανίστηκαν τα θρομβωτικά επεισόδια. (a) Αναλόγως του τύπου του επεισοδίου, (b) Χρόνος έναρξης των θρομβωτικών επεισοδίων στους aPL-Abs θετικούς ασθενείς (κόκκινο) και στους aPL-Abs αρνητικούς (μπλέ). (c) Χρόνος έναρξης των θρομβωτικών επεισοδίων αναλόγως της θετικότητας των aPL-Abs στο δεύτερο δείγμα. Κόκκινο: aPL-Abs θετικοί ασθενείς. Ο αριθμός των ασθενών με αυξημένο θρομβωτικό κίνδυνο στις διάφορες ημέρες παρουσιάζεται στις κατώτερες γραμμές. DVT: εν τω βάθει φλεβοθρόμβωση, PE: πνευμονική εμβολή, AT: αρτηριακή θρόμβωση.

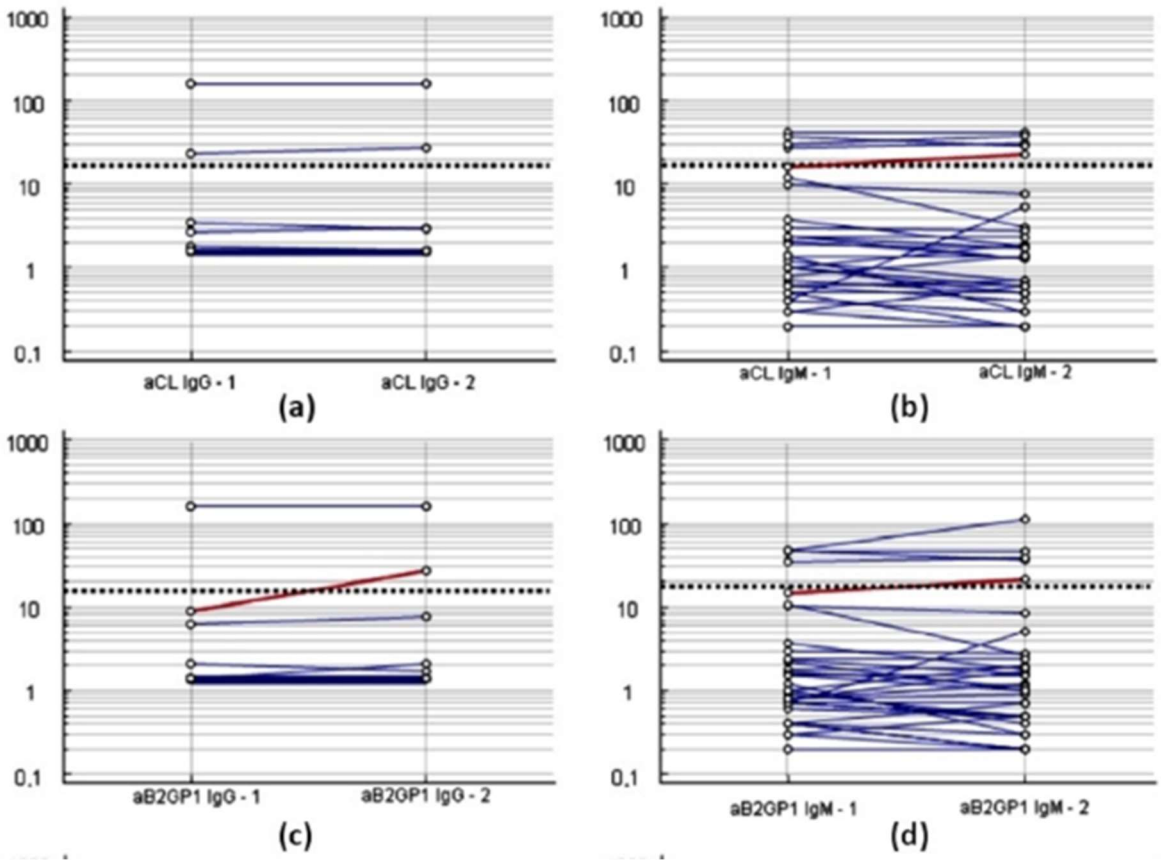
Variables	Thrombosis (n = 37)	No Thrombosis (n = 323)	p-Value	Relative Risk	95% CI
A. Thrombosis Associated Factors.					
Sex (men)	24 (64.9%)	189 (58.5%)	0.457		
Age years (median and IQR)	54 (45.5–61.3)	60 (47.3–70.0)	0.050		
Diabetes	6 (16.2%)	31 (9.6%)	0.209		
Smoker	4 (10.8%)	69 (21.4%)	0.193		
Hypertension	7 (18.9%)	108 (33.4%)	0.073		
Obesity	13 (35.1.9%)	87 (27.9%)	0.292		
Treated at ICU	5 (13.5%)	32 (9.9%)	0.494		
Antibodies First sample					
[1] Any aPL positive	10 (27%)	53 (16.4%)	0.107		
[1] Classic aPL	5 (13.5%)	11 (3.4%)	0.005	3.36	1.51–7.46
[2] Anti-B2GPI IgA	6 (16.2%)	34 (10.5%)	0.297		
[3] Any anti-PS/PT	4 (10.8%)	11 (3.4%)	0.056		
Lupus anticoagulant (n = 67)	5 (16.7%)	8 (21.6%)	0.750		
Anti-SARS-CoV2 (n = 128)					
[4] Anti-Ncap	7 (63.6%)	62 (53.9%)	0.536		
[5] Anti-RBD	8 (72.7%)	62 (53.9%)	0.230		
[6] Anti-S1	6 (54.5%)	53 (46.1%)	0.591		
[7] Anti-S2	4 (36.4%)	40 (34.8%)	0.916		
Antibodies Second sample					
[1] Any aPL positive	13 (35.1%)	50 (15.5%)	0.003	2.55	1.38–4.74
[1] Classic aPL	5 (13.5%)	10 (3.1%)	0.003	3.59	1.61–7.9
[2] Anti-B2GPI IgA	8 (21.6%)	34 (10.5%)	0.047	2.09	1.02–4.26
[3] Any anti-PS/PT	5 (13.5%)	11 (3.4%)	0.005	3.36	1.51–7.46
Anti-SARS-CoV2 (n = 128)					
[4] Anti-Ncap	7 (63.6%)	62 (53.9%)	0.536		
[5] Anti-RBD	8 (72.7%)	62 (53.9%)	0.230		
[6] Anti-S1	6 (54.5%)	53 (46.1%)	0.591		
[7] Anti-S2	4 (36.4%)	40 (34.8%)	0.916		

B. Logistic Regression Multivariate Analysis.

Variable	Odds Ratio	95%CI	p-Value
First serum sample			
[1] Any aPL positive	2.33	1.03–5.29	0.043
Hypertension	0.49	0.21–1.17	0.107
Age years	0.98	0.96–1	0.067
Second serum sample			
[1] Any aPL positive	3.71	1.71–8.05	0.001
Hypertension	0.45	0.19–1.08	0.075
Age years	0.98	0.95–1	0.053

[1] aPL, antiphospholipid antibody. [2] B2GPI, β2-glycoprotein-I. [3] PS/PT, phosphatidylserine/prothrombin. [4] Ncap, nucleocapsid. [5] RBD, receptor-binding domain. [6] S1, Spike 1. [7] S2, spike 2.

Πίνακας 12: Χαρακτηριστικά ασθενών που ανέπτυξαν θρομβωτικά επεισόδια μέσα στους πρώτους 6 μήνες από την διάγνωση της COVID-19 λοίμωξης. Α. Μονοπαραγοντική ανάλυση των παραγόντων που σχετίζονται με θρόμβωση. Β. Πολυπαραγοντική ανάλυση των παραγόντων που σχετίζονται με θρόμβωση κατά τη διάρκεια του επανελέγχου (6 μήνες).



Διάγραμμα 9: Διάγραμμα dot and line που αναπαριστά το Wilcoxon test of the paired samples των αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων στους ασθενείς με COVID-19 λοίμωξη και θρομβωτικά επεισόδια. (a) Anti-cardiolipin (aCL) IgG. (b) aCL IgM. (c) Anti-B2GPI (aB2GPI) IgG. (d) aB2GPI IgM. (e) Anti-Phosphatidyl serine/Prothrombin (aPS/PT) IgG. (f) aPS/PT IgM. (g) aB2GPI IgA. Αριστερά, δείγμα 1, Δεξιά, δείγμα 2. Ο κάθετος άξονας αναπαριστά τον τίτλο των αντισωμάτων σε U/ml. Η κόκκινη γραμμή αναπαριστά την σειρά των αρνητικών ασθενών στο πρώτο δείγμα που θετικοποιήθηκαν στο δεύτερο δείγμα. Η στικτή γραμμή αναπαριστά το cut off.

Στην συγκεκριμένη μελέτη ανέδειξαν ότι η παρουσία των aPL αντισωμάτων στους ασθενείς με λοίμωξη COVID-19, είναι όμοια με εκείνη που παρατηρείται στον γενικό πληθυσμό της ίδιας γεωγραφικής περιοχής και ότι αυτά τα αντισώματα επιμένουν μετά την εμφάνιση της νόσου με πολύ μικρές αποκλίσεις. Επιπρόσθετα παρατήρησαν ότι οι aPL-Abs θετικοί ασθενείς παρουσιάζουν υψηλότερη πιθανότητα για θρόμβωση σε

σχέση με τους aPL-Abs αρνητικούς και ότι τα θρομβωτικά επεισόδια συμβαίνουν πολύ αργότερα στους aPL-Abs θετικούς ασθενείς.

Η παρουσία των aPL-Abs στο APS είναι αναγκαία αλλά όχι ικανή συνθήκη για να οδηγήσει στην δημιουργία θρόμβου. Χρειάζεται η παρουσία ενός δεύτερου ερεθίσματος, «second hit», που θα περιλαμβάνει την ενεργοποίηση του έμφυτου ανοσιακού συστήματος και επιπλέον ένα προφλεγμονώδες μικροπεριβάλλον για να προκληθούν τα θρομβωτικά επεισόδια. Αυτό το δεύτερο ερέθισμα μπορεί να περιλαμβάνει σοβαρή λοίμωξη, χειρουργείο, αγγειακές προσπελάσεις ή τραύμα. Στους ασθενείς με aPL-Abs, η ανοσιακή απάντηση στην COVID-19 λοίμωξη ενεργεί ως δεύτερο χτύπημα που αυξάνει τον κίνδυνο έκλυσης ενός θρομβωτικού επεισοδίου και που προστίθεται στην ήδη υπάρχουσα αυξημένη πιθανότητα για θρομβωτικά επεισόδια στα οποία προδιαθέτει η νόσος. Ο ρόλος της φλεγμονώδους ανταπόκρισης του οργανισμού ως δευτερογενούς ενεργοποίηση στην δημιουργία της θρόμβωσης, αποτελεί αντικείμενο εκτενούς έρευνας σε διάφορα πεδία, όχι μόνο στην aPL-Abs σχετιζόμενη θρόμβωση αλλά και στην θρόμβωση που σχετίζεται με την COVID-19 λοίμωξη και τον καρκίνο.

Ανάμεσα στα κύρια μόρια που συνδέονται με λοίμωξη και προτείνονται ως ενεργοποιητές της θρόμβωσης, ξεχωρίζει το High mobility group box-1 (HMGB-1). Το HMGB-1 είναι μια (damage associated molecular pattern) πρωτεΐνη, η οποία όταν εκκρίνεται από τα κατεστραμμένα κύτταρα, ασκεί μια ισχυρή φλεγμονώδη δράση συνδεόμενη σε υποδοχείς όπως ο υποδοχέας RAGE (Receptor for Advanced Glycation End products) και οι Toll-like υποδοχείς 3 και 4. Η σύνδεση του HMGB-1 με την θρόμβωση επικεντρώνεται στην αλληλεπίδραση με τα αιμοπετάλια, τα NETs και τους παράγοντες πήξης και ινωδόλυσης. (Wu, H.; et al. Emerging Role of High Mobility Group Box-1 in Thrombosis-Related Diseases. Cell. Physiol. Biochem. 2018/

Kim, S.-W.; Role of HMGB1 in the Interplay between NETosis and Thrombosis in Ischemic Stroke: A Review. Cells 2020/

Chiappalupi, S.; Salvadori, L.; Hyperactivated RAGE in Comorbidities as a Risk Factor for Severe COVID-19—The Role of RAGE-RAS Crosstalk. Biomolecules 2021).

Το γεγονός ότι τα θρομβωτικά επεισόδια στους aPL-Abs θετικούς ασθενείς συνέβησαν αργότερα απ΄ ότι στους aPL-Abs αρνητικούς υποδηλώνει ότι ο μηχανισμός που εμπλέκεται στους πρώτους ασθενείς μπορεί να είναι διαφορετικός και επιπρόσθετος σε αυτόν που σχετίζεται άμεσα με τη λοίμωξη.

Όσον αφορά την παρουσία των αυτοαντισωμάτων (αντιπυρηνικά, aPL-Abs και αντιθυρεοειδικά), αυτά εμφανίζονται πιο συχνά στους ηλικιωμένους. Τα περισσότερα δεν αποτελούν τμήμα της ανοσιακής απόκρισης, αλλά αναπτύσσονται ως απάντηση στην αυξημένη απόπτωση από την καταστροφή των ιστών (scavenger antibodies) κατά τη διαδικασία της γήρανσης.

Αν και οι αιμοδότες είναι μια ομοιογενής ομάδα υγιών ανθρώπων, άτομα 50-65 ετών και άνω δεν εκπροσωπούνται επαρκώς (οι περισσότεροι είναι 30-50 ετών) οπότε η παρουσία των αυτοαντισωμάτων στους αιμοδότες είναι χαμηλότερη από το γενικό πληθυσμό. Για την αποφυγή του σφάλματος που θα περιείχε η παρουσία μόνο των αιμοδοτών, χρησιμοποιήθηκε μια ομάδα ελέγχου με διακύμανση ηλικίας αντιπροσωπευτική του γενικού πληθυσμού, από την περιοχή που προέρχονταν οι ασθενείς.

Η υψηλή παρουσία των aPL-Abs που αναφέρονται σε άλλες μελέτες με COVID-19 θετικούς ασθενείς έναντι των δικών τους ομάδων ελέγχου μπορεί να είναι λόγω του μικρότερου μέσου όρου ηλικίας των ομάδων ελέγχου με τις οποίες συγκρίθηκαν, με μειωμένη παρουσία αυτοαντισωμάτων. Σε μια μετα-ανάλυση που πραγματοποιήθηκε από τους Taha and Samavati, στην οποία η παρουσία των aPL-Abs στους ασθενείς με

λοίμωξη COVID-19 εκτιμήθηκε από τα δεδομένα 21 μελετών, όλες οι μελέτες έγιναν χωρίς ομάδα ελέγχου. Επομένως πρέπει να υποτεθεί ότι σε αυτές τις 21 μελέτες, οι συγκρίσεις έγιναν χρησιμοποιώντας την συχνότητα των aPL-Abs που είναι δημοσιευμένη στην βιβλιογραφία, βασισμένη σε κοόρτες από αιμοδότες. Στις ελάχιστες δημοσιευμένες μελέτες που αναφέρουν ομάδα ελέγχου, οι περισσότερες δεν χρησιμοποιούν ομάδες ελέγχου με τις αντίστοιχες ηλικίες (age-matched control population) αλλά και όταν το επιτυγχάνουν, οι ομάδες αυτές είναι πολύ μικρές.

Οι διαφορές στην συχνότητα των aPL-Abs που διαπιστώνονται στην βιβλιογραφία, οφείλονται κυρίως στον αριθμό των παραμέτρων που αναλύονται και τη μεθοδολογία που χρησιμοποιείται. Υπάρχουν μελέτες όπου συγκρίνονται μόνο τα anti-CL και τα anti-β2GPI IgG/IgM, άλλες που ενσωματώνουν και τον ισότυπο IgA και άλλες που περιλαμβάνουν και το LA. Λίγες περιλαμβάνουν και το anti-PS/PT.

Η συχνότητα και ο τίτλος των aPL-Abs, ελάχιστα διέφεραν μεταξύ των 2 δειγμάτων ενώ αντίθετα τα αντισώματα έναντι αντιγόνων του SARS-CoV-2 αυξήθηκαν σημαντικά. Αυτά τα δεδομένα υποθέτουν ότι η παρουσία των aPL-Abs είναι ανεξάρτητη από τη λοίμωξη στους περισσότερους από τους ασθενείς. Η λοίμωξη από τον SARS-CoV-2, στους ασθενείς που έχουν θετικά aPL-Abs, ελάχιστα επηρεάζει την παρουσία των συγκεκριμένων αντισωμάτων.

Σε ένα μικρό ποσοστό ασθενών με aPL-Abs, με χαμηλό τίτλο αντισωμάτων, κάτω από το όριο, η λοίμωξη με SARS-CoV-2 υπήρξε ένα ερέθισμα για την άνοδο του τίτλου των aPL-Abs πάνω από το όριο στο δεύτερο δείγμα. Επομένως η λοίμωξη με SARS-CoV-2 έχει ένα διπλό ρόλο, κυρίως σαν «δεύτερο κτύπημα» όμως σε ορισμένους ασθενείς λειτουργεί και ως ερέθισμα για την παραγωγή aPL-Abs.

Η κύρια ομάδα των aPL-Abs που σχετίζεται με θρόμβωση στην COVID-19 λοίμωξη είναι των κλασσικών κριτηρίων, όμως ξεχωρίζει και η ανίχνευση των IgA anti-B2GPI. Η μέθοδος που χρησιμοποιείται για την ανίχνευσή τους δεν είναι η ALBIA, όπως

γίνεται για τα κλασσικά αντισώματα, αλλά μια εξέταση στερεάς φάσης λόγω υψηλότερης ευαισθησίας.

Ορισμένοι ερευνητές υπέθεσαν ότι η παρουσία των aPL-Abs με τα συνοδά θρομβωτικά επεισόδια στους ασθενείς με COVID-19 λοίμωξη, θα μπορούσε να αναπαριστά μια μορφή δευτεροπαθούς APS. Τα aPL-Abs του δευτεροπαθούς APS που προκαλούνται από λοίμωξη συνήθως εξαφανίζονται σε σύντομο χρονικό διάστημα. Οι Xiao και συν. πρότειναν ότι η δυναμική των aPL-Abs στην COVID-19 λοίμωξη είναι παρόμοια με εκείνη των άλλων λοιμώξεων. Αντιθέτως, στην συγκεκριμένη έρευνα των Gil-Etayo και συν., τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η δυναμική των aPL-Abs είναι ξεκάθαρα διαφορετική από αυτή των αντισωμάτων που συνδέονται με λοιμώξεις. Οι περισσότεροι ασθενείς είναι ήδη θετικοί στην έναρξη της λοίμωξης και παραμένουν θετικοί τουλάχιστον 12 εβδομάδες μετά.

Τα δεδομένα αυτά υποδεικνύουν ότι η θρομβοπάθεια που σχετίζεται με τα aPL αντισώματα στους COVID-19 θετικούς ασθενείς, είναι ένα πρωτοπαθές APS το οποίο εμφανίζεται μετά από μια ισχυρή ανοσιακή απάντηση στη λοίμωξη, που λειτουργεί ως «δεύτερο χτύπημα». Επιπρόσθετα, στην οξεία φάση της νόσου, η παρουσία θρόμβων δύναται να συμβεί εξαιτίας της διαταραγμένης ισορροπίας στα μόρια που ρυθμίζουν την ανοσιακή απόκριση αφενός και σε εκείνα που ευθύνονται για την επιδιόρθωση/καθαρισμό των τραυματισμένων ιστών, αφετέρου.

Βασιζόμενοι σε αυτά τα δεδομένα, αμφισβητείται η παρουσία των aPL-Abs στην COVID-19 λοίμωξη.

Οι ασθενείς της μελέτης με aPL-Abs που παρουσίασαν θρομβωτικά επεισόδια μετά από την λοίμωξη, εμπίπτουν στα κλασσικά Sidney κριτήρια: παρουσία ενός επεισοδίου θρόμβωσης και θετικότητα των aPL-Abs σε δυο δείγματα με απόσταση 12 εβδομάδων. Αυτό που αναμένεται να ταυτοποιηθεί είναι το κατά πόσο οι συγκεκριμένοι ασθενείς συνεχίζουν να εμφανίζουν νέα θρομβωτικά επεισόδια σε μελλοντικές ενεργοποιήσεις

του ανοσιακού συστήματος που δρουν ως «δεύτερο χτύπημα». Γι' αυτό το λόγο προτάθηκε, όπως και με τους ασθενείς με πρωτοπαθές APS, οι ασθενείς με θετικά aPL-Abs, να παρακολουθούνται αυστηρά για μεγάλο χρονικό διάστημα, ενώ η προφυλακτική αντιπηκτική αγωγή ίσως χρειάζεται να παραταθεί για 4 μήνες, ιδιαίτερα με επίπεδα d-dimer >500ng/mL. Για την προφυλακτική αγωγή χρειάζονται περαιτέρω μελέτες.

Η δυναμική της μελέτης έγκειται κυρίως σε δυο σημεία: στο μέγεθός της, που αποτελεί μια από τις μεγαλύτερες προοπτικές κοόρτες που αναλύει την επίδραση των aPL-Abs στην θρόμβωση από COVID-19 λοίμωξη, και στο ότι η συχνότητα και τα επίπεδα των αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων, συγκρίθηκαν με αντίστοιχη ηλικιακή ομάδα υγιούς πληθυσμού, προσδίδοντας ρεαλιστικότητα και όχι ψευδώς λανθασμένες υψηλές τιμές (όπως όταν η σύγκριση γίνεται με αιμοδότες).

Παρ΄ όλα αυτά, η μελέτη εμπεριέχει και αρκετούς περιορισμούς:

Η μελέτη προέρχεται από ένα κέντρο με σχετικά μικρό αριθμό ασθενών και αυτό αποτελεί ένα βασικό περιορισμό. Ενώ το μέγεθος της μελέτης επαρκεί για την εκτίμηση της επίδρασης των aPL-Abs στην ανάρρωση των ασθενών και για τον καθορισμό της συσχέτισης των aPL-Abs με την εμφάνιση θρομβωτικών επεισοδίων, χρειάζονται περαιτέρω μελέτες για την εκτίμηση καθενός αντισώματος ξεχωριστά, όσον αφορά τον θρομβωτικό κίνδυνο.

Η παρουσία των LA αντισωμάτων διαπιστώθηκε σε 67 ασθενείς. Αν και οι συγκεκριμένοι ασθενείς αντιπροσωπεύουν μόνο το 20% της μελέτης, ο αριθμός είναι ικανός για να επιβεβαιώσει τον επιπολασμό και τη μη σύνδεση με τις επιπλοκές της λοίμωξης. Τα δεδομένα αυτά εναρμονίζονται με πολλές άλλες μελέτες οι οποίες έχουν υπογραμμίσει την αυξημένη παρουσία του LA στους ασθενείς με COVID-19 λοίμωξη, που πιθανώς είναι ψευδής λόγω της υποκείμενης λοίμωξης, χωρίς αυτή να συμμετέχουν στον θρομβωτικό κίνδυνο.

Πρόσφατα δεδομένα – συνολική ανασκόπηση

Τον Απρίλιο του 2022, δημοσιεύτηκε στο International Journal of Molecular Sciences από τους Manuel Serrano και συν., μια συνολική ανασκόπηση, η οποία περιλαμβάνει όλες τις παραπάνω μελέτες και αναφέρεται στην συμπεριφορά των aPL-Abs στην παθογένεση και τις διαταραχές πήξης που προκαλούνται από την λοίμωξη COVID-19 (Antigens and Antibodies of the Antiphospholipid Syndrome as New Allies in the Pathogenesis of COVID-19 Coagulopathy, Manuel Serrano, 2022).

Οι μελέτες στις οποίες διαπιστώθηκε υψηλή συχνότητα aPL-Abs συγκεντρώνονται στον παρακάτω πίνακα:

Author	Type	No. of Patients	Confirmation > 12w	Criteria aPL	Extra Criteria aPL	Thrombosis Association	Evidence Level (6)
Zhang et al. [41]	Case report	3	N	Yes	Yes	Yes	IV
Helms et al. [42]	P	150	N	Yes (only LA)	N	Yes	I
Bowles et al. [43]	P	35	N	Yes (only LA)	N	N	II
Amezcua-Guerra et al. [44]	R	21	N	Yes	Yes	N	II/III
Borghi et al. [27]	P	122	N	Yes	Yes	N	I
Gatto et al. [45]	R	122	N	Yes	Yes	N	II/III
Serrano et al. [46]	P	474	N	Yes	Yes	Yes	I
Xiao et al. [47]	R	66	N	Yes	Yes	Yes	III
Hasan Ali et al. [48]	R	64	N	Yes	Yes	N	III
Frapard et al. [49]	R	68	N	Yes	Yes	Yes	III
Gazzaruso et al. [50]	R	45	N	Yes	N	Yes	III
Zuo et al. [51]	R	172	N	Yes	Yes	Yes	I
Gil-Etayo et al. [52]	P	362	Yes	Yes	Yes	Yes	I
Siguret et al. [53]	P	74	N	Yes	N	N	II
Devreese et al. [54]	P	31	N	Yes	Yes	N	II
Atalar et al. [55]	R	73	N	Yes	N	N	II
Gasparini et al. [56]	R	173	N	Yes	Yes	N	I
Ferrari et al. [57]	P	89	N	Yes	N	N	II
Trahtemberg et al. [58]	R	22	N	Yes	Yes	N	III
Previtali et al. [59]	R	35	N	Yes	Yes	N	III
Galeano-Valle et al. [60]	P	24	N	Yes	N	N	III
Vollmer et al. [61]	P	79	Only some patients	Yes	Yes	Yes	II
Sciascia et al. [62]	P	87	Only some patients	Yes	Yes	N	II

Int. J. Mol. Sci. **2022**, *23*, 4946

Πίνακας 13: Μελέτες που αφορούν την παρουσία των aPL-Abs στους COVID-19 ασθενείς. Αναλύθηκαν η συχνότητα και οι τύποι των aPL-Abs, η επαλήθευσή τους σε ένα δεύτερο

δείγμα μετά από 12 εβδομάδες και η συσχέτιση τους με τη θρόμβωση. LA: lupus anticoagulant; R: Retrospective; P: Prospective; Evidence level: According to Miyakis et al.

Από τα aPL-Abs των κλασσικών κριτηρίων, το LA είχε τη μεγαλύτερη συχνότητα, 50-90%. Η θετικότητα του LA στους ασθενείς που είχαν αυξημένο aPTT ήταν 91%. Η συχνότητα των aCL και anti-β2GP1, των ισοτύπων IgG/IgM είναι περίπου 15%, χαμηλότερη αρκετά από αυτήν του LA. Η ταυτόχρονη παρουσία πολλαπλών aPL-Abs, ιδιαίτερα η διπλή θετικότητα, είναι επίσης συχνή και συνέβη στο 25-50% των ασθενών. Δεν διαπιστώθηκαν σημαντικές διαφορές στην συχνότητα μεταξύ των aCL και anti-β2GPI. Αυτό ίσως μπορεί να εξηγηθεί από το ότι τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνταν είναι πολύ καλά τυποποιημένα και υπάρχει μεγάλη εμπειρία στην χρήση τους. Οι περισσότερες μελέτες εκτίμησαν μικρό δείγμα ασθενών, το οποίο αποτελεί φραγμό στην προσπάθεια ανεύρεσης στατιστικά σημαντικών διαφορών.

Όσον αφορά τα aPL-Abs εκτός κριτηρίων, τα δεδομένα αναφορικά με την συχνότητά τους είναι πολλά και ετερογενή, ελάχιστα κέντρα όμως έχουν παρουσιάσει ολοκληρωμένο έλεγχο γι' αυτά (aPS/PT IgG και IgM, aB2GP1 και aCL IgA ισότυπου). Οι Zuo και συν., ανέφεραν υψηλή συχνότητα του aPS/PT IgG και IgM ισότυπου, με 24% και 18% αντίστοιχα, ενώ τα aβ2GP1 και aCL IgA αντισώματα διαπιστώθηκαν σε <5% των ασθενών. Αντίθετα, οι Borghi και συν., ανέφεραν παρουσία των εκτός κριτηρίων aPL-Abs σε ποσοστό κάτω του 10%. Επιπρόσθετα, ανέφεραν ότι μόνο 5% των ασθενών με aPL-Abs αναγνωρίζουν τις υπομονάδες I ή IV/V του aβ2GP1.

Μόνο 2 πολυκεντρικές μελέτες βρέθηκαν: Η μια, από τους Gatto και συν., έλεγξε τα aPL-Abs σε 122 ασθενείς, από τους οποίους οι 52 νοσηλεύτηκαν και οι 18 απ' αυτούς εμφάνισαν θρομβωτικά επεισόδια. Τα πιο συχνά aPL-Abs ήταν τα IgG aCL και το LA. Η μελέτη δεν διαπίστωσε στατιστική συσχέτιση ή υψηλότερη παρουσία των aPL-Abs όταν συγκρίθηκε με ασθενείς με APS ή άλλα αυτοάνοσα νοσήματα. Το μέγεθος της

μελέτης βέβαια ήταν μικρό για την ασφαλή διεξαγωγή συμπερασμάτων. Η άλλη πολυκεντρική μελέτη συμπεριέλαβε 474 ασθενείς, από τους οποίους οι 35 εμφάνισαν θρομβωτικά επεισόδια στη διάρκεια της παρακολούθησης. Η συχνότητα οποιουδήποτε aPL-Ab ήταν 23,6%. Τα IgA aβ2GP1 είχαν την υψηλότερη παρουσία, με ποσοστό 15%. Σημαντικές διαφορές στην συχνότητα των aPL-Abs διαπίστωσαν μόνο όταν έκαναν σύγκριση με πληθυσμό ελέγχου αντίστοιχης ηλικίας. Διάφορες άλλες μελέτες με ασθενείς σε κρίσιμη κατάσταση, ανέδειξαν αντισώματα έναντι της αννεξίνης IgM ισοτύπου, σε ποσοστό 19%. Συχνότητα μέχρι 30% των IgA aPL-Abs (aCL και aβ2GP1), αναφέρθηκαν επίσης, με την παρουσία τους να σχετίζεται με τις πιο σοβαρές περιπτώσεις της λοίμωξης COVID-19.

Συνέπειες των aPL-Abs στην κλινική πράξη, σε ασθενείς με λοίμωξη COVID-19

Προς το παρόν, οι πληροφορίες που σχετίζονται με την παθογένεια των aPL-Abs στην λοίμωξη από SARS-CoV-2 είναι ετερογενείς. Κάποιες μελέτες έχουν αναφέρει συσχέτιση των aPL-Abs με την σοβαρότητα της νόσου διαπιστώνοντας μεγαλύτερη συχνότητα των αντισωμάτων σε ασθενείς με ARDS, χαμηλή GFR και σε εκείνους που έχρηζαν νοσηλείας σε ΜΕΘ. Παρομοίως, ασθενείς με πολλαπλή θετικότητα αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων, είχαν σημαντικά αυξημένη πιθανότητα να αναπτύξουν ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο σε σχέση με εκείνους που ήταν αρνητικοί (p=0.023), με πιο συχνά αντισώματα τα IgA ισοτύπου. Επιπλέον, η προοπτική μελέτη των Gil-Etayo και συν., με 361 ασθενείς ανέδειξε συσχέτιση της παρουσίας των aPL-Abs και της εμφάνισης θρομβωτικών επεισοδίων στους πρώτους 6 μήνες μετά τη διάγνωση της COVID-19 λοίμωξης, με OR: 3.7, 95% CI (1.7-8.1). Στην πολυκεντρική μελέτη των Serrano και συν., το IgG aβ2GP1 ήταν το μόνο aPL-Ab που συνδέθηκε με θρομβωτικά επεισόδια, χωρίς όμως στατιστική σημαντικότητα στην πολυπαραγοντική ανάλυση. Σε αντίθεση, υπάρχουν πολλές μελέτες, που ενώ ανέδειξαν υψηλή συχνότητα aPL-Abs και περιστατικά θρόμβωσης στην οξεία φάση της λοίμωξης COVID-19, δεν

διαπίστωσαν κάποια συσχέτιση μεταξύ τους. Παρομοίως, δεν φάνηκε να υπάρχει συσχέτιση με δερματικές εκδηλώσεις που υποδηλώνουν APS και που είναι συχνές στην λοίμωξη COVID-19, όπως η δικτυωτή πελίωση και η ισχαιμία των άκρων.

Οι Ferrari και συν., ανέφεραν παρόμοια συχνότητα των LA, aβ2GP1 και aCL, στους ασθενείς με σοβαρή και ήπια νόσηση. Οι Amezcua-Guerra και συν., μελέτησαν τα aPL-Abs, κλασσικών κριτηρίων και μη, σε 21 ασθενείς της ΜΕΘ, με τον IgM ισότυπο να εμφανίζεται συχνότερα. Δεν διαπίστωσαν όμως συσχέτιση της παρουσίας των aPL με θρομβωτικά επεισόδια.

Ορισμένοι ερευνητές αναφέρουν την υπομονάδα I της β2GP1, σαν κύριο αντιγονικό επίτοπο του aβ2GP1 σε ασθενείς με APS, διότι σχετίζεται ισχυρά με θρόμβωση. Παρ' όλα αυτά, το γεγονός ότι μόνο 5% των ασθενών με COVID-19 λοίμωξη και θετικά aPL-Abs, αναγνωρίζουν την συγκεκριμένη υπομονάδα, υποδηλώνει ότι τα aPL-Abs στα πλαίσια της λοίμωξης COVID-19, μπορεί να είναι διαφορετικά από αυτά που ανιχνεύονται στους ασθενείς με APS. Δεν διαπιστώθηκε επίσης κλινική συσχέτιση με κατάσταση παρόμοια του cAPS: Μόνο 8% aPL-Abs (κριτηρίων και μη) διαπιστώθηκαν σε μελέτη 35 ασθενών που απεβίωσαν, των Previtali, G και συν., με διαταραχές της πήξης και θρόμβωση σε πάνω από 3 συστήματα στην νεκροψία.

Η πολυκεντρική μελέτη των Gatto και συν., που ανέλυε την παρουσία των aPL-Abs στην COVID-19 λοίμωξη, ανέδειξε ότι η συχνότητα και οι τίτλοι των aPL-Abs ή του LA, δεν αυξάνονταν σταθερά, ούτε σχετιζόταν με θρόμβωση κατά τον υπολογισμό τους σε μια μόνο χρονική στιγμή. Αυτή η υψηλή παρουσία των aPL-Abs και η έλλειψη συσχέτισής τους με τις κλινικές εκδηλώσεις του APS υποδηλώνουν ότι τα συγκεκριμένα aPL-Abs θα μπορούσαν να αποτελούν ένα επιφαινόμενο. Στην περίπτωση του LA, η παρουσία του μπορεί να είναι λόγω της αντιπηξίας που χορηγούνταν σχεδόν σε όλους τους ασθενείς με σοβαρή λοίμωξη COVID-19 ή στους ασθενείς που γίνονταν θετικοί στα πλαίσια της οξείας λοίμωξης.

Ένα σημαντικό δεδομένο είναι ότι οι περισσότερες μελέτες έγιναν σε ηλικιωμένο πληθυσμό, όπου τα aPL-Abs όπως και άλλου τύπου αυτοαντισώματα, για παράδειγμα τα αντιπυρηνικά, παρουσιάζονται συχνότερα. Οι μελέτες γενικότερα χρησιμοποιούν ομάδες ελέγχου από πληθυσμό αιμοδοτών, με εύρος ηλικιών από 18-65 ετών. Όταν οι ασθενείς με λοίμωξη COVID-19 συγκρίθηκαν με πληθυσμό αντίστοιχης ηλικίας (μελέτη των Gil-Etayo και συν.), δεν διαπιστώθηκαν σημαντικές διαφορές στην συχνότητά τους.

Τα aPL-Abs των κλασσικών κριτηρίων, ιδιαίτερα τα aCL, έχουν παρατηρηθεί στα πλαίσια λοιμώξεων. Επιπλέον, τα aPL-Abs στην COVID-19 λοίμωξη, σπάνια αναγνωρίζουν την υπομονάδα I της β2GP1. Η κλινική συσχέτιση των IgM aPL-Abs με τη θρόμβωση είναι αντιφατική. Κάποιοι ερευνητές δεν διαπίστωσαν κλινική συσχέτιση με τον συγκεκριμένο ισότυπο. Ωστόσο, η παρουσία IgG και IgA ισότυπων από την αρχή των συμπτωμάτων, μπορεί να εξηγηθεί από το γεγονός ότι είχαν ήδη σχηματιστεί πριν από την λοίμωξη. Η αλλαγή του ισότυπου, από τον IgM ισότυπο σε IgA ή IgG, είναι μια διαδικασία που χρειάζεται χρόνο, οπότε είναι απίθανο τα αντισώματα αυτά να δημιουργούνται κατά τη διάρκεια της λοίμωξης. Επιπλέον, η παρουσία και οι τίτλοι των aPL-Abs δεν μεταβάλλονται ιδιαίτερα όταν συγκρίνονται η περίοδος της λοίμωξης και η περίοδος μετά την ανάρρωση. Αντίθετα, τα αντισώματα έναντι του SARS-CoV-2 αυξάνονται δραματικά. Τα δεδομένα αυτά υποστηρίζουν ότι η παρουσία των aPL-Abs είναι ανεξάρτητη από τη λοίμωξη στους περισσότερους ασθενείς με aPL-Abs.

Υπάρχουν αντιφατικά αποτελέσματα όσον αφορά και την εγκυρότητα των αποτελεσμάτων για τα aPL-Abs εκτός κριτηρίων, όπως το IgA anti-β2GP1. Λόγω της έλλειψης τυποποίησης των διάφορων διαθέσιμων μεθόδων, υπάρχει μεγάλη ετερογένεια αποτελεσμάτων, καθώς αυτά εξαρτώνται από την εξέταση που χρησιμοποιείται για την ανίχνευσή τους. Προς το παρόν, αξιόπιστα αποτελέσματα λαμβάνονται με τη χρήση μεθόδων στερεάς φάσης (ELISA).

Παραμονή των aPL-Abs

Ενώ η παρακολούθηση με δεύτερο δείγμα των aPL-Abs αντισωμάτων, τουλάχιστον 12 εβδομάδες μετά, συστήνεται στα κριτήρια Sapporo, ελάχιστες μελέτες το πραγματοποίησαν αυτό στα πλαίσια της COVID-19 λοίμωξης. Σε αντίθεση με ό,τι συμβαίνει με το LA αντίσωμα, τα επίπεδα των aCL και anti-β2GP1 δεν παρουσιάζουν σημαντικές μεταβολές στη δεύτερη μέτρηση.

Ωστόσο, όταν οι Sciascia και συν., σύγκριναν το προφίλ των αντισωμάτων, κλασσικών κριτηρίων και των aPS/PT IgG and IgM, 87 ασθενών με COVID-19 λοίμωξη, με ασθενείς με APS και ασθενών με άλλες λοιμώξεις, διαπίστωσαν ότι το προφίλ των aPL-Abs στους COVID-19 θετικούς ασθενείς διέφερε από εκείνων με APS, αλλά ήταν παρόμοιο με εκείνων που υπέφεραν από τις άλλες λοιμώξεις. Στο πρώτο δείγμα, διαπίστωσαν ότι ενώ 52,9% των ασθενών με λοίμωξη COVID-19 ήταν θετικοί για τουλάχιστον ένα aPL-Abs (29% LA, 10.3% θετικοί για 2 ή περισσότερα aPL-Abs), δεν σημειώθηκαν θρομβωτικά επεισόδια. Στην επόμενη μέτρηση 12 ασθενών με λοίμωξη COVID-19 (με πάνω από 12 εβδομάδες διαφορά), χρησιμοποιώντας μέθοδο στερεάς φάσης, διαπίστωσαν ότι οι ασθενείς αυτοί ήταν αρνητικοί για τα συγκεκριμένα αντισώματα. Ανατρέχουμε και στην μελέτη των Gil-Etayo και συν., οι οποίοι μέτρησαν τα aPL-Abs 361 ασθενών σε δύο δείγματα, με 12 εβδομάδες διαφορά και δεν διαπίστωσαν σημαντικές διαφορές όσον αφορά τη συχνότητά τους, ενώ ανέφεραν μια ισχυρή συμφωνία μεταξύ των δύο προσδιορισμών για τα κριτήρια aPL-Abs (Δείκτης συμφωνίας: Weighted kappa: 0.85) και για τα αντισώματα IgA aβ2GP1 (Weighted kappa: 0.91). Παρ' όλα αυτά, η συμφωνία στις μετρήσεις των anti-PS/PT ήταν αδύναμη (Weighted kappa 0.43–0.52).

Συζήτηση τελικής ανασκόπησης

Η λοίμωξη COVID-19, συσχετίστηκε με υψηλή συχνότητα aPL-Abs, κλασσικών κριτηρίων και μη. Το μείζον ερώτημα όμως είναι το κατά πόσον αυτά έχουν κλινική

σημασία, στους ασθενείς με παροδική θετικότητα και κυρίως σε εκείνους με μόνιμη. Η ευρέως αποδεκτή υπόθεση, είναι ότι αυτά αποτελούν ένα επιφαινόμενο, δευτεροπαθώς της λοίμωξης. Ωστόσο δεν υπάρχει ομοφωνία απόψεων, διότι πολλές από τις μελέτες που διεξήχθησαν περιέχουν σφάλματα και πιθανά υποκρύπτουν τον πραγματικό ρόλο των αντισωμάτων. Η προοπτική μελέτη των Gil-Etayo και συν., οδήγησε στην υπόθεση ότι ίσως υπάρχουν δυο διαφορετικοί μηχανισμοί όσον αφορά την εμφάνιση της θρόμβωσης στους ασθενείς με λοίμωξη COVID-19 που είναι φορείς aPL-Abs.

Ο ένας υποθετικός μηχανισμός, είναι ο κίνδυνος θρόμβωσης τις πρώτες μέρες της λοίμωξης, να είναι εγγενής της προθρομβωτικής κατάστασης που προκαλεί ο SARS-CoV-2. Ο άλλος μηχανισμός είναι, οι φορείς aPL-Abs να αποκτούν ένα επιπλέον μηχανισμό πρόκλησης θρομβωτικού επεισοδίου. Η παρουσία των aPL-Abs (πρώτο χτύπημα), στα πλαίσια της έντονης φλεγμονώδους απάντησης που συμβαίνει μετά κατά τη διάρκεια της COVID-19 λοίμωξης (δεύτερο χτύπημα), θα μπορούσε να προκαλέσει θρομβωτικό επεισόδιο. Οπότε, τα aPL-Abs θα μπορούσαν να έχουν μια επιπρόσθετη δράση στον ήδη υπάρχοντα κίνδυνο θρόμβωσης που δημιουργείται από την ίδια την λοίμωξη.

Στην COVID-19 λοίμωξη, διαπιστώθηκε υψηλή παρουσία κλασσικών aPL-Abs. Όταν όμως διευρύνθηκε ο έλεγχος, τα aPL-Abs εκτός κριτηρίων φάνηκαν να είναι πιο επικρατή σε αρκετές μελέτες. Επομένως, είναι πολύ σημαντικό να καθοριστούν τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα, κλασσικών κριτηρίων και μη, στους COVID-19 θετικούς ασθενείς, όσο νωρίτερα γίνεται, καθώς οι συγκεκριμένοι έχουν μεγαλύτερο κίνδυνο θρόμβωσης και θα χρειαστούν ίσως πρωιμότερη θεραπευτική παρέμβαση. Για να επιβεβαιωθεί αυτή η υπόθεση, χρειάζονται ενδελεχείς μελέτες που θα περιλαμβάνουν σημαντικό αριθμό ασθενών, πλήρη έλεγχο για τα aPL-Abs, που θα περιλαμβάνει και τα αντισώματα κλασσικών κριτηρίων και τα εκτός κριτηρίων, με συστηματική επανάληψη των μετρήσεων 12 εβδομάδες μετά. Επιπλέον, τα aPL

αντισώματα θα πρέπει να ταυτοποιούνται με τυποποιημένες μεθόδους στερεάς φάσης, που είναι θεμελιώδους σημασίας για την αποφυγή ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων.

Ατενίζοντας το μέλλον, με τα περιστατικά της COVID-19 λοίμωξης σε μείωση, είναι δύσκολο να πραγματοποιηθούν νέες προοπτικές μελέτες με σωστή μεθοδολογία που θα μπορούσαν να επιφέρουν περισσότερες πληροφορίες από αυτές που έχουν ήδη δημοσιευτεί. Ωστόσο, η συστηματική επιλογή ασθενών και των δειγμάτων τους, θα μπορούσε να οδηγήσει σε μελλοντικές πολυκεντρικές μελέτες με μεγάλες κοόρτες ασθενών.

Περιορισμοί της ανασκόπησης:

Λόγω της μεθόδου σχεδιασμού των μελετών, οι περισσότερες μελέτες περιέχουν σφάλματα. Η συγκεκριμένη μελέτη έχει επικεντρωθεί κυρίως σε νοσηλευόμενους ασθενείς, το οποίο επίσης αποτελεί σφάλμα επιλογής καθώς εκείνοι αποτελούν ένα μικρό μόνο μέρος του συνόλου των ασθενών που έχουν νοσήσει με λοίμωξη COVID-19. Σφάλμα αποτελεί επιπλέον το γεγονός ότι δεν μελετήθηκαν σε όλους τους ασθενείς τα aPL-Abs (κριτηρίων και μη) συστηματικά, ενώ και οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν δεν ήταν οι τυποποιημένες σε όλους, οπότε πολλά δεδομένα υπό- ή υπέρ-εκτιμήθηκαν.

Οι πληθυσμοί των ασθενών που μελετήθηκαν ήταν μικροί στις περισσότερες δημοσιεύσεις, οπότε σφάλματα τύπου I (απόρριψη της αληθούς μηδενικής υπόθεσης-null hypothesis) ή τύπου II (η λανθασμένη αποδοχή μιας εσφαλμένης μηδενικής υπόθεσης) μπορεί να υπάρχουν.

Ενώ για τα κριτήρια κατηγοριοποίησης, χρειάζεται ένα δεύτερο δείγμα μέτρησης των aPL-Abs, τουλάχιστον 12 εβδομάδες μετά, αυτό έγινε σε ελάχιστες μελέτες και σε επιλεγμένους ασθενείς. Μια μόνο μελέτη το εφάρμοσε συστηματικά, των Gil-Etayo και συνεργατών.

Όσον αφορά τις φυσιολογικές δράσεις της β2GP1, αυτές δεν είναι ακόμα πλήρως γνωστές. Η συμμετοχή τους στην πήξη είναι αμφίβολη, εφόσον έχουν περιγραφεί και προθρομβωτικές και αντιθρομβωτικές λειτουργίες. Προς το παρόν, δεν μπορεί να ειπωθεί ότι η έλλειψη της β2GP1 στο αίμα προδιαθέτει σε θρομβωτική κατάσταση. Οι μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί και εκτιμούν τα επίπεδα της β2GP1 στην λοίμωξη, είναι ελάχιστες και χρειάζονται περισσότερες για να επιβεβαιώσουν αυτές τις υποθέσεις.

Απλή καταγραφή

Στο ΠΓΝΑ «ΑΤΤΙΚΟΝ» έγινε μια προσπάθεια υπολογισμού της επίπτωσης των aPL-Abs (aCL και anti-β2GP1 IgG/IgM) σε ασθενείς με λοίμωξη COVID-19, με δεδομένα από το πρώτο κύμα της πανδημίας, με τη μετάλλαξη «δέλτα». Συμπεριλήφθηκαν 50 ασθενείς συνολικά, με νοσηλείες σε κλινική και σε ΜΕΘ. Τα αποτελέσματα φαίνονται παρακάτω:

Αριθμός ασθενή	**ACA IgG**	**ACA IgM**	**aβ2GPI IgG**	**aB2GPI IgM**	**Κλινική/ΜΕΘ**
1	5,3	12,9	24.1	1.8	ΚΛΙΝ
2	3,6	3,8	19.4	1.2	ΜΕΘ
3	4,2	5,4	7.7	1.6	ΚΛΙΝ
4	3,8	4,1	112.8	3.9	ΚΛΙΝ
5	9,5	5,6	9.9	1.7	ΚΛΙΝ
6	2,8	5	<6.4	<1.1	ΚΛΙΝ
7	4,8	3,6	17	1.5	ΚΛΙΝ

8	3,3	3,8	<6.4	<1.1	ΚΛΙΝ
9	4	127,1	24.7	7.4	ΜΕΘ
10	<2,6	11,6	7.8	11.2	ΚΛΙΝ
11	17,6	1,1	7.5	<1.1	ΜΕΘ
12	12,1	3,2	19.8	<1.1	ΚΛΙΝ
13	21,3	6,5	12.2	1.5	ΚΛΙΝ
14	<2,6	2,3	<6.4	<1.1	ΚΛΙΝ
15	<2,6	<1	7.3	<1.1	ΜΕΘ
16	<2,6	2,6	9.3	<1.1	ΚΛΙΝ
17	5,9	1,2	8.1	<1.1	ΚΛΙΝ
18	<2,6	1,3	1.3	<1.1	ΚΛΙΝ
19	2,8	1,3	<6.4	<1.1	ΜΕΘ
20	5,2	2,2	17	<1.1	ΜΕΘ
21	6,6	1,2	<6.4	<6.4	ΚΛΙΝ
22	1,4	4,5	<6.4	<1.1	ΜΕΘ
23	<2,6	3,8	<6.4	2.1	ΜΕΘ
24	9,1	1,9	14.1	<1.1	ΜΕΘ
25	<2,6	6,4	<6.4	2.4	ΜΕΘ

26	3,4	4,1	54.6	2	ΚΛΙΝ
27	13,2	9.5	89.9	4.2	ΜΕΘ
28	3,1	5.2	9.2	1.3	ΚΛΙΝ
29	4	14.1	22.8	10.1	ΚΛΙΝ
30	13,5	8.2	133.9	<1.1	ΜΕΘ
31	2,7	4.3	9.9	1.1	ΜΕΘ
32	2,9	2.5	20.3	<1.1	ΜΕΘ
33	5,1	3.3	29	<1.1	ΜΕΘ
34	24,9	2.7	25.6	<1.1	ΚΛΙΝ
35	3,3	1.3	11.2	<1.1	ΜΕΘ
36	3,2	1.4	20.1	<1.1	ΜΕΘ
37	36,8	17.1	220.7	6.5	ΚΛΙΝ
38	4,4	1.5	14.9	<1.1	ΚΛΙΝ
39	4	7.3	16	2.7	ΜΕΘ
40	<2,6	<1.0	14.8	<1.1	ΜΕΘ
41	8,6	5	26.7	3.3	ΜΕΘ
42	4,5	1.2	28	<1.1	ΜΕΘ
43	4,4	2.1	14	<1.1	ΜΕΘ

44	4,3	4.4	8.1	<1.1	ΜΕΘ
45	3,7	7.1	12.6	2.4	ΜΕΘ
46	3,7	2.3	23.7	<1.1	ΜΕΘ
47	4	9.5	34.1	6.3	ΜΕΘ
48	<2,6	7.2	11.6	1.4	ΚΛΙΝ
49	3,1	2.4	12.8	<1.1	ΚΛΙΝ
50	3,4	22.9	11.5	24.2	ΚΛΙΝ
ΦΤ Citrate plasma	**>20**	**>20**	**>20**	**>20**	

Πίνακας 14: Επίπεδα κλασσικών aPL-Abs (aCL και aβ2GP1) σε ασθενείς με λοίμωξη COVID-19 από το ΠΓΝΑ «ΑΤΤΙΚΟΝ». Πρώτο κύμα πανδημίας με τη μετάλλαξη δέλτα.

Παρατηρούμε μεγαλύτερη συχνότητα στο αντίσωμα aβ2GP1 IgG (16/50), με δεύτερο το aCL IgG (3/50). Διπλή θετικότητα εμφανίστηκε σε 4 ασθενείς, κυρίως aCL και aβ2GP1 IgG ισοτύπου, ενώ το λιγότερο συχνά εμφανιζόμενο ήταν το aβ2GP1 IgM (1/50) το οποίο έρχεται σε συμφωνία και με αποτελέσματα διεθνών μελετών. Ο ανωτέρω πίνακας περιέχει δεδομένα απλής καταγραφής και δεν έχει γίνει συσχέτιση με δημογραφικά, κλινικά και εργαστηριακά ευρήματα των ασθενών και την έκβασή τους. Τα δεδομένα θα αξιολογηθούν αναδρομικά με τη συνεργασία των ιατρών της ΜΕΘ και των ιατρών της covid κλινικής και θα ανατρέξουμε στα κλινικά και εργαστηριακά

δεδομένα των ασθενών για τη σύγχρονη με την αναζήτηση των αντισωμάτων περίοδο νοσηλείας τους.

Επίλογος

Καταλήγοντας, σε μια προσπάθεια να συνοψίσουμε τα ευρήματα όλων των μελετών που προϋπήρξαν, βάσει και τις τελευταίας ανασκόπησης, θα λέγαμε τα εξής:

- Στους ασθενείς με COVID-19 λοίμωξη, διαπιστώνεται όντως υψηλή συχνότητα αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων. Αυτό μπορεί να οφείλεται στο μεγάλο ποσοστό ηλικιωμένων ασθενών που συμμετείχαν στις μελέτες. Ωστόσο, οι διαφορές αυτές μειώνονται όταν γίνεται σύγκριση των ασθενών με ομάδα ελέγχου αντίστοιχης ηλικίας, καθώς οι μεγαλύτερες ηλικίες έχουν προδιάθεση για την παραγωγή αυτοαντισωμάτων.
- Τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα, με εξαίρεση το LA, εμμένουν στο χρόνο στους ασθενείς με COVID-19 λοίμωξη.
- Οι περισσότερες μελέτες που έχουν διεξαχθεί ως τώρα, σχετικά με τα aPL-Abs στους ασθενείς με λοίμωξη COVID-19, έχουν περιγράψει μόνο τα aPL-Abs των κλασσικών κριτηρίων.
- Τα aPL-Abs εκτός κριτηρίων, μπορεί να είναι περισσότερο επικρατή από τα κλασσικά και θα πρέπει να συμπεριλαμβάνονται στον έλεγχο.
- Η έλλειψη της β2GP1, θα μπορούσε να αποτελεί κριτήριο για αυξημένη προδιάθεση σε επιπλοκές, σε ασθενείς με σοβαρές λοιμώξεις, όπως είναι η σοβαρή σήψη και η λοίμωξη COVID-19.
- Οι διαταραχές πήξης που διαδραματίζονται στην συγκεκριμένη λοίμωξη αποτελούν έναν επιπρόσθετο προθρομβωτικό παράγοντα σε ασθενείς με προϋπάρχοντα aPL-Abs, με τις θρομβώσεις που σχετίζονται με αυτά να συμβαίνουν αργότερα από εκείνες που σχετίζονται αποκλειστικά με την COVID-19 λοίμωξη.

Βιβλιογραφία

1. Abdel-Wahab N, Lopez-Olivo MA, Pinto-Patarroyo GP, Suarez-Almazor ME. Systematic review of case reports of antiphospholipid syndrome following infection. Lupus 2016;25(14): 1520–1531
2. Abdel-Wahab N, Talathi S, Lopez-Olivo MA, Suarez-Almazor ME. Risk of developing antiphospholipid antibodies following viral infection: a systematic review and meta-analysis. Lupus 2018;27 (04):572–583
3. Ackermann, M.; Verleden, S.; Kuehnel, M.; Haverich, A.; Welte, T.; Laenger, F.; Vanstapel, A.; Werlein, C.; Stark, H.; Tzankov, A.; et al. Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in COVID-19. N. Engl. J. Med. 2020, 383, 120–128. [CrossRef]
4. Ali, O.H.; Bomze, D.; Risch, L.; Brugger, S.D.; Paprotny, M.;Weber, M.; Thiel, S.; Kern, L.; Albrich,W.C.; Kohler, P.; et al. Severe Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) is Associated with Elevated Serum Immunoglobulin (Ig) A and Antiphospholipid IgA Antibodies. Clin. Infect. Dis. 2020. [CrossRef]
5. Amezcua-Guerra LM, Rojas-Velasco G, Brianza-Padilla M, et al. Presence of antiphospholipid antibodies in COVID-19: case series study. Ann Rheum Dis. 2020:annrheumdis-2020-218100
6. Amezcua-Guerra LM, Rojas-Velasco G, Brianza-Padilla M, Vazquez-Rangel A, Marquez-Velasco R, Baranda-Tovar F, et al. Presence of antiphospholipid antibodies in COVID-19: case series study. Ann Rheum Dis 2020.
7. Amezcua-Guerra, L.M.; Rojas-Velasco, G.; Brianza-Padilla, M.; Vázquez-Rangel, A.; Márquez-Velasco, R.; Baranda-Tovar, F.; Springall, R.; Gonzalez-Pacheco, H.; Juárez-Vicuña, Y.; Tavera-Alonso, C.; et al. Presence of antiphospholipid antibodies in COVID-19: A case series study. Ann. Rheum. Dis. 2020, 80, e73. [CrossRef] [PubMed]

8. Anush Martirosyan, Rustam Aminov and Gayane Manukyan, Environmental Triggers of Autoreactive Responses: Induction of Antiphospholipid Antibody Formation, Frontiers in Immunology July 2019
9. Asherson, R.A. Antiphospholipid antibodies and infections. Ann. Rheum. Dis. 2003, 62, 388–393. [CrossRef]
10. Bertin D, Brodovitch A, Beziane A, et al. Anticardiolipin IgG autoantibody level is an independent risk factor for COVID-19 severity. Arthritis Rheumatol 2020;72(11):1953–1955
11. Bertin D, Brodovitch A, Beziane A, Hug S, Bouamri A, Mege JL, et al. Anti-cardiolipin IgG autoantibodies are an independent risk factor of COVID-19 severity. Arthritis Rheumatol Hoboken NJ 2020. https://doi.org/10.1002/art.41409.
12. Borghi MO, Beltagy A, Garrafa E, et al. Anti-phospholipid antibodies in COVID-19 are different from those detectable in the anti-phospholipid syndrome. Front Immunol 2020;11:584241 Seminars in Thrombosis & Hemostasis © 2021. Thieme. Antiphospholipid Antibodies and COVID-19 Favaloro et al.
13. BorghiMO, Beltagy A, Garrafa E, Curreli D, Cecchini G, Bodio C, et al. Prevalence, specificity, and clinical association of antiphospholipid antibodies in COVID-19 patients: are the antibodies really guilty? medRxiv 2020.
14. Bowles L, Platton S, Yartey N, Dave M, Lee K, Hart DP, et al. Lupus anticoagulant and abnormal coagulation tests in patients with Covid-19. N Engl J Med 2020;383:288–90. https://doi.org/10.1056/NEJMc2013656.
15. Bowles L, Platton S, Yartey N, Dave M, Lee K, Hart DP, et al. Lupus anticoagulant and abnormal coagulation tests in patients with COVID-19. N Engl J Med. 2020;383:288–90.
16. Bowles, L.; Platton, S.; Yartey, N.; Dave, M.; Lee, K.; Hart, D.P.; Macdonald, V.; Green, L.; Sivapalaratnam, S.; Pasi, K.J.; et al. Lupus Anticoagulant and Abnormal Coagulation Tests in Patients with COVID-19. N. Engl. J. Med. 2020, 383, 288–290. [CrossRef] [PubMed]

17. Bradley BT, Maioli H, Johnston R, et al. Histopathology and ultrastructural findings of fatal COVID-19 infections inWashington State: a case series. Lancet 2020;396(10247):320–332
18. Burak Erdinc, Sonu Sahni, Vladimir Gotlieb, Hematological manifestations and complications of COVID-19, 11/2020, Adv Clin Exp Med. 2021;30(1):101–107
19. Cabrera-Marante, O.; De Frías, E.R.; Serrano, M.; Morillo, F.L.; Naranjo, L.; Gil-Etayo, F.; Paz-Artal, E.; Pleguezuelo, D.; Serrano, A. The Weight of IgA Anti-2glycoprotein I in the Antiphospholipid Syndrome Pathogenesis: Closing the Gap of Seronegative Antiphospholipid Syndrome. Int. J. Mol. Sci. 2020, 21, 8972. [CrossRef] [PubMed] Biomedicines 2021, 9, 899 16 of 16
20. Calcaterra, I.; Ambrosino, P.; Vitelli, N.; Lupoli, R.; Orsini, R.; Chiurazzi, M.; Maniscalco, M.; Di Minno, M. Risk Assessment and Antithrombotic Strategies in Antiphospholipid Antibody Carriers. Biomedicines 2021, 9, 122. [CrossRef]
21. Carsana L, Sonzogni A, Nasr A, et al. Pulmonary post-mortem findings in a series of COVID-19 cases from northern Italy: a twocentre descriptive study. Lancet Infect Dis 2020;20(10):1135–1140
22. Castillo-Martinez D, Torres Z, Amezcua-Guerra LM, Pineda C. Are antiphospholipid antibodies just a common epiphenomenon or are they causative of immune-mediated coagulopathy in COVID-19? Clin Rheumatol. 2021;40:3015–9.center prospective cohort study. Intensive Care Med. 2020;46:1089–98.
23. Castillo-Martínez, D.; Torres, Z.; Amezcua-Guerra, L.M.; Pineda, C. Are antiphospholipid antibodies just a common epiphenomenon or are they causative of immune-mediated coagulopathy in COVID-19? Clin. Rheumatol. 2021, 40, 3015–3019. [CrossRef]
24. Cavalli E, Bramanti A, Ciurleo R, et al. Entangling COVID-19 associated thrombosis into a secondary antiphospholipid antibody syndrome: diagnostic and therapeutic perspectives (Review). Int J Mol Med 2020;46(03):903–912
25. Cavalli E, Bramanti A, Ciurleo R, Tchorbanov AI, Giordano A, Fagone P, et al. Entangling COVID-19 associated thrombosis into a secondary antiphospholipid

antibody syndrome: diagnostic and therapeutic perspectives (Review). Int J MolMed. 2020;46:903–12.

26. Cavalli, E.; Bramanti, A.; Ciurleo, R.; Tchorbanov, A.I.; Giordano, A.; Fagone, P.; Belizna, C.; Bramanti, P.; Shoenfeld, Y.; Nicoletti, F. Entangling COVID-19 associated thrombosis into a secondary antiphospholipid antibody syndrome: Diagnostic and therapeutic perspectives (Review). Int. J. Mol. Med. 2020, 46, 903–912. [CrossRef]
27. Chiappalupi, S.; Salvadori, L.; Donato, R.; Riuzzi, F.; Sorci, G. Hyperactivated RAGE in Comorbidities as a Risk Factor for Severe COVID-19—The Role of RAGE-RAS Crosstalk. Biomolecules 2021, 11, 876. [CrossRef]
28. Christensen B, Favaloro EJ, Lippi G, Van Cott EM. Hematology laboratory abnormalities in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19). Semin Thromb Hemost 2020;46(07):845–849
29. Clinical management of COVID-19. https://www.who.int/publications-detail-redirect/clinical-management-of-covid-19; 2021 (accessed February 3, 2021).
30. Connell NT, BattinelliEM, Connors JM. Coagulopathy of COVID-19 and antiphospholipid antibodies. J Thromb Haemost. 2020.
31. Connors JM, Levy JH. COVID-19 and its implications for thrombosis and anticoagulation. Blood 2020;135:2033–40. https://doi.org/10.1182/blood.2020006000.
32. Connors, J.M.; Levy, J.H. COVID-19 and its implications for thrombosis and anticoagulation. Blood 2020, 135, 2033–2040. [CrossRef]
33. COVID-19 Dashboard by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at Johns Hopkins University. Accessed March 16, 2021 at: https://www.arcgis.com/apps/opsdashboard/index. html#/bda7594740fd40299423467b48e9ecf6
34. Cristiano A, Fortunati V, Cherubini F, Bernardini S, Nuccetelli M. Anti-phospholipids antibodies and immune complexes in COVID-19 patients: a putative role in disease course for anti-annexin-V antibodies. Clin Rheumatol 2021 (epub ahead of print). Doi: 10.1007/s10067-021-05580-3

35. Cristiano A, Fortunati V, Cherubini F, Bernardini S, Nuccetelli M. Anti-phospholipids antibodies and immune complexes in COVID-19 patients: a putative role in disease course for anti-annexin-V antibodies. Clin Rheumatol. 2021;40:2939–45.
36. Cuenca Saez MA, Gomez-Biezna SL. Immunoglobulin A antiphospholipid antibodies in patients with chilblain-like lesions during the COVID-19 pandemic. Actas Dermosifiliogr 2021;112(03): 290–292
37. De Chambrun, M.P.; Frere, C.; Miyara, M.; Amoura, Z.; Martin-Toutain, I.; Mathian, A.; Hekimian, G.; Combes, A. High frequency of antiphospholipid antibodies in critically ill COVID-19 patients: A link with hypercoagulability? J. Intern. Med. 2020, 289, 422–424. [CrossRef]
38. De Ocáriz XGL, Quismondo NC, Guerrero EV, Rodríguez MR, Díaz RA, López JM. Thrombosis and antiphospholipid antibodies in patients with SARS-COV-2 infection (COVID-19). Int J Lab Hematol 2020;42(06):e280–e282
39. De Ocáriz, X.G.L.; Quismondo, N.C.; Guerrero, E.V.; Rodríguez, M.R.; Díaz, R.A.; López, J.M. Thrombosis and antiphospholipid antibodies in patients with SARS-CoV-2 infection (COVID-19). Int. J. Lab. Hematol. 2020, 42, e280–e282. [CrossRef
40. Delgado, J.F.; Serrano, M.; Morán, L.; Enguita, A.B.; Martínez-Flores, J.A.; Ortiz-Bautista, C.; Rodríguez-Chaverri, A.; de Antonio, I.P.; Cosio, M.D.G.; Panete, M.J.C.; et al. Early mortality after heart transplantation related to IgA anti–2-glycoprotein I antibodies. J. Heart Lung Transplant. 2017, 36, 1258–1265. [CrossRef]
41. Devreese KMJ, de Groot PG, de Laat B, et al. Guidance from the Scientific and Standardization Committee for lupus anticoagulant/antiphospholipid antibodies of the International Society on Thrombosis and Haemostasis: update of the guidelines for lupus anticoagulant detection and interpretation. J Thromb Haemost 2020;18(11):2828–2839
42. Devreese KMJ, Linskens EA, Benoit D, and Peperstraete H. Antiphospholipid antibodies in patients with COVID-19: a relevant observation? J Thromb Haemost 2020.

43. Devreese KMJ, Linskens EA, Benoit D, Peperstraete H. Antiphospholipid antibodies in patients with COVID-19: a relevant observation? J Thromb Haemost 2020;18(09):2191–2201
44. Devreese KMJ, Ortel TL, Pengo V, de Laat BSubcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibodies. Laboratory criteria for antiphospholipid syndrome: communication from the SSC of the ISTH. J Thromb Haemost 2018;16(04):809–813
45. Devreese, K.M.J.; Linskens, E.A.; Benoit, D.; Peperstraete, H. Antiphospholipid antibodies in patients with COVID-19: A relevant observation? J. Thromb. Haemost. 2020, 18, 2191–2201. [CrossRef]
46. Di Minno A, Ambrosino P, Calcaterra I, Di Minno MND. COVID-19 and venous thromboembolism: a meta-analysis of literature studies. Semin Thromb Hemost 2020;46(07):763–771
47. Diao, B.; Wang, C.; Tan, Y.; Chen, X.; Liu, Y.; Ning, L.; Chen, L.; Li, M.; Liu, Y.; Wang, G.; et al. Reduction and Functional Exhaustion of T Cells in Patients with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). Front. Immunol. 2020, 11, 827. [CrossRef]
48. E. Vritzali, C. Antoniades , Pathogenesis of antiphospholipid syndrome, Department of Rheumatology, Asclepeion Hospital, Voula, Athens
49. Ehrenfeld M, Tincani A, Andreoli L, Cattalini M, Greenbaum A, Kanduc D, et al. Covid-19 and autoimmunity. Autoimmun Rev 2020;19:102597. https://doi.org/10.1016/j.autrev.2020.102597.
50. El Hasbani G, Taher AT, Jawad A, Uthman I. COVID-19, antiphospholipid antibodies, and catastrophic antiphospholipid syndrome: a possible association? Clin Med Insights Arthritis Musculoskelet Disord 2020;13:1179544120978667
51. Erkan D, Lockshin MD. Non-criteria manifestations of antiphospholipid syndrome. Lupus. 2010;19:424–7.
52. Fan BE, Ng J, Chan SSW, et al. COVID-19 associated coagulopathy in critically ill patients: a hypercoagulable state demonstrated by parameters of haemostasis and clot waveform analysis. J Thromb Thrombolysis 2021;51(03):663–674

53. Favaloro EJ, Henry BM, and Lippi G. COVID-19 and antiphospholipid antibodies: time for a reality check? Semin Thromb Hemost 2021.
54. Favaloro EJ, Henry BM, Lippi G. Is lupus anticoagulant a significant feature of COVID-19? A critical appraisal of the literature. Semin Thromb Hemost 2021; Doi: 10.1055/s-0041-1729856
55. Favaloro EJ, Lippi G. Recommendations for minimal laboratory testing panels in patients with COVID-19: potential for prognostic monitoring. Semin Thromb Hemost 2020;46(03):379–382
56. Favaloro EJ, Wong RC. Antiphospholipid antibody testing for the antiphospholipid syndrome: a comprehensive practical review including a synopsis of challenges and recent guidelines. Pathology 2014;46(06):481–495
57. Ferrari E, Sartre B, Squara F, et al. High prevalence of acquired thrombophilia without prognosis value in patients with coronavirus disease 2019. J Am Heart Assoc 2020;9(21):e017773
58. Ferrari, E.; Sartre, B.; Squara, F.; Contenti, J.; Occelli, C.; Lemoel, F.; Levraut, J.; Doyen, D.; Dellamonica, J.; Mondain, V.; et al. High Prevalence of Acquired Thrombophilia without Prognosis Value in Patients with Coronavirus Disease 2019. J. Am. Hear. Assoc. 2020, 9, e017773. [CrossRef] [PubMed]
59. Fields, R.A.; Toubbeh, H.; Searles, R.P.; Bankhurst, A.D. The prevalence of anticardiolipin antibodies in a healthy elderly population and its association with antinuclear antibodies. J. Rheumatol. 1989, 16, 623–625. [PubMed]
60. Frapard T, Hue S, Rial C, de Prost N, Mekontso Dessap A. Antiphospholipid autoantibodies and thrombosis in patients with COVID-19: comment on the article by Bertin et al. Arthritis Rheumatol 2021;73(05):897–899
61. Galeano-Valle F, Oblitas CM, Ferreiro-Mazon MM, Alonso-Munoz J, Del Toro-Cervera J , di Natale M, et a l . Antiphospholipid antibodies are not elevated in patients with severe COVID-19 pneumonia and venous thromboembolism. Thromb Res. 2020;192:113–5.

62. Galeano-Valle F, Oblitas CM, Ferreiro-Mazón MM, et al. Antiphospholipid antibodies are not elevated in patients with severe COVID-19 pneumonia and venous thromboembolism. Thromb Res 2020;192:113–115
63. 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. Blood 2003;101(05):1827–1832
64. Gatto M, Perricone C, Tonello M, et al. Frequency and clinical correlates of antiphospholipid antibodies arising in patients with SARS-CoV-2 infection: findings from a multicentre study on 122 cases. Clin Exp Rheumatol 2020;38(04):754–759
65. Gazzaruso C, Mariani G, Ravetto C, Malinverni L, Tondelli E, Cerrone M, Sala V, Bevilacqua L, Altavilla T, Coppola A, Gallotti P. Lupus anticoagulant and mortality in patients hospitalized for COVID-19. J Thromb Thrombolysis 2020 (ePub ahead of print). Doi: 10.1007/s11239-020-02335-w
66. Giordano, P.; Tesse, R. Clinical and laboratory characteristics of children positive for antiphospholipid antibodies. Blood Transfus. 2012, 10, 296–301. [CrossRef]
67. Gómez-Puerta, J.A.; Cervera, R. Diagnosis and classification of the antiphospholipid ;syndrome. J. Autoimmun. 2014, 48–49, 20–25. [CrossRef] [PubMed]
68. Hamade A, Woehl B, Harzallah I, Talbot M, Tousch J, Jambert L. Antiphospholipid antibodies in patients with coronavirus disease 2019 infection hospitalized in conventional unit. Blood Coagul Fibrinolysis. 2021;32:73–9.
69. Hanly, J.G. Antiphospholipid syndrome: An overview. Can. Med. Assoc. J. 2003, 168, 1675–1682. 28. Mendoza-Pinto, C.; García-Carrasco, M.; Cervera, R. Role of Infectious Diseases in the Antiphospholipid Syndrome (Including Its Catastrophic Variant). Curr. Rheumatol. Rep. 2018, 20, 62. [CrossRef] [PubMed]
70. Harel, M.; Aron-Maor, A.; Sherer, Y.; Blank, M.; Shoenfeld, Y. The infectious etiology of the antiphospholipid syndrome: Links between infection and autoimmunity. Immunobiology 2005, 210, 743–747. [CrossRef]
71. Harzallah I, Debliquis A, Dr´enou B. Lupus anticoagulant is frequent in patients with Covid-19. J Thromb Haemost JTH 2020;18:2064–5. https://doi.org/10.1111/jth.14867.

72. Harzallah I, Debliquis A, Drenou B. Lupus anticoagulant is frequent in patients with Covid-19. J Thromb Haemost 2020;18: 2064–2065.
73. Harzallah, I.; Debliquis, A.; Drénou, B. Lupus anticoagulant is frequent in patients with COVID-19. J. Thromb. Haemost. 2020, 18, 2064–2065. [CrossRef]
74. Hasan Ali O, Bomze D, Risch L, et al. Severe COVID-19 is associated with elevated serum IgA and antiphospholipid IgA-antibodies. Clin Infect Dis 2020 (ePub ahead of print). Doi: 10.1093/cid/ciaa1496
75. Helms J, Tacquard C, Severac F, Leonard-Lorant I, Ohana M, Delabranche X, et al. High risk of thrombosis in patients with severe SARS-CoV-2 infection: a multicenter prospective cohort study. Intensive Care Med 2020;46:1089–98. https://doi.org/10.1007/s00134-020-06062-x.
76. Helms J, Tacquard C, Severac F, Leonard-Lorant I, Ohana M, Delabranche X, et al. High risk of thrombosis in patients with severe SARS-CoV-2 infection: a multi Gatto M, Perricone C, Tonello M, Bistoni O, Cattelan AM, Bursi
77. Helms, J.; CRICS TRIGGERSEP Group (Clinical Research in Intensive Care and Sepsis Trial Group for Global Evaluation and Research in Sepsis); Tacquard, C.; Severac, F.; Leonard-Lorant, I.; Ohana, M.; Delabranche, X.; Merdji, H.; Clere-Jehl, R.; Schenck, M.; et al. High risk of thrombosis in patients with severe SARS-CoV-2 infection: A multicenter prospective cohort study. Intensive Care Med. 2020, 46, 1089–1098. [CrossRef]
78. Hossri, S.; Shadi, M.; Hamarsha, Z.; Schneider, R.; El-Sayegh, D. Clinically significant anticardiolipin antibodies associated with COVID-19. J. Crit. Care 2020, 59, 32–34. [CrossRef]
79. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. Lancet Lond Engl 2020;395:497–506. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5.
80. Iba T, Levy JH, Connors JM, Warkentin TE, Thachil J, Levi M. The unique characteristics of COVID-19 coagulopathy. Crit Care. 2020;24:360.

81. Jason S. Knight, Yogendra Kanthi, Mechanisms of immunothrombosis and vasculopathy in antiphospholipid syndrome, February 2022, Seminars in Immunopathology (2022) 44:347–362
82. JennerWJ, Kanji R, Mirsadraee S, et al. Thrombotic complications in 2928 patients with COVID-19 treated in intensive care: a systematic review. J Thromb Thrombolysis 2021;51(03): 595–607
83. Kaeuffer C, Le Hyaric C, Fabacher T, Mootien J, Dervieux B, Ruch Y, et al. Clinical characteristics and risk factors associated with severe COVID-19: prospective analysis of 1,045 hospitalised cases in North-Eastern France, March 2020. Euro Surveill Bull Eur Sur Mal Transm Eur Commun Dis Bull 2020;25. https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.48.2000895.
84. Kanduc D, Shoenfeld Y. Molecular mimicry between SARS-CoV-2 spike glycoprotein and mammalian proteomes: implications for the vaccine. Immunol Res 2020:1–4. https://doi.org/10.1007/s12026-020-09152-6.
85. Karahan S, Erol K, Yuksel RC, Artan C, Celik I. Antiphospholipid antibodies in COVID-19-associated pneumonia patients in intensive care unit. Mod Rheumatol 2021 (ePub ahead of print). Doi: 10.1080/14397595.2021.1892257 76 Beyrouti R, Adams ME, Benjamin L, et al. Characteristics of ischaemic stroke associated with COVID-19. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2020;91(08):889–891
86. Karahan S, Erol K, Yuksel RC, Artan C, Celik I. Antiphospholipid antibodies in COVID-19-associated pneumonia patients in intensive care unit. Mod Rheumatol. 2021:1–10.
87. Keeling D, Mackie I, Moore GW, Greer IA, Greaves MBritish Committee for Standards in Haematology. Guidelines on the investigation and management of antiphospholipid syndrome. Br J Haematol 2012;157(01):47–58
88. Keller, A.K.; Jorgensen, T.M.; Jespersen, B. Identification of Risk Factors for Vascular Thrombosis May Reduce Early Renal Graft Loss: A Review of Recent Literature. J. Transplant. 2012, 2012, 793461. [CrossRef] [PubMed]
89. Kim, S.-W.; Lee, J.-K. Role of HMGB1 in the Interplay between NETosis and Thrombosis in Ischemic Stroke: A Review. Cells 2020, 9, 1794. [CrossRef]

90. Klok FA, Kruip M, van der Meer NJM, Arbous MS, Gommers D, Kant KM, et al. Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19. Thromb Res. 2020;191:145–7.
91. Kungwankiattichai S, Nakkinkun Y, Owattanapanich W, Ruchutrakool T. High incidence of antiphospholipid antibodies in newly diagnosed patients with lymphoma and a proposed aPL predictive score. Clin Appl Thromb Hemost. 2020;26: 1076029620928392.
92. Kwaan HC. Coronavirus disease 2019: the role of the fibrinolytic system from transmission to organ injury and sequelae. Semin Thromb Hemost 2020;46(07):841–844
93. Lakos G, Favaloro EJ, Harris EN, et al. International consensus guidelines on anticardiolipin and anti-β2-glycoprotein I testing:report fromthe 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Arthritis Rheum 2012;64(01):1–10
94. Lakos, G.; Favaloro, E.J.; Harris, E.N.; Meroni, P.L.; Tincani, A.; Wong, R.C.; Pierangeli, S.S. International consensus guidelines on anticardiolipin and anti-2-glycoprotein I testing: Report from the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Arthritis Rheum. 2011, 64, 1–10. [CrossRef]
95. Larsen JB, Pasalic L, Hvas AM. Platelets in coronavirus disease 2019. Semin Thromb Hemost 2020;46(07):823–825 28 Favaloro EJ, Henry BM, Lippi G. Increased VWF and decreased ADAMTS13 in COVID-19: creating a milieu for (micro)thrombosis? Semin Thromb Hemost 2021; In press
96. Le Joncour A, Frere C, Martin-Toutain I, et al. Antiphospholipid antibodies and thrombotic events in COVID-19 patients hospitalized in medicine ward. Autoimmun Rev 2021;20(02):102729
97. Le Joncour A, Frere C, Martin-Toutain I, Gougis P, Ghillani-Dalbin P, Maalouf G, et al. Antiphospholipid antibodies and thrombotic events in COVID-19 patients hospitalized in medicine ward. Autoimmun Rev 2020;102729. https://doi.org/ 10.1016/j.autrev.2020.102729.

98. Le JoncourA, Frere C,Martin-Toutain I, Gougis P, Ghillani-Dalbin P, Maalouf G, et al. Antiphospholipid antibodies and thrombotic events in COVID-19 patients hospitalized in medicine ward. Autoimmun Rev. 2021;20:102729.
99. Ledford-Kraemer M, Moore GW, Bottenus R, et al. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Laboratory Testing for the Lupus Anticoagulant; Approved Guideline. CLSI document H60-A Wayne, PA: CLSI; 2014
100. Lee KW, Yusof Khan AHK, Ching SM, et al. Stroke and novel coronavirus infection in humans: a systematic review and meta-analysis. Front Neurol 2020;11:579070
101. Lerma LA, Chaudhary A, Bryan A, Morishima C, Wener MH, Fink SL. Prevalence of autoantibody responses in acute coronavirus disease 2019 (COVID-19). J Transl Autoimmun 2020;3:100073
102. Levi M, Thachil J, Iba T, Levy JH. Coagulation abnormalities and thrombosis in patients with COVID-19. Lancet Haematol. 2020;7: e438–40.
103. Levi M, Thachil J. Coronavirus disease 2019 coagulopathy: disseminated intravascular coagulation and thrombotic microangiopathy-either, neither, or both. Semin Thromb Hemost 2020;46 (07):781–784
104. Levi, M.; Iba, T. COVID-19 coagulopathy: Is it disseminated intravascular coagulation? Intern. Emerg. Med. 2020, 16, 309–312. [CrossRef] [PubMed]
105. Li, J.; Kim, K.; Barazia, A.; Tseng, A.; Cho, J. Platelet–neutrophil interactions under thromboinflammatory conditions. Cell. Mol. Life Sci. 2015, 72, 2627–2643. [CrossRef]
106. Lippi G, Sanchis-Gomar F, Favaloro EJ, Lavie CJ, Henry BM. Coronavirus disease 2019-associated coagulopathy. Mayo Clin Proc 2021;96(01):203–217
107. Liu T, Gu J, Wan L, et al. “Non-criteria” antiphospholipid antibodies add value to antiphospholipid syndrome diagnoses in a large Chinese cohort. Arthritis Res Ther 2020;22(01):33 5 Žigon P, Podovšovnik A, Ambrožič A, et al. Added value of noncriteria antiphospholipid antibodies for antiphospholipid syndrome:lessons learned from year-long routine measurements. Clin Rheumatol 2019;38(02):371–378

108. Magro CM, Mulvey J, Kubiak J, Mikhail S, Suster D, Crowson AN, et al. Severe COVID-19: a multifaceted viral vasculopathy syndrome. Ann Diagn Pathol 2021;50:151645. https://doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2020.151645.

109. Manoussakis, M.N.; Tzioufas, A.G.; Silis, M.P.; Pange, P.J.; Goudevenos, J.; Moutsopoulos, H.M. High prevalence of anticardiolipin and other autoantibodies in a healthy elderly population. Clin. Exp. Immunol. 1987, 69, 557–565.

110. Manuel Serrano, Gerard Espinosa, Antonio Serrano and Ricard Cervera, Review, Antigens and Antibodies of the Antiphospholipid Syndrome as New Allies in the Pathogenesis of COVID-19 Coagulopathy,

111. Marchandot, B.; Sattler, L.; Jesel, L.; Matsushita, K.; Schini-Kerth, V.; Grunebaum, L.; Morel, O. COVID-19 Related Coagulopathy: A Distinct Entity? J. Clin. Med. 2020, 9, 1651. [CrossRef]

112. Maximilian Stelzer, Jörg Henes, Sebastian Saur, The Role of Antiphospholipid Antibodies in COVID-19, July 2021

113. McHugh, M.L. Interrater reliability: The kappa statistic. Biochem. Med. 2012, 276–282. [CrossRef]

114. Mendoza-Pinto C, Escarcega RO, Garcia-Carrasco M, Bailey DJO, Galvez-Romero JL, Cervera R. Viral infections and their relationship with catastrophic antiphospholipid syndrome: a possible pathogenic mechanism of severe COVID-19 thrombotic complications. J Intern Med. 2020;288:737–9.

115. Mendoza-Pinto C, Escárcega RO, García-Carrasco M, Bailey DJO, Gálvez-Romero JL, Cervera R. Viral infections and their relationship with catastrophic antiphospholipid syndrome: a possible pathogenic mechanism of severe COVID-19 thrombotic complications. J Intern Med 2020;288(06):737–739

116. Mendoza-Pinto, C.; Escárcega, R.O.; García-Carrasco, M.; Bailey, D.J.; Gálvez-Romero, J.L.; Cervera, R. Viral infections and their relationship with catastrophic antiphospholipid syndrome: A possible pathogenic mechanism of severe COVID-19 thrombotic complications. J. Intern. Med. 2020, 288, 737–739. [CrossRef] [PubMed]

117. Meroni, P.L.; Borghi, M.O.; Raschi, E.; Tedesco, F. Pathogenesis of antiphospholipid syndrome: Understanding the antibodies.Nat. Rev. Rheumatol. 2011, 7, 330–339. [CrossRef] [PubMed]

118. Merrill, J.T.; Erkan, D.;Winakur, J.; James, J.A. Emerging evidence of a COVID-19 thrombotic syndrome has treatment implications. Nat. Rev. Rheumatol. 2020, 16, 581–589. [CrossRef]

119. Metjian A, LimW. ASH evidence-based guidelines: should asymptomatic patients with antiphospholipid antibodies receive primary prophylaxis to prevent thrombosis? Hematology (Am Soc Hematol Educ Program) 2009:247–249

120. Million M, Bardin N, Bessis S, et al. Thrombosis and antiphospholipid antibody syndrome during acute Q fever: a cross-sectional study. Medicine (Baltimore) 2017;96(29):e7578 81 Mendoza-Pinto C, García-Carrasco M, Cervera R. Role of infectious diseases in the antiphospholipid syndrome (including its catastrophic variant). Curr Rheumatol Rep 2018;20(10):62

121. Million, M.; Bardin, N.; Bessis, S.; Nouiakh, N.; Douliery, C.; Edouard, S.; Angelakis, E.; Bosseray, A.; Epaulard, O.; Branger, S.; et al. Thrombosis and antiphospholipid antibody syndrome during acute Q fever. Medicine 2017, 96, e7578. [CrossRef]

122. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J Thromb Haemost. 2006;4:295–306.

123. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J Thromb Haemost 2006;4 (02):295–306

124. Miyakis, S.; Lockshin, M.D.; Atsumi, T.; Branch, D.W.; Brey, R.L.; Cervera, R.; Derksen, R.H.W.M.; De Groot, P.G.; Koike, T.; Meroni, P.L.; et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J. Thromb. Haemost. 2006, 4, 295–306. [CrossRef] [PubMed]

125. Molinari, A.C.; Banov, L.; Bertamino, M.; Barabino, P.; Lassandro, G.; Giordano, P. A Practical Approach to the Use of Low Molecular Weight Heparins in VTE Treatment and Prophylaxis in Children and Newborns. Pediatr. Hematol. Oncol. 2014, 32, 1–10. [CrossRef]

126. Morales, J.M.; Serrano, M.; Martínez-Flores, J.A.; Pérez, D.; Castro, M.J.; Sánchez, E.; García, F.; Rodríguez-Antolín, A.; Alonso, M.; Gutierrez, E.; et al. The Presence of Pretransplant Antiphospholipid Antibodies IgA Anti--2-Glycoprotein I as a Predictor of Graft Thrombosis After Renal Transplantation. Transplant. 2017, 101, 597–607. [CrossRef]

127. Mustonen P, Lehtonen KV, Javela K, Puurunen M. Persistent antiphospholipid antibody (aPL) in asymptomatic carriers as a risk factor for future thrombotic events: a nationwide prospective study. Lupus 2014;23(14):1468–1476

128. Nakano, H.; Shiina, K.; Tomiyama, H. Cardiovascular Outcomes in the Acute Phase of COVID-19. Int. J. Mol. Sci. 2021, 22, 4071. [CrossRef] [PubMed]

129. Naranjo, L.; Ostos, F.; Gil-Etayo, F.J.; Hernández-Gallego, J.; Cabrera-Marante, Ó.; Pleguezuelo, D.E.; Díaz-Simón, R.; Cerro, M.; Lora, D.; Martínez-Salio, A.; et al. Presence of Extra-Criteria Antiphospholipid Antibodies Is an Independent Risk Factor for Ischemic Stroke. Front. Cardiovasc. Med. 2021, 8, 360. [CrossRef]

130. Noureldine MHA, Nour-Eldine W, Khamashta MA, Uthman I. Insights into the diagnosis and pathogenesis of the antiphospholipid syndrome. Semin Arthritis Rheum 2019;48:860–6. https://doi.org/10.1016/j.semarthrit.2018.08.004.

131. Novelli L, Motta F, De Santis M, Ansari AA, Gershwin ME, Selmi C. The JANUS of chronic inflammatory and autoimmune diseases onset during COVID-19 - a systematic review of the literature. J Autoimmun 2021;117:102592

132. Ortega-Paz, L.; Capodanno, D.; Montalescot, G.; Angiolillo, D.J. Coronavirus Disease 2019–Associated Thrombosis and Coagulopathy: Review of the Pathophysiological Characteristics and Implications for Antithrombotic Management. J. Am. Heart Assoc.2021, 10, e019650. [CrossRef]

133. Pascolini S, Vannini A, Deleonardi G, et al. COVID-19 and immunological dysregulation: can autoantibodies be useful? ClinTransl Sci 2021;14(02):502–508

134. Pavla Bradacova, Ludek Slavik, Jana Ulehlova, Adela Skoumalova, Jana Ullrychova, Jana Prochazkova, Antonin Hlusi, Gayane Manukyan and Eva Kriegova, Current Promising Biomarkers and Methods in the Diagnostics of αntiphospholipid Syndrome: A Review, Biomedicines, 2021, 9, 166

135. Pavoni V, Gianesello L, and Horton A. Antiphospholipid antibodies in critically ill COVID-19 patients with thromboembolism: cause of disease or epiphenomenon? J Thromb Thrombolysis 2021.

136. Pengo V, Ruffatti A, Legnani C, et al. Incidence of a first thromboembolic event in asymptomatic carriers of high-risk antiphospholipid antibody profile: a multicenter prospective study. Blood 2011;118(17):4714–4718

137. Pengo V, Tripodi A, Reber G, Rand JH, Ortel TL, Galli M, et al. Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. Subcommittee on lupus anticoagulant/antiphospholipid antibody of the scientific and standardisation committee of the international society on thrombosis and haemostasis. J Thromb Haemost JTH 2009;7:1737–40. https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2009.03555.x.

138. Pengo V, Tripodi A, Reber G, Rand JH, Ortel TL, Galli M, et al. Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibody of the Scientific and Standardisation Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. J Thromb Haemost. 2009;7:1737–40.

139. Pérez, D.; Martínez-Flores, J.A.; Serrano, A.; Lora, D.; Paz-Artal, E.; Morales, J.M. Evaluation of three fully automated immunoassay systems for detection of IgA anti-beta 2-glycoprotein I antibodies. Int. J. Lab. Hematol. 2016, 38, 560–568. [CrossRef] [PubMed]

140. Pérez, D.; Tincani, A.; Serrano, M.; Shoenfeld, Y.; Serrano, A. Antiphospholipid syndrome and IgA anti-beta2-glycoprotein I antibodies: When Cinderella becomes a princess. Lupus 2017, 27, 177–178. [CrossRef]

141. Pericleous C, Ferreira I, Borghi O, Pregnolato F, McDonnell T, Garza-Garcia A, et al. Measuring IgA anti-beta2-glycoprotein I and IgG/IgA anti-domain I antibodies adds value to current serological assays for the antiphospholipid syndrome. PLoS One. 2016;11:e0156407.

142. Pierangeli SS, de Groot PG, Dlott J, et al. 'Criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, Texas, April 2010. Lupus 2011;20(02):182–190

143. Pineton de Chambrun M, Frere C, Miyara M, Amoura Z, Martin-Toutain I, Mathian A, et al. High frequency of antiphospholipid antibodies in critically ill COVID-19 patients: a link with hypercoagulability? J Intern Med 2020. https://doi.org/10.1111/joim.13126.

144. Pineton de Chambrun M, Frere C, Miyara M, Amoura Z, Martin-Toutain I, Mathian A, et al. High frequency of antiphospholipid antibodies in critically ill COVID-19 patients: a link with hypercoagulability? J Intern Med 2020.

145. Pineton de Chambrun M, Frere C, Miyara M, et al. High frequency of antiphospholipid antibodies in critically ill COVID-19 patients: a link with hypercoagulability? J Intern Med 2021;289(03): 422–424

146. Platton S, Bowles L, Pasi KJ. Lupus anticoagulant in patients with Covid-19. Reply N Engl J Med 2020;383:1893–4. https://doi.org/10.1056/NEJMc2027508.

147. Popovic B, Varlot J, Metzdorf PA, Jeulin H, Goehringer F, Camenzind E. Changes in characteristics and management among patients with ST-elevation myocardial infarction due to COVID-19 infection. Catheter Cardiovasc Interv 2021;97(03): E319–E326

148. Previtali G, Seghezzi M, Moioli V, et al. The pathogenesis of thromboembolic disease in covid-19 patients: could be a catastrophic antiphospholipid syndrome? Thromb Res 2020; 194:192–194

149. Previtali G, Seghezzi M, Moioli V, Sonzogni A, Cerutti L,Marozzi R, et al. The pathogenesis of thromboembolic disease in COVID-19 patients: could be a catastrophic antiphospholipid syndrome? Thromb Res. 2020;194:192–4.

150. R, et al. Frequency and clinical correlates of antiphospholipid antibodies arising in patients with SARS-CoV-2 infection: findings from a multicentre study on 122 cases. Clin Exp Rheumatol. 2020;38:754–9.

151. Radic M, Pattanaik D. Cellular and molecular mechanisms of antiphospholipid syndrome. Front Immunol. 2018;9:969.

152. Reyes Gil M, Barouqa M, Szymanski J, Gonzalez-Lugo JD, Rahman S, Billett HH. Assessment of lupus anticoagulant positivity in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19). JAMA Netw Open 2020;3:e2017539. https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2020.17539.

153. Reyes Gil M, Barouqa M, Szymanski J, Gonzalez-Lugo JD, Rahman S, Billett HH. Assessment of lupus anticoagulant positivity in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19). JAMA Netw Open 2020;3(08):e2017539

154. Reyes Gil M, Barouqa M, Szymanski J, Gonzalez-Lugo JD, Rahman S, Billett HH. Assessment of lupus anticoagulant positivity in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19). JAMA Netw Open. 2020;3:e2017539.

155. Rossella Talotta, Erle S. Robertson, Antiphospholipid antibodies and risk of post-COVID-19 vaccination thrombophilia: The straw that breaks the camel's back? Elsevier, May 2021

156. Rothstein A, Oldridge O, Schwennesen H, Do D, Cucchiara BL. Acute cerebrovascular events in hospitalized COVID-19 patients. Stroke 2020;51(09):e219–e222

157. Schouwers, S.M.; Delanghe, J.R.; Devreese, K.M. Lupus Anticoagulant (LAC) testing in patients with inflammatory status: Does C-reactive protein interfere with LAC test results? Thromb. Res. 2010, 125, 102–104. [CrossRef]

158. Schulman S. Coronavirus disease 2019, prothrombotic factors, and venous thromboembolism. Semin Thromb Hemost 2020;46 (07):772–776

159. Sciascia S, Lopez-Pedrera C, Roccatello D, Cuadrado MJ. Catastrophic antiphospholipid syndrome (CAPS). Best Pract Res Clin Rheumatol. 2012;26:535–41.

160. Sciascia, S.; Amigo, M.-C.; Roccatello, D.; Khamashta, M. Diagnosing antiphospholipid syndrome: 'extra-criteria' manifestations and technical advances. Nat. Rev. Rheumatol. 2017, 13, 548–560. [CrossRef] [PubMed]

161. Sene D, Piette JC, Cacoub P. Antiphospholipid antibodies, antiphospholipid syndrome and viral infections. Rev Med Interne. 2009;30:135–41.

162. Serrano, M.; Espinosa, G.; Lalueza, A.; Bravo-Gallego, L.Y.; Diaz-Simón, R.; Bs, S.G.; Bs, J.G.; Moises, J.; Bs, L.N.; Prieto-González, S.; et al. Beta-2-Glycoprotein-I Deficiency Could Precipitate an Antiphospholipid Syndrome-like Prothrombotic Situation in Patients With Coronavirus Disease 2019. ACR Open Rheumatol. 2021, 3, 267–276. [CrossRef] [PubMed]

163. Shi, W.; Krilis, S.A.; Chong, B.H.; Gordon, S.; Chesterman, C.N. Prevalence of lupus anticoagulant and anticardiolipin antibodies in a healthy population. Aust. N. Z. J. Med. 1990, 20, 231–236. [CrossRef] [PubMed] Biomedicines 2021, 9, 899 15 of 16

164. ShiH, Zuo Y, Gandhi AA, et al. Endothelial cell-activating antibodies in COVID-19. [preprint]. 2021 Doi: 10.1101/2021.01.18.21250041 74 Hamadé A, Woehl B, Harzallah I, Talbot M, Tousch J, Jambert L. Antiphospholipid antibodies in patients with coronavirus disease 2019 infection hospitalized in conventional unit. Blood Coagul Fibrinolysis 2021;32(02):73–79

165. Shoenfeld Y, Blank M, Cervera R, Font J, Raschi E, Meroni P. Infectious origin of the antiphospholipid syndrome*. Ann Rheum Dis 2006;65:2–6. https://doi.org/10.1136/ard.2005.045443.

166. Siguret V, Voicu S, Neuwirth M, Delrue M, Gayat E, St´epanian A, et al. Are antiphospholipid antibodies associated with thrombotic complications in critically ill COVID-19 patients? Thromb Res 2020;195:74–6. https://doi.org/10.1016/j.thromres.2020.07.016.

167. Siguret V, Voicu S, Neuwirth M, et al. Are antiphospholipid antibodies associated with thrombotic complications in critically ill COVID-19 patients? Thromb

Res 2020;195:74–76 45 Fan S, XiaoM, Han F, et al. Neurological manifestations in critically ill patients with COVID-19: a retrospective study. Front Neurol 2020;11:806

168. Siguret, V.; Voicu, S.; Neuwirth, M.; Delrue, M.; Gayat, E.; Stépanian, A.; Mégarbane, B. Are antiphospholipid antibodies associated with thrombotic complications in critically ill COVID-19 patients? Thromb. Res. 2020, 195, 74–76. [CrossRef] [PubMed]

169. Stark, K.; Massberg, S. Interplay between inflammation and thrombosis in cardiovascular pathology. Nat. Rev. Cardiol. 2021, 1–17. [CrossRef]

170. Taha, M.; Samavati, L. Antiphospholipid antibodies in COVID-19: A meta-analysis and systematic review. RMD Open 2021, 7, e001580. [CrossRef] [PubMed]

171. Tan YK, Goh C, Leow AST, et al. COVID-19 and ischemic stroke: a systematic review and meta-summary of the literature. J Thromb Thrombolysis 2020;50(03):587–595

172. Tan, L.; Wang, Q.; Zhang, D.; Ding, J.; Huang, Q.; Tang, Y.; Wang, Q.; Miao, H. Lymphopenia predicts disease severity of COVID-19: A descriptive and predictive study. Signal Transduct. Target. Ther. 2020, 5, 33. [CrossRef]

173. Thachil J, Srivastava A. SARS-2 Coronavirus-Associated Hemostatic Lung Abnormality In COVID-19: is it pulmonary thrombosis or pulmonary embolism? Semin Thromb Hemost 2020;46(07): 777–780

174. Tkachenko O, Lapin S, Mazing A, et al. Profiling of non-criteria antiphospholipid antibodies in patients with SLE: differentiation of thrombotic SLE patients and risk of recurrence of thrombosis. Lupus 2020;29(05):490–498

175. Trahtemberg U, Rottapel R, Dos Santos CC, Slutsky AS, Baker A, Fritzler MJ. Anticardiolipin and other antiphospholipid antibodies in critically ill COVID-19 positive and negative patients. Ann Rheum Dis. 2021:annrheumdis-2021-220206.

176. Tu TM, Goh C, Tan YK, et al. Cerebral venous thrombosis in patients with COVID-19 infection: a case series and systematic review. J Stroke Cerebrovasc Dis 2020;29(12):105379

177. Tvito A, Ben-Chetrit E, Zimmerman FS, Asher E, Helviz Y. Lupus anticoagulant in patients with COVID-19. Int J Lab Hematol 2021; 43(01):e17–e18

178. Uaprasert N, Moonla C, Sosothikul D, Rojnuckarin P, Chiasakul T. Systemic coagulopathy in hospitalized patients with coronavirus disease 2019: a systematic review and meta-analysis. Clin Appl Thromb Hemost 2021;27:1076029620987629

179. Uthman IW, Gharavi AE. Viral infections and antiphospholipid antibodies. Semin Arthritis Rheum. 2002;31:256–63.

180. Vadasz, Z.; Haj, T.; Kessel, A.; Toubi, E. Age-related autoimmunity. BMC Med. 2013, 11, 94. [CrossRef] [PubMed]

181. Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. Lancet 2020;395(10234):1417–1418

182. Vollmer, O.; Tacquard, C.; Dieudonné, Y.; Nespola, B.; Sattler, L.; Grunebaum, L.; Gies, V.; Radosavljevic, M.; Kaeuffer, C.;Hansmann, Y.; et al. Follow-up of COVID-19 patients: LA is transient but other aPLs are persistent. Autoimmun. Rev. 2021, 20, 102822. [CrossRef] [PubMed]

183. Wichmann D, Sperhake JP, Lütgehetmann M, et al. Autopsy findings and venous thromboembolism in patients with COVID-19: a prospective cohort study. Ann Intern Med 2020;173(04):268–277

184. Woodruff MC, Ramonell RP, Lee FE, Sanz I. Broadly-targeted autoreactivity is common in severe SARS-CoV-2 infection. [preprint]. 2020 Doi: 10.1101/2020.10.21.20216192

185. Wu, C.; Chen, X.; Cai, Y.; Xia, J.; Zhou, X.; Xu, S.; Huang, H.; Zhang, L.; Zhou, X.; Du, C.; et al. Risk Factors Associated with Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients with Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China. JAMA Intern. Med. 2020, 180, 934. [CrossRef]

186. Wu, H.; Li, R.; Pei, L.-G.; Wei, Z.-H.; Kang, L.-N.; Wang, L.; Xie, J.; Xu, B. Emerging Role of High Mobility Group Box-1 in Thrombosis-Related Diseases. Cell. Physiol. Biochem. 2018, 47, 1319–1337. [CrossRef] [PubMed]

187. Xiao M, Zhang Y, Zhang S, et al. Antiphospholipid antibodies in critically ill patientswith COVID-19. Arthritis Rheumatol 2020;72 (12):1998–2004

188. Xiao M, Zhang Y, Zhang S, Qin X, Xia P, Cao W, et al. Antiphospholipid antibodies in critically ill patients with COVID-19. Arthritis Rheumatol. 2020;72:1998–2004.

189. Xiao, M.; Zhang, Y.; Zhang, S.; Qin, X.; Xia, P.; Cao, W.; Jiang, W.; Chen, H.; Ding, X.; Zhao, H.; et al. Antiphospholipid Antibodies in Critically Ill Patients with COVID-19. Arthritis Rheumatol. 2020, 72, 1998–2004. [CrossRef]

190. Yasri S, Wiwanitkit V. COVID-19, antiphospholipid syndrome and thrombosis. Clin Appl ThrombHemost 2020;26:1076029620931927

191. Yelnik CM, Urbanski G, Drumez E, et al. Persistent triple antiphospholipid antibody positivity as a strong risk factor of first thrombosis, in a long-term follow-up study of patients without history of thrombosis or obstetrical morbidity. Lupus 2017;26 (02):163–169

192. Zhang Y, Cao W, Jiang W, et al. Profile of natural anticoagulant, coagulant factor and anti-phospholipid antibody in critically ill COVID-19 patients. J Thromb Thrombolysis 2020;50(03): 580–586

193. Zhang Y, Xiao M, Zhang S, et al. Coagulopathy and antiphospholipid antibodies in patients with Covid-19. N Engl J Med 2020;382 (17):e38

194. Zhang, Y.; Xiao, M.; Zhang, S.; Xia, P.; Cao, W.; Jiang, W.; Chen, H.; Ding, X.; Zhao, H.; Zhang, H.; et al. Coagulopathy and Antiphospholipid Antibodies in Patients with COVID-19. N. Engl. J. Med. 2020, 382, e38. [CrossRef] [PubMed]

195. Zohoury N, BertolacciniML, Rodriguez-Garcia JL, et al. Closing the serological gap in the antiphospholipid syndrome: the value of “non-criteria” antiphospholipid antibodies. J Rheumatol 2017;44 (11):1597–1602

196. Zuo Y, Estes SK, Ali RA, et al. Prothrombotic autoantibodies in serum from patients hospitalized with COVID-19. Sci Transl Med 2020;12(570):eabd3876

197. Zuo Y, Estes SK, Ali RA, Gandhi AA, Yalavarthi S, Shi H, et al. Prothrombotic autoantibodies in serum from patients hospitalized with COVID-19. Sci Transl Med 2020. https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abd3876.

198. Zuo Y, Estes SK, Gandhi AA, Yalavarthi S, Ali RA, Shi H, et al. Prothrombotic antiphospholipid antibodies in COVID-19. medRxiv 2020.

199. Zuo, Y.; Estes, S.K.; Ali, R.A.; Gandhi, A.A.; Yalavarthi, S.; Shi, H.; Sule, G.; Gockman, K.; Madison, J.A.; Zuo, M.; et al. Prothrombotic autoantibodies in serum from patients hospitalized with COVID-19. Sci. Transl. Med. 2020, 12, eabd3876. [CrossRef]