

Nuevas estrategias en el tratamiento del síndrome antifosfolípido

SEBASTIÁN IBÁÑEZ, MIRENTXU IRURETAGOYENA,
MIGUEL A. GUTIÉRREZ

New alternatives for the treatment of antiphospholipid syndrome. A literature review

For years the mainstay of antiphospholipid syndrome treatment has been anticoagulation and antiplatelet therapy, but the autoimmune nature of the disease, and complications of these therapies, created the need to develop new therapeutic strategies. New therapeutic alternatives inhibit at different levels, the cascade of events leading to the pro-thrombotic state characteristic of the antiphospholipid syndrome. We conducted a literature review of these new treatments, focusing on the pathophysiological bases that support them and their possible clinical applications. (Rev Med Chile 2013; 141: 1041-1048).

Key words: Antiphospholipid syndrome; Hydroxychloroquine, Hydroxymethylglutaryl-CoA Reductase Inhibitors; Therapies, investigational.

El síndrome antifosfolípido (SAF) es una enfermedad autoinmune caracterizada por trombosis (venosa y/o arterial), y/o pérdidas fetales recurrentes, asociada con la presencia de anticuerpos antifosfolípidos (aPL). La prevalencia de la enfermedad es desconocida, esto debido en parte a múltiples cambios en los criterios diagnósticos. En lupus eritematoso sistémico (LES), 30 a 40% de los pacientes presentan aPL, y un tercio de estos (10 a 15% de los pacientes con LES en general) tienen manifestaciones clínicas de SAF¹.

Los aPL son autoanticuerpos dirigidos contra epítopes en proteínas plasmáticas, que se generan por la unión de estas proteínas a fosfolípidos. Los tres aPL más importantes son el anticoagulante lúpico, los anticuerpos anti-cardiolipina, y los anticuerpos anti-B2 glicoproteína I (B2GPI)². La B2GPI es un inhibidor natural de la coagulación y de la agregación plaquetaria. Al unirse a fosfolípidos con carga negativa inhibe la activación por contacto de la cascada de la coagulación, y también la conversión de protrombina a trombina. Es el principal blanco de los aPL³.

La enfermedad se puede clasificar como SAF primario, o secundario cuando se asocia a otras

enfermedades autoinmunes, principalmente LES. El SAF primario es la causa más común de trombofilia adquirida y da cuenta de: 10 a 15% de todos los episodios de trombosis venosa profunda (TVP), con o sin embolia pulmonar; de un tercio de los nuevos accidentes cerebrovasculares en pacientes menores de 50 años; y de 10 a 15% de las mujeres con pérdidas fetales recurrentes. La prevalencia estimada de TVP asociada a SAF primario es 0,3 a 1% de la población general⁴.

Actualmente, no existe tratamiento curativo para el SAF, pero el estado protrombótico provocado por los aPL ha motivado que el pilar del tratamiento sea la anticoagulación y los antiagregantes plaquetarios. A pesar de que los pacientes lleven bien su tratamiento la recurrencia de eventos trombóticos y la presencia de complicaciones obstétricas y hemorrágicas no son raras⁵. El desarrollo de terapias más efectivas y con menos complicaciones es una necesidad actual para este síndrome.

La comprensión de la fisiopatología de la enfermedad ha progresado mucho desde la década 1990-99 gracias a modelos animales (inmunización de ratones con aPL) y el conocimiento

Departamento de Inmunología Clínica y Reumatología, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Recibido el 21 de junio de 2012, aceptado el 9 de octubre de 2012.

Correspondencia a:
Dr. Miguel Gutiérrez
Departamento de Inmunología Clínica y Reumatología
Pontificia Universidad Católica de Chile.
Marcoleta 350, Santiago, Chile.
Teléfono: 23543078
E-mail: gutierre@med.puc.cl

obtenido de la interacción entre aPL y distintos componentes de la coagulación y del endotelio⁶. Además se ha demostrado que la inflamación es fundamental en el desarrollo de la enfermedad.

Se ha propuesto el siguiente mecanismo de trombosis mediada por aPL (Figura 1): la membrana celular está compuesta por fosfolípidos fosfatidilcolina neutros, y fosfolípidos fosfatidilserina con carga negativa que migran a la capa externa durante la activación o apoptosis de plaquetas y células endoteliales. La B2GPI dimérica normalmente se une a fosfatidilserina por receptores como anexina A2 o receptores tipo Toll (TLR), inhibiendo la activación de la cascada de la coagulación de células endoteliales. Los aPL se unen a B2GPI, interfiriendo con su función y activando el sistema de complemento (C'), induciendo la expresión de C5a que a su vez induce la expresión de moléculas de adhesión (ICAM-1), de citoquinas (IL-1, IL-6, IL-8) y de factor tisular (FT). También se activan monocitos, polimorfonucleares (PMN) y plaquetas, lo que resulta en la liberación de

mediadores proinflamatorios, y generación de un estado protrombótico. Además, actualmente se sabe que p38 *mitogen activated protein kinase* (p38 MAPK) (proteína fundamental para la respuesta celular al estrés) y el factor nuclear kB (NFκB) (factor de transcripción fundamental en procesos de activación, proliferación, etc.) tienen un rol importante en la cascada de señales intracelulares que llevan a la activación y adhesión de plaquetas, al aumento de expresión de FT y a la liberación de citoquinas⁷.

Gracias al reconocimiento de estos componentes del mecanismo de trombosis en el SAF se han podido elaborar diferentes estrategias para inhibir el efecto de aPL a distintos niveles de acción. Discutiremos el avance de estos estudios y su potencial aplicación clínica. Para esto realizamos una revisión selectiva de las publicaciones indizadas en PubMed, sin carácter de revisión sistemática ni metaanálisis. Se incluyeron trabajos relacionados con la fisiopatología y el tratamiento del SAF publicados en la base de datos Medline.

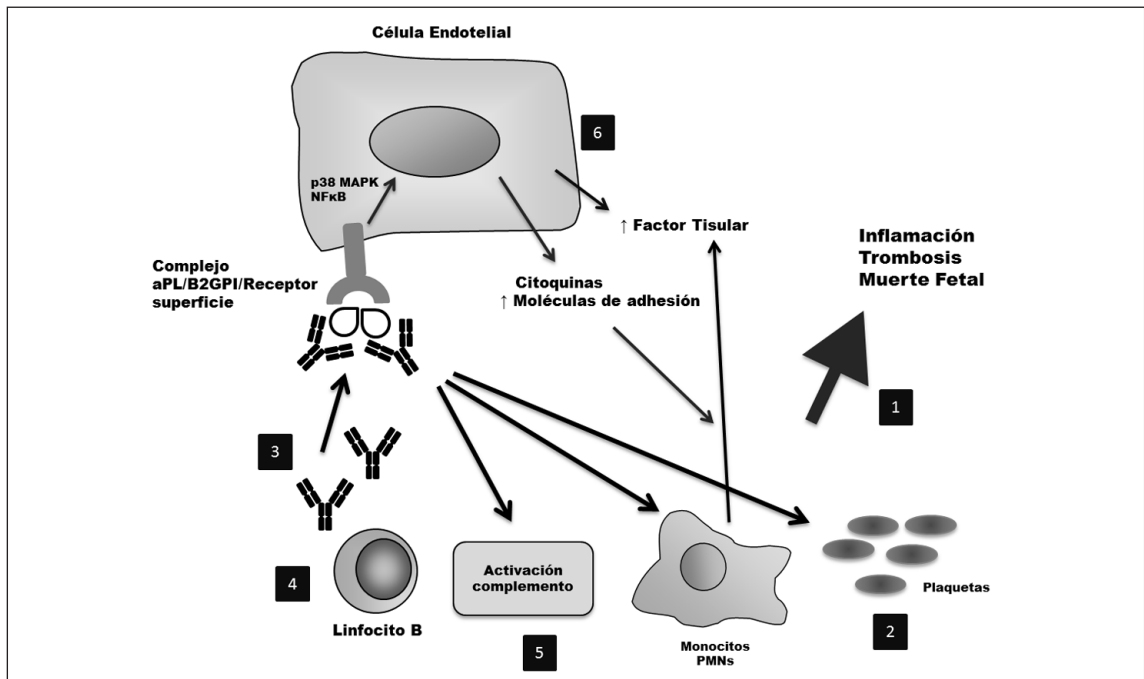


Figura 1. Mecanismos de trombosis mediada por aPL y etapas (números) en las que el efecto de aPL puede ser inhibido. 1) Anticoagulación; 2) Antiagregación plaquetaria; 3) Aumento de clearance de aPL; 4) Inhibición de células B; 5) Inhibición de la activación de complemento inducida por aPL; 6) Inhibición de activación de célula endotelial y/o sobreexpresión de FT inducida por aPL. Abreviaciones: aPL, anticuerpos antifosfolípido; B2GPI, B2-glicoproteína -I; CK, citoquinas; FT, factor tisular; MA, moléculas de adhesión; MN, mononuclear; NFκB, factor nuclear kB; p38MAPK, p38 kinasa activada por mitógeno; PMN, polimorfonuclear; PLT, plaquetas.

Estatinas

Estudios sugieren que las estatinas pueden afectar la proliferación y migración del músculo liso, la activación de monocitos, la síntesis de citoquinas y la expresión de FT⁸.

Primero Meroni y cols. demostraron que las estatinas inhiben la activación endotelial mediada por aPL, al observar una disminución dosis dependiente mediada por fluvastatina de la adhesión de monocitos a células endoteliales de vena umbilical humana (HUVEC) incubadas con LPS, IL-1B, TNF α e IgG antiB2GPI. Fluvastatina también redujo la expresión de selectina E y de moléculas de adhesión intercelular 1 (ICAM-1). El mevalonato suprimió el efecto de la fluvastatina, lo que sugiere que el efecto está mediado por la inhibición de la enzima hidroximetilglutaril coenzima A reductasa (HMG-CoA). Fluvastatina también inhibió la unión de NF- κ B al ADN y la expresión de mRNA de IL-6 luego de una estimulación de células HUVEC con TNF α o IgG antiB2GPI⁸.

Luego Ferrara y cols. demostraron *in vivo* los efectos de la fluvastatina. Ratas CD-1 fueron tratadas con IgG de pacientes con SAF, con o sin fluvastatina. No hubo diferencias de los niveles de aCL pero fluvastatina disminuyó en forma significativa el tamaño de los trombos, la adhesión de leucocitos al endotelio y los niveles de sICAM-1⁹. Fluvastatina también inhibe el aumento de expresión de FT provocado por aPL en células endoteliales¹⁰.

Un estudio reciente midió, en el suero de 93 pacientes con SAF y 60 controles, los niveles del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), FT, TNF α , sICAM-1, sE-selectina, PCR, sVCAM-1. Además en 9 pacientes con SAF se midió lo mismo el día de inicio de fluvastatina y a los 30 días de uso (40 mg al día). TNF α , FT y VEGF estaban elevados en los pacientes con SAF, y fluvastatina redujo significativamente estos marcadores en la mayoría de los pacientes que fueron tratados¹¹.

De manera similar un estudio con 42 pacientes con SAF y 35 sujetos sanos tratados con fluvastatina 20 mg al día por 1 mes mostró reducción significativa de la expresión de FT y VEGF en monocitos, lo que se relacionó con la disminución de la fosforilación de p38 MAPK y de la unión de NF κ B al DNA¹². Estos resultados sugieren que el uso de estatinas como terapia adyuvante podría ser útil en pacientes con SAF, pero faltan estudios

de calidad que evalúen si su uso disminuye los eventos trombóticos en estos pacientes.

Rituximab

Se ha propuesto que las células B están involucradas en las manifestaciones clínicas del SAF. Estas son necesarias para el inicio de enfermedades relacionadas a autoanticuerpos, como productoras de autoanticuerpos, moduladoras de señales y presentadoras de autoantígenos¹³.

Kahn y cols. demostraron que al bloquear el factor de supervivencia de células B (BAFF) en un modelo animal, mediante inmunoglobulinas que bloquean su receptor, se puede prevenir algunas manifestaciones de la enfermedad, retardar el inicio de la enfermedad y prolongar la sobrevida. En los ratones tratados, los bazo eran más pequeños, con menos células B y T, activadas y de memoria. No previno el desarrollo de anticuerpos anti-cardiolipina, y sólo produjo retraso modesto de trombocitopenia, pero sí hubo significativamente menos nefritis e infartos miocárdicos¹⁴. Este estudio apoyó la creencia que las células B juegan un rol importante en la patogénesis de la enfermedad.

Existen casos aislados reportados de uso exitoso de rituximab, principalmente en SAF catastrófico¹⁵. En el estudio RITAPS se trataron con rituximab 20 pacientes con manifestaciones resistentes a anticoagulación. A fines de 2012 se esperan resultados. El *outcome* primario es seguridad¹⁶.

Todavía no existe suficiente evidencia para recomendar rituximab en SAF, pero pronto podríamos tener resultados que nos permitirán sustentar una recomendación.

Hidroxicloroquina (HCQ)

La HCQ fue utilizada en las décadas 1970-79 y 1980-89 como profilaxis de trombosis venosa profunda en postoperatorio de cirugías ortopédicas por su capacidad para disminuir la viscosidad sanguínea y la agregación plaquetaria^{17,18}. Se reportaron resultados negativos, principalmente en cirugía de cadera, y finalmente se dejó de utilizar^{19,20}. En la década 1990-99 renace el interés por HCQ, con la publicación de un estudio, en un modelo animal de SAF, donde la HCQ redujo el tamaño del trombo. Este efecto fue dosis dependiente²¹.

En el año 2002 se publicó un estudio donde se evaluó un grupo de pacientes con SAF (con eventos tromboticos) y pacientes con LES portadores asintomáticos de aPL. Mediante un análisis de regresión logística se demostró que si los pacientes tomaban HCQ o aspirina disminuía la probabilidad de presentar un evento trombotico²².

Rand y cols. demostraron en el 2008, mediante elipsometría y microscopia de fuerza atómica (AFM), que la HCQ inhibía directamente la formación de complejos inmunes IgGaPL-B2GPI en la bicapa de fosfolípidos y disminuía significativamente los niveles de aPL, en forma dosis dependiente²³.

Recientemente, se publicó un nuevo efecto de HCQ, sobre anexina A5 (AnxA5). AnxA5 es una potente proteína anticoagulante que se cristaliza sobre la bicapa de fosfolípidos bloqueando su disponibilidad para reacciones de coagulación. La unión de AnxA5 a la bicapa se altera por aPL, favoreciendo la aparición de trombosis y abortos. HCQ revirtió el efecto de los aPL, aumentando la actividad anticoagulante de AnxA5 en plasma de pacientes con SAF²⁴. En el año 2011 se publicó evidencia de este mismo efecto en el sincitiotrofoblasto, donde la HCQ redujo la unión de aPL al sincitiotrofoblasto y restauró la expresión de AnxA5²⁵.

En el ámbito clínico sólo existe evidencia de calidad moderada de efecto benéfico de HCQ sobre trombosis en pacientes con LES, resultados no necesariamente aplicables a pacientes con SAF²⁶.

A pesar de esto, y dado la evidencia del efecto de HCQ sobre los procesos tromboticos, y su buen perfil de seguridad, parece razonable recomendar su uso para prevenir trombosis en pacientes con SAF.

Inhibición de la sobrerregulación de factor tisular (FT)

En 1997 se publicó uno de los primeros estudios en pacientes sobre el rol del FT en SAF. En pacientes con SAF, con y sin trombosis y en controles sin SAF, con y sin trombosis, se midió la expresión de FT en monocitos. Esta fue mayor en el grupo con SAF y trombosis. Esto se relacionaba con la presencia de anticuerpos IgG anticardiolipina^{27,28}.

Dado que los monocitos sintetizan FT y contienen varios componentes del sistema renina

angiotensina se investigó un posible efecto de inhibidores de enzima convertidora de angiotensina (IECAs) sobre la expresión de FT. Cultivaron monocitos de pacientes sanos con endotoxina en presencia de diferentes IECAs. Captopril redujo la expresión de FT en la membrana en 60% aproximadamente luego del estímulo con endotoxina. Otros IECAs y losartán tuvieron el mismo efecto. El aumento de niveles de mRNA de FT, mediado por endotoxinas, fue inhibido por captopril, junto con la translocación de NF- κ B al núcleo y su unión a la región promotora del gen de FT²⁹.

Para investigar el efecto en SAF de dilazep y dipiridamol, ambos antiagregantes plaquetarios, cultivos primarios de monocitos fueron estimulados con LPS, IgG SAF, e IgG de paciente sanos, y se observó un aumento de actividad de FT y de la expresión de mRNA de FT en los 2 primeros casos. Esto fue inhibido por dilazep y dipiridamol, de forma dosis dependiente. No tienen efecto sobre el aumento de niveles de mRNA de FT, a diferencia de captopril, por lo que el bloqueo de la expresión de FT es post transcripcional³⁰.

Para poder entregar una recomendación mejor sustentada sobre el uso de estos agentes en pacientes con SAF se requieren estudios *in vivo*.

Inhibición de complemento

La activación de complemento parece ser requisito integral para la activación de elementos celulares blancos de aPL. Esto fue demostrado por un estudio de Fischetti y cols., quienes purificaron IgG aPL de pacientes con SAF, e inyectaron LPS intraperitoneal a ratas, 3 h antes de tratarlas con las IgG purificadas. Esto indujo la formación de trombos, lo que no sucedió si las IgG purificadas eran depletadas de anti-B2GPI. Cuando se repitió el experimento en ratas deficientes en C6 no se formaron trombos. Al inhibir la función de C5 también se inhibió la trombosis, por lo tanto, se concluyó que la presencia de C5 y C6 es necesaria para la formación de trombos luego de la estimulación con IgG aPL³¹. Además, se demostró que la activación de C3 también es necesaria para la trombofilia mediada por aPL al comparar el efecto de IgG de SAF en ratas wild type (WT) y en ratas deficientes de C3 y C5, las que formaron trombos de menor tamaño³².

Estos estudios demuestran el importante rol

del complemento en el SAF, y es un área de investigación interesante para el desarrollo de terapias futuras.

Antagonistas del TNF- α

Berman y cols. evaluaron el rol de TNF α en complicaciones del embarazo provocadas por aPL en un modelo animal de SAF. Mostraron que aPL tienen como blanco la decidua y que causan un rápido aumento de los niveles locales y sistémicos de TNF α . Las ratas deficientes en TNF α , o en las que se bloqueó este factor, presentaron menos pérdidas fetales. También observaron que en ratas deficientes en C5 no aumentaron los niveles de TNF α al tratarlas con aPL. Esto sugirió que TNF α tiene rol patogénico en SAF³³.

Blanky cols. vacunaron ADN codificante de TNF α a ratas con SAF experimental inducido por B2GPI. Esto resultó en la generación de memoria inmunológica para el producto génico de la vacuna, con aumento de anticuerpos anti TNF α circulantes. La fracción enriquecida de IgG de anticuerpos anti-TNF α de estos ratones fue biológicamente activa, ya que previno la activación de células endoteliales por TNF α , de manera similar a anti-TNF α comercial, medido por el porcentaje de inhibición de adhesión de monocitos. Ratas inmunizadas con B2GPI, vacunadas con ADN de TNF α en etapa temprana de la enfermedad, mostraron disminución de títulos de anticuerpos anti-B2GPI circulantes. Esto se siguió de una disminución de las pérdidas fetales, aumento de recuento de plaquetas y normalización de TTPK. Cuando la exposición a la vacuna fue tardía el efecto fue menor³⁴.

No existen reportes de uso de terapia anti-TNF en SAF, si de casos de posible elevación de aCL por su uso. Se requiere de mayores estudios para realizar una recomendación.

Inhibidores de p38 MAPK y NF- κ B

La quinasa p38 MAPK es clave en la vía intracelular de activación de plaquetas, células endoteliales y monocitos por aPL, y NF- κ B es parte de la cascada de transducción intracelular que lleva al aumento de FT en el endotelio y monocitos.

Vega-Ostertag demostró que en plaquetas tratadas con IgG aPL y dosis subactivantes de trombina aumenta significativamente la fosforilación de p38 MAPK. Al utilizar un inhibidor específico de p38 MAPK se interfiere la agregación plaquetaria y la expresión de FT^{35,36}.

Existen reportes de uso de inhibidores de p38 MAPK en otros modelos de enfermedad como isquemia cerebral, shock séptico, artritis e isquemia miocárdica, y actualmente se están estudiando nuevos inhibidores^{37,38}.

Otros autores han demostrado que inhibir la función de NF- κ B interfiere con la trombosis inducida por aPL^{39,40}.

Al bloquear la cascada intracelular inducida por aPL mediante inhibidores de NF- κ B y de p38 MAPK se obtiene resultados antitrombóticos en modelos animales, pero no existen datos de eficacia y seguridad en humanos.

Bloqueo de receptores en células blanco

Al bloquear receptores de B2GPI o aPL en células blanco se pararía la cascada que lleva a trombosis.

Parece ser que anexina A2 es receptor de B2GPI. Ma y cols. demostraron que los Ac anti anexina A2 bloquean la unión de B2GPI a células endoteliales⁴¹. TLR4 es el receptor de LPS, que activa la fosforilación de p38 MAPK y la translocación de NF- κ B al núcleo. Mutaciones en el gen codificante de TLR4 interfieren con la respuesta a LPS. Pierangeli demostró que ratas con esta mutación tenían trombos más pequeños y menos adhesión de leucocitos a CE. Además, en pacientes con SAF la prevalencia de polimorfismos protectores (con mutación de TLR) fue menor que en controles⁴².

Un péptido sintético de 20 aminoácidos que comparte similitudes con el dominio V de B2GPI, TIFI, mostró inhibir el estado protrombótico inducido por aPL en ratones, al competir con B2GPI para unirse a la membrana fosfolípida de la célula blanco⁴³. Distintos péptidos similares han sido evaluados en modelos animales demostrando disminución del daño⁴⁴.

Con estos datos, el bloquear la unión de aPL a sus células blanco por competencia con péptidos parece ser una atractiva forma de tratar el SAF, que requiere mayor investigación.

Tabla 1. Resumen de tratamientos propuestos

Tratamiento	Efecto observado	Estudios publicados
Estatinas	Inhibición de FT y de trombosis inducida por aPL	<i>In vitro</i> y modelos murinos. Estudios piloto en pacientes
Rituximab	Mejoría clínica	Reportes de casos en SAF y LES
Hidroxicloroquina	Inhibición de formación de complejos inmunes, del aumento de la activación plaquetaria y de la disrupción de anexina A5 mediada por aPL	<i>In vitro</i> y modelos murinos. Estudios en pacientes con LES
Dilazep y dipiridamol	Inhibición de FT	<i>In vitro</i>
IECA	Inhibición de sobreexpresión de FT	<i>In vitro</i>
Inhibidores de complemento	Disminución de abortos, trombosis y activación de células endoteliales mediado por aPL	<i>In vitro</i> y modelos murinos
Péptidos que imitan regiones de B2GPI	Bloquean la unión de B2GPI/aPL a células blanco	<i>In vitro</i> y modelos murinos
Inhibidores de p38 MAPK y NF-κB	Interfieren agregación plaquetaria y expresión de FT	<i>In vitro</i> y modelos murinos
Antagonistas de TNFα	Inhibe la activación de células endoteliales y disminución de aPL	<i>In vitro</i> y modelos murinos

Glucocorticoides

Aunque el uso de glucocorticoides en el SAF es antiguo, con resultados variables y alta frecuencia de complicaciones, la controversia aún continúa. Recientemente se publicó el uso de prednisolona en dosis baja en pacientes con SAF obstétrico refractario. Dieciocho mujeres con diagnóstico de SAF y al menos un aborto previo a pesar del tratamiento con aspirina y heparina, se trataron con prednisolona 10 mg además de aspirina y heparina de bajo peso molecular. En los embarazos previos de estas mujeres sólo 4 de 97 (4%) resultaron en recién nacidos vivos. De 23 embarazos suplementados con prednisolona, 9 mujeres tuvieron 14 recién nacidos vivos (61%), 8 sin complicaciones⁴⁵. Como es el único estudio que ha mostrado resultados positivos con esta asociación de tratamiento, se necesita mayor investigación.

Conclusiones

La naturaleza multifactorial de la trombosis en el síndrome antifosfolípido es una barrera importante para el desarrollo de nuevas terapias.

En los últimos años, la comprensión de los mecanismos de trombosis mediada por aPL ha establecido el importante rol de la inflamación, lo que puede hacer posible que en el futuro el enfrentamiento antitrombótico actual sea complementado por un tratamiento inmunomodulatorio.

Es probable que las estatinas, hidroxicloroquina, Rituximab, IECAs, e incluso drogas anti-TNF sean parte del tratamiento estándar de SAF en el futuro y que continúen las investigaciones en otras áreas prometedoras como inhibidores de p38MAPK, de NF-κB, de complemento, y bloqueadores de receptores en células blanco (Tabla 1).

Son necesarios ensayos clínicos bien diseñados para validar la utilidad de estos agentes.

Referencias

1. Levine JS, Branch DW, Rauch J. The antiphospholipid syndrome. *N Engl J Med* 2002; 346: 752-63.
2. Roubey RA. Immunology of the antiphospholipid antibody syndrome. *Arthritis Rheum* 1996; 39 (9): 1444.
3. Ichikawa K, Khamashta MA, Koike T, Matsuura E, Hughes GR. beta 2-Glycoprotein I reactivity of monoclonal anticardiolipin antibodies from patients with the

- antiphospholipid syndrome. *Arthritis Rheum* 1994; 37 (10): 1453.
4. Ginsburg KS, Liang MH, Newcomer L, et al. Anticardiolipin antibodies and the risk for ischemic stroke and venous thrombosis. *Ann Intern Med* 1992; 117: 997-1002.
 5. Ruiz-Irastorza G, Khamashta MA, Hunt BJ, Escudero A, Cuadrado MJ, Hughes GR. Bleeding and recurrent thrombosis in definite antiphospholipid syndrome: analysis of a series of 66 patients treated with oral anticoagulation to a target international normalized ratio of 3.5. *Arch Intern Med* 2002; 162 (10): 1164.
 6. Gharavi AE, Aron AL. Experimental models for antiphospholipid studies. *Haemostasis* 1994; 24: 204-7.
 7. Erkan D, Lockshin MD. New approaches for managing antiphospholipid syndrome. *Nat Clin Pract Rheumatol* 2009; 5: 160-70.
 8. Meroni PL, Raschi E, Testoni C, Tincani A, Balestrieri G, Molteni R, et al. Statins prevent endothelial cell activation induced by antiphospholipid (anti-beta2-glycoprotein I) antibodies: effect on the proadhesive and proinflammatory phenotype. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 2870-8.
 9. Ferrara DE, Liu X, Espinola RG, Meroni PL, Abukhalaf I, Harris EN, et al. Inhibition of the thrombogenic and inflammatory properties of antiphospholipid antibodies by fluvastatin in an in vivo animal model. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 3272-9.
 10. Ferrara DE, Sverlick R, Casper K, Meroni PL, Vega-Ostertag ME, Harris EN, et al. Fluvastatin inhibits up-regulation of tissue factor expression by antiphospholipid antibodies on endothelial cells. *J Thromb Haemost* 2004; 2: 1558-63.
 11. Jajoria P, Murthy V, Papalardo E, Romay-Penabad Z, Gleason C, Pierangeli SS. Statins for the treatment of antiphospholipid syndrome? *Ann N Y AcadSci* 2009; 1173: 736-45.
 12. López-Pedrerá C, Ruiz-Limón P, Aguirre MÁ, Barbarroja N, Pérez-Sánchez C, Buendía P, et al. Global effects of fluvastatin on the prothrombotic status of patients with antiphospholipid syndrome. *Ann Rheum Dis* 2011 Apr; 70 (4): 675-82.
 13. Youinou P, Renaudineau Y. The antiphospholipid syndrome as a model for B cell-induced autoimmune diseases. *Thromb Res* 2004; 114: 363-9.
 14. Kahn P, Ramanujam M, Bethunaikkan R, Huang W, Tao H, Madaio MP, et al. Prevention of murine antiphospholipid syndrome by BAFF blockade. *Arthritis Rheum* 2008; 58: 2824-34.
 15. Iglesias-Jiménez E, Camacho-Lovillo M, Falcón-Neyra D, Lirola-Cruz J, Neth O. Infant with probable catastrophic antiphospholipid syndrome successfully managed with rituximab. *Pediatrics* 2010; 125 (6): e1523-8.
 16. A Pilot Study of Rituximab for the Anticoagulation Resistant Manifestations of Antiphospholipid Syndrome (RITAPS). [<http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00537290?term=NCT00537290&rank=1>].
 17. Carter AE, Eban R. Prevention of postoperative deep venous thrombosis in legs by orally administered hydroxychloroquine sulphate. *Br Med J* 1974; 3: 94-5.
 18. Chrisman DO, Snook GA, Wilson TC, Short JY. Prevention of venous thromboembolism by administration of hydroxychloroquine. *J Bone Joint Surg* 1976; 58A: 918-20.
 19. Cooke ED, Dawson MHO, Ibbotson RM, et al. Failure of orally administered hydroxychloroquine sulphate to prevent venous thromboembolism following elective hip operations. *J Bone Joint Surg* 1977; 59A: 496-500.
 20. Loudon JR: Hydroxychloroquine and postoperative thromboembolism after total hip replacement. *Am J Med* 1988; 85 (Suppl4A): 57-61.
 21. Edwards MH, Pierangeli S, Liu X, Barker JH, Anderson G, Harris EN. Hydroxychloroquine reverses thrombogenic properties of antiphospholipid antibodies in mice. *Circulation* 1997; 96: 4380-4.
 22. Erkan D, Yazici Y, Peterson MG, et al. A cross-sectional study of clinical thrombotic risk factors and preventive treatments in antiphospholipid syndrome. *Rheumatology (Oxford)* 2002; 41: 924-9.
 23. Rand JH, Wu XX, Quinn AS, Chen PP, Hathcock JJ, Taatjes DJ. Hydroxychloroquine directly reduces the binding of antiphospholipid antibody-beta2-glycoprotein I complexes to phospholipid bilayers. *Blood* 2008; 112: 1687-95.
 24. Rand JH, Wu XX, Quinn AS, Ashton AW, Chen PP, Hathcock JJ, et al. Hydroxychloroquine protects the annexin A5 anticoagulant shield from disruption by antiphospholipid antibodies: evidence for a novel effect for an old antimalarial drug. *Blood* 2010; 115 (11): 2292-9. Epub 2009 Nov 30.
 25. Xiao-Xuan Wu MD, Seth Guller PhD, Jacob H Rand M. Hydroxychloroquine reduces binding of antiphospholipid antibodies to syncytiotrophoblasts and restores annexin A5 expression. *Am J Obstet Gynecol* 2011; 205: 576. e7-14.
 26. Ruiz-Irastorza G, Ramos-Casals M, Brito-Zeron P, Khamashta MA. Clinical efficacy and side effects of antimalarials in systemic lupus erythematosus: a systematic review. *Ann Rheum Dis* 2010; 69: 20-8.
 27. Kinev AV, Roubey RA. Tissue factor in the antiphospholipid syndrome. *Lupus* 2008; 17 (10): 952-8.
 28. Cuadrado MJ, López-Pedrerá C, Khamashta MA, Camps

- MT, Tinahones F, Torres A, et al. Thrombosis in primary antiphospholipid syndrome: a pivotal role for monocyte tissue factor expression. *Arthritis Rheum* 1997; 40 (5): 834-41.
29. Napoleone E, Di Santo A, Camera M, Tremoli E, Lorenzet R. Angiotensin-converting enzyme inhibitors downregulate tissue factor synthesis in monocytes. *Circ Res* 2000; 86 (2): 139-43.
 30. Zhou H. Dilazep and dipyridamole inhibit tissue factor expression on monocytes induced by IgG from patients with antiphospholipid syndrome. *Acta Pharmacol Sin* 2004; 25: 1366-71.
 31. Fischetti F, Durigutto P, Pellis V, Debeus A, Macor P, Bulla R, et al. Thrombus formation induced by antibodies to beta2-glycoprotein I is complement dependent and requires a priming factor. *Blood* 2005; 106 (7): 2340-6. Epub 2005 Jun 14.
 32. Pierangeli SS, Girardi G, Vega-Ostertag M, Liu X, Espinola RG, Salmon J. Requirement of activation of complement C3 and C5 for antiphospholipid antibody-mediated thrombophilia. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 2120-4.
 33. Berman J, Girardi G, Salmon JE. TNF-alpha is a critical effector and target for therapy in antiphospholipid antibody-induced pregnancy loss. *J Immunol* 2005; 174: 485-9.
 34. Blank M, Krause I, Wildbaum G, Karin N, Shoenfeld Y. TNFalpha DNA vaccination prevents clinical manifestations of experimental antiphospholipid syndrome. *Lupus* 2003; 12 (7): 546-9.
 35. Vega-Ostertag M, Harris EN, Pierangeli SS. Intracellular events in platelet activation induced by antiphospholipid antibodies in the presence of low doses of thrombin. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 2911-9.
 36. Vega-Ostertag M, Casper K, Swerlick R, Ferrara D, Harris EN, Pierangeli SS. Involvement of p38 MAPK in the up-regulation of tissue factor on endothelial cells by antiphospholipid antibodies. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 1545-54.
 37. Barone FC, Irving EA, Ray AM, Lee JC, Kassis S, Kumar S, et al. SB 239063, a second-generation p38 mitogen-activated protein kinase inhibitor, reduces brain injury and neurological deficits in cerebral focal ischemia. *J Pharmacol Exp Ther* 2001; 296: 312-21.
 38. Branger J, van den Blink B, Weijer S, Gupta A, van Deventer SJ, Hack CE, et al. Inhibition of coagulation, fibrinolysis, and endothelial cell activation by a p38 mitogen-activated protein kinase inhibitor during human endotoxemia. *Blood* 2003; 101: 4446-8.
 39. Montiel-Manzano G, Romay-Penabad Z, Papalardo de Martínez E, Meillon-García LA, García-Latorre E, Reyes-Maldonado E, et al. In vivo effects of an inhibitor of nuclear factor-kappa B on thrombogenic properties of antiphospholipid antibodies. *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1108: 540-53.
 40. Kubota T, Fukuya Y, Hashimoto R, Kanda T, Suzuki H, Okamura Y, et al. Possible involvement of chemokine-induced platelet activation in thrombophilic diathesis of antiphospholipid syndrome. *Ann N Y Acad Sci* 2009; 1173: 137-45.
 41. Ma K, Simantov R, Zhang JC, Silverstein R, Hajjar KA, McCrae KR. High affinity binding of beta 2-glycoprotein I to human endothelial cells is mediated by annexin II. *J Biol Chem* 2000; 275: 15541-8.
 42. Pierangeli SS, Vega-Ostertag ME, Raschi E, Liu X, Romay-Penabad Z, De Micheli V, et al. Toll-like receptor and antiphospholipid mediated thrombosis: *in vivo* studies. *Ann Rheum Dis* 2007; 66: 1327-33.
 43. Ostertag MV, Liu X, Henderson V, Pierangeli SS. A peptide that mimics the Vth region of beta-2-glycoprotein I reverses antiphospholipid-mediated thrombosis in mice. *Lupus* 2006; 15: 358-65.
 44. Fleming SD, Pope MR, Hoffman SM, Moses T, Bukovnik U, Tomich JM, et al. Domain V peptides inhibit beta2-glycoprotein I-mediated mesenteric ischemia/reperfusion-induced tissue damage and inflammation. *J Immunol* 2010; 185 (10): 6168-78.
 45. Bramham K, Thomas M, Nelson-Piercy, Khamashta M, Hunt B. First trimester low dose prednisolone in refractory antiphospholipid antibody related pregnancy loss. *Blood* 2011; 117: 6948-51.