



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

Sede Amministrativa: Università degli Studi di Padova

Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale

SCUOLA DI DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE MEDICHE CLINICHE E
SPERIMENTALI

INDIRIZZO: SCIENZE REUMATOLOGICHE

CICLO XXI

**L'afèresi nel trattamento della Sindrome da Anticorpi Antifosfolipidi e
del Blocco Cardiaco Congenito Autoimmune**

Direttore della Scuola: Ch.mo Prof. Antonio Tiengo

Supervisore: Ch.mo Prof. Amelia Ruffatti

Dottorando: Dr.ssa Maria Bortolati

INDICE

SCOPI DELLA TESI.....	1
RIASSUNTO.....	3
ABSTRACT.....	5
LA SINDROME DA ANTICORPI ANTIFOSFOLIPIDI.....	7
LA PLASMAFERESI E L'IMMUNOADSORBIMENTO NELLE GRAVIDANZE DI DONNE CON SINDROME DA ANTIFOSFOLIPIDI AD ALTO RISCHIO [63-65]	15
LA PLASMAFERESI NEL TRATTAMENTO DELLA SINDROME DA ANTIFOSFOLIPIDI CATASTROFICA [77,78].....	33
IL BLOCCO CARDIACO CONGENITO AUTOIMMUNE [107].....	43
CONFRONTO TRA BLOCCO CARDIACO CONGENITO AUTOIMMUNE E NON AUTOIMMUNE.....	45
LA PLASMAFERESI IN UN CASO CLINICO DI BLOCCO CARDIACO CONGENITO AUTOIMMUNE	47
BIBLIOGRAFIA	51

SCOPI DELLA TESI

Il trattamento della Sindrome da Anticorpi Antifosfolipidi non è ancora standardizzato, in particolare si evidenzia la necessità di trattamenti differenziati secondo le caratteristiche cliniche e anticorpali del paziente. Nell'ambito dello spettro clinico della Sindrome da Antifosfolipidi si ritrovano diversi sottogruppi di pazienti distinti tra loro sulla base delle caratteristiche cliniche. In questo studio abbiamo individuato le seguenti due categorie di pazienti:

- Donne in gravidanza caratterizzate da altissimo rischio di morbidità ostetrica
- Pazienti affetti da sindrome da antifosfolipidi catastrofica

In questi pazienti, ad elevato rischio di complicanze, oltre all'abituale terapia antitrombotica e talora immunosoppressiva risulta necessario affiancare trattamenti di 2° livello che nel nostro studio sono costituiti dalle tecniche di aferesi.

Gli scopi sono di descrivere le caratteristiche di tali pazienti e la loro risposta al trattamento aferetico e attraverso l'analisi dei dati clinici e di laboratorio di trarre alcune indicazioni pratiche per migliorare la gestione terapeutica dei pazienti affetti dalle forme cliniche più severe di Sindrome da Anticorpi Antifosfolipidi.

Viene inoltre descritto un altro campo di applicazione del trattamento aferetico nelle malattie reumatiche, nella terapia del Blocco Cardiaco Congenito Autoimmune rilevato in feti di madri positive per anticorpi anti-SSA/SSB. Allo scopo di valutare l'efficacia clinica del trattamento aferetico in tale patologia viene riportato e discusso un caso di Blocco Cardiaco Congenito autoimmune, estrapolato da un'ampia casistica di Blocchi autoimmuni e non autoimmuni e trattato con plasmaferesi nel corso della gravidanza.

RIASSUNTO

Introduzione. Le tecniche di aferesi rappresentano una valida scelta terapeutica nel trattamento di malattie autoimmuni gravate da una prognosi severa. In questo studio vengono descritti e discussi alcuni protocolli terapeutici di aferesi finalizzati al trattamento delle gravidanze ad alto rischio nelle pazienti con Sindrome da Antifosfolipidi (APS), della Sindrome da Antifosfolipidi Catastrofica (CAPS) e del Blocco Cardiaco Congenito (CHB) di tipo autoimmune.

La plasmaferesi e l'immunoassorbimento nelle gravidanze di donne con APS ad alto rischio. Nel nostro studio è stato messo a punto e usato un protocollo di trattamento di secondo livello comprendente l'aferesi associata alle terapie convenzionali, nell'intento di prevenire le complicanze gravidiche nelle donne affette da APS primaria ad elevato rischio. Sono state seguite 159 gravidanze di donne affette da APS nel periodo aprile 1991-gennaio 2008. In 13 gravidanze di 9 pazienti sono state applicate tecniche di aferesi quali la plasmaferesi e l'immunoassorbimento, secondo modalità che sono state modificate nel corso degli anni sulla base dell'esperienza acquisita nel trattamento dei singoli casi. I risultati ottenuti suggeriscono che un adeguato trattamento aferetico in associazione con anticoagulazione a dose terapeutica e immunoglobuline endovena potrebbe rappresentare una valida opzione terapeutica nella prevenzione e nel trattamento delle complicanze gravidiche in donne con APS ad alto rischio.

La plasmaferesi nel trattamento della CAPS. La CAPS è una variante rara dell'APS gravata da un'elevata mortalità. Il protocollo di trattamento più efficace comprende l'utilizzo di anticoagulanti, steroidi e plasmaferesi. Tuttavia le modalità del trattamento aferetico della CAPS non sono ben standardizzate; in particolare è controversa la scelta del liquido di sostituzione più adatto. Il plasma fresco congelato è attualmente il fluido di rimpiazzo maggiormente utilizzato; se da un lato esso contiene anticoagulanti naturali, dall'altro è però anche ricco di fattori della coagulazione, prodotti di attivazione del complemento e citochine che potrebbero aggravare lo stato trombofilico del paziente. Abbiamo trattato con risultato favorevole 4 casi di CAPS; le sedute aferetiche sono iniziate durante la prima settimana dalla diagnosi ed è stata utilizzata una soluzione di albumina

come liquido di sostituzione. Il trattamento era eseguito giornalmente per 3 giorni e poi diradato e sospeso quando le condizioni cliniche del paziente lo consentivano. Una donna era trattata anche con anticoagulanti mentre le altre 3 ricevevano oltre agli anticoagulanti alte dosi di cortisone. I nostri risultati suggeriscono che la plasmferesi, iniziata tempestivamente e con l'albumina come rimpiazzo, può essere considerata un trattamento efficace e sicuro nei pazienti con CAPS.

La plasmferesi nel CHB autoimmune. La casistica dello studio comprendeva 9 casi di CHB non autoimmune e 36 di CHB autoimmune, le cui caratteristiche cliniche sono state tra loro confrontate. Nel gruppo di casi non correlati ad anticorpi anti-SSA/SSB materni erano presenti 3 blocchi completi in utero e 4 blocchi erano instabili. Il decesso si è verificato in 3 casi, sempre dopo la nascita; a 6 bambini è stato applicato il pace-maker. I casi associati ad anticorpi anti-SSA/SSB materni presentavano tutti un blocco cardiaco completo in utero, tranne 2. Sono deceduti 10 di questi bambini, uno ha sviluppato una miocardiopatia dilatativa e 26 sono stati sottoposti ad applicazione di pace-maker. Il blocco autoimmune è risultato più spesso stabile e completo e legato ad una prognosi complessivamente peggiore rispetto a quello non autoimmune. In considerazione della severità prognostica del CHB autoimmune la madre di un feto con blocco incompleto riscontrato alla 22^a settimana gestazionale è stata trattata con plasmferesi in aggiunta alla terapia steroidea convenzionale, ottenendo un arresto dell'evoluzione del blocco e la nascita di una bambina con CHB incompleto e senza segni di scompenso cardiaco. La nostra esperienza, che concorda con quella di alcune segnalazioni in letteratura, suggerisce che il trattamento aferetico potrebbe contrastare la progressione della malattia.

Conclusioni. Il nostro studio mette in evidenza i benefici dell'aferesi nel trattamento delle gravidanze ad alto rischio nelle pazienti con APS, della CAPS e del CHB di tipo autoimmune. La modalità di esecuzione di tale terapia dovrebbe essere adeguata alle caratteristiche cliniche del singolo paziente.

ABSTRACT

Introduction. Apheresis techniques can be a valuable treatment option for life-threatening autoimmune disorders. This study describes and discusses some apheresis protocols in the treatment of high risk Antiphospholipid Syndrome (APS) pregnancies, Catastrophic Antiphospholipid Syndrome (CAPS) and autoimmune Congenital Heart Block (CHB). **Plasma exchange and immunoadsorption in high risk APS pregnancies.** A second-line treatment protocol including apheresis in addition to the standard therapies was scheduled and utilized in our hospital with the intent of improving the outcome of high risk pregnancies of women with primary Antiphospholipid Syndrome (APS). Between April 1991 and January 2008, 159 pregnancies of patients with APS were followed by us. Thirteen pregnancies of 9 patients were thus followed using apheretic technique, which has undergone modification over the years. In the cases studied the outcome of pregnancy varied according to the different apheretic treatment conditions. This study suggests that prophylactic apheretic treatment administered along with full anticoagulation and intravenous immunoglobulins therapy could be a valuable therapeutic option in high risk pregnant APS women.

Plasma exchange in CAPS. CAPS is a rare, life-threatening variant of APS. It has been found that the recovery rate is best when the treatment protocol includes anticoagulants, steroids and therapeutic plasma-exchange (TPE). The treatment of CAPS with TPE is not, however, well defined as procedure modalities have not yet been standardized, and the best replacement fluid for TPE is still a controversial issue. Although the most commonly used one, fresh frozen plasma (FFP), contains natural anticoagulants, it is also made up of clotting factors, complement activation products and cytokines which could worsen CAPS' "thrombotic storm". The successful management of 4 CAPS patients, including TPE sessions initiated in the 1st week from diagnosis and using albumin solution as the replacement fluid, is described here. TPE was performed daily for the first 3 days, then tapered off, and withdrawn on the basis of patient's clinical condition. One of the patients was also treated with anticoagulants, while the others received anticoagulants plus high doses of steroids in addition to TPE. Our results indicate

that, when initiated promptly and albumin solution is used as the replacement fluid, TPE can be considered an effective, safe treatment for CAPS.

Plasma exchange in autoimmune CHB. The features of 9 non-autoimmune and 36 autoimmune CHB fetuses were analyzed and compared. Among anti-SSA/SSB-negative cases only 3 blocks were complete in utero and 4 blocks were unstable. Death occurred in 3 cases, but never in utero; 6 infants were paced. Among anti-SSA/SSB-positive cases all except two had complete block in utero. Ten babies died; another developed severe dilated cardiomyopathy; 26 children were paced. Autoimmune blocks were more often stable and complete, with an overall worse prognosis. A case of autoimmune CHB treated with TPE in addition to steroid treatment has been described. Our experience, in agreement with some other reports, suggests that this treatment might counteract progression of the disease.

Conclusion. Our study emphasizes the benefits of apheresis in the treatment of high risk APS pregnancies, CAPS and autoimmune CHB. However the apheretic technique should be differentiated according to the clinical features of patients.

LA SINDROME DA ANTICORPI ANTIFOSFOLIPIDI

CARATTERISTICHE CLINICHE

La Sindrome da Anticorpi Antifosfolipidi (abbreviata secondo l'acronimo internazionale in APS) è una malattia autoimmune caratterizzata da eventi trombotici e morbidità ostetrica associati alla presenza di autoanticorpi antifosfolipidi (aPL). Questa sindrome è stata inizialmente descritta nei pazienti affetti da Lupus Eritematoso Sistemico (LES) [1] (forma "secondaria"); successivamente si sono individuati pazienti affetti da APS non associata a connettiviti definite [2] (forma "primaria"). La patologia colpisce prevalentemente soggetti di sesso femminile [3] di età 20-30 anni.

La diagnosi di APS si basa sulla presenza contemporanea di criteri diagnostici clinici e laboratoristici; essi vengono periodicamente revisionati, l'ultima stesura è avvenuta in occasione dell'XI Congresso Internazionale sugli Anticorpi Antifosfolipidi tenutosi nel 2006 a Sydney ed è riportata in un "International consensus statement" [4].

CRITERI DIAGNOSTICI

La diagnosi di APS richiede la presenza di almeno un criterio clinico ed un criterio di laboratorio

Criteri clinici

1) Trombosi vascolari

Uno o più episodi di trombosi arteriosa, venosa o dei piccoli vasi in qualsiasi tessuto od organo, confermata da tecniche di diagnostica per immagini o indagini istopatologiche (in tal caso non deve esservi significativa evidenza di infiammazione della parete vascolare)

2) Patologia della gravidanza

a) una o più morti di un feto morfologicamente normale non altrimenti spiegabili a/oltre la 10^a settimana di gestazione

- b) *uno o più parti prematuri prima della 34^a settimana di gestazione per severa preeclampsia o eclampsia o grave insufficienza placentare*
- c) *tre o più aborti spontanei consecutivi prima della 10^a settimana di gestazione, non altrimenti spiegabili (escluse quindi anomalie anatomiche materne e alterazioni cromosomiche materne o paterne)*

Criteria di laboratorio

- 1) *“Lupus anticoagulant” (LA) positivo in due o più rilevazioni ad almeno 12 settimane di intervallo, determinato secondo le linee-guida della “International Society of Thrombosis and Hemostasis” [5,6]*
- 2) *Anticorpi anticardiolipina (aCL) di classe IgG e/o IgM a titolo medio o alto (>40 GPL/MPL o >99° percentile), determinati con metodica ELISA standardizzata [7,8] in due o più occasioni ad almeno 12 settimane di intervallo*
- 3) *Anticorpi anti- β_2 glicoproteina I (anti- β_2 GPI) di classe IgG e/o IgM a titolo >99° percentile, determinati con metodica ELISA standardizzata [9] in due o più occasioni ad almeno 12 settimane di intervallo.*

Accanto alle caratteristiche cliniche elencate tra i criteri classificativi, alcune manifestazioni sono frequentemente riscontrabili nei pazienti pur se non specifiche della APS, quali valvulopatia cardiaca, livedo reticularis, trombocitopenia, nefropatia, manifestazioni neurologiche non ischemiche.

È stata inoltre individuata una variante rara (1% dei casi) [10] ma ad alta mortalità dell'APS, chiamata Sindrome da Antifosfolipidi Catastrofica (CAPS), di cui si tratterà successivamente.

Vi è crescente evidenza che la presenza contemporanea di più criteri laboratoristici aumenti il rischio trombotico [11-13] ed ostetrico [14,15]; questo viene sottolineato anche dalla raccomandazione, enunciata all'interno dell' "International consensus statement" di Sydney, di stratificare i pazienti in 2 sottocategorie laboratoristiche in base alla presenza di più (categoria I) o di un solo aPL (categoria II, a sua volta suddivisa in IIa, IIb o IIc se presenti LA, aCL o anti- β_2 GPI).

TERAPIA

La terapia dell'APS è tuttora oggetto di dibattito, dato l'ampio spettro delle sue manifestazioni, che vanno dalla morbidità ostetrica con poliabortività fino alla presenza di trombosi arteriose. I pazienti, inoltre, possono presentare un rischio molto variabile di recidiva dell'evento ostetrico o clinico, in base alle caratteristiche dello stesso, alla presenza di concause e alla possibile rimozione delle stesse (fattori trombofilici associati quali fumo, dislipidemie, diabete, ipertensione, assunzione di estroprogestinici, ecc) [16], oltre che al profilo autoanticorpale come precedentemente sottolineato. Appare pertanto essenziale la stratificazione dei pazienti in classi di rischio e l'impostazione di un regime terapeutico adeguato al caso. La terapia sarà inoltre differente secondo la tipologia di evento clinico da affrontare; diverso quindi l'approccio se si tratterà della terapia di un evento acuto (trombosi in atto, CAPS), della profilassi a lungo termine di eventi trombotici o del trattamento durante la gravidanza al fine di prevenire complicanze ostetriche.

- Eventi trombotici: la terapia si basa, analogamente alle trombosi di qualunque eziologia, sul trattamento anticoagulante con eparina non frazionata o a basso peso molecolare da embricare con anticoagulante orale [17,18]; i limiti entro cui mantenere l'INR sono dibattuti, essendovi, accanto ai sostenitori del regime tradizionale con INR 2,0-3,0 [19,20], coloro che ritengono invece adeguati livelli più elevati, fino a 3,0-4,5 [21,22]. Nel caso di trombosi arteriosa viene talora consigliata l'associazione con antiaggreganti [23].
- CAPS: la terapia richiederà un approccio più aggressivo, comprendente anticoagulanti, steroidi e spesso altri trattamenti quali plasmaferesi, immunoglobuline endovena (Ig ev), immunosoppressori [24], come verrà descritto successivamente.
- Gravidanza: il trattamento andrà attentamente differenziato sulla base della storia personale di trombosi, della storia ostetrica e delle caratteristiche autoanticorpali, individuando categorie di pazienti che potranno beneficiare di regimi terapeutici comprendenti acido acetilsalicilico a basso dosaggio e/o eparine a diversa posologia [25]. Questi regimi di trattamento hanno

portato negli anni ad un netto incremento del tasso di successo (fino al 70-80% [26,27]) delle gravidanze di donne affette da APS le quali fallivano con tassi variabili dal 50 al 90% [28] quando non trattate. Tuttavia anche questi trattamenti non sono sempre sufficienti, soprattutto nel caso di pazienti con pregressi eventi tromboembolici [29] e triplice positività degli anticorpi antifosfolipidi [14]. In questi casi ad elevato rischio sono stati proposti trattamenti di secondo livello quali Ig ev [30], plasmaferesi [31], immunoadsorbimento [32].

L'AFERESI NELLA SINDROME DA ANTIFOSFOLIPIDI

Il trattamento mediante metodiche aferetiche, consiste nella "rimozione" di componenti del sangue quali plasma (plasmaferesi), componenti cellulari (citoferesi), sostanze specifiche (adsorbimento). Una delle caratteristiche principali del trattamento è la rapidità di rimozione della sostanza: ciò lo rende un'arma fondamentale in quelle situazioni, quali alcune malattie autoimmuni, nelle quali le condizioni cliniche richiedano un intervento rapido e intensivo [33], nell'attesa che gli altri trattamenti instaurati (immunosoppressione) facciano effetto. Le tecniche aferetiche svolgono un ruolo fondamentale anche nei casi in cui vi sia controindicazione alla terapia standard, ad esempio per intolleranza ai farmaci immunosoppressori o in gravidanza, condizione nella quale si sono rivelati sicure e ben tollerate [34], essendo state impiegate nel trattamento di diverse condizioni cliniche [35-38]

La **plasmaferesi (PF)** consiste nella rimozione di parte del plasma del paziente mediante appositi separatori e nella sua contemporanea sostituzione con fluidi di rimpiazzo (albumina 4-5% in soluzione fisiologica, plasma, plasma-expanders). Poiché il plasma contiene molteplici sostanze fondamentali, quali fattori coagulanti e anticoagulanti, citochine, ormoni, non sarà possibile rimuovere eccessivi volumi plasmatici, per non depauperare eccessivamente il paziente, salvo che non si utilizzi come fluido di rimpiazzo il plasma fresco congelato.

Vi sono poi tecniche che permettono la rimozione specifica di sostanze disciolte nel plasma, mediante adsorbimento su colonne composte di materiali in grado di legarle selettivamente, lasciando pertanto invariate altre componenti plasmatiche quali, ad esempio, sostanze anticoagulanti naturali che nel caso dell'APS possono svolgere un ruolo fondamentale. Questa tecnica permetterà quindi il trattamento di maggiori volumi plasmatici, rispetto alla semplice plasmaferesi, proprio perché non verranno rimosse altre sostanze oltre a quella "bersaglio". La rimozione degli anticorpi e degli immunocomplessi, in particolare, prende il nome di **immunoadsorbimento** e può avvenire principalmente mediante l'utilizzo di [39] proteina A stafilococcica, IgG policlonali di pecora anti-catene leggere e pesanti delle immunoglobuline umane, destran solfato.

Le tecniche di aferesi sono in grado di rimuovere solamente le sostanze intravascolari, pertanto l'utilità del trattamento sarà massima qualora si miri alla rimozione di sostanze con una bassa distribuzione extravascolare. Inoltre le sostanze dovrebbero essere di peso molecolare sufficientemente elevato (>15 kD) da rendere inefficienti altre tecniche di purificazione (emodialisi, emofiltrazione) e con un tempo di dimezzamento abbastanza lungo da permettere che l'effetto del trattamento si mantenga nel tempo. Le immunoglobuline presentano caratteristiche adeguate, con volumi di distribuzione extravascolare delle IgG pari a 55% e delle IgM pari a 22% e tempi di dimezzamento di circa 21 e 5 giorni rispettivamente. Qualora le sostanze da rimuovere siano prodotte dall'organismo stesso, quali gli autoanticorpi, l'efficienza del trattamento varierà anche in proporzione alla velocità di sintesi. Sulla base di queste caratteristiche (volume di distribuzione, tempo di dimezzamento, velocità di produzione) sarà necessario stabilire la frequenza delle sedute aferetiche e il volume di plasma da trattare/rimuovere. Nel caso di sostanze quali le immunoglobuline si è calcolato che la velocità di riequilibrio tra i compartimenti extra- e intra-vascolare sia piuttosto lenta (circa 1-3% all'ora), pertanto durante una seduta viene rimosso sostanzialmente solo quanto presente nello spazio intravascolare. La loro rimozione segue perciò una cinetica approssimativamente del 1°ordine [40], come cioè se avvenisse da un singolo compartimento (intravascolare). La

concentrazione dopo il singolo trattamento potrà essere calcolata in base alla seguente formula [41]:

$$X_1 = X_0 e^{-Ve/EPV}$$

Dove:

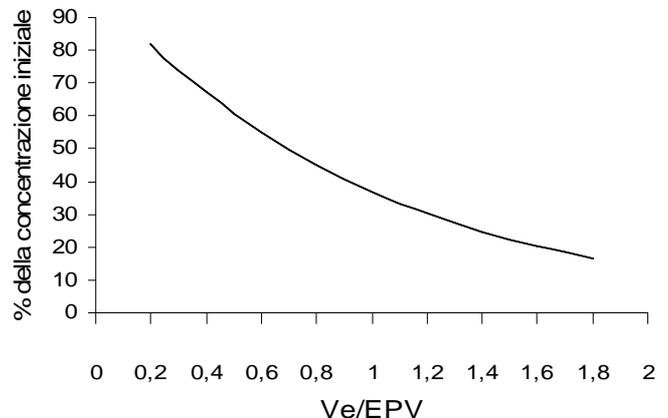
X_1 = concentrazione finale

X_0 = concentrazione iniziale

Ve = volume scambiato

EPV (volume plasmatico stimato)

= 0.065 x peso (Kg) x (1-Ht)



L'andamento della curva che mette in relazione la riduzione della sostanza con il volume scambiato mostra come all'aumentare del volume trattato corrispondano progressivamente sempre minori incrementi della rimozione anticorpale. Così mediamente trattando l'equivalente di 1 volume plasmatico del paziente ($Ve=EPV$) si ridurranno i livelli pretrattamento di circa il 63%, trattando 1,4 volumi plasmatici i livelli si ridurranno del 75% e così via. Si ritiene quindi che nella maggior parte dei casi sia sufficiente il trattamento di 1-1,4 volumi plasmatici del paziente. Serviranno almeno 5 trattamenti in circa 7-10 gg, a intervalli di 24-48 h per rimuovere il 70% degli anticorpi; tuttavia, nel caso di anticorpi ad alta velocità di sintesi potranno essere necessari più trattamenti.

Il trattamento standard della APS, come già detto, non si basa sulla immunosoppressione né sulla rimozione degli aPL, bensì sulla prevenzione degli eventi trombotici da essi mediati mediante anticoagulazione/antiaggregazione. Pertanto i trattamenti aferetici sono stati utilizzati in particolari condizioni, nelle quali la gravità del quadro clinico era tale da richiedere la rimozione rapida degli aPL per contrastarne l'azione [42-50], in particolare nel caso della CAPS, che è infatti stata inserita tra le indicazioni al trattamento nelle ultime Linee Guida della Società Americana di Aferesi [33].

Alcuni autori hanno inoltre riportato l'utilizzo delle tecniche aferetiche come trattamento di 2° livello per donne con APS in gravidanza ad alto rischio di complicanze [51-53]. Un approccio precoce in gravidanza permetterebbe di contrastare l'azione patogena degli aPL, che agirebbero non solo con

meccanismo trombotico ma anche interferendo con l'attecchimento del trofoblasto e con il processo di placentazione nelle fasi iniziali della gravidanza [54,55].

Come precedentemente illustrato, l'efficacia delle tecniche di aferesi varia secondo le caratteristiche della sostanza e, nel caso degli anticorpi, della velocità di redistribuzione e di sintesi. Alcuni studi hanno dimostrato la validità di questi trattamenti nella rimozione degli aPL [56]. Zar e Kaplan [57] hanno evidenziato in un caso di CAPS come gli aCL abbiano un comportamento analogo a quello delle IgG e IgM totali, ovvero come seguano anch'essi una cinetica di rimozione di 1° ordine, per cui sia applicabile la formula precedentemente illustrata permettendo quindi di prevedere l'andamento anticorpale dei pazienti e di stabilire la cadenza delle sedute. In conclusione gli autori consigliavano nel caso della CAPS almeno 3 sedute quotidiane (a distanza di almeno 24 h per permettere di riequilibrare gli anticorpi dallo spazio extravascolare a quello intravascolare) per ottenere una rimozione di circa 70-80% degli anticorpi patogeni, ma raccomandavano un approccio maggiormente aggressivo comprendente almeno 5 sedute. El Haieg et al [53] hanno utilizzato i livelli di aCL come parametro per calibrare la cadenza delle sedute aferetiche durante la gravidanza di 18 donne con pregressa morbidità ostetrica nonostante trattamento convenzionale con aspirina a basso dosaggio e/o eparina, talora in associazione con steroide. Esse sono state trattate con 3 sedute di PF/settimana mediamente dalla 7^a alla 16^a-18^a settimana gestazionale (sg), fino al raggiungimento di bassi livelli di aCL e negativizzazione del LA, quando presente. Successivamente le sedute venivano ridotte fino ad arrivare ad 1 seduta/mese fino al parto; qualora però fosse registrata la risalita degli aCL a livelli medi o alti le sedute venivano intensificate. Questo ha permesso di raggiungere un'età gestazionale media di 37 sg, con solo in 4 casi nascite pretermine comunque tutte oltre la 34^a sg. Questo studio, pur suggerendo l'efficacia del trattamento aferetico personalizzato sulla base dei livelli anticorpali, non permette una generalizzazione delle conclusioni, in particolare la loro applicazione ad una popolazione ad alto rischio come quella di nostro interesse. Infatti, la popolazione descritta dallo studio era molto eterogenea dal punto di vista anamnestico, mancavano dati chiari sul profilo anticorpale e soprattutto sull'effettivo impatto clinico della patologia, nonché sulla risposta ad un trattamento convenzionale

adeguato, pertanto è difficile inserire queste pazienti in una categoria ad alto rischio.

Le poche segnalazioni sull'utilizzo dell'immunoassorbimento presenti in letteratura fanno riferimento principalmente al trattamento di pazienti con APS associata a LES, nei quali l'acuità della patologia rendeva necessaria una rapida rimozione anticorpale in attesa che i trattamenti immunosoppressivi agissero. Pertanto, in tali pazienti l'andamento dei livelli anticorpali può essere indice dell'efficacia del trattamento solo in fasi precoci della malattia, essendo l'andamento degli anticorpi influenzato non solo dalla rimozione degli stessi da parte dell'afesi ma anche dalla soppressione della sintesi da parte dei farmaci. Hauser [58] riporta l'effetto dell'immunoassorbimento mediante colonne di Proteina A stafilococcica su 11 pazienti affetti da LES resistenti al trattamento con ciclofosfamide o con controindicazione allo stesso. Il trattamento aferetico ha permesso la sospensione del farmaco dopo un numero variabile di sedute in tutti coloro (10/11) che lo assumevano, pur persistendo il trattamento con prednisone. Lo studio dei livelli anticorpali in questi pazienti ha evidenziato nel caso degli aCL (sia IgG che IgM) e delle IgM totali una percentuale di rimozione maggiore quanto maggiore era il livello anticorpale pre-trattamento. Lo stesso non si verificava per le IgG totali, la cui rimozione era massima per livelli pre-trattamento al 2° e 3° quartile, e minore pertanto nel caso di livelli più elevati. Questo veniva motivato dalla possibile competizione degli anticorpi per i siti di legame presenti sulla colonna, da affinità di legame variabili e limiti nella capacità adsorbente della colonna stessa e portava gli autori a ipotizzare una ridotta efficienza di rimozione degli anticorpi patogeni qualora venissero somministrate Ig ev a scopo sostitutivo durante il trattamento.

Vi sono comunque segnalazioni sull'utilità clinica dell'immunoassorbimento in casi in cui era controindicata la terapia anticoagulante [59] e nel trattamento di gravidanze ad alto rischio di morbidità ostetrica [32, 60-62]

LA PLASMAFERESI E L'IMMUNOADSORBIMENTO NELLE GRAVIDANZE DI DONNE CON SINDROME DA ANTIFOSFOLIPIDI AD ALTO RISCHIO [63-65]

Dall'aprile 1991 al gennaio 2008 sono state seguite presso il nostro centro 159 gravidanze di pazienti affette da APS trattate con eparina e/o antiaggregante. In 13 gravidanze di 9 pazienti si è deciso di affiancare il trattamento aferetico alla terapia convenzionale; in 9 casi il trattamento veniva introdotto per la comparsa durante la gravidanza di complicanze materne o fetali, con esiti discordanti. Sulla base di quest'esperienza, abbiamo applicato nelle successive 4 gravidanze di donne ad elevatissimo rischio di morbidità ostetrica, individuate sulla base delle caratteristiche cliniche ed anticorpali, un protocollo di trattamento che prevedeva l'introduzione delle sedute aferetiche accanto al trattamento convenzionale dall'inizio della gravidanza, senza attendere quindi la comparsa di complicanze. Le procedure di aferesi avvenivano secondo i seguenti protocolli:

Plasmaferesi: le procedure sono state effettuate utilizzando un separatore cellulare a flusso continuo (Cobe Spectra - Gambro BCT, Lakewood, CO, USA); ad ogni seduta un volume corrispondente a 70-100% del volume plasmatico veniva scambiato con albumina al 4% in soluzione fisiologica, con un rapporto anticoagulante (ACD-A):sangue pari a 1:12-1:15. Qualora i livelli plasmatici di antitrombina III pre-seduta fossero <90% (valore normale 80-120%), alla fine della sessione ne venivano infuse 1000 U per controbilanciarne la rimozione da parte del trattamento. Per evitare il rischio emorragico dovuta alla rimozione dei fattori anticoagulanti veniva dimezzata e posticipata a dopo la seduta la dose di eparina mattutina. La cadenza delle sessioni era a dì alterni nella prima settimana, e successivamente settimanale.

Immunoadsorbimento: la separazione del plasma veniva effettuata come per la plasmaferesi; successivamente il plasma veniva trasferito nel sistema Immunosorba (Fresenius Hemocare, Bad Homburg, Germania), composto da 2 colonne di Proteina A stafilococcica ed un monitor Citem 10. Le colonne venivano utilizzate alternativamente, mentre una era in uso l'altra, saturata, era lavata e rigenerata. Dopo il trattamento il plasma tornava alla paziente insieme alle

componenti cellulari. Le sedute avvenivano dapprima a di alterni, successivamente 2 volte alla settimana, fino al parto. Venivano inoltre somministrate Immunoglobuline endovena a scopo sostitutivo quando i livelli di IgG erano inferiori a 5 g/dL.

Di seguito vengono descritte e discusse le caratteristiche cliniche e la risposta al trattamento delle pazienti (*Tabella 1*)

Tabella 1: caratteristiche cliniche e profilo antifosfolipidico delle pazienti affette da APS trattate con tecniche aferetiche

n°	patiente	aPL (tipo e livello)	Trombosi vascolare	Morbidity ostetrica pregressa
1	B.S.	IgG aCL alto IgG β 2GPI alto LA positivo	Microangiopatia trombotica	Perdita fetale
2	C.P.	IgG aCL alto IgG β 2GPI medio LA positivo	Trombosi venosa profonda	Perdita fetale
3	D.A.	IgG aCL medio IgG β 2GPI medio LA positivo	Trombosi venosa profonda	Nessuna
4	P.C.	IgG aCL alto IgG β 2GPI alto IgM aCL basso LA positivo	Trombosi venosa profonda	Nessuna
5	G.E.	IgG aCL alto IgG β 2GPI alto IgM aCL basso LA positivo	Ictus ischemico esitato in emiparesi sinistra	Nessuna
6	S.L.	IgG aCL medio IgG β 2GPI medio LA positivo	Tromboembolia venosa	Parto pretermine
7	Be.S.	IgG aCL alto IgG β 2GPI alto IgM aCL medio IgM β 2GPI medio LA positivo	Microlesioni ischemiche cerebrali	Nessuna
8	L.S.	IgG aCL alto IgG β 2GPI alto LA positivo	Microangiopatia trombotica renale, ictus ischemico, valvulopatia cardiaca	Perdita fetale
9	Gn. E.	IgG aCL medio IgG β 2GPI medio IgM aCL medio IgM β 2GPI medio LA positivo	Trombosi venosa profonda, infarto splenico, dubbia microangiopatia trombotica renale	Nessuna

1) Scelta del liquido di rimpiazzo

Una donna di 32 anni (*caso n°1a*) si presentava presso i nostri ambulatori alla 16^a settimana gestazionale (sg) della sua prima gravidanza in seguito al riscontro di ritardo di crescita intrauterina. Venivano rilevati elevati livelli di anticorpi aPL e si iniziava trattamento con eparina calcica alla dose di 15000 U/die. Alla 20^a sg il ritardo di crescita intrauterino aumentava e, nonostante l'incremento della posologia eparinica a 22500 U/die alla 23^a sg veniva registrata la morte intrauterina del feto, veniva pertanto indotto il parto vaginale. La paziente presentava sintomi e segni di sindrome HELLP (emolisi, enzimi epatici elevati, piastrinopenia) ed era trasferita in terapia intensiva e trattata con plasma fresco congelato. Tuttavia le condizioni cliniche peggioravano con comparsa di un quadro compatibile con CAPS, con lesioni ischemiche delle braccia e delle dita, ipertensione, proteinuria >1g/24 h. Il quadro clinico regrediva con 6 sedute di PF in 10 giorni, utilizzando come fluido di rimpiazzo una soluzione di albumina in fisiologica al 4%.

2) PF nelle complicanze gravidiche tardive

Il *caso n°2* era una donna di 30 anni affetta da APS con storia clinica di trombosi venosa profonda, epilessia e 4 perdite fetali. Alla 5^a gravidanza veniva trattata con eparina calcica (da 15000 a 22500 U/die, suddivise in 3 somministrazioni). Alla 22^a sg si registrava una conta piastrinica pari a 67000/mm³ e si rilevava la presenza di oligoidramnios e ritardo di crescita intrauterino. Si iniziava pertanto un ciclo intensivo di PF (13 sedute a di alterni), ma non si otteneva miglioramento delle condizioni materne o fetali. Alla 26^a sg veniva quindi effettuato il taglio cesareo con nascita di un neonato maschio del peso di 330 g, deceduto 3 giorni dopo. Per contrastare le complicanze post-partum legate agli aPL si decideva di riprendere le sedute aferetiche poche ore dopo il taglio cesareo. Nella sede della laparotomia compariva un ematoma subfasciale di grossa entità, e solo dopo la sua rimozione chirurgica, 20 giorni dopo, le condizioni della paziente miglioravano.

3)PF e piastrinopenia nelle fasi precoci della gravidanza

Quattro donne con APS nota (*casì n°1b, 3, 4a, 5a*) si presentavano alla nostra attenzione alla 5[^] sg di gravidanza. Si trattava della stessa paziente descritta nel caso n°1a 2 anni dopo (*caso n°1b*); di una donna di 28 anni (*caso n°3*) e di una di 29 anni (*caso n°4a*) entrambe con storia di trombosi venosa profonda ed anamnesi ostetrica negativa; di una paziente di 30 anni (*caso n°5a*) con storia di ictus ischemico in seguito all'assunzione di estroprogestinici, esitato in epilessia in trattamento con fenobarbital. La paziente n°1 assumeva acido acetilsalicilico a basso dosaggio, le altre 4 erano in terapia anticoagulante orale; in tutti i casi si passava a trattamento con nadroparina (2 somministrazioni/die). Tutte le pazienti durante il primo trimestre di gravidanza presentavano un graduale calo della conta piastrinica che raggiungeva il 40% del valore basale. Gli anticorpi anti-eparina e anti-piastrine erano assenti. Al fine di contrastare l'ipercoagulabilità con consumo piastrinico [66] correlata alla patologia, si decideva di intensificare il regime terapeutico, incrementando la posologia della nadroparina in modo da raggiungere un valore di anti-fattore X attivato di 0,8 U/ml (registrato dopo 4 ore dalla somministrazione). Inoltre, permanendo il calo piastrinico, si associava il trattamento aferetico alla 13[^], 16[^], 7[^] e 8[^] sg rispettivamente. Questa opzione terapeutica si rivelava inefficace nel caso delle pazienti n°4a e n°5a, con progressivo peggioramento della piastrinopenia e perdita fetale all'11[^] sg. Nel caso delle pazienti n°1 e n°3 invece la conta piastrinica risaliva permettendo di protrarre la gravidanza fino alla 33[^] e 35[^] sg rispettivamente, quando, a causa di lievi iniziali segni suggestivi di sindrome HELLP, nel caso n°1, e di un nuovo decremento piastrinico fino a 56000/mm³ nel caso n°3 si procedeva al taglio cesareo con nascita di bambini sani. La sintomatologia della paziente n°1 regrediva completamente dopo il parto; la paziente n°3, invece, manifestava a 3 giorni dal parto febbre, ipertensione, polisierosite, edema delle labbra, colangite acuta e chiazze necrotiche di guance e orecchie con alone eritematoso. La sintomatologia non regrediva con trattamento steroideo, antipertensivo e antibiotico. Pertanto a 6 giorni dal parto si riprendevano le sedute aferetiche e dopo 4 sedute a dì alterni la paziente guariva e veniva dimessa al 19° giorno.

4)PF e immunoglobuline e.v. nella piastrinopenia precoce

Il caso n°6a era una donna di 30 anni con storia di trombosi venosa profonda. La sua prima gravidanza era stata complicata da trombosi venosa profonda ed embolia polmonare, nonostante trattamento con eparina calcica, e da una severa sindrome HELLP per cui alla 27^a sg era stato eseguito taglio cesareo con nascita di un bambino maschio deceduto dopo 10 giorni in terapia intensiva neonatale. Durante la 2^a gravidanza la paziente, già in trattamento anticoagulante orale cronico, passava alla somministrazione di eparina calcica a dose terapeutica (2 somministrazioni/die). A causa di un graduale calo piastrinico (da 188000 a 120000/ mm³) e di un lieve incremento delle transaminasi, alla 14^a sg si iniziava trattamento aferetico, con rapida normalizzazione delle transaminasi e risalita della conta piastrinica. Alla 27^asg tuttavia si registrava un nuovo rapido decremento piastrinico fino a 60000/mm³ alla 30^a sg. Si procedeva quindi ad induzione della maturità polmonare fetale con betametasone (24 mg). Dopo 3 giorni la paziente lamentava dolore addominale severo, accompagnato da un nuovo incremento delle transaminasi, per cui si diagnosticava una sindrome HELLP incompleta e si procedeva a taglio cesareo con nascita di un bambino del peso di 1300 g che, affetto da infezioni polmonari severe e recidivanti, decedeva 8 mesi dopo per insufficienza respiratoria. Dopo 4 anni (caso n°6b) la paziente intraprendeva la sua 3^a gravidanza, sospendendo la terapia warfarinica e sostituendola con nadroparina a dose terapeutica (2 somministrazioni/die) alla 5^a sg. All'8^a sg si associava trattamento aferetico per la comparsa di lieve incremento di ALT e graduale calo piastrinico da 205000 a 138000/ mm³. Si otteneva un aumento della conta piastrinica fino a 172000/ mm³, ma successivamente ricominciava una graduale riduzione fino a 111000/ mm³ per cui alla 20^asg si decideva di iniziare boli di Ig ev (1 g/Kg/die in 2 giorni consecutivi ogni 2-4 settimane). Si otteneva un nuovo incremento piastrinico, seguito da un calo e da una risalita ad ogni bolo, come evidenziato dal grafico (*Figura 1*) Alla 33^a sg comparivano lieve ipertensione e proteinuria (1-2 g/24 h), e si intensificavano le sedute aferetiche a 2/settimana ottenendo una parziale regressione delle manifestazioni preeclamptiche. Alla 35^asg veniva eseguito taglio cesareo con

nascita di un bambino sano del peso di 2150 g e i parametri biumorali materni si normalizzavano prontamente dopo il parto.

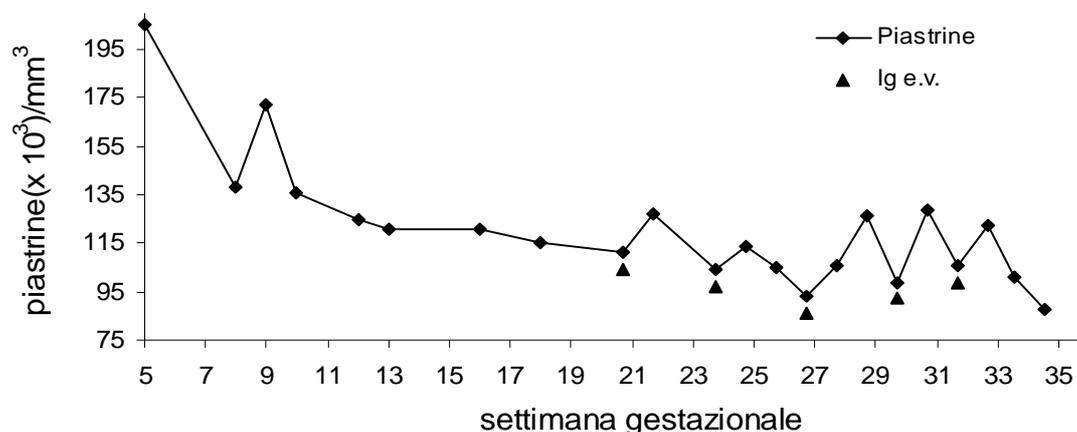


Figura 1: andamento della conta piastrinica in relazione ai boli di Ig ev nel caso n°6b

Una paziente di 36 anni (caso n°7) giungeva alla nostra attenzione alla 4^a sg della sua 1^a gravidanza. La paziente era affetta da APS con pregresse microischemie cerebrali e portatrice da circa 6 anni di una protesi valvolare mitralica meccanica per esiti di valvulopatia reumatica. Pertanto alla luce dell'elevato rischio tromboembolico legato non solo all'APS ma anche alla valvola meccanica veniva trattata con nadroparina a dose piena e acido acetilsalicilico a basso dosaggio. Alla 5^asg si assisteva ad una minaccia di aborto e alla 6^a sg si evidenziava un calo piastrinico del 37%, per cui si decideva di iniziare trattamento con PF settimanali, sulla scorta dell'esperienza maturata nel caso delle pazienti n°1b, 3, 4a, 5a. Tuttavia, il calo piastrinico progrediva, arrivando ad un decremento del 51% rispetto al valore basale alla 7^a sg, per cui si introducevano boli quindicinali di Ig ev ottenendo una rapida risalita della conta piastrinica, che all'8^a sg risultava quasi raddoppiata (Figura 2). Alla 19^a sg si riscontrava un ematoma sovracoriale e si sospendeva la somministrazione di acido acetilsalicilico, ripresa alla 20^a sg dopo normalizzazione del quadro ecografico. La gravidanza procedeva regolarmente fino alla 33^a sg quando partoriva mediante taglio cesareo programmato un bambino sano di 2200 g.

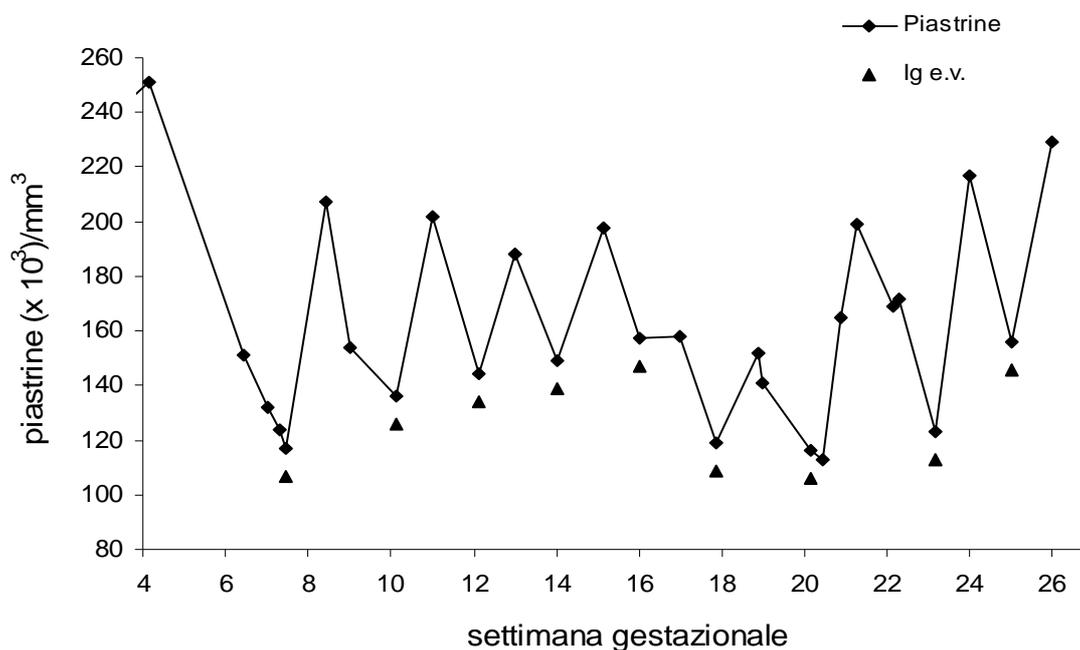


Figura 2: andamento della conta piastrinica in relazione ai boli di Ig ev nel caso n°7

5)PF e immunoglobuline e.v. nella prevenzione della piastrinopenia precoce

Una donna di 28 anni (caso n°8) giungeva alla nostra attenzione alla 6^a sg della sua 3^a gravidanza. La paziente era in terapia anticoagulante orale cronica per una grave forma di APS manifestatasi con ictus ischemico, valvulopatia, micrangiopatia trombotica renale e morbidità ostetrica (2 perdite fetali, entrambe associate a preeclampsia alla 17^a e 24^a sg). Inoltre era portatrice di una mutazione omozigote per il gene C677T dell'enzima MTHFR. Visto l'elevato rischio ostetrico, si decideva di iniziare direttamente un protocollo di trattamento di 2° livello comprendente, oltre a nadroparina a dose terapeutica, sedute aferetiche dalla 7^asg. Dalla 18^asg si registrava tuttavia un graduale calo della conta piastrinica, che arrivava al 50% del valore basale. Si incrementava la dose di nadroparina sulla base del dosaggio dell'anti-fattore X attivato (valore di picco pari a 0,8 U/ml) ma senza beneficio. Alla 21^a sg si aggiungeva trattamento con acido acetilsalicilico ottenendo un parziale incremento della conta piastrinica, che però decresceva nuovamente alla 29^a sg; si iniziava quindi trattamento con Ig ev nel tentativo di contrastare il calo piastrinico ma con scarso risultato. L'ecografia fetale alla 35^a sg dimostrava un lieve ritardo di crescita intrauterina e una riduzione del

liquido amniotico ai limiti inferiori di norma. Si procedeva pertanto a taglio cesareo con nascita di una bambina sana di 2420 g, senza successive complicanze materne o fetali.

6) Immunoadsorbimento o Plasmaferesi?

Alla luce dei risultati ottenuti con la plasmaferesi e delle esperienze riportate in letteratura si è deciso di impostare un nuovo protocollo di trattamento comprendente una metodica aferetica, l'immunoadsorbimento, che permettesse una rimozione più selettiva di grandi quantitativi di anticorpi senza modificare significativamente altre componenti plasmatiche quali ormoni, anticoagulanti naturali, citochine, proteine.

Abbiamo posto a confronto l'andamento della gravidanza di due pazienti con caratteristiche cliniche e anticorpali simili trattate dalla 4^a sg con le due diverse procedure, accanto al trattamento convenzionale. Si trattava delle stesse pazienti descritte nel caso n°4a (*caso n° 4b*) e nel n°5a (*caso n°5b*), 2 e 3 anni dopo rispettivamente. Entrambe quindi presentavano storia di trombosi, una perdita fetale nonostante trattamento aferetico instaurato per comparsa di piastrinopenia durante la gravidanza e lo stesso profilo anticorpale ad alto rischio. Entrambe erano eligibili per il trattamento, ma la paziente 5b non veniva stata reclutata per insufficienza degli accessi venosi. Infatti, mentre la plasmaferesi può essere agevolmente eseguita con un unico accesso venoso, nel caso dell'immunoadsorbimento l'utilizzo di un singolo accesso rende la procedura indaginosa e di lunga durata e pertanto poco tollerabile nel caso di una paziente gravida e di una procedura eseguita non in condizioni critiche. Si optava quindi per il trattamento con PF. L'efficacia del trattamento veniva testimoniata dall'importante decremento dei livelli di anti- β_2 GPI, mentre meno marcato appariva quello di aCL (*Figura 3*).

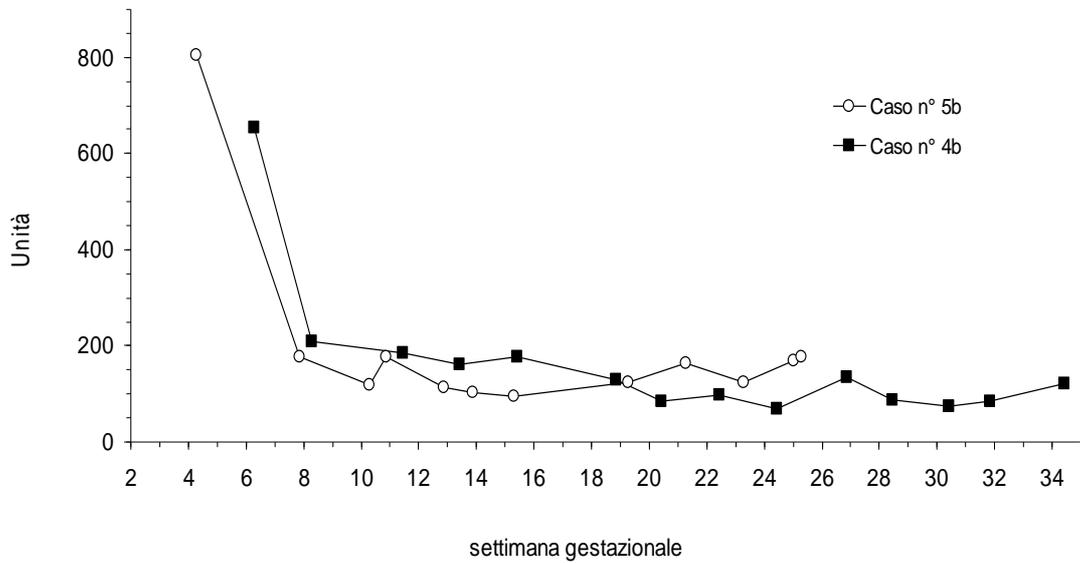


Figura 3: Andamento degli anticorpi anti-β2GPI nei casi n° 4b e 5b

Alla 13^a settimana gestazionale si registrava anche in questa gravidanza un importante decremento della conta piastrinica di circa il 40% rispetto al valore basale; pertanto, si procedeva all'infusione di boli di Immunoglobuline endovena a cadenza quindicinale (Figura 4), sulla scorta dell'esperienza maturata nel caso delle precedenti pazienti.

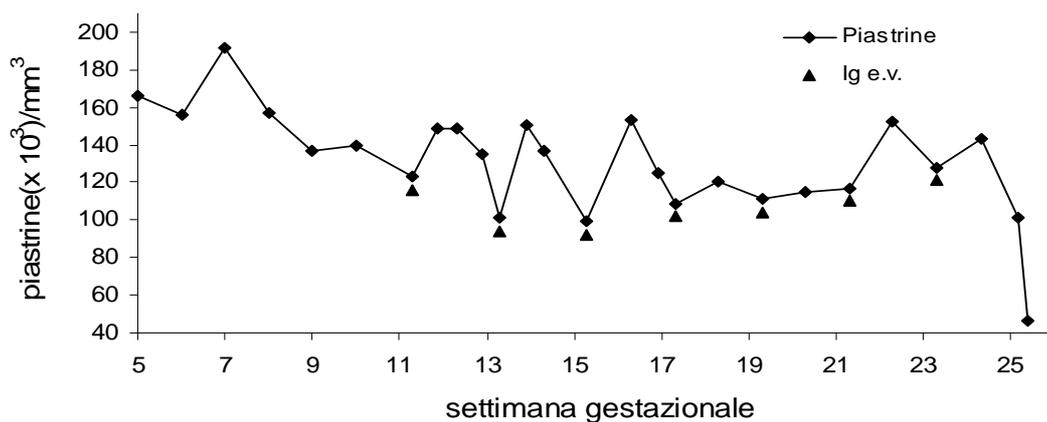


Figura4: andamento della conta piastrinica in relazione ai boli di Ig ev nel caso n°5b

I livelli piastrinici della paziente risalivano e la gravidanza procedeva regolarmente fino alla 25^a settimana gestazionale, quando si registrava un calo piastrinico del 73% rispetto al valore basale e la paziente presentava emorragia vaginale; veniva ricoverata e sottoposta a monitoraggio ostetrico/ecografico stretto. Dopo 10 giorni si evidenziava restrizione della crescita fetale, oligoidramnios e anomalie nell'analisi flussovelocimetrica Doppler per cui si procedeva alla 26^a settimana al taglio cesareo, con nascita di una bambina di 730 g, che, dopo alcuni mesi in Terapia Intensiva Neonatale ora è in buona salute.

L'esame istologico della placenta rilevava un'area di ispessimento e dissociazione emorragica delle membrane in cui si repertava flogosi e focale necrosi della decidua e trombosi occlusiva di un piccolo vaso deciduale, deposizione intervillosa di fibrina ed emazie con necrosi dei villi del corion laeve, e vasi ematici a decorso atipico in sede sub amniotica, marcatamente dilatati e talora con stravasi emorragici circostanti.; cotiledone accessorio di basso spessore e discreto numero di villi immaturi.

La paziente n°4b invece veniva sottoposta ad immunoadsorbimento su colonne di Proteina A stafilococcica. Boli quindicinali di Ig ev venivano somministrati a scopo sostitutivo. I livelli anticorpali sia di aCL che di anti- β_2 GPI calavano rapidamente dopo 4 sessioni e restavano stabili fino al parto (*Figura 3*). Alla 36^a settimana gestazionale in seguito ad una lieve riduzione delle crescita intrauterina si procedeva al taglio cesareo con nascita di una bambina sana del peso di 2375 g. L'esame istologico della placenta dimostrava piccoli focolai di trombosi intervillositaria associata a necrosi dei villi corrispondenti e con incremento degli ammassi sinciziali dei villi circostanti.

7)PF nel trattamento dell'APS associata a insufficienza renale

Una paziente di 33 anni (*caso n°9*) si presentava presso i nostri ambulatori alla 6^a sg della sua prima gravidanza. All'età di 20 anni, durante l'assunzione di estroprogestinici, era stata diagnosticata una APS sulla base di una TVP dell'asse iliaco-femorale sinistra e cavale fino al 1/3 medio renale sinistro con positività degli aCL IgG ad alto titolo e IgM a titolo medio. Due anni dopo veniva ricoverata per infarto splenico (era in terapia anticoagulante orale sottodosata, INR 1,45

all'ingresso) e sindrome nefrosica, la cui eziologia non veniva chiarita (secondaria a trombosi cavale? malattia autoimmune?), non essendo effettuata biopsia renale a causa dell'elevato rischio. Venivano inoltre riscontrati segni elettrocardiografici di ischemia subepicardica anterolaterale estesa regrediti con controllo pressorio. Si confermava la positività ad alto titolo degli aCL IgG, a medio titolo degli aCL IgM e si rilevava la presenza di attività LA. Non vi erano segni clinici o bioumorali suggestivi di connettivite. Dopo circa 1 mese presentava un attacco ischemico transitorio con successivo riscontro alla SPECT di alterazione di flusso su base ischemica. Negli anni successivi la paziente continuava a presentare insufficienza renale cronica con ipertensione e proteinuria, un episodio nefritico, sempre in assenza di segni o sintomi connettivici. Continuava trattamento anticoagulante orale con acenocumarolo (INR 2-3), senza ulteriori episodi trombotici.

All'inizio della gravidanza gli esami di laboratorio rilevavano: creatinina 196 $\mu\text{mol/L}$, urea 11,6 mmol/L , proteinuria 2 g/24h, rari leucociti ed eritrociti urinari. La paziente era in terapia con acenocumarolo, irbesartan e furosemide che venivano sospesi, data la potenziale teratogenicità, e sostituiti con metil-DOPA; data la storia clinica e la triplice positività antifosfolipidica la paziente veniva considerata ad elevato rischio di insuccesso gravidico, vista anche la concomitante presenza di ipertensione ed insufficienza renale cronica. Pertanto si iniziava il protocollo terapeutico comprendente nadroparina a dose terapeutica, acido acetilsalicilico a basso dosaggio e sedute plasmferetiche settimanali. La paziente presentava inoltre anemia microcitica secondaria ad una β -talassemia eterozigote e all'insufficienza renale, per cui veniva fornita supplementazione marziale per os e successivamente endovena ma, data la progressiva anemizzazione si procedeva alla somministrazione di eritropoietina dalla 16^a sg, ottenendo una stabilizzazione dei livelli emoglobinici attorno a 8,5 g/dL. Dopo un'iniziale diminuzione gli aCL permanevano a titolo medio/alto e la creatinina si stabilizzava attorno a 200 $\mu\text{mol/L}$ accanto ad uno scarso controllo pressorio. Dalla 12^a sg si assisteva ad un progressivo aumento dei valori pressori per cui si aumentava la posologia del metilDOPA successivamente associandovi furosemide e amlodipina; dalla 14^a sg veniva incrementata la frequenza delle sedute aferetiche a 2/settimana ottenendo una progressiva riduzione degli aCL e della creatinina (*Figura 5*).

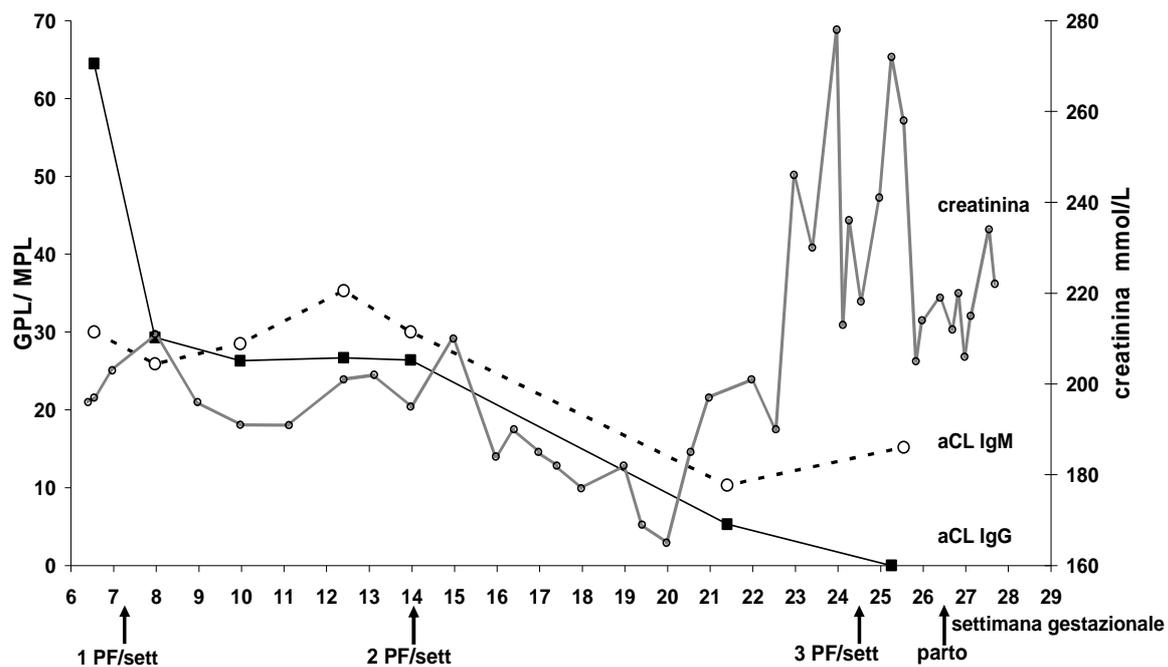


Figura 5: Andamento della creatinina e degli anticorpi aCL nel caso n°9

Quest'ultima però aumentava nuovamente dalla 20^a sg, quando si registravano pressione diastolica costantemente sopra i 100 mmHg e picchi pressori sistolici oltre 180 mmHg, nuovamente contrastati dall'incremento del calcio antagonista. Inoltre, poiché contemporaneamente si era registrato un nuovo rialzo della creatininemia (fino a 280 $\mu\text{mol/L}$) si decideva di intensificare le sessioni aferetiche a 3/settimana. La gravidanza procedeva bene fino alla 25^a sg, quando si registrava un lieve ritardo di crescita intrauterina. Pertanto, anche alla luce del difficile controllo dell'ipertensione e della funzione renale in peggioramento si procedeva a taglio cesareo alla 26^a sg + 5 giorni con nascita di una bambina del peso di 742 g che ora sta bene.

DISCUSSIONE

L'utilizzo di plasmaferesi ed immunoadsorbimento come trattamento delle donne con APS in gravidanza è raro, tuttavia possono essere strumenti sicuri e utili, in associazione ai trattamenti convenzionali, nella gestione delle gravidanze ad altissimo rischio di alcune pazienti.

Abbiamo trattato una serie di 13 gravidanze di 9 pazienti e abbiamo potuto trarre alcune osservazioni che, su base empirica e supportate da alcune considerazioni fisiopatologiche ci hanno portato a stabilire alcuni protocolli di trattamento.

Il caso n°1 ha sollevato la problematica relativa alla scelta del liquido di rimpiazzo da utilizzare nella PF. Si è visto che il tipo di fluido utilizzato durante la PF terapeutica può avere importanti ripercussioni sull'effetto del trattamento [67]. Sulla base della valutazione fisiopatologica della malattia da trattare si potrà scegliere tra diverse opzioni comprendenti albumina al 4% in soluzione fisiologica e plasma fresco congelato. Come verrà illustrato in modo dettagliato successivamente, entrambi i liquidi sono stati utilizzati con successo nel trattamento della CAPS [68,69]. In questa paziente (caso n°1) l'infusione di plasma, ricco non solo di anticoagulanti naturali ma anche di fattori della coagulazione, si è associata a una severa microangiopatia trombotica, regredita trattando la paziente con sedute aferetiche usando soluzione fisiologica albuminata come liquido di sostituzione. La temporanea riduzione nei parametri coagulativi osservata dopo i trattamenti può aver influito positivamente sull'andamento clinico di questa paziente caratterizzata da un'elevata trombofilia. D'altra parte, il deficit di fattori anticoagulanti determinato dalla rimozione di plasma rimpiazzato solo da albumina [70] veniva bilanciato dalla somministrazione di ATIII alla fine delle sedute aferetiche.

Una questione molto importante, come già in precedenza sottolineato, è quella relativa alla tempistica di applicazione del trattamento aferetico. Come abbiamo potuto vedere nel caso n°2, il trattamento iniziato quando erano ormai già presenti segni di danno feto-placentare tardivo si è rivelato completamente inefficace. Pertanto questo ci ha suggerito l'utilità di iniziare l'aferesi prima della comparsa di complicanze, in modo da rimuovere gli aPL prima che portino a danno irreversibile. I casi n°1b, 3, 4a, e 5a mostrano un'efficacia solo parziale del

trattamento in presenza di complicanze quali la piastrinopenia insorta nel 1° trimestre. Infatti solo 2 delle 4 donne sono riuscite a prolungare la gravidanza fino alla nascita di bambini vitali. Questi casi ci hanno suggerito che una graduale piastrinopenia insorta nel 1° trimestre in assenza di anticorpi anti-piastrine e anti-fattore piastrinico 4/eparina possa essere un segno precoce di complicanze gravidiche APS-correlate.

Il caso n°2 ci ha allertato sull'elevato rischio emorragico correlato all'esecuzione di PF subito dopo l'intervento chirurgico: nel caso della paziente poche ore dopo il taglio cesareo si è infatti sviluppato un ematoma subfasciale grave, mentre questo non si è verificato nel caso della paziente n°3, che ha ripreso i trattamenti aferetici dopo alcuni giorni dal cesareo.

L'utilizzo delle Ig ev nelle donne gravide è raro e viene considerato generalmente un trattamento di 2° livello da riservare ai casi in cui altre terapie maggiormente standardizzate abbiano fallito [25]. Molti effetti delle Ig ev quali la neutralizzazione degli autoanticorpi, l'inibizione dell'attivazione delle cellule endoteliali, la riduzione della sintesi anticorpale mediante soppressione della proliferazione di cloni linfocitari B e T ed apoptosi dei linfociti B avrebbero un ruolo nel contrastare le complicanze gravidiche aPL-correlate [71]. La PF è in grado di rimuovere gli anticorpi circolanti, ma non di sopprimere i cloni autoreattivi. Questo è il motivo per cui nel caso di altre malattie autoimmuni il trattamento viene usualmente associato all'utilizzo di immunosoppressori. Nel caso delle donne in gravidanza, però, le opzioni terapeutiche sono in questo senso ridotte, da cui l'utilità delle Ig ev; esse inoltre, potrebbero avere una maggior efficacia una volta rimossi gli anticorpi patogeni circolanti mediante l'aferesi. Lo scopo di combinare queste terapie è pertanto quello di ottenere una sommazione dei loro effetti per neutralizzare gli anticorpi dannosi. Inoltre, le Ig ev potrebbero, grazie al loro passaggio transplacentare, avere un effetto profilattico sulle infezioni neonatali specialmente nei prematuri. L'effetto combinato PF/Ig ev è stato in effetti osservato in altre condizioni quali la desensibilizzazione di pazienti pre-trapianto [72], il controllo di rigetto di trapianto [73] o l'incompatibilità materno-fetale [74]. Il caso n°6 supporta l'utilità del trattamento combinato: la prima gravidanza, trattata con la sola PF, si concludeva con nascita di un bambino poi deceduto, dopo ripetute infezioni, per

insufficienza respiratoria. Durante la gravidanza successiva la paziente veniva trattata con trattamento combinato PF/Ig ev dando alla luce alla 35[^]sg un bambino sano. Questi risultati sono concordi con quelli ottenuti da Bussel et al [75] che hanno trattato con successo una donna gravida affetta da APS con un trattamento comprendente Ig ev e PF. La combinazione di questi due trattamenti finalizzata alla prevenzione del calo piastrinico precoce sembra contribuire ad una prognosi gravidica favorevole, come osservato nelle pazienti n°5b, 6b e 7.

I casi n°4b e n°5b pongono a confronto due diverse tecniche aferetiche: la PF e l'immunoassorbimento. I due casi presentano moltissime analogie: età simile, storia di trombosi, identico profilo anticorpale ad alto rischio, storia ostetrica (perdita fetale alla 11[^] settimana nonostante anticoagulazione a dose piena e PF). Pertanto nella successiva gravidanza entrambe sono state considerate ad altissimo rischio e si decideva di affiancare l'aferesi subito anziché alla comparsa delle prime complicanze (piastrinopenia in entrambi i casi nella prima gravidanza). Si decideva inoltre di cambiare la strategia aferetica, scegliendo una tecnica di rimozione anticorpale selettiva quale l'immunoassorbimento. Purtroppo nel caso della paziente n°5b ciò non è stato possibile a causa della mancanza di accessi venosi che permettessero l'espletamento della procedura con modalità a due aghi (cioè continua, con una via di prelievo e una di infusione). Poiché la modalità monoago avrebbe portato difficoltà tecniche considerevoli e allungamento delle sedute, si sceglieva di ritentare con i trattamenti plasmiferetici. Entrambe le procedure venivano comunque instaurate all'inizio e proseguite fino alla fine della gravidanza, associate al trattamento convenzionale. Abbiamo pertanto potuto comparare le due procedure in condizioni cliniche e laboratoristiche molto simili, pur con tutte le limitazioni che il confronto di due casi singoli e di due diverse pazienti comporta. Nonostante l'immunoassorbimento sia teoricamente in grado di rimuovere maggiori quantità di immunoglobuline rispetto alla plasmiferesi, nel caso delle nostre pazienti non abbiamo evidenziato una marcata differenza. Questo potrebbe essere motivato da diverse caratteristiche cliniche delle pazienti, con una ipotetica maggiore produzione anticorpale nel caso della paziente trattata con immunoassorbimento. Dal punto di vista clinico la tecnica di immunoassorbimento ha permesso di portare quasi a termine la gravidanza della

paziente n°4b, mentre la paziente n°5b ha dato vita ad una bambina estremamente prematura. Anche dal punto di vista istologico, la placenta della seconda paziente presentava aree trombotiche più evidenti oltre ad una insufficienza placentare con sviluppo anomalo (presenza di cotiledone succenturiato). Un'area di necrosi deciduale potrebbe correlare con l'emorragia vaginale avvenuta alla 25^a settimana gestazionale e suggerire un distacco placentare focale. La motivazione dell'apparente maggior efficacia dell'immunoassorbimento potrebbe risiedere nel maggior volume plasmatico trattato e nella maggior selettività della tecnica, che rimuove solo gli anticorpi (inclusi i patogeni) lasciando inalterate altre sostanze, quali anticoagulanti naturali, ormoni e altri soluti la cui assenza/riduzione potrebbe influenzare in modo negativo l'andamento della gravidanza in queste pazienti. Comunque anche la plasmaferesi si è dimostrata efficace, consentendo di raggiungere un'età gestazionale tale da permettere la nascita di una bambina vitale e in buona salute. Va a questo proposito segnalata l'importanza della precocità del trattamento: in entrambi i casi l'inizio della PF alla comparsa di complicanze durante la 1^a gravidanza si è rivelato un errore. Probabilmente questo è motivato dalla modalità patogenetica degli anticorpi antifosfolipidi che sembrano agire non solo con meccanismo trombotico ma anche interferendo con lo sviluppo del trofoblasto [54,55]. L'inizio del trattamento in fase precoce verosimilmente potrebbe interferire proprio con questo meccanismo d'azione, permettendo un buon attecchimento e sviluppo nelle fasi iniziali della gravidanza, scongiurando così le perdite precoci. Come già detto, la maggior efficacia di una tecnica rispetto all'altra non può sicuramente essere dimostrata da quest'unico confronto tra due diverse pazienti, tuttavia questi due casi ci hanno suggerito un'apparente maggiore efficacia dell'immunoassorbimento.

Il caso n°9 rappresenta una condizione ad altissimo rischio gravidico in una paziente che non solo presentava una APS ad alto rischio ma anche una insufficienza renale cronica con ipertensione e proteinuria. Nelle donne con insufficienza renale severa si è evidenziato un peggioramento della funzione renale durante e dopo la gravidanza, specialmente qualora fossero presenti proteinuria e ipertensione preesistenti, come nel caso della nostra paziente: il 70%

delle donne con livelli di creatinina oltre 180 $\mu\text{mol/L}$ presentano una perdita di funzionalità renale di oltre il 25% durante la gravidanza, nel 50% di esse persistente dopo il parto [76]. In queste pazienti, inoltre, non solo la gravidanza aumenta il rischio di progressione della patologia renale, ma avviene anche il contrario, cioè l'insufficienza renale peggiora la prognosi della gravidanza, con un aumento del ritardo di crescita intrauterina, della preeclampsia materna, delle nascite pretermine, dei decessi perinatali [76]. Ancor maggiore il rischio qualora sia presente ipertensione di difficile controllo, anche a causa delle limitate possibilità terapeutiche legate all'effetto teratogeno/fetotossico di molti farmaci antipertensivi. L'insufficienza renale preesistente rende inoltre difficoltosi gli adattamenti cui i reni devono andare incontro durante la gravidanza, quali l'incremento del tasso di filtrazione glomerulare, della sintesi di eritropoietina, di renina, di vitamina D attivata [76]. Nel caso della nostra paziente, infatti, è stato necessario ricorrere all'utilizzo di eritropoietina data la preesistente anemia legata non solo all'insufficienza renale ma anche ad un'eterozigosi per β -talassemia. Come evidenziato da quanto detto, la paziente presentava un altissimo rischio di fallimento gravidico, pertanto, nonostante non presentasse storia ostetrica precedente, si è deciso di inserirla fin dall'inizio nel protocollo di trattamento comprendente la plasmateresi, anche nell'ipotesi di un possibile ruolo "detossificante" (pur se non comparabile ad un trattamento dialitico) della procedura. Nel caso della paziente l'incremento del numero delle PF/settimana è stato associato ad un proporzionale decremento degli aCL e della creatinina con una latenza di circa 10 giorni, fatto maggiormente evidente in occasione della prima intensificazione (da 1 a 2 sedute/settimana). La procedura si è dimostrata sicura e ben tollerata ed ha contribuito verosimilmente a contrastare il deterioramento della funzione renale materna e a protrarre la gravidanza fino alla nascita di un feto vitale e sano.

CONCLUSIONI

Come atteso [34], il trattamento aferetico si è dimostrato una procedura sicura e priva di significativi effetti collaterali nelle gravide. Certamente la nostra esperienza fa riferimento ad una casistica molto ridotta; d'altra parte la rarità di questa condizione (gravidanza in donne con triplice positività antifosfolipidica e anamnesi positiva per eventi trombo embolici) rende difficilmente pianificabili studi clinici randomizzati con sufficiente numerosità del campione. Pertanto buona parte dei dati provengono da esperienze limitate e case-reports. I nostri risultati indicano comunque che il trattamento aferetico profilattico in combinazione con terapia anticoagulante e immunoglobuline endovena potrebbe rappresentare un'opzione terapeutica valida per le donne affette da APS ad alto rischio di insuccesso gravidico.

LA PLASMAFERESI NEL TRATTAMENTO DELLA SINDROME DA ANTIFOSFOLIPIDI CATASTROFICA

[77,78]

La CAPS è una variante severa della APS che colpisce circa l'1% dei pazienti [10]. Essa è caratterizzata da fenomeni tromboembolici a carico di più distretti, subentranti, con quadro clinico rapidamente ingravescente e gravato da un'elevata mortalità. I criteri diagnostici preliminari per la definizione di CAPS sono stati pubblicati nel 2003 [24], e comprendono:

1. *Evidenza del coinvolgimento di 3 o più organi, sistemi e/o tessuti*
2. *Sviluppo delle manifestazioni simultaneamente o in meno di una settimana*
3. *Conferma istopatologica di occlusione di piccoli vasi in almeno un organo o tessuto*
4. *Conferma laboratoristica della presenza di anticorpi antifosfolipidi (confermata a distanza di almeno 6 settimane)*

La diagnosi può essere:

definita:

- se sono presenti tutti i 4 criteri;

probabile:

- se sono presenti tutti i 4 criteri ma sono coinvolti solo 2 organi, sistemi e/o apparati;
- se sono presenti tutti i 4 criteri ma la positività antifosfolipidica non viene confermata a distanza di almeno 6 settimane a causa del decesso del paziente;
- se sono presenti i criteri 1, 2 e 4;
- se sono presenti i criteri 1, 3 e 4 e si manifesta un terzo evento a più di una settimana ma a meno di un mese di distanza nonostante l'anticoagulazione.

Le caratteristiche cliniche dei pazienti affetti da questa rara patologia sono raccolte ed analizzate da un Registro Internazionale che elenca oltre 280 casi di CAPS, dall'analisi dei quali è stato possibile dedurre alcune importanti nozioni di utilità

diagnostica e prognostica non altrimenti evidenziabili, vista l'impossibilità di sviluppare studi clinici controllati nel caso di una malattia così rara ed acuta. In particolare si sono registrate le seguenti caratteristiche [79]:

- *caratteristiche dei pazienti*: per la maggior parte femmine (F:M=2,4:1), età media 37 ± 14 anni;
- *fattori precipitanti*: la CAPS è frequentemente preceduta da alcune condizioni quali infezioni (21%), neoplasie (7,6 %), interventi chirurgici (7%), sospensione o riduzione del trattamento anticoagulante (7%), farmaci (in particolare estroprogestinici) (5,6%), complicanze ostetriche (5%), riacutizzazioni di LES (3%), traumi (1%). In oltre il 40% dei casi non è però possibile identificare un evento scatenante;
- *fenomeni tromboembolici*: prevalgono le trombosi dei piccoli vasi, prevalentemente renali, cerebrali, polmonari, cardiaci e cutanei; inoltre frequenti sono gli ictus cerebrali e gli infarti miocardici;
- *mortalità*: la mortalità è del 46% circa ed è dovuta principalmente a coinvolgimento cerebrale e cardiaco, infezioni e insufficienza multiorgano.

Una recente revisione dei dati del Registro [79] ha tuttavia evidenziato dopo il 2001 una riduzione della mortalità dal 50 % [80,81] circa al 33,3%. Ciò, a parere degli autori, è verosimilmente dovuto ad un approccio terapeutico più precoce ed aggressivo, comprendente anticoagulanti, steroidi, plasmaferesi, immunoglobuline endovena e farmaci immunosoppressori [79,82]. Tuttavia non ci sono raccomandazioni chiare sulla gestione di questa sindrome e a causa della sua rarità e della sua alta letalità non è stato possibile effettuare studi randomizzati controllati. L' "International Consensus Statement" [24] sulla CAPS del 2003 raccomanda un algoritmo di trattamento con anticoagulanti e steroidi, ai quali vanno associati, qualora le condizioni del paziente siano critiche, trattamenti aggiuntivi quali PF e/o Ig ev. Tuttavia, l'ultima revisione dei dati del Registro Internazionale riporta che il regime terapeutico con il miglior tasso di remissione (77,8%) è quello comprendente anticoagulazione, steroidi e PF, sottolineando così il ruolo preminente di quest'ultima [79,83,84]. Mentre la validità della PF nel trattamento della CAPS è stata riconosciuta, le modalità d'esecuzione non sono standardizzate, soprattutto per quanto riguarda la tempistica di inizio/sospensione

del trattamento, la frequenza delle sedute e la scelta del liquido di sostituzione. Quest'ultimo, in particolare, continua ad essere un argomento controverso [85,86]. La maggior parte dei dati riportati nel Registro della CAPS infatti si riferiscono all'uso di plasma fresco congelato [86], come raccomandato dal "Consensus Statement" del 2003 [24] e dalle Linee Guida 2007 della Società Americana di Aferesi [33].

Le indicazioni del "Consensus statement" indicano l'utilizzo del plasma soprattutto in presenza di schistociti, enfatizzando la possibilità di una sindrome "overlap" con la porpora trombotica trombocitopenica (TTP). Questa nuova sottocategoria, recentemente nominata "sindrome da antifosfolipidi microangiopatica" [87] sarebbe una CAPS con alcune caratteristiche della TTP, nella quale in effetti il trattamento di scelta consiste nella somministrazione di plasma fresco congelato (FFP) o plasma criodepleto [88]. Il FFP contiene anticoagulanti naturali, quale ATIII, ma anche fattori coagulanti che potrebbero peggiorare la "tempesta trombotica" caratteristica della CAPS. Una revisione della letteratura sull'argomento mostra opzioni molto discordanti, comprendenti FFP [81,89-97], plasma solvente/detergente [50], soluzione albuminata [96-99]. Koenig et al [100] descrissero il caso di una diciannovenne affetta da APS primaria che sviluppò una sindrome HELLP durante la gravidanza, complicata da CAPS con infarti epatici ed intestinali, necrosi del midollo osseo e severa trombocitopenia durante il puerperio. In questa paziente non si ottenne alcuna risposta al trattamento con PF con FFP mentre guarì in seguito alla somministrazione di Ig ev e anticoagulanti. Inoltre, Espinosa et al [99] descrissero il caso di un uomo di 32 anni con una malattia microangiopatica con coinvolgimento cerebrale, renale e cardiaco e un marcato incremento degli aPL che guarì dopo PF con soluzione di albumina come fluido di rimpiazzo. In una recente revisione della letteratura Erkan [85] ha sottolineato una serie di controversie riguardanti la gestione terapeutica della CAPS, in particolare per quanto riguarda l'esatto ruolo del plasma nella PF. Egli conclude che "non si sa se la PF con l'utilizzo di plasma o di un diverso fluido di rimpiazzo quale l'albumina umana porterebbe ad un diverso andamento della CAPS".

CASI CLINICI

Sono stati seguiti 4 casi di CAPS definita o probabile nell'arco di un ventennio (1986-2006).

Caso n°1 [101]

Una paziente di 13 anni veniva ricoverata nel maggio 1986 per ipertensione severa, febbre, convulsioni, stato stuporoso, eritema palmare, oliguria ed ematuria. I sintomi erano comparsi dopo una intossicazione alimentare. L'elettroencefalogramma dimostrava anomalie diffuse severe, mentre esame del liquor, TC cerebrale ed esame oftalmoscopico erano nella norma. Un'ecocardiografia evidenziava un lieve versamento pericardico. Gli esami biumorali mostravano lieve anemia, incremento di VES, transaminasi, γ GT e fosfatasi alcalina, oltre a microematuria e proteinuria. Si rilevava la presenza di anticorpi anti-nucleo (ANA) a basso titolo, attività LA e alti livelli di aCL; gli anti- β_2 GPI non venivano dosati. Si iniziava trattamento con PF (con albumina come liquido di sostituzione), prednisone (50 mg/die) e antipertensivi. Un'ecografia e un'angioscintigrafia mostravano un rene sinistro piccolo e ipoperfuso e stenosi di entrambe le arterie renali all'origine (*Figura 6*), mentre un'angiografia selettiva evidenziava stenosi dell'arteria mesenterica superiore.



Figura 6: angiografia renale della paziente n°1

Veniva eseguita un'angioplastica percutanea ottenendo la dilatazione apparentemente appropriata dell'arteria renale destra. La funzione renale si deteriorava ulteriormente e una scintigrafia renale successiva mostrava una riduzione del flusso coinvolgente anche il rene destro. Si iniziava trattamento con warfarin, ma sottodosato e la paziente presentava un ictus ischemico. Veniva pertanto aggiunto ciclofosfamide 50 mg/die al trattamento in atto (prednisone, warfarin, PF settimanale). Le sedute di PF venivano lentamente diradate e infine sospese dopo 16 mesi. Successivamente è stato diagnosticato il LES sulla base di poliartrite, eritema, pericardite, epilessia, insufficienza renale, leucopenia, positività degli ANA. Nel 2006 la paziente ha presentato anche un infarto miocardico. Attualmente è in trattamento con warfarin, acido acetilsalicilico a basso dosaggio, antipertensivi e fenobarbital.

Caso n°2 [102]

Una paziente di 23 anni veniva ricoverata nel novembre 1990 per la comparsa di aree necrotiche con alone eritematoso al padiglione auricolare sinistro e alla guancia sinistra ed edema delle labbra. La biopsia del lobo dell'orecchio dimostrava trombosi dei vasi dermici senza infiltrato infiammatorio

Si riscontravano attività LA, alti livelli di aCL IgG e IgM, ANA a titolo medio e anticorpi antimitocondrio tipo M5. Pochi giorni dopo il ricovero la paziente presentava infarto renale e infarto surrenalico bilaterale con infarcimento emorragico (*Figura 7*) e dopo circa 7 giorni dall'ospedalizzazione comparivano anemia emolitica e trombocitopenia autoimmune.



Figura 7: scansione TC che evidenzia l'infarto surrenalico sinistro (freccia) della paziente n°2

Si iniziava trattamento con PF e boli di metilprednisolone (500 mg/die per 4 giorni, poi 80 mg/die) con graduale miglioramento clinico e normalizzazione dei parametri emocromocitometrici nei successivi 20 giorni. Al 23° giorno dal ricovero veniva diagnosticata una trombosi della vena poplitea sinistra e si prescriveva terapia warfarinica (INR 2,0-3,0) in aggiunta al metilprednisolone (80 mg/die) e a 2 sedute di PF/settimana, poi lentamente diradate. Dopo 2 mesi, nonostante terapia anticoagulante adeguata (INR 2,4), metilprednisolone (40 mg/die) e sedute quindicinali di PF si manifestava un'embolia polmonare bilaterale. Pertanto venivano intensificate le sedute aferetiche a 2/settimana ed incrementata la posologia del warfarin (INR 3,0-4,5) ottenendo un rapido miglioramento clinico. Le sedute di PF erano poi nuovamente ridotte e sospese dopo 2 mesi. Successivamente la paziente ha manifestato anche artrite ed eritema ed è stato diagnosticato un LES. Attualmente assume warfarin (INR tra 2,5 e 3,5), idrossiclorochina, metilprednisolone a basso dosaggio e cortisone acetato come terapia sostitutiva per l'insufficienza surrenalica cronica conseguente all'infarto surrenalico.

Caso n°3 [77]

Una donna di 33 anni era stata inviata nel febbraio 1988 al nostro ambulatorio per comparsa di ritardo di crescita intrauterino alla 16^a settimana gestazionale (sg) della sua prima gravidanza. Venivano rilevati attività LA, alti livelli di aCL e anti- β_2 GPI di classe IgG e ANA a titolo medio. Si iniziava terapia con eparina calcica (15000 U/die suddivise in 3 somministrazioni) ma alla 23^a sg era registrata la morte intrauterina del feto con successiva induzione di parto vaginale. Nel post-partum la paziente iniziava a manifestare segni e sintomi di sindrome HELLP (emolisi, elevazione degli enzimi epatici, piastrinopenia), pertanto veniva trasferita in terapia intensiva dove si iniziava il trattamento con FFP. Tuttavia le condizioni peggioravano, con comparsa di ipertensione, proteinuria (>1 g/24 h) e lesioni microangiopatiche della cute di braccia e dita delle mani e dei piedi (*Figura 8*).



Figura 8: lesioni microangiopatiche cutanee della paziente n°3

Inoltre si aggravavano la piastrinopenia e l'anemia e la paziente lamentava algia addominale associata a segni strumentali di colecistite alitiasica. Veniva diagnosticata una CAPS con insufficienza multiorgano e la paziente era trattata con eparina calcica a dose terapeutica (22000 U/die) e PF utilizzando albumina come fluido di rimpiazzo. Dopo 6 sedute di PF in 10 giorni si registrava la completa remissione clinica e dei parametri biochimici. Durante il follow-up la paziente ha sviluppato un'epatite cronica autoimmune con caratteristiche lupus-like quali artralgie, leucopenia e bassi livelli di anticorpi anti-DNA nativo. Attualmente è in trattamento con warfarin, colchicina, azatioprina ed insulina essendo successivamente comparso diabete mellito di tipo II.

Caso n°4 [77]

Una donna di 34 anni veniva ricoverata presso il proprio Ospedale di riferimento nel maggio 2006 per la comparsa di lesioni necrotiche alle dita delle mani, aree necrotiche focali surrenaliche ed epatiche riscontrate alla TC, convulsioni (con TC e RMN cerebrali normali), insufficienza renale, anemia e trombocitopenia. La sintomatologia era insorta 1 mese dopo l'inizio dell'assunzione di trattamento estroprogestinico. Il quadro clinico, associato a segni biochimici di emolisi con schistociti allo striscio periferico portavano ad una prima diagnosi di TTP, per cui si iniziava la terapia standard per questa patologia consistente in trattamento steroideo associato a sedute quotidiane di PE con plasma come liquido di

rimpiazzo. Le condizioni della paziente tuttavia non miglioravano dopo 7 sedute aferetiche, pertanto veniva trasferita presso il nostro ospedale dove venivano rilevati attività LA ed elevati livelli di aCL e anti- β_2 GPI di classe IgG, mentre i livelli di ADAMTS-13 erano nella norma e non erano presenti anticorpi anti-ADAMTS-13. Veniva quindi diagnosticata una CAPS con coinvolgimento microangiopatico e si passava a sedute di PF utilizzando albumina come liquido di sostituzione, continuando la terapia steroidea (prednisone 80 mg/die) ed associandovi eparina in infusione continua successivamente embricata con warfarin. Le condizioni cliniche e i parametri bioumorali della paziente miglioravano e si sospendeva il trattamento aferetico dopo 11 sedute. La paziente veniva dimessa in terapia anticoagulante orale (INR 2,0-3,0) ed antiaggregante. Dopo 3 mesi a causa di una scorretta interpretazione delle indicazioni mediche la paziente sospendeva la terapia anticoagulante. Il giorno dopo comparivano convulsioni, lesioni ischemiche bilaterali delle mani, febbre, trombocitopenia e lieve insufficienza renale. Veniva diagnosticata una recidiva di CAPS, regredita rapidamente con terapia anticoagulante, steroidea e 5 sedute di PF.

DISCUSSIONE

Abbiamo potuto analizzare le caratteristiche di 4 pazienti con CAPS definita o possibile. Appare degno di nota il fatto che tutte le pazienti siano sopravvissute nonostante l'alta letalità di questa patologia. Questo fatto è ancor più notevole se si considera che 3 delle 4 pazienti presentavano LES o caratteristiche lupus-like che, in base ai dati del Registro CAPS Internazionale, aggravano ulteriormente la prognosi essendo associati ad una mortalità più elevata [79]. Tutte le pazienti sono state trattate con PF iniziata prontamente entro una settimana dall'ospedalizzazione per contrastare precocemente la "tempesta trombotica" tipica della sindrome. La PF, infatti, non solo rimuove gli anticorpi patogeni, ma anche fattori della coagulazione, citochine e prodotti di attivazione del complemento che possono contribuire alla patogenesi della malattia. La nostra esperienza, pur limitata, sembra indicare l'utilità di iniziare il trattamento aferetico il prima possibile, specialmente nel caso di pazienti in condizioni critiche. La scelta del liquido di rimpiazzo di scelta in questi pazienti resta controversa. Sia il plasma FFP che l'albumina hanno "pro" e "contro". Il plasma può ricostituire direttamente i livelli di ATIII, anche se concentrati commerciali di ATIII sono agevolmente reperibili; inoltre, come nella TTP [103] anche in alcuni casi di CAPS [104] si è evidenziato un decremento dei livelli di attività ADAMTS-13, che il plasma è in grado di ripristinare. Sfortunatamente, l'attività ADAMTS-13 non è routinariamente determinabile in molti casi e perciò non si può adottare come regola per la scelta del fluido di rimpiazzo. L'albumina umana, a differenza del plasma, non contiene fattori in grado di stimolare la coagulazione sanguigna; di conseguenza, permette un miglior mantenimento dell'anticoagulazione, essenziale nel trattamento della CAPS. Quest'ultima caratteristica sembra aver giocato un ruolo fondamentale nelle nostre pazienti inizialmente trattate con FFP (casi n° 3 e 4), nelle quali il quadro clinico è peggiorato dopo l'infusione di plasma ma è migliorato con le sedute di PF utilizzando albumina come liquido di sostituzione. In particolare la storia della paziente n°3 appare analoga ad alcuni casi riportati in letteratura [105,106] di pazienti affette da APS con sindrome HELLP refrattaria al trattamento con FFP. In proposito Asherson [87] ipotizza l'esistenza di una sindrome "overlap"

HELLP/CAPS, nella quale la risposta alla PF sarebbe dovuta alla rimozione degli aPL e forse di altri fattori ancora ignoti e non dovuta alla somministrazione di anticoagulanti naturali presenti nel plasma. Egli inoltre sottolinea come il plasma contenga sostanze quali fattore di von Willebrand e suoi multimeri ad alto peso molecolare caratterizzati da elevata capacità di attivare l'aggregazione piastrinica. Inoltre, come suggerito da Uthman et al [86], l'utilizzo dell'albumina permetterebbe di ridurre l'incidenza di reazioni avverse alla PF, in gran parte trasfusionali/allergiche indotte dal plasma utilizzato come liquido di rimpiazzo.

Non è possibile sostenere che nelle nostre pazienti l'efficacia del trattamento sia totalmente attribuibile alla terapia aferetica, in quanto una di esse assumeva anche anticoagulanti e le altre anticoagulanti e steroidi ad alte dosi. È inoltre difficile comparare i nostri risultati con quelli di altri studi a causa della disomogeneità nei protocolli di trattamento impiegati. Tuttavia i nostri dati confermano quelli del Registro CAPS Internazionale, secondo cui un regime terapeutico che combini più trattamenti tra cui la PF è associato al miglior tasso di guarigione. Nel nostro caso, inoltre, il tasso di successo si è rilevato superiore al previsto e la procedura aferetica si è dimostrata sicura e ben tollerata.

CONCLUSIONI

Non è possibile ovviamente trarre conclusioni nette dall'analisi di una serie di pazienti così limitata; abbiamo comunque implementato alcune indicazioni di trattamento da applicare nei casi di CAPS:

- la PF va iniziata quanto prima, appena venga posto il sospetto diagnostico;
- il liquido di sostituzione di scelta è l'albumina al 4-5% in soluzione fisiologica;
- la PF andrà effettuata a cadenza quotidiana nei primi 3 giorni, successivamente diradata e sospesa in base alle condizioni cliniche;
- la PF va associata ad altri trattamenti quali anticoagulanti a dosaggio terapeutico e steroidi;
- la supplementazione di ATIII va presa in considerazione qualora i pazienti presentino livelli pre-aferesi al limite o sotto il limite inferiore di norma.

IL BLOCCO CARDIACO CONGENITO

AUTOIMMUNE [107]

Il blocco cardiaco congenito isolato (secondo l'acronimo internazionale CHB) è una malattia rara riscontrata in circa 1:20000 nati [108]. Si tratta di un blocco atrioventricolare (BAV), diagnosticato ecocardiograficamente o elettrocardiograficamente alla nascita o in età perinatale, non associato ad alterazioni cardiache strutturali, miocardite, uso di farmaci con effetto aritmogeno [109]. In oltre l'85% dei casi esso è correlato alla trasmissione placentare al feto di anticorpi materni anti-SSA/Ro e/o anti-SSB/La [110,111]. La frequenza di CHB nelle gravidanze di donne positive per anti-SSA o anti-SSB è di circa il 2% [112], ma il tasso di ricorrenza in gravidanze successive sale fino al 15-20% [113-115]. Questi anticorpi vengono ritenuti responsabili dell'induzione del Lupus neonatale, che può presentarsi con tipico rash cutaneo nelle prime settimane dopo la nascita, danno epatico transitorio di tipo colestatico, disturbi ematologici transitori (anemia, leucopenia, piastrinopenia) e, appunto, con CHB, che ne rappresenta la manifestazione più frequente e grave. Esso è associato ad un elevato tasso di mortalità fetale e neonatale (16-19%) [114,115] e di morbidità, con necessità di posizionamento di pace-maker in oltre il 60% dei bambini [110,116,117].

La malattia sembra dovuta al passaggio transplacentare degli anticorpi materni in una fase di particolare vulnerabilità del cuore fetale [118] (17^a – 24^a settimana gestazionale) [119]. La patogenesi della lesione cardiaca non è chiara, si ipotizza che gli anticorpi si leghino agli antigeni SSA e SSB, usualmente intracellulari, traslocati sulla superficie di miocardiociti apoptotici durante l'ontogenesi fetale [120,121]. Questo porterebbe ad una reazione infiammatoria con successiva risposta fibrotica a livello del tessuto di conduzione, responsabile dell'aritmia [122,123]. Tale lesione sarebbe progressiva, con un avanzamento del blocco atrioventricolare da forme incomplete al CHB completo. Quest'ipotesi è supportata dal riscontro di blocco atrioventricolare di I grado in circa il 30% dei feti di madri con anti-SSA [124], contro il 2% dei casi di CHB completo; questo ha fatto ipotizzare una mancata evoluzione o regressione spontanea del blocco in molti

casi. Inoltre vi sono segnalazioni di progressione del CHB durante la gravidanza [124], nonché di mancata progressione o regressione dello stesso (quando incompleto) in pazienti trattate con steroidi fluorinati [124-127] che non essendo inattivati dagli enzimi placentari sono in grado di raggiungere il cuore fetale. L'utilizzo del trattamento steroideo è stato anche associato a regressione dei segni di idrope fetale e a una miglior prognosi globale anche dei casi di CHB completo [124,125,128], verosimilmente per la concomitante azione del farmaco sul miocardio fetale, anch'esso interessato dal processo infiammatorio [129,130]. Appare pertanto giustificato il tentativo di arrestare la progressione del danno sia a livello del tessuto di conduzione che degli altri tessuti cardiaci non solo mediante il trattamento steroideo ma anche con la rimozione degli anticorpi patogeni per mezzo di tecniche aferetiche [131-133]. Buyon et al [130] hanno riportato l'efficacia del regime combinato desametasone – plasmaferesi (3 sedute/settimana) in un caso di CHB fetale associato a pericardite e miocardite, in cui dopo 5 settimane di trattamento si assisteva ad un miglioramento della condizione cardiaca del feto, pur persistendo il CHB. Claus et al [132] invece riportavano l'efficacia del trattamento con desametasone - immunoadsorbimento in un caso di CHB complicato da idrope fetale, che regrediva pur persistendo il BAV. Analogamente Hickstein et al [133] riportavano la regressione dell'idrope con l'utilizzo dell'immunoadsorbimento in un caso di CHB completo.

CONFRONTO TRA BLOCCO CARDIACO CONGENITO AUTOIMMUNE E NON AUTOIMMUNE

Dal 1989 al 2007 sono giunti presso l' U.O. di Reumatologia di Padova e l'Ospedale Niguarda di Milano 45 casi di CHB fetale isolato. L'analisi statistica è stata effettuata utilizzando il Software SPSS versione 14.0.

Trentasei feti (80%) erano di madri positive per anti-SSA e/o anti-SSB, 9 (20%) invece di madri sieronegative. (*Tabella 2*)

Casi associati ad anticorpi anti-SSA/SSB:

Undici madri erano asintomatiche, 12 erano affette da Sindrome di Sjögren, 11 da Connettivite Indifferenziata e 2 da LES. Il rapporto maschi/femmine (M/F) era 11/27.

Tra i nati il rapporto maschi/femmine era 11/25. L'età gestazionale media al momento del riscontro di CHB era $23,0 \pm 2,9$ settimane gestazionali (sg). In 34 casi il BAV era completo in utero e si è mantenuto stabile; mentre in due casi era incompleto, in uno dei quali dopo somministrazione materna di desametasone, è regredito a ritmo sinusale con BAV di 1° grado; l'altro caso, trattato con desametasone e plasmaferesi, viene descritto successivamente. Dieci dei 36 bambini sono deceduti: 6 in utero (di cui 4 per interruzione volontaria di gravidanza) e 4 dopo la nascita, di cui 1 improvvisamente e 3 entro tre mesi dalla nascita per insufficienza cardiaca. Un bambino ha sviluppato cardiomiopatia dilatativa severa all'età di 1 anno e all'età di 17 anni è stato sottoposto a trapianto cardiaco. La frequenza cardiaca media alla nascita era $60 \pm 21,8$ battiti/minuto (bpm); 26 dei 30 nati sono stati sottoposti ad impianto di pace-maker.

Casi non associati ad anticorpi anti-SSA/SSB:

Otto madri erano asintomatiche, una madre presentava fenomeno di Raynaud e fotosensibilità.

Tra i nati il rapporto maschi/femmine era 4/5. L'età gestazionale media al momento del riscontro di CHB era $30,6 \pm 7,3$ sg. La frequenza cardiaca media alla nascita era di $71,6 \pm 27,45$ bpm. Tre blocchi atrioventricolari (tutti di II grado) sono stati diagnosticati alla nascita, avvenuta mediante cesareo praticato per riscontro

di bradicardia fetale. Tre dei 9 bambini presentavano un BAV di III grado stabile in utero; altri 2 presentavano blocco di II grado stabile. Negli altri 4 casi il blocco era instabile: dopo la nascita 2 progredivano da II a III grado e 2 regredivano a ritmo sinusale. Un caso di BAV completo intermittente in utero, dopo il trattamento della madre con steroidi fluorinati, è regredito a ritmo sinusale. Si è registrato 1 caso di BAV intermittente dopo la nascita. Tre dei 9 bambini sono deceduti, tutti dopo la nascita: uno all'età di 15 giorni per insufficienza cardiaca con ipertensione polmonare e distress respiratorio, una è morta improvvisamente a 2 mesi, uno a 4 mesi per polmonite. Sei dei 9 bambini sono stati sottoposti ad impianto di pace-maker .

Tabella 2: confronto tra CHB autoimmuni (36) e non autoimmuni (9)

	SSA/SSB positivi	SSA/SSB negativi	Metodo statistico	p Significatività <0,05
Decessi	10 (27,78%)	3 (33,33%)	test esatto di Fisher	0,704
Maschi/femmine	11/25	4/5	test esatto di Fisher	0,454
Età gestazionale al riscontro di CHB	23,03 ± 3,9	30,56 ± 7,3	test U di Mann-Whitney	0,005
Frequenza cardiaca minima in utero (bpm)	57,17 ± 11,92	62,89 ± 24,93	test U di Mann-Whitney	0,628
Età gestazionale alla nascita (settimane)	34,67 ± 3,41	35,67 ± 3,53	test t di Student	0,400
Peso alla nascita (g)	2168,67 ± 606,61	2567,78 ± 659,05	test t di Student	0,098
Lunghezza alla nascita (cm)	38,16 ± 8,15	44,44 ± 5,98	test U di Mann-Whitney	0,073
Apgar 1^ minuto	7,63 ± 2,24	7,44 ± 1,24	test U di Mann-Whitney	0,241
Apgar 5^ minuto	8,71 ± 1,52	8,78 ± 1,00	test U di Mann-Whitney	0,433
Frequenza cardiaca media alla nascita	59,20 ± 21,13	70,67 ± 27,82	test U di Mann-Whitney	0,165
BAV incompleti alla fine del follow-up	1 (2,78%)	4 (44,44%)	test esatto di Fisher	0,004
BAV stabili e completi in utero	34 (94,44%)	3 (33,33%)	test esatto di Fisher	0,000
BAV riscontrati alla nascita	0	3 (33,33%)	Test esatto di Fisher	0,006
Impianto di Pace-maker (PM)	26 (72,22%)	6 (66,67%)	test esatto di Fisher	0,704
Età media all'impianto del PM (giorni)	454,12 ± 1056,89	87,83 ± 142,93	test U di Mann-Whitney	0,497
Madri asintomatiche	11/36 (30,55%)	8/9 (88,89%)	test esatto di Fisher	0,002

LA PLASMAFERESI IN UN CASO CLINICO DI BLOCCO CARDIACO CONGENITO AUTOIMMUNE

Una donna di 26 anni si presentava presso i nostri ambulatori all'8^a sg della sua prima gravidanza. La paziente era affetta da Sindrome di Sjögren, diagnosticata 1 anno prima sulla base di xerostomia, xeroftalmia, riscontro di infiltrato linfocitario di 1° grado in una ghiandola salivare minore e positività degli anticorpi anti-SSA/Ro (52 e 60 kD). L'anamnesi familiare rilevava una sorella affetta da CHB. In considerazione della presenza dell'anti-SSA/Ro veniva consigliato alla paziente di eseguire ecocardiogrammi fetali seriati. Alla 17^a sg si rilevava normale frequenza e morfologia cardiaca. Alla 18^asg la paziente presentava edema ed eritema delle dita dei piedi, non associato a dolenzia o altra sintomatologia; l'ecocolordoppler vascolare non rilevava alterazioni. Alla 19^a sg una ecografia ostetrica fetale era nella norma, registrando una normale frequenza cardiaca fetale ma alla 22^a sg si evidenziava bradicardia fetale, confermata da un'ecocardiografia fetale che mostrava un BAV avanzato di II grado. Si decideva pertanto di intraprendere un protocollo terapeutico comprendente desametasone (4 mg/die) e PF (1 seduta/die per 3 giorni e poi 1/settimana) con procedura analoga a quanto riportato in precedenza (pag 15) al fine di contrastare la progressione del danno. L'eritema e l'edema delle dita della paziente scomparivano dopo pochi giorni dall'inizio del trattamento. Alla 24^a sg un nuovo ecocardiogramma fetale evidenziava un ritmo sinusale 115/130 battini/minuto (bpm) alternato a un BAV di II grado predominante, reperto confermato dai successivi ecocardiogrammi quindicinali. L'anatomia e la funzionalità del cuore erano normali, non erano presenti ascite, versamento pericardico né pleurico. Alla 39^a sg veniva programmato il taglio cesareo con nascita di una bambina di 2440 g, Apgar 9 e 10 (a 1 e 5 minuti rispettivamente), sana, senza alterazioni cutanee e con esami ematochimici nella norma, compresi i livelli immunoglobulinici. A 24 ore dalla nascita un ECG evidenziava un BAV di II grado 2:1 tipo Mobitz II con una frequenza cardiaca di 75 bpm, venivano rilevati anche tratti di ritmo sinusale con frequenza 100 bpm. All'età di 14 mesi la bambina sviluppava un blocco di II grado avanzato. All'età di 27 mesi

il blocco è progredito a blocco completo di III grado con frequenza media di 72 bpm (minimo 42 e massimo 103 bpm); non è stato necessario l'impianto di pacemaker fino all'età di 4 anni. La bambina presentava anticorpi anti-SSA (52 e 60 kD) alla nascita, non più rilevati all'età di 8 mesi.

DISCUSSIONE

Le reali percentuali di positività degli anticorpi anti-SSA e/o anti-SSB nelle madri di feti affetti da CHB non sono note, infatti le diverse casistiche danno frequenze diverse secondo le metodiche più o meno sensibili utilizzate per il dosaggio e della formazione, reumatologica [109] o cardiologica [116], degli autori. È difficile distinguere i blocchi completi ed incompleti in utero [134], ma è stato suggerito che i CHB completi siano associati maggiormente agli anticorpi anti-SSA/SSB e gli incompleti siano più frequentemente sieronegativi [135-139]. Il nostro studio ha evidenziato anche tra i CHB negativi casi di CHB completo in utero. I CHB non autoimmuni erano riscontrati in età gestazionale più tardiva, erano più frequentemente incompleti, meno stabili e con età gestazionale più avanzata alla nascita, frequenza cardiaca maggiore ed evoluzione spontanea più favorevole. La mortalità era simile, ma nei casi con CHB non autoimmune avveniva sempre dopo la nascita. La prognosi dei casi di CHB non autoimmune appariva quindi migliore rispetto a quella dei CHB autoimmuni, pur essendo i primi talora diagnosticati più tardivamente di questi ultimi. La diversa prognosi nelle due tipologie di CHB potrebbe essere motivata dalla concomitante componente infiammatoria del CHB autoimmune, coinvolgente non solo il tessuto di conduzione ma anche i restanti tessuti cardiaci. Questo fatto darebbe ulteriore supporto all'utilizzo di metodiche mirate alla riduzione del processo infiammatorio e alla rimozione degli anticorpi che lo perpetuano; inoltre, nel caso di BAV incompleto, la rimozione anticorpale e lo "spegnimento" del processo infiammatorio potrebbero ostacolare la progressione del danno e conseguentemente del blocco.

L'andamento del caso clinico qui riportato sembra supportare l'utilità dell'approccio terapeutico con steroide fluorinato e plasmateresi. Infatti, pur in presenza di bradicardia il feto non ha evidenziato in utero segni di scompenso ed è stato

possibile prolungare la gravidanza fino alla 39^a sg, con nascita di una bambina vitale e reattiva. Inoltre il BAV si è mantenuto incompleto e di grado non avanzato per oltre 1 anno, progredendo solo successivamente. Questo ha permesso l'impianto del pace-maker in epoca tardiva, e ciò ha verosimilmente contribuito al miglioramento della prognosi della bambina, viste anche le segnalazioni di miocardiopatia correlata al precoce impianto di pace-maker nei bambini affetti da CHB [140].

CONCLUSIONI

Il nostro studio ha evidenziato una prognosi peggiore nei casi di CHB autoimmune rispetto ai casi di CHB non autoimmune. Tuttavia la nostra esperienza di trattamento con plasmateresi associata a steroide, pur limitata ad un solo caso, sembra confermare quanto riportato in letteratura sull'utilità della PF nel contrastare la progressione della lesione cardiaca, per quanto concerne sia l'evoluzione del BAV che del danno a livello degli altri tessuti cardiaci, riducendo il rischio di cardiomiopatia e migliorando la prognosi dei bambini affetti da CHB.

BIBLIOGRAFIA

1. Harris EN, Gharavi AE, Hughes GR. Anti-phospholipid antibodies. Clin Rheum Dis 1985;11:591–609.
2. Asherson RA, Khamashta MA, Ordi-Ros J, et al. The “primary” antiphospholipid syndrome: major clinical and serological features. Medicine (Baltimore) 1989;68:366–74.
3. Vianna JL, Khamashta MA, Ordi-Ros J et al. Comparison of the primary and secondary antiphospholipid syndrome. A European multicenter study of 114 patients. Am J Med 1994; 96: 3–9.
4. 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;4:295-306.
5. Wisloff F, Jacobsen EM, Liestol S. Laboratory diagnosis of the antiphospholipid syndrome. Thromb Res 2002; 108: 263–71.
6. Brandt JT, Triplett DA, Alving B, et al. Criteria for the diagnosis of lupus anticoagulants: an update. On behalf of the Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibody of the Scientific and Standardisation Committee of the ISTH. Thromb Haemost 1995; 74: 1185–90.
7. Harris EN, Pierangeli SS. Revisiting the anticardiolipin test and its standardization. Lupus 2002; 11: 269–75.
8. Wong RC, Gillis D, Adelstein S, et al. Consensus guidelines on anti-cardiolipin antibody testing and reporting. Pathology 2004; 36: 63–8.
9. Reber G, Tincani A, Sanmarco M, et al. Proposals for the measurement of anti-beta2-glycoprotein I antibodies. Standardization group of the European Forum on Antiphospholipid Antibodies. J Thromb Haemost 2004; 2: 1860–2.
10. Cervera R, Piette JC, Font J, Khamashta MA, et al. Antiphospholipid syndrome: clinical and immunologic manifestations and patterns of

- disease expression in a cohort of 1,000 patients. *Arthritis Rheum* 2002;46:1019-27.
11. Neville C, Rauch J, Kassis J, et al. Thromboembolic risk in patients with high titre anticardiolipin and multiple antiphospholipid antibodies. *Thromb Haemost* 2003; 90: 108–15.
 12. Obermoser G, Bitterlich W, Kunz F, Sepp NT. Clinical significance of anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I antibodies. *Int Arch Allergy Immunol* 2004; 135: 148–53.
 13. Pengo V, Biasiolo A, Pegoraro C, et al. Antibody profiles for the diagnosis of antiphospholipid syndrome. *Thromb Haemost* 2005; 93: 1147–52.
 14. Sailer T, Zoghiami C, Kurz C, et al. Anti-beta2-glycoprotein I antibodies are associated with pregnancy loss in women with the lupus anticoagulant. *Thromb Haemost* 2006; 95: 796–801.
 15. Ruffatti A, Tonello M, Del Ross T, et al. Antibody profile and clinical course in primary antiphospholipid syndrome with pregnancy morbidity. *Thromb Haemost* 2006;96:337-41.
 16. Ruffatti A, Del Ross T, Ciprian M, et al. Risk factors for a first thrombotic event in antiphospholipid antibody carriers. A multicenter retrospective follow-up study. *Ann Rheum Dis*. 2008 (in press).
 17. Levine JS, Ware Branch D, Rauch J. The antiphospholipid syndrome. *N Engl J Med* 2002; 346:752-63.
 18. Prandoni P, Simioni P, Girolami A. Antiphospholipid antibodies, recurrent thromboembolism, and intensity of warfarin anticoagulation. *Thromb Haemost* 1996; 75:859.
 19. Crowther MA, Ginsberg JS, Julian J, et al. A comparison of two intensities of warfarin for the prevention of recurrent thrombosis in patients with the antiphospholipid antibody syndrome. *N Engl J Med* 2003; 349:1133-8.

20. Levine SR, Brey RL, Tilley BC, et al. Antiphospholipid antibodies and subsequent thrombo-occlusive events in patients with ischemic stroke. *JAMA* 2004; 291:576-84.
21. Derksen RHWM, de Groot PHG, Nieuwenhuis HK. Patients with antiphospholipid antibodies and venous thrombosis should receive long-term anticoagulation. *Ann Rheum Dis* 1993; 52:689-92.
22. Khamastha MA, Ciadrado MJ, Mujic F, et al. The management of thrombosis in the antiphospholipid-antibody syndrome. *N Engl J Med* 1995; 332:993-7.
23. Derksen RH, de Groot P. Do we know which patients with the antiphospholipid syndrome should receive long-term high dose anticoagulation? *J Autoimmun* 2000; 15:255-60.
24. Asherson RA, Cervera R, de Groot PG, et al. Catastrophic antiphospholipid syndrome: international consensus statement on classification criteria and treatment guidelines. *Lupus* 2003;12:530-4.
25. Tincani A, Branch W, Levy RA, et al. Treatment of pregnant patients with antiphospholipid syndrome. *Lupus* 2003;12:524-9.
26. Kutteh WH. Antiphospholipid antibody-associated recurrent pregnancy loss: treatment with heparin and low-dose aspirin is superior to low-dose aspirin alone. *Am J Obstet Gynecol* 1996;174:1584-9.
27. Rai R, Cohen H, Dave M, Regan L. Randomised controlled trial of aspirin and aspirin plus heparin in pregnant women with recurrent miscarriage associated with phospholipid antibodies (or antiphospholipid antibodies). *BMJ* 1997;314:253-7.
28. Rai RS, Clifford K, Cohen H, et al. High prospective fetal loss rate in untreated pregnancies of women with recurrent miscarriage and antiphospholipid antibodies. *Hum Reprod* 1995;10:3301-4.
29. Stone S, Hunt BJ, Seed PT, et al. Longitudinal evaluation of markers of endothelial cell dysfunction and hemostasis in treated antiphospholipid

- syndrome and in healthy pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2003;188:454-60.
30. Branch DW, Peaceman AM, Druzin M, et al. A multicenter, placebo-controlled pilot study of intravenous immune globulin treatment of antiphospholipid syndrome during pregnancy. The Pregnancy Loss Study Group. *Am J Obstet Gynecol* 2000;182:122-7.
 31. Erkan D, Lockshin MD. New treatments for antiphospholipid syndrome. *Rheum Dis Clin North Am* 2006;32:129-48.
 32. Kobayashi S, Tamura N, Tsuda H, Mokuno C, Hashimoto H, Hirose S. Immunoabsorbent plasmapheresis for a patient with antiphospholipid syndrome during pregnancy. *Ann Rheum Dis* 1992; 51:399-401.
 33. Szczepiorkowski ZM, Bandarenko N, Kim HC, et al. Guidelines on the use of therapeutic apheresis in clinical practice: evidence-based approach from the Apheresis Applications Committee of the American Society for Apheresis. *J Clin Apher* 2007;22:106-75.
 34. Bosch T. Therapeutic apheresis - State of the art in the year 2005. *Ther Apher Dial* 2005;9:459-68
 35. Klingel R, Göhlen B, Schwarting A, et al. Differential indication of lipoprotein apheresis during pregnancy. *Ther Apher Dial*. 2003 Jun;7(3):359-64.
 36. Shamseddine A, Chehal A, Usta I, et al. Thrombotic thrombocytopenic purpura and pregnancy: report of four cases and literature review. *J Clin Apher*. 2004;19:5-10.
 37. Wright CA, Tefferi A. A single institutional experience with 43 pregnancies in essential thrombocythemia. *Eur J Haematol*. 2001;66:152-9.
 38. Shieh S, Fang YV, Becker JL, et al. Pemphigus, pregnancy, and plasmapheresis. *Cutis*. 2004;73:327-9.

39. Yang K, Kenpe K, Yamaji K, et al. Plasma adsorption in critical care. *Ther Apher* 2002;6:184-8.
40. Kaplan AA: Towards a rational prescription of plasma exchange: The kinetics of immunoglobulin removal. *Semin Dial* 1992;5:227-229.
41. Kaplan AA: A simple and accurate method for prescribing plasma exchange. *Trans Am Soc Artif Intern Organs* 1990;36:M597-M599.
42. Ingram SB, Goodnight SH, Bennett RM. An unusual syndrome of a devastating non inflammatory vasculopathy associated with anticardiolipin antibodies: report of two cases. *Arthritis Rheum* 1987; 30:1167-72.
43. Briley DP, Coull BM, Goodnight SH. Neurological disease associated with antiphospholipid antibodies. *Ann Neurol* 1989; 25:221-7.
44. Frances C, Tribout B, Boisnic S, et al. Cutaneous necrosis associated with the lupus anticoagulant. *Dermatologica* 1989; 178:194-201.
45. Lacueva J, Enríquez R, Cabazuelo JB, et al. Acute renal failure as first clinical manifestation of the primary antiphospholipid syndrome. *Nephron* 1993; 64:479-80.
46. Durand J-M, Lefèvre P, Kaplanski G, et al. Antiphospholipid syndrome and plasma-exchange. *Nephron* 1994; 68:142.
47. Paydas S, Koçak R, Zorludemir S, et al. Bone marrow necrosis in phospholipid syndrome. *J Clin Pathol* 1997; 50:261-2.
48. Satomi A, Koiwa F, Ogata H, et al. Plasma-exchange for thrombocytopenia in antiphospholipid syndrome: a case report. *Ther Apher* 1998; 2:157-9.
49. Dornan RIP. Acute postoperative biventricular failure associated with antiphospholipid antibody syndrome. *Br J Anaesth* 2004; 92:748-54.
50. Sachais BS, Thompson JE, Strobl FJ. Use of plasma exchange, steroids, and anticoagulation in a patient with multiple arterial

- thromboses and IgM anticardiolipin antibodies. *J Clin Apher.* 2002;17:138-9.
51. Frampton G, Cameron JS, Thom M, et al. Successful removal of antiphospholipid antibody during pregnancy using plasma-exchange and low-dose prednisone. *Lancet* 1987; ii:1023-4.
 52. Roberts G, Gordon MM, Porter D, et al. Acute renal failure complicating HELLP syndrome, SLE and antiphospholipid syndrome: successful outcome using plasma-exchange therapy. *Lupus* 2003; 12:251-7.
 53. El Haieg DO, Zanati MF, El Foual FM. Plasmapheresis and pregnancy outcome in patients with antiphospholipid syndrome. *Int J Gynaecol Obstet* 2007;99:236-41.
 54. D'Ippolito S, Di Simone N, Di Nicuolo F, et al. Antiphospholipid antibodies: effects on trophoblast and endothelial cells. *Am J Reprod Immunol* 2007;58:150-8.
 55. Salmon JE, Girardi G. Antiphospholipid antibodies and pregnancy loss: A disorder of inflammation. *J Reprod Immunol* 2008;77:51-56.
 56. Pengo V, Biasiolo A, Marson P, et al. Immunosuppressive treatment in a heart transplantation candidate with antiphospholipid syndrome. *Clin Rheumatol* 1996; 15: 504-7.
 57. Zar T, Kaplan AA Predictable removal of anticardiolipin antibody by therapeutic plasma exchange (TPE) in catastrophic antiphospholipid antibody syndrome (CAPS). *Clin Nephrol.* 2008;70:77-81.
 58. Hauser AC, Hauser L, Pabinger-Fasching I, et al. The course of anticardiolipin antibody levels under immunoadsorption therapy. *Am J Kidney Dis* 2005;46:446-54.
 59. Yagi K, Kawano M, Haraki T, et al. Long-term efficacy of immunoadsorbent plasmapheresis in a patient with Budd-Chiari syndrome: case report with nine year follow-up. *Lupus* 2004; 13:135-8.

60. Maeshima E, Yamada Y, Kodama N, et al. Successful pregnancy and delivery in a case of systemic lupus erythematosus treated with immunoadsorption therapy and cyclosporin A. *Scand J Rheumatol* 1999; 28:54-7.
61. Nakamura Y, Yoshida K, Itoh S, et al. Immunoadsorption plasmapheresis as a treatment for pregnancy complicated by systemic lupus erythematosus with positive antiphospholipid antibodies. *Am J Reprod Immunol* 1999; 41:307-11.
62. Dittrich E, Schmaldienst S, Langer M, Jansen M, Horl WH, Derfler K. Immunoadsorption and plasma exchange in pregnancy. *Kidney Blood Press Res* 2002; 25:232-9.
63. Ruffatti A, Marson P, Pengo V, et al. Plasma exchange in the management of high risk pregnant patients with primary antiphospholipid syndrome. A report of 9 cases and a review of the literature. *Autoimmun Rev.* 2007;6:196-202.
64. Ruffatti A, Olivieri S, Tonello M, Bortolati M, et al. Influence of different IgG anticardiolipin antibody cut-off values on antiphospholipid syndrome classification. *J Thromb Haemost.* 2008;6:1693-6.
65. Bortolati M, Marson P, Chiarelli S, et al. Immunoadsorption or plasma-exchange in high risk pregnancies of women with Antiphospholipid Syndrome? Two case reports. *Therapeutic apheresis and dialysis, in press*
66. Redman CW, Bonnar J, Beilin L. Early platelet consumption in pre-eclampsia. *Br Med J* 1978;1:467-9.
67. Tek I, Arslan O, Arat M, et al. Effects of replacement fluids on coagulation system used for therapeutic plasma exchange. *Transfus Apher Sci* 2003;28:3-7.
68. Vora SK, Asherson RA, Erkan D. Catastrophic antiphospholipid syndrome. *J Intensive Care Med* 2006;21:144-59.

69. Ruffatti A, De Silvestro G, Ghirardello A, et al. A catastrophic antiphospholipid syndrome: the importance of high levels of warfarin anticoagulation. *J Intern Med* 1994;235:81-3.
70. Linenberger ML, Price TH. Use of cellular and plasma apheresis in the critically ill patient: part 1: technical and physiological considerations. *J Intensive Care Med* 2005;20:18-27.
71. Sapir T, Blank M, Shoenfeld Y. Immunomodulatory effects of intravenous immunoglobulins as a treatment for autoimmune diseases, cancer, and recurrent pregnancy loss. *Ann N Y Acad Sci* 2005;1051:743–78.
72. Montgomery RA, Zachary AA, Racusen LC, et al. Plasmapheresis and intravenous immune globulin provides effective rescue therapy for refractory humoral rejection and allows kidneys to be successfully transplanted into cross-match-positive recipients. *Transplantation* 2000;70:887-95.
73. Ibernón M, Gil-Vernet S, Carrera M, et al. Therapy with plasmapheresis and intravenous immunoglobulin for acute humoral rejection in kidney transplantation. *Transplant Proc* 2005;37:3743-5.
74. Fernandez-Jimenez MC, Jimenez-Marco MT, Hernandez D, et al. Treatment with plasmapheresis and intravenous immunoglobulin in pregnancies complicated with anti-PP1Pk or anti-K immunization: a report of two patients. *Vox Sang* 2001;80:117-20.
75. Bussel A, Boulechfar H, Naim R. Synchronisation d'épurations plasmatiques et d'immunoglobulines polyvalentes intraveineuses. Étude consécutive de 11 patients. *Ann Med Interne* 1993;144:532-8.
76. Williams D, Davison J. Chronic kidney disease in pregnancy. *BMJ*. 2008;26;336:211-5.
77. Marson P, Bagatella P, Bortolati M, et al. Plasma exchange for the management of the catastrophic antiphospholipid syndrome: importance of the type of fluid replacement. *J Intern Med*. 2008 Aug;264(2):201-3.

78. Bortolati M, Marson P, Fabris F, et al. Recovery from catastrophic antiphospholipid syndrome by a plasma exchange procedure: Report of four cases and review of the literature. *Autoimmun Rev*. 2008 in press.
79. Bucciarelli S, Espinosa G, Cervera R, Erkan D, Gómez-Puerta JA, Ramos-Casals M, et al. Mortality in the catastrophic antiphospholipid syndrome: causes of death and prognostic factors in a series of 250 patients. *Arthritis Rheum* 2006;54:2568-76.
80. Asherson RA, Cervera R, Piette JC, et al. Catastrophic antiphospholipid syndrome. Clinical and laboratory features of 50 patients. *Medicine (Baltimore)* 1998;77:195-207.
81. Asherson RA, Cervera R, Piette JC, et al. Catastrophic antiphospholipid syndrome: clues to the pathogenesis from a series of 80 patients. *Medicine (Baltimore)* 2001;80:355-77.
82. García-Carrasco M, Escárcega RO, Mendoza-Pinto C, et al. Preventing death in the catastrophic antiphospholipid (Asherson) syndrome. *Isr Med Assoc J* 2007;9:628-9.
83. Bucciarelli S, Cervera R, Espinosa G, et al. Mortality in the catastrophic antiphospholipid syndrome: causes of death and prognostic factors. *Autoimmun Rev* 2006;6:72-5.
84. Cervera R, Espinosa G, Bucciarelli S, et al. Lessons from the catastrophic antiphospholipid syndrome (CAPS) registry. *Autoimmun Rev* 2006;6:81-4.
85. Erkan D. Therapeutic and prognostic considerations in catastrophic antiphospholipid syndrome. *Autoimmun Rev* 2006;6:98-103.
86. Uthman I, Shamseddine A, Taher A. The role of therapeutic plasma exchange in the catastrophic antiphospholipid syndrome. *Transfus Apher Sci* 2005;33:11-7.
87. Asherson RA. New subset of the antiphospholipid syndrome in 2006: "PRE-APS" (probable APS) and microangiopathic antiphospholipid syndromes ("MAPS"). *Autoimmun Rev* 2006; 6:76–80.

88. Fontana S, Kremer Hovinga JA, Lammle B, et al. Treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. *Vox Sang* 2006; 90: 245–54.
89. Vivaldi P, Andreotti C, Mazzon C, et al. 'primitive' catastrophic antiphospholipid syndrome. *Haematologica* 1994;79: 173–6.
90. Miesbach W, Scharrer I, Asherson RA. Recurrent life-threatening thromboembolism and catastrophic antiphospholipid syndrome in a patient despite sufficient oral anticoagulation. *Clin Rheumatol* 2004; 23: 256–61.
91. Hayem G, Kassis N, Nicaise P, et al. Systemic lupus erythematosus-associated catastrophic antiphospholipid syndrome occurring after typhoid fever. A possible role of Salmonella lipopolysaccharide in the occurrence of diffuse vasculopathy-coagulopathy. *Arthritis Rheum* 1999;42:1056-61.
92. Sinha J, Chowdhry I, Sedan S, et al. Bone marrow necrosis and refractory HELLP syndrome in a patient with catastrophic antiphospholipid antibody syndrome. *J Rheumatol* 2002;29:195-7.
93. Koschmieder S, Miesbach W, Fauth F, et al. Combined plasmapheresis and immunosuppression as rescue treatment of a patient with catastrophic antiphospholipid syndrome occurring despite anticoagulation: a case report. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2003;14:395-9.
94. Matsuda J, Sanaka T, Gohchi K, et al. Occurrence of thrombotic thrombocytopenic purpura in a systemic lupus erythematosus patient with antiphospholipid antibodies in association with a decreased activity of von Willebrand factor-cleaving protease. *Lupus* 2002;11:463-4.
95. Starakis I, Mazokopakis E, Siagris D, et al. Catastrophic antiphospholipid syndrome presented with severe hypertension, adult respiratory distress syndrome and unilateral adrenal haemorrhagic infarction. *Rheumatol Int* 2007;27:781-3.

96. Neuwelt CM, Daikh DI, Linfoot JA, et al. Catastrophic antiphospholipid syndrome: response to repeated plasmapheresis over three years. *Arthritis Rheum* 1997;40:1534-9.
97. Flamholz R, Tran T, Grad GI, et al. Therapeutic plasma exchange for the acute management of the catastrophic antiphospholipid syndrome: beta(2)-glycoprotein I antibodies as a marker of response to therapy. *J Clin Apher* 1999;14:171-6
98. Wiedermann FJ, Mayr A, Schobersberger W et al. Acute respiratory failure associated with catastrophic antiphospholipid syndrome. *J Intern Med* 2000; 247: 723–30.
99. Espinosa G, Bucciarelli S, Cervera R et al. Thrombotic microangiopathic haemolytic anaemia and antiphospholipid antibodies. *Ann Rheum Dis* 2004; 63: 730–6.
100. Koenig M, Roy M, Baccot S, et al. Thrombotic microangiopathy with liver, gut and bone infarction (catastrophic antiphospholipid syndrome) associated with HELLP syndrome. *Clin Rheumatol* 2005; 24: 166–8.
101. Ostuni PA, Lazzarin P, Pengo V, et al. Renal artery thrombosis and hypertension in a 13 year old girl with antiphospholipid syndrome. *Ann Rheum Dis* 1990;49:184-7.
102. Ruffatti A, De Silvestro G, Ghirardello A, Calligaro A, Del Ross T, Thiene G, et al. A catastrophic antiphospholipid syndrome: the importance of high levels of warfarin anticoagulation. *J Intern Med* 1994;235:81-3.
103. Kremer Hovinga JA, Studt JD, Lammle B. The von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS-13) and the diagnosis of thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP). *Pathophysiol Haemost Thromb* 2003; 33: 417–21.
104. Amoura Z, Costedoat-Chalumeau N, Veyradier A et al. Thrombotic thrombocytopenic purpura with severe ADAMTS-13 deficiency in two patients with primary antiphospholipid syndrome. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 3260–3.

105. Elchalal U, Gabbay E, Nadjari M, et al. Catastrophic antiphospholipid syndrome in the second trimester of pregnancy. *Isr Med Assoc J* 2006;8:856-7.
106. Makatsariya A, Asherson RA, Bitsadze V, et al. Catastrophic antiphospholipid (Asherson's) syndrome and genetic thrombophilic disorders in obstetrics. *Autoimmun Rev* 2006;6:89-93.
107. Brucato A, Grava C, Bortolati M, et al. Congenital heart block not associated with anti-Ro/SSA antibodies: comparison with anti-Ro/SSA-positive cases. *J Rheumatol in press*
108. Michaelsson M, Engle MA. Congenital complete heart block: an international study of the natural history. *Cardiovasc Clin* 1972;4:85–101.
109. Brucato A, Jonzon A, Friedman D et al. Proposal for a new definition of congenital complete atrioventricular block. *Lupus* 2003; 12: 427-435.
110. Buyon JP, Clancy RM. Neonatal lupus: review of proposed pathogenesis and clinical data from the US-based Research Registry for Neonatal Lupus. *Autoimmunity* 2003;36:41–50
111. Julkunen H, Miettinen A, Walle TK, et al. Autoimmune response in mothers of children with congenital and postnatally diagnosed isolated heart block: a population based study. *J Rheumatol* 2004;31:183–189
112. Brucato A, Frassi M, Franceschini F, et al. Risk of congenital heart block in newborns of mothers with anti-Ro/SSA antibodies detected by counterimmunoelectrophoresis. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 1832-5.
113. Brucato A, Franceschini F, Buyon JP. Neonatal lupus: long-term outcomes of mothers and children and recurrence rate. *Clin Exp Rheumatol* 1997; 15: 467–473.
114. Buyon JP, Hiebert R, Copel J, et al. Autoimmune-associated congenital heart block: demographics, mortality, morbidity and recurrence rates obtained from a national neonatal lupus registry. *J Am Coll Cardiol* 1998;31:1658–66.

115. Eronen M, Siren MK, Ekblad H, et al. Short- and long-term outcome of children with congenital complete heart block diagnosed in utero or as newborn. *Pediatrics* 2000; 106: 86–91.
116. Schmidt KG, Ulmer HE, Silverman NH et al. Perinatal outcome of fetal complete atrioventricular block: a multicenter experience. *J Am Coll Cardiol* 1991; 91: 1360-6.
117. Groves AMM, Allan LD, Rosenthal E et al. Outcome of isolated congenital complete heart block diagnosed in utero. *Heart* 1996; 75: 190-4.
118. Buyon JP, Waltuck J, Caldwell K, et al. Relationship between maternal and neonatal levels of antibodies to 48-kDa SSB (La), 52-kDa SSA (Ro), and 60-kDa SSA (Ro) in pregnancies complicated by congenital heart block. *J Rheumatol* 1994;21:1943–1947.
119. Tseng CE, Buyon JP. Neonatal lupus syndromes. *Rheum Dis Clin North Am.* 1997; 23:31–54.
120. Tran HB, Macardle PJ, Hiscock J et al. Anti-La (SS-B) antibodies transported across the placenta bind apoptotic cells in fetal organs targeted in neonatal lupus. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 1572–1579.
121. Clancy RM, Askanase AD, Kapur RP et al. Transdifferentiation of cardiac fibroblasts, a fetal factor in anti-SSA/Ro-SSB/La antibody-mediated congenital heart block. *J Immunol* 2002; 169:2156–2163.
122. Clancy RM, Kapur RP, Molad Y, et al. Immunohistologic evidence supports apoptosis, IgG deposition, and novel macrophage/fibroblast crosstalk in the pathologic cascade leading to congenital heart block. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 173–182.
123. Miranda-Carus ME, Askanase AD, Clancy RM et al. Anti-SSA/Ro and anti-SSB/La autoantibodies bind the surface of apoptotic fetal cardiocytes and promote secretion of TNF-alpha by macrophages. *J Immunol* 2000; 165: 5345–5351.

124. Sonesson SE, Salomonsson S, Jacobsson LA, et al: Signs of first-degree heart block occur in one-third of fetuses of pregnant women with anti-SSA/Ro 52-kd antibodies. *Arthritis Rheum* 2004, 50:1253-1261
125. Saleeb S, Copel J, Friedman D, et al. Comparison of treatment with fluorinated glucocorticoids to the natural history of autoantibody-associated congenital heart block: retrospective review of the research registry for neonatal lupus. *Arthritis Rheum* 1999; 42:2335–2345
126. Theander E, Brucato A, Gudmundsson S, et al. Primary Sjögren's syndrome — treatment of fetal incomplete atrioventricular block with dexamethasone. *J Rheumatol* 2001, 28:373-376.
127. Raboisson MJ, Fouron JC, Sonesson SE, et al. Fetal Doppler echocardiographic diagnosis and successful steroid therapy of Luciani–Wenckebach phenomenon and endocardial fibroelastosis related to maternal anti-Ro and anti-La antibodies. *J Am Soc Echocardiogr* 2005, 18:375-380.
128. Jaeggi ET, Fouron JC, Silverman ED, et al: Transplacental fetal treatment improves the outcome of prenatally diagnosed complete atrioventricular block without structural heart disease. *Circulation* 2004, 110:1542-1548.
129. Arroyave CM, Puente Ledezma F, Montiel Amoroso G, et al. Myocardopathy diagnosed in utero in a mother with SSA antibodies treated with plasmapheresis. *Ginecol Obstet Mex* 1995;63:134–7.
130. Buyon JP, Swersky SH, Fox HE, et al. Intrauterine therapy for presumptive fetal myocarditis with acquired heart block due to systemic lupus erythematosus. Experience in a mother with a predominance of SS-B (La) antibodies. *Arthritis Rheum.* 1987;30:44-9.
131. Buyon J, Roubey R, Swersky S, et al. Complete congenital heart block: risk of occurrence and therapeutic approach to prevention. *J Rheumatol.* 1988;15:1104-8.

132. Claus R, Hickstein H, Kulz T, et al. Identification and management of fetuses at risk for, or affected by, congenital heart block associated with autoantibodies to SSA (Ro), SSB (La), or an HsEg5-like autoantigen. *Rheumatol Int.* 2006; 26:886-95.
133. Hickstein H, Kulz T, Claus R, et al. Autoimmune-associated congenital heart block: treatment of the mother with immunoadsorption. *Ther Apher Dial.* 2005;9:148-53.
134. Maeno Y, Himeno W, Saito A, et al. Clinical course of fetal congenital atrioventricular block in the Japanese population: a multicentre experience. *Heart* 2005;91:1075–9.
135. Villain E, Coatedoat-Chalumeau N, Marijon E, et al. Presentation and prognosis of complete atrioventricular block in childhood, according to maternal antibody status. *J Am Coll Cardiol* 2006;48:1682-7.
136. Chang YL, Hsieh PCC, Chang SD, et al. Perinatal outcome of fetus with isolated congenital second degree atrioventricular block without maternal anti-SSA/Ro-SSB/La antibodies. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2005;122:167-71.
137. Berg C, Geipel A, Kohl T, et al. Atrioventricular block detected in fetal life: associated anomalies and potential prognostic markers. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2005;26:4-15.
138. Lin MT, Hsieh FJ, Shyu MK, et al. Postnatal outcome of fetal bradycardia without significant cardiac abnormalities. *Am Heart J* 2004;147:540-4.
139. Breur JM, Oudijk MA, Stoutenbeek P, et al. Transient nonautoimmune fetal heart block. *Fetal Diagn Ther* 2005;20:81-5.
140. Vesel S, Završnik T, Podnar T. Successful outcome in a fetus with an extremely low heart rate due to isolated complete congenital heart block. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2003;21:189-91.