



FACULTAD DE MEDICINA

GRADO EN MEDICINA

TRABAJO DE FIN DE GRADO

**VITAMINA D Y EL SÍNDROME
ANTIFOSFOLÍPIDO**

**VITAMIN D AND
ANTIPHOSPHOLIPID SYNDROME**

Autora: Maite Cuberia Palenzuela

Director: Víctor Manuel Martínez Taboada

Codirector: Marcos López Hoyos

Santander, Junio de 2016

Índice

Resumen.....	3
Introducción.....	5
Objetivos.....	8
Pacientes y métodos.....	8
Confidencialidad de los datos.....	11
Consentimiento informado.....	11
Hoja de recogida de datos.....	11
Resultados.....	18
Discusión.....	26
Conclusiones.....	31
Agradecimientos.....	32
Bibliografía.....	33
Apéndices.....	37
Apéndice I – Criterios diagnósticos del síndrome antifosfolípido.....	37
Apéndice II – Ficha de recogida de datos.....	38
Apéndice III – Autorización del Comité Ético de Investigación de Cantabria.....	44

Resumen

La vitamina D posee propiedades inmunomoduladoras por lo que se ha postulado su papel en múltiples enfermedades autoinmunes, incluido el síndrome antifosfolípido (SAF).

Objetivos: a) Determinar los niveles de vitamina D circulante en pacientes con anticuerpos antifosfolípidos positivos y compararlos con los de controles sanos. b) Determinar la asociación de los niveles de vitamina D en relación a las manifestaciones clínicas de la enfermedad. c) Determinar la asociación de los niveles de vitamina D con el perfil y evolución de los autoanticuerpos en estos pacientes.

Material y métodos: Estudio retrospectivo de una cohorte de 165 pacientes con anticuerpos antifosfolípidos positivos. Los pacientes fueron clasificados en 2 grupos: SAF primario (n=101), anticuerpos antifosfolípidos (aPL) positivos sin cumplir el criterio clínico de SAF (n=64) y fueron comparados con un grupo de controles sanos (n=326) pareados por edad, sexo, y fecha de extracción de la vitamina D (en relación a la estación del año).

Resultados: De forma global no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre los tres grupos de estudio. Sin embargo, los pacientes con autoanticuerpos positivos presentaron una mayor frecuencia de niveles extremadamente bajos (<10ng/ml) de vitamina D respecto a los controles (13,1% y 10,9% versus 4,9%, respectivamente; $p=0.002$). Desde el punto de vista clínico, sólo la trombosis arterial fue más frecuente en pacientes con niveles de vitamina D por debajo de 30ng/ml (92,9% versus 73,8%; $p=0,03$). No hemos hallado diferencias significativas en cuanto al tipo de autoanticuerpo (aCL, a β 2Gp1 y AL) ni con la evolución serológica. Sin embargo, los niveles de vitamina D por debajo de 30ng/ml sí que se asociaron con la carga de autoanticuerpos ($p=0,049$).

Conclusiones: Al igual que en otras enfermedades autoinmunes, los niveles de vitamina D pueden jugar un papel relevante en la patogenia y clínica del síndrome antifosfolípido, independiente de la presencia de autoanticuerpos. Los suplementos de vitamina D pueden ser una opción de tratamiento sencilla y barata de esta enfermedad aunque esto debe demostrarse en estudios prospectivos correctamente diseñados.

Palabras clave: síndrome antifosfolípido, anticuerpos antifosfolípido, vitamina D, trombosis arterial, carga de autoanticuerpos.

Abstract

Due to the immunomodulatory properties of vitamin D, this vitamin has been implicated in the pathogenesis of several autoimmune disorders including antiphospholipid syndrome (APS).

Objectives: a) To determine the levels of circulating vitamin D in patients with positive antiphospholipid antibodies (aPL) and to compare with healthy controls. b) To identify the association of vitamin D levels with the clinical manifestations of the disease. c) To determine the association of vitamin D levels with the aPL profile.

Material and methods: Retrospective study of a cohort of 165 patients with positive antiphospholipid antibodies. Patients were classified in 2 groups: primary APS (n=101), positive aPL without clinical criteria for APS (n=64), and compared with healthy controls (n=326) matched for age, sex and date of vitamin D analysis.

Results: Overall we did not find relevant differences within the 3 study groups. However, patients with positive aPL had more frequently very low levels of vitamin D (<10ng/ml) compared with the healthy controls (13,1% and 10,9% versus 4,9%, respectively; $p=0.002$). From a clinical point of view, only arterial thrombosis was associated with low levels of vitamin D (92,9% versus 73,8%; $p=0,03$). Vitamin D levels below 30ng/ml were associated with the aPL load ($p=0,049$).

Conclusions: As happened in other autoimmune disorders, circulating vitamin D levels might play a relevant role in the pathogenesis and clinical manifestations of APS. Vitamin D supplementation might be a simple and cheap treatment option of APS, although this hypothesis should be proved in well design clinical trials.

Key words: antiphospholipid syndrome, antiphospholipid antibodies, vitamin D, arterial thrombosis, autoantibody load.

Introducción

La vitamina D es conocida por sus efectos en la homeostasis del metabolismo fosfocálcico y salud ósea¹¹. Recientemente, se ha puesto el interés en sus efectos sobre el sistema inmune y su posible implicación en la susceptibilidad a padecer ciertas enfermedades infecciosas y autoinmunes^{1,2}. Esta vitamina ha demostrado tener implicación, según varios estudios, en enfermedades tales como la diabetes mellitus (DM)³, esclerosis múltiple (EM)⁴, lupus eritematoso sistémico (LES)⁵, artritis reumatoide (AR)^{6,7}, tiroiditis de Hashimoto⁸ y enfermedad de Chron (EC)⁹.

La vitamina D es una vitamina liposoluble de origen esteroideo de la que son conocidas dos tipos, D₂ vegetal y D₃ animal, que obtiene el ser humano a través de la radiación solar¹⁰, los alimentos como el pescado azul o los productos lácteos enriquecidos y de los suplementos.

Su precursor es el 7-dehidrocolesterol (7-DHC), presente en todas las capas de la piel, y por una reacción mediada por la radiación UVB de fotólisis se transforma en previtamina D (precoleciferol) la cual, también en la piel, se transforma de forma no enzimática en vitamina D (coleciferol). Ya sea la D₂ o D₃ de la dieta o de la piel, se une a su proteína transportadora (DBP) hasta que en el parénquima hepático el CYP27A1 y CYP2R1 la convierten en 25-hidroxivitamina-D₃ (25OHD o calcidiol) y posteriormente en el riñón se transforma, por la acción de la enzima mitocondrial 25OHD-1 α -hidroxilasa (CYP27B1), en su metabolito activo 1,25-dihidroxivitamina-D₃ (1,25OH₂-D). La CYP27B1 se expresa también en hueso, placenta, próstata, macrófagos, células T, células dendríticas y células cancerosas y está regulada por el fósforo y calcio séricos, el factor de crecimiento de fibroblastos-23 (FGF-23) y la paratormona (PTH)¹⁰. Véase la Figura 1.

Posteriormente, la forma activa es reconocida por receptores específicos (VDR) y activa los genes vitamina D-dependientes¹⁰. Estos VDR se encuentran en múltiples células del sistema inmune tales como células dendríticas, macrófagos-monocitos, células th1 y th17, así como en células B^{1, 12, 13}. El VDR presente en monocitos desencadena la producción del antimicrobiano natural denominado catelicidina (IL-37) y la β -defensina a través los receptores *Toll-Like* intracelulares, demostrando, así, la implicación de la vitamina en la inmunidad frente a infecciones¹³.

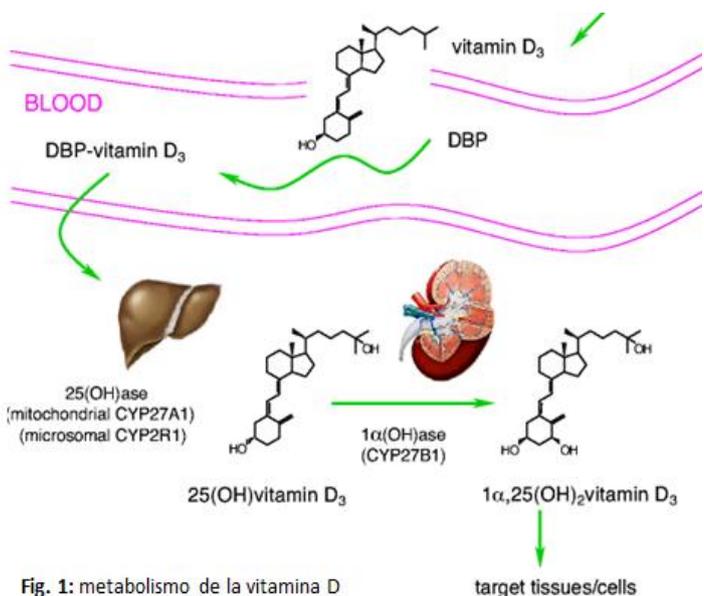


Fig. 1: metabolismo de la vitamina D

Los TLRs intracelulares se ha visto que son regulados por la vitamina D y su déficit se ha visto que repercute sobre la señalización de los TLR 7^{14,15} y 9 no viéndose afectado el TLR 3¹⁶. Esta disminución de la expresión de TLRs en células del sistema

inmune produce que estas células no produzcan, como consecuencia, interleukinas como IL-1 β , TNF α ¹⁵, IL-6¹⁶ y IL-10¹⁷. Por lo que este hallazgo sobre la implicación de esta vitamina en la producción de interleukinas podría, ser, a su vez, un factor para la predisposición a enfermedades autoinmunes¹⁶.

El nivel de 25OHD o calcidiol es el metabolito más estable y abundante en el organismo por lo que es el mejor indicador de los depósitos de vitamina D en el mismo¹³. La edad y una insuficiente exposición solar asocian un descenso en la producción cutánea de vitamina y un aumento de la PTH, lo cual nos explica por qué hay una mayor incidencia de infecciones durante el invierno y que algunas enfermedades inflamatorias se agrupen en ciertas edades^{14,15}.

Haciendo referencia a enfermedades autoinmunes más concretas, se ha visto en que pacientes con LES existe un déficit de vitamina D⁵. En un reciente estudio se ha demostrado una mejora en la actividad del LES, además de una disminución de los marcadores inflamatorios en pacientes que habían recibido vitamina D, en comparación con los que habían tomado placebo, además de su tratamiento habitual¹⁹. Por otro lado, en la artritis reumatoide (AR), esta vitamina demuestra una vez más sus posibles efectos inmunomoduladores en los resultados de un estudio longitudinal en mujeres con en las que, tras incrementar sus niveles de vitamina D, se vislumbró un descenso significativo en su riesgo de padecer AR⁶. Otro estudio longitudinal de la cohorte del *Nurse's Heath Study (NHSI y NHSII)* con 22 años de seguimiento obtuvo resultados discordantes respecto a lo dicho hasta ahora afirmando que el incremento de los niveles basales de vitamina D no parece proteger frente al desarrollo de LES o AR²¹. Sin embargo, un último dato de este estudio, ha reflejado que existe decremento de los niveles de vitamina D 4 años antes del desarrollo del AR²². Por todo esto, es evidente que aún son necesarios estudios a mayor escala con cohortes más representativas de la población general.

El síndrome antifosfolipídico (SAF) será el objeto de nuestro estudio puesto que no existen datos sólidos sobre si niveles óptimos de vitamina D aportan beneficio frente a los eventos clínicos que definen esta enfermedad considerada dentro de los trastornos autoinmunes. Según un estudio con una cohorte Europea, la hipovitaminosis D tiene asociación con la trombosis y fueron capaces de demostrar, *in vitro*, que la vitamina D podía inhibir el factor tisular (FT) expresado en monocitos estimulado por los anticuerpos anti β 2GP1 extraídos de pacientes con SAF¹⁹. El SAF viene definido por la presencia de anticuerpos antifosfolípido (aPL) y manifestaciones clínicas características. La presencia de estos anticuerpos en la población general es relativamente frecuente (5% aproximadamente)^{24,25,26}.

El SAF es menos frecuente debido a que el diagnóstico requiere la presencia de al menos un aPL (a títulos medios o altos detectados en al menos en dos ocasiones consecutivas separadas por 12 semanas) pero además, al menos un evento clínico trombotico y/u obstétrico recogidos en los *criterios Sindney 2006*²⁶. Los anticuerpos reconocidos para el diagnóstico del SAF son el anticoagulante lúpico (AL), los anticuerpos de tipo IgM y/o IgG anticardiolipina (aCL) e IgM y/o IgG anti- β 2-glicoproteína-1 (a β 2GP1). Sin embargo, según diversos estudios existen otros anticuerpos que, parecen tener relación con el SAF como pueden ser anticuerpos

antiprotrombina, antianexina V, complejo vimentina/cardioplipina etc. pero que aún se desconoce su implicación real en este síndrome habiéndose estipulado que puedan permitir un diagnóstico más precoz pero para lo cual aún son necesarios más estudios y métodos estandarizados para su determinación ^{26,27,28}.

Los anticuerpos aPL han demostrado correlación con las manifestaciones trombóticas y obstétricas, siendo capaces incluso de predecir dichos eventos ^{25,26}. La hipótesis más aceptada es la denominada “teoría del segundo golpe” según la cual los individuos susceptibles producen los aPL (probablemente debido a la exposición a diferentes infecciones o enfermedades reumáticas como el LES) que dañan el endotelio y, tras un segundo golpe (tales como el tabaquismo, una inmovilización prolongada, el embarazo, anticoncepción oral, terapias de sustitución hormonal, hipertensión o hipercolesterolemia), desarrollan el síndrome completo ^{29,31}. No está muy claro, sin embargo, si este mecanismo puede aplicarse sobre la patología obstétrica ³⁰. Se ha relacionado con la activación del complemento pero permanece incierto si dicha activación es causa o consecuencia de la enfermedad ³³.

Se sabe que la triple serología positiva para los aPL a títulos medios/altos aumenta el riesgo de eventos clínicos de esta enfermedad siendo más relacionado con este riesgo el AL ^{25,29,34}. Está ampliamente aceptado que los anticuerpos interactúan preferentemente con la diana β 2GPI unido a las células endoteliales, las plaquetas, los monocitos y el trofoblasto, implicados todos ellos en la patogénesis del SAF ³⁰.

El tratamiento de estos pacientes se basa en la anticoagulación y/o antiagregación dependiendo de su serología y clínica. Por otro lado, en asintomáticos con serología para aPL positiva parece que la reducción de los factores de riesgo (tabaco, hipertensión, etc.) pueden prevenir eventos trombóticos, así como el uso de aspirina y/o hidroxicloroquina que puede ser protectora contra la trombosis en individuos aPL-positivos asintomáticos ³¹.

Los aPL pueden fluctuar y pueden incluso negativizarse, lo cual se relaciona con una menor frecuencia de procesos clínicos patológicos (especialmente si dicha negativización es persistente) ^{4,9}.

A lo tenor de lo publicado, la relación entre los niveles de vitamina D y su repercusión en el SAF requiere más estudios dados los recientes hallazgos sobre la vitamina D y el sistema inmune, además del frecuente hallazgo de su déficit en estos pacientes. Se debe investigar más acerca de su posible uso como tratamiento preventivo, ya que es un factor modificable y barato, y con ello mejorar el pronóstico de ciertas enfermedades tales como el SAF.

Objetivos

1. Determinar los niveles de vitamina D circulante en pacientes con anticuerpos antifosfolípido en los grupos de estudio más adelante especificados.
2. Determinar la influencia de los niveles de vitamina D en las manifestaciones clínicas de la enfermedad.
3. Determinar la influencia de los niveles de vitamina D en el perfil de autoanticuerpos.

Utilizaremos un grupo control sano para valorar los niveles de vitamina D en la población de estudio.

Pacientes y métodos

Se llevará a cabo un estudio de cohortes retrospectivo en el que se incluirán pacientes atendidos en el Servicio de Reumatología del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla (HUMV) de Santander (Cantabria, España) y posteriormente seguidos en el mismo centro y que hayan cumplido en algún momento el criterio serológico para el diagnóstico de síndrome antifosfolípido (SAF) (esto es, de acuerdo con los criterios de Sídney 2006 (ver “apéndice I”)), anticardiolipina (aCL) IgG y/o IgM medidos mediante enzoinmunoensayo (ELISA) a títulos medios o altos para el laboratorio donde se realiza el análisis, anticuerpos antiB2GP1 IgG y/o IgM medidos mediante ELISA a títulos medios o altos para el laboratorio donde se realiza el análisis y/o actividad anticoagulante lúpico (AL), con confirmación mediante la misma prueba transcurridas al menos 12 semanas.

Los datos serán obtenidos de las historias clínicas de los pacientes incluidos en el estudio, las cuales serán revisadas según un protocolo preestablecido y que serán agrupados en los siguientes:

- Grupo 1: pacientes que cumplen los criterios de síndrome antifosfolípido.
- Grupo 2: pacientes que tienen serología aPL positiva al menos en dos ocasiones a títulos medios o altos separados al menos por doce semanas sin cumplir los criterios clínicos de la enfermedad.
- Grupo 3: controles sanos.

Los controles serán seleccionados según la edad y sexo de los pacientes incluidos en el estudio en una proporción de 2:1, es decir, escogiendo por cada paciente dos controles sanos.

Los datos de laboratorio (determinaciones de anticuerpos antifosfolípido (aPL)) serán extraídos de dos fuentes:

1. Anticuerpos anticardiolipina y anti- β_2 - glicoproteína 1:

Los datos de los anticuerpos aCL y aB2GP1 se obtendrán de la base de datos del Servicio de Inmunología del HUMV, en la que se recogen todas las determinaciones

que se hayan realizado de los pacientes incluidos en el estudio. Se considerarán títulos altos, medios o bajos los informados como tales por el Servicio de Inmunología.

El laboratorio de Inmunología del HUMV cuantifica la presencia de los siguientes aPL e isotipos de aPL: aCL de clase IgG e IgM, aB2GP1 de clase IgG e IgM, por tratarse hasta el momento de los establecidos para el diagnóstico de SAF³. Estos anticuerpos se determinan mediante un ELISA comercial (Aesku Diagnostics, Wendelsheim, Alemania) en fase sólida. En ambos se incubaba el suero de los pacientes diluido a 1/100 en placas de fondo plano cubiertas por cardiolipina bovina + β 2-glicoproteína 1 humana purificada, en el caso de los anticuerpos aCL, o cubiertas sólo con β 2-glicoproteína 1 humana purificada, en el caso de los anticuerpos a β 2GP1. Posteriormente se detecta la presencia de aCL ó anti- β 2GPI mediante incubación con un anticuerpo policlonal conjugado con peroxidasa frente a IgG ó IgM humanos. La reacción se revela mediante adición del sustrato de la peroxidasa (TMB, 3, 3', 5, 5'-tetrametilbenzidina).

Los resultados se obtienen de forma cuantitativa y semicuantitativa. De este modo, los aCL se cuantifican en GPL (IgG aCL) ó MPL (IgM aCL) según la curva patrón que se construye en cada ensayo con 5 puntos de dilución de los estándares de Harris/Sapporo. En el caso de los anticuerpos aB2GP1, la cuantificación se hace en U/mL en referencia a una curva patrón, también con 5 puntos de dilución (estas unidades no están estandarizadas).

Los resultados cuantitativos se transforman en semicuantitativos mediante la siguiente escala:

- < 10 GPL, MPL o U/mL: negativo.
- 10-20 GPL, MPL o U/mL: positivo bajo.
- 20-30 GPL, MPL o U/mL: positivo medio.
- >30 GPL, MPL o U/mL: positivo alto.

Esta semicuantificación obedece a lo establecido en los consensos internacionales y ratificado en la revisión de criterios del SAF²⁶.

En todo ensayo se introduce un control negativo y un control positivo. Si el valor obtenido se escapa del rango establecido, el ensayo se desecha.

Además, el laboratorio de Inmunología del HUMV participa en los siguientes controles de calidad externos: GECLID-SEI, UK-NQAS y Euroimmune Quality Programme de manera satisfactoria.

2. Anticoagulante lúpico:

Los datos del AL se extrajeron de los informes analíticos del Servicio de Hematología del HUMV adjuntos a las historias clínicas.

El laboratorio de Hematología del HUMV realiza las pruebas de detección de actividad AL de acuerdo con las guías actualizadas del *Subcomitee on Lupus*

*Anticoagulant/Antiphospholipid Antibody (Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis)*⁹.

3. Vitamina D y PTH:

El laboratorio de Bioquímica del HUMV cuantifica la vitamina D (D₂ y D₃), por inmunoquimioluminiscencia competitiva automatizada (LIAISON[®], DiaSorin, Italia) para medir el total de 25OHD del suero (metabolito de evaluación de suficiencia de Vitamina D) usando como marcador el isoluminol (DiaSorin). El suero del paciente contiene una determinada concentración de vitamina D, que se habrá disociado de su DBP (D binding protein), más la libre (es decir, la 25-OH total engloba la libre y la unida) y se unirá al anticuerpo en la fase sólida para, posteriormente, hacerlo reaccionar con vitamina D marcada con el isoluminol (trazador) con quien compite. Al final de la reacción, se genera una señal lumínica visible cuantificable con el fotomultiplicador que es inversamente proporcional a la concentración de 25OHD en el suero en estudio.

La técnica para la determinación de PTH es también un inmunoensayo que difiere en que no se trata de un inmunoensayo competitivo. En este caso la PTH de la muestra reacciona con 2 anticuerpos específicos, uno fijado a fase sólida y otro ligado al trazador (isoluminol). En este caso, la luminiscencia es directamente proporcional con la cantidad de PTH en el suero de estudio (se utiliza el Kit comercial YSIS (IDS)).

No existe un consenso definitivo sobre cuáles son los valores de referencia de la vitamina D aunque vamos a considerar niveles subóptimos a los menores de 30ng/ml. Se considerarán categorías dentro de los niveles subóptimos en función de su gravedad de mayor a menor en: menor de 10ng/ml, entre 10,1 y 20ng/ml y superior a 20,1 pero inferior a 30ng/ml, considerando la concentración óptima cuando sea superior a 30,1ng/ml. Concentraciones no recomendables consideraremos las superiores a 60ng/ml³⁵ aunque la intoxicación por lo general no se produce hasta valores superiores a 150ng/ml²³. Todo ello según las recomendaciones del Comité IOM (Institute of Medicine). Respecto a los niveles de PTH, los valores de referencia están más consensuados considerándose normales, menos de 45 pg/ml para adultos.

El laboratorio de Bioquímica del HUMV somete sus datos sobre vitamina D y PTH a controles de calidad externos: DEQAS para la vitamina D (Vitamin D External Quality Assessment Scheme) y Unity Real Time[®] para PTH y calcio.

A partir de las fichas de recogida de datos, se confeccionó una base de datos para realizar el análisis estadístico. Dicho análisis se llevó a cabo utilizando el paquete estadístico SPSS 15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EEUU). En el análisis descriptivo se utilizaron frecuencias, porcentajes, medias, medianas, percentiles y, como medida de dispersión, la desviación típica o estándar. En cuanto al análisis inferencial, en el análisis univariante se aplicó el test de Chi cuadrado (χ^2) para comparar variables cualitativas y la prueba de Kruskal-Wallis para variables de no distribución normal. Se consideró como estadísticamente significativo todo valor de $p < 0,05$.

Confidencialidad de los datos

Los datos serán tratados garantizando la confidencialidad de los mismos. Los datos publicados harán referencia a la globalidad de los sujetos participantes en el estudio, en ningún caso se harán públicos los datos de sujetos, de forma individual.

El promotor garantizará la confidencialidad de los datos de los sujetos y velará por que se cumpla en todo momento con lo establecido por la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal y con el Real Decreto 1720/2007, de 21 de diciembre, por el que se aprueba el reglamento de desarrollo de dicha Ley.

Consentimiento informado

El estudio será puramente observacional, sin ningún tipo de intervención sobre los pacientes, ni ningún análisis adicional de sus muestras biológicas. Los análisis de datos serán agrupados, sin referencias individuales y versarán únicamente sobre parámetros previamente estudiados por motivos asistenciales, en consecuencia, consideramos que, de obtener la aprobación de este Comité, no es necesario el consentimiento informado de los pacientes. (Ver “Apéndice III”)

Hoja de recogida de datos

A partir de las historias clínicas y los datos de laboratorio, se completó una ficha de recogida de datos (ver “Apéndice II”) para cada paciente.

De cara al estudio de la cohorte, se consideró tiempo 0 (T_0) el momento en que cada paciente cumplió el criterio serológico para el diagnóstico de SAF, es decir, la segunda determinación de los aPL con resultados positivos (con al menos 12 semanas de separación, tal y como se establece en los criterios de *Sidney*²⁶).

El tiempo de seguimiento se calculó para cada paciente como el tiempo transcurrido entre T_0 y la fecha en que se realizó la revisión de la historia clínica.

Los pacientes fueron clasificados en cinco grupos de estudio:

- Grupo 1: pacientes que cumplen los criterios de síndrome antifosfolípido.
- Grupo 2: pacientes que tienen serología aPL positiva sin cumplir los criterios clínicos de la enfermedad.
- Grupo 3: controles sanos.

A continuación se detalla la metodología que se siguió para la consecución de cada uno de los apartados especificados en la hoja de recogida de datos.

Se revisaron las mediciones de aPL realizadas en cada paciente con posterioridad de T_0 a fin de observar su relación con los niveles de vitamina D, y si estos cambios eran significativamente diferentes entre uno u otro grupo de estudio.

No se tuvieron en cuenta aquéllas determinaciones de anticuerpos separadas por menos de 12 semanas en los primeros 12 meses de seguimiento y por menos de 24 semanas a partir de los 12 meses de seguimiento, para lograr una mayor homogeneidad.

De acuerdo con la evolución de la serología de aPL, se clasificó a cada paciente en tres grupos: aPL persistentemente negativos, aPL transitoriamente positivos y aPL persistentemente positivos.

✓ Pacientes con aPL persistentemente negativos.

Pacientes en los que las 2 últimas determinaciones de aPL estaban separadas más de 6 meses y cumplían los 3 siguientes criterios:

- aCL IgG e IgM mediante ELISA indetectables o a título bajo para nuestro laboratorio.
- aB2GP1 IgG e IgM mediante ELISA indetectables o a título bajo para nuestro laboratorio.
- Actividad AL indetectable mediante las pruebas estandarizadas internacionalmente.

✓ Pacientes con aPL transitoriamente positivos.

Pacientes que no cumplían los criterios de negativización persistente y en los que menos de 2/3 de las determinaciones cumplían uno o más de los siguientes criterios:

- aCL IgG e IgM mediante ELISA a títulos medios o altos para nuestro laboratorio.
- aB2GP1 IgG e IgM mediante ELISA a títulos medios o altos para nuestro laboratorio.
- Presencia de actividad AL mediante las pruebas estandarizadas internacionalmente.

✓ Pacientes con aPL persistentemente positivos.

Pacientes que no cumplían los criterios de negativización persistente y en los que 2/3 ó más de las determinaciones cumplían uno o más de los siguientes criterios:

- aCL IgG e IgM mediante ELISA a títulos medios o altos para nuestro laboratorio.

- aB2GP1 IgG e IgM mediante ELISA a títulos medios o altos para nuestro laboratorio.
- Presencia de actividad AL mediante las pruebas estandarizadas internacionalmente.

En estos pacientes se definió como tiempo de negativización el tiempo transcurrido desde la fecha de la primera determinación negativa (sin determinaciones positivas posteriores) hasta la fecha de la última determinación.

Se recogieron para cada paciente una serie de variables que se detallan a continuación. Dichas variables se pueden catalogar en dos grupos: antecedentes personales (antes de T₀) y eventos durante el seguimiento.

1. Antecedentes personales.

- Edad al diagnóstico de seropositividad de aPL (T₀, momento de inclusión en el estudio).
- Antecedentes familiares de eventos tromboticos (con diagnóstico confirmado).
- Antecedentes familiares de eventos obstétricos (con diagnóstico confirmado).
- Factores de riesgo cardiovascular (FRCV), cada uno como variable dicotómica, es decir, “presencia o ausencia”.
 - Tabaquismo: hábito tabáquico en algún momento o nunca.
 - Diabetes mellitus: según los criterios diagnósticos de la *American Diabetes Association* (2015)³⁶.
 - Hipertensión arterial (HTA): según los criterios del *Eighth Joint National Comitee* (2014)³⁷, o toma de fármacos antihipertensivos.
 - Dislipemia: colesterol total > 200 mg/d y/o LDL-colesterol > 160 mg/dL y/o triglicéridos > 150 mg/dL en sangre, o toma de fármacos hipolipemiantes.
- Toma de fármacos de forma regular (durante más de 1 mes) en algún momento con anterioridad a T₀, cada uno como variable dicotómica (los fármacos seleccionados se eligieron por ser tratamientos habituales en el SAF y/o en el LES y que por tanto modifican la incidencia y la gravedad de las manifestaciones propias de estas patologías):

<ol style="list-style-type: none"> Anticoagulantes orales (ACO). Antiagregantes plaquetarios. Heparina. 	<ol style="list-style-type: none"> Glucocorticoides. Antipalúdicos. Inmunosupresores (no especificado).
--	--

- f. Eventos trombóticos previos que cumplieran el criterio clínico para el diagnóstico de SAF²⁶, es decir, uno o más episodios de trombosis venosa, arterial o de pequeño vaso en cualquier órgano o tejido, confirmado de forma inequívoca mediante pruebas de imagen o análisis histopatológico de una muestra tomada mediante biopsia (la trombosis venosa superficial no satisface el criterio).
- g. Eventos obstétricos previos, cumplieran o no el criterio clínico para el diagnóstico de SAF²⁶, pero con diagnóstico confirmado (en caso de presencia, se especificó si se trataba de alguno de los eventos que forman parte del criterio obstétrico de SAF o de otro tipo de eventos).
- I. Eventos obstétricos que forman parte de los criterios de Sídney (en caso de presencia, se especificó si se trataba de alguno de los 2 siguientes):
- a) Eventos obstétricos adversos que cumplen los criterios de Sídney (en caso de los antecedentes personales, se consideró como “presencia” la existencia de cualquiera de los eventos siguientes):
- 3 ó más pérdidas gestacionales (PG) espontáneas antes de la semana 10 de gestación, tras haberse excluido anomalías cromosómicas de los progenitores y anomalías anatómicas u hormonales de la madre.
 - PG espontáneas después de la semana 10 de gestación con morfología normal en ecografía prenatal o en la exploración posnatal inmediata.
 - Parto pretérmino antes de la semana 34 de gestación por preeclampsia grave, eclampsia o insuficiencia placentaria.
- b) 1 ó 2 PG antes de la semana 10 de gestación, tras haberse excluido anomalías cromosómicas de los progenitores y anomalías anatómicas u hormonales de la madre (para satisfacer el criterio clínico de diagnóstico de SAF son necesarios 3 ó más de estos eventos; este ítem forma parte de dicho criterio pero no lo cumple, por lo que se analiza de forma independiente).
- II. Eventos obstétricos que no forman parte de los criterios de Sídney (en el caso de los antecedentes personales, se consideró como “presencia” la existencia de cualquiera de los siguientes eventos):
- c) Síndrome HELLP (*hemolytic anemia, elevated liver enzymes, low platelet count*).
- d) Preeclampsia leve o moderada.
- e) Preeclampsia grave o eclampsia y parto posterior a la semana 34 de gestación.

- f) Desprendimiento de placenta previamente normoinserta (DPPNI) y parto posterior a la semana 34 de gestación.
- g) Parto pretérmino (previo a la semana 37 de gestación) por causas distintas de preeclampsia grave, eclampsia o insuficiencia placentaria.
- h) HTA gestacional.
- i) Diabetes gestacional.
- j) Muerte neonatal precoz (en la primera semana de vida).
- k) Crecimiento intraútero restringido (CIR).
- l) Oligohidramnios.

2. Eventos durante el seguimiento.

- a. Número de nuevas gestaciones durante el seguimiento.
- b. Eventos tromboticos que cumplieran el criterio clínico para el diagnóstico de SAF durante el seguimiento: en caso de presencia, se especificó si fueron arteriales o venosos, y el número de cada tipo.
- c. Eventos obstétricos durante el seguimiento, cumplieran o no el criterio clínico para el diagnóstico de SAF (en caso de presencia, se especificó si se trataba de alguno de los eventos que forman parte del criterio obstétrico de SAF o de otro tipo de eventos).
 - I. Eventos obstétricos que forman parte de los criterios de Sídney (en caso de presencia, se especificó si se trataba de alguno de los dos siguientes):
 - a) Eventos obstétricos que cumplen los criterios de Sídney (en el caso del seguimiento, se especificó si se trataba de alguno de los 3 eventos referidos en el apartado "Antecedentes personales").
 - b) 1 ó 2 PG antes de la semana 10 de gestación, con las mismas características referidas en el apartado "Antecedentes personales".
 - II. Eventos obstétricos que no forman parte de los criterios de Sídney (en el caso de los eventos durante el seguimiento, se especificó si se trataba de alguno de los eventos referidos en el apartado "Antecedentes personales").
- d. Otros eventos clínicos no obstétricos relacionados con el SAF que no forman parte de los criterios de Sídney (en caso de presencia, se especificó a cuál o cuáles de los siguientes grupos pertenecía, así como su número):
 - I. Neurológicos: déficit cognitivo o lesiones características de la sustancia blanca en RMN.

- II. Hematológicos: púrpura trombótica trombocitopénica, síndrome hemolítico-urémico, episodios de sangrado espontáneo en ausencia de tratamiento anticoagulante o trombopenia con recuento inferior a 100.000 plaquetas/mm²⁶.
 - III. Pulmonares: hemorragia alveolar en ausencia de tratamiento anticoagulante, hipertensión pulmonar, alveolitis fibrosante o síndrome de distress respiratorio del adulto (SDRA).
 - IV. Cardiovasculares: valvulopatía (engrosamiento valvular, endocarditis de Libman-Sacks, disfunción valvular) o angina estable.
 - V. Cutáneos: livedo reticularis, gangrena digital, fenómeno de Raynaud, hemorragias en astilla, trombosis venosa superficial, úlceras postflebíticas, necrosis cutánea, púrpura, pseudovasculitis, anetoderma o vasculopatía livedoide (*atrophie blanche*).
 - VI. Renales: proteinuria asintomática, síndrome nefrótico, insuficiencia renal aguda (IRA) o insuficiencia renal crónica (IRC).
 - VII. Gastrointestinales: hemorragia digestiva (alta o baja) en ausencia de tratamiento anticoagulante, perforación esofágica, úlcus gástrico gigante, úlcus duodenal atípico, enfermedad veno-oclusiva hepática (EVOH), hipertensión portal o cirrosis hepática.
 - VIII. Oculares: amaurosis fugax.
 - IX. Suprarrenales: infarto hemorrágico bilateral.
 - X. Osteoarticulares: artritis u osteonecrosis.
- e. SAF catastrófico, definido como nuevos eventos trombóticos en 3 ó más órganos o tejidos en un período de tiempo igual o inferior a una semana, en presencia de aPL positivos, con confirmación de la presencia de microtrombos por biopsia de al menos un órgano o tejido y habiéndose excluido otras causas del cuadro.
- f. Exitus: en caso de presencia, se especificó la causa.
- g. Instauración de tratamiento específico para SAF y/o LES de forma continuada durante el seguimiento (cada uno como variable dicotómica):

- I. ACO.
- II. Antiagregantes plaquetarios.
- III. Heparina.
- IV. Antipalúdicos.
- V. Inmunoglobulina humana.
- VI. Plasmaféresis.

3. Determinaciones de vitamina D y PTH:

- a) Vitamina D: la primera determinación realizada durante el seguimiento.
- b) PTH: La primera determinación realizada durante el seguimiento junto con la vitamina D.

Resultados

Se revisaron las historias clínicas de un total de 498 pacientes de los cuales 165 tenían una determinación de vitamina D y cumplían los criterios de inclusión. Como grupo control se incluyeron 326 controles sanos de acuerdo a los criterios detallados en el apartado “pacientes y métodos”.

Tal y como se ha descrito en el apartado “pacientes y métodos” los grupos de estudio fueron:

- Grupo 1: pacientes que cumplen los criterios de síndrome antifosfolípido.
- Grupo 2: pacientes que tienen serología aPL positiva sin cumplir los criterios clínicos de la enfermedad.
- Grupo 3: controles sanos.

El periodo de tiempo en el que han sido seguidos los pacientes abarca desde septiembre de 1992 a mayo de 2016. Se siguió a los pacientes durante una media de $131,19 \pm 50,79$ meses (rango: 3,2-260,1).

Las principales características de la población de estudio se resumen a continuación en la **Tabla 1**. Como se puede observar los pacientes con SAF presentaron una mayor frecuencia en todos los factores de riesgo cardiovascular, aunque únicamente la dislipemia alcanzó la significación estadística ($p=0,010$). Aproximadamente, una quinta parte de los pacientes incluidos en el estudio (SAF un 21,8% y serología positiva un 23,4%) presentaban LES asociado. En cuanto a las manifestaciones clínicas, el 54,5% de los pacientes con SAF presentaron trombosis, el 51,5% eventos obstétricos y el 4,2% ambos tipos de manifestaciones.

Tabla 1: Edad, sexo, factores de riesgo cardiovascular y clínica por grupos expresados en porcentajes

	SAF* (n=101)	SEROLOGIA** (n=64)	CONTROLES (n=326)	<i>p</i>
EDAD (Media \pm SD***)	53,75 \pm 15,007	53,40 \pm 16,281	53,43 \pm 10,465	-
SEXO (Mujeres)	79,2	68,8	74,2	-
TABACO	40,6	31,7	-	-
HIPERTENSION ARTERIAL	37,6	25,4	-	-
DISLIPEMIA	34,7	15,9	-	0,01
DIABETES MELLITUS	6,9	3,2	-	-
LES ASOCIADO****	21,8	23,4	-	-
CLÍNICA	Trombosis	54,5	0	-
	Obstétrico	51,5	0	-
	Ambos	4,2	0	-

*SAF: síndrome antifosfolípido.**Serología: pacientes con aPL positivos que no cumplen los criterios de enfermedad.***SD: desviación estándar.****LES: lupus eritematoso sistémico.

Como se muestra en la **Figura 2**, las determinaciones de vitamina D en los pacientes “caso” y los “controles” se distribuyeron en un 54,7% extraídas durante la estación soleada (abril-septiembre) y un 45,3% extraídas durante la estación oscura (octubre-marzo) no encontrándose diferencias significativas ($p=0,714$).

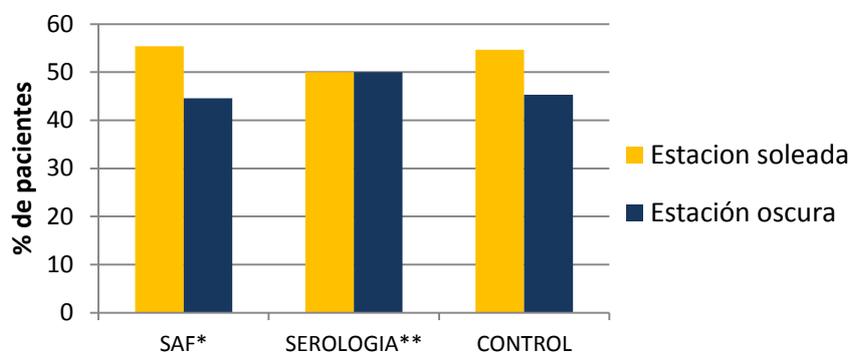


Figura 2: Estación del año en que se realizaron las determinaciones representada por grupos.

*SAF: síndrome antifosfolípido.

**Serología: pacientes con aPL positivos que no cumplen los criterios de enfermedad.

Por otro lado, se clasificaron los niveles de vitamina D en dos categorías según si existe o no hipovitaminosis D como se detalla en el apartado “pacientes y métodos”. Según ella un 73,5% del total de pacientes presentaron niveles de vitamina D por debajo de 30 ng/ml y un 26,5% del total presentaron niveles normales. Véase la **Figura 3** para visualizar las diferencias entre los grupos. No se han encontrado diferencias significativas entre grupos ($p=0,209$) puesto que el grupo control presenta un porcentaje de hipovitaminosis similar con respecto a los pacientes.

1. Objetivo primero: Determinar el nivel de vitamina D circulante en pacientes con anticuerpos antifosfolípido.

No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas ($p=1,397$) al dividir los 3 grupos de estudio tal y como se describe en la **Figura 3**, aunque se puede observar cómo el percentil 75 de los pacientes con SAF se sitúa por debajo de 30ng/ml en contraposición a los pacientes con serología positiva sin clínica y los controles sanos que se sitúa por encima.

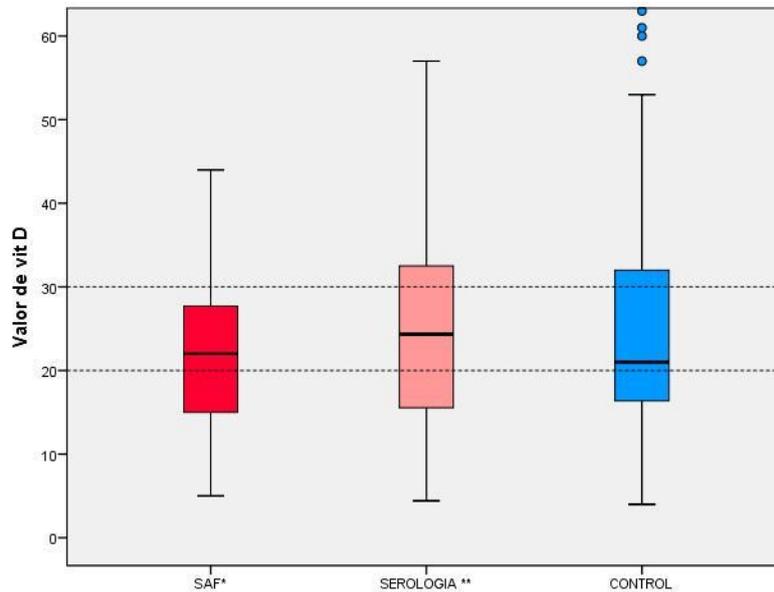


Figura 3: distribución del nivel de vitamina D clasificado por grupos.

*SAF: síndrome antifosfolípido. **Serología: pacientes con aPL positivos que no cumplen los criterios de enfermedad.

Como se ha comentado anteriormente, uno de los hallazgos del presente estudio es la elevada proporción de pacientes con niveles de vitamina D por debajo de 30ng/ml, exactamente un 73,5% del total (**Figura 4**), a pesar de no encontrar diferencias significativas ($p=0,209$).

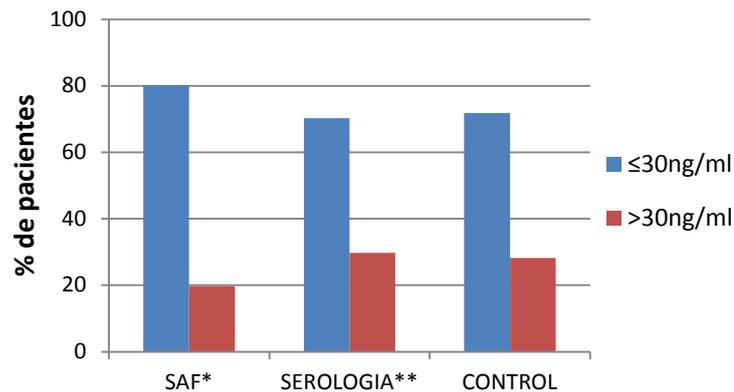


Figura 4: porcentaje pacientes con hipovitaminosis D representado por grupos.

*SAF: síndrome antifosfolípido. **Serología: pacientes con aPL positivos que no cumplen los criterios de enfermedad.

Sin embargo, al analizar si existen diferencias entre los tres grupos y las 4 categorías de vitamina D ya descritas el apartado “pacientes y métodos” sí se han encontrado diferencias estadísticamente significativas ($p=0,002$) mostrando una mayor tendencia a niveles extremadamente bajos de vitamina D en el grupo de SAF y en el grupo de pacientes con serología positiva (**Tabla 2 y Figura 5**).

	SAF*	SEROLOGIA**	CONTROL
≤10ng/ml	13,1	10,9	4,9
10,1-20ng/ml	30,3	28,1	43,7
20,1-30ng/ml	37,4	31,2	23,1
>30ng/ml	19,2	29,7	28,3

Tabla 2: porcentaje de pacientes según categorías por grupos.

*SAF: síndrome antifosfolípido. **Serología: pacientes con aPL positivos que no cumplen los criterios de enfermedad.

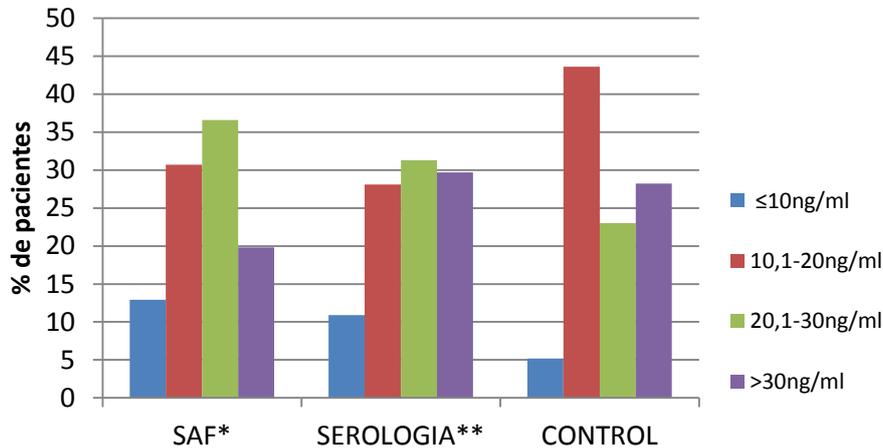


Figura 5: porcentaje de pacientes según categorías clasificado por grupos.

*SAF: síndrome antifosfolípido. **Serología: pacientes con aPL positivos que no cumplen los criterios de enfermedad.

2. **Objetivo segundo:** Determinar la influencia de los niveles de vitamina D en las manifestaciones clínicas de la enfermedad.

A la hora de clasificar en mayor o menor de 30ng/ml no se han encontrado diferencias entre los grupos respecto a la trombosis ($p=0,244$) ni respecto a la clínica obstétrica con ($p=0,366$).

En cuanto al análisis en 4 categorías no se han hallado diferencias estadísticamente significativas, a su vez, ni en la trombosis ($p=0,458$) ni la clínica obstétrica ($p=0,352$).

Por otro lado, como se muestra en la **Tabla 3**, respecto al tipo de trombosis (venoso, arterial o ambos), al analizar las diferencias según se situaban por debajo o por encima de 30ng/ml, no se han encontrado diferencias estadísticamente significativas ($p=0,110$).

	TIPO DE TROMBOSIS			
	NO (n=122)	ARTERIAL (n=28)	VENOSA (n=12)	AMBOS TIPOS DE TROMBOSIS (n=2)
≤30ng/ml	73,8	92,9	66,7	50
>30ng/ml	26,2	7,1	33,3	50

Tabla 3: porcentaje de tipo de trombosis según categorías de vitamina D.

Sin embargo, y puesto que el tamaño muestral de pacientes con trombosis venosa y con ambos tipos de trombosis es reducido, se ha analizado la significación estadística entre la presencia de trombosis arterial y la ausencia de manifestaciones tromboticas hallándose diferencias estadísticamente significativas ($p=0,03$).

En cuanto a la clínica obstétrica (**Tabla 4**), según si los pacientes se situaban por debajo o por encima de 30ng/ml, no se han encontrado diferencias estadísticamente significativas ($p=0,366$).

	EVENTOS OBSTÉTRICOS	
	No	Si
≤30ng/ml	74,3	80,8
>30ng/ml	25,7	19,2

Tabla 4: porcentaje de eventos obstétricos según categoría de vitamina D.

Por último, se ha analizado la relación entre la vitamina D según si tuvieron niveles mayores o menores de 30ng/ml con la presencia de clínica trombotica y obstétrica combinada no encontrándose diferencias estadísticamente significativas ($p=0,552$).

3. **Objetivo tercero:** Determinar la influencia de los niveles de vitamina D en el perfil de autoanticuerpos.

Se realizaron una media de $6,98 \pm 3,917$ determinaciones de aPL por cada paciente incluido en el estudio (rango: 1-20).

Se compararon los niveles de vitamina D clasificados en dos categorías, según si fueron mayores o menores de 30ng/ml, con el tipo concreto de anticuerpo no hallándose diferencias significativas en ninguno de los 3 tipos de autoanticuerpos: aCL ($p=0,447$), aB2Gp1 ($p=0,063$) y AL ($p=0,139$). A la hora de clasificar la vitamina en las cuatro categorías descritas en el apartado “pacientes y métodos” y analizando su relación con los distintos anticuerpos tampoco se han encontrado diferencias en el caso de aCL ($p=0,754$), de aB2GP1 ($p=0,243$) ni el caso de AL ($p=0,432$).

Por otro lado, se han comparado las diferencias en la carga de autoanticuerpos en relación con un nivel de vitamina D superior o inferior a 30 ng/ml, encontrándose diferencias significativas ($p=0,049$), como se recoge en la **Tabla 5** y en la **Figura 6**.

	≤30ng/ml	>30ng/ml
Un autoanticuerpo positivo	64,8	35,2
Dos autoanticuerpos positivos	80,88	19,11
Los tres autoanticuerpos positivos	83,72	16,3

Tabla 5: porcentaje de positividad de autoanticuerpos según si presentaron o no hipovitaminosis D.

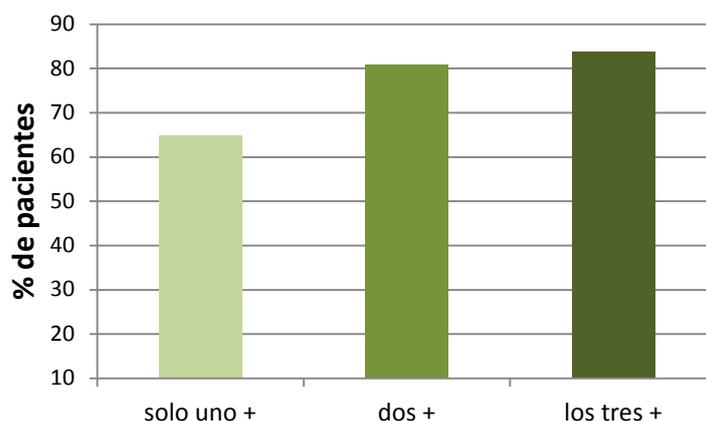


Figura 6: porcentaje de positividad cuando los niveles de 25OHD fueron ≤ 30 ng/ml según carga de autoanticuerpos.

Respecto al análisis entre la carga de autoanticuerpos y la vitamina D en las cuatro categorías descritas en el apartado “pacientes y métodos” comparado por grupos no se han encontrado diferencias ni en el caso del SAF ($p=0,478$) ni en el de los pacientes con serología positiva sin cumplir criterios clínicos de enfermedad ($p=0,419$).

Finalmente, se han comparado, por grupos, la evolución de anticuerpos con el nivel de vitamina D según se han definido en el apartado “pacientes y métodos”: aPL persistentemente negativos, transitoriamente positivos y persistentemente positivos.

Tal y como se describe en la **Tabla 6**, un 46,1% los aPL son persistentemente negativos, 9,1% los aPL muestran positividad transitoria y un 44,8% se mantienen persistentemente positivos. No se hallan diferencias significativas entre la evolución y los diferentes grupos ($p=0,349$):

	SAF* (n=101)	SEROLOGIA** (n=64)	Total (n=165)
aPL persistentemente negativos (n=76)	49,5	40,6	46,1
aPL transitoriamente positivos (n=15)	6,9	12,5	9,1
aPL persistentemente positivos (n=74)	43,6	46,9	44,8

Tabla 6: porcentaje de pacientes según la evolución de aPL.

*SAF: síndrome antifosfolípido.

**Serología: pacientes con aPL positivos que no cumplen los criterios de enfermedad.

A continuación, se analiza la posible relación entre dicha evolución de anticuerpos en función del nivel de vitamina D sobre el total de pacientes, sin diferenciar por grupos de estudio (**Figura 7**), no hallándose diferencias estadísticamente significativas ($p=0,822$).

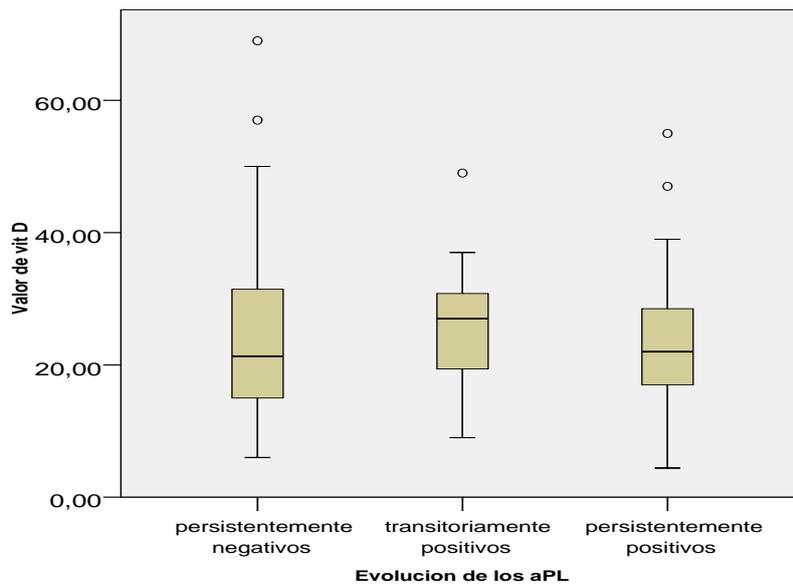


Figura 7: valor de vitamina D según la evolución de los anticuerpos.

Al analizar, por otro lado, la evolución de los autoanticuerpos en función del nivel de vitamina D según el grupo (**Figura 8**), tampoco se han encontrado diferencias significativas ($p=0,254$).

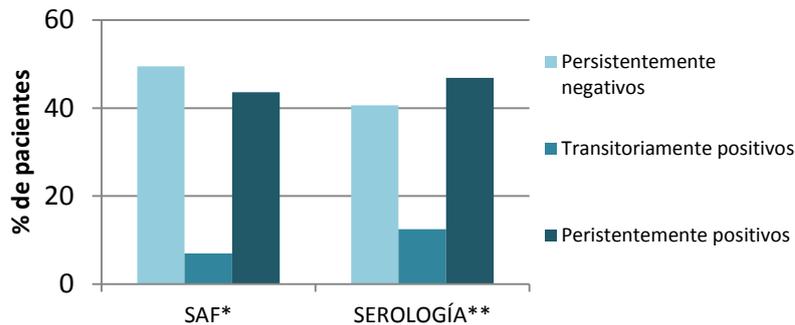


Figura 8: porcentaje de pacientes según su evolución comparado con el valor de la vitamina D.

*SAF: síndrome antifosfolípido. **Serología: pacientes con aPL positivos que no cumplen los criterios de enfermedad.

En la **Tabla 7** y en la **Figura 9** se han comparado, la evolución de los anticuerpos en las cuatro categorías de la vitamina D no hallándose diferencias significativas ($p=0,591$). De igual forma que al clasificar según un nivel plasmático superior o inferior a 30 ng/ml ($p=0,65$).

	≤10ng/ml	10,1-20ng/ml	20,1-30ng/ml	≥30,1ng/ml
aPL persistentemente negativos	10,7	36	28	26,63
aPL transitoriamente positivos	14,3	21,45	42,9	28,6
aPL persistentemente positivos	13,5	25,7	40,5	20,3

Tabla 7: evolución de los pacientes según las categorías de vitamina D.

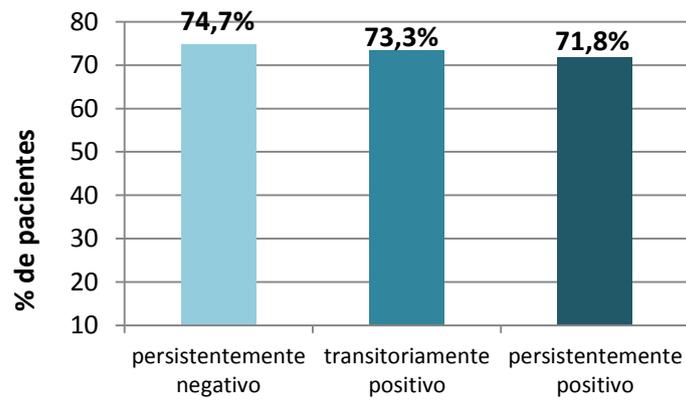


Figura 9: porcentaje de pacientes por por debajo de 30ng/ml según la evolución.

Discusión

La influencia de la vitamina D en la modulación, tanto en predisposición como en gravedad, de enfermedades crónicas ha sido objeto de interés llegando a relacionar con enfermedades de tipo autoinmune como son el lupus eritematoso sistémico⁵ o la artritis reumatoide^{6,7} entre otras. Son conocidos los factores ambientales que actúan sobre esta vitamina como son el color de la piel, la edad, el sexo, la alimentación o la exposición solar¹⁹. No obstante, los mecanismos a través de los cuales actúa la vitamina D sobre la inmunidad son todavía poco conocidos¹⁴.

En el presente estudio se analiza de forma retrospectiva por un lado, la relación entre los niveles de vitamina D y los anticuerpos antifosfolípido comparando con un grupo de controles sanos, y clasificando a los pacientes en dos grandes grupos (pacientes con SAF definido y pacientes con serología positiva sin reunir criterios clínicos de enfermedad), por otro lado, su relación con la clínica tanto trombótica como obstétrica, y finalmente, con la evolución serológica en los pacientes.

Hasta el momento, existen escasos estudios publicados a este respecto. A modo de resumen se describen brevemente los hallazgos de los mismos en la **Tabla 8**. Hay que destacar, que tres de los cuatro trabajos presentados en la **Tabla 8** han sido realizados por los mismos autores e incluyen en su gran mayoría al mismo grupo de pacientes aunque aborden objetivos diferentes. En los cuatro estudios se demuestra una mayor hipovitaminosis D, definida como <30ng/ml (a excepción de Agmon-Levin *et al*¹⁹ que la definen como <15ng/ml) en los pacientes con SAF en comparación con los controles sanos, destacando, que en los dos últimos estudios representados en la tabla^{38, 39} los pacientes muestran niveles menores en verano. En el estudio de Andreoli *et al*¹⁹, como dato adicional, se halla una mayor tendencia a niveles extremadamente bajos (<10ng/ml). Los estudios realizados por Piantoni *et al*³⁹ y Agmon-Levin *et al*¹⁹ encuentran niveles menores de vitamina D en pacientes con clínica trombótica pura en comparación con aquellos con clínica obstétrica.

A pesar de no encontrar diferencias estadísticamente significativas entre los tres grupos de estudio respecto a los niveles de vitamina D, sí fue estadísticamente significativo el hecho de hallar niveles extremadamente bajos en los pacientes con SAF y serología positiva. En nuestro estudio, por otro lado, los pacientes con trombosis arterial presentaron unos niveles de vitamina D significativamente menores que la población sin trombosis. Finalmente, hemos hallado significación estadística en la relación entre la hipovitaminosis D y la carga de autoanticuerpos detectando una mayor carga cuanto menor fuera el nivel de vitamina D.

No hay diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la edad y al sexo. Los grupos de pacientes han sido comparados con un grupo de controles sanos formado por individuos procedentes de la misma zona geográfica y con la misma

proporción de mujeres y hombres. En cuanto a la edad, los controles fueron seleccionados de acuerdo a la media de edad de los pacientes siendo 53,75 y 53,40 años para el grupo de pacientes con SAF y el grupo con serología positiva respectivamente. Tampoco hay diferencias en cuanto a la época de extracción de la muestra. A diferencia del resto de estudios publicados hasta la fecha, el presente trabajo también incluye a aquellos individuos con autoanticuerpos circulantes en ausencia de enfermedad como se define en los criterios de clasificación de la enfermedad²⁶.

De forma global, no encontramos diferencias estadísticamente significativas en los niveles de vitamina D ya que la prevalencia de hipovitaminosis D es muy elevada tanto en los grupos de pacientes como en el grupo control. Esto es debido a que en la población española adulta la prevalencia de hipovitaminosis D (<30ng/ml) es elevada²⁰. En contraposición a estos datos, sí hallamos diferencias significativas en el caso de niveles de vitamina D extremadamente bajos (<10ng/ml) en consonancia con el estudio de Andreoli *et al*¹⁹. Podría plantearse como causa de este hallazgo la interferencia de la suplementación oral añadida al tratamiento de muchos de estos pacientes, si bien el estudio de Piantoni *et al*³⁹ no pudo demostrar incremento de los niveles de vitamina D hasta niveles óptimos tras la suplementación, probablemente por falta de tamaño muestral y por la baja dosis administrada. Por otro lado, como ya ha sido comentado en este mismo párrafo, la gran prevalencia de hipovitaminosis D en la población general añade una mayor dificultad a la hora de detectar las diferencias entre pacientes y controles.

En lo que respecta a la clínica, cabe destacar en nuestro análisis la asociación estadísticamente significativa entre la hipovitaminosis D y la trombosis arterial coincidiendo con los estudios citados en la **Tabla 8**^{19,39}. Volviendo a la **Tabla 1** del apartado “resultados”, debe tomarse en consideración la posibilidad de que exista una relación causal con los factores de riesgo cardiovascular más prevalentes en la población con SAF en comparación con los pacientes con serología positiva. No obstante, el estudio de Agmon-Levin *et al*¹⁹ demostró *in vitro* una mayor inhibición del factor tisular (FT) estimulado por $\alpha\beta 2Gp1$ en presencia de la vitamina D, lo cual podría ser otra posible razón de este hallazgo. En el caso de la clínica obstétrica en su conjunto, no hemos encontrado diferencias significativas con la hipovitaminosis D. En un reciente estudio publicado⁴¹ sobre la eficacia de la heparina de bajo peso molecular se ha demostrado un menor riesgo trombótico al contrario que en el caso de la preeclampsia en cuya incidencia resulta no efectiva; esto fue debido, según sus hallazgos, a que en ausencia de vitamina D, la heparina estimula la liberación del factor angiogénico del trofoblasto llamado sFlt-1 implicado en su patogenesis. Esto puede tener implicación terapéutica ya que la combinación del tratamiento heparinizante con vitamina D en la gestantes podría mejorar no solo su riesgo trombótico sino también el de sufrir preeclampsia.

El último de los objetivos de este estudio fue demostrar una relación entre la hipovitaminosis y los anticuerpos antifosfolípido. Este es un aspecto no abordado hasta el momento pudiendo convertirse en un punto de sumo interés debido a la posible implicación clínica y/o pronóstica. Nuestro estudio no ha podido demostrar esta asociación en cuanto al tipo de anticuerpo se refiere (aCL, a β 2gp1 o AL). No obstante, en el caso del a β 2Gp1 roza la significación estadística ($p=0,063$), de lo cual se puede deducir que con un mayor tamaño muestral podrían hallarse diferencias estadísticamente significativas, en cuyo caso apoyaría la hipótesis de Andreoli *et al*¹⁹, ya mencionada anteriormente, y su relación con el FT, conocido agente trombogénico. Si dicha significación se demostrara, podría convertirse en un factor potencialmente modificable con un sencillo y poco tóxico tratamiento, como es la suplementación con vitamina D.

Sí se ha podido evidenciar una asociación con la carga de autoanticuerpos, concluyendo que a menor nivel de vitamina D, mayor carga, lo cual, posee un punto de gran interés ya que hasta el momento ningún estudio había planteado esta hipótesis a pesar de haberse demostrado que a mayor carga, mayores posibilidades de desarrollar SAF^{4,9,25,29,34}. Se ha hallado una relación entre niveles séricos inferiores a 30ng/ml y un porcentaje mayor de pacientes con dos o tres autoanticuerpos positivos (80,88 % y 83,72% respectivamente) frente a aquellos que sólo presentan positividad en uno de los autoanticuerpos (64,8%), que tienden hacia niveles mayores de vitamina D.

Reconocemos las limitaciones del presente estudio y la necesidad de, sobre estos datos, realizar análisis más exhaustivos de todos los aspectos planteados por su posible implicación clínico-terapéutica. Debemos destacar que se trata de un estudio retrospectivo en el que únicamente hemos podido extraer los datos que se recogieron en las historias clínicas de los pacientes, pudiendo obviar algunos aspectos que pudieran resultar útiles para el análisis. En el análisis no hemos tenido en cuenta factores de riesgo cardiovascular como la obesidad lo cual, podría ser un factor modificador ya que según Klack y Carvalho⁴⁰ estos pacientes presentan niveles mayores de vitamina D. Por otro lado, no hemos recogido la prevalencia de los factores de riesgo cardiovascular de los controles por lo que no hemos podido comparar y demostrar diferencias respecto a los pacientes. En cuanto a la edad, nuestra población de estudio se encontraba por encima de los 50 años, a diferencia de los estudios mostrados en la **Tabla 8**, lo cual, podría tener relación con los resultados obtenidos debido a la mayor probabilidad intrínseca de estos pacientes de presentar clínica trombótica y también niveles más bajos de vitamina D. En el caso de la clínica obstétrica no hemos hallado diferencias estadísticamente significativas aunque no se realizó un estudio detallado de cada tipo de evento en relación con la hipovitaminosis D lo cual, como ya se ha mencionado, podría resultar interesante puesto que sí podría tener implicación en el caso de la preeclampsia⁴¹. A diferencia de los estudios ya mencionados en la **Tabla 8**, en nuestro estudio no hemos excluido a los

pacientes con LES asociado, lo cual puede tener relación directa con el nivel de vitamina D puesto que estos pacientes reciben recomendaciones sobre protección solar y corticoterapia, entre otros tratamientos que a su vez no hemos tenido en consideración, en contraste con los pacientes con SAF y/o serología puros cuyos hábitos son los de la población general y cuyo tratamiento se basa en la anticoagulación. En un análisis futuro se deberán tener en cuenta todos estos aspectos.

Finalmente, como ventajas de nuestro estudio, cabe destacar el elevado número de sujetos incluidos en el estudio, y en concreto de controles, que al contrario que en los estudios ya citados hemos podido parear según edad, sexo y fecha de determinación de vitamina D. Por otro lado, hemos podido incluir pacientes con largo periodo de seguimiento permitiendo visualizar diferentes momentos evolutivos de la enfermedad desde que se detectan los autoanticuerpos. Una ventaja que ya ha sido comentada anteriormente y que aportamos como novedad, es el hecho de haber incluido como casos a los pacientes sin manifestaciones clínicas pero con serología positiva y haber realizado el análisis de la relación entre la hipovitaminosis D y los tipos de autoanticuerpos, la carga y la evolución como distinción primordial respecto al resto de estudios publicados^{19, 38, 39, 40}, lo cual, puede permitir generar nuevas vías de abordaje de estos pacientes dado que hemos demostrado una relación entre la hipovitaminosis D y una mayor carga de autoanticuerpos.

Tabla 8.- Resumen de los hallazgos publicados sobre la relación entre la vitamina D y el síndrome antifosfolípido.

Estudio	Diseño y objetivos	Población de estudio	Resultados
Klack K, et al <i>JF.JointBoneSpine</i> (2010) ⁴⁰	Evaluar la prevalencia de hipovitaminosis D en el SAF primario y su relación con las manifestaciones clínicas y la evolución de autoanticuerpos.	- 46 pacientes con SAF. - Extracción de sueros en la misma estación del año, en concreto cuando mayor nivel hayen la ciudad de donde proceden, Sao Paulo. -Exclusión: pacientes mayores de 60 años.	- El 70% presentaron niveles por debajo de 30ng/ml. - Mayores niveles en pacientes con obesidad. - No se hallaron diferencias ni en la evolución ni en la clínica.
Agmon-Levin et al, Annals of Rheumatic Diseases (2011) ¹⁹	- Evaluar la relación entre los niveles de vitamina D y la clínica trombotica mediada por aPL* en modelos "in vitro". - Demostrar la posible función de la vitamina D en la inhibición del factor tisular (FT) mediado por aPL	- 179 pacientes con SAF** procedentes de Europa. - 141 controles sanos. - Consideraron niveles bajo de vitamina D a valores por debajo de 15ng/ml.	- 49,5% vs. 30% de hipovitaminosis D en SAF y controles respectivamente (p<0,001). - Más eventos tromboticos con deficiencia de vitamina D(<15ng/ml) vs. sin deficiencia (58%vs. 42%; p<0,05). - La vitamina D inhibe el FT estimulado por aβ2Gp1 "in vitro", por lo tanto, "in vivo" la hipovitaminosis permitiría el aumento del FT.
Piantoni S et al, Reumatismo (2012) ³⁹	- Evaluar la prevalencia de hipovitaminosis D en el SAF primario y su relación con las manifestaciones clínicas tromboticas y obstétricas. - Observar los efectos de la suplementación oral con vitamina D.	- 115 pacientes con SAF. - 128 controles sanos. - A 16 pacientes se les dio suplementación oral. - Exclusión: asociación con LES***.	- 17% vs. 5% de hipovitaminosis D (<30ng/ml) entre SAF vs. controles. - Durante el verano, los niveles fueron inferiores en SAF en comparación con los controles (medianas de 28 vs. 40,1 ng/ml; p<0,01). - SAF tromboticos tenían menores niveles que los obstétricos (mediana 20,8 vs. 33,2 ng/ml;p<0,01). - La suplementación no fue efectiva para elevar los niveles por encima de 30ng/ml.
Andreoli L et al, Lupus (2012) ³⁸	Evaluar el nivel de vitamina D según la estación del año en SAF primario.	- 115 pacientes con SAF. - 128 controles sanos. - Exclusión: asociación con LES.	- Los pacientes con SAF mostraron mayor hipovitaminosis durante el verano (p<0,01) y durante el otoño-invierno (p=0,03). - Los pacientes con SAF mostraron niveles <10ng/ml en mayor porcentaje que los controles (17% vs. 5%; p<0,01). - Los controles mostraron mayor porcentaje de niveles >30ng/ml (36% vs. 23%; p=0,04).

*aPL: anticuerpos antifosfolípidos. **SAF: síndrome antifosfolípido. ***LES: lupus eritematoso sistémico.

Conclusiones

- La prevalencia de hipovitaminosis D (<30ng/ml) en la población de estudio es muy elevada, no habiéndose encontrado diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes con anticuerpos antifosfolípido positivos y el grupo control sano.
- Tanto el grupo con SAF como el grupo con serología positiva muestran una mayor prevalencia de niveles extremadamente bajos (<10ng/ml) de vitamina D en comparación con el grupo control.
- Se confirma la posible asociación entre la clínica trombótica arterial y la hipovitaminosis D (<30ng/ml).
- Existe una relación entre los niveles de vitamina D circulante y la carga de autoanticuerpos siendo mayor cuanto menor es el nivel de vitamina D.

Para el futuro próximo:

- Realizar un subanálisis en el que se tenga en cuenta la diferenciación o exclusión del estudio a los pacientes que presentan LES asociado puesto que éstos llevan a cabo las recomendaciones sobre protección solar además de tratamientos que pueden influir en la absorción de la vitamina D.
- No pudimos hallar diferencias significativas en cuanto a la relación con la hipovitaminosis D y la clínica obstétrica a pesar de no diferenciar en el análisis su posible asociación con los tipos concretos de eventos obstétricos que conforman los criterios del síndrome. Es necesario realizar este análisis para extraer conclusiones a este respecto.
- Son necesarios estudios más amplios y detallados que diferencien los análisis por estaciones para minimizar al máximo los factores modificadores del nivel de vitamina D.
- Finalmente, son necesarios estudios sobre la hipótesis que postula que la suplementación con vitamina D (en la dosis adecuada) podría mejorar los aspectos ya mencionados en la discusión del presente estudio.

Agradecimientos

Nos gustaría dar las gracias a la German Daroca Bengoa por permitirnos trabajar sobre la base de datos confeccionada por él, a Pedro Muñoz Cacho por su ayuda con el análisis estadístico, a Lorena Álvarez Rodríguez por su colaboración con la selección de los controles sanos, al igual que a Jose Luis Hernández Hernández al cual queremos agradecer a su vez su ayuda con la bibliografía.

Bibliografía

1. Cutolo M, Plebani M, Shoenfeld Y, Adorini L, Tincani A. Vitamin D endocrine system and the immune response in rheumatic diseases. *Vitam Horm.* 2011;86:327-51. doi: 10.1016/B978-0-12-386960-9.00014-9.
2. Arnsón Y, Amital H, Shoenfeld Y. Vitamin D and autoimmunity: new aetiological and therapeutic considerations. *Ann Rheum Dis.* 2007;66:1137-1142. doi:10.1136/ard.2007.069831.
3. Maciel Griz LH, Bandeira F, Lima Gabbay MA, Atala Dib S, Freese de Carvalho E. Vitamin D and diabetes mellitus: an update – 2013. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2014;58/1.
4. Bhargava P, Gocke A, Calabresi PA. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ impairs the differentiation of effector memory T cells in vitro in multiple sclerosis patients and healthy controls. *J Neuroimmunol.* 2015 Feb 15;279:20-4. doi: 10.1016.
5. Ritterhouse LL, Crowe SR, Niewold TB, Kamen DL, Macwana SR, Roberts VC, Dedeker AB. Vitamin D deficiency is associated with an increased autoimmune response in healthy individuals and in patients with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis.* 2011(70):1569–1574. doi:10.1136/ard.2010.148494.
6. Merlino LA, Curtis J, Mikuls TR, Cerhan JR, Criswell LA, Saag KG. Vitamin d intake is inversely associated with rheumatoid arthritis, results from the Iowa women's health study. *Arthritis and Rheumatism.* 2004 Jan;(50):72–77. doi 10.1002/art.11434.
7. Abourazzak FE, Talbi S, Aradoini N, Berrada K, Keita S, Hazry T. 25-Hydroxy vitamin D and its relationship with clinical and laboratory parameters in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol.* 2015 Feb;34(2):353-7. doi: 10.1007/s10067-014-2713-0.
8. Bozkurt NC, Karbek B, Ucan B, Sahin M, Cakal E, Ozbek M, Delibasi T. The association between severity of vitamin D deficiency and Hashimoto's thyroiditis. *Endocr Pract.* 2013 May-Jun;19(3):479-84. doi: 10.4158/EP12376.OR
9. Sentongo TA, Semaao EJ, Stettler N, Piccoli DA, Stallings VA, Zemel BS. Vitamin D status in children, adolescents, and young adults with Crohn disease. *Am J Clin Nutr* 2002;76:1077–81.
10. Holick MF. The vitamin D epidemic and its health consequences. *J Nutr.* 2005 Nov;135(11):2739S-48S.
11. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med.* 2007 Jul 19;357(3):266-81.
12. Holick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr.* 2004 Dec;80(6 Suppl):1678S-88S.
13. Adams JS, Hewison M. Update in vitamin D. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010 Feb;95(2):471-8. doi: 10.1210/jc.2009-1773.
14. Alvarez-Rodriguez L, Lopez-Hoyos M, Garcia-Unzueta M, Amado JA, Cacho PM, Martinez-Taboada VM. Age and low levels of circulating vitamin D are associated with impaired innate immune function. *J Leukoc Biol.* 2012 May;91(5):829-38. doi: 10.1189/jlb.1011523.
15. Dickie LJ, Church LD, Coulthard LR, Mathews RJ, Emery P, McDermott MF. Vitamin D₃ down-regulates intracellular Toll-like receptor 9 expression and Toll-like

- receptor 9-induced IL-6 production in human monocytes. *Rheumatology* 2010;49:1466–1471. doi:10.1093/rheumatology/keq124.
16. Urry Z, Xystrakis E, Richards DF, McDonald J, Sattar Z, Cousins D, Corrigan CJ, Hickman E, Brown Z, Hawrylowicz CM. Ligation of TLR9 induced on human IL-10, secreting Tregs by 1 α ,25-dihydroxyvitamin D3 abrogates regulatory function. *J. Clin. Invest.* 119:387–398 (2009). doi:10.1172/JCI32354.
 17. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, Murad MH, Weaver CM; Endocrine Society. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011 Jul;96(7):1911-30. doi: 10.1210/jc.2011-0385.
 18. Abou-Raya A, Abou-Raya S, Helmii M. A Randomized Placebo-controlled Trial Markers and Disease Activity in Patients with Systemic Lupus Erythematosus: The Effect of Vitamin D Supplementation on Inflammatory and Hemostatic. *J Rheumatol* 2013;40;265-272.
 19. Agmon-Levin N, Blank M, Zandman-Goddard G, Orbach H, Meroni PL, Tincani A, Doria A, Cervera R, Miesbach W, Stojanovich L, Barak V, Porat-Katz BS, Amital H, Shoenfeld Y. Vitamin D: an instrumental factor in the anti-phospholipid syndrome by inhibition of tissue factor expression. *Ann Rheum Dis.* 2011 Jan;70(1):145-50. doi: 10.1136/ard.2010.134817.
 20. Olmos JM, Hernández JL, García-Velasco P, Martínez J, Llorca J, González-Macías J. Serum 25-hydroxyvitamin D, parathyroid hormone, calcium intake, and bone mineral density in Spanish adults. *Osteoporos Int.* 2015 Jul. doi 10.1007/s00198-015-3219-6.
 21. Costenbader KH, Feskanich D, Holmes M, Karlson EW, Benito-Garcia E. Vitamin D intake and risks of systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis in women *Ann Rheum Dis* 2008;67;530-535; doi:10.1136/ard.2007.072736.
 22. Hiraki LT, Arkema EV, Cui J, Malspeis S, Costenbader KH, Karlson EW. Circulating 25-hydroxyvitamin D level and risk of developing rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford).* 2014 Dec;53(12):2243-8. doi: 10.1093/rheumatology/keu276.
 23. Wacker M, Holick MF. Vitamin D effects on skeletal and extraskeletal health and the need for supplementation. *Nutrients.* 2013 Jan 10;5(1):111-48. doi: 10.3390/nu5010111.
 24. Ruiz-Irastorza G, Cuadrado MJ, Ruiz-Arruza I, Brey R, Crowther M, Derksen R, Erkan D, Krilis S, Machin S, Pengo V, Pierangeli S, Tektonidou M, Khamashta M. Evidence-based recommendations for the prevention and long-term management of thrombosis in antiphospholipid antibody-positive patients: report of a task force at the 13th International Congress on antiphospholipid antibodies. *Lupus.* 2011 Feb;20(2):206-18. doi: 10.1177/0961203310395803.
 25. Ruiz-Irastorza G, Crowther M, Branch W, Khamashta MA. Antiphospholipid syndrome. *Lancet.* 2010 Oct 30;376(9751):1498-509. doi: 10.1016/S0140-6736(10)60709-X.
 26. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, Derksen RHW, de Groot PG, Koike T, Meroni PL, Reber G, Shoenfeld Y, Tincani A, Vlachoyiannopoulos PG, Krilis SA. International consensus statement on an

- update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost* 2006; 4: 295–306.
27. Rodriguez-Garcia JL, Bertolaccini ML, Cuadrado MJ, Sanna G, Ateka-Barrutia O, Khamashta MA. Clinical manifestations of antiphospholipid syndrome (APS) with and without antiphospholipid antibodies (the so-called 'seronegative APS'). *Ann Rheum Dis* 2012;71:242–244. doi:10.1136/annrheumdis-2011-200614.
 28. Nayfe R, Uthman I, Aoun J, Aldin ES, Merashli M, Khamashta MA. Seronegative antiphospholipid syndrome. *Rheumatology* 2013;52:1358-1367. doi:10.1093/rheumatology/ket126.
 29. Shoenfeld Y, Meroni PL, Cervera R. Antiphospholipid syndrome dilemmas still to be solved: 2008 status. *Ann Rheum Dis* 2008;67:438-442. doi:10.1136/ard.2007.083873.
 30. Meroni PL, Borghi MO, Raschi E, Tedesco F. Pathogenesis of antiphospholipid syndrome: understanding the antibodies. *Nat Rev Rheumatol*. 2011 Jun;7(6):330-9. doi: 10.1038/nrrheum.2011.52.
 31. Erkan D, Yazici Y, Peterson MG, Sammaritano L, Lockshin MD. A cross-sectional study of clinical thrombotic risk factors and preventive treatments in antiphospholipid syndrome. *Rheumatology (Oxford)*. 2002 Aug;41(8):924-9.
 32. Criado-García J, Fernández-Puebla RA, Jiménez LL, Velasco F, Santamaría M, Blanco-Molina A. [Anticoagulation treatment withdrawal in primary antiphospholipid syndrome when anticardiolipin antibodies become negative][Article in Spanish]. *Rev Clin Esp*. 2008 Mar;208(3):135-7.
 33. Agostinis C, Durigutto P, Sblattero D, Borghi MO, Grossi C, Guida F, Bulla R, Macor P, Pregnolato F, Meroni PL, Tedesco F. A non-complement-fixing antibody to β 2 glycoprotein I as a novel therapy for antiphospholipid syndrome. *Blood*. 2014 May, 29;123(22):3478-87. doi: 10.1182/blood-2013-11-537704.
 34. Giannakopoulos B et al. The Pathogenesis of the Antiphospholipid Syndrome. *N Engl J Med* 2013;368:1033-44. doi: 10.1056/NEJMra1112830.
 35. Ross AC et al. The 2011 Report on Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D from the Institute of Medicine: What Clinicians Need to Know. *J Clin Endocrinol Metab*, 2011 Jan, 96(1):53–58.
 36. American Diabetes Association. Classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes Care* 2015;38 (Suppl. 1):S8–S16.
 37. James PA, Oparil S, Carter BL, et al. 2014 evidence-based guideline for the management of high blood pressure in adults: report from the panel members appointed to the Eighth Joint National Committee (JNC 8). *JAMA*. 2014 Feb 5;311(5):507-20.
 38. Andreoli L, Piantoni S, Dall'Ara F, Allegri F, Meroni PL, Tincani A. Vitamin D and antiphospholipid syndrome. *Lupus*. 2012; 21:736–740.
 39. Piantoni S, Andreoli L, Allegri F, Meroni PL, Tincani A. Low levels of vitamin D are common in primary antiphospholipid syndrome with thrombotic disease. *Reumatismo*. 2012 Dec 11;64(5):307-13. doi: 10.4081/reumatismo.2012.307.
 40. Klack K, Carvalho JF. High frequency of vitamin D insufficiency in primary antiphospholipid syndrome. *Joint Bone Spine*. 2010 Oct;77(5):489-90;doi: 10.1016/j.jbspin.2010.02.043.
 41. Gysler SM, Mulla MJ, Stuhlman M, Sfakianaki AK, Paidas MJ, Stanwood NL, Garipey A, Brosens JJ, Chamley LW, Abrahams VM. Vitamin D reverses aPL-

induced inflammation and LMWH-induced sFlt-1 release by human trophoblast. *Am J Reprod Immunol.* 2015 Mar;73(3):242-50. doi: 10.1111/aji.12301. Epub 2014 Jul 29.

Apéndice I – Criterios diagnósticos del síndrome antifosfolípido²⁶

Para el diagnóstico de SAF se requieren al menos un criterio clínico y uno de laboratorio.

Criterios clínicos

- Trombosis vascular: uno o más episodios de trombosis arterial, venosa o de pequeño vaso en cualquier órgano o tejido del organismo, confirmado por pruebas de imagen apropiadas y/o análisis histopatológico.
- Morbilidad durante el embarazo:
 - Uno o más abortos de al menos 10 semanas de gestación, con morfología normal del feto documentada mediante ultrasonografía o examen directo del feto.
 - Uno o más partos prematuros de un neonato morfológicamente normal antes de la semana 34 de gestación debido a: a) eclampsia o pre-eclampsia severa o b) insuficiencia placentaria.
 - Tres o más abortos espontáneos consecutivos antes de la semana 10 de gestación, habiendo descartado anomalías anatómicas u hormonales de la madre y anomalías cromosómicas tanto maternas como paternas.

Criterios de laboratorio (se deben obtener resultados positivos en suero o plasma, al menos en dos ocasiones, con un tiempo mínimo de 12 semanas entre las determinaciones).

- Anticoagulante lúpico (AL), determinado de acuerdo con las recomendaciones de la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia (Subcomité científico de anticoagulante lúpico/anticuerpos antifosfolípido).
- Anticuerpos anticardiolipina (ACL) tipo IgG y/o IgM medidos por ELISA, a títulos medios o elevados (> 40 GPL o MPL, ó > percentil 99).
- Anticuerpos anti β 2-glicoproteína I tipo IgG y/o IgM medidos por ELISA, a títulos > percentil 99.

Apéndice II - Hoja de recogida de datos

A. Grupo de estudio: A (SAF 1º) /B (serología SAF) /C (LES y serología SAF)/C.1. (LES y SAF 2º) /D (control)

B. Datos personales

Código:

Fecha de nacimiento:

Fecha de diagnóstico de aPL (+):

Edad al diagnóstico aPL (+):

Fecha de diagnóstico de SAF o LES:

Fecha de revisión HC:

Edad (revisión HC):

Duración del seguimiento (meses):

C. Serología de aPL

1. Evolución de los títulos de aPL a lo largo del seguimiento:

	aCL		aB2GP1		AL (+/-)
	IgG (GPL-U)	IgM (MPL-U)	IgG (GPL-U)	IgM (MPL-U)	
T _{primera}					
T ₀					
T ₀ + ... meses					
T ₀ + ... meses					
T ₀ + ... meses					
T ₀ + ... meses					
T ₀ + ... meses					
T ₀ + ... meses					
% positivos					

2. Clasificación del paciente (subrayar uno de los 3):

- a. persistentemente negativo
- b. Transitoriamente positivo
- c. Persistentemente positivo

E. Historia obstétrica (antes y durante el seguimiento)

	Fecha de parto	Meses respecto a T ₀	Eventos obstétricos
1			
2			
3			
4			
5			
6			

D. Antecedentes familiares

Eventos trombóticos confirmados en familiares de primer grado (sí/no):

Eventos obstétricos confirmados en familiares de primer grado (sí/no):

E. Antecedentes personales

1. FRCV (sí/no):

Tabaquismo (sí/no):

Obesidad (sí/no):

DM (sí/no):

HTA (sí/no):

Dislipemia (sí/no):

2. Fármacos previos (sí/no):

Heparina (sí/no):

ACO (sí/no):

Antiagregantes (sí/no):

Glucocorticoides (sí/no):

Antipalúdicos (sí/no):

Inmunosupresores (sí/no):

3. Eventos trombóticos confirmados (sí/no):

Arteriales (nº):

Venosos (nº):

4. Eventos obstétricos adversos confirmados (sí/no):

Pérdidas gestacionales <10 semanas (nº):

Pérdidas gestacionales >10 semanas (nº):

Parto pretérmino <34 semanas por preeclampsia grave, eclampsia o insuficiencia placentaria (nº):

1. Otros eventos que no cumplen los criterios de Sydney (sí/no):

Síndrome HELLP (nº):

Preeclampsia grave y parto > 34 semanas (nº): DPPNI y parto > 34 semanas:

Parto pretérmino por otras causas (nº): HTA gestacional (nº):

Diabetes gestacional (nº): Muerte neonatal precoz (nº):

Preeclampsia leve o moderada (nº): Macrosomía (nº):

Oligohidramnios (nº): CIR (nº):

F. Factores de riesgo transitorios para trombosis durante el seguimiento (sí/no)

ACHO (sí/no):

Nuevas gestaciones (nº):

G. Eventos relacionados con el SAF durante el seguimiento

1. Eventos obstétricos que cumplan los criterios de Sydney (sí/no):

Pérdidas gestacionales <10 semanas (nº):

Pérdidas gestacionales >10 semanas (nº):

Parto pretérmino <34 semanas por preeclampsia grave, eclampsia o insuficiencia placentaria (nº):

2. Eventos trombóticos que cumplan los criterios de Sydney (sí/no):

a. Arteriales (nº):

ACVA arterial (excepto AIT) (nº): AIT (nº):

IAM (nº): Angina inestable (sí/no):

Infarto renal o trombosis de a. renal (sí/no): Trombosis mesentérica (sí/no):

Trombosis arterial periférica (nº): Otra localización (nº):

b. Venosos (nº):

Trombosis en miembro inferior (nº): TEP (nº):

Trombosis de v. renal (sí/no):	Síndrome de Budd-Chiari (sí/no):
Trombosis en miembro superior (nº):	Trombosis de venas retinianas (nº):
ACVA venoso (nº):	Trombosis de v. cavas (nº):
Otra localización (nº):	

3. Otros eventos relacionados con el SAF que no forman parte de los criterios (sí/no):

a. Neurológicos

Déficit cognitivo (sí/no):	Lesiones en RMN (sí/no):
----------------------------	--------------------------

b. Hematológicos

PTT (sí/no):	SHU (sí/no):
Hemorragias espontáneas (sí/no):	Trombopenia < 100.000 (sí/no):

c. Pulmonares

Hemorragia alveolar (sí/no):	Hipertensión pulmonar (sí/no):
Alveolitis fibrosante (sí/no):	SDRA (sí/no):

d. Cardiovasculares

Valvulopatía (sí/no):	Angina estable (sí/no):
-----------------------	-------------------------

e. Cutáneos

Livedo reticularis (sí/no):	Livedo racemosa (sí/no):
Raynaud o gangrena digital (sí/no):	Hemorragias en astilla (sí/no):
Trombosis venosa superficial (sí/no):	Úlceras postflebíticas (sí/no):
Necrosis cutánea (sí/no):	Púrpura (sí/no):
Pseudovasculitis (sí/no):	Anetoderma (sí/no):
Vasculopatía livedoide (sí/no):	

f. Renales

Proteinuria asintomática (sí/no):	Síndrome nefrótico (sí/no):
IRA (sí/no):	IRC (sí/no):

g. Gastrointestinales

Hemorragia digestiva (sí/no):

Perforación esofágica (sí/no):

Úlcus gástrico gigante (sí/no):

Úlcus duodenal atípico (sí/no):

Hipertensión portal (sí/no):

Cirrosis hepática (sí/no):

h. Oculares (amaurosis fugax, sí/no):

i. Obstétricos

Síndrome HELLP (nº):

CIR (nº):

Preeclampsia grave y parto > 34 semanas (nº):

DPPNI y parto > 34 semanas:

Parto pretérmino por otras causas (nº):

HTA gestacional (nº):

Diabetes gestacional (nº):

Muerte neonatal precoz (nº):

Preeclampsia leve o moderada (nº):

Macrosomía (nº):

Oligohidramnios (nº):

j. Suprarrenales

Infarto hemorrágico bilateral (sí/no):

k. Osteoarticulares

Artritis (sí/no):

Osteonecrosis (sí/no):

4. SAF catastrófico (sí/no):

5. Exitus (sí/no):

Causa:

H. Tratamientos instaurados durante el seguimiento

Instauración de tratamiento específico durante el seguimiento (sí/no):

Heparina (sí/no):

ACO (sí/no):

Antiagregantes (sí/no):

Inmunoglobulina (sí/no):

Plasmaféresis (sí/no):

Interleucina-3 (sí/no):

Glucocorticoides (sí/no):

Antipalúdicos (sí/no):

Otros inmunosupr. (sí/no):

En caso de haberse instaurado tratamiento específico para el SAF (heparina, ACO y/o antiagregantes) durante el seguimiento, completar a continuación:

	Heparina	ACO	Antiagregantes
Fecha de instauración			
Duración (meses)			
Retirada (si/no)			
Fecha de retirada			

I. **Fecha de la 1ª determinación de Vitamina D:** dd/mm/aaaa

J. **Estación del año de la 1ª determinación de vitamina D:** (redondearla)

Estación soleada (Abril-Septiembre) / Estación oscura (Octubre-Marzo)

K. **Valores de vitamina D, PTH y calcio al diagnóstico:**

FECHA 1ª determinación	Vitamina D ng/ml	PTH pg/ml

Apéndice III - Autorización del Comité de Investigación Clínica de Cantabria



COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA DE CANTABRIA IDIVAL



T. CONCEPCION SOLANAS GUERRERO, Secretario/a del **COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA DE CANTABRIA**

CERTIFICA

Que este Comité ha evaluado la propuesta del Investigador Principal del estudio:

TÍTULO: Vitamina D y síndrome antifosfolípido

TIPO DE ESTUDIO: Proyecto de Investigación (Código interno: 2016.022)

y considera que:

- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto, teniendo en cuenta los beneficios esperados.
- Es adecuado el procedimiento para obtener el consentimiento informado.
- La capacidad del investigador y sus colaboradores, y las instalaciones y medios disponibles, tal y como ha sido informado, son apropiados para llevar a cabo el estudio.

Este CEIC, emite un informe **FAVORABLE** para que dicho Estudio sea realizado en el **HOSPITAL UNIVERSITARIO MARQUÉS DE VALDECILLA**, actuando como investigador principal el Dr./Dra. **VICTOR MANUEL Martínez Taboada**

Como queda reflejado en el Acta: 6/2016.

Lo que firmo en Santander, a **18 de marzo de 2016**

T. CONCEPCION SOLANAS GUERRERO
Secretario/a del CEIC