

11227  
40  
209

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO  
FACULTAD DE MEDICINA.

INSTITUTO NACIONAL DE LA NUTRICION  
SALVADOR ZUBIRAN

SINDROME ANTIFOSFOLIPIDO

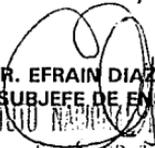
ASOCIACION DE LOS ANTICUERPOS ANTIFOSFOLIPIDO CON  
HEMOCITOPENIAS EN LUPUS ERITEMATOSO GENERALIZADO

TESIS DE POSTGRADO PARA OBTENER EL TITULO DE  
ESPECIALISTA EN MEDICINA INTERNA  
PRESENTA

DR. LUIS JESUS GOMEZ PACHECO



  
DR. LUIS F. USANGA DOMINGUEZ  
PROFESOR DEL CURSO DE  
MEDICINA INTERNA

  
DR. EFRAIN DIAZ JOUANEN  
SUBJEFE DE ENSEÑANZA  
INSTITUTO NACIONAL DE LA NUTRICION  
SALVADOR ZUBIRAN  
SUB-DIRECCION DE ENSEÑANZA  
México, D. F.

FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**Para Aída y Georgina quienes llenan todo.**

**A mis padres y hermanos.**

## **SINDROME ANTIFOSFOLIPIDO**

## INDICE

Introducción	1
Antecedentes históricos	2
Características de los anticuerpos antifosfolípido	4
Anticoagulante lúpico	6
Anticuerpos anticardiolipina	7
Clasificación de los fosfolípidos	8
Métodos de detección	10
$\beta_2$ -glicoproteína I y anticuerpos contra proteínas unidas a fosfolípidos	13
Anticuerpos anti $\beta_2$ -glicoproteína I	15
Anticuerpos anti protrombina, antiproteínas C y S	16
Anticuerpos anticélulas endoteliales	17
Patogenia	18
Características clínicas del síndrome antifosfolípido	21
Síndrome antifosfolípido primario	22
Lupus eritematoso generalizado y síndrome antifosfolípido	23
Descripción de las manifestaciones clínicas del síndrome antifosfolípido	28
Síndrome antifosfolípido secundario a drogas e infecciones	35
Tratamiento	35
Asociación de los anticuerpos anticardiolipina con hemocitopenias en lupus eritematoso generalizado	36

<b>Objetivo, material y método</b>	<b>39</b>
<b>Resultados</b>	<b>40</b>
<b>Conclusiones</b>	<b>43</b>
<b>Bibliografía</b>	<b>44</b>

## INTRODUCCION

El síndrome de anticuerpos antifosfolípido se define como la asociación de trombosis ya sea arteriales o venosas, pérdidas fetales recurrentes, trombocitopenia, anemia hemolítica y úlceras de miembros inferiores con anticuerpos anticardiolipina o con anticoagulante lúpico. Se han descrito otras manifestaciones tales como la livedo reticularis, la hipertensión pulmonar y la mielitis transversa. La determinación por métodos enzimáticos (ELISA) ha permitido el escrutinio de una gran cantidad de sueros provenientes de pacientes con enfermedades autoinmunes como el lupus eritematoso generalizado y ha sido posible también distinguir una forma no asociada a otras enfermedades conocida como síndrome antifosfolípido primario. En los últimos años la identificación de cofactores como la  $\beta_2$ -glicoproteína y la protrombina ha abierto un nuevo campo de investigación donde muchas preguntas están encontrando respuestas.

## ANTECEDENTES HISTORICOS

La historia de los anticuerpos antifosfolípido (aFL) se remonta a principios de este siglo cuando en 1906, Wasserman detectó un factor sérico fijador de complemento en los pacientes con sífilis que denominó reagina<sup>1</sup>. Mary Pangborn en 1941 demostró que la cardiollipina era el antígeno y describió que para la aglutinación de ésta, requería mezclarse con fosfolípidos ácidos<sup>2</sup>.

Por otro lado, los clínicos trataban de dilucidar el significado de estos anticuerpos u otros similares en las enfermedades autoinmunes. Con la prueba de FTA-ABS (fluorescent treponemal antibody absorption) se pudo distinguir entre los pacientes que tenían realmente sífilis y los que tenían lo que ahora conocemos como una reacción biológica falsa positiva para la sífilis. Moore y colaboradores en los años de 1952 a 1955 encontraron que algunos individuos falsos positivos para la reacción de sífilis permanecieron positivos por varios meses o incluso años y sorpresivamente algunos de estos desarrollaron lupus eritematoso generalizado (LEG) o alguna enfermedad autoinmune relacionada<sup>3</sup>. La asociación de los aFL con trombosis la encontraron en 1952 cuando Conley y Hartman al describir por primera vez el anticoagulante lúpico (AL)<sup>1</sup> que es un inhibidor de la coagulación *in vitro* asociado frecuentemente con la reacción falsa positiva para la sífilis; a pesar de que se sospechaba que era un anticuerpo no fue sino hasta 1980 cuando se demostró un anticuerpo IgM monoclonal con actividad de anticoagulante lúpico que tenía reacción cruzada con fosfolípidos de carga negativa<sup>4</sup>. A pesar de ser un inhibidor *in vitro* de

la coagulación, sus manifestaciones clínicas no son la hemorragia sino paradójicamente la trombosis<sup>5,6</sup> y diversos investigadores lo asociaron con pérdidas fetales de repetición<sup>7</sup>.

En 1983 Harris et al describieron una técnica para detectar anticuerpos antifosfolípido (aFL) basados en el hecho de que las inmunoglobulinas con actividad de AL se unían a fosfolípidos de carga negativa incluyendo entre estos a la cardiolipina. Utilizaron un inmunoensayo de fase sólida con la cardiolipina como sustrato. Es de notar que en su trabajo encontraron una asociación de estos anticuerpos anticardiolipina con trombosis. Posteriormente desarrollan un ensayo inmunoabsorbente ligado a una enzima conocido como ELISA por sus siglas en inglés (Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay) para la detección de aFL utilizando a la cardiolipina como antígeno<sup>8,1</sup>. A partir de la difusión de esta técnica, aparecieron diversos estudios clínicos mostrando la asociación de estos aFL con diversas manifestaciones tales como trombosis (arteriales y venosas), pérdida fetal recurrente, trombocitopenia, anemia hemolítica, úlceras de miembros inferiores, livedo reticularis y manifestaciones neurológicas tales como migraña y otras secundarias a episodios oclusivos. En 1989 y 1992 Alarcón Segovia y colaboradores describieron y confirmaron la existencia de un síndrome de anticuerpos antifosfolípido dentro de lupus eritematoso generalizado e identificaron a un grupo de pacientes quienes no tenían evidencia de enfermedad autoinmune a quienes clasificaron como síndrome antifosfolípido primario<sup>9,10,11</sup>.

## CARACTERISTICAS DE LOS ANTICUERPOS

### ANTIFOSFOLIPIDO

La producción de los anticuerpos antifosfolípido en los humanos es policlonal y se han encontrado los 3 principales isotipos de inmunoglobulinas (IgG, IgM, IgA). Gharavi estudió a 40 pacientes con manifestaciones asociadas a los anticuerpos antifosfolípido y encontró que 12 pacientes tenían los tres isotipos; 10 pacientes tenían IgG e IgM; 5 pacientes tenían solo IgA y tres pacientes tenían IgA e IgM. No se encontró correlación significativa entre alguno de los isotipos y las manifestaciones asociadas a aFL. Sin embargo, la presencia de el anticuerpo IgG anticardiolipina en 36/40 pacientes sugirió que este isotipo sea el más importante en la aparición de las complicaciones clínicas<sup>12</sup>. Se han estudiado también las subclases de IgG con actividad de anticardiolipina y se han descrito las cuatro subclases de IgG con una prevalencia del 34% y 57% para la IgG3 e IgG1 respectivamente. También se describió una frecuencia mayor de complicaciones clínicas con las subclases IgG2 e IgG4 que con IgG1 e IgG3 que sí fijan complemento (83% vs 62%). El análisis de las cadenas ligeras mostró una tendencia hacia la utilización de cadenas kappa para los anticuerpos anti DNA y cadenas lambda para los anticuerpos anticardiolipina. Estos datos demuestran una clara diferencia entre estos dos tipos de anticuerpos<sup>13</sup>. Por otro lado, en los pacientes con anticoagulante lúpico (AL) se demostró que el isotipo IgG era el principalmente asociado a trombosis<sup>14</sup>. Los datos acerca del significado clínico de los isotipos IgA son controversiales por lo que se recomienda que no se realice rutinariamente, sin embargo debe tenerse en cuenta que ocasionalmente

algunos pacientes pueden tener este isotipo asociado a trombosis<sup>15,12</sup>.

En cuanto a los anticuerpos anticardiolipina IgM se han visto asociados con anemia hemolítica y neutropenia<sup>16</sup>. Otros autores han encontrado asociación de la positividad de la IgM aCL (anticardiolipina) con abortos espontáneos de repetición, trombocitopenia, VDRL positivo<sup>17</sup>. También se conoce que solo los anticuerpos IgM pueden reaccionar con los fosfolípidos zwitteriónicos (carga neutra) como la fosfatidilcolina (FC). Estos anticuerpos fueron reconocidos por su reactividad con los eritrocitos tratados con bromelina la cual permite la exposición de la FC a la superficie muy probablemente por desplazamiento de una sialoglicoproteína. Estos anticuerpos son polirreactivos, de baja afinidad y producidos por linfocitos B CD5+ y se han encontrado en pacientes con anemia hemolítica<sup>18,19</sup>.

Algunos anticuerpos antifosfolípido son anticuerpos naturales, es decir son codificados por genes germinales y se pueden presentar en individuos sanos. Aunque la evidencia experimental es limitada, la presencia de autoanticuerpos polirreactivos naturales en sujetos normales, sugiere funciones fisiológicas importantes: 1) pueden ser útiles para establecer una red anitidiotípica reguladora, 2) proveen una plataforma para una respuesta antígeno específica por la vía de mutaciones somáticas y maduración de afinidad, 3) son una primera línea de defensa en contra de infecciones microbianas, 4) son transportadores de productos celulares anabólicos y catabólicos y de células senescentes, contribuyendo de esta manera a su depuración<sup>20</sup>. Uno de los anticuerpos naturales mejor caracterizados es precisamente la IgM dirigida a FC<sup>18</sup>. Otros anticuerpos antifosfolípido que están presentes en el suero de individuos sanos

son los que se descubren mediante el calentamiento del suero a 56°C. Estos pueden ser también autoanticuerpos naturales IgG que se encuentran tanto en el hombre como en el ratón<sup>21</sup>. El tratamiento con calor de los sueros de sujetos normales ha permitido identificar a los anticuerpos IgG que dependen del cofactor  $\beta_2$  glicoproteína I y de los que no lo necesitan. Es notorio que los títulos de anticuerpos anticardiolipina detectados por ELISA en estos pacientes se incrementaron hasta diez veces después del calentamiento en los sujetos sanos y hasta tres veces con la forma primaria del síndrome antifosfolípido<sup>22</sup>.

**Anticuerpos que dan reacciones falsas positivas para la sífilis.** Los pacientes positivos a esta prueba tienen un riesgo de desarrollar posteriormente una enfermedad autoinmune, pero no permiten identificar un riesgo para desarrollar trombosis o pérdida fetal y en la actualidad no se considera que tenga alguna fuerza de asociación con el síndrome antifosfolípido. El VDRL correlaciona con niveles de anticardiolipina solamente en sueros de sífilis pero no en pacientes con enfermedades autoinmunes<sup>23</sup>. El reconocimiento de que un paciente tenga un VDRL + debe hacer sospechar la existencia de AL o aCL y hacer las pruebas diagnósticas correspondientes. La combinación de FC y colesterol junto con la cardiolipina facilita la unión de los anticuerpos aFL de la sífilis y al mismo tiempo disminuyen la unión de los aFL autoinmunes<sup>24</sup>.

**Anticoagulante lúpico.** Estos anticuerpos bloquean la conversión de protrombina en trombina y como se mencionó anteriormente producen trombosis. Por otro lado a pesar de llamarles AL, no todos los pacientes con LEG tienen anticoagulante lúpico.

El anticoagulante lúpico es una inmunoglobulina IgG o IgM que interfiere con alguna de las pruebas de coagulación dependientes de fosfolípidos. Su acción *in vitro* parece ser la inhibición de la reacción de protrombinasa<sup>23</sup>. Su determinación es cualitativa ya que no miden el título del anticuerpo; son pruebas funcionales. Los AL son heterogéneos ya que ninguna prueba detecta el 100 % de estos anticuerpos y probablemente las diferencias en cuanto al cofactor expliquen la heterogeneidad. Galli demostró que algunos sueros de pacientes dependían de la protrombina y otros de la  $\beta_2$  glicoproteína<sup>22</sup>. En esencia, la detección *in vitro* del AL al parecer, no tiene relevancia con sus acciones *in vivo*. Prolongan el tiempo de coagulación *in vitro* porque aglutinan fosfolípidos en el plasma y por lo tanto impiden su participación como cofactores en los pasos de la coagulación. Se ha demostrado que cuando se utiliza una superficie más fisiológica como la célula endotelial para el ensamblaje del complejo de protrombinasa, no se aglutinan los fosfolípidos<sup>25</sup>. La heterogeneidad de estos anticuerpos puede explicarse por lo tanto con el concepto de que los AL son una familia de anticuerpos que se unen a las proteínas plasmáticas con subgrupos que se definen por las proteínas y los fosfolípidos involucrados.

Anticuerpos anticardiolipina. El término de anticuerpo anticardiolipina no es del todo correcto. La cardiolipina se encuentra principalmente en las mitocondrias y es muy poco probable que éste sea (*in vivo*) el antígeno al cual se dirijan los aCL detectados por ELISA. Debido a que a los anticuerpos antifosfolípido tienen reacción cruzada con otros fosfolípidos aniónicos (fosfatidilserina y otros), la cardiolipina sirve como antígeno representativo en este sistema<sup>23</sup>. Es importante hacer notar que los títulos

elevados de la IgG aCL tiene una mayor fuerza de asociación con trombosis y pérdidas fetales<sup>26</sup>. Sin embargo se ha sugerido que aún con títulos bajos de aCL detectados por ELISA, se presentan manifestaciones clínicas de el síndrome antifosfolípido<sup>27</sup>. Aunque mediante ELISA se puede cuantificar el anticuerpo, no es contundente que la magnitud de la concentración del anticuerpo sea el mejor predictor de patogenicidad.

**Correlación entre aCL y AL.** Love y Santoro en un análisis de diversas series publicadas hasta 1988 encontraron que el 45% de los pacientes aCL+ tenían AL y el 59% de los eran AL+ tenían aCL. Ninguna de estas pruebas se asoció con la edad, duración del LES o de la actividad<sup>28</sup>.

**Prevalencia.** La prevalencia de los anticuerpos aCL en la población sana es del 0% al 7.5%. El AL se encuentra en el 2%. En el lupus eritematoso generalizado los aCL se encuentran en el 44% de los casos y el AL en el 28%<sup>27</sup>.

#### CLASIFICACION DE LOS FOSFOLIPIDOS

Ya que la cardiolipina se ha utilizado extensamente para la detección de los anticuerpos antifosfolípido, se ha puesto especial interés en aquellos que son reactivos a los fosfolípidos aniónicos. La mayoría de los anticuerpos anticardiolipina (aCL) tienen reacción cruzada con otros fosfolípidos aniónicos (carga negativa) y otros también tienen reacción cruzada con fosfolípidos zwitteriónicos (carga neutra). Esta reactividad puede estar relacionada a el isotipo de el anticuerpo; así los anticuerpos a los fosfolípidos aniónicos son IgG o IgM mientras que los dirigidos a fosfolípidos zwitteriónicos son frecuentemente IgM (Tabla 1).

Tabla 1.

<u><i>Clasificación de los fosfolípidos</i></u>
<b>Aniónicos (carga negativa)</b>
Cardiolipina
fosfatidilserina
fosfatidilinositol
<b>Zwitteriónicos (carga neutra)</b>
Fosfatidilcolina
fosfatidiletanolamina
esfingomielina

*Ref 18*

Los aFL pueden ser identificados ya sea por su reactividad en el ensayo de ELISA utilizando cardiolipina o por su actividad como anticoagulantes lúpicos con reactividad a los fosfolípidos de el complejo activador de protrombina. Hay anticuerpos que reaccionan exclusivamente con cualquiera de los dos mientras que otros tienen ambas reactividades<sup>2,12,18</sup>.

Algunos sueros de pacientes pueden contener mezclas policlonales de aFL. Dentro de estas mezclas hay anticuerpos reactivos a micelas de cardiolipina mientras que otros tienen actividad de anticoagulante lúpico (AL). Estos dos anticuerpos dependen de

fosfolípidos. El suero que da positividad a el VDRL tiene varias reactividades a fosfolípidos ya que este antígeno contiene cardiolipina, fosfatidilcolina y colesterol.

### MÉTODOS DE DETECCIÓN

**Detección de anticuerpos anticardiolipina por ELISA.** Este ensayo de fase sólida es el más utilizado y tiene como ventajas que se titula el anticuerpo, se necesita una escasa cantidad de suero del paciente para hacer la determinación y se dan los resultados en desviaciones estándar respecto a una media de normales. Se reportan también los diferentes isotipos de inmunoglobulinas y sus resultados no se alteran por la anticoagulación. Consta de varios pasos: el primero consiste en cubrir las placas de ELISA con fosfolípidos cargados negativamente, usualmente cardiolipina, aunque algunos autores prefieren la fosfatidilserina o mezclas de diferentes fosfolípidos<sup>29</sup>. Para prevenir la unión no específica de los anticuerpos a la placa se agrega suero bovino o albúmina bovina. Posteriormente el suero diluido del paciente se incuba y los pozos de las placas se lavan. Se añade un anticuerpo anti IgG humana que tiene pegada una enzima que produce color a la que posteriormente se agrega su sustrato y se lee la absorbencia<sup>2</sup>. Algunas de las fuentes de variación de los resultados son los diluyentes utilizados con el suero problema. Tanto el suero fetal de becerro como el suero bovino y la albúmina bovina tienen  $\beta_2$  glicoproteína I que es el cofactor requerido para la unión. Los resultados obtenidos con los diferentes diluyentes mencionados difieren un poco entre si y se deben a uniones no específicas a las placas de ELISA<sup>23</sup>. Las mayores discrepancias existen en delimitar los puntos de corte de negativo y positivo. Usualmente se considera un resultado positivo se está por arriba de dos

desviaciones estándar de la media de normales y con un importante significado clínico cuando está por arriba de 5 desviaciones estándar<sup>9,10</sup>.

**Anticoagulante lúpico.** Triplet consideran como mínimos los siguientes criterios de laboratorio: 1.- Anormalidad en las pruebas *in vitro* de las pruebas de coagulación dependientes de fosfolípidos: tiempo de caolina, tiempo del veneno de la víbora Russell diluido y una prueba sensible de tiempo parcial de tromboplastina activada. 2.- Demostración de que esta prolongación es debida a la presencia de un inhibidor, es decir, que la prueba no es corregida al añadir un volumen igual de suero normal. 3.- Evidencia de que los inhibidores están dirigidos contra fosfolípidos<sup>30</sup>. Las pruebas confirmatorias que demuestran que el inhibidor está dirigido a fosfolípidos son las que utilizan cantidades bajas de fosfolípidos lo cual acentúa el efecto inhibidor (Tiempo del veneno de la víbora Russell); las que incrementan la cantidad de fosfolípidos capaces de neutralizar el AL y finalmente las que utilizan fosfolípidos dispuestos de manera hexagonal para neutralizar el AL<sup>31,32</sup>.

**Descripción de las principales pruebas de escrutinio para la detección de AL.**

**Tiempo parcial de tromboplastina activada.**

Es considerada una prueba pobre. Contiene dos pasos dependientes de fosfolípidos: la conversión del factor X en Xa y la de protrombina en trombina. Carece de una buena sensibilidad ya que solo detecta al 50% de los pacientes que tienen AL. La concentración de fosfatidilserina y la disposición hexagonal de los fosfolípidos afectan

el resultado de la prueba<sup>33</sup>. Como prueba de escrutinio en el embarazo no se recomienda ya que en éste se incrementa la concentración sanguínea del factor VIII.

#### **Tiempo diluido del veneno de la víbora Russell.**

Puede utilizarse como una excelente prueba de escrutinio o como confirmatoria. Una de sus principales ventajas es que es resistente a las deficiencias de factores inclusive a las causadas por anticuerpos dirigidos contra los factores VIII, IX y X<sup>34</sup>. La prueba se basa en el uso de concentraciones limitadas de fosfolípidos como el plasma pobre en plaquetas. El veneno se diluye hasta un tiempo de tromboplastina de 23-27 segundos y se diluye el fosfolípido a un mínimo nivel. La prolongación de este sistema no corrige con la adición de plasma normal y detecta IgG e IgM<sup>34</sup>.

#### **Tiempo de coagulación de caolina.**

Es un TPTa sin añadir un sustituto de plaquetas con la caolina como activador y superficie de fosfolípidos. Requiere la remoción de las plaquetas del suero del paciente y no ha demostrado ser tan sensible como el TPTa<sup>31</sup>.

Se recomienda por lo tanto, realizar al menos dos de las pruebas más sensibles como al TPTa sensible (aquel cuyo estuche comercial ha demostrado detectar AL) o el tiempo diluido del veneno de la víbora Russell.

## **β<sub>2</sub>- GLICOPROTEINA I Y ANTICUERPOS CONTRA PROTEÍNAS UNIDAS A FOSFOLÍPIDOS**

La β<sub>2</sub>-glicoproteína I es una proteína de 50 kD con una concentración de alrededor de 200 μg/ml en el plasma normal. Aunque sus funciones no se conocen, los resultados de los ensayos *in vitro* sugieren que tiene un papel en la coagulación al unirse a los fosfolípidos aniónicos y por lo tanto inhibe la vía intrínseca en su fase de contacto de la coagulación<sup>35</sup>, la agregación plaquetaria inducida por ADP y la acción de protrombinasa de las plaquetas. Algunos resultados preliminares sugieren que la β<sub>2</sub>-glicoproteína I puede tener un papel regulador en la vía de la proteína C inhibiendo la interacción entre la proteína S y la proteína de unión de C4b<sup>36</sup>. La proteína C es el inhibidor natural de la coagulación que degrada las formas activadas de los factores Va y VIIIa. La proteína C es activada por la trombina junto con una proteína unida a membranas conocida como trombomodulina. Para que la proteína C se active, tiene que formarse un complejo de activación constituido por la proteína C, la trombina y la trombomodulina en un templete de fosfolípidos aniónicos. Una vez activada, la proteína C se asocia con la proteína S, que es su cofactor, para entonces degradar a los factores Va y VIIIa<sup>37</sup>.

Aunque estos datos sugieren un efecto anticoagulante de la β<sub>2</sub>-glicoproteína I, la deficiencia de ésta no se asocia a trombosis. Los pacientes con aFL tienen niveles elevados o normales de β<sub>2</sub>-glicoproteína I<sup>38</sup>.

Estructuralmente la β<sub>2</sub>-glicoproteína I es un miembro de la familia de las

proteínas del complemento. El quinto dominio de esta molécula contiene una región de unión a fosfolípidos<sup>38</sup>. También se le ha denominado apolipoproteína H ya que el 40% está unida a las lipoproteínas.

La observación de que la  $\beta_2$ -glicoproteína I es necesaria para la unión de los autoanticuerpos a la CL fue descubierta por dos grupos de investigación casi simultáneamente<sup>39,40</sup>. En los talleres de estandarización de los aCL, varios investigadores se dieron cuenta que el utilizar suero fetal de becerro o de bovino adulto como diluyente del suero humano problema permitía discriminar mejor los resultados negativos y positivos en el ensayo de ELISA. La explicación era que aumentaba la unión con fosfolípidos aunque este hecho no se precisó sino hasta 1990 cuando Galli y McNeil estudiaron anticuerpos anticardiopina altamente purificados. Al repetir el ELISA con cardiopina como sustrato, la reacción no se llevaba a cabo, reportándose estos nuevos ensayos como negativos. Al añadir suero bovino a concentraciones crecientes, la afinidad de la unión aCL-cardiopina fue mayor. Identificaron a este cofactor como la  $\beta_2$ -glicoproteína I y concluyeron que la presencia de esta proteína era un requisito absoluto para la interacción de aCL-cardiopina. Otros investigadores han confirmado estas observaciones<sup>41,42,43</sup>. Por otro lado, también se ha encontrado que se pueden distinguir los anticuerpos anticardiopina por su capacidad de unión a la  $\beta_2$ -glicoproteína I. Los anticuerpos que se presentan en una enfermedad autoinmune y en la forma primaria del síndrome requieren del cofactor, mientras que los aCL encontrados en la sífilis y otras enfermedades infecciosas se unen a la cardiopina en ausencia de la  $\beta_2$ -glicoproteína I. Esta diferencia en la

especificidad antigénica puede explicar el porqué los anticuerpos aCL autoinmunes y el AL se asocian con trombosis, pérdida fetal etc., y el que los anticuerpos asociados a infecciones no sean patogénicos<sup>44</sup>.

A la luz de estos hallazgos los blancos antigénicos potenciales de los anticuerpos anticardiolipina autoinmunes son: 1)  $\beta_2$ -glicoproteína I, 2) un complejo compuesto por la  $\beta_2$ -glicoproteína I y los fosfolípidos aniónicos, 3) Antígenos crípticos o neoantígenos de fosfolípidos expresados como resultado de la unión de la  $\beta_2$ -glicoproteína I con los fosfolípidos, 4) antígenos crípticos o neoantígenos de la  $\beta_2$ -glicoproteína I.

#### **Anticuerpos anti $\beta_2$ -glicoproteína I.**

Las evidencias experimentales recientes sugieren fuertemente que el ensayo de ELISA detecta dos tipos principales de anticuerpos: aquellos con actividad anticardiolipina que se fijan a las placas de plástico cubiertas con el fosfolípido y los anticuerpos que se fijan a las proteínas unidas a los fosfolípidos denominados anticuerpos anti  $\beta_2$ -glicoproteína I. Por otro lado, ciertos anticoagulantes lúpicos son específicos contra la protrombina unida a fosfolípidos o contra la  $\beta_2$ -glicoproteína I. Por lo tanto, los AL son heterogéneos e incluyen autoanticuerpos contra al menos dos de las proteínas plasmáticas unidas a fosfolípidos. Así también los aCL detectados en ELISA son heterogéneos<sup>45,46</sup>. Los anticuerpos anti $\beta_2$ -glicoproteína I son intrínsecamente de baja actividad y se unen a la  $\beta_2$ -glicoproteína I solo cuando la densidad de el antígeno inmovilizado es suficiente como para permitir la unión bivalente. La baja afinidad de un solo sitio antigénico para la IgG en la  $\beta_2$ -glicoproteína

l no quiere decir que estos anticuerpos sean irrelevantes con respecto a la fisiopatología. Los anticuerpos tienen una alta avidéz cuando la  $\beta_2$ -glicoproteína l está inmovilizada. Los anticuerpos anti  $\beta_2$ -glicoproteína l pueden unirse a su antígeno cuando está unido a una superficie de fosfolípidos (una plaqueta activada o una célula endotelial)<sup>36</sup>. Otros autores han descrito que los anticuerpos anti  $\beta_2$ -glicoproteína l reconocen epítopes conformacionales que aparecen cuando la  $\beta_2$ -glicoproteína l se une a una superficie aniónica. Las dos posibilidades descritas no son excluyentes<sup>47</sup>.

#### **Anticuerpos anti protrombina.**

Algunos anticoagulantes lúpicos están dirigidos contra la protrombina unida a fosfolípidos. Bevers describió estos anticuerpos en 11/16 pacientes y también reconoció a otros anticuerpos con actividad de AL que finalmente demostraron ser anticuerpos anti  $\beta_2$ -glicoproteína l<sup>45</sup>. Análogamente a los anticuerpos anti  $\beta_2$ -glicoproteína l, algunos AL están dirigidos a la protrombina inmovilizada y unida a los fosfolípidos. Pueden estar dirigidos a neoantígenos formados cuando la protrombina se une a los fosfolípidos y/o ser anticuerpos de baja afinidad que se unen bivalentemente a la protrombina inmovilizada..

#### **Anticuerpos anti proteínas C y S.**

Estos anticuerpos no son detectados por los métodos habituales anteriormente descritos. Existe evidencia de la inhibición de la inactivación de los factores Va y VIIIa en un grupo pequeño de pacientes con LEG. Esta actividad inhibitoria fue adsorbida por vesículas de cardiolipina cubiertas con proteína C y proteína S, sugiriendo la presencia de anticuerpos específicos. También se han encontrado anticuerpos contra

la proteína C en pacientes con lupus eritematoso sin asociarse a disminución de la concentración o funcionalidad de la proteína C<sup>25,48</sup>.

#### **Anticuerpos contra las proteínas de superficie de las células endoteliales.**

Aunque no son proteínas que se unen a fosfolípidos, la trombomodulina y el proteoglicano sulfato de heparán vascular son blancos potenciales. En pacientes con LEG se han descrito anticuerpos contra la trombomodulina y contra la proteína central del sulfato de heparán vascular. Es probable que la especificidad de estos anticuerpos sea debida a los anticuerpos  $\beta_2$ -glicoproteína I.

#### **Fosfolípidos.**

Los fosfolípidos aniónicos parecen ser en realidad el blanco de los anticuerpos anticardiolipina asociados con la sífilis y otras enfermedades infecciosas así como también los detectados por el calentamiento de los sueros normales. También la protrombina (vide supra) y el factor X son algunos de los blancos de algunos anticuerpos antifosfolípido<sup>30</sup>.

Aunque no son blancos antigénicos, los fosfolípidos aniónicos tienen un papel importante en la unión de los autoanticuerpos con las proteínas unidas a fosfolípidos *in vivo*. Como se mencionó previamente, estos anticuerpos pueden ser específicos a las transformaciones proteínicas inducidas cuando las proteínas se unen a los fosfolípidos. De hecho, la unión del anticuerpo depende de la superficie de fosfolípidos y de la concentración local final del antígeno. En conclusión, estos datos sugieren fuertemente que las proteínas que se unen a los fosfolípidos y/o los complejos proteína-fosfolípido son los blancos fisiológicamente relevantes de los hasta ahora

denominados anticuerpos antifosfolípido. Algunos de estos autoanticuerpos son detectados mediante el ensayo de ELISA en uso actual (tabla 2). Los autoanticuerpos a  $\beta_2$ -glicoproteína I se encuentran en el ELISA de anticardiolipina así como también los anticuerpos anticardiolipina verdaderos asociados a sífilis e infecciones diversas. El tiempo del veneno de la víbora de Russell detecta algunos anticuerpos anti  $\beta_2$ -glicoproteína I así como también anticuerpos antiprotrombina y anti factor X. Estos dos últimos anticuerpos no son detectados por el ensayo de ELISA rutinario.

Tabla 2. Reactividad de los autoanticuerpos a las proteínas plasmáticas unidas a fosfolípidos en los ensayos de anticuerpos antifosfolípido

**Reactividad en ensayos antifosfolípido rutinarios**

Anticuerpo	Anticardiolipina	Anticoagulante lúpico
Anti $\beta_2$ GPI	Si	Si/No
Anti-protrombina	No	Si
Anti-Factor X	No	No
Anti-proteína C	No	No
Anti-proteína S	No	No

Ref. 36

**PATOGENIA**

**INTERACCIONES CON CELULAS ENDOTELIALES.**

**Inhibición de la vía de la proteína C.**

Los anticuerpos antifosfolípido pueden alterar esta vía mediante la inhibición de las reacciones dependientes de fosfolípidos que son la interacción

trombina/trombomodulina-proteína C y la degradación de los factores Va y VIII por el complejo proteína C activada/proteína S. Como se mencionó previamente, algunos autores han encontrado también anticuerpos dirigidos contra la trombomodulina, proteína C y proteína S. Debido a que los AL dependientes de  $\beta_2$ -glicoproteína I aumentan la unión de la  $\beta_2$ -glicoproteína I a los fosfolípidos aniónicos en la reacción de protrombinasa, es posible que estos anticuerpos inhiban de manera similar a la proteína C. También se sabe que algunos AL inhiben la activación de la proteína C tanto en solución como en las células endoteliales. La adición a estos modelos de proteína C exógena no corrige la disminución de la tasa de degradación del factor Va, concluyendo que estos anticuerpos inhiben la formación de el complejo fosfolípidos aniónicos/proteína C/proteína S. Se han descrito también niveles disminuidos de la proteína S en un pequeño grupo de pacientes con síndrome antifosfolípido. Aunque esto puede ser causado por los anticuerpos anti proteína S, hay que recordar que la  $\beta_2$ -glicoproteína I altera el nivel de la proteína S libre por su interferencia en la interacción con la proteína de unión a C4b<sup>49,38</sup>.

#### **Inhibición de la producción de prostaciclina.**

La activación de las células endoteliales por las citocinas y los mediadores de la inflamación altera la expresión de las proteínas de superficie. Así, los anticuerpos antifosfolípido potencian la actividad procoagulante de las células endoteliales inducida por el factor de necrosis tumoral. La inhibición de la producción de prostaciclina por la célula endotelial puede ser explicada por la inhibición de la actividad de la fosfolipasa A<sub>2</sub> tanto por anticuerpos dirigidos a esta enzima o al complejo que forma

con fosfolípidos. Todos estos eventos aumentan la proclividad a trombosis<sup>38</sup>.

#### **Fibrinólisis alterada.**

La  $\delta_2$ -glicoproteína I ( $\delta_2$ -GPI) inhibe la activación de la precalicreína y del factor XII en las superficies de fosfolípidos aniónicos. Los anticuerpos anti  $\delta_2$ -GPI amplifican esta actividad inhibitoria al incrementar la unión de la  $\delta_2$ -GPI con los fosfolípidos. La disminución de la actividad del factor XII y de la formación de calicreína implica la disminución de la prouroquinasa y por ende la fibrinólisis se ve alterada<sup>50</sup>.

#### **Interacción plaquetaria.**

La trombocitopenia es una de las principales manifestaciones del síndrome antifosfolípido. Los aFL se unen a las plaquetas descongeladas y a las activadas pero no se ha podido demostrar su unión en las plaquetas frescas y no estimuladas. Los anticuerpos anticardiolipina y los AL ejercen su efecto sobre las plaquetas mediante su unión con  $\delta_2$ -glicoproteína I y con la protrombina respectivamente. Se han informado también efectos de los aFL sobre la activación misma de las plaquetas incrementando la producción de tromboxano A<sub>2</sub>. El mecanismo es desconocido, pero está de acuerdo con diversos autores quienes afirman que los aFL inducen la agregación plaquetaria<sup>51</sup>.

Finalmente comentar que el término de anticuerpos antifosfolípido requiere revisión ya que como se desprende de lo anteriormente expuesto, el término más descriptivo es el de autoanticuerpos dirigidos contra proteínas plasmáticas unidas a fosfolípidos. Es probable que en un futuro el síndrome antifosfolípido también deba modificarse para nombrar a el anticuerpo o anticuerpos específicos.

## CARACTERISTICAS CLINICAS DEL SINDROME

### ANTIFOSFOLIPIDO

La definición del síndrome antifosfolípido (SAF) es en verdad el producto de la investigación de los años recientes. El estudio de la correlaciones clínicas de los anticuerpos antifosfolípido se reavivó después de la publicación del radioinmunoensayo de aCL por Harris y cols. En su trabajo encontraron una correlación con trombosis arteriales y venosas, trombocitopenia y pérdida fetal<sup>8</sup>.

Como resultado de los diversos estudios el SAF fue definido por la presentación clínica de trombosis venosas, oclusiones arteriales, pérdida fetal recurrente y trombocitopenia/anemia hemolítica en presencia del AL o de aCL. Se han reconocido una forma primaria en pacientes sin evidencia clínica o serológica de enfermedad autoinmune y una forma secundaria frecuentemente encontrada en lupus eritematoso generalizado. Las manifestaciones del SAF continúan siendo descritas y es evidente que los cuatro principales criterios son insuficientes y limitantes y es probable que en el futuro se agreguen más a los ya conocidos.

**Tabla 3 Síndromes antifosfolípido**

<i>Primario</i>	<i>Secundario</i>
Sin enfermedad subyacente	Lupus eritematoso generalizado Enfermedad mixta del tejido conectivo Escleroderma Artritis reumatoide Polimiositis Síndrome de Sjögren Síndrome de Behçet Arteritis de células gigantes Cáncer Infecciones Drogas

*Ref. 58*

#### **SINDROME ANTIFOSFOLIPIDO PRIMARIO**

Fue descrito por Alarcón Segovia y Sánchez Guerrero en 1989 y aclararon la sospecha clínica de la existencia de manifestaciones clínicas del SAF (síndrome antifosfolípido) sin asociación a alguna enfermedad subyacente. Describen a 9 pacientes que tenían dos o más manifestaciones clínicas y aCL+. Las manifestaciones encontradas fueron trombosis venosa y/o tromboembolia pulmonar, oclusiones arteriales, úlceras de Msls, livedo reticularis y trombocitopenia. El intervalo del tiempo de seguimiento fue de 2-8 años y de esta forma se aseguró que los pacientes no desarrollaron LEG. Solo un paciente tuvo linfopenia y otro sinovitis que probablemente se explicó por enfermedad por complejos inmunes secundaria a la presencia de aCL. Se descartó que tuvieran LEG seronegativo por no tener lesiones cutáneas características y la negatividad de los anticuerpos antinucleares detectados en células Hep-2. Se destaca el hecho del predominio de las manifestaciones vasculares<sup>11</sup>.

Tampoco se encontraron anticuerpos anti ENA. La relación femenino/masculino es de 2:1 hasta 5:1 que contrasta con la encontrada en LEG que es de 9:1.

Recientemente Vianna y Khamashta publicaron un estudio prospectivo multicéntrico de 114 pacientes con SAF. Comparan las manifestaciones del SAF en pacientes con LEG+SAF(56) y en pacientes con SAF primario(58). Las variables estudiadas fueron trombosis venosa, tromboembolia pulmonar, oclusiones arteriales, pérdida fetal recurrente, livedo reticularis, trombocitopenia, hipertensión pulmonar, corea, mielitis transversa, anemia hemolítica, neutropenia y enfermedad valvular endocárdica. Concluyen que la anemia hemolítica, la enfermedad endocárdica valvular, la neutropenia y los niveles de  $C_4$  se presentan más frecuentemente en LES + SAF. En el seguimiento de los pacientes se presentaron 10 episodios de trombosis en 10 pacientes con SAF primario, 8 de los cuales estaban tratados ya con anticoagulantes. Nuevamente se confirma que los pacientes con la forma primaria no tienen elevación de anticuerpos anti-DNA y los anticuerpos antinucleares son negativos o positivos a títulos bajos<sup>52</sup>.

#### **LUPUS ERITEMATOSO GENERALIZADO Y SINDROME DE ANTICUERPOS ANTIFOSFOLIPIDO**

En 1989 Alarcón Segovia et al reportaron un estudio de 500 pacientes consecutivos con LEG según criterios de la ACR quienes se les determinó aCL prospectivamente en búsqueda de demostrar asociaciones con las manifestaciones del SAF. La existencia de un síndrome antifosfolípido dentro del LEG no había sido determinada ni tampoco validada ya que los reportes de los grupos de pacientes

estudiados eran pequeños. Se determinaron los isotipos IgA, IgG e IgM y se encontró positividad de cualquier isotipo en 53% de los pacientes a niveles de 2 DE, con 5 DE se encontró positividad en 31% y con > 10 DE en 15%.

Tabla 4. Manifestaciones clínicas asociadas con aCL (cualquier isotipo) \*

	% Positivos
Pérdida fetal recurrente (36) §	83
Trombosis venosa(43)	60
Trombosis venosa recurrente(14)	93
Úlceras de Ms Is (15)	87
Livedo reticularis (162)	62
Anemia hemolítica (25)	72
Trombocitopenia (88)	66
Oclusiones arteriales (16)	62
Hipertensión pulmonar (5)	80
Mielitis transversa (4)	100
* en 500 pacientes con LEG §	
§ los paréntesis indican el número de pacientes con la manifestación	

Las oclusiones arteriales por sí solas tuvieron una RM (Razón de momios) de 2.05 en la aCL IgM; la hipertensión pulmonar (HTP) tuvo una RM para IgM de 9.92. La mielitis transversa se asoció significativamente con la IgM. La asociación más importante fue la pérdida fetal recurrente con la IgG aCL con una  $p = 0.00000001$  y probablemente signifique el paso transplacentario de la inmunoglobulina. La IgG también se asoció fuertemente con trombosis venosas y trombocitopenia. Por otro lado, la fuerza de asociación de las oclusiones arteriales, las úlceras de Ms Is, la livedo y la anemia hemolítica fue mayor con IgM.

Otro de los resultados importantes fue que los pacientes con LEG activo son más frecuentemente positivos a aCL que los pacientes inactivos. Los pacientes persistentemente positivos al anticuerpo anticardiolipina tuvieron una mayor frecuencia de trombosis venosa (TV), trombocitopenia, pérdida fetal recurrente (PFR), livedo reticularis (LR), anemia hemolítica (AH) que los pacientes con LEG que son persistentemente negativos para aCL. El tratamiento también influyó en la frecuencia de la negatividad de aCL. Así, la dosis > 15 mg de prednisona o los inmunosupresores parecen ser más efectivos para la disminución de los niveles de aCL en pacientes con LEG <sup>5,53</sup>.

En el reporte de los 500 pacientes se observó que los pacientes que tenían dos o más manifestaciones del SAF eran más frecuentemente positivos al aCL (> 5 DE) en comparación con aquellos que solo tenían una manifestación. Esto permitió postular que realmente existe un SAF dentro del lupus eritematoso generalizado. En 1992, la cohorte anteriormente descrita se incrementó a 667 pacientes con LEG<sup>10</sup> y en vista que la IgA no aportaba información importante se dejó de cuantificar. De los 667 pacientes, una quinta parte tenía 2 o más manifestaciones y un tercio solo tenía una. El 25% de los pacientes tenía niveles bajos de aCL (> 2, < 5 DE) y el 30% de los pacientes tuvo niveles altos de aCL (> 5 DE). Sin embargo, solo el 10% de los pacientes cumplió los criterios de SAF por tener 2 ó más de las manifestaciones así como títulos altos de aCL. El 14% fue catalogado como SAF probable por tener una manifestación y títulos altos o al menos 2 manifestaciones y títulos bajos. El 25% de los pacientes se clasificó como SAF dudoso por tener 2 ó más manifestaciones sin

anticuerpos aCL; o una manifestación y títulos bajos de aCL; o no manifestaciones con títulos altos de aCL. El 50% de los pacientes de la cohorte fueron negativos para SAF ya que tenían solamente una manifestación y títulos negativos para aCL o títulos bajos de aCL y no manifestaciones o ninguna de los dos<sup>10,54</sup>.

El análisis de varianza de los pacientes que tenían 2 ó más manifestaciones y variación de sus títulos de aCL reveló que difieren en el número de veces que se había determinado el anticuerpo anticardiolipina y el uso de inmunosupresores. Por el contrario, al analizar los pacientes con títulos altos pero que variaban en el número de manifestaciones se encontró diferencia entre ellos en lo que respecta a la duración de la enfermedad y el número de embarazos que habían tenido, quizá por exponerse al riesgo de una pérdida fetal. Estas observaciones llevaron a la conclusión de que el seguimiento, las mediciones repetidas de aCL, los cambios en el tratamiento y los embarazos pueden mover a los pacientes de una clasificación a otra. La simplificación de los criterios al eliminar las manifestaciones menos frecuentes tales como la hipertensión pulmonar y/o mielitis transversa no afectó la distribución de los casos en las diferentes categorías de SAF<sup>10</sup>. Otras conclusiones importantes de este estudio son: 1) Existen otras manifestaciones que se asocian significativamente con el SAF definido: vasculitis cutánea, neuropatía periférica, convulsiones, psicosis, isquemia cerebral transitoria, leucopenia, pero solo pueden considerarse parte posible de síndrome. 2) El lupus cutáneo y alopecia se asocia negativamente con el SAF. 3) El síndrome nefrótico tiene una asociación negativa con SAF<sup>10,54</sup>

Tabla 5. Criterios de clasificación para el SAF

<b>Definido</b> ≥2 de siguientes manifestaciones clínicas Pérdida fetal recurrente Trombosis venosa Oclusiones arteriales Úlceras de piernas Livedo Anemia hemolítica Trombocitopenia Títulos altos de aCL (IgG o IgM > 5 DE)
<b>Probable</b> Una manifestación clínica y títulos altos de aCL O ≥2 manifestaciones clínicas y títulos bajos de aCL (IgG o IgM >2, ≤5 DE)

*Ref. 10*

Otros autores han confirmado los hallazgos de Alarcón Segovia en cuanto a la fluctuación de los títulos de aCL de acuerdo con la actividad de LEG y el tratamiento<sup>55</sup> y la importancia de los niveles altos como predictores de abortos y trombosis<sup>56,27</sup>. Al estudiar la mortalidad dentro de la cohorte mencionada, se identificaron 49 muertes en 2039 años persona. Las trombosis, las oclusiones arteriales y la anemia hemolítica fueron las manifestaciones del SAF relacionadas con la disminución en la sobrevida. Las primeras dos fueron seleccionadas como factores de mortalidad, sin embargo el mismo SAF estuvo asociado independientemente a una tasa de mortalidad elevada<sup>57</sup>.

## DESCRIPCION DE LAS MANIFESTACIONES DEL SAF EN LUPUS ERITEMATOSO GENERALIZADO

### Trombosis venosas.

Las trombosis son más frecuentes en los miembros inferiores (Ms Is). Sin embargo la afección de los grandes vasos como la ileofemoral, la subclavia o axilares es también frecuente. La tromboflebitis superficial puede presentarse sola o acompañando a la profunda. La tromboembolia pulmonar (TEP) complica el 33% de los casos de la trombosis venosa profunda. La oclusión venosa puede involucrar también a la vena cava superior e inferior, venas renales, mesentéricas, adrenales, hepáticas y retinianas manifestándose clínicamente como síndromes de vena cava superior, trombosis venosa renal, enfermedad de Addison, síndrome de Budd-Chiari, etc <sup>58</sup>

### Oclusiones arteriales.

Se han reportado pacientes con síndrome del arco aórtico. Existen también casos de gangrena periférica y oclusiones de la aorta manifestadas como hipertensión arterial y claudicación intermitente<sup>59</sup>. Alarcón Segovia y colaboradores describieron los hallazgos radiológicos e histopatológicos de las oclusiones arteriales en pacientes con SAF. Las angiografías mostraron estrechamiento gradual de la luz de las arterias y desde el punto de vista histológico se encontró proliferación importante de la íntima y media. La adventicia también tuvo cambios respecto al grosor y no hubo evidencia de trombosis. Desde entonces se han considerado a las oclusiones arteriales como secundarias a una vasculopatía diferente y exclusiva del SAF<sup>59</sup>. Es interesante la

observación de que durante los episodios trombo-oclusivos el nivel de aCL cae sugiriendo consumo del anticuerpo durante el episodio<sup>60</sup>

#### Neurológicas.

a.- Isquemia cerebral transitoria. Es frecuentemente recurrente y puede presentarse como amaurosis fugaz, parestesias transitorias, debilidad motora, vértigo e isquemia transitoria global. La isquemia cerebral transitoria precede a los infartos cerebrales por semanas o meses.

b.- Infartos cerebrales. Frecuentemente son múltiples y recurrentes. Las regiones más afectadas son las parietales y frontales, aunque las circulaciones cerebrales anteriores y posteriores también se han visto afectadas. Generalmente, los territorios de las ramas superficiales de la cerebral media son afectados y ocasionalmente se ha visto afectado el tálamo, la hipófisis, la carótida y la circulación vértebro-basilar<sup>59</sup>.

Asherson describió la demencia producida por infartos múltiples que como todas las demencias se asocia a una pérdida de las funciones cognitivas, incapacidad para desarrollar destrezas tales como la concentración, disfunción de la memoria y del lenguaje, el ritmo, etc. La localización de los infartos es cortical y la mayor parte de los enfermos tienen SAF primario<sup>61</sup>.

c.- Encefalopatía isquémica aguda. Se manifiesta por confusión y desorientación con cuadríparasias asimétricas, hiperreflexia y respuestas plantares bilaterales<sup>59</sup>.

d.- Corea. Existe una fuerte asociación con aCL. Puede aparecer en LEG independientemente del embarazo, durante o después de éste y también se precipita

por la toma de anticonceptivos.

e.- Enfermedad de Deigo. Vasculopatía multisistémica caracterizada por trombosis de piel, trombosis del tubo digestivo y del SNC.

f.- Síndrome de Sneddon. Es la asociación de livedo reticularis, AVC isquémico e hipertensión arterial. Se trata de un subgrupo de pacientes con SAF primario o de pacientes con evolución relacionada a LEG<sup>82</sup>.

g.- Migraña y epilepsia. No se ha encontrado una fuerza de asociación significativa con estas manifestaciones. En general hay una tendencia de los aFL a asociarse con las manifestaciones neurológicas vasculares<sup>28</sup>.

#### Cardiológicas.

Asherson describió a 13 pacientes de los que tercio tuvo en su juventud temprana infarto agudo de miocardio, cuatro pacientes lo presentaron en los primeros años de la tercera década de la vida y cinco antes de los 30 años. Tenían tanto SAF primario como asociado a LES y la arteria más afectada fue la descendente anterior<sup>83</sup>. Se han reportado también microtrombos en las arterias intramiocárdicas asociadas a disfunción ventricular y cardiomiopatía, trombosis intracavitaria y lesiones valvulares aórtica y mitral<sup>59</sup>.

#### Síndromes hematológicos.

Anemia hemolítica, trombocitopenia y neutropenia. Los pacientes con aCL tienen un riesgo de tres veces o más de tener una historia de trombocitopenia moderada o grave que aquellos que son negativos<sup>28</sup>. Llama la atención que los pacientes con trombocitopenia no sean muy proclives a tener trombosis sin embargo

se ha reportado la asociación de estas dos manifestaciones<sup>11</sup>. La asociación de anemia hemolítica y neutropenia con el isotipo IgM se ha demostrado<sup>64</sup>.

#### **Lesiones dérmicas.**

La manifestación cutánea más frecuente asociada con los aFL es la livedo reticularis. Los pacientes afectados tienen los plexos venosos superficiales dilatados con un aspecto geográfico. Una forma más leve es el llamado cutis marmóreo que se presenta en los muslos y brazos de mujeres jóvenes frecuentemente asociado al frío. Los pacientes con aCL elevados tienen 23 veces más la incidencia del livedo reticularis que aquellos que no lo tienen. Se ha encontrado también que los pacientes que presentan esta lesión tienen una frecuencia mayor de accidentes cerebrovasculares, trombocitopenia, enfermedad valvular cardíaca y pérdida fetal. Otras manifestaciones asociadas a los aFL son las lesiones parecidas al pioderma gangrenoso, gangrena digital, cianosis digital distal y necrosis cutánea extensa<sup>65</sup>.

#### **Pérdida fetal recurrente.**

Como se describió previamente en la serie de 500 pacientes con LEG Alarcón Segovia et al demuestran una fuerza de asociación significativa entre los aCL y la pérdida fetal recurrente, sin embargo varios estudios no confirman esta asociación. Petri en una serie de 60 pacientes no encontró relación entre la positividad de aCL IgG y abortos, pero sí de la positividad de anticoagulante lúpico (AL) como predictor de abortos e hipertensión pulmonar<sup>66</sup>. Nossent tampoco demostró una asociación entre aCL y pérdida fetal<sup>67</sup>. Fort en una serie de 22 pacientes con LEG-E (embarazo) detectó anticuerpos anticardiolipina en 38%, pero no encontró diferencias en cuanto

al número de abortos entre las pacientes con o sin el anticuerpo<sup>68</sup>.

En un estudio de casos y controles con 331 pacientes seleccionadas no por enfermedad sino por tener abortos o mortinatos, no se demostró asociación con AL ni con aCL como factores de riesgo en mujeres que se presentaron con abortos espontáneos o muerte fetal sin antecedentes de pérdidas fetales previas<sup>69</sup>. Ginsberg, sin embargo, al estudiar 42 mujeres con LEG encontró una relación entre AL (anticoagulante lúpico) persistentemente positivo e historia de pérdida fetal (OR 47.95 IC 95% 2.4-923.9  $p = .003$ ). En lo que respecta a aCL, hubo 5 pacientes con positividad persistente que tuvieron uno o más episodios de pérdida fetal (OR 20 IC 95% 1.3-97  $p < 0.01$ ). Al incluirse a los pacientes transitoriamente positivos con los pacientes repetidamente positivos el OR disminuyó a 3.8 (IC 95% 0.5-22-3  $p = .111$ ) lo que refuerza la hipótesis que la positividad persistente está más fuertemente asociada con la pérdida fetal que la transitoria<sup>70</sup>. También se conoce que los títulos altos de aCL IgG pueden asociarse con muerte fetal y sin embargo hay un grupo de pacientes que a pesar de esto, sus embarazos son normales<sup>71</sup>. Qamar estudió sueros de pacientes con LEG y aCL IgG a títulos altos ( $> 35$  unidades) en 48 pacientes. Encontró IgG aCL asociada a muerte fetal en 11 pacientes y en 9 fetos que sobrevivieron. Describió también sueros negativos para aCL IgG con muerte fetal ( $n = 6$ ) y aCL negativos con sobrevivida fetal ( $n = 10$ ). Concluyó que en las pacientes embarazadas con títulos altos de aCL IgG, la presencia de adicional de AL, aCL IgM o IgA no influyeron en el desarrollo de el embarazo. Tampoco hubo diferencia en la distribución de los subclases de inmunoglobulinas, avides o especificidad de aCL IgG.

Aunque solo desde el punto de vista serológico, las mujeres con aCL a títulos altos que perderán sus embarazos no pueden ser diferenciadas de las que no los perderán, por lo tanto no se puede establecer la relación entre aCL elevada y muerte fetal.

Love y Santoro<sup>28</sup> analizaron la literatura acerca de anticuerpos antifosfolípido publicada hasta 1989. De las diversas series analizadas, los datos sugieren, pero no apoyan firmemente, la asociación de anticuerpos antifosfolípido (AL y aCL) con pérdida fetal. Las pacientes con LEG que tienen AL o aCL una historia de varios embarazos fallidos tienen un riesgo alto de pérdida fetal. El valor pronóstico de los anticuerpos antifosfolípido en pacientes sin historia de pérdida fetal es un campo que no se ha estudiado a fondo<sup>28</sup>. Por otro lado, Goldman<sup>72</sup> estudió a 255 pacientes con LEG. 174 fueron controles (aCL IgG o IgM negativos) y 82 considerados casos por tener aCL positivos; 53 tenían IgG, 11 IgM y 17 ambos isotipos. Los desenlaces adversos del embarazo<sup>a</sup> fueron 51% en los aCL positivos y de 43 % en los controles aCL negativos ( $p=0.06$  OR 1.40, IC 95% 0.98-1.98). Si se eliminan las complicaciones neonatales, el porcentaje de resultados adversos del embarazo de 43% en los casos y 38% en los controles. La única diferencia significativa entre casos y controles fue el aborto tardío (8 vs 3%)  $p=0.03$  OR 2.94 IC 95% 1-31-6-60. En el análisis de regresión se observó que en el primer embarazo el riesgo de un desenlace adverso se

---

<sup>a</sup> aborto temprano (entre semanas 8-13); aborto tardío (entre semanas 13-20); mortinato (muerte intrauterina después de la semana 20); pretérmino (nacimiento antes de la semana 38 de gestación); pequeño para edad gestacional a término (nacimiento después de semana 38 con peso menor de 2,500 g); complicaciones neonatales (problemas adquiridos o congénitos en los primeros tres meses de vida tales como bloqueo cardíaco congénito, cataratas, convulsiones no febriles, estenosis pilórica)

asocia débilmente a aCL (OR 1.72, IC 95% 0.98-3.03). La positividad de aCL no fue un factor de riesgo importante para algún resultado adverso del segundo embarazo (OR 1.06 IC 95% 0.54-2.07). Así un resultado adverso del embarazo fue el factor de riesgo más importante para un resultado adverso del segundo embarazo (OR 3, IC 95% 1.62-5.57). El aCL estuvo débilmente asociado a un resultado adverso del embarazo en el tercer embarazo, sin embargo los resultados adversos en el primer y segundo embarazos tienen un OR de 2.16 (IC95% 1.18-3.96) para tener uno en el tercero. Se concluyó que la asociación de aCL con desenlaces adversos del embarazo es débil. El efecto más fuerte de el anticuerpo es en el primer embarazo (aborto tardío semanas 13-20). El parto pretérmino estuvo también incrementado en los casos.

#### **Síndrome antifosfolípido catastrófico.**

Este término se ha usado (con poco éxito) para describir a algunos pacientes que sufren de fenómenos trombóticos diseminados en un corto período de tiempo. En algunos casos, una reacción alérgica o una infección viral desencadenan esta eventualidad. Los pacientes están gravemente enfermos, cursan con leucocitosis, coagulación intravascular diseminada y elevación sanguínea de diversas enzimas tisulares. El cuadro clínico de estos enfermos se parece a el síndrome de coagulación intravascular diseminada o a la púrpura trombocitopénica trombótica. Los pacientes tienen en común: a) evidencia clínica de afección de 3 o más órganos junto con insuficiencia renal frecuentemente acompañados de hipertensión arterial y manifestaciones neurológicas predominantemente, y/o b) evidencia histopatológica de oclusiones de vasos grandes y pequeños<sup>73</sup>

## SINDROME ANTIFOSFOLIPIDO SECUNDARIO.

### DROGAS E INFECCIONES

Como se comentó anteriormente, existen dos formas de aFL: la autoinmune y la inducida. Las infecciones como la sífilis, la enfermedad de Lyme, la mononucleosis infecciosa, la Tb, la lepra y las producidas por el HIV-1 inducen la síntesis de anticuerpos antifosfolípido. También se han detectado aCL en infecciones por mycoplasma, infecciones por adenovirus, rubéola, varicela, paperas y malaria. Las drogas capaces de inducir síndromes parecidos al LEG como la procainamida, quinidina, la clorotiazida y especialmente la clorpromazina también inducen la síntesis de estos anticuerpos. Otras drogas mencionadas son la fenitoína, la hidralazina, el interferón alfa y la cocaína<sup>59</sup>. Las manifestaciones clínicas del SAF aparecen con la forma autoinmune y no con la inducida. Los aFL autoinmunes se encuentran a títulos altos y su presencia es frecuentemente sostenida. El isotipo más frecuentemente encontrado es la IgG (subclases IgG 2 e IgG4), su unión a cardiolipina es aumentada por la  $\beta_2$ -glicoproteína I y su afinidad por aCL purificada como antígeno es alta. Por el contrario, los anticuerpos aFL inducidos se detectan a títulos bajos, son transitorios y frecuentemente son IgG (subclases IgG1 e IgG3) e IgM. Su unión a cardiolipina es inhibida por la  $\beta_2$ -glicoproteína I y su afinidad es mayor a mezclas de lípidos como el antígeno del VDRL. La unión de los aFL inducidos por drogas está aumentada por la  $\beta_2$ -glicoproteína I pero son principalmente de clase IgM<sup>74</sup>

## TRATAMIENTO

**Embarazo.** En un estudio no aleatorizado de pacientes con padecimientos diferentes al LEG y títulos altos de aCL IgG y/o AL con dos pérdidas fetales previas se probaron tres tratamientos diferentes que probaron ser igualmente exitosos: 1) aspirina 80 mg diarios; 2) aspirina más 40 mg de prednisona iniciales (después fueron disminuidos) y 3) aspirina inicial que después fue cambiada a heparina (10,000 a 20,000 U/día de las semanas 13 a la 32) para posteriormente regresar a la aspirina. El éxito registrado en un embarazo no garantizó el éxito en un embarazo subsecuente. Los regímenes prednisona/aspirina y aspirina/heparina fueron contrastados en un pequeño estudio controlado y aleatorizado. Los fetos nacidos vivos fueron semejantes en ambas terapéuticas, pero la modalidad aspirina/heparina tuvo menos toxicidad materna y fetal. En la población de SAF secundario, el tratamiento de las pacientes con dosis de 60 mg de prednisona fue tóxico y poco útil en prevenir pérdidas fetales. Por otro lado, las dosis bajas de prednisona no han sido formalmente evaluadas. Las inmunoglobulinas intravenosas y la heparina de bajo peso molecular han sido probadas en un número pequeño de pacientes con resultados alentadores<sup>74</sup>. Hasta el momento a pesar de no haber ensayos aleatorizados concluyentes, el uso de aspirina y/o heparina parece ser benéfico.

**Accidente vascular cerebral y otros síndromes oclusivos.**

Las recomendaciones actuales son de tratar el cuadro agudo con heparina de la manera habitual seguido de la administración de warfarina por un tiempo corto (4 meses) y posteriormente de aspirina de por vida si los vasos afectados son pequeños

o medianos en los que se puede identificar un factor precipitante (parto, cirugía) siempre y cuando se trate de un primer evento. Para la afección de vasos medianos o grandes o para aquellos casos sin factor desencadenante se recomienda la anticoagulación con dosis altas de warfarina ( $INR \geq 3$ ). No existen datos de el valor potencial de la administración concurrente de dosis bajas de warfarina y aspirina. Tampoco hay información de la trombolisis enzimática o quirúrgica o de la tromboembolectomía<sup>74</sup>.

#### **Trombosis venosa.**

El tratamiento consiste en el uso inmediato de heparina seguido de warfarina por un período de 3-6 meses después de un episodio inicial en la pierna, pelvis. Se debe anticoagular de manera indefinida en caso de episodios recurrentes o en oclusiones venosas viscerales como el síndrome de Budd-Chiari, la trombosis del seno cavernoso o sagital, trombosis de la vena cava. Algunos autores recomiendan la anticoagulación de por vida.

**Trombocitopenia, isquemia cerebral transitoria y otros cuadros eventos neurológicos, livedo, enfermedad renal y cardíaca. ...**

No existe un tratamiento específico para tratar las trombocitopenias leves si no son debidas a la actividad de LEG. En algunos casos se ha reportado que la aspirina incrementa las plaquetas. Si existe duda acerca de la causa de la trombocitopenia, debe darse prednisona. No existen datos acerca del tratamiento de la isquemia cerebral transitoria o de los estados confusionales leves. Se ha utilizado aspirina en casos como los anteriormente descritos. No hay tratamiento para el livedo, la

enfermedad renal o cardíaca.

**Síndrome antifosfolpido catastrófico.**

No hay estudios clínicos aleatorizados. Sin embargo todos los pacientes que han sobrevivido han recibido tratamiento con dosis muy altas de esteroides, anticoagulación, ciclofosfamida y en muchos casos aféresis y gamaglobulias intravenosas<sup>74</sup>.

**ASOCIACION DE LOS ANTICUERPOS  
ANTIFOSFOLIPIDO CON HEMOCITOPENIAS EN LEG**

## ASOCIACION DE LOS ANTICUERPOS ANTIFOSFOLIPIDO CON HEMOCITOPENIAS EN LEG.

Los pacientes con LEG tienen entre sus manifestaciones clínicas la trombocitopenia y la anemia hemolítica (AH), que se han considerado como subgrupos relacionados de pacientes. A pesar de que la trombocitopenia si se ha visto asociada a los aCL, la anemia hemolítica lo hace en menor cuantía, probablemente porque no es una manifestación frecuente de LEG y el número de pacientes estudiados no es suficiente para mostrar una asociación con aCL. Se estudió la relación entre trombocitopenia, anemia hemolítica o la presentación de ambas en la cohorte de 500 pacientes con LEG.

**Objetivo.** Determinar la fuerza de asociación entre trombocitopenia, anemia hemolítica o ambas con anticuerpos anticardiolipina en pacientes con LEG.

**Hipótesis.** La fuerza de asociación de la trombocitopenia y/o anemia hemolítica con los anticuerpos anticardiolipina será significativa.

**Material y método.** Se estudiaron 500 pacientes consecutivos con diagnóstico de LEG según criterios del ACR y se les determinó aCL. Se consideró que un paciente tuvo anemia hemolítica (AH) si la hemoglobina descendía 3 g o más, conjuntamente con la elevación de la bilirrubina indirecta por lo menos 0.6 g/dl y una cuenta de reticulocitos ajustados a la Hb > de 5%. La trombocitopenia se definió como  $\leq 100,000$  en dos ocasiones diferentes.

Los aCL se determinaron por ELISA con suero diluido 1:50 en placas de poliestireno de 96 pozos planos (A/S Nunc, Dinamarca). Los reactivos utilizados fueron:

cardiolipina extraída de corazón bovino (Sigma Chemical Co. St Louis, MO), fosfatasa alcalina conjugada con anti IgG humana (Sigma), sustrato de nitrofenilfosfato y suero fetal en buffer de PBS. La medición de la reacción se midió por absorbencia a 405 nm. Se incluyeron sueros controles positivos y negativos. Los valores normales se tomaron de 100 sujetos normales y se determinaron como positivas lecturas  $\geq 2$  DE para aCL IgG, IgM e IgA; la media y 2 DE para aCL fue de 1.9, 2.4, 2.1 respectivamente.

El análisis estadístico se realizó mediante análisis de frecuencias simples, RM (razón de momios) como medida de fuerza de asociación, e intervalos de confianza al 95%.

#### Resultados.

Los porcentajes de los 500 pacientes con LES que tuvieron positividad para aCL se muestra en la tabla 1. Se observa que el porcentaje de positividad se elevó levemente al repetir las pruebas.

Tabla 1. Prevalencia de los aCL de los 3 isotipos principales en 500 pacientes consecutivos con LEG. Positividad a  $> 2$  DE y  $\geq 5$  DE en la muestra inicial y todas las muestras.

Porcentaje de positivos				
	IgG	IgM	IgA	Cualquier isotipo
Primera muestra				
$\geq 2$ DE	33	27	17	46.5
$\geq 5$ DE	17	14	4	24.5
Total de muestras				
$\geq 2$ DE	39	33	17	53
$\geq 5$ DE	22	19	4	31

De los 500 pacientes con LEG, 88 tuvieron trombocitopenia, 25 tuvieron anemia hemolítica, 25 tuvieron ambas y 362 no tuvieron ninguna. En la tabla 2 se aprecia que los pacientes con LEG que no tuvieron alguna hemocitopenia durante el curso de su enfermedad tuvieron con menor frecuencia aCL positivos que los que si las tuvieron.

Tabla 2. Frecuencia de aCL a niveles  $\geq 5$  DE en 500 pacientes con LEG con y sin hemocitopenia.

Hemocitopenia	Número de positivos				
	IgG	IgM	IgA	Cualquier isotipo	%
Trombocitopenia (88)	27	21	6	34	39
Anemia Hemolítica (25)	9	8	2	13	52
Ambas (25)	10	10	4	12	48
Ninguna (362)	65	54	7	94	26

En la tabla 3 se consideran a los pacientes que no tienen trombocitopenia, anemia hemolítica o ninguna de las dos como si tuvieran una RM (razón de momios) de 1. La RM es más alta para los isotipos de inmunoglobulinas que se asocian a anemia hemolítica que para los que se asocian a trombocitopenia. La RM más alta se encontró en los pacientes que tienen tanto anemia hemolítica como trombocitopenia.

Tabla 3. RM (razón de momios) de tener niveles altos de aCL ( $\geq 5$  DE) asociados a trombocitopenia, anemia hemolítica o ambas en comparación con los pacientes que no tienen hemocitopenias.

	IgG	IgM	IgA	Cualquier isotipo
Grupo (# de casos)	RM (IC 95%)*	RM (IC 95%)	RM (IC 95%)*	RM (IC 95%)*
Ninguna (362)	1	1	1	1
Trombocitopenia (88)	2.1 (1.2, 3.6)	1.8 (1.0, 3.2)	3.3 (1.0, 10.8)	1.7 (1.0, 2.9)
Anemia hemolítica (25)	2.6 (1.0, 6.6)	2.6 (1.0, 6.9)	4.1 (0.6, 23.3)	3.0 (1.2, 7.3)
Ambas (25)	3.1 (1.2, 7.8)	3.7 (1.5, 9.4)	8.3 (1.9, 34.0)	2.6 (1.1, 6.2)

\* RM = Razón de momios. IC 95% = Intervalo de confianza al 95%

## CONCLUSIONES

- 1.- 88 pacientes tuvieron trombocitopenia, de los cuales el 39% fue positivo a cualquier isotipo de aCL.
- 2.- 25 pacientes tuvieron anemia hemolítica de los cuales el 52% fue positivo a cualquier isotipo de aCL.
- 3.- 25 pacientes tuvieron tanto anemia hemolítica como trombocitopenia y el 48% fueron positivos a cualquier isotipo de aCL.
- 4.- La fuerza de asociación de los aCL con la anemia hemolítica (RM 3.0) es mayor que con la trombocitopenia (RM 1.7).
- 5.- La fuerza de asociación de los aCL para la concurrencia de anemia hemolítica y trombocitopenia fue mayor para IgM (RM 3.7) que para la IgG (RM 3.1).
- 6.- El isotipo IgA también tiene una fuerte asociación con la concurrencia de anemia hemolítica y trombocitopenia (RM 8.3)

## BIBLIOGRAFIA

1. Sammaritano L, Gharavi A, Lockshin M. Antiphospholipid antibody syndrome: immunologic and clinical aspects. *Sem Arthritis Rheum.* 1990; 20:81.
2. Harris E. Antiphospholipid antibodies. *Br J Haematol* 1990; 74:1.
3. Moore J, Lutz W. The natural history of systemic lupus erythematosus: an approach to its study through chronic biologic false positive reactors. *J Chronic Dis* 1955 1:297.
4. Thiagarajan P, Shapiro S, De Marco L. Monoclonal immunoglobulin M coagulation inhibitor with phospholipid specificity-mechanism of a lupus anticoagulant. *J Clin Invest* 1980; 66:397.
5. Boey M, Colaco C, Gharavi A, et al. Thrombosis in SLE: striking association with the presence of circulating lupus anticoagulant. *Br Med J* 1983; 287:1021.
6. Mueh J, Herbst K, Rapaport S. Thrombosis in patients with the lupus anticoagulant. *Ann Intern Med* 1980; 92:156.
7. Lubbe W, Palmer S, Lockshin M et al. Fetal survival after prednisone suppression of maternal lupus anticoagulant. *Lancet* 1983; 1:1361.
8. Harris E, Gharavi A, Boey M, et al. Anticardiolipin antibodies: detection by radioimmunoassay association with thrombosis in systemic lupus erythematosus. *Lancet* 1983; 2:1211.
9. Alarcón D, Delezé M, Oria C, Sánchez J, et al. Antiphospholipid antibodies and the antiphospholipid syndrome in systemic lupus erythematosus. A prospective analysis of 500 consecutive patients. *Medicine* 1989; 68:353.
10. Alarcón D, Pérez M, Villa A, Drenkard et al. Preliminary classification criteria for the antiphospholipid syndrome within systemic lupus erythematosus. *Sem Arthritis Rheum* 1992; 21:275.
11. Alarcón D, Sánchez J. Primary antiphospholipid syndrome. *J Rheumatol* 1989; 16:482.
12. Gharavi A, Harris E, Asherson R, Hughes G. Anticardiolipin antibodies: isotype distribution and phospholipid specificity. *Ann Rheum Dis* 1987; 46:1.
13. Gharavi A, Harris E, Lockshin M, et al. IgG subclass and light chain distribution of anticardiolipin antibodies and anti DNA antibodies in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 1988; 47:286.

14. Lechner K, Pabinger I. Lupus anticoagulant and thrombosis. A study of 25 cases and review of the literature. *Haemostasis* 1985; 15:254.
15. Harris E. Syndrome of the black swan. *Br J Rheumatol* 1987; 26:324.
16. Cervera R, Font J, López A, Casals F, et al. Isotype distribution of anticardiolipin antibodies in systemic lupus erythematosus: prospective analysis of a series of 100 patients. *Ann Rheum Dis* 1990; 49:109.
17. Cronin M, Biswas R, van der Straeten C. IgG and IgM anticardiolipin antibodies in patients with lupus anticardiolipin antibody associated clinical syndromes. *J Rheumatol* 1988; 15:795.
18. Alarcón D, Cabral A. Functional and immunochemical heterogeneity of antiphospholipid antibodies: a classification. *J Rheumatol* 1992; 19:8.
19. Valasquillos M, Alcocer J, Alarcón D, et al. Some patients with primary antiphospholipid syndrome have increased circulating CD5+ B cells that correlate with levels of IgM antiphospholipid antibodies. *Clin Exp Rheumatol* 1991; 9:501.
20. Avrameas S. Natural autoantibodies: from horror autotoxicus to gnōthi seauton. *Immunol today* 1991;12:154.
21. Hasselear P, Triplett D, Larue A et al. Heat treatment of serum and plasma induces false positive result in the antiphospholipid antibody ELISA. *J Rheumatol* 1990; 17:186.
22. Cabiedes J, Cabral A, Alarcón D. Identification of four subpopulations of IgG anticardiolipin antibodies in patients with primary antiphospholipid syndrome on the basis of their requirement for  $\beta_2$  glycoprotein I and their unmasking by heat. *Clin Exp Rheumatol* 1994; 12:123.
23. Petri M. Diagnosis of antiphospholipid antibodies. *Rheum Dis Clin North Am* 1994; 20:443.
24. Harris E, Gharavi A, Wasley G, Hughes G. Use of an enzyme linked immunoabsorbent assay and of inhibition studies to distinguish between antibodies to cardiolipin from patients with syphilis or autoimmune disorders. *J Infect Dis* 1988; 157:23
25. Oosting J, Derksen R, Bobbink J, et al. Antiphospholipid antibodies directed against a combination of phospholipids with prothrombin, protein C or protein S: an explanation for their pathogenic mechanism? *Blood* 1993; 81:2618.
26. Harris E, Chan J, Asherson R et al. Thrombosis, recurrent fetal loss and thrombocytopenia. Predictive value of the anticardiolipin antibody test. *Arch Intern Med* 1986; 146:2153.

27. Kalunian K, Peter J, Middlekauff H, et al. Clinical significance of a single test for anticardiolipin antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. *Am J Med* 1988; 85:602.
28. Love P, Santoro S. Antiphospholipid antibodies: anticardiolipin and the lupus anticoagulant in systemic lupus erythematosus and in non-SLE disorders. *Ann Intern Med* 1990; 112:682.
29. Rote M, Dostal D, Branch W. Antiphospholipid antibodies and recurrent pregnancy loss: correlation between the activated partial thromboplastin time and antibodies against phosphatidylserine and cardiolipin. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 163:575.
30. Triplett D. Coagulation essays for the lupus anticoagulant: review and critique of current methodology. 1992; *Stroke* 23:111.
31. Rauch J, Tannenbaum M, Janoff A. Distinguishing plasma lupus anticoagulants from anti factor antibodies using hexagonal(II) phase phospholipids. *Thromb Haemost* 1989; 62:892.
32. McHugh N, Moye D, James I, et al. Lupus anticoagulant: clinical significance in anticardiolipin positive patients with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 1991; 50:548.
33. Petri M, Rheimschmidt M, Whiting Q et al. The frequency of lupus anticoagulants in systemic lupus erythematosus. *Ann Intern Med* 1987; 106:524.
34. Petri M, Nelson L, Weimer F, Anderson D, et al. The automated modified Russell viper venom time test for the lupus anticoagulant. *J Rheumatol* 1991; 18:1823.
35. Schousboe I.  $\beta_2$ -glycoprotein I: A plasma inhibitor of the contact activation of the intrinsic blood coagulation pathway. *Blood* 1985; 66:1086.
36. Roubey R. Autoantibodies to phospholipid-binding plasma proteins: A new view of lupus anticoagulants and other antiphospholipid autoantibodies. *Blood* 1994; 84:2854.
37. Cariou R, Tobelin G, Bellucci S, Soria J et al. Effect of lupus anticoagulant on antithrombotic properties of endothelial-inhibition of thrombomodulin dependent protein C activation. *Thromb Haemost* 1988; 60:54.
38. Hunt J, Krilis S. The fifth domain of  $\beta_2$ -glycoprotein I contains a phospholipid binding site and a region recognized by anticardiolipin antibodies. *J Immunol* 1994; 152:653.
39. McNeil P, Simpson R, Chesterman C, Krilis S. Anti-phospholipid antibodies are directed against a complex antigen that includes a lipid binding inhibitor of coagulation: $\beta_2$ -glycoprotein I (apolipoprotein H). *Proc Natl Acad Sci* 1990; 87:4120.

40. Galli M, Comfurius P, Maasses C, Hemker H et al. Anticardiolipin antibodies directed not to cardiolipin but to a plasma protein cofactor. *Lancet* 1990; 335:1544.
41. Varrier J, James, Tang M, Mansour M. Antiphospholipid antibodies require  $\beta_2$ -glycoprotein I as cofactor. *J Rheumatol* 1992; 19:1397.
42. Varrier J. Antiphospholipid antibodies: New perspectives on antigen specificity. *J Rheumatol* 1992; 19:1774.
43. Roubey R, Pratt Ch, Buyon J, Winfield J. Lupus anticoagulant activity of autoimmune antiphospholipid antibodies is dependent upon  $\beta_2$ -glycoprotein I. *J Clin Invest* 1992; 90:1100.
44. Ordi J, Selva F, Monegal F, Porcel J, et al. Anticardiolipin antibodies and dependence of a serum cofactor. A mechanism of thrombosis. *J Rheumatol* 1993; 20:1321.
45. Bevers E, Galli M, Barbui T, Comfurius P, et al. Lupus anticoagulants IgG are not directed to phospholipids only but to a complex of lipid bound human prothrombin. *Thromb Haemost* 1991; 66:629.
46. Galli M, Comfurius P, Barbui T, Zwaal R, et al. Anticoagulant activity of  $\beta_2$ -glycoprotein I is potentiated by a distinct subgroup of anticardiolipin antibodies. *Thromb Haemost* 1992; 68:297.
47. Wagenknecht D, McIntyre J. Changes in  $\beta_2$ -glycoprotein I antigenicity induced by phospholipid binding. *Thromb Haemost* 1993; 69:361.
48. Ruiz A, Vazquez A, Delezé M, Perez B et al. Presence of serum antibodies to coagulation protein C in patients with systemic lupus erythematosus is not associated with antigenic or functional protein C deficiencies. *Am J Hematol* 1993; 44:58
49. Walker F. Does  $\beta_2$ -glycoprotein I inhibit the interaction between protein S and C4b binding protein? *Thromb Haemost* 1993; 69:930-
50. Wachtfogel Y, De la Cadena R, Colman R. Structural biology, cellular interaction and pathophysiology of the contact system. *Thromb Res* 1993; 72:1
51. Lellouche F, Martinuzzo M, Said P et al. Imbalance of thromboxane/prostacyclin biosynthesis in patients with lupus anticoagulant. *Blood* 1991; 78:2894
52. Vianna J, Khamashta M, Ordi J, Font J, et al. Comparison of the primary and secondary antiphospholipid syndrome: a european multicenter study of 114 patients. *Am J Med* 1994; 96:3.
53. Alarcón D. Clinical manifestations of the antiphospholipid syndrome. *J Rheumatol* 1992; 19:1778.

54. Alarcón D. Antiphospholipid syndrome within systemic lupus erythematosus. *Lupus* 1994; 3:289.
55. Jan H, De Groot P, Hasselaar P, Van Vliet M, et al. Fluctuations of anticardiolipin antibody levels in patients with systemic lupus erythematosus: a prospective study. *Ann Rheum Dis* 1989; 48:1023.
56. Ishii Y, Nagasawa K, Mayumi T, Niho Y. Clinical importance of persistence of anticardiolipin antibodies in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 1990; 49:387.
57. Drenkard C, Villa A, Alarcón D et al. Influence of the antiphospholipid syndrome in survival of patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 1994; 21:1067.
58. Bick R, Baker W. Antiphospholipid and thrombosis syndromes. *Semin Thromb Hemost* 1994; 20:3.
59. Alarcón D, Cardiel M, Reyes E. Antiphospholipid Arterial Vasculopathy. *J Rheumatol* 1989; 16:726.
60. Drenkard C, Sánchez J, Alarcón D. Fall in antiphospholipid antibody at time of thromboocclusive episodes in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 1989; 16:614.
61. Asherson R, Mercey D, Phillips G et al. Recurrent stroke and multi-infarct dementia in systemic lupus erythematosus associated with antiphospholipid syndrome. *Ann Rheum Dis* 1987; 46:605.
62. Weinstein C, Muller M, Axtens R. Livedo reticularis associated with systemic lupus erythematosus. *Arch Dermatol* 1987; 125:596.
63. Asherson R, Khamashta M, Oakley C, et al. Myocardial infarction and antiphospholipid antibodies. *J Rheumatol* 1989; 73:1103.
64. Delezé M, Alarcón D, Oria C. Occurrence of both hemolytic anemia and thrombocytopenic purpura (Evans Syndrome) in systemic lupus erythematosus. Relationship to antiphospholipid antibodies. *J Rheumatol* 1988; 15:611.
65. Kampe C. Clinical syndromes associated with lupus anticoagulants. *Semin Thromb Hemost* 1994; 20:16.
66. Petri M, Rheinschmidt M, Whiting Q, Hellman D, Corash L. The frequency of lupus anticoagulant in systemic lupus erythematosus. *Ann Intern Med* 1987; 106:524-531.
67. Nossent H, Swaak T. Systemic lupus erythematosus. VI analysis of the interrelationship with pregnancy. *J Rheumatol* 1990; 17:771.

75  
SERIALS DEPT. LA BIBLIOTECA

68. Fort J, Cowchock S, Abruzzo J, Smith B. Anticardiolipin antibodies in patients with rheumatic diseases. *Arthritis Rheum* 1987;30:752-60
69. Infante C, David M, Gauthier R, Etienne G. Lupus anticoagulant, anticardiolipin antibodies and fetal loss. *N Engl J Med* 1991;325:1063-6.
70. Ginsberg J, Brill P, Johnston M, Denburg J, Andrew M, Burrows R, Bensen W, Cividino A, Long A. Relationship of antiphospholipid antibodies to pregnancy loss in patients with systemic lupus erythematosus. A cross sectional study. *Blood* 1992;80:975-80
71. Qamar T, Levy R, Sammaritano L, Gharavi A, et al. Characteristics of high titer IgG antiphospholipid antibody in systemic lupus erythematosus patients with and without fetal death. *Arthritis Rheum* 1990;33:501-504
72. Goldman R, Kultzer J, Kuller L, Guzik D et al. Pregnancy outcome and anticardiolipin antibodies in woman with systemic lupus erythematosus. *Am J Epidemiol* 1993; 130:1057.
73. Asherson R. The catastrophic antiphospholipid syndrome. *J Rheumatol* 1992; 19:4.
74. Lockshin M. Antiphospholipid syndrome. *Rheum Dis Clin North Am* 1994;20:45.