

11237

2ej

162



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

RECEBIDO EN LA SECRETARIA DE SALUD AL 30 DE JUNIO DE 1988

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION

SECRETARÍA DE SALUD

INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA

ANTICARDIOLIPINAS EN PACIENTES CON LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO Y EN OTRAS ENFERMEDADES AUTOINMUNES

TRABAJO DE INVESTIGACION

QUE PRESENTAN:

DRA. MARÍA DEL ROCÍO MEZA VELÁZQUEZ

DRA. ANA ISABEL JIMÉNEZ ROMERO

PARA OBTENER EL DIPLOMA DE ESPECIALISTA EN:

P E D I A T R Í A



INP

MÉXICO, D. F.

276371

1998

TESIS CON FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

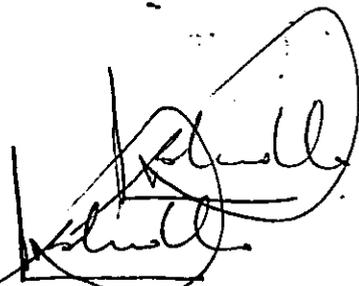
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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.

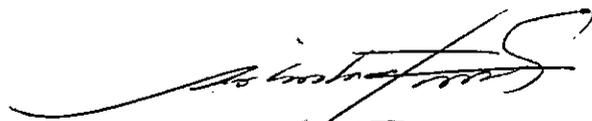
ANTICARDIOLIPINAS EN PACIENTES CON LUPUS ERMATOSO SISTÉMICO  
Y EN OTRAS ENFERMEDADES AUTOINMUNES



DR. PEDRO A. SÁNCHEZ MÁRQUEZ  
SUBDIRECTOR GENERAL DE  
ENSEÑANZA



DR. LUIS HESHKI N.  
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE  
ENSEÑANZA DE PRE Y POSGRADO



DR. SILVESTRE FRENK FREUND  
PROFESOR TITULAR DEL CURSO



DR. FRANCISCO ESPINOSA ROSALES  
TUTOR DEL TRABAJO DE  
INVESTIGACIÓN



## 1. MARCO TEÓRICO

### GENERALIDADES

Durante la última década ha habido un creciente interés en el estudio de los anticuerpos dirigidos contra los fosfolípidos de membrana así como en su papel en la fisiopatología de ciertos síndromes clínicos de naturaleza autoinmune. El nombre acuñado para el conjunto de datos clínicos que frecuentemente se asocia a la presencia de estos anticuerpos es el de síndrome antifosfolípidos (SAF) y sus principales manifestaciones son trombosis, trombocitopenia y abortos de repetición. Por otro lado es frecuente la asociación de estos anticuerpos con otros padecimientos autoinmunes como el lupus eritematoso sistémico (LES) o la artritis reumatoide, pero se desconoce su papel en la patogénesis de estas enfermedades, ya que no necesariamente cuando se presentan se encuentran los datos clínicos del SAF. Recientemente, ha habido un interés creciente en el estudio del SAF en niños, encontrándose, como en los adultos, una fuerte asociación entre la presencia de anticuerpos antifosfolípidos y trombosis vascular. Sin embargo, los estudios en niños son escasos y la mayoría se han efectuado sólo en series de niños con LES y en niños con trombosis vascular:

#### **Clasificación y funciones de los fosfolípidos.**

Los fosfolípidos son un grupo de lípidos anfipáticos, es decir contienen una "cabeza" polar o hidrofílica constituida por un grupo fosfato y generalmente otro radical unido a dicho grupo. Contienen además una parte no polar o hidrofóbica constituida por dos ácidos grasos. Los fosfolípidos son los principales constituyentes de las membranas celulares y son un grupo heterogéneo de moléculas. Los dos principales tipos de fosfolípidos son los *fosfoglicéridos* y las *esfingomielinas*.

Los *fosfoglicéridos* son los fosfolípidos más abundantes. Además del grupo fosfato (característico de todos los fosfolípidos), contienen glicerol (un tri-alcohol), el cual tiene esterificados dos ácidos grasos en sus hidroxilos de posición 1 y 2, mientras que el grupo fosfato se esterifica en posición 3. Adicionalmente el grupo fosfato también está esterificado generalmente a un amino-alcohol dando por resultado un enlace fosfodiéster similar al que une a los nucleótidos de la molécula del DNA. Esto es importante por que al parecer algunos anticuerpos contra fosfolípidos pueden reaccionar en forma cruzada con el DNA debido, probablemente, a que se comparte esta estructura (el enlace fosfodiéster), la cual es posible que funcione como parte de un determinante antigénico. El glicerol, los dos ácidos grasos y el grupo fosfato, forman el compuesto base de todos

los *fosfoglicéridos*. A este compuesto base se le llama *ácido fosfatídico*. El aminoalcohol esterificado al *ácido fosfatídico* puede ser colina, etanolamina, o serina, lo cual origina a los fosfolípidos: fosfatidil-colina, fosfatidil-etanolamina y fosfatidil-serina respectivamente. En ocasiones, en vez del aminoalcohol está presente otro compuesto como el inositol, originando otro fosfolípido de importancia en el metabolismo celular: el fosfatidil-inositol.

La fosfatidilcolina recibe también el nombre de lecitina, y es el fosfolípido más abundante en la bicapa externa de la mayoría de las membranas celulares. A la fosfatidil-etanolamina y a la fosfatidil-serina se les ha clasificado como cefalinas, por su abundancia en el tejido cerebral. En realidad existen varias lecitinas (lo mismo que varias cefalinas), dependiendo de cuáles ácidos grasos estén esterificados al glicerol. Por ejemplo, si los dos ácidos grasos son ácidos palmíticos (16:0) la lecitina será dipalmitoil-lecitina; un palmítico (16:0) y un esteárico (20:0) darán la palmitoil-estearil-lecitina. Generalmente, el ácido graso esterificado en posición 2 es un ácido graso insaturado, como el ácido araquidónico (20:4), el cual es precursor de prostaglandinas y tromboxanos. Este concepto también es importante por que uno de los mecanismos de patogenicidad de los anticuerpos antifosfolípidos parece ser la interferencia en la síntesis de tromboxanos.

Otro *fosfoglicérido* de importancia lo es el difosfatidil-glicerol (dos ácidos fosfatídicos esterificados a los hidroxilos 1 y 3 de un glicerol) también conocido como *cardiolipina*, un fosfolípido abundante en la membrana mitocondrial. Un tipo importante de anticuerpos antifosfolípidos lo constituyen los anticuerpos anticardiolipinas.

Los otros fosfolípidos, las *esfingomielinas*, contienen: 1) esfingosina (en lugar de glicerol), 2) un ácido graso, y 3) un grupo fosfato. Esta estructura es la base de todas las esfingomielinas. Como en caso de los fosfolípidos, también se esterifica al grupo fosfato un amino-alcohol pequeño, habitualmente la colina. Las esfingomielinas son componentes importantes de la mielina y de otras membranas biológicas, como la del eritrocito, en donde constituyen el 22-30% del total de los fosfolípidos de membrana.

Los fosfolípidos no sólo son constituyentes de las membrana ya que tienen otras funciones de importancia. Por ejemplo, las lecitinas son un componente importante del surfactante pulmonar (además del fosfatidilglicerol), y el factor activador plaquetario (PAF) es un derivado natural de la fosfatidilcolina.

Aunque el grupo fosfato ( $H_3PO_4$ ) de cualquier fosfolípido posee, al pH fisiológico, cargas negativas, producto de su ionización, se ha clasificado a los fosfolípidos en

negativos y neutros de acuerdo a la carga neta de sus "cabezas" polares. Los fosfolípidos negativos son: cardiolipina, fosfatidil-serina, fosfatidil-inositol, fosfatidil-glicerol y ácido fosfatídico. Los fosfolípidos neutros son fosfatidil-etanolamina, fosfatidil colina, las esfingomielinas y el PAF. Curiosamente, los anticuerpos antifosfolípidos asociados al SAF parecen ser dirigidos sólo contra los fosfolípidos de carga negativa. Es interesante mencionar que en la sífilis se encuentran títulos altos de anticuerpos antifosfolípidos, pero estos están dirigidos indistintamente contra los fosfolípidos de carga negativa o contra los fosfolípidos neutros. Y en la sífilis, a pesar de la presencia de anticuerpos antifosfolípidos, casi nunca se presentan los datos del SAF (1)

#### **Transtornos autoinmunes.**

Puede considerarse que los transtornos autoinmunes forman un espectro continuo. En un extremo del espectro se encuentran las enfermedades autoinmunes específicas de un órgano (como la tiroiditis de Hashimoto), y en el otro extremo, los transtornos autoinmunes sistémicos (como el LES). En estos últimos padecimientos, los anticuerpos y las lesiones observadas no están confinados a un órgano, y en general se observa una gran variedad de auto-anticuerpos, algunos de los cuales reaccionan con DNA y otros constituyentes nucleares. En el centro del espectro se encuentran los transtornos en los cuales las lesiones tienden a localizarse en un único órgano, pero los anticuerpos no son órgano-específicos. Un ejemplo característico lo es la cirrosis biliar primaria, donde el conductillo biliar es el principal "blanco" de la enfermedad, pero los anticuerpos séricos presentes (la mayoría mitocondriales) no son específicos del hígado. se desconoce el por qué los anticuerpos dirigidos contra componentes sistémicos se enfocan en un sólo órgano. El estudio de este mecanismo podría ayudar en el control de las enfermedades autoinmunes.

Existe una tendencia a que aparezca más de un transtorno autoinmune en el mismo individuo, y cuando esto se produce, resulta interesante que la asociación se realiza entre enfermedades de la misma región del espectro de autoinmunidad. Por ejemplo, los pacientes con tiroiditis autoinmune, tienen una incidencia mucho mayor de anemia perniciososa (en donde se presentan anticuerpos contra las células parietales del estómago, dando por resultado una disminución del factor intrínseco, necesario para la absorción de vitamina B<sub>12</sub>) que la esperada en una población al azar comparada por edad y sexo (10% contra 0.2%) Existe una superposición aún mayor en los hallazgos

serológicos: el 30% de los pacientes con enfermedad tiroidea autoinmune tienen anticuerpos contra las células parietales, mientras que se han encontrado anticuerpos antitiroideos hasta en el 50% de los pacientes con anemia perniciosa

En el otro extremo del espectro, se ha encontrado el LES asociado a artritis reumatoide y a otros trastornos infrecuentes como leucopenia idiopática, púrpura trombocitopénica, dermatomiositis y síndrome de Sjögren. Recientemente, se ha mostrado una fuerte asociación entre el LES y el síndrome antifosfolípidos (SAF).

### **Factores genéticos y ambientales en la enfermedad autoinmune.**

Se ha observado que los fenómenos autoinmunes tienden a agregarse en ciertas familias, además de que se produce un mayor índice de concordancia en estos padecimientos entre gemelos idénticos, que entre gemelos no idénticos. Además, existen importantes asociaciones entre varias enfermedades autoinmunes y tipos específicos de HLA, por ejemplo DR3 en la enfermedad de Addison y DR4 en artritis reumatoide. Finalmente, se han creado líneas de animales experimentales que desarrollan en forma espontánea enfermedad autoinmune, por ejemplo, existe una línea de pollos obesos con tiroiditis autoinmune, y el ratón New Zeland Black (NZB) con anemia hemolítica autoinmune. El híbrido de NZB con otra cepa, la New Zeland White, desarrolla células LE, anticuerpos antinucleares y una glomerulonefritis fatal inducida por complejos inmunes. Estos datos sugieren sin duda un componente genético en la etiología de al menos algunos trastornos autoinmunes.

Por otro lado, también hay evidencias de que factores físicos y microbianos pueden desencadenar una respuesta autoinmune. Así, los rayos solares son desencadenantes indiscutidos de las lesiones cutáneas en el LES. La exposición a solventes orgánicos puede iniciar la autoinmunidad de la membrana basal que lleva al síndrome de Goodpasture, según testifica la alta incidencia de esta enfermedad en individuos HLA-DR2 que manejan este tipo de solventes. En este último caso es evidente la interacción de factores genéticos y ambientales. También existen muchos ejemplos de trastornos autoinmunes desencadenados después de una infección bacteriana, sobre todo en individuos con susceptibilidad genética. Después de una faringitis estreptocócica del grupo A se puede presentar fiebre reumática en ciertos individuos; y el virus Coxsackie B1 es capaz de producir miositis autoinmune en ciertas cepas de ratón. También se ha reportado la presencia de artritis reactiva como consecuencia de una infección por Yersinia en individuos con HLA-B27.

### Etiología de las respuestas autoinmunitarias.

¿Por qué en algunos transtornos autoinmunes se ha observado una fuerte asociación entre los antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad (HLA) y el desarrollo de la respuesta autoinmune?. Seguramente se debe a su importante papel en la presentación del antígeno a células especializadas que desencadenan la respuesta autoinmunitaria. Existen dos clases de moléculas HLA, las de clase I (HLA-A, HLA-B y HLA-C) y las de clase II (HLA-D). Las primeras están asociadas a la superficie celular de casi todas las células nucleadas, y al combinarse con el antígeno que van a "presentar" activan a los linfocitos T citotóxicos ( $T_C$ ). Las moléculas HLA de clase II sólo se encuentran en la superficie celular de ciertas células involucradas con la respuesta inmune, por ejemplo la mayoría de los linfocitos B y las células presentadoras de antígeno. Cuando la molécula HLA de clase II se asocia al antígeno, y este complejo es reconocido por los linfocitos T colaboradores ( $T_H$ , por sus siglas en inglés: T helper) se inicia la respuesta inmune, por ejemplo la activación de linfocitos B y la consecuente producción de anticuerpos. Así pues, la presencia de ciertos tipos de moléculas HLA podría facilitar la génesis de la respuesta inmune. En el caso de la presencia de anticuerpos contra fosfolípidos de membrana, existen estudios que han mostrado una asociación entre títulos elevados de estos anticuerpos y la presencia de antígenos HLA DR7, DR4 y Dqw7(1)

¿Cómo puede el sistema inmunitario discriminar entre los antígenos propios y los no propios?. Existen varias posibilidades. Algunas moléculas están "secuestradas" en las células o en los tejidos y nunca entran en contacto con los linfocitos, mientras que otras, aunque accesibles a ellos, no los pueden estimular por que sus concentraciones son demasiado bajas o por que no se asocian a las moléculas del complejo HLA, y como se mencionó esta asociación es indispensable para activar a los linfocitos  $T_C$  y a los  $T_H$ . Esta última respuesta es esencial para desencadenar la producción de anticuerpos. Por otro lado, muchas moléculas propias son accesibles a los linfocitos y pueden asociarse a las moléculas HLA y activar a los linfocitos  $T_H$ , pero durante el desarrollo linfocitario los linfocitos que reconocen estas moléculas propias deben de ser inactivados. Esto se consigue matando (supresión clonal) o reprimiendo (mediante células T supresoras,  $T_S$ ) a los linfocitos B y  $T_C$  apropiados, o bien a los linfocitos  $T_H$  que los activan, o a ambos. Aunque el proceso no se ha dilucidado por completo, es probable que la elección entre matar o reprimir este determinada por la naturaleza, la localización y la concentración de la molécula propia. Es evidente que cuando estos mecanismos fallan se podría presentar un transtorno autoinmune. Pero hay aún mas alternativas. Recientemente se

ha demostrado la presencia de "anticuerpos naturales", los cuales se producen antes del contacto con cualquier antígeno externo, es decir, es evidente que existe un mecanismo que origina anticuerpos en ausencia de la estimulación antigénica convencional que implica la presentación del antígeno. Estos anticuerpos son IgM e incluyen un tipo básico de auto-anticuerpos con baja reactividad que se originan de linfocitos autorreactivos que pueden tener un acceso potencial a sus auto-antígenos respectivos. Dado que el trastorno autoinmune es más la excepción que la regla, el organismo debe poseer mecanismos homeostáticos para evitar que esto suceda. Se piensa que la clave de esto es el control del sistema de linfocitos  $T_H$  autorreactivos que en condiciones normales no presentan capacidad de respuesta. En este punto se considera también a las teorías de supresión clonal o supresión T, o bien, un procesamiento inadecuado del auto-antígeno. Otra posibilidad es evitar los mecanismos de control por linfocitos  $T_H$ . Las posibilidades incluyen la creación de nuevos determinantes antigénicos sobre el auto-antígeno, lo cual puede ser posible por modificaciones en la síntesis de la proteína que actúa como auto-antígeno, o bien por el procesamiento de dicha proteína. También se pueden evitar los mecanismos de control por interacciones de red de idiotipos o por reacciones cruzadas con otros idiotipos. Por último, los linfocitos B (productores de auto-anticuerpos) pueden ser estimulados directamente por activadores policlonales tales como el virus EB o lipopolisacáridos. Se ha sugerido que la sola pérdida de los mecanismos de control de linfocitos  $T_H$  es insuficiente para iniciar la autoinmunidad y que se requiere además otro defecto en la regulación. Este puede ser una incapacidad para inducir a los linfocitos  $T_S$ . Otras posibilidades son: 1) la estimulación de las células contrasupresoras, y 2) la des-represión de genes de clase II que da origen a una expresión inadecuada del complejo mayor de histocompatibilidad de clase II que "rompe el silencio" entre el autoantígeno tisular y el inductor autorreactivo. Finalmente, queda la posibilidad de "respuesta cruzada", es decir que anticuerpos generados contra determinantes antigénicos de antígenos extraños, reaccionen contra determinantes similares presentes en las moléculas propias. Aunque se ha avanzado mucho en el estudio de los mecanismos fisiopatológicos de la respuesta autoinmune, aún quedan muchas interrogantes por responder.

## ANTICUERPOS ANTIFOSFOLIPIDOS.

### Desarrollo Histórico.

Los anticuerpos antifosfolípidos (AaFL) son anticuerpos dirigidos contra los fosfolípidos carga de negativa. Este grupo de anticuerpos es heterogéneo y a la fecha se han identificado al menos tres tipos de AaFL, los cuales son detectados por tres diferentes métodos. Sin embargo, también parece haber una sobreposición: algunos AaFL pueden ser detectados por más de un método.

Aunque desde 1906 se identificó por primera vez un tipo de AaFL, no fue sino hasta 1983 que se integró un síndrome clínico bien definido asociado sin lugar a dudas con la presencia de estos anticuerpos. En 1906 Wasserman ideó la reacción hoy conocida como VDRL para la detección de la sífilis. Esta prueba emplea cardiopina como material antigénico para detectar los anticuerpos séricos contra el treponema (2). Era pues evidente que los anticuerpos anti-treponema reaccionaban en forma cruzada o eran anticuerpos contra el fosfolípido cardiopina, el cual abunda en la membrana mitocondrial. Posteriormente se encontraría que una falsa positividad crónica para sífilis (VDRL falso positivo), se asociaba con un subconjunto de pacientes con enfermedades autoinmunes, particularmente LES, los cuales tenían una mayor frecuencia de trombosis, uno de los datos principales del SAF.

En 1952 se hizo la descripción del "Anticoagulante lúpico", (AL) una entidad en la que se presentan factores anticoagulantes circulantes en pacientes con LES. Estos factores son detectados por un aumento del tiempo tromboplastina parcial (TTP), que no corrige al agregar plasma normal (en este caso la prueba se llama TTP activado o TTPa). Posteriormente se mostró que esta anomalía era debida a anticuerpos del tipo IgM que se unían a fosfolípidos aniónicos (3). Se describió que el alargamiento del TTP se presentaba en aproximadamente el 10 % de pacientes con LES, aunque sorprendentemente, la presencia del AL se asociaba con trombosis y no con sangrado (4).

A causa de la asociación entre el LES, un VDRL falso positivo y la presencia de AL, Harris y colaboradores idearon en 1983 un nuevo método para detectar AaFL. La prueba mencionada fue un ensayo de fase sólida (ELISA) para detectar anticuerpos anti-cardiopina (AaCL) (5). Para entonces Hughes demostró definitivamente la asociación clínica entre trombosis y la presencia de tales AaFL, además, demostró que estos anticuerpos se asociaban a otros datos clínicos que hoy constituyen junto con la trombosis, los datos del Síndrome Antifosfolípidos (SAF). Estos datos son, entre otros,

trombocitopenia, abortos de repetición y una lesión cutánea típica denominada *livedo reticularis* (6). Aunque Hughes estudió este síndrome (el SAF) en pacientes con LES, reconoció que la mayoría de los pacientes tenían un LES atípico, o no tenían lupus, a partir de lo cual acuñó el término de SAF primario. A partir de la década de los noventa, se observó que para que los AaFL se pudieran unir a los fosfolípidos, hacía falta una proteína, la  $\beta_2$  glicoproteína I, y tal vez otras proteínas de este tipo. Las vinculaciones complejas, y posiblemente indirectas, entre los AaFL y la trombosis (el principal dato del SAF), han conducido a la sugerencia de que el nombre del síndrome sea cambiado al de Síndrome de Hughes (7).

### ¿Cómo se detectan los anticuerpos antifosfolípidos?

Las técnicas de detección de AaFL han progresado mucho y generalmente se acepta que el método de elección (el más sensible) es el de fase sólida, es decir, el ensayo de enzima ligada a inmunoabsorbente (ELISA) desarrollado por Harris y colaboradores en 1983. Este método emplea cardiolipina como matriz y resulta sumamente sensible para detectar cualquier tipo de inmunoglobulina contra este fosfolípido aniónico. En el pasado sólo se detectaban los idiotipos IgG e IgA, sin embargo, el conocimiento de que los idiotipos IgM (especialmente los AaFL inducidos por droga) se asocian también a trombosis, trajo como consecuencia que en la actualidad, en la mayoría de los laboratorios se determinen los tres idiotipos, aunque regularmente ya sólo se hacen las determinaciones para IgG e IgM. Esta técnica también se ha empleado para detectar no sólo AaCL, sino también cualquier otro tipo de AaPL, inclusive los anticuerpos contra los fosfolípidos neutros tales como fosfatidilcolina, esfingomielina, el PAF, etc. Por lo anterior esta técnica resulta de las más poderosas. Debe recalcar que rutinariamente, en el diagnóstico del SAF, la técnica empleada detecta los AaCL de los isotipos IgG e IgM.

Puesto que en el Lupus anticoagulante existe una anomalía en las reacciones de coagulación dependientes de fosfolípidos, tradicionalmente se ha usado el TTP como un parámetro para detectar la presencia de los anticuerpos AL, ya que al parecer estos AaFL son diferentes a los AaCL detectados por ELISA. Sin embargo, la prueba más sensible para detectar los anticuerpos AL es el tiempo de veneno diluido de víbora Russell (dRVVT) (8;9). Otra prueba sensible para detectar anticuerpos AL, es el tiempo de coagulación de kaolina (KCT). Estos sistemas detectan anticuerpos AL de ambos tipos: IgG o IgM (3).

Finalmente, otro método que se ha utilizado para detectar AaFL, es la prueba de VDRL, la cual usa como material antigénico una mezcla de fosfolípidos: cardiolipina y fosfatidilcolina, usando colesterol como ligando (10). Fue interesante la observación de que muchos pacientes con LES o con otras enfermedades del tejido conectivo presentaban una falsa positividad crónica para la sífilis, aunque también existe un buen número de pacientes VDRL negativos. Por el contrario, en la mayoría de los pacientes VDRL positivos con sífilis no se han podido detectar anticuerpos AL por el método de dRVVT ni AaCL por el método de ELISA, sugiriendo que los anticuerpos detectados en la sífilis por VDRL son diferentes a los detectados en el LES por el mismo método. Empleando la reacción de VDRL (cardiolipina como material antigénico), se ha hipotetizado que su incorporación al reactivo de VDRL altera su conformación estructural de tal manera que los AaPL de los pacientes con sífilis se enlazan con gran avidez a la cardiolipina modificada, mientras que los AaPL (de hecho AaCL) presentes en los pacientes con LES lo hacen con mucho menor avidez.

#### **¿Existen realmente varios tipos de anticuerpos Antifosfolípidos?**

El hecho de que muchos pacientes con SAF (en los cuales se detectan AaCL por el método del TPTa y del dRVVT o por el de ELISA) fueran VDRL positivos, pero que en la mayoría de los pacientes VDRL positivos con sífilis no se pueden detectar AaCL, hizo pensar que se trata de diferentes AaPL.

Se ha demostrado que los anticuerpos de los pacientes con sífilis se unen a muy diversas clases de fosfolípidos, reconociendo tal vez determinantes antigénicos comunes a todos. Por el contrario, los anticuerpos de pacientes con LES se unen específicamente a fosfolípidos aniónicos tales como cardiolipina, reconociendo quizás un determinante antigénico propio de estos fosfolípidos (Mackworth, 1995). De lo anterior se concluye que pacientes con sífilis y pacientes con LES expresan diferentes poblaciones de AaPL.

También se ha demostrado que la actividad AL se correlaciona débilmente con los niveles de anticuerpos IgG contra fosfolípidos aniónicos en los pacientes autoinmunes. Clínicamente se ha observado que sólo una proporción de pacientes con SAF son positivos para AL y para AaCL determinados por ELISA (1). Con base en lo anterior, en la actualidad se acepta que los AaCL detectados por ELISA y los anticuerpos AL son poblaciones diferentes. Esto se ha corroborado por los hallazgos clínicos, ya que se han descrito al menos dos variantes del SAF. Debido al hecho de que la presencia de estos anticuerpos (LA y AaCL) se asocian fuertemente con trombosis arterial y/o venosa, algunos autores han llamado al SAF síndrome antifosfolípidos-trombosis (SAF-T) (9). Sin

embargo, se han identificado al menos dos variantes de la enfermedad, las cuales están asociadas a los tipos de AaFL anteriores. Estas dos variantes son el AL-SAF-T y el aCL-SAF-T. Aunque los dos son similares, hay diferencias clínicas, bioquímicas y de laboratorio, especialmente en prevalencia, etiología y presentación clínica. El aCL-SAF es mucho más común que el AL-SAF, teniendo una relación de 5-6:1(9). El aCL-SAF esta comunmente asociado a ambos tipos de trombosis, y puede presentarse incluso la trombosis coronaria o cerebral. El AL-SAF se asocia más comunmente sólo a trombosis venosa. Por otro lado, se ha mostrado que la mayoría con SAF primario tienen un sólo tipo de anticuerpos, ya sea el AL o los AaCL. Por el contrario, la mayoría de las personas con SAF secundario presentan ambos tipos de anticuerpos. Finalmente, los AaCL purificados no tienen actividad anticoagulante *in vitro* tal y como se demuestra por la prueba de TTPa o por otras pruebas similares como KCT o el dRVVT.

Finalmente, diversos estudios de especificidad de los diferentes AaFL han demostrado que algunos de ellos pueden tener reactividad cruzada con ligandos diferentes a fosfolípidos, en particular con polinucleótidos con enlaces fosfodiéster, tales como el DNA. Varios estudios han fallado para demostrar una correlación entre los niveles de AaCL y los niveles de anticuerpos anti-DNA, sugiriendo que son dos poblaciones separadas de anticuerpos, pero que ambas poblaciones pueden compartir determinates idiotípicos en algunas ocasiones (1). En resumen se puede señalar que existen varias poblaciones de anticuerpos que pueden reaccionar contra los fosfolípidos de membrana, que estas poblaciones pueden ser detectadas por diferentes métodos, y que existe una superposición en la detección de estos anticuerpos tal y como se muestra en la figura 1.

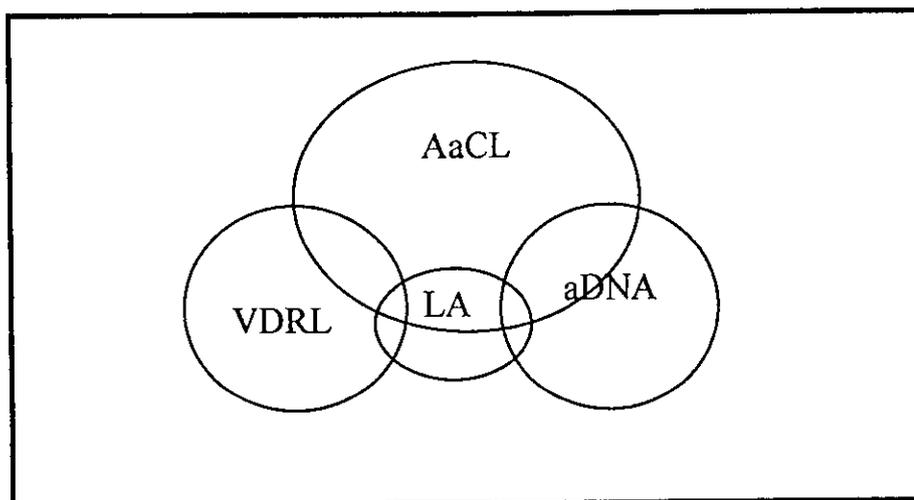


Fig. 1. Diagrama de Venn que ilustra la relación propuesta entre los aAFL detectados por ELISA (AaCL), VDRL o por pruebas de coagulación (LA). También se muestra la relación con los anticuerpos anti-DNA. El tamaño de los círculos y el grado de sobreposición no intentan ser precisos. (Tomado de Mackworth, 1995.)

#### Origen de los Anticuerpos Antifosfolípidos.

Una pregunta interesante en el estudio del SAF es: ¿Cómo pueden originarse anticuerpos contra moléculas que están tan distribuidas en todos los seres vivos?. Se ha sugerido que al menos en pacientes con LES, tanto los anticuerpos anti-DNA y los AaPL puedan ser expresados originalmente en respuesta a uno o más antígenos extraños, posiblemente bacterianos, relacionados con estas moléculas. Esta hipótesis se originó con el estudio de la enfermedad de Lyme, un desorden multisistémico que puede tener un curso sub-agudo o crónico y que afecta diferentes órganos. Es causado por una espiroqueta (*Borrelia burgdorferi*), la cual es transmitida por una pulga. La enfermedad comienza con un rash característico (eritema migrans) y semanas o meses después, el 15% de los pacientes desarrollan anomalías neurológicas, principalmente neuropatías craneales y periféricas y meningoencefalitis. Semanas o

años después, los pacientes pueden desarrollar artritis. Aunque serológicamente ha sido demostrada una reactividad cruzada entre *Borrelia burgdorferi* y *Treponema pallidum*, el VDRL es casi siempre negativo en pacientes con la enfermedad de Lyme (5). Sin embargo, como se ha visto, este método no es tan sensible para detectar AaCL como lo es el de ELISA. Dos buenas razones para determinar sin los pacientes con enfermedad de Lyme poseen AaCL fueron: la etiología del padecimiento (por una espiroqueta como en la sífilis) y la asociación observada en el SAF entre los niveles de AaPL y las anomalías neurológicas. Los estudios de fase sólida realizados sugieren que *B. Burgdorferi* puede inducir la producción de AaCL y que estos no forman parte de la población de anticuerpos anti-espiroqueta. Puede ser que los AaCL se originen de antígeno bacteriano interno oculto o alterado (1).

Por otro lado, existen evidencias de susceptibilidad genética para la expresión de AaFL. Varios estudios han confirmado una elevada expresión de AaCL entre familiares de pacientes con LES. Aunque estos sujetos mostraron altos títulos de anticuerpos ninguno presentó los datos clínicos del SAF. Esto tal vez es explicado por el pequeño número de la muestra, pero quizás con un número mayor de familiares AaCL positivos, se pudiera demostrar pacientes con SAF entre los familiares de pacientes con LES. Otra posibilidad es que los anticuerpos detectados en los familiares difieran de alguna manera de los AaCL asociados con patología (1). Estos estudios sugieren una influencia genética en la expresión de los AaPL, lo cual es consistente con estudios que muestran una asociación entre la expresión de estos anticuerpos en pacientes con LES, y la presencia de HLA-DR3, -DR4, DR7 y DQw7(6), así como una asociación entre AaPL y la carencia de alelos C4A o C4B (11).

El papel de factores ambientales es menos claro, los únicos candidatos incluyen microorganismos tales como *B. Burgdorferi*. Por otro lado también se ha asociado la expresión de AaPL con ingesta de ciertos medicamentos como clorpromazina, hidralacina, procainamida, quinidina, fenitoina, entre otros. Hasta el momento no se tienen hipótesis de como estos medicamentos pudieran influir en la expresión de los AaPL.

#### **Los datos clínicos del Síndrome Anti-Fosfolípidos y la patogenicidad de los Anticuerpos antifosfolípidos.**

Además de la triada clásica del SAF (trombosis, trombocitopenia y abortos de repetición) se han identificado otros datos clínicos asociados a la presencia de los AaFL

como son: *livedo reticularis*, daño neurológico y renal, prueba de Coombs directa positiva, epilepsia y migraña, entre otros (13). Pero no siempre la presencia de AaFL se asocia a los datos clínicos del SAF: existen personas (con mayor frecuencia entre los familiares de los pacientes con SAF o con LES) que poseen dichos anticuerpos sin ningún dato clínico. De la misma manera, la presencia de estos anticuerpos (como se confirma por la positividad de la prueba de VDRL, la cual usa cardiolipina como antígeno) en pacientes con sífilis, nunca se asocia a los datos del SAF. Por otra parte, aunque los pacientes con LES que poseen alguno de los tres tipos de AaFL (LA, AaCL o los detectados por VDRL), presentan con frecuencia datos del SAF, no todos lo hacen. En este sentido se ha encontrado, en pacientes con LES, una mayor asociación entre AaCL detectados por ELISA y los datos del SAF.

¿Por qué los AaPL que se presentan en enfermedades infecciosas como la enfermedad de Lyme o en la sífilis no se asocian usualmente con trombosis, trombocitopenia o algún otro dato del SAF, mientras los que se presentan en el LES usualmente sí lo hacen?. Una explicación es que los AaPL que se expresan en estas condiciones son poblaciones diferentes de anticuerpos. De hecho, como se mencionó anteriormente los AaPL detectados en el LES son anticuerpos que se unen sólo a fosfolípidos aniónicos, mientras los que se detectan en la sífilis son anticuerpos que reaccionan contra fosfolípidos aniónicos y neutros. Al parecer, como se desprende de las manifestaciones clínicas, sólo los primeros son patogénicos. Por tal motivo se ha conceptualizado al SAF como una entidad clínica que se asocia a la presencia de autoanticuerpos contra fosfolípidos de carga negativa, por ejemplo cardiolipina. Podemos concluir que existen diferentes tipos de AaPL y que sólo algunos tienen actividad patogénica. Esta patogenicidad parece residir en la habilidad del anticuerpo para alterar los mecanismos de coagulación.

Aunque se ha mostrado que algunos de los AaCL purificados no alteran "in vitro" las pruebas de coagulación dependientes de fosfolípidos (por ejemplo aTTP), se ha sugerido que estos anticuerpos sí pueden causar alteraciones de la coagulación en el individuo, ya que la actividad *in vivo* de estos anticuerpos dependería de la presencia en el individuo del cofactor  $\beta$ -2-glicoproteína I ( $\beta$ 2GPI) (14). Recientemente se ha sugerido que pueden existir al menos dos variedades de AaCL. De esta manera se ha visto que los AaCL purificados de pacientes con infecciones no son dependientes de la  $\beta$ 2GPI, mientras que los AaCL purificados de pacientes con enfermedades autoinmunes sí lo son (12). Esto puede ser de importancia clínica ya que se ha encontrado que algunas manifestaciones clínicas del SAF (principalmente trombosis) se correlacionan mejor con

las concentraciones de AaCL dependientes del cofactor  $\beta$ 2GPI, que con las concentraciones totales de AaCL (15).

#### **Mecanismos patológicos de los Anticuerpos Antifosfolípidos.**

¿Cuál es el mecanismo de patogenicidad de los AaPL que tienen la propiedad de originar los datos del SAF?. ¿Por qué a pesar de las propiedades anticoagulantes del AL y de algunos AaCL se presenta trombosis arterial y venosa en los pacientes con SAF?

Las evidencias más tempranas indican que los anticuerpos con actividad de AL pueden afectar indirectamente la producción de prostaciclina, posiblemente por su enlace a los fosfolípidos de membrana que son precursores, vía del ácido araquidónico, de estos autacoídes.

En suma, los mecanismos de acción propuestos para que los AaFL interfieran con la hemostasis y causen trombosis es: 1) interferencia con la liberación endotelial de prostaciclina; 2) interferencia con la activación de la proteína C; 3) interacción con los fosfolípidos de la membrana plaquetaria lo cual conduce a su activación, 4) interferencia con la activación de kaliceína, 5) interferencia con la liberación del activador del plasminógeno endotelial (9; 14).

Con mucho, la mayoría de los estudios que han analizado la relación entre AaFL y SAF se han realizado en pacientes adultos con LES, ya que la mayor parte (50%) de individuos que cursan con AaFL elevados, tienen LES(16). Por el contrario, se ha reportado también que de todos los pacientes adultos con LES, del 20 al 40% de ellos cursan con algún tipo de AaFL (17; 18). Varios estudios han demostrado que en el LES, la presencia de AaFL son un factor de riesgo para la presentación de SAF, en particular para el desarrollo de trombosis (19). Sin embargo, se ha mostrado en algunos estudios de pacientes con LES, que la presencia de AaCL se asocia a un aTTP prolongado, a trombocitopenia y a una prueba de Coombs directa positiva, pero no se asocia a otros datos clínicos importantes del SAF (trombosis y abortos de repetición) (20). La explicación de esto podría ser la existencia mencionada de los dos tipos diferentes de AaCL, y que en los pacientes con LES observados en estos estudios, se presenten mayormente AaCL que no dependen del cofactor  $\beta$ 2GPI.

En contraste a la gran cantidad de estudios en adultos con LES, hay pocos datos de la frecuencia y del significado clínico de los AaFL en el LES pediátrico (21;22). No obstante, se ha reportado que las manifestaciones clínicas relacionadas con la presencia de AaFL en pacientes menores de 16 años no difieren substancialmente de las observadas en pacientes adultos (24). Sin embargo, se ha encontrado que un 87% de

niños con LES tienen un nivel alto de AaCL (21), lo cual constituye un porcentaje mayor que el del adulto. También se ha señalado, que a diferencia de lo que muestran algunos estudios en adultos, en niños sí existe una correlación entre los niveles de AaCL y los eventos trombóticos, en cambio esta correlación no existe entre los AaCL y la trombocitopenia (25;26).

Existen aún menos reportes sobre SAF primario pediátrico o sobre la presencia de AaFL en padecimientos distintos al LES pediátrico, por lo que el significado clínico de la presencia de dichos anticuerpos en esos padecimientos es más dudoso.

En este estudio examinaremos la asociación entre AaCL y los datos clínicos y de laboratorio de SAF en niños que ingresaron al departamento de inmunología del INP con diagnóstico de LES o de otros padecimientos autoinmunes o bien con SAF primario.

## 2. JUSTIFICACIÓN

Se ha reportado una alta frecuencia de anticuerpos antifosfolípidos en niños con lupus eritematoso sistémico (22). Aunque existen pocos estudios sobre el punto anterior, se ha sugerido la existencia de diferencias, en relación con los adultos, en la asociación de estos anticuerpos con los datos clínicos y de laboratorio del síndrome antifosfolípidos (24,25). Existen todavía menos estudios sobre el significado clínico de la presencia de dichos anticuerpos, en padecimientos diferentes al lupus eritematoso sistémico pediátrico. Una fuerte correlación entre lupus anticoagulante y trombosis en niños podría ser sugerencia de una intervención terapéutica preventiva, sin embargo, mientras no se encuentre un marcador con alto valor predictivo no puede justificarse la terapia anticoagulante ya que existe un riesgo hemorrágico durante ésta.

Debido a que se han reportado diferentes tipos de anticuerpos anticardiolipinas en padecimientos diferentes al lupus, y a que el riesgo de trombosis puede depender del tipo de anticuerpos (12), se justifica plenamente realizar este trabajo, en donde se intentará correlacionar la presencia de anticuerpos anticardiolipinas con los datos clínicos y de laboratorio que presenten pacientes pediátricos con LES y con padecimientos diferentes al LES. Al mismo tiempo se intentará encontrar algún marcador predictivo fiable para el desarrollo de trombosis.

### 3. OBJETIVOS

1. Conocer la presentación clínica y características de laboratorio y gabinete de los pacientes con Síndrome antifosfolípidos vistos en el servicio de inmunología del INP.

2. Conocer en qué enfermedades se encuentran elevados los anticuerpos anticardiolipinas.

3. Determinar si existe correlación, entre títulos de anticardiolipina con alguna de las variables clínicas o de laboratorio que caracterizan al síndrome antifosfolípido.

### 4. HIPÓTESIS

En niños, a diferencia de la población adulta, la presencia de anticuerpos anticardiolipina se asocia a anemia hemolítica y/o trombocitopenia con mayor frecuencia que a trombosis arterial o venosa.

### 3. OBJETIVOS

1. Conocer la presentación clínica y características de laboratorio y gabinete de los pacientes con Síndrome antifosfolípidos vistos en el servicio de inmunología del INP.
2. Conocer en qué enfermedades se encuentran elevados los anticuerpos anticardiolipinas.
3. Determinar si existe correlación, entre títulos de anticardiolipina con alguna de las variables clínicas o de laboratorio que caracterizan al síndrome antifosfolípido.

### 4. HIPÓTESIS

En niños, a diferencia de la población adulta, la presencia de anticuerpos anticardiolipina se asocia a anemia hemolítica y/o trombocitopenia con mayor frecuencia que a trombosis arterial o venosa.

## 5. CLASIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

El estudio realizado fue:

- 1) Retrospectivo, ya que toda la información será obtenida de la revisión de expedientes clínicos.
- 2) Transversal, ya que las variables se medirán una sola vez sin pretender analizar la evolución de éstas.
- 3) Descriptivo por que se tratará de describir la asociación entre varias variables de una misma población.
- 4) Observacional, ya que sólo se describirá y medirá el fenómeno sin intervenir en el proceso.

## 6. MATERIAL Y MÉTODO

### A) CRITERIOS DE INCLUSIÓN.

1.- Todos los pacientes atendidos en el servicio de inmunología con determinación de anticuerpos anticardiolipina por el método de ELISA en el periodo 1989-1996.

2. - Pacientes a los cuales se les realizó, en el período marcado anteriormente, determinaciones de anticardiolipinas, IgG e IgM en el laboratorio del hospital con resultado mayor de 23 GPL o mayor de 11 MPL respectivamente.

### B) CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.

1.- Pacientes con más de un mes de tratamiento esteroideo o inmunosupresor que puede negativizar los anticuerpos anticardiolipina.

### C) MATERIAL.

1. Registro del laboratorio del cual se obtuvieron los números de los expedientes de los pacientes, a los cuales se les determinó por ELISA, en el periodo señalado, anticuerpos anticardiolipinas.

2. Expedientes seleccionados del archivo general del Instituto Nacional de Pediatría.

3. Equipo de cómputo y software computacional estadístico (SAS) y de base de datos (Excel de Microsoft).

#### D) MÉTODO.

1. Se revisó el registro del laboratorio para obtener los números de los expedientes de todos los pacientes a los que les fueron realizadas determinaciones de anticardiolipinas en el período señalado.

2. Se revisaron dichos expedientes y se extrajeron de ellos todos los datos que se señalan en la hoja de recolección de datos.

3. Según estos datos se hizo el diagnóstico de síndrome antifosfolípidos de acuerdo al criterio propuesto por Alarcón-Segovia y cols. El criterio empleado fue: Al menos uno de los datos principales asociados al Síndrome antifosfolípidos (trombosis arterial y/o venosa, anemia hemolítica con coombs directo positivo, trombocitopenia, mielitis transversa o *livedo reticularis*) y positividad (tal y como se definió en los criterios de inclusión) para anticardiolipinas IgG o IGM detectadas por ELISA (27).

4. Los datos de las hojas de recolección de datos de los pacientes que cumplieron con todos los criterios, fueron "vacíados" y clasificados en un programa de base de datos (Excel de Microsoft).

5. Se realizó el análisis estadístico que se señala más adelante utilizando el programa SAS (SAS institute, 1992) y Epi-Info.

#### Determinación de los anticuerpos IgG e IgM anticardiolipinas.

La determinación de los isotipos IgG e IgM de las anticardiolipinas se realizó en el laboratorio del INP utilizando el método de ELISA. Se usaron los "kits" reactivos adquiridos de ImmunoWELL los cuales usan difosfatidil glicerol (cardiolipina) de corazón de bovino como antígeno para la prueba.

El principio de detección es el siguiente: el suero se añade a las placas cubiertas con el antígeno de bovino y se le permite reaccionar. Después de "lavar" los AaCL que no se unieron al antígeno, se permite reaccionar contra los anticuerpos séricos unidos a anticuerpos anti-humanos conjugados con peroxidasa de rábano. La peroxidasa reacciona con el 2,2',azino-di-(etilbenzotiazolina sulfonato) (ABTS®), el cual constituye el substrato cromatogénico. Finalmente se lee el color de la reacción (la densidad óptica) espectrofotométricamente.

Los niveles de IgG o IgM son reportados como unidades GPL o MPL respectivamente. Una unidad GPL o MPL se define como la actividad de enlace a

cardiolipina de IgG o IgM AaCL purificada en concentración de 1 µg/ml obtenida de una preparación de suero estándar.

#### E) VARIABLES DEL ESTUDIO.

Variable Independientes:

- 1) Títulos de anticardiolipinas, IgG e IgM, medidos por el método de ELISA y cuantificadas en unidades GPL o MPL (20).
- 2) En comparaciones alternativas: VDRL positivo.

Variables Dependientes:

- 1) Prueba de Coombs directa positiva
- 2) Anemia hemolítica
- 3) Trombosis
- 4) Trombocitopenia
- 5) Otros datos del SAF (livedo reticularis, mielitis transversa, migraña, etc.)

Otras Variables:

- 1) Anticuerpos anti nucleares y anti-DNA.
- 2) Niveles de complemento
- 3) Niveles séricos de inmunoglobulinas
- 4) Valoración electroencefalográfica
- 5) Valoración oftalmológica
- 6) Valoración electrocardiográfica
- 7) Pruebas de función respiratoria
- 8) Funcionamiento hepático y renal
- 9) Tiempo de tromboplastina parcial (TTP)
- 10) Tiempo de protrombina

Definición de variables.

Síndrome antifosfolípidos (SAF).- Valores séricos de anticardiolipinas IgG o IgM mayores de 23 GPL o 11 MPL respectivamente y uno o más de los siguientes datos: a) trombosis arterial o venosa, b) trombocitopenia, c) Livedo reticularis, d) mielitis transversa, e) Anemia hemolítica con Coombs positivo.

Trombocitopenia.- Cuenta plaquetaria menor de 150,000 células/ml.

Anemia hemolítica.- Anemia (definida como hemoglobina menor de 10 g/dl) coexistiendo con positividad para la prueba directa de Coombs y reticulocitos corregidos  $>2$ .

TTP alargado.- más de 40 segundos.

TP. menor de 80% sobre el TP del suero control.

#### **F) ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Se realizó un análisis de regresión logístico para investigar la asociación entre anticuerpos anticardiolipinas y las variables clínicas y de laboratorio.

En un análisis univariado exploratorio se intentó identificar una posible asociación entre los niveles de anticardiolipinas y las variables mencionadas. Para esto estimaron los ratios de disparidad (odds ratios=ORs) ligando la presencia de anticardiolipinas en cualquier momento del estudio con la presencia de datos clínicos y de laboratorio propios del síndrome de antifosfolípidos. Los niveles de significancia fueron calculados en base a la hipótesis de que el logaritmo del OR es cero. Las asociaciones identificadas fueron entonces investigadas por un análisis de regresión logística multivariada a través de un procedimiento de pasos en donde entraron, uno por uno, los factores de más alta significancia.

Se realizaron también comparaciones entre grupos (niveles bajos y altos de anticardiolipinas) y las frecuencias de los eventos en cada grupo se compararon con la prueba de Chi cuadrada.

Para realizar lo anterior se usó el programa computacional SAS (SAS institute, 1992) o el Epi-Info.

## 6. RESULTADOS

Se analizaron un total de 80 expedientes de pacientes con positividad reportada por el laboratorio para anticuerpos anticardiolipinas polivalentes. De estos 80 expedientes, 54 se encontraron completos y de estos, 43 pacientes se consideraron con títulos de AaCL (IgG o IgM) francamente positivos. Los otros 11 pacientes se consideraron con títulos bajos de AaCL. De los 43 pacientes con AaCL francamente positivos, 9 fueron masculinos y 34 femeninos. La edad promedio fue de 11 años (rango de 1 a 17 años). De estos pacientes, 27 tuvieron diagnóstico de LES, 3 de esclerodermia, 4 de poliarteritis nodosa y 3 de artritis reumatoide juvenil (ARJ) entre otros diagnósticos (tabla 1). De los 43 pacientes, 20 (46.5%) cumplieron con los criterios clínicos para SAF señalados por Alarcón Segovia y cols. Todos los 20 pacientes con SAF fueron del sexo femenino. No se encontraron casos de SAF primario. El porcentaje de casos de SAF y los datos mayores del síndrome para cada uno de los diagnósticos se muestra en la tabla 1.

No. de pacientes	TOTAL	CON SAF	TROMBOCITOP.	TROMBOSIS	MIELITIS TRANS.
LES	27	16	12	3	1
ESCLERODERMIA	3	1	1	0	0
POLIARTERITIS NODOSA	4	0	0	0	0
ARJ	3	1	0	1	0
DERMATOMIOSITIS	1	0	0	0	0
PURPURA TROMBOCITOPENICA IDIOPATICA	1	1	1	0	0
OTROS	4	1	1 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	0
<b>TOTAL</b>	<b>43</b>	<b>20</b>	<b>15</b>	<b>5</b>	<b>1</b>

Tabla 1. Distribución, según el diagnóstico clínico, de los 43 pacientes francamente positivos para AaCL determinados por ELISA. Se muestra también el número de pacientes, en cada padecimiento, que presentaron alguno de los datos mayores del SAF: trombocitopenia, trombosis, livedo reticularis o mielitis transversa. <sup>a</sup> este paciente presentó tanto trombocitopenia como trombosis venosa

De la tabla se deduce que el dato más frecuente que se presentó en estos 43 pacientes (cuyos valores de AaCL fueron mayores de 23 para IgM o mayores de 11 para IgG) fue trombocitopenia (34.9%) y que la trombosis sólo tuvo una frecuencia del 11.6%. En la tabla 2 y gráfica 1 se presentan los datos clínicos y de laboratorio que se presentaron en estos 43 pacientes y que comúnmente se han asociado con SAF. Un

VDRL falso positivo se encontró en el 19.4 %, una prueba de Coombs directa positiva se presentó en un 45.2%, migraña en un 18.6%, convulsiones en un 4.7% y alteraciones neuropsiquiátricas (diferentes a psicosis) en un 11.6% de los casos. En un 55% de los casos se encontraron alteraciones electroencefalográficas, sin embargo estas fueron inespecíficas.

Signos y síntomas	No. de casos	Porcentaje
Trombocitopenia	15/43	34.9%
Trombosis Arterial	4/43 <sup>a</sup>	9.3%
Trombosis venosa	2/43 <sup>a</sup>	4.7%
Alteraciones neuropsiquiat.	5/43	11.6%
Mielitis transversa	1/43	2.3%
Migraña	14/43	18.6%
Neuritis Optica	0/43	0%
VDRL falso positivo	6/31	19.4%
Coombs directo positivo	19/42	45.2%
Anemia Hemolítica	16/42	38.1%

Tabla 2. Frecuencia de los principales datos que se han observado en el SAF, en los 43 pacientes francamente positivos para uno de los dos isotipos de AaCL (IgG>23 o IgM>11).<sup>a</sup> un paciente presento tanto trombosis arterial, como trombosis venosa.

Al realizar un análisis de regresión en los 43 pacientes, no se encontró una correlación significativa entre los títulos de los dos isotipos de AaCL (IgG e IgM), es decir los dos isotipos son independientes el uno del otro. Los títulos de IgG e IgM de AaCL también fueron independientes de los niveles totales de IgG e IgM respectivamente. Tampoco se observó una correlación entre los títulos de AaCL (ya sea IgG o IgM) y la presencia y/o gravedad de alguno de los signos y síntomas señalados en la tabla 2. Inclusive algunos de los pacientes con títulos muy bajos de AaCL (y que por tanto fueron excluidos del diagnóstico de SAF de acuerdo a los criterios de inclusión) presentaron algunos de los datos señalados en la tabla 2. Estos fueron: Coombs directo positivo: 3/10, trombocitopenia : 2/10, anemia hemolítica: 2/10, migraña: 2/10, alteraciones neuropsiquiátricas 2/10, trombosis: 1/10 y convulsiones 1/10. No se encontró en estos pacientes positividad para VDRL (0/8). En general se observó que los títulos de anticuerpos no fueron predictivos para el desarrollo de SAF. Aunque el promedio de los títulos de AaCL tipo IgG fue mayor para los pacientes con SAF, esta diferencia no fue significativa en relación con los pacientes que no desarrollaron alguno de los datos mayores del síndrome (33.4 vs. 28.8).

Aunque la positividad para VDRL no se correlacionó con los valores de AaCL, y una comparación de Chi- cuadrada no mostró diferencias significativas entre la frecuencia de VDRL falso positivo entre pacientes con títulos muy bajos de anticuerpos ( $IgM \leq 23$  e  $IgG \leq 11$ ) y pacientes con títulos francamente positivos para algunas de los dos isotipos de AaCL ( $IgM > 23$  o  $IgG > 11$ ), sin embargo, entre estos últimos pacientes, el VDRL falso positivo fue un predictor confiable del desarrollo de SAF (cuadro 1). Por otra parte, ni los títulos de AaCL, ni la positividad para VDRL, fueron predictivos del desarrollo de episodios trombóticos.

	sin SAF	con SAF	Total
VDRL positivo	0	6	6
VDRL negativo	18	7	25
Total	18	13	31

Cuadro 1. Distribución en una tabla de Chi cuadrada de  $2 \times 2$ , de 31 pacientes (de los 43 con títulos francamente positivos de AaCL) en quienes se realizó la prueba de VDRL. La frecuencia de VDRL positivo fue significativamente mayor en el grupo de pacientes con SAF (según los criterios definidos en material y métodos) .  $p < 0.01$ .

El Coombs positivo no fue predictivo ni para el desarrollo de trombosis ni para el desarrollo de SAF. Pero cuando se realizó la prueba de Chi cuadrada para cada uno de los dos isotipos de AaCL, en el caso de los AaCL IgG, la frecuencia de Coombs positivo entre los pacientes con títulos bajos ( $<23$ ) fue significativamente menor que en los pacientes con títulos altos ( $>23$ ). Lo anterior fue válido también para la frecuencia de anemia hemolítica entre pacientes con títulos bajos y altos de IgG aCL ( $p < 0.05$  en ambos casos).

En la tabla 3 se señala el número de casos de trombosis y trombocitopenia en relación con los títulos de AaCL y con la positividad para VDRL. No hubo diferencias significativas en la frecuencia de trombosis o trombocitopenia cuando se compararon los grupos con altos títulos o bajos títulos de AaCL (ni para IgG ni para IgM).

	AaCL IgG		AaCL IgM	
	< 23 GPL	> 23 GPL	<11 GPL	> 1 GPL
CON TROMBOSIS	3	3	1	5
SIN TROMBOSIS	25	22	12	21
$\chi^2$	p = 0.81		p = 0.63	
CON TROMBOCITOPENIA	6	11	4	13
SIN TROMBOCITOPENIA	22	14	9	27
$\chi^2$	p = 0.07		p = 0.71	
VDRL POSITIVO	1	5	0	6
VDRL NEGATIVO	17	16	10	23
$\chi^2$	p = 0.11		p = 0.11	
PRUEBA D. DE COOMBS +	8	15	5	18
PRUEBA D. DE COOMBS -	19	11	8	22
$\chi^2$	p = 0.03		p = 0.61	
© A. HEMOLITICA +	2	10	2	10
A. HEMOLITICA -	8	7	2	12
$\chi^2$	p = 0.045*		p = 0.86	

Tabla 3. Frecuencia de trombosis, trombocitopenia, VDRL positivo y Coombs positivo en los diferentes grupos (altos y bajos títulos de AaCL). Las frecuencias se compararon con la prueba de Chi cuadrada. En estas comparaciones no se tomó en cuenta el diagnóstico de SAF, sólo los títulos de anticuerpos. © Sólo pacientes con LES \* diferencia significativa ( $p < 0.05$ ).

No se observó correlación entre los títulos de AaCL y los títulos de anticuerpos anti-DNA, ya sea nativo o desnaturalizado. Tampoco se observó correlación entre los AaCL y otros tipos de anticuerpos (anti-nucleares, anti-ENA, anti-Ro) ni con ninguno de los niveles de complemento sérico.

## 7. DISCUSIÓN

En este estudio analizamos la correlación, en pacientes pediátricos, entre los niveles de AaCL en sus isotipos IgG e IgM, y la presentación de datos clínicos del SAF. El SAF fue definido según los criterios señalados por Alarcón Segovia y cols., es decir, títulos altos de AaCL (>23 para IgG y >23 para IgM) determinados por ELISA y uno o más de los siguientes criterios mayores: trombosis, trombocitopenia, livedo reticularis, y mielitis transversa.

Aunque 80 pacientes fueron reportados con positividad para AaCL polivalentes, no todos presentaron títulos francamente positivos para alguno de los isotipos, según lo cuantificado por el método de ELISA. Cabe mencionar que este método ha reportado la más alta sensibilidad para la detección de estos anticuerpos (5). De 43 pacientes con franca positividad para AaCL sólo un 46% presentó uno de los datos necesarios para diagnosticar SAF. Aunque no existen estudios que reporten que porcentaje de pacientes con AaCL presentan SAF, este porcentaje parece bajo si se toma en cuenta que un bajo porcentaje de sujetos sanos presentan títulos altos de AaCL (1). Si bien los sujetos aquí reportados no son sanos, sino que presentan una serie de padecimientos autoinmunes, entre los cuales predomina el LES, existen pocos padecimientos en los que se ha sugerido que los AaCL no son patogénicos, tal y como sucede para la sífilis o para la enfermedad de Lyme (1). De los 43 pacientes con títulos altos de AaCL, 16 presentaron SAF secundario a LES, otros 11 pacientes con LES presentaron títulos altos de AaCL pero sin síntomas de SAF. Otros 7 pacientes cursaron con LES y títulos bajos de AaCL. Esto significa que sólo el 47% (16/34) de los pacientes pediátricos con LES y títulos medibles de AaCL presentan SAF. Esta proporción parece relativamente baja si se toma en cuenta que se ha reportado que el 35-45% de los pacientes con LES presentan datos de SAF (21), y en este estudio no se consideran los pacientes con LES y que son negativos para AaCL. También resultó bajo el porcentaje de trombosis: 11.6% de los pacientes con títulos altos de AaCL y 25% de los pacientes con SAF. Frecuentemente se ha reportado que este dato está asociado fuertemente a SAF (27) y que los pacientes con AaCL están en un estado protrombótico (28). Sin embargo estos estudios se han realizado en adultos, en niños existen pocos estudios y la mayoría son sobre la frecuencia de AaCL en series de niños con trombosis, y no sobre la frecuencia de trombosis en niños con títulos altos de AaCL. Nosotros sugerimos que la baja frecuencia de trombosis en esta serie de pacientes es por que en los niños, contrario a lo que sucede en el adulto, existe poca posibilidad de daño endotelial, lo cual parece necesario

para que los AaCL actúen contra los fosfolípidos de la parte interna de la membrana citoplásmica de las células endoteliales (1). Siendo la trombosis una de las consecuencias más catastróficas del SAF, existe un interés en encontrar marcadores predictivos de dicho acontecimiento. En nuestro estudio, ninguno de los datos de laboratorio fue predictivo del desarrollo de trombosis. Aunque se ha pensado que los niveles de AaCL pudieran estar correlacionados con el desarrollo de trombosis, ya se ha demostrado en adultos que esto no sucede así (20).

Como cabría esperar, el padecimiento autoinmune más frecuente fue el LES. A este le siguió en frecuencia la poliarteritis nodosa y el esclerodermia. La baja frecuencia de estos dos últimos padecimientos autoinmunes y del resto, hizo que no fuera posible realizar un análisis de la influencia de los AaCL en los padecimientos que no fueran LES. En el Instituto en el periodo estudiado se encontraron 383 pacientes con diagnóstico de LES de los cuales solo el 7% de ellos presentaron anticuerpos anticardiolipinas positivos y solo un 4% cumplieron criterios para intergar un síndrome de antifosfolípidos, en comparación con la literatura en que se ha reportado que hasta un 65% de todos los casos, cursan con títulos elevados de AaCL, en cualquiera de sus tres modalidades(25). No existe reportes que indiquen la frecuencia de AaCL en otros padecimientos autoinmunes, por lo que sería muy valioso contar con la incidencia de los padecimientos aquí reportados, en donde los niños cursan con niveles elevados de AaCL.

Los títulos de AaCL no sólo no fueron predictivos para el desarrollo de trombosis, sino tampoco para predecir la presencia de SAF. Sin embargo, una falsa positividad para VDRL sí fue fuertemente predictiva del desarrollo de SAF, pero no de un evento en particular (trombosis, trombocitopenia, o gravedad del padecimiento, juzgado por el número de datos de SAF que se presentan al mismo tiempo). Los títulos de AaCL no se correlacionaron tampoco con la positividad para VDRL, pero siendo esta positividad predictiva del desarrollo de SAF, se apoya la idea de que existe una subclase de AaCL (en este caso los que dan positividad a la prueba de VDRL) que son patogénicos (1).

Por otro lado se encontró una buena correlación entre los niveles de AaCL y la presencia de Coombs positivo, lo cual sugiere una reactividad de los AaCL contra los fosfolípidos de la membrana del eritrocito. Esto es apoyado por la alta frecuencia de una prueba de Coombs directa positiva y de anemia hemolítica en pacientes con títulos francamente positivos para AaCL. De hecho, la única correlación positiva encontrada entre datos del SAF y los títulos de AaCL fue entre la positividad para la prueba directa de Coombs y los títulos de IgG aCL. La frecuencia de Coombs positivo fue todavía mayor si sólo se toman en cuenta con 20 pacientes con SAF, lo cual sugiere, que al

menos en niños el dato de Coombs positivo y de anemia hemolítica debe de ser considerado como una de las principales manifestaciones del SAF.

## 8. BIBLIOGRAFIA

- 1 Mackworth-Young (1995) Antiphospholipid Antibodies and disease. British Journal of Rheumatology , 34:1009-1026.
- 2 Wasserman, A (1906) The diagnostic reaction for syphilis. Dtsch Med Wochenschr, 32: 484-489.
- 3 Thiagaran P, Penego V, Shapiro S (1986): The use of the dilute Russell Viper venom time for the diagnosis of lupus anticoagulant. Blood 68:869-874,
- 4 Conley, CL; Hartmann, RC (1952) A hemorrhagic disorder caused by circulating anticoagulant in patients with disseminated lupus erythematosus. J Clin Invest, 31: 621-622.
- 5 Harris, EN; Gharavi, AE; Boey, ML (1983) Anticardiolipin antibodies: detection by radioimmunoassay and association with thrombosis in systemic lupus erythematosus. Lancet, 2: 1211-1214.
- 6 Hughes GRV (1993): The antiphospholipid antibody syndrome: ten years on. Lancet 1993;342:341-344
- 7 Khamashta MA, Gil A, Anciones B, et al (1988). Chorea in systemic lupus erythematosus. Association with antiphospholipid antibodies. Ann Rheum dis. 47: 681-683.
- 8 Kunkel, LA (1992) Acquired circulating anticoagulants. Hematol Oncol Clin North Am, 1992: 1341-1357.
- 9 Bick, RL; Baker, WF (1992) Anticardiolipin antibodies and thrombosis. Hematol Oncol Clin North Am, 6: 1287-1299.
- 10 Harris, EV; Gharavi, AE; Patel, S; Hughes, GRV (1987) Evaluation of the anticardiolipin antibody test: report of an international workshop held April 4, 1988. Clin Exp Immunol, 68: 215-222.
- 11 Mc Hugh NJ, Maddison PJ(1989). HLA-DR Antigens and anticardiolipin Antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. Arthritis rheum. 1989; 32: 1823-1824.
- 12 Hunt JE; McNeil HP; Morgan GJ; Cramer RM; Krilis SA (1992) A phospholipid-beta 2-glycoprotein I complex is an antigen for anticardiolipin antibodies occurring in autoimmune disease but not with infection. Lupus, 1: 75-81.
- 13 Bick, RL (1995) The antiphospholipid-thrombosis syndrome. Fact, fiction, confusion and controversy. Am J Clin Pathol, 100: 477-480.
- 14 Triplett DA (1992) Antiphospholipid antibodies: proposed mechanisms of action. Am J Reprod Immunol, 28: 211-215.

**ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

- 15 Ordi J; Selva A; Monegal F; Porcel JM; Martinez-Costa X; Vilardell M (1993) Anticardiolipin antibodies and dependence of a serum cofactor. A mechanism of thrombosis. *J Rheumatol*, 20(8): 1321-1324.
- 16 McNeil, HP; Chesterman, CN; and Krilis, SA. (1991) Immunology and clinical importance of antiphospholipid antibodies. *Adv Immunol*, 49: 193-280
- 17 Petri, M; Rheinschmidt, M; Whiting-O'Keefe, Q; Hellman, D; and Corash, L. (1987) The frequency of lupus anticoagulant in systemic lupus erythematosus. *Ann Intern Med*, 106: 524-531.
- 18 Love, PE and Santoro, SA (1990) antiphospholipid antibodies: anticardiolipin and the lupus antocoagulant in systemic lupus erythematosus (SLE) and non-SLE disorders. *Ann Intern Med*, 112: 682-698.
- 19 Ginsburg , K.; Liang, M; Newcomer, L. (1992) Anticardiolipin antibodies and the risk for ischemic stroke and venous thromboses. *Ann Intern Med*, 117: 997-1002.
- 20 Abu-Shakra, M; Gladman, DD; Urowitz MB; Farewell, V (1995) Anticardiolipin antibodies in systemic lupus erythematosus: clinical and laboratory correlations. *Am J Med*, 99: 624-628.
- 21 Ravelli, A; Caporali, R; Montecucco, C; Martini, A. (1996) The antiphospholipid syndrome in childhood. *J. Reumatol.*, 23: 1121-1122.
- 22 Ravelli, A.; Caporali, R.; Di Fuccia, G.; Zonta, L.; Montecucco, C.; Martini, A. (1994b) Anticardiolipin antibodies in pediatric systemic lupus erythematosus. *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.*, 148: 398-402.
- 23 Ravelli, A.; Martini, A.; Burgio, G.R. (1994a) Antiphospholipid antibodies in paediatrics. *Eur. J. Pediatr.*, 153: 472-479.
- 24 Ravelli, A.; Martini, A.; Burgio, G.R. (1994a) Antiphospholipid antibodies in paediatrics. *Eur. J. Pediatr.*, 153: 472-479.
- 25 Montes de Oca, M; Babron, MC; Blétry, O; Broyer, M; Courtecuisse, V; Fontaine, JL; Levy, M. (1991) Thrombosis in systemic lupus erythematosus: a French collaborative study. *Arch Dis Child*, 66: 713-717.
- 26 Seaman , DE; Londino, AV; Kwok, CK; Medsger, TA; Manzi, S (1995) Antiphospholipid antibodies in pediatric systemic lupus erythematosus. *Pediatrics*, 96: 1040-1045.
- 27 Alarcon-Segovia, D; Delezé, M; Oria, CV (1989) Antiphospholipid antibodies and the antiphospholipid syndrome in systemic lupus erythematosus. A prospective analysis of 500 consecutive patients. *Medicine*, 68: 353-365.
- 28 Molta Ch. Meyer O, Dosquet Ch.(1993). Childhood-Onset Systemic Lupus Erythematosus: Antiphospholipid antibodies in 37 patients and first-Degree Relatives. *Pediatrics*, 92:849-853.

29 Violi, F.; Ferro, D.; and Valesini, G. (1995) Thrombosis in the antiphospholipid antibody syndrome. *N. Engl. J. Med.*, 333 (10): 666.