



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA, DEPARTAMENTO DE
POSGRADO.
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y
NUTRICIÓN "SALVADOR ZUBIRÁN"

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA
EN REUMATOLOGÍA

Presenta

Dra. Lucía Comellas Kirkerup

**MANIFESTACIONES HEMATOLÓGICAS ASOCIADAS A
ANTICUERPOS ANTIFOSFOLÍPIDOS EN PACIENTES CON
O SIN SÍNDROME DE ANTIFOSFOLÍPIDOS PRIMARIO
SEGÚN LOS CRITERIOS DE SIDNEY: 6 AÑOS DE
SEGUIMIENTO**

Tutores:

Dra. Gabriela Hernández Molina

Dr. Antonio R. Cabral

Profesor Titular del Curso de Reumatología: Dr. Jorge Alcocer
Varela

Jefe del Departamento de Reumatología y Profesor Asociado de
Reumatología:

Dr. Jorge Sánchez Guerrero



MARZO 2010



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 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.

DR. LUIS FEDERICO USCANGA DOMÍNGUEZ
DIRECTOR DE ENSEÑANZA

DR. JORGE CARLOS ALCOCER VARELA
PROFESOR TITULAR

DR. JORGE SÁNCHEZ GUERRERO
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE INMUNOLOGÍA-REUMATOLOGÍA

DRA. GABRIELA HERNÁNDEZ MOLINA
TUTORA DE TESIS

DR. ANTONIO R. CABRAL
TUTOR DE TESIS

Agradecimientos:

Con infinito respeto y reconocimiento a mis revisores y maestros, Dra. Hernández y Dr. Cabral, por su tiempo y dedicación. Les estaré siempre agradecida.

A mi familia, por su incondicional apoyo. Por la presencia continua y tenaz más allá de la distancia.

ÍNDICE

- I. Resumen
- II. Introducción
- III. Justificación
- IV. Objetivos
- V. Hipótesis
- VI. Material y métodos
- VII. Análisis Estadístico
- VIII. Resultados
- IX. Discusión
- X. Conclusiones
- XI. Anexos
- XII. Bibliografía

I.RESUMEN

Objetivo: Estudiar pacientes con trombocitopenia, anemia hemolítica autoinmune o ambas quienes cumplan con los criterios de laboratorio de Sidney para la clasificación de SAF primario, independientemente de si reúnen o no los criterios clínicos.

Métodos: Revisamos las historias clínicas de 187 pacientes con SAF del registro del departamento de reumatología (ene 1986 - dic 2008) y se seleccionó los que cumplieran con los siguientes criterios: a) 2 o más determinaciones positivas de anticuerpos anti-fosfolípidos de acuerdo con los criterios de Sidney y b) trombocitopenia (plaquetas < 100.000/ μ l) o AHAI (Coombs positivo, cuenta de reticulocitos corregido > 2%, aumento de bilirrubina indirecta y DHL) o síndrome de Evans (SE). Los pacientes con LEG y/o anti-DNAdc positivos (ELISA) fueron excluidos. Se evaluó edad de inicio, seguimiento hasta última cita (FUC), tratamiento instaurado y sintomatología. Se definió respuesta al tratamiento (RT) como plaquetas \geq 100.000/ μ l en FUC; si cuenta plaquetaria basal era mayor a 50.000/ μ l; o plaquetas > 50.000/ μ l en FUC si plaquetas basales eran \leq 50.000 μ l, y para AHAI cifra de Hb > 10 g / dl en ausencia de hemólisis. La recaída fue considerada cuando la RT (cualquier punto en el seguimiento) no pudo mantenerse en la siguiente visita. Para el análisis estadístico usamos X^2 , prueba t de Student o U de Mann Whitney. Se calculó la razón de momios para anticuerpos presentes.

Resultados: Cincuenta y cinco pacientes (44 mujeres) cumplieron los criterios de inclusión, con edad media al inicio de la enfermedad de 40 ± 12 años con una mediana de seguimiento de 6.8 años (0.14-36.9 años). Treinta y cinco tenían TP, 14 AHAI y 6 Síndrome de Evans. Veinticinco pacientes (45%) también reunieron criterios clínicos de Sidney: 13 para trombosis y 12 criterios obstétricos. En 4 pacientes (16%) la hemocitopenia y los criterios clínicos iniciaron simultáneamente, en 6 (24%) la hemocitopenia precedió a la manifestación obstétrica o trombótica (3 años (0.5-12)), mientras que en 15 pacientes (60%), el evento hematológico se presentó 4,4 años más tarde (0-32). Treinta pacientes no desarrollan trombosis ni evento obstétrico (16 TP, 8 AHAI, 1 SE). No se encontraron diferencias significativas en la prevalencia y títulos de anticardiolipinas (aCL) y anti- β 2GPI en pacientes con o sin los criterios clínicos de SAF, sin embargo sí una mayor prevalencia de anticoagulante lúpico (AL) (63% vs 30%, $p = 0,04$ RM 3.5 IC 95%, 1.07-11.4). No hubo diferencias en edad, tipo de hemocitopenia, uso de PDN (83% vs 76%), fármacos inmunosupresores (56 vs 66%), aspirina (80%), esplenectomía (32% vs 26%), RT en la LMA (96% vs 86%), las recaídas (52% vs 46%), plaquetas y hemoglobina basales en pacientes con y sin APS clínico.

Conclusión: La hemocitopenia puede preceder o seguir los criterios aceptados clínicos de SAF. No parece haber ninguna diferencia en su presentación y RT, independientemente de la situación clínica de SAF. El AL solo o en combinación con aCL identifica pacientes quienes cumplen con criterios clínicos de SAF.

II. INTRODUCCIÓN

El descubrimiento de los anticuerpos antifosfolípidos se remonta indirectamente a 1906, cuando Wassermann y colaboradores desarrollaron una reacción serológica para el diagnóstico de sífilis en el que utilizaron tejidos ricos en fosfolípidos (corazón bovino) como antígenos, más tarde denominados cardiolípidos. Esta prueba dio paso al VDRL.

En 1952, el descubrimiento incidental de Conley y Hartmann en pacientes con lupus eritematoso generalizado, de la prolongación del tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa), que no corregía con la adición de plasma normal, marcó el descubrimiento del anticoagulante lúpico (1). El fenómeno fue atribuido a un anticoagulante circulante, identificado varias décadas después como inmunoglobulina (2), que se pensó estaba dirigida contra fosfolípidos de carga negativa presentes en las plaquetas activadas (1). Llegados los años 60, Bowie y colaboradores describieron pacientes con lupus eritematoso generalizado (LEG) que desarrollaban eventos trombóticos, a pesar de tener anticoagulante lúpico (3). Esta aparente paradoja continúa aun sin resolverse (4).

Soulier y Boffa en 1980 señalaron la ocurrencia de abortos de repetición y trombosis en pacientes con anticoagulante circulante, sin otra enfermedad primaria (5).

Así las cosas, a principios de los años 80 el Dr. Graham Hughes astutamente propuso que podría ocurrir un síndrome caracterizado por manifestaciones trombóticas, abortos de repetición y anticoagulante circulante (6), que algunos pacientes también podrían tener trombocitopenia (7) y anticuerpos anticardiolípidos positivos (aCL), por eso más tarde lo llamó *Síndrome de Anticardiolípidos* (8).

En 1989 tres grupos simultáneamente reportaron las primeras series de pacientes con trombosis recurrentes, pérdidas fetales de repetición, todos con aCL positivos y sin ninguna enfermedad autoinmune asociada (9-11). Esta nueva entidad clínica fue llamada *Síndrome de Antifosfolípidos Primario* (9), (10), (11). Notablemente, en estas series la frecuencia de la trombocitopenia fue de 44, 46 y 30%, respectivamente (9-11). Sólo en

una serie se reportó 4% de frecuencia de anemia hemolítica idiopática autoinmune (AHIA) y de 10% para el síndrome de Evans (10).

Anticuerpos antifosfolípidos (aFL) en trombocitopenia y anemia hemolítica en SAF

En 1989 Delezé y colaboradores en un estudio prospectivo compararon 500 pacientes con LEG con manifestaciones hematológicas y sin ellas. Encontraron mayor positividad de aCL de clase IgG en pacientes con trombocitopenia, mientras que los pacientes con anemia hemolítica autoinmune tuvieron una mayor frecuencia de aCL de clase IgM positivos (12).

Posteriormente, en 1992 Alarcón-Segovia y colaboradores fueron los primeros en proponer a la anemia hemolítica y a la trombocitopenia dentro de los criterios de clasificación del síndrome antifosfolípidos secundario a LEG (13). En esta serie de 667 pacientes con LEG y SAF, 59 (9%) tuvieron anemia hemolítica y 132 (20%) trombocitopenia (13). Otras manifestaciones clínicas incluidas en estos criterios, además por supuesto de las trombosis venosas (76, 11%), arteriales (21, 3%) y pérdidas fetales recurrentes (45, 17%), fueron las úlceras en piernas (21, 3%) y el lívido reticularis (202, 30%) (13). En este grupo de criterios se estableció como síndrome antifosfolípidos “definido” a la presencia de dos o más manifestaciones clínicas aunado a la presencia de anticardiolipina a títulos altos; “probable” una manifestación clínica con anticardiolipina a título medio y “dudoso” a ninguna manifestación clínica y títulos altos de anticardiolipina altos o una manifestación clínica con aCL a títulos bajos (13).

En otra serie grande de pacientes con SAF la prevalencia de las citopenias, recientemente publicada por “The Euro-Phospholipid Project”, en 1000 pacientes con síndrome antifosfolípidos primario y secundario fue de 9.7% para anemia hemolítica autoinmune y 29.6% para trombocitopenia (14).

La trombocitopenia, frecuentemente asociada a aFL, suele tener poca repercusión clínica, ya que la mayoría de las veces no es menor a 50 mil plaquetas (15). La prevalencia de esta manifestación ronda alrededor del 30% de los casos. A pesar de esta frecuencia, es poca la información que se tiene respecto a la asociación de manifestaciones clínicas asociadas, tratamiento y evolución (7;12;15).

Patogenia de los aFL en trombocitopenia o en anemia hemolítica

La relación patogénica entre trombocitopenia y anticuerpos antifosfolípidos fue inicialmente sugerida por Harris y colaboradores, quienes propusieron que este fenómeno se debía a la interacción de estos anticuerpos con los fosfolípidos de carga negativa de la membrana plaquetaria (7). Esto ha sido estudiado *in vitro* por varios grupos. Uno de ellos determinó que los aFL se unen directamente a la membrana de plaquetas previamente dañadas por congelación (16). Más recientemente, Vázquez-Mellado y colaboradores informaron que los anticuerpos aFL, en efecto, se unen a plaquetas activadas con trombina o con ionóforo de calcio, pero a través de la β_2 -glicoproteína-I (17).

El estudio sobre la patogenia de los aFL humanos en anemia hemolítica ha sido más escaso. Por ejemplo, Cabral y colaboradores informaron en 1990 que el anticuerpo natural IgM antifosfatidilcolina causaba hemólisis dependiente de complemento a eritrocitos tratados con bromelina (18). Otros grupos corroboraron este hallazgo (19;20) y concuerda con la noción obtenida de modelos murinos de anemia hemolítica autoinmune inducida por anti-fosfatidilcolina de clase IgM (21;22).

aFL en púrpura trombocitopénica inmune (PTI)

La incidencia de aFL en pacientes con PTI ha sido reportada entre 14 y 69% (23). Hasta la fecha tres grupos han informado que los pacientes con aFL y PTI tienen riesgo elevado de desarrollar trombosis (24-26).

aFL en anemia hemolítica autoinmune idiopática (AHAI)

La incidencia de aFL en pacientes con AHAI va del 55 al 72% (23). Guzmán y cols. informaron que 10/18 pacientes con AHIA tuvieron aCL de isotipo IgM (27). Esta alta frecuencia fue confirmada por Pullarkat y col quienes retrospectivamente encontraron aCL y AL en 9 y 19 de 30 pacientes con AHAI, respectivamente (28). Este grupo también reportó que los pacientes con AL positivo y AHAI tienen riesgo alto para el desarrollo de trombosis (28).

A pesar de lo anterior, los criterios revisados para el SAF no incluyen a la anemia hemolítica autoinmune ni a la trombocitopenia (29). Existe un apartado en el cual se incluye a la trombocitopenia como una manifestación probablemente asociada (29). Este se refiere a si la cifra de plaquetas es menor a $100 \times 10^9 \text{ L}^{-1}$ en dos determinaciones, separadas cada una por 12 semanas. Se excluyeron como causas de este descenso en las cifras de plaquetas, a la púrpura trombocitopénica trombótica, coagulación intravascular diseminada, y trombocitopenia asociada a heparina entre otras (29).

III. JUSTIFICACIÓN

A pesar de que la anemia hemolítica y la trombocitopenia son manifestaciones frecuentes en pacientes con síndrome de antifosfolípidos primario, los criterios actuales de clasificación no las incluyen. Así por ejemplo, un paciente con un perfil positivo para anticuerpos antifosfolípidos (según criterios serológicos actuales) y solo la manifestación hematológica no es clasificado como un paciente con SAF primario. Nosotros, sin embargo, consideramos que dichas manifestaciones acompañadas del perfil de anticuerpos antifosfolípidos positivos, identifican a un grupo de pacientes que cursan con SAF primario. En estos pacientes es posible que la manifestación hematológica preceda, coincida o se presente después de una manifestación trombótica u obstétrica; o que se presente en forma independiente y aislada.

IV. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

1.- Estudiar pacientes con trombocitopenia, anemia hemolítica autoinmune o ambas quienes cumplan con criterios de laboratorio de Sidney para la clasificación de SAF primario, independientemente de si reúnen o no los criterios clínicos.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- 1.- Conocer y comparar las características demográficas y el curso clínico (respuesta a tratamiento, recaídas, uso de inmunosupresores, etc.) entre pacientes con o sin los criterios clínicos de SAF y que cursan con alguna manifestación hematológica asociada a anticuerpos antifosfolípidos.
- 2.- Comparar la positividad y los títulos de anticuerpos anticardiolipina (IgG e IgM), anti- β_2 -glicoproteína (IgG e IgM) y la positividad para el anticoagulante lúpico entre pacientes con o sin los criterios clínicos de SAF y que cursan con alguna manifestación hematológica asociada a anticuerpos antifosfolípidos.
- 3.- Determinar si alguno de los anticuerpos aFL estudiados permite distinguir pacientes con SAF de acuerdo a los criterios de Sidney de los que no lo tienen.
- 4.- Conocer si las manifestaciones hematológicas se presentan en forma aislada o si se acompañan de alguno de los criterios clínicos de Sidney para SAF.
- 5.- Conocer el tiempo de aparición de las manifestaciones hemocitopénicas y trombóticas en aquellos pacientes con ambas manifestaciones.

V. HIPÓTESIS

1.- Los pacientes con manifestaciones hematológicas (trombocitopenia y anemia hemolítica) asociadas a anticuerpos antifosfolípidos tendrán características demográficas y comportamiento clínico similar, independientemente de si los pacientes cumplen o no con criterios clínicos aceptados (trombóticos u obstétricos) para síndrome antifosfolípidos primario.

2.- Los pacientes con manifestaciones hematológicas (trombocitopenia y anemia hemolítica) asociadas a anticuerpos antifosfolípidos tendrán un perfil de anticuerpos antifosfolípidos diferente, según si los pacientes cumplen o no con los criterios clínicos reconocidos (trombóticos u obstétricos) para síndrome antifosfolípidos primario.

VI. MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio fue realizado en el Departamento de Inmunología y Reumatología del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, el cual es un centro de atención de tercer nivel para pacientes reumáticos. De nuestro Registro Departamental (Enero 1986-Diciembre 2008) identificamos 187 pacientes con manifestaciones asociadas a anticuerpos antifosfolípidos (trombóticas, obstétricas, hematológicas).

Posteriormente, revisamos en forma retrospectiva cada uno de los expedientes y determinamos si los pacientes cursaban con los siguientes:

Criterios de inclusión

1. Dos o más determinaciones positivas de anticuerpos antifosfolípidos según criterios de laboratorio de Sidney (29):

- Presencia de anticoagulante lúpico en al menos dos ocasiones con diferencia de 12 semanas entre cada determinación.
- Presencia de anticardiolipina serotipo Ig G o Ig M, 2 o más veces los títulos medios o altos (mayor a 40 GPL o MPL) con intervalo entre cada medición de 12 semanas.

2.- Manifestaciones hematológicas asociadas a anticuerpos antifosfolípidos: anemia hemolítica, trombocitopenia o ambas (Ver abajo la definición).

Posteriormente, dividimos a los pacientes en dos grupos: los que reunían criterios clínicos trombóticos y obstétricos para SAF primario y los que no de acuerdo a los siguientes criterios de Sidney (29):

1.- Manifestaciones trombóticas

- Uno o más de un evento arterial o venosa o de pequeños vasos

2.- Morbilidad en el embarazo

- Una o más pérdidas fetales más allá de la semana 10 de embarazo
- Uno o más nacidos prematuros (antes de la semana 34 de gestación), debido a preeclampsia o eclampsia o insuficiencia placentaria

- Tres o más abortos espontáneos consecutivos, antes de la semana 10 de gestación.

Definiciones de hemocitopenias

Definimos trombocitopenia a la cifra plaquetaria menor a 100×10^9 plaquetas/L corroborada en al menos una ocasión. Definimos anemia hemolítica autoinmune (AHAI) a anemia en presencia de prueba indirecta de Coombs positiva, índice reticulocitario corregido mayor a 2%, elevación de bilirrubina indirecta y enzima lactato deshidrogenasa y disminución en haptoglobinas. A la coexistencia de ambas manifestaciones la llamamos Síndrome de Evans.

Definición de respuesta al tratamiento

Definimos respuesta al tratamiento: a) cifra plaquetaria mayor a 100,000 μl en la fecha de última cita para el caso de pacientes cuyas cifra plaquetaria inicial fue $>50,000 \mu\text{l}$ o; b) una cifra mayor a 50,000 μl para el caso de pacientes cuyas cifra plaquetaria inicial fue $<50,000 \mu\text{l}$. Respecto a AHAI se consideró una respuesta a tratamiento si se lograba una hemoglobina mayor a 10 g/dl en ausencia de hemólisis en la fecha de última cita. Se consideró como recaída si después de haber alcanzado respuesta al tratamiento (en cualquier momento del seguimiento), esta última no pudo ser mantenida en la consulta siguiente registrada.

La recaída fue considerada cuando la respuesta al tratamiento en cualquier punto del seguimiento no pudo mantenerse en la siguiente visita.

Formato de obtención de datos

En un formato estandarizado *ad hoc* registramos el género del paciente, su edad al inicio de la manifestación hematológica, tiempo de seguimiento en años a la fecha de última cita, tratamiento recibido para la manifestación hematológica (prednisona e inmunosupresores), respuesta a tratamiento, recaídas.

Asimismo, documentamos la presencia de otras manifestaciones clínicas obstétricas y trombóticas y el tiempo de aparición entre éstas y las manifestaciones hematológicas.

Criterios de exclusión

Excluimos pacientes con diagnóstico de lupus eritematoso generalizado (30) o aquellos con anticuerpos anti-DNAc positivos por ELISA, púrpura trombocitopénica trombótica, coagulación intravascular diseminada y trombocitopenia inducida por heparina.

Determinación de aFL (aCL, anti- β_2 GP-I y AL)

Los anticuerpos anticardiolipina y anti- β_2 -glicoproteína-I fueron determinados mediante técnica de ELISA según técnicas publicadas (31) y el anticoagulante lúpico mediante un reactivo de tamizaje LA 1/ y uno de confirmación LA 2 (4). La positividad de los aCL o de los anti- β_2 GP-I fue tomada según los valores de referencia del Laboratorio de Inmunología del Departamento de Inmunología y Reumatología de nuestro Instituto al momento de la toma de la muestra.

Anticoagulante lúpico

El reactivo de tamizaje LA 1/reactivo de confirmación LA 2, el cual es un reactivo de dilución de veneno de víbora Russell. El reactivo de tamizaje LA 1 contiene veneno de víbora Russell que desencadena la coagulación del plasma mediante la activación directa del factor X. En presencia de anticoagulante lúpico el tiempo de coagulación del reactivo se prolonga. El reactivo LA 2, es similar a LA 1 pero contiene una mayor concentración de antifosfolípidos. Éstos contrarrestan el efecto del anticoagulante lúpico y corrigen por completo el tiempo de coagulación. Si el tiempo de coagulación en el reactivo LA1 se encuentra en el rango normal, no es necesario realizar otro test para anticoagulante lúpico (no hay presencia del mismo). Si el tiempo de coagulación con LA 1 está por encima de 2 SD o es aproximadamente 20% más largo que el valor promedio del plasma normal (de manera ideal $n \geq 20$), el resultado se considera anormal y se pasa al reactivo LA 2. La prueba es cualitativa. La presencia de anticoagulante lúpico se determina por el radio entre el tiempo del reactivo del tamizaje LA 1 / el tiempo de coagulación del reactivo de confirmación LA 2 (4).

VII. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó estadística descriptiva paramétrica y no paramétrica de acuerdo a la distribución de las variables. Para la comparación entre grupo se utilizó la prueba de Chi cuadrada (χ^2), Prueba *T* de Student o Prueba U-Mann Whitney según correspondiera a cada variable. Se calculó la razón de momios (RM) con intervalo de confianza al 95% para cada uno de los anticuerpos presentes. Se consideró como significativo un valor de $p \leq 0.05$ de dos colas. Se utilizó el software SPSS versión 17.

VIII. RESULTADOS

De los 187 expedientes revisados, 55 cumplieron con los criterios de inclusión: 44 fueron mujeres (80%) con una edad media al inicio de la manifestación hematológica de 40 ± 12 años. La mediana de seguimiento para el grupo en general fue de 6.8 años (0.14-36.9 años). De los 55 pacientes con manifestaciones hematológicas 35 (64%) tuvieron trombocitopenia, 14 (25%) AHAI y seis (11%) síndrome de Evans.

Cuando dividimos a los pacientes de acuerdo a si cumplían o no con los criterios clínicos de Sidney para SAF primario, 25 pacientes (45%) sí los reunieron, mientras que 30 (55%) se mantuvieron sin trombosis ni morbilidad del embarazo. La mediana de seguimiento del primer grupo (SAF) fue de 13.2 años (1.45-36.9) y la del segundo (sólo con hemocitopenia) 5.4 (0.14-23.9). **La Tabla 1** muestra las características demográficas y el tipo de manifestación hematológica. Como se ve, en los pacientes con criterios clínicos de SAF primario la manifestación hematológica discretamente más frecuente fue la trombocitopenia (51%), seguida de anemia hemolítica (48%). La misma tabla 1 muestra que la mayoría de los pacientes sin criterios clínicos de Sidney para SAF tuvieron anemia hemolítica (64%) y luego trombocitopenia (15%). No encontramos ninguna diferencia significativa entre los grupos de pacientes respecto su género, edad ni en el tipo de manifestación hematológica.

De los pacientes que cumplieron los criterios clínicos y serológicos de Sidney para SAF, trece cursaron con trombosis y doce con morbilidad del embarazo (Una paciente tuvo ambas manifestaciones). En 4 pacientes (16%) la hemocitopenia y el evento obstétrico o trombótico iniciaron simultáneamente, en 6 enfermos (24%) la hemocitopenia precedió a la trombosis o al evento obstétrico (mediana = 3 años [0.5-10]); mientras que en quince pacientes (60%) el evento hematológico fue posterior (mediana = 4.4 años [0.1-32]) **(Figura 1)**.

Cuando analizamos el comportamiento de la manifestación hematológica entre los grupos de estudio observamos que más del 80% de pacientes, con o sin SAF de acuerdo a los criterios de Sidney, lograron respuesta a tratamiento a fecha de la última consulta. Sin embargo, es importante mencionar que alrededor del 50% presentó por lo menos una recaída durante su seguimiento. No encontramos diferencias significativas en el comportamiento clínico ni en la respuesta al tratamiento entre los pacientes con SAF completo comparados con los que tuvieron hemocitopenia como manifestación única.

En la **Tabla 1** también presentamos el uso de prednisona, fármacos inmunosupresores, aspirina y si los pacientes fueron sometidos a esplenectomía. No encontramos diferencias entre los grupos. Las cifras de plaquetas y de hemoglobina iniciales tampoco fueron diferentes en ambos grupos. Al final del seguimiento los pacientes con SAFP tuvieron mayor número de plaquetas; sin embargo, esta diferencia a pesar de ser estadísticamente significativa no tuvo repercusión clínica.

En la **Tabla 2** mostramos el porcentaje de positividad por grupos de estudio para cada uno de los anticuerpos analizados. Es notable que la anticardiolipina IgM fue el anticuerpo más frecuente en todos nuestros pacientes. No encontramos ninguna diferencia en la prevalencia de aCL y anti- β_2 GP-I entre los pacientes con o sin criterios clínicos de Sidney para SAF. En cambio, sí encontramos una mayor prevalencia de anticoagulante lúpico en pacientes que cumplían criterios de SAF, esta fue estadísticamente significativa y se corroboró con una RM=3.5 (IC 95%, 1.07-11.4, $p<0.04$).

También analizamos los títulos de los anticuerpos anticardiolipinas y anti- β_2 GP-I en aquellos pacientes con determinación reciente (**Tabla 3**). No encontramos ninguna diferencia entre los grupos de estudio. Es importante mencionar que todos los pacientes positivos para el anticoagulante lúpico también los fueron para aCL.

En la **Tabla 4** se muestran las RM para cada anticuerpo en general y por isotipo según los grupos de estudio, siendo únicamente significativa la correspondiente a anticoagulante lúpico y la combinación anticoagulante lúpico/aCL.

IX. DISCUSIÓN

En el presente trabajo describimos el comportamiento clínico y serológico de pacientes con manifestaciones hematológicas (anemia hemolítica y trombocitopenia) asociadas a anticuerpos antifosfolípidos, independientemente de si cumplen o no con los criterios clínicos de Sidney para SAF primario.

A pesar de que la trombocitopenia autoinmune y la AHAI son frecuentes en pacientes con (13;14;32-37) o sin SAF (18;23;38;39), de que los pacientes que tienen estas manifestaciones y aFL positivos están en riesgo de desarrollar trombosis (24-26;28), de que algunos estudios *in vitro* sugieren daño celular directo de los aFL a las plaquetas (7;17) o a los eritrocitos (18;38) y de que en las tres series originales de SAF la frecuencia de trombocitopenia varió entre 30 y 40% (9-11), estas citopenias no están incluidas dentro de los criterios revisados de clasificación del SAF (29). Para desafiar esta noción, en el presente trabajo estudiamos todos los pacientes vigentes de nuestro Departamento con hemocitopenias y serología positiva para SAF de acuerdo a los criterios de Sidney (29).

Para restringir más nuestros hallazgos, excluimos los pacientes con criterios para lupus eritematoso generalizado (30) o con trombocitopenia por otras causas (29). Aquí encontramos que el 19% de los pacientes con SAF de nuestro Instituto tuvieron trombocitopenia y el 8% AHIA. Estas cifras concuerdan con las reportadas en series grandes de pacientes con SAF (13;14;34). Más aún, también encontramos que durante el seguimiento promedio de 6.8 años, un poco más de la mitad de los pacientes que tuvieron

hemocitopenia como única manifestación se mantuvieron libres de trombosis, mientras que el resto (45%) reunió cuando menos un criterio clínico de Sidney para SAF. Es de hacer notar que en el 60% de nuestros casos la manifestación hematológica apareció 4.4 años después del criterio clínico de Sidney y en el 24 % la hemocitopenia antecedió 3 años a la manifestación trombótica; dicho de otra manera, la gran mayoría de los pacientes (84%) que reunieron el criterio clínico de Sidney para SAF, lo cumplieron asincrónicamente a la manifestación hematológica.

En nuestro estudio también encontramos que los pacientes que reunieron algún criterio clínico de Sidney para SAF fueron más frecuentemente positivos para el anticoagulante lúpico (RM= 3.5). Igualmente, ya que los pacientes con AL positivo lo fueron también para aCL, la fuerza de asociación para la combinación AL+aCL fue la misma que para el AL. Este hallazgo tiene claras implicaciones patogénicas en vista de que múltiples estudios han mostrado que es precisamente el AL el antifosfolípido que más confiere riesgo de trombosis (40), más aún cuando la especificidad de este fenómeno *in vitro* es el anticuerpo anti- β_2 GP-I (41;42).

No encontramos que los anti- β_2 GP-I detectados por ELISA confirieran mayor riesgo de trombosis ni de morbilidad en el embarazo. Esto no va de acuerdo con lo informado por varios grupos incluido el nuestro (43;44) y pareciera sugerir que estos anti- β_2 GP-I detectados en ausencia de fosfolípidos, son patogénicamente diferentes de los detectables en el ensayo convencional de aCL o en la prueba del AL. Una interpretación alterna a este hallazgo es que aquí estudiamos una población muy homogénea de pacientes con alta prevalencia (65 y 51%) de anti- β_2 GP-I de isotipo IgG y (73 y 82%) de isotipo IgM, respectivamente. Este interesante hallazgo, independiente de las manifestaciones trombóticas, en pacientes con manifestaciones hemocitopénicas es por sí mismo original y merece un estudio aparte.

Nuestro trabajo también mostró que el comportamiento clínico de las manifestaciones hematológicas y de su respuesta a medicamentos inmunosupresores es el mismo, independientemente de si los pacientes reunieron o no algún criterio clínico de Sidney

para SAF. También, las frecuencias y títulos de los aFL detectados en ambos grupos no difirieron significativamente. En conjunto estas nociones apoyan la idea de que las manifestaciones hematológicas asociadas a los aFL (29) son iguales y aparentemente independientes de las trombosis. Este es también un hallazgo original no informado antes en la literatura.

Pullarkat y cols. siguieron en forma prospectiva a 30 pacientes con AHAI y determinaron aFL y el desarrollo de trombosis (28). Ellos encontraron que el 63% de sus pacientes tuvieron AL y que el 27% de ellos tuvieron algún episodio trombótico después de seis años de seguimiento, todos ellos dentro del grupo de pacientes con serología positiva para SAF. Hubo una asociación estadísticamente significativa entre la positividad del AL y la trombosis venosa (RR= 7.05, 95% IC 1.25-45.2, $p < 0.03$). Nuestro estudio va de acuerdo con estos resultados (28).

Diz-Küçükkaya y cols. estudiaron prospectivamente el AL y aCL en 82 pacientes con PTI (25). Estos autores encontraron que después de un seguimiento de un poco más de tres años el índice de positividad del AL fue mayor en los pacientes que desarrollaron SAF (RR= 7.15; 95% IC= 1.7-47; $p=.0036$). Igualmente, nuestros resultados concuerdan bien con lo informado por este grupo (25).

Funachi y cols. informaron que 7/27 pacientes con PTI y aFL positivos, particularmente AL, tuvieron abortos habituales y, trombosis. Estos autores sugirieron que el AL es útil para discriminar aquellos pacientes con PTI secundaria al SAF (26).

Nuestro estudio cuenta con las siguientes limitaciones. Al ser un estudio retrospectivo sabemos que existe pérdida de información, ya que en algunos pacientes no contamos con la determinación de alguno de los anticuerpos. Igualmente, el tamaño de la muestra es bajo y no permitió realizar un análisis multivariado. Sin embargo teniendo en cuenta la baja prevalencia de este tipo de manifestaciones, el número de muestra de este estudio es relevante clínicamente. No existen hasta el momento cohortes prospectivas que evalúen el comportamiento diferencial de pacientes con manifestaciones hematológicas asociadas a anticuerpos antifosfolípidos con o sin criterios completos de SAFP.

X. CONCLUSIONES

1. No encontramos diferencias en el comportamiento clínico ni en la respuesta al tratamiento en pacientes con hemocitopenias, con o sin criterios clínicos de Sidney para SAF.
2. Más de la mitad de los pacientes con manifestaciones hematológicas y aFL positivos se mantuvieron sin trombosis durante el seguimiento.
3. El anticoagulante lúpico fue más frecuente en los pacientes que durante el seguimiento reunieron uno o más de los criterios clínicos de Sidney para SAF.
4. En el 84% de los casos la manifestación hematológica fue asincrónica con la aparición de los criterios clínicos de Sidney para SAF.
5. La frecuencia de anti- β_2 GP-I (IgG e IgM) fue alta en nuestra población estudiada, independiente de los criterios clínicos de Sidney para SAF.
6. El 19% y 8% de los pacientes con SAFP vigentes en el Departamento de Inmunología y Reumatología de nuestro Instituto tuvieron trombocitopenia o anemia hemolítica autoinmune, respectivamente.

XI. ANEXOS

Tabla 1. Características demográficas y clínicas de la población de estudio.

	SAF n=25	Sin SAF n=30	Valor de p
Edad	41.8 ±12	38.8 ±13	0.38
Género femenino	22(88%)	22(73%)	0.17
Manifestación			
Trombocitopenia	18 (51%)	17 (48%)	0.49
AHAI	5 (15%)	9 (64%)	
Evans	2 (33%)	4(13%)	
Respuesta a Fecha de última cita	24 (96%)	26 (86%)	0.36
Recaída	13(52%)	14(46%)	0.48
Uso de Prednisona	25 (83%)	19(76%)	0.49
Uso de Inmunosupresor	14 (56%)	20(66%)	0.41
Ácido acetil-salicílico	20(80%)	24(80%)	1.00
Esplenectomía	8 (32%)	8(26)	0.66
Plaquetas			
Basal	36,000 (1000-98,000)	16,500 (2000 -98,000)	0.87
Fecha última cita	244,500 (31,000- 309,000)	136,133 (29,000- 329,000)	0.01
Hemoglobina			
Basal	6.8 (2 -10.4)	6.4 (3.9- 10.7)	0.61
Fecha última cita	14.3 (11.8 -17)	14(10.8 -16.4)	0.19

Figura 1. Tiempo entre la manifestación hematológica y el desarrollo de Criterios clínicos de SAFP

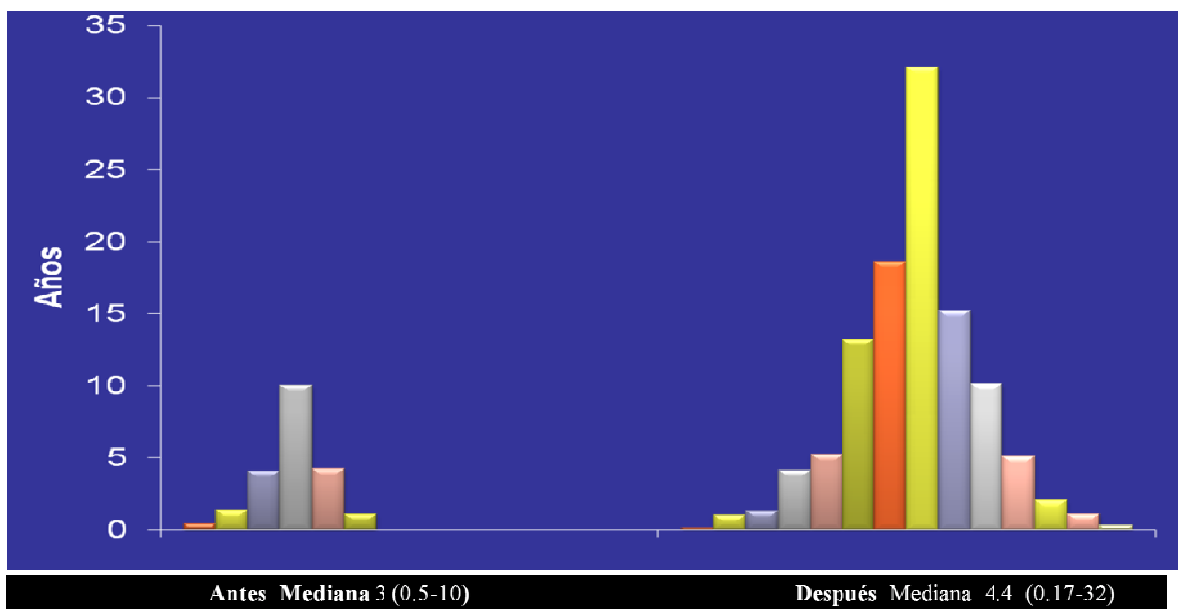


Tabla 2. Prevalencia de Anticuerpos antifosfolípidos

Anticuerpo	Pacientes con criterios cínicos Sidney n=25	Pacientes sin criterios cínicos Sidney n=30	P
aCL IgG	17 (56%)	20 (66%)	0.9
aCL IgM	21 (84%)	29 (96%)	0.1
aCL	25 (100%)	30 (100%)	1
Anti-β2Gp-I IgG	n=23 15(65%)	n=29 15(51%)	0.4
Anti-β2Gp-I IgM	n=19 14(73%)	n=28 23(82%)	0.4
Anti-β2Gp-I	n=22 20(90%)	n=28 25 (89%)	1
Anticoagulante lúpico	n=22 14 (63%)	n=27 9(30%)	0.04
Anticoagulante lúpico + anticardiolipina	n=22 14 (63%)	n=27 9(30%)	0.04

Tabla 3 Títulos de Anticuerpos antifosfolípidos

Anticuerpo U/ml	Pacientes con criterios clínicos Sidney n=25	Pacientes sin criterios clínicos Sidney n=30	p
aCL IgG	n=11 83 (3.8 - 159)	n=16 23.8 (3.9 - 629)	0.4
aCL IgM	n=12 52.5 (5.1-145)	n=20 54 (2.1 - 146)	0.8
Antiβ2Gp-I IgG	n=10 36.9 (2.9 - 470)	n=16 19.3 (1.8 - 255)	0.2
Antiβ2Gp-I IgM	n=10 50.3 (8.4 - 422)	n=20 38.9 (2 - 632)	0.6

Tabla 4. Fuerza de asociación para SAF del AL solo o combinado con aCL

Anticuerpo	RM
aCL IgG	1.06 IC 95% (0.34-3.29)
aCL IgM	0.18 IC 95% (0.01-1.7)
aCL ambos isotipos	-
Antiβ_2GP-I IgG	1.75 IC 95% (0.5-5.3)
Antiβ_2GP-I IgM	0.6 IC 95% (0.1-2.4)
Antiβ_2GP-I ambos isotipos	1.2 IC 95% (0.18-7.8)
AL	3.5 IC 95% (1.07-11.4)
aCL + AL	3.5 IC 95% (1.07-11.4)

XII. BIBLIOGRAFÍA

- (1) Conley CL, Hartmann RC. A hemorrhagic disorder caused by circulating anticoagulant in patients with disseminated lupus erythematosus. *J Lab Clin Invest* 1952; 31:621-2.
- (2) Thiagarajan P, Shapiro SS, De Marco L. Monoclonal Immunoglobulin M coagulation inhibitor with phospholipid specificity. *J Clin Invest* 1980; 66:397-405.
- (3) Bowie WEJ, Thompson JH, Pascuzzi CA, Owen GA. Thrombosis in systemic lupus erythematosus despite circulating anticoagulants. *J Clin Invest* 1963; 62:416-30.
- (4) Tripodi A. Testing for lupus anticoagulants: all that a clinician should know. *Lupus* 2009; 18(4):291-8.
- (5) Soulier JP, Boffa MC. Avortements a répétition, thromboses et anticoagulant circulant anti-thromboplastine. *Nouv Press Médicale* 1980; 9:859-64.
- (6) Hughes GRV. Thrombosis, abortion, cerebral disease and the lupus anticoagulant. *Br Med J* 1983; 287:1088-9.
- (7) Harris EN, Asherson RA, Gharavi AE, Morgan SH, Derue G, Hughes GRV. Thrombocytopenia in SLE and related autoimmune disorders: association with anticardiolipin antibodies. *Br J Haematol* 1985; 59:227-30.
- (8) Hughes GRV, Harris EN, Gharavi AE. The anticardiolipin syndrome. *J Rheumatol* 1986; 13:486-9.
- (9) Alarcón-Segovia D, Sánchez-Guerrero J. Primary antiphospholipid syndrome. *J Rheumatol* 1989; 16:482-8.
- (10) Asherson RA, Khamashta MA, Ordi-Ros J, Derksen RHW, Machin S, Barquinero J et al. The "primary" antiphospholipid syndrome: major clinical and serological features. *Medicine* 1989; 68:366-74.
- (11) Mackworth-Young CG, Loizou S, Walport MJ. Primary antiphospholipid syndrome: features of patients with raised anticardiolipin antibodies and no other disorder. *Ann Rheum Dis* 1989; 48:362-7.
- (12) Delezé M, Alarcón-Segovia D, Oria CV, Sánchez-Guerrero J, Fernández-Domínguez L, Gómez-Pacheco L et al. Hemocytopenia in systemic lupus erythematosus. Relationship to antiphospholipid antibodies. *J Rheumatol* 1989; 16:926-30.
- (13) Alarcón-Segovia D, Pérez-Vázquez ME, Villa AR, Drenkard C, Cabiedes J. Preliminary classification criteria for the antiphospholipid syndrome within systemic lupus erythematosus. *Semin Arthritis Rheum* 1992; 21:275-86.

- (14) Cervera R, Boffa MC, Khamashta MA, Hughes GR. The Euro-Phospholipid project: epidemiology of the antiphospholipid syndrome in Europe. *Lupus* 2009; 18(10):889-93.
- (15) Krause I, Blank M, Fraser A, Lorber M, Stojanovich L, Rovensky J et al. The association of thrombocytopenia with systemic manifestations in the antiphospholipid syndrome. *Immunobiology* 2005; 210(10):749-54.
- (16) Khamashta MA, Harris EN, Gharavi AE, Derue G, Gil A, Vazquez JJ et al. Immune mediated mechanism for thrombosis: antiphospholipid antibody binding to platelet membranes. *Ann Rheum Dis* 1988; 47(10):849-54.
- (17) Vázquez-Mellado J, Llorente L, Richaud-Patin I, Alarcon-Segovia D. Exposure of anionic phospholipids upon platelet activation permits binding of b₂-glycoprotein-I and through it IgG antiphospholipid antibodies. *Studies in platelets from patients with antiphospholipid syndrome and normal subjects. J Autoimmunity* 1994; 7:335-48.
- (18) Cabral AR, Cabiedes J, Alarcón-Segovia D. Hemolytic anemia related to an IgM autoantibody to phosphatidylcholine that binds *in vitro* to stored and to bromelain-treated erythrocytes. *J Autoimmunity* 1990; 3:773-87.
- (19) del Papa N, Meroni PL, Barcellini W, Borghi MO, Fain C, Khamashta MA et al. Antiphospholipid antibodies cross-reacting with erythrocyte membranes. A case report. *Clin Exp Rheumatol* 1992; 10:395-9.
- (20) Hazeltine M, Rauch J, Danoff D, Esdaile JM, Tannebaum H. Antiphospholipid antibodies in systemic lupus erythematosus: evidence of an association with positive Coombs' and hypocomplementemia. *J Rheumatol* 1988; 15:80-6.
- (21) Reininger L, Shibata T, Shurmans S. Spontaneous production of anti-mouse red blood cell autoantibodies is independent of the polyclonal activation in NZB mice. *Eur J Immunol* 1990; 20:2405-10.
- (22) Cabral AR, Alarcón-Segovia D. Bromelain-treated erythrocyte autoantibodies. In: Peter JB, Shoenfeld Y, editors. *Autoantibodies*. Amsterdam: Elsevier; 1996. 120-5.
- (23) Uthman I, Godeau B, Taher A, Khamashta M. The hematologic manifestations of the antiphospholipid syndrome. *Blood Rev* 2008; 22(4):187-94.
- (24) Pierrot-Deseilligny DC, Michel M, Khellaf M, Gouault M, Intrator L, Bierling P et al. Antiphospholipid antibodies in adults with immune thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 2008; 142(4):638-43.
- (25) Diz-Kucukkaya R, Hacıhanefioglu A, Yenerel M, Turgut M, Keskin H, Nalcaci M et al. Antiphospholipid antibodies and antiphospholipid syndrome in patients presenting

with immune thrombocytopenic purpura: a prospective cohort study. *Blood* 2001; 98(6):1760-4.

- (26) Funauchi M, Hamada K, Enomoto H, Ikoma S, Ohno M, Kinoshita K et al. Characteristics of the clinical findings in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura who are positive for anti-phospholipid antibodies. *Intern Med* 1997; 36(12):882-5.
- (27) Guzmán J, Cabral AR, Cabiedes J, Pita-Ramírez L, Alarcón-Segovia D. Antiphospholipid antibodies in patients with idiopathic autoimmune haemolytic anemia. *Autoimmunity* 1994; 18:51-6.
- (28) Pullarkat V, Ngo M, Iqbal S, Espina B, Liebman HA. Detection of lupus anticoagulant identifies patients with autoimmune haemolytic anaemia at increased risk for venous thromboembolism. *Br J Haematol* 2002; 118(4):1166-9.
- (29) Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost* 2006; 4:295-306.
- (30) Tan EM, Cohen AS, Fries JF, Masi AT, McShane DJ, Rothfield NF et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1982; 25:1271-7.
- (31) Cabral AR, Cabiedes J, Alarcón-Segovia D. Antibodies to phospholipid-free b₂-glycoprotein-I in the serum of patients with primary antiphospholipid syndrome. *J Rheumatol* 1995; 22:1894-8.
- (32) Harris EN, Chan JKH, Asherson RA, Aber VR, Gharavi AE, Hughes GRV. Thrombosis, recurrent fetal loss and thrombocytopenia. Predictive value of the anticardiolipin antibody test. *Arch Intern Med* 1986; 146:2153-6.
- (33) Vila A, Hernández MC, López-Fernández MF, Batalle J. Prevalence, follow-up and clinical significance of the anticardiolipin antibodies in normal subjects. *Thromb Haemost* 1994; 72(2):209-13.
- (34) Sebastiani GD, Galeazzi M, Tincani A, Piette JC, Font J, Allegri F et al. Anticardiolipin and anti-b₂GPI antibodies in a large series of European patients with systemic lupus erythematosus. *Scand J Rheumatol* 1999; 28:344-51.
- (35) Fong KY, Loizou S, Boey ML, Walport MJ. Anticardiolipin antibodies, haemolytic anemia and thrombocytopenia in systemic lupus erythematosus. *Br J Rheumatol* 1993; 31:453-5.
- (36) Cuadrado MJ, Mujic F, Munoz E, Khamashta MA, Hughes GR. Thrombocytopenia in the antiphospholipid syndrome. *Ann Rheum Dis* 1997; 56(3):194-6.

- (37) Rottem M, Krause I, Fraser A, Stojanovich L, Rovensky J, Shoenfeld Y. Autoimmune hemolytic anaemia in the antiphospholipid syndrome. *Lupus* 2006; 15(7):473-7.
- (38) Arvieux J, Schweizer B, Roussel B, Colomb MG. Autoimmune hemolytic anemia due to anti-phospholipid antibodies. *Vox Sang* 1991; 61:190-5.
- (39) Ghers BC, Friedberg RC. Autoimmune hemolytic anemia. *Am J Haematol* 2002; 69:258-71.
- (40) Galli M, Barbui T. Antiphospholipid syndrome: clinical and diagnostic utility of laboratory tests. *Semin Thromb Hemost* 2005; 31:17-24.
- (41) Galli M, Finazzi G, Norbis F, Marchioli R, Barbui T. The risk of thrombosis in patients with lupus anticoagulants is predicted by their specific coagulation profile. *Thromb Haemost* 1999; 81(5):695-700.
- (42) de Laat B, Derksen RHWM, Urbanus RT, de Clerck LS. IgG antibodies that recognize epitope Gly40-Arg43 domain I of b2-glycoprotein I cause LAC, and their presence correlates with thrombosis. *Blood* 2005; 105:1540-5.
- (43) Cabiedes J, Cabral AR, Alarcón-Segovia D. Clinical manifestations of the antiphospholipid syndrome in patients with systemic lupus erythematosus associate more strongly with anti-b₂-glycoprotein-I than with antiphospholipid antibodies. *J Rheumatol* 1995; 22:1899-906.
- (44) Galli M, Luciani D, Bertolini G, Barbui T. Anti-b₂-glycoprotein I, antiprothrombin antibodies, and the risk of thrombosis in the antiphospholipid syndrome. *Blood* 2003; 102:2717-23.