



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**Especialidad en Reumatología**

FACULTAD DE MEDICINA  
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN

**Validación de la positividad de anticuerpos anti RNP/Sm en combinación con Anticoagulante Lúpico como factor de riesgo para trombosis en pacientes con Lupus Eritematoso Generalizado**

**TESIS DE POSGRADO**  
PARA OBTENER EL TÍTULO DE LA ESPECIALIDAD EN  
**REUMATOLOGÍA**

PRESENTA:  
**DRA MARÍA DEL CARMEN ZAMORA MEDINA**

TUTORES DE TESIS  
**DRA JUANITA ROMERO DÍAZ**  
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán  
**DRA ANDREA HINOJOSA AZAOLA**  
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

**Ciudad Universitaria, Cd. Mx. julio de 2016**



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.

## ÍNDICE

	<b>Página</b>
I. Ficha de Identificación .....	3
II. Síntesis .....	4
III. Antecedentes bibliográficos .....	5
IV. Definición del problema .....	11
V. Justificación.....	11
VI. Objetivos .....	11
VII. Pregunta de investigación .....	11
VIII. Hipótesis .....	12
IX. Diseño del estudio .....	12
X. Metodología .....	12
XI. Análisis estadístico .....	14
XII. Resultados.....	15
XIII. Discusión .....	20
XIV. Conclusiones .....	25
XV. Bibliografía .....	25
XVI. Anexo.....	29

## **I. IDENTIFICACIÓN**

### **a) TÍTULO**

Validación de la positividad de anticuerpos anti-RNP/Sm en combinación con Anticoagulante Lúpico como factor de riesgo para trombosis en pacientes con Lupus Eritematoso Generalizado

### **b) AUTORES:**

**Dr. María del Carmen Zamora Medina.**

Residente de Reumatología

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

**Dra Juanita Romero Díaz**

Médico adscrito al Departamento de Reumatología

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

**Dra Andrea Hinojosa Azaola**

Médico adscrito al Departamento de Reumatología

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

### **INSTITUCIONES PARTICIPANTES:**

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

## II. SÍNTESIS DEL PROYECTO:

El Lupus Eritematoso Generalizado (LEG) es una enfermedad autoinmune multisistémica que se ha relacionado con una mayor incidencia de eventos trombóticos comparado con la población general, e incluso con otras enfermedades del tejido conectivo. En la última década se han realizado varios estudios descriptivos y observacionales que han reportado la presencia de diversos factores de riesgo para trombosis en este grupo de pacientes, incluyendo: factores de riesgo cardiovasculares tradicionales, actividad de la enfermedad, edad al diagnóstico de LEG, dosis acumulada de esteroides, alteraciones trombofílicas congénitas como factor V de Leiden y mutación G20210 de gen de protrombina, presencia de anticuerpos antifosfolípidos, especialmente anticoagulante lúpico (AL).

En un estudio reciente realizado en este Instituto, que incluyó una cohorte prospectiva de 219 pacientes con LEG de reciente diagnóstico, se reportó una asociación significativa e independiente de AL y anti-RNP/Sm con eventos trombóticos venosos, no reportada en estudios previos. Si esta asociación es consistente, podría permitir la identificación de un subgrupo de pacientes con mayor riesgo de trombosis durante el seguimiento, especialmente en los primeros años de la enfermedad.

El presente trabajo tuvo como objetivo principal validar la asociación entre la presencia de anticuerpos anti-RNP/Sm en combinación o no con AL con eventos trombóticos en pacientes con LEG.

Se realizó un estudio de casos y controles, en los cuales se definió como caso a los pacientes con diagnóstico de LEG ( $\geq 4$  criterios del American College of Rheumatology) que desarrollaron trombosis después de haberse integrado el diagnóstico de LEG. Los controles fueron pacientes con LEG ( $\geq 4$  criterios del American College of Rheumatology) sin trombosis, pareados por edad, género y tiempo de evolución de la enfermedad. Se recabó información general (género, edad, comorbilidades), datos del evento trombótico, datos relacionados con la enfermedad (edad al diagnóstico, tiempo de evolución de la enfermedad al momento de la trombosis, actividad de la enfermedad por escala de SLEDAI-2K (Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2000) y daño acumulado por escala SLICC (Systemic Lupus International Collaborating Clinics), factores de riesgo cardiovasculares tradicionales (tabaquismo, obesidad, HAS, Diabetes Mellitus). Se obtuvo una muestra de sangre, con previa autorización del paciente por medio de consentimiento informado, para determinación de títulos de anticuerpos antifosfolípidos (anti-cardiolipina IgG/IgM, anti- $\beta 2$  glicoproteína 1 IgG/IgM, AL, anti-RNP/Sm y anti-Sm).

Se realizó estadística descriptiva, análisis de regresión logística univariada y multivariada; se evaluó el rendimiento diagnóstico determinando la sensibilidad, especificidad, valores predictivos y razones de verosimilitud para los diferentes anticuerpos.

### III. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS:

La sobrevida en los pacientes con Lupus Eritematoso Generalizado (LEG) ha aumentado en los últimos años, esto debido al desarrollo de nuevas terapias y un seguimiento más estrecho de los pacientes. Las principales causas de muerte en este grupo de pacientes, como se observó en una cohorte caucásica prospectiva con 10 años de seguimiento, están relacionadas con eventos tromboticos e infecciones, en un porcentaje similar a las complicaciones asociadas a la actividad de LEG, siendo del 25% para cada una de las causas. En esta cohorte, la mortalidad asociada a eventos tromboticos fue mayor durante los últimos 5 años de seguimiento, siendo la principal causa de muerte durante este periodo.<sup>1</sup>

Varios estudios se han realizado en la última década para determinar la incidencia de eventos tromboticos, tanto arteriales como venosos, y la identificación de factores de riesgo asociados a trombosis en este grupo de pacientes. En 1996, Petri reportó la incidencia de eventos tromboticos en una cohorte prospectiva de 551 pacientes con LEG, con una tasa de incidencia de 2 por cada 100 años-persona, destacando una mayor incidencia de eventos arteriales comparado con reportes previos en pacientes con LEG. Además, se describió por primera vez un patrón bimodal de trombosis, en los que los eventos arteriales se presentaron de manera más temprana, a diferencia de las trombosis venosas que se presentaron en pacientes con mayor tiempo de evolución de la enfermedad, lo que sugería la presencia de diferentes factores de riesgo implicados en los 2 tipos de trombosis.<sup>2</sup>

En un primer estudio que reportó la incidencia anual de eventos tromboticos en pacientes con LEG de reciente diagnóstico (<1 año), Sarabi y colaboradores, incluyeron 544 pacientes con una mediana de seguimiento de 6.4 años (4210 años-paciente). Durante el seguimiento, 16% de los pacientes presentaron algún evento trombotico posterior al diagnóstico de LEG, de los cuales las trombosis arteriales fueron más frecuentes que las venosas (11% vs 6%, respectivamente). Además se observó que la mayoría de los eventos tromboticos se presentaron en los primeros 5 años del diagnóstico de LEG, y que el riesgo de eventos tromboticos arteriales se mantenía durante el seguimiento, sin embargo en el caso de las trombosis venosas los episodios se presentaron principalmente en los primeros 8 años. El riesgo estimado a 20 años de presentar eventos tromboticos fue de 33%<sup>3</sup>, cifra significativamente mayor a la reportada en estudios previos por Somers<sup>4</sup> (incidencia acumulada de 9%) y Brouwer<sup>5</sup> (incidencia 10% de trombosis venosa). Esta diferencia probablemente esté asociada a la población de pacientes con LEG que se incluyeron, siendo en el primer estudio de Sarabi y colaboradores una cohorte con LEG de reciente diagnóstico y en los otros 2 estudios se incluyeron para su análisis pacientes con LEG de mayor tiempo de evolución.

En una cohorte prospectiva multiétnica de pacientes con LEG (cohorte LUMINA) con una duración de la enfermedad <5 años que incluyó 570 pacientes, se reportó una tasa de incidencia de eventos tromboticos venosos de 26.8 por 1000 años-paciente, y de forma similar al estudio de Sarabi, la

mayoría de los eventos trombóticos venosos (81% de los eventos) se presentaron en los primeros 5 años de diagnóstico de LEG <sup>6</sup>.

Mok y colaboradores, estudiaron una cohorte prospectiva multiétnica de 625 pacientes con diagnóstico reciente de LEG ( $\leq 6$  meses de evolución) con seguimiento de 3,094 años-paciente. Reportaron una tasa de incidencia de 16 y 13 por cada 1000 años-paciente de trombosis arteriales y venosas, respectivamente. A diferencia de otros estudios como el de la cohorte multiétnica LUMINA (Lupus in Minorities: Nature versus nurture), no se identificaron como predictores significativos de trombosis arteriales la presencia de factores de riesgo tradicionales como la edad, tabaquismo, hipertensión arterial, diabetes mellitus. Si bien esta observación podría explicarse por el número de pacientes incluidos en el estudio y el tiempo relativamente corto de exposición a estos factores de riesgo ( $< 5$  años), causas por las cuales podrían haberse subestimado la contribución de estos factores en el desarrollo de las trombosis arteriales. Por otra parte, uno de los hallazgos relevantes fue la diferencia en la incidencia de trombosis entre los 3 grupos étnicos incluidos en la cohorte de pacientes. Así, el mayor riesgo acumulado de eventos arteriales durante el periodo de seguimiento fue en chinos (8.5%), comparado con afroamericanos (8.1%) y caucásicos (5.1%), a diferencia del caso de los eventos venosos, en los cuales el riesgo acumulado fue mayor en pacientes caucásicos (10.3%), comparado con afroamericanos (6.6%) y chinos (3.7%). Además en el análisis multivariado, la etnia China se identificó como un factor de riesgo independiente para trombosis arterial (HR 4.06 (1.56-10.6)). <sup>7</sup>

Otro estudio más reciente que incluyó una cohorte multiétnica de 1930 pacientes con LEG, evaluó de forma retrospectiva la prevalencia de eventos trombóticos y la asociación de ciertas variables con la presencia de trombosis. Se reportó al menos un evento trombótico en 20% de los pacientes y 2 o más eventos trombóticos en 6%. Los factores de riesgo asociados con mayor riesgo de trombosis fueron el tabaquismo (OR 1.26), duración de la enfermedad (OR 1.26 por cada 5 años), uso de inmunosupresores (OR 1.4), presencia de anticuerpos antifosfolípidos (OR 3.2). Además, se identificaron factores protectores, como una menor edad al momento del diagnóstico de LEG (OR 0.52), y el uso de hidroxiquina (OR 0.67), siendo éste este último hallazgo relevante por ser el primer estudio con un gran número de pacientes en corroborar esta asociación. <sup>8</sup> En el análisis de acuerdo a la etnia, se observó un menor riesgo de trombosis venosa en afroamericanos y de trombosis venosa profunda en asiáticos americanos, comparado con el grupo caucásico; corroborando los hallazgos reportados previamente por Mok. <sup>7</sup>

En cuanto a los pacientes con LEG en la población mexicana, en 2008 Romero y colaboradores realizaron un estudio derivado de una cohorte retrospectiva de pacientes con LEG en el que se evaluó la incidencia de eventos trombóticos venosos y arteriales, y se comparó con un grupo de pacientes con otras enfermedades autoinmunes. Se incluyeron 241 pacientes en cada grupo, con un seguimiento de 2936 pacientes-año. Se reportó una tasa de incidencia significativamente mayor en los pacientes con LEG comparado con el otro grupo (36.3 vs 3.8 por cada 1000 años-pacientes) y el diagnóstico de LEG fue la única variable que se asoció con un mayor riesgo (HR 11.2) para presentar eventos trombóticos, tanto arteriales como venosos. En el grupo de LEG, las trombosis venosas se asociaron con vasculitis y actividad de la enfermedad, mientras que las

trombosis arteriales se asociaron con dislipidemia, manifestaciones en sistema nervioso central y actividad de la enfermedad.<sup>9</sup> En comparación con los estudios previos e incluso la cohorte multiétnica LUMINA que incluyó un 19% de pacientes hispanos, la tasa de incidencia de trombosis fue mayor en esta cohorte mexicana de pacientes con LEG, destacando su relevancia como complicación durante el seguimiento de estos pacientes.

La gran variabilidad interétnica en la incidencia de eventos trombóticos arteriales en pacientes que no parece explicarse por factores de riesgo tradicionales, sugiere que existen otros factores implicados que podrían explicar las diferencias observadas entre las etnias.

La trombosis en los pacientes con LEG se asocia a diferentes mecanismos, que incluyen principalmente factores como la inflamación y la aterosclerosis y el daño endotelial. El papel de cada uno de estos mecanismos y su atribución como causa de eventos trombóticos en los pacientes con LEG puede variar con el curso de la enfermedad. Mediadores de la inflamación como citoquinas proinflamatorias, particularmente TNF- $\alpha$  y CD 40 ligando, pueden activar la cascada de coagulación al inducir la expresión de factor tisular en la superficie de leucocitos, aumentar los niveles de fibrinógeno, alterar la fibrinólisis y disminuir los mecanismos anticoagulantes naturales como la producción de antitrombina y trombomodulina, favoreciendo el desarrollo de trombosis. Además, la inflamación puede contribuir al aumento en el número de plaquetas y en la reactividad de las mismas, esto mediado por IL-6. Por otra parte, la activación plaquetaria también puede contribuir a la respuesta inflamatoria a través de la liberación de CD 40 ligando, el cual induce la síntesis de factor tisular y aumenta las concentraciones de citoquinas proinflamatorias como IL-6 e IL-8. Así mismo, factores anticoagulantes como antitrombina y proteína C activada tienen un papel regulador en la expresión de receptores celulares, señalización celular y producción de prostaciclina.<sup>10</sup>

En algunos estudios en pacientes con LEG, la mayoría de ellos de tipo retrospectivo, se ha observado una mayor actividad de la enfermedad al diagnóstico y durante el seguimiento de los pacientes que presentan eventos trombóticos, principalmente venosos. En estudio retrospectivo publicado recientemente, se reportó la tasa de incidencia de trombosis venosas: tromboembolia pulmonar (TEP) y trombosis venosa profunda (TVP), en una cohorte incipiente de 4863 pacientes con LEG, y se comparó con la incidencia en controles sin LEG, pareados por edad y sexo. En el análisis multivariado, se observó un mayor riesgo de presentar estas complicaciones trombóticas en pacientes con LEG, comparado con los controles; destacando un mayor riesgo de trombosis venosa durante el primer año de diagnóstico de la enfermedad, con un HR para TEP de 13.57 (IC 95% 7.66-24.02) y para TVP de 11.13 (IC 95% 6.55-18.9).<sup>11</sup>

En otro estudio reciente en población mexicana, realizado por Hinojosa y colaboradores, derivado de una cohorte prospectiva de 219 pacientes con LEG de reciente diagnóstico (<1 año) con un seguimiento de 1139 años-paciente, se reportó una alta tasa de incidencia de eventos trombóticos venosos y arteriales (tasa de incidencia 31/1000 pacientes-año), destacando la ocurrencia de los mismos durante el primer año del diagnóstico de LEG en el 57% de los eventos reportados, siendo las trombosis venosas las que se presentaron de forma más temprana (con una mediana de 11



meses del diagnóstico de LEG) y con mayor frecuencia, siendo del 77%. Los principales factores de riesgo identificados en el análisis multivariado para eventos venosos fueron la presencia de vasculitis cutánea (OR 4.21), síndrome nefrótico (OR 3.98), dosis de prednisona (OR 1.07) y la combinación de anticoagulante lúpico y antiRNP/Sm (OR 6.39).<sup>12</sup>

Así resulta relevante el hallazgo de una asociación entre la actividad de la enfermedad y la incidencia de eventos tromboticos ya que refleja un posible mecanismo fisiopatológico en los pacientes con LEG. Esta interacción entre la inflamación y la coagulación, siendo la primera un factor desencadenante de la segunda y a su vez, la segunda un factor perpetuante de la primera, podría ser la explicación a la alta incidencia de trombosis en los primeros años de diagnóstico de LEG, caracterizados por manifestaciones más graves y elevada actividad de la enfermedad

Entre los factores de riesgo para trombosis descritos en los pacientes con LEG destaca por su relevancia la presencia de anticuerpos antifosfolípidos, la cual se han reportado con una mayor prevalencia en pacientes con LEG (40-60% dependiendo de la metodología utilizada para su medición), comparado con la población general (2-5%).<sup>13</sup> Diversos mecanismos se han propuesto como contribuyentes al desarrollo de trombosis tanto arterial como venosa asociado a anticuerpos antifosfolípidos, siendo 2 los más importantes: la interferencia con los sistemas de coagulación dependiente de fosfolípidos y la unión a las superficies celulares induciendo su activación y subsecuente trombosis.<sup>14</sup>

La asociación de anticuerpos antifosfolípidos, particularmente anticoagulante lúpico (AL) y anti- $\beta$ 2 glicoproteína I (anti $\beta$ 2GP1), ha sido bien descrita en estudios previos, tanto en pacientes sin enfermedades autoinmunes concomitantes, como en pacientes con LEG, siendo la asociación en este grupo de pacientes de particular relevancia.<sup>15-17</sup>

Tektonidou y colaboradores realizaron un estudio prospectivo que comparó la incidencia de trombosis y factores de riesgo asociados a trombosis en pacientes con LEG con anticuerpos antifosfolípidos (sin eventos tromboticos previos) y LEG sin anticuerpos antifosfolípidos, se observó una mayor incidencia de eventos tromboticos en el primer grupo (20.1% vs 7.6%,  $p=0.003$ ), siendo el riesgo significativamente mayor en aquellos pacientes con presencia de los 3 subtipos de anticuerpos (anticardiolipina IgG/IgM, anti $\beta$ 2GP1 IgG/IgM y AL, conocido como triple marcador), asociado con un HR 6.3. Se reportó una asociación independiente con eventos tromboticos en pacientes con anticuerpos antifosfolípidos el sexo masculino, la presencia de anticoagulante lúpico y la positividad persistente de anticardiolipina. En este estudio, no se observó una asociación en este grupo de pacientes con factores de riesgo tradicionales u otras variables de laboratorio, incluyendo anti-DNA doble cadena (dc) y complemento.<sup>18</sup>

En un estudio prospectivo que incluyó 277 pacientes con LEG, se reportó la presencia de anticuerpos antifosfolípidos en al menos 1 determinación durante el seguimiento en 61% de los pacientes; sin embargo, sólo en la mitad de ellos la presencia de estos anticuerpos estaba asociado al antecedente de trombosis. Durante el seguimiento por 5 años, sólo 8 pacientes que tenían un perfil de antifosfolípidos negativo presentaron positividad para alguno de los anticuerpos, de los cuales 3 pacientes presentaron algún evento trombotico. Además se observó que en los pacientes

con anticuerpos antifosfolípidos y antecedente de trombosis, los niveles de anticuerpos se mantuvieron persistentemente elevados en el 45% de pacientes comparado con 20% en el grupo sin antecedente de trombosis, con una diferencia significativa ( $p < 0.001$ ).<sup>19</sup> Esta asociación entre la persistencia de los anticuerpos antifosfolípidos y el riesgo de trombosis en pacientes con LEG ya había sido reportada previamente por Danowski, pero en este último estudio los resultados se limitaron a describir la asociación de  $\alpha\beta 2\text{GP1}$ .<sup>20</sup> Los hallazgos de estos estudios destacan la importancia de la persistencia de los anticuerpos antifosfolípidos (AFP) como un factor de mayor riesgo para trombosis en los pacientes con LEG.

Sin embargo, no sólo la persistencia si no también el tipo y número de anticuerpos antifosfolípidos determinan el riesgo de trombosis. Diversos estudios sugieren que la combinación de diferentes anticuerpos antifosfolípidos son un mejor predictor de riesgo de eventos tromboticos que su presencia de forma aislada. Así, en 2011 Pengo y colaboradores, estudiaron 104 sujetos con un perfil de anticuerpos antifosfolípidos considerado de alto riesgo trombotico (triple marcador o positividad para anticoagulante lúpico, antiB2 glicoproteína I y anticardiolipinas), de los cuales 37% tenían diagnóstico de alguna enfermedad autoinmune, siendo LEG la más frecuente. Durante el seguimiento, se observaron 25 eventos tromboticos (5.3% por año), con una incidencia acumulada eventos tromboticos a 5 y 10 años de 27.3% y 37.1%, respectivamente.<sup>15</sup> Estos hallazgos corroboran observaciones previas, principalmente en estudios retrospectivos, como el publicado en 2007 por el mismo grupo de investigadores en el cual se reportó una incidencia acumulada de trombosis de 26.1% y 44.2% a los 5 y 10 años, respectivamente. Además, en este estudio que incluyó 166 pacientes, se observó una recurrencia de trombosis arterial en 68% y venosa en 59%, incluso con uso de anticoagulantes.<sup>21</sup>

Resulta interesante que no todos los pacientes con LEG y presencia de anticuerpos antifosfolípidos presentan eventos tromboticos, y por el contrario, no todos los eventos tromboticos en pacientes con LEG están relacionados con la presencia de anticuerpos antifosfolípidos. Esta observación sugiere que existen otros factores de riesgo en pacientes con LEG, además de la presencia de anticuerpos antifosfolípidos, que aumentan el riesgo de eventos tromboticos.

En este sentido, en el estudio multicéntrico con una cohorte multiétnica LUMINA, se identificaron como principales factores asociados a trombosis venosas el tabaquismo (HR 2.48), la edad al diagnóstico de LEG (HR 1.05), la actividad de la enfermedad (HR 1.1), la presencia de anticoagulante lúpico (HR 2.28) y la dosis promedio de glucocorticoide (HR 1.07). En este estudio destaca la ausencia de asociación entre otros anticuerpos antifosfolípidos diferentes a anticoagulante lúpico y eventos tromboticos, siendo éste el primer estudio en evaluar otros factores de riesgo asociados a trombosis venosa diferentes a la presencia de anticuerpos antifosfolípidos.<sup>6,21</sup>

Un estudio realizado por Brower en 2004, evaluó la contribución de defectos protromboticos hereditarios o adquiridos en pacientes con o sin anticuerpos antifosfolípidos y LEG para presentar eventos tromboticos arteriales y venosos. En este estudio de diseño transversal, que incluyó 144 pacientes con LEG, se observó una asociación entre la presencia de anticoagulante lúpico con

eventos trombóticos venosos y anticardiolipinas con trombosis arteriales, sin embargo sólo la mitad de los eventos trombóticos pudieron ser atribuidos a la presencia de anticuerpos antifosfolípidos. Esto posiblemente por la baja prevalencia reportada de anticoagulante lúpico y anticardiolipinas (8% y 9%, respectivamente), en esta serie de pacientes con LEG, a diferencia de estudios previos, que podría ser explicado por la sensibilidad de la prueba de laboratorio y los puntos de corte para considerar positividad para anticardiolipina (>40 UI). Por otra parte, en este estudio, destaca la prevalencia de defectos trombofílicos hasta el 61% de los pacientes, siendo los más frecuentes el factor V de Leiden y la mutación G20210A para el gen de protrombina, y demostrándose un aumento de riesgo de trombosis venosa hasta de 3.5 veces, aún en ausencia de anticuerpos antifosfolípidos.<sup>5</sup>

A diferencia del estudio de Brower, en 2007 Sallai realizó un estudio transversal de 102 pacientes con LEG e historia de eventos trombóticos en 21%, en el cual se evaluó el valor clínico del tamizaje de condiciones trombofílicas como factor V de Leiden o mutaciones en el gen de la protrombina en el riesgo de trombosis en pacientes con LEG. Se reportó una prevalencia similar a la reportada previamente para anticoagulante lúpico, anticardiolipina, anti $\beta$ 2 glicoproteína I, antifosfatidilserina y antifosfatidilinositol. Se observó que sólo el 30% de los pacientes con LEG con alguno de los AFP tenían antecedente de trombosis, mientras que en la presencia de algún factor de riesgo adicional este porcentaje se elevaba a 50%. Si bien las condiciones trombofílicas evaluadas (factor factor V de Leiden, mutaciones en el gen de la protrombina, deficiencia de proteína C y S, hiperhomocisteinemia, niveles de factor VIII, factor de Von Willebrand y actividad antitrombina) aumentaban significativamente el riesgo de trombosis en pacientes con LEG en ausencia de AFP, en presencia de los mismos el impacto de estas trombofilias fue menor a lo esperado. Una importante limitación del estudio, fue la falta de evaluación de otros factores de riesgo tradicionales como tabaquismo o dislipidemia que podrían contribuir en el riesgo trombótico.<sup>22</sup>

Estos estudios, sugieren que la presencia de anticuerpos antifosfolípidos no es el único determinante del riesgo trombótico en los pacientes con LEG y que otros factores adicionales, más allá de trombofilias y factores de riesgo tradicionales, podrían estar involucrados en un mayor de riesgo de trombosis en los pacientes con LEG.

En el estudio de Hinojosa y colaboradores, si bien se observó que el anticoagulante lúpico era el único anticuerpo asociado significativamente con eventos trombóticos venosos, asociación ya reportada en estudios previos, destaca la observación de un posible efecto aditivo del anticuerpo antiRNP/Sm en combinación con AL como factor asociado a este tipo de eventos trombóticos, con un valor predictivo negativo de 89.8% y una razón de verosimilitud de 6 (IC 95% 2.3-15.6). Esta observación, no reportada previamente, resulta interesante dada la fuerza de la asociación, siendo mayor que la presencia de AL de forma aislado o la presencia de triple marcador de anticuerpos antifosfolípidos.<sup>12</sup>

Si esta combinación de anticuerpos representa uno de los marcadores serológicos de eventos trombóticos en los pacientes con LEG deberá determinarse, ya que si ésta asociación es

confirmada permitirá la identificación de un subgrupo de pacientes con un mayor riesgo de eventos tromboticos, principalmente en los primeros años de evolución de la enfermedad.

#### **IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Los eventos tromboticos son una complicación frecuente en los pacientes con LEG, respecto a la población general, y se asocian con una importante morbilidad y daño acumulado, por lo que es necesaria la identificación de factores de riesgo para trombosis que permitan establecer una estrategia preventiva y un seguimiento más estrecho en estos pacientes.

#### **V. JUSTIFICACIÓN:**

En un estudio reciente realizado en población mexicana con LEG, se reportó una asociación significativa e independiente de anticoagulante lúpico y anti-RNP/Sm con eventos tromboticos venosos. Hasta el momento no existen estudios que hayan evaluado el papel de anti-RNP/Sm como factor de riesgo de trombosis, tanto en pacientes con LEG como en pacientes con otras enfermedades del tejido conectivo. Además, dada la presencia de estos anticuerpos en otras entidades reumatológicas, entre las que destaca principalmente la enfermedad mixta del tejido conectivo, resulta necesaria la validación de esta posible asociación en este grupo de pacientes

#### **VI. OBJETIVOS:**

##### **Objetivo principal**

- Validar la asociación entre la presencia de anti-RNP/Sm en combinación con anticoagulante lúpico y eventos tromboticos arteriales y/o venosos en pacientes con Lupus Eritematoso Generalizado

##### **Objetivos específicos**

- Determinar la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo y razón de verosimilitud para anti-RNP/Sm, anticoagulante lúpico y anti-RNP/Sm en combinación con anticoagulante lúpico para predecir eventos tromboticos, tanto arteriales como venosos en pacientes con Lupus Eritematoso Generalizado.

#### **VII. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Es posible confirmar si la presencia de antiRNP/Sm en combinación con anticoagulante lúpico es un factor de riesgo consistente e independiente de eventos tromboticos en pacientes con LEG?

## **VIII. HIPÓTESIS**

La presencia de antiRNP/Sm en asociación con anticoagulante lúpico es un factor de riesgo independiente de eventos tromboticos en pacientes con diagnóstico de Lupus Eritematoso Generalizado

## **IX. DISEÑO DEL ESTUDIO**

### **CARACTERÍSTICAS DEL ESTUDIO:**

Es un estudio de casos y controles, transversal y observacional.

## **X. METODOLOGÍA**

### **a) MÉTODO DE SELECCIÓN DE LA POBLACIÓN A ESTUDIAR:**

Se realizó una búsqueda en la base de datos del archivo del INCMNSZ para identificar aquellos pacientes clasificados por trombosis posterior al diagnóstico de Lupus Eritematoso Generalizado, que cuenten con seguimiento adecuado en la consulta externa del departamento de Reumatología, definido como al menos 2 visitas por año. Se revisaron los expedientes para verificar que cumplieran los criterios de inclusión y una vez identificados los pacientes elegibles, se recabó en el expediente clínico y electrónico la información de las siguientes variables: características demográficas (IMC, edad, sexo), comorbilidades, factores de riesgo para eventos tromboticos (cirugía reciente, tabaquismo, inmovilización por más de 7 días, uso de anticonceptivos orales, terapia hormonal sustitutiva), tratamiento (dosis de prednisona, uso de antimaláricos, uso de inmunosupresores, uso de aspirina) y variables relacionadas con la enfermedad (edad al diagnóstico de LEG, tiempo de evolución de LEG a la inclusión del estudio, número y tipo de criterios presentes al diagnóstico de LEG, tiempo de evolución de la enfermedad al momento del evento trombotico).

Además, se determinó la actividad de la enfermedad y daño acumulado al momento de la trombosis de forma retrospectiva utilizando las notas del expediente clínico y usando la escala Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2000 (SLEDAI 2K)<sup>23</sup> y SLICC/ACR-DI<sup>24</sup> modificado para excluir variables relacionadas con trombosis, respectivamente.

Por cada caso, se seleccionó a 1 control con diagnóstico de Lupus Eritematoso Generalizado sin eventos tromboticos, pareados por edad, género y tiempo de evolución de LEG al momento de la inclusión. Para las variables dependientes de tiempo (actividad de la enfermedad, daño acumulado, tratamiento, factores de riesgo para trombosis), la determinación se realizó al momento de la trombosis en el grupo de casos; en el grupo control se identificó de forma aleatoria una fecha en el seguimiento ("Dummy Date").

Se invitó a los pacientes a participar al momento de acudir a su consulta de seguimiento de reumatología; aquellos que aceptaron participar se les tomó una muestra de sangre, previa firma de consentimiento informado, para determinación de antiRNP/Sm, antiSm, anticardiolipina IgM/IgG, antiβ2glicoproteína 1 IgM/IgG, y anticoagulante lúpico, mismos que fueron procesados en el laboratorio de Inmunología y Hematología del mismo Instituto.

## b) CÁLCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA

Se empleó una fórmula para cálculo de muestra en estudios de casos y controles<sup>25</sup>:

$$n = \frac{\left( z_{1-\frac{\alpha}{2}} \sqrt{(c+1)p(1-p)} + z_{1-\beta} \sqrt{c p_1(1-p_1) + p_2(1-p_2)} \right)^2}{c (p_1 - p_2)^2}$$

Donde  $P_1$  = frecuencia de exposición entre los casos.

$$P_1 = \frac{w p_2}{(1 - p_2) + w p_2}$$

$w$  = OR previsto, en este caso 6.5 de acuerdo a los observado en la cohorte de población mexicana<sup>4</sup>

$P_2$  = frecuencia de exposición entre los controles, en este caso la prevalencia de antiRNP/Sm en combinación con anticoagulante lúpico en pacientes con LEG sin trombosis fue de 4% (0.04)<sup>4</sup>

Para un nivel de seguridad del 95% y potencia estadística de 80%:

$$z_{1-\frac{\alpha}{2}} = 1.96$$

$$z_{1-\beta} = 0.8$$

De esta forma se calculó una muestra de 63 casos por grupo, esperando un 10% de pérdidas.

## a) DEFINICIÓN DE CASO

### Criterios de inclusión:

Se incluyeron en el estudio pacientes >18 años, de ambos sexos, con registro en el Instituto y diagnóstico de Lupus Eritematoso Generalizado de acuerdo a los criterios del American College of Rheumatology<sup>26</sup> ( $\geq 4$  criterios), con antecedentes de trombosis posterior al diagnóstico de LEG,

documentada en el Instituto y con un seguimiento estrecho definido como al menos 2 consultas al año.

Se consideró como evento trombótico a la presencia de manifestaciones clínicas sugerentes y la confirmación del diagnóstico por hallazgos compatibles en al menos 1 de los siguientes estudios, según fuera el caso: ultrasonido Doppler, venografía/arteriografía, gammagrama ventilación/perfusión, resonancia magnética, angiotomografía computarizada, coronariografía o ecocardiograma y biopsia.

La definición de trombosis venosa incluyó la presencia de trombosis venosa profunda en extremidades, trombosis de seno venoso, trombosis de vena central de la retina, trombosis venosa visceral y tromboembolia pulmonar. Los eventos trombóticos arteriales incluyeron la presencia de evento vascular cerebral o ataque isquémico transitorio, infarto agudo de miocardio, trombosis arterial periférica y trombosis arterial en órgano blanco.

## **b) DEFINICIÓN DE CONTROL**

Se definió como controles, aquellos pacientes con diagnóstico de LEG sin antecedente de eventos trombóticos que cuenten con seguimiento en la consulta externa del departamento de Reumatología (al menos 2 visitas por año). Por cada caso, se seleccionó a 1 control pareado por edad, género y tiempo de evolución de la enfermedad.

### **Criterios de exclusión:**

Se excluyeron aquellos pacientes que presentaban las siguientes condiciones:

- Evento trombótico arterial o venoso previo al diagnóstico de LEG
- Pacientes que reciban anticoagulantes orales o parenterales previo al diagnóstico de LEG
- Pacientes con alguna neoplasia activa o antecedente de cáncer previo al evento trombótico
- Pacientes con síndromes protrombóticos conocidos, como factor V de Leiden, mutación G20210A para gen protrombina, hiperhomocisteinemia, deficiencia de proteína C y S.
- Pacientes con otras enfermedades reumatológicas o con enfermedad mixta del tejido conectivo.
- Aquellos pacientes que cuyo expediente clínico esté incompleto o no tengan un seguimiento estrecho en la consulta externa

## **c) DESCRIPCIÓN DE LAS TÉCNICAS DE MEDICIÓN**

Posterior a la toma de sangre, las muestras se almacenaron a -70°C para su posterior determinación en un solo momento. La determinación de anticuerpos se realizó en el laboratorio del Departamento de Inmunología y Hematología con las técnicas estandarizadas. Los anticuerpos

anti-Sm y anti-RNP/Sm se determinaron por ELISA (Orgentec Diagnostika gmbh), así como los anticuerpos anticardiolipinas IgG/IgM y antiβ2 glicoproteína 1 IgG/IgM (INOVA Diagnostics). Se consideraron como positivos para anticardiolipinas IgG/IgM y antiβ2GP1 IgG/IgM los valores mayores a la percentila 99 y para anti-RNP/Sm y anti-Sm valores mayores a la percentila 95. Para la determinación de AL se utilizaron 2 pruebas de acuerdo a las recomendaciones del Consenso Internacional de los criterios de clasificación de síndrome antifosfolípidos<sup>27</sup>, incluyendo la prueba coagulométrica basada en el tiempo de veneno de víbora de Russell diluido y una prueba confirmatoria (*Silica clotting time test*). Se almacenaron los sueros a -70 grados para estudios posteriores.

## **XI. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Se utilizó estadística descriptiva. Las variables categóricas se describen mediante frecuencia y proporciones y las continuas por medias y desviación estándar o medianas e intervalos mínimo y máximo. Para comparar grupos, se utilizó  $\chi^2$  o prueba exacta de Fisher para variables categóricas y U de Mann-Whitney o t de Student para variables continuas, según el caso. Se consideró como significativo un valor de  $p \leq 0.05$ .

Se realizaron análisis univariados comparando subgrupos de pacientes con y sin trombosis, con trombosis temprana y tardía, arterial o venosa, así como pacientes con anticuerpos (anti-RNP/Sm, AL, y la combinación de estos dos anticuerpos) positivos o negativos. Posteriormente se realizaron análisis de regresión logística univariada y análisis multivariados, incluyendo aquellas variables significativas en los análisis univariados (presentes en al menos 20% de los pacientes, con  $p \leq 0.10$ ). Los resultados se expresaron como OR con intervalos de confianza del 95% (IC 95%).

Se calculó la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo y razón de verosimilitud con IC 95% para los distintos anticuerpos y combinaciones para establecer su rendimiento diagnóstico en trombosis.

Se realizaron curvas ROC y se determinó el área bajo la curva para la presencia de anticuerpos individuales y en combinación.

## **XII. RESULTADOS**

Se incluyeron 63 casos y 63 controles, pareados por edad, sexo y tiempo de evolución de la enfermedad. Ochenta y ocho por ciento de los pacientes fueron mujeres, con una mediana de edad al momento de la inclusión al estudio de 40 años (18-69 años) y una mediana de tiempo de evolución de la enfermedad de 135 meses (3-523 meses). Como se planeó de acuerdo al pareamiento, no se observaron diferencias significativas en edad, sexo y tiempo de evolución de la enfermedad entre los 2 grupos ( $p=NS$ ).

En cuanto a los factores de riesgo tradicionales, se determinó un IMC promedio  $25.7 \pm 5.6$ , sin diferencia entre ambos grupos. La prevalencia de los factores de riesgo tradicionales para trombosis fue baja, presentándose en menos de un tercio de los pacientes (tabaquismo 6%,



diabetes mellitus 3%, dislipidemia 17%, hipertensión arterial sistémica 20% e insuficiencia cardiaca congestiva 2%). Únicamente 1 paciente tenía antecedente de uso de tratamiento de reemplazo hormonal en el grupo control y 1 paciente con exposición a anticonceptivos orales en el grupo de trombosis (p=NS).

No se observaron diferencias significativas en ninguno de los factores de riesgo tradicionales para trombosis entre ambos grupos. En la tabla 1 se presentan las características demográficas y factores de riesgo tradicionales para trombosis para todos los pacientes y cada uno de los grupos.

Características de la enfermedad: La mediana de edad al diagnóstico de LEG fue de 26 años (13-60), siendo similar en ambos grupos (26 años (13-60) vs 26 años (13-56), p=0.96). En el grupo de trombosis se observó tendencia a un mayor número de criterios de LEG al diagnóstico comparado con el grupo control (5 vs 4 criterios, p=0.06) aunque no se observaron diferencias significativas en cada uno de los criterios. Tampoco se observó una diferencia significativa en la prevalencia de síndrome antifosfolípidos obstétrico entre el grupo de trombosis y el grupo control (6% vs 3%, p=0.68). En la tabla 2 se presentan las principales características de la enfermedad al diagnóstico para ambos grupos.

Características serológicas: En el grupo de pacientes con trombosis se observó una mayor frecuencia de positividad de anti-RNP/Sm (83% vs 62%) con una diferencia significativa (p=0.001). Por el contrario, los títulos de anti-RNP/Sm fueron similares en ambos grupos, con una mediana de 8.4 (6.4-588.7) y 7.7 (3.7-851.2), p=0.017, respectivamente. No se observaron diferencias en la positividad para anti-Sm (78% vs 67%, p=0.23), anticardiolipina IgM (17% vs 6%, p=0.09), antiβ2GP1 IgM (16% vs 5%, p=0.07) y presencia de doble marcador antifosfolípido (17% vs 11%, p=0.44). A pesar de no observarse diferencias en el porcentaje de positividad para estos anticuerpos, sí se observaron diferencias significativas en los títulos de anticardiolipina IgM, siendo más altos en los pacientes con trombosis. En los pacientes con trombosis se presentó una mayor prevalencia de positividad para antiβ2GP1 IgG (21% vs 13%, p=0.03), AL (62% vs 19%, p<0.001) y triple marcador antifosfolípido (17 vs 2%, p=0.04). En el caso de la combinación anti-RNP/Sm más AL, se observó un mayor porcentaje de positividad en los pacientes del grupo de trombosis comparado con el grupo control (52% vs 14%, p<0.001). En la tabla 3 se resumen estos resultados.

Características clínicas y serológicas al momento de la trombosis: La mediana de tiempo de evolución de la enfermedad a la trombosis fue de 37 meses (0-311) en los casos, y la mediana de tiempo de evolución a la dummy date fue de 57 meses (1-309) en los controles (p=0.002). Al momento de la trombosis, los pacientes tenían mayor actividad de la enfermedad medida por SLEDAI-2K, con una mediana de SLEDAI-2K de 4 (0-31) comparado con el grupo control 0 (0-14), siendo estadísticamente significativo (p<0.001). Por el contrario, no se observaron diferencias en el daño acumulado medido por SLICC en los pacientes con trombosis y el grupo control (0 (0-4) vs 2 (0-3), p=0.51). De forma análoga a la actividad de la enfermedad, se observó un mayor porcentaje de pacientes del grupo de trombosis con uso de prednisona (78% vs 48%, p=0.001) y una dosis significativamente más alta al momento de la trombosis comparada con el grupo control (15 mg (1-100) vs 7.5 mg (2-5-52.5) , p=0.0004). No se observaron diferencias en el uso de otros

fármacos como antimaláricos ( $p=0.07$ ), antiagregantes ( $p=1.00$ ) azatioprina ( $p=1.00$ ), ciclofosfamida ( $p=1.00$ ) y mofetil micofenolato (0.18), excepto en metotrexate (2% vs 13%,  $p=0.03$ ). La tabla 4 concentra estos datos.

Descripción de los eventos trombóticos: Entre los 63 pacientes con trombosis Los eventos trombóticos más frecuentes fueron del tipo venoso, constituyendo 2 /3 (68%) de las trombosis. Las trombosis arteriales se presentaron en 20 pacientes (32%), siendo el tipo específico más frecuente los eventos vasculares cerebrales (EVC) y ataque isquémico transitorio (AIT) los cuales se presentaron en 16 pacientes (25%). Otros tipos de trombosis arteriales observadas fueron infarto agudo de miocardio (IAM) en 3 pacientes, trombosis arterial periférica y trombosis arterial renal en 1 paciente cada uno.

La trombosis venosa profunda (TVP) fue el tipo de trombosis más frecuente, reportada en casi un tercio de los pacientes ( $n=19$ , 30%). El segundo tipo de trombosis venosa más frecuente fue la tromboembolia pulmonar (TEP), observada en 8 pacientes (13%). En 5 pacientes se reportaron 2 eventos trombóticos venosos simultáneos (TVP+TEP) durante el mismo episodio; no se observaron eventos trombóticos venosos y arteriales simultáneos. Otro tipos de trombosis venosas fueron menos frecuentes: trombosis vena central de la retina 8% ( $n=5$ ), trombosis de seno venoso 5% ( $n=3$ ) y trombosis venosa visceral 5% ( $n=3$ ).

Previo al evento trombótico, 11 pacientes habían tomado antiagregantes y 2 pacientes habían tomado anticoagulantes a dosis profilácticas. Posterior al evento de trombosis la mayoría de los pacientes (89%) recibieron anticoagulación total con antagonistas de vitamina K.

Durante el seguimiento, se documentaron al menos un nuevo episodio de trombosis en 19% de los pacientes ( $n=12$ ), siendo el tipo más frecuente trombosis venosas (75%). Los 2 tipos específicos más frecuentes fueron TVP (33%) y TEP (33%), seguidas de EVC o TIA (17%). Además, el 75% de los pacientes que presentaron nuevos eventos trombóticos estaban tomando anticoagulantes orales.

No se observaron diferencias en el porcentaje de positividad para la combinación de anti-RNP/Sm + AL en los pacientes con trombosis venosa ( $n=41$ ) comparado con los pacientes con trombosis arterial ( $n=20$ ), con una frecuencia para esta combinación de 56% y 45%, respectivamente ( $p=0.58$ ). La tabla 5 resume estos resultados.

Trombosis temprana vs trombosis tardía: Se clasificaron los eventos trombóticos en aquellos que se presentaron de forma temprana en la evolución de la enfermedad ( $\leq 37$  meses de evolución de LEG) y los que se presentaron tardíamente ( $>37$  meses), de acuerdo a la mediana de tiempo al evento en la población. La edad al diagnóstico de LEG fue similar en los pacientes que presentaron trombosis temprana ( $n=32$ ) comparada con los que presentamos trombosis tardía ( $n=31$ ), con una mediana de 25 años (15-55) y 29 años (13-60), respectivamente ( $p=0.71$ ). Por el contrario, sí se observó una diferencia en la edad al momento de la trombosis, siendo los pacientes con trombosis temprana más jóvenes (25 años (15-55) vs 39 años (20-65),  $p=0.0005$ ). Además, los pacientes con trombosis temprana presentaban mayor actividad de la enfermedad al momento de la trombosis medido por SLEDAI-2K (6(0-31) vs 2 (0-14),  $p<0.0001$ ) y menor daño acumulado por SLICC (0 (0-1)

vs 0 (0-4),  $p=0.03$ ). Si bien el porcentaje de uso de prednisona al momento de la trombosis fue igual en ambos grupos (78% en los 2 grupos), la dosis fue significativamente más alta en pacientes con trombosis temprana comparada con trombosis tardía (40 mg (5-100) vs 10 mg (1-60),  $p=0.003$ ). No se observaron diferencias en el uso de otros inmunosupresores ni tampoco en la positividad para los diferentes anticuerpos: anti-RNP/Sm ( $p=1.00$ ), anti-Sm ( $p=0.55$ ), anticardiolipina IgG ( $p=0.27$ ), anticardiolipina IgM ( $p=0.75$ ), anti $\beta$ 2GP1 IgG ( $p=0.26$ ), anti $\beta$ 2GP1 IgM ( $p=0.73$ ) y AL ( $p=0.43$ ). La presencia de doble marcador (13% vs 23%,  $p=0.33$ ), triple marcador (13% vs 23%,  $p=0.33$ ) y la combinación de anti-RNP/Sm más AL (47% vs 58%,  $p=0.44$ ), fue similar en ambos grupos. En la tabla 6 se presentan las características de los pacientes con trombosis temprana y tardía.

Trombosis arterial vs trombosis venosa: Al clasificar a los pacientes dependiendo del tipo de trombosis, se observó que los pacientes con trombosis venosas ( $n=43$ ) tenían un menor tiempo de evolución de la enfermedad, con una mediana de 9 meses, comparado con las trombosis arteriales ( $n=20$ ) con una mediana de 75 meses ( $p=0.01$ ). Además se observó una mayor dosis de prednisona al momento de la trombosis en pacientes con trombosis venosas comparado con el grupo de trombosis arteriales (23 mg (1-100) vs 10 mg (5-60),  $p=0.04$ ). No se observaron diferencias en el porcentaje o los títulos de anticuerpos, incluyendo anti-RNP/Sm (81% vs 85%,  $p=1.00$ ), AL (66% vs 55%,  $p=0.57$ ) y la combinación anti-RNP/Sm más AL (56% vs 45%,  $p=0.58$ ) en pacientes con trombosis venosas y arteriales respectivamente.

En el grupo de los pacientes con trombosis arteriales ( $n=20$ ), se observó que presentaban mayor actividad de la enfermedad por SLEDAI-2K (4 (0-20) vs 0 (0-14),  $p=0.009$ ) y uso más frecuente de prednisona al momento de la trombosis/dummy date (85% vs 48%,  $p=0.004$ ), comparado con pacientes sin trombosis ( $n=63$ ). Además en este grupo de pacientes con trombosis arteriales se observó una tendencia a un mayor porcentaje de positividad de anti-RNP/Sm (85% vs 62%,  $p=0.06$ ), anticardiolipina IgM (25% vs 6%,  $p=0.03$ ), anti $\beta$ 2GP1 IgG (30% vs 6%,  $p=0.01$ ), AL (55% vs 19%,  $p=0.003$ ), triple marcador (20% vs 2%,  $p=0.01$ ) y la combinación anti-RNP/Sm más AL (45% vs 14%,  $p=0.01$ ) respecto a los pacientes sin trombosis.

En cuanto a los pacientes con trombosis venosas ( $n=43$ ), se observó un menor tiempo de evolución de la enfermedad (9 meses vs 57 meses,  $p<0.001$ ), mayor actividad de la enfermedad (SLEDAI-2K 4 (0-31) vs 0 (0-14),  $p<0.0001$ ), dosis más altas de prednisona (23 mg (1-100 mg) vs 7.5 mg (2.5-53 mg),  $p=0.0001$ ) y menor uso de antimaláricos (42% vs 57%,  $p=0.009$ ), comparado con pacientes sin trombosis ( $n=63$ ). De manera similar a las trombosis arteriales, la frecuencia de los diferentes anticuerpos evaluados fue más alta en el grupo de trombosis venosas: anti-RNP/Sm (81% vs 62%,  $p=0.03$ ), anticardiolipina IgG (30% vs 11%,  $p=0.02$ ), cualquiera de los isotipos de anti $\beta$ 2GP1 (26% vs 8%,  $p=0.02$ ), AL (66% vs 19%,  $p<0.0001$ ), triple marcador (16% vs 2%,  $p=0.007$ ) y anti-RNP/Sm más AL (56% vs 14%,  $p<0.0001$ ).

En la tabla 7, 8 y 8.1 se resumen las características en los pacientes con trombosis arteriales y venosas

Características de los pacientes con anti-RNP/Sm positivo y negativo: Al analizar a los pacientes de acuerdo a la positividad a anti-RNP/Sm (anti-RNP/Sm positivo n=91 y anti-RNP/Sm negativo n=35), se observó una diferencia en el tiempo de evolución de la enfermedad, con un menor tiempo de evolución en los pacientes con anti-RNP/Sm positivo (110 meses vs 164 meses, p=0.03). No se observaron diferencias en otras características demográficas diferentes al sexo ni en la prevalencia de factores de riesgo tradicionales para trombosis. En el grupo de pacientes con anti-RNP/Sm positivo se observó un mayor porcentaje de trombosis (57% vs 31%, p=0.01), mayor actividad de la enfermedad por SLEDAI-2K (2 (0-31) vs 0 (0-20), p=0.005) y mayor frecuencia de uso de prednisona (70% vs 43%, p=0.007). Este análisis se resume en la tabla 9.

Características de los pacientes con AL positivo y negativo: De manera similar a los pacientes con anti-RNP/Sm positivo, en el grupo de pacientes con AL positivo (n=50) se observó un mayor porcentaje de trombosis (76% vs 31%, p<0.0001) y mayor actividad de la enfermedad por SLEDAI-2K (4 (0-31) vs 2 (0-16), p=0.03) respecto a los pacientes con AL negativo (n=74). La frecuencia en el uso de prednisona entre los 2 grupos fue similar (66% vs 59%, p=0.57), sin embargo los pacientes del grupo de AL positivo utilizaban una dosis más elevada de prednisona (15 mg (2.5 - 100) vs 10 (1-60), p=0.008). A diferencia de los pacientes con anti-RNP/Sm positivo, los pacientes del grupo de AL positivo presentaron un mayor tiempo de evolución de la enfermedad que los pacientes con AL negativo, aunque sin alcanzar la significancia estadística (167 meses (3-523) vs 117 meses (6-456), p=0.09). Además en el grupo de AL positivo se observó un mayor porcentaje de positividad para antiRNP/Sm (84% vs 65%, p=0.02), anticardiolipina IgG (38% vs 7%, p<0.0001) y antiβ2GP1 IgG (24% vs 7%, p=0.008). Esta información se resume en la tabla 10.

Características de los pacientes con anti-RNP/Sm más AL positivo: Al clasificar a los pacientes de acuerdo a la presencia de la combinación anti-RNP/Sm más AL positivo (n=41) o la ausencia (n=83), no se observaron diferencias en el género, tiempo de evolución de la enfermedad y factores de riesgo tradicionales, excepto por dislipidemia, siendo más frecuente en los pacientes sin esta combinación de anticuerpos (5% vs 24%, p=0.01). De manera similar a los grupo con AL positivo y anti-RNP/Sm positivo, se observó un mayor porcentaje de trombosis (78% vs 35%, p<0.0001), mayor actividad de la enfermedad (SLEDAI-2K 4 (0-31) vs 2 (0-20), p=0.004) y dosis más altas de prednisona al momento de la trombosis/dummy date (15 mg (2.5-100) vs 10 mg (1-60) , p=0.05). También se observó un mayor porcentaje de positividad para anticardiolipina IgG (37% vs 11%, p=0.001), antiβ2GP1 IgG (24% vs 8%, p=0.02) y antiβ2GP1 IgM (20% vs 6%, p=0.03). Estos datos se resumen en la tabla 11.

Análisis de regresión logística univariado: En el análisis de regresión logística univariado se identificó una asociación de trombosis con la actividad de la enfermedad determinada por SLEDAI-2K (OR 1.22, IC 95% 1.09-1.35, p<0.001), positividad para AL (OR 2.91, IC 95% 3.10-15.85, p<0.001), anti-RNP/Sm (OR 2.9, IC 95% 1.27-6.64, p=0.01), triple marcador antifosfolípido (OR 6.62, IC 95% 2,78-15.74, p<0.001) y la combinación anti-RNP/Sm más AL (OR 5.84, IC 95% 2.51-13.57, p<0.001). Estos datos se resumen en la tabla 12.

## Análisis Multivariados

En el análisis multivariado de los pacientes con trombosis (Tabla 13) se identificaron como factores independientes para este desenlace un mayor puntaje de SLEDAI-2K (OR 1.22 (IC 95% 1.08-1.36,  $p=0.001$ ), la positividad para cualquier isotipo de anticardiolipinas (OR 3.85 (IC 95% 1.36-10.92,  $p=0.01$ ), y la combinación de anti-RNP/Sm más AL (OR 4.4 (IC 95% 1.72-11.47,  $p=0.002$ ).

En el análisis multivariado de los pacientes con anti-RNP/Sm positivo y negativo, se identificó a la presencia de anti-RNP/Sm como factor de riesgo independiente para serositis (OR 5.03 (IC 95% 1.48-17.04,  $p=0.009$ ) y para presentar positividad de AL (OR 3.76 (IC 95% 1.23-11.51,  $p=0.02$ ). La presencia de AL positivo se asoció independientemente con un mayor riesgo de trombosis (OR 6.8 (IC 2.81-16.46,  $p<0.0001$ ).

Rendimiento diagnóstico de los anticuerpos en trombosis: Para evaluar el rendimiento diagnóstico de la positividad cada uno de los anticuerpos o combinaciones (anti-RNP/Sm, AL, doble marcador, triple marcador y la combinación anti-RNP/Sm más AL) en trombosis, se calculó la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP), valor predictivo negativo (VPN) y la razón de verosimilitud positiva (LR +) y negativa (LR -).

En el caso de todas las trombosis, para la combinación de anti-RNP/Sm más AL se calculó una sensibilidad 52%, especificidad 86%, VPP 78% y VPN 65%. El LR + fue más elevado que para la presencia de AL individualmente (3.67 (IC 95% 1.92-7.04) vs 3.27 (IC 95% 1.9-5.64)), así mismo, el LR - fue discretamente más elevado para la combinación de anticuerpos que para AL (0.55 (IC 95% 0.42-0.74) vs 0.47 (IC 95% 0.33-0.66)). La presencia de triple marcador antifosfolípidos se asoció con la mayor especificidad (98%), mayor VPP (92%) y mayor LR + (11.36 (IC 95% 1.51-85.35)). Por el contrario, la presencia de anti-RNP/Sm individualmente tuvo la mayor sensibilidad (83%) y VPN (69%), pero una baja especificidad (38%), y aunque se calculó un LR + significativo (1.33 (IC 95% 1.07-1.67)) fue el más bajo de todos los anticuerpos.

Para trombosis venosa y arterial, el rendimiento diagnóstico fue similar para todos los anticuerpos, siendo consistente un mayor LR+ en triple marcador antifosfolípido (10.26 para trombosis venosa y 12.6 para trombosis arterial) y una mayor sensibilidad para anti-RNP/Sm (81% trombosis venosa y 85% trombosis arterial). Para la combinación de anti-RNP/Sm más AL, en el caso de trombosis venosa se calculó una sensibilidad 56%, especificidad 84%, VPP 70%. VPN 75%, LR + 3.53 (1.88-6.63) y LR - 0.52 (0.36-0.75). En trombosis arterial, se calculó una sensibilidad 45%, especificidad 84%, VPP 47%, VPN 83, LR+ 2.84 (1.34-5.98) y LR - 0.65 (0.43-0.99).

En la tabla 14,15 y 16 se presenta la evaluación del rendimiento diagnóstico de los anticuerpos en trombosis general, trombosis venosa y arterial, respectivamente.

Curvas ROC: Se calculó el área bajo de la curva ROC para los diferentes anticuerpos. En las figuras 1, 2 y 3 se presentan las curvas ROC para los diferentes anticuerpos y combinación de los mismos para todas las trombosis, trombosis venosas y trombosis arteriales, respectivamente.

### XIII. DISCUSIÓN

La trombosis es una complicación frecuente en pacientes con LEG y representa una causa importante de morbilidad y mortalidad, tanto de forma temprana o tardía en la evolución de la enfermedad. Se han sugerido diversos factores implicados en un mayor riesgo de trombosis en pacientes con LEG, entre los que destaca la actividad de la enfermedad, la presencia de algunas manifestaciones como vasculitis y síndrome nefrótico, uso de inmunosupresores (en particular dosis altas de esteroides), y factores de riesgo tradicionales (tabaquismo, dislipidemia, diabetes mellitus). Entre los factores de riesgo más estudiados se incluyen los anticuerpos antifosfolípidos, los cuales han mostrado una fuerte asociación con el riesgo de eventos trombóticos en pacientes con LEG<sup>15-17</sup>, particularmente la positividad para AL,, anticuerpo que contribuye pero no es suficiente para el desarrollo de trombosis en este grupo de pacientes. Por tal motivo se han evaluado otros posibles factores de riesgo implicados en el desarrollo de trombosis.. Además, derivado de observaciones realizadas hace 2 décadas en *una cohorte prevalente* de pacientes con LEG en la que se describió un patrón bimodal de presentación de trombosis, se ha sugerido que existen diferentes factores implicados en el desarrollo de eventos trombóticos tempranos, siendo la mayoría de ellos venosos, y trombosis tardías, la mayoría de ellas en territorios arteriales.

Los hallazgos del presente estudio corroboran los datos reportados previamente por Romero<sup>9</sup> e Hinojosa<sup>12</sup> en población mexicana, en los que se reportó una asociación independiente con la actividad de la enfermedad al momento de la trombosis (medida por SLEDAI-2K), resaltando la importancia y consistencia de este factor de riesgo para trombosis, descrito tanto en una cohorte incipiente como en una cohorte prevalente de LEG.

A diferencia de estudios previos como la cohorte LUMINA<sup>6,21</sup>, el estudio de Kaiser<sup>9</sup>, e incluso el estudio derivado de una cohorte incipiente por Hinojosa<sup>12</sup>, no se observó una asociación entre los factores de riesgo tradicionales como tabaquismo y dislipidemia y el desarrollo de trombosis, si bien esta asociación pudo haberse subestimado debido a la baja prevalencia de estos factores de riesgo en los pacientes incluidos. Tampoco se observó asociación con otros factores relacionados a la enfermedad, tales como vasculitis cutánea o síndrome nefrótico. Por el diseño del estudio y las variables de pareamiento, no fue posible evaluar el tiempo de evolución de la enfermedad como factor de riesgo para desarrollar trombosis, como se ha observado en estudios previos. Sin embargo, sí se observó la misma distribución de acuerdo al tipo de trombosis, siendo el 80% de las trombosis tempranas del tipo venoso, y la mayoría de las trombosis en territorio arterial se presentó de manera más tardía..

En este estudio de casos y controles en pacientes con LEG se evaluó por primera vez una posible asociación entre la presencia de anti-RNP/Sm más AL como factor de riesgo para trombosis en pacientes con LEG. Esta asociación había sido reportada previamente en el estudio de Hinojosa<sup>12</sup>, destacando una razón de verosimilitud elevada (6.39), incluso más alta que la calculada para AL y triple marcador antifosfolípido, con una alta especificidad (96.2%) y VPN (89.8%). Esta asociación fue independiente y significativa en pacientes con trombosis venosa (OR 6), sin poder corroborarse para trombosis arteriales debido al bajo número de eventos observados. En nuestro

estudio, la presencia de la combinación de anti-RNP/Sm más AL fue más frecuente en pacientes con trombosis comparada con los pacientes sin eventos tromboticos. El análisis de regresión logística univariado mostró una asociación entre trombosis y la presencia de anti-RNP/Sm (OR 2.9, IC 95% 1.27-6.64,  $p=0.01$ ), sin embargo en el análisis multivariado esta asociación no resultó significativa. En cuanto a la combinación de anti-RNP/Sm más AL, se observó una asociación con trombosis tanto en el análisis de regresión logística univariada, como en el análisis multivariado, corroborando esta asociación independiente con trombosis en pacientes con LEG.

A diferencia del estudio de Hinojosa<sup>12</sup> en el que se midieron los niveles de anticuerpos de manera basal y previo al evento trombotico, la determinación de anticuerpos se realizó al momento de la inclusión de los pacientes, con una mediana de tiempo de evolución de LEG de más de 10 años. A pesar de la variabilidad en la determinación de los anticuerpos entre ambos estudios, la prevalencia de anti-RNP/Sm fue similar y se observó una diferencia significativa en el porcentaje de positividad entre los pacientes con y sin trombosis. Además, si bien el diseño del estudio no permite determinar la persistencia de los anticuerpos ya que sólo se realizó una determinación de los mismos, la positividad para anti-RNP/Sm y su combinación con AL en pacientes observada en pacientes con diferente tiempo de evolución, sugiere persistencia de estos anticuerpos a lo largo de la evolución de LEG en este grupo de pacientes. Si esta persistencia está relacionada de manera independiente con un mayor riesgo de trombosis deberá evaluarse en una cohorte prospectiva.

Los anticuerpos anti-RNP tienen como antígenos blanco al menos 3 proteínas: U1 (70 kDa), proteína A (33 kDa) y proteína C (22 kDa).<sup>29</sup> La presencia de anti-RNP, específicamente anti U1-RNP es considerado patognomónico de la enfermedad mixta de tejido conectivo, pero también puede estar presente en otras enfermedades autoinmunes, como LEG, en la que se ha reportado una prevalencia entre 25-47%. La variabilidad en su frecuencia entre las diferentes etnias ha sido reportada recientemente en un estudio de una cohorte multiétnica de 624 pacientes con LEG, siendo más frecuente en Afrocaribeños, con una prevalencia de 53% en este grupo étnico, comparado con 30.3% en caucásicos europeos y 28.6% en asiáticos<sup>31</sup>. En el caso de la población de LEG incluida en nuestro estudio, se observó una mayor frecuencia de positividad para anti-RNP/Sm a la esperada, incluso más elevada que la reportada en estudios de cohortes multiétnicas, tales como el realizado por Weckerle y colaboradores, quienes describieron la presencia de anti-RNP/Sm en 21% de pacientes hispanoamericanos con LEG.<sup>32</sup>

La presencia de anticuerpos anti-RNP en pacientes con LEG ha sido relacionada con diferentes manifestaciones clínicas de la enfermedad, entre ellas se incluyen el fenómeno de Raynaud<sup>33,34</sup>, y más recientemente en una cohorte asiática de pacientes con LEG, se reportó una asociación con hipertensión arterial pulmonar (HAP)<sup>34</sup>. Posteriormente, Sobanski evaluó el papel de anti-RNP en pacientes con HAP asociada a enfermedades del tejido conectivo, incluyendo pacientes con LEG. En el análisis multivariado, la presencia de anti-RNP se asoció de manera negativa con mortalidad (HR 0.24), aunque la mayoría de los pacientes incluidos tenían diagnóstico de Esclerosis sistémica.<sup>35</sup> Por el contrario, Quian y colaboradores<sup>35</sup>, reportaron una asociación positiva de anti-RNP con mortalidad en un estudio que incluyó 111 pacientes con LEG e HAP.<sup>36</sup>

La presencia de anti-RNP en pacientes con LEG se ha asociado con otras manifestaciones clínicas de la enfermedad. En un estudio derivado de una cohorte prospectiva de 1,357 pacientes con LEG en el cual se clasificaron a los pacientes en 3 grupos (clusters) dependiendo de la presencia de diferentes anticuerpos, se observó que los pacientes con anti-RNP y anti-Sm positivo (cluster 1) presentaban la menor incidencia de proteinuria, anemia, linfopenia y trombocitopenia, que los pacientes del cluster 2 (anti-DNAc, anti-Ro y anti-La positivos) y cluster 3 (anti-DNAc, AL, anticardiolipina positivos).<sup>37</sup> En este mismo estudio se reportó una mayor incidencia de trombosis venosas (25.7%) y arteriales (17.4%) en pacientes del cluster 3 comparado con los otros 2 grupos, aunque esta asociación no sorprende dada la fuerte asociación entre los anticuerpos antifosfolípidos con eventos trombóticos. Más recientemente, Ching y colaboradores definieron 2 grupos o clusters de pacientes con LEG de acuerdo al perfil serológico de antígenos conocidos en LEG determinados por LIPS (luciferase immunoprecipitation systems). Así, se determinaron 2 grupos de acuerdo a la presencia de autoanticuerpos contra antígenos Sm/RNP o Ro/La. Se observó una mayor frecuencia de serositis en el cluster de Sm/RNP, comparado con el cluster Ro/La, sin observarse diferencias en otras manifestaciones clínicas, sin embargo en este estudio no se evaluó la presencia de trombosis.<sup>38</sup>

Uno de los mecanismos por el cual los anticuerpos anti-RNP podrían causar daño tisular, es por su interacción con células endoteliales.<sup>39</sup> Modelos in vitro han mostrado que los anticuerpos anti-RNP aumentan la expresión de moléculas de adhesión intracelular (ICAM-1), ELAM-1 y del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) clase II en la superficie de células endoteliales de la arteria pulmonar, con un efecto dosis dependiente.<sup>40</sup> Este aumento en la expresión de moléculas de adhesión inducida por anticuerpos anti U1-RNP sugiere un papel directo en la vasculopatía al estimular la migración y adhesión de neutrófilos al endotelio vascular. Además, en un modelo in vitro de células de endotelio de arteria pulmonar, se ha observado que los anticuerpos anti-RNP actúan como anticuerpos anticélulas endoteliales, al reconocer directamente antígenos de la superficie endotelial con peso molecular similares a las proteínas de complejo U1-RNP y unirse a las mismas.<sup>41</sup> De esta forma, los anticuerpos anti-RNP pueden inducir activación de células endoteliales y daño endotelial, lo que podría contribuir a un mayor riesgo de trombosis.

Otro de los posibles mecanismos implicados con un mayor riesgo de trombosis en presencia de anti-RNP es la inducción de trampas extracelulares de neutrófilos (NETs) en pacientes con LEG. La NETosis se ha propuesto como uno de los mecanismos implicados en la fisiopatogenia de LEG, y más recientemente, también implicado en trombosis e incluso con un papel esencial para el desarrollo de ésta,, sirviendo como una estructura de andamiaje para el atrapamiento y agregación de plaquetas y eritrocitos, así como la estabilización del coágulo por su unión con proteínas como fibrinógeno y factor de Von Willebrand.<sup>42,43</sup> Modelos in vitro y modelos animales han mostrado que varios componentes de las NETs, incluyendo DNA, histonas, elastasa y catepsina, son capaces de contribuir a la coagulación y formación de trombos, por la activación de factores de coagulación como factor XII, activación plaquetaria, clivaje del inhibidor del factor tisular y la exposición de factor de Von Willebrand.<sup>44</sup> Además, la estimulación de TLRs (receptores tipo Toll) y consiguiente producción de interferon tipo I se ha relacionado con disfunción



endotelial y, así mismo,, se ha observado que el contenido de las NETs (metaloproteinasa 9) contribuye a la muerte celular endotelial.<sup>45</sup>

En pacientes con LEG se ha reportado una alteración en la degradación de NETs, asociado a una disminución en la función de DNAasa, así como una mayor predisposición a la formación de NETs por parte de los neutrófilos. Además de ciertas características inherentes de los neutrófilos en LEG, como mayor porcentaje de neutrófilos de baja densidad y su fenotipo proinflamatorio, la estimulación extrínseca por autoanticuerpos circulantes tiene un papel en la inducción de NETosis. Uno de estos factores extrínsecos que estimulan la NETosis es anti-RNP, como se demostró en un estudio de García- Romo en el que se observó que la adición de anticuerpos anti-RNP era capaz de inducir NETosis en neutrófilos de pacientes con LEG pero no en sujetos sanos, causando activación de células dendríticas plasmocitarias y consiguiente secreción de niveles elevados de IFN- $\alpha$  .<sup>46</sup>

En cuanto al posible valor clínico adicional de anti-RNP/Sm en presencia de AL, en el análisis de rendimiento diagnóstico, se observó una mayor especificidad y una mayor razón de verosimilitud, comparado con el doble marcador antifosfolípido, pero no superior al triple marcador. Comparado con AL, el rendimiento diagnóstico resultó bastante similar, tanto para trombosis en general (LR + 3.67 vs 3.27), como para trombosis venosa (LR + 3.46 vs 3.53) y arterial (LR +2.84 vs 2.89). Por tanto, la presencia de anti-RNP/Sm más AL no parece aumentar el rendimiento de la prueba diagnóstica en pacientes con LEG al compararse con la presencia de AL de forma individual, calculándose una sensibilidad en pacientes con positividad para AL individualmente similar a la observada en pacientes con la combinación de anti-RNP/Sm más AL. Además, en contraste con el estudio de Hinojosa en una cohorte incipiente de LEG, la razón de verosimilitud calculada para esta combinación fue menor que para el triple marcador (3.67 vs 11.36). Estas diferencias podrían ser debido a la temporalidad en las que se realizaron las determinaciones de anticuerpos, realizándose en el estudio de Hinojosa al momento de inclusión a la cohorte (al diagnóstico de LEG y previo al evento trombotico) y en nuestro estudio, la determinación se realizó posterior a la trombosis. Así, parecería que la rentabilidad de esta combinación anti-RNP/Sm más AL es mayor al inicio de la enfermedad, teniendo un mayor valor clínico para identificar un grupo de riesgo previo al evento trombotico.

En el análisis de curvas ROC, se observó una mayor área bajo la curva (AUC) para la combinación de anti-RNP/Sm más AL (AUC=0.69) comparada con triple marcador antifosfolípido (AUC=0.58 ,  $p < 0.0001$ ), anti-RNP/Sm (AUC=0.6,  $p$  ) y doble marcador antifosfolípido (AUC=0.52). No se observó una diferencia en el área bajo la curva para la combinación de anti-RNP/Sm más AL y AL, con un área de 0.69 y 0.71, respectivamente ( $p=0.21$ ). Sin embargo deberá considerarse que la determinación de AL en este estudio se realizó, en los pacientes del grupo de trombosis, durante la administración de anticoagulantes orales en un 89%, si bien sólo 30 pacientes tenían un INR  $> 1.5$ , la frecuencia de AL podría haberse supraestimado, lo que podría explicar su alta prevalencia y un mejor rendimiento como prueba diagnóstica.

Nuestro estudio tiene algunas limitaciones entre las que destacan su diseño transversal, que no permite establecer una relación de causalidad entre anti-RNP/Sm y AL con los eventos trombóticos, sin embargo, sí permite responder al objetivo del estudio que fue confirmar la asociación entre ambos. Así mismo la variabilidad de los títulos de los anticuerpos durante la evolución de enfermedad podría subestimar esta asociación. El hecho de que la variable desenlace (trombosis) fuera obtenida retrospectivamente no permite que se pueda evaluar la capacidad de esta combinación de anticuerpos para predecir futuros eventos trombóticos. Tampoco es posible determinar si, al igual que en el caso de los anticuerpos antifosfolípidos como anticardiolipina o antiβ2GP1, la persistencia de la positividad de anti-RNP/Sm en combinación con AL aumenta el riesgo de desarrollar trombosis.

Las fortalezas del estudio se sustentan en que todos los pacientes han sido evaluados en una misma Institución teniendo la facilidad de un mejor control de la información respecto al curso de la enfermedad y la confirmación estricta de los eventos trombóticos. Por otro lado, todos los anticuerpos fueron determinados en un mismo momento, con técnicas validadas, lo que reduce la variabilidad y los errores en la estimación de sus frecuencias.

#### **XIV. CONCLUSIONES**

Este es el primer estudio que evalúa una posible asociación entre la presencia de la combinación de anti-RNP/Sm y AL como factor de riesgo para desarrollar trombosis en pacientes con LEG. Este estudio corroboró la asociación entre trombosis y la presencia de la combinación de anti-RNP/Sm y AL, aunque con una razón de verosimilitud menor a la observada previamente en una cohorte incipiente de LEG.

La determinación de anti-RNP/Sm en pacientes con LEG puede tener un valor en la estimación de riesgo de trombosis, particularmente en combinación con AL. Sin embargo, de acuerdo a los resultados de las pruebas de rendimiento diagnóstico, la utilidad clínica de la determinación de anti-RNP/Sm más AL no parece ser superior que para AL de forma individual en esta población prevalente. Son necesarios estudios prospectivos que incluyan un mayor número de pacientes para determinar el papel de esta combinación de anticuerpos como factor predictor de trombosis. Además dada la asociación de anti-RNP/Sm con trombosis, debe considerarse la posibilidad de que este anticuerpo permita identificar un grupo de pacientes con LEG con un mayor riesgo de trombosis, por lo que resulta necesario la realización de futuros estudios que determinen el papel fisiopatogénico involucrado en esta asociación.

#### **XV. BIBLIOGRAFÍA**

1. *Cervera R, Khamashta M, Font J, Sebastiani GD, Gil A, Lavilla P, Mejía JC, Aydintung O, Chwalinska-Sadowska H, de Ramón E, Fernández-Nebro A, Galeazzi M, Valen M, Mathieu*

- A, Houssiau F, Caro N, Alba P, Ramos-Casals M, Ingelmo, Hughes G and the European Working Party on Systemic Lupus Erythematosus. *Morbidity and Mortality in Systemic Lupus Erythematosus during a 10-year period. Medicine* 2003; 82 (5): 299-308.
2. Petri M. *Thrombosis and Systemic Lupus Erythematosus: The Hopkins Lupus Cohort Perspective. Scand J Rheumatol* 1996;25:191/193.
  3. Sarabi Z, Chang E, Bobba R, Ibanez D, Gladman D, Urowitz M, Fortin P. *Incidence rates of Arterial and venous thrombosis after diagnosis of Systemic Lupus Erythematosus. Arthritis and Rheumatism.* 2005; 53 (4):609-612.
  4. Somers E, Magder LS, Petri M. *Antiphospholipid antibodies and incidence of venous thrombosis in a cohort of patients with systemic lupus erythematosus. J Rheumatol* 2002;29:2531-6.
  5. Brouwer JL, Bijl M, Veeger N, Kliu-Nelemans HC, Van der Meer J. *The contribution of inherited and acquired thrombophilic defects, alone or combined with antiphospholipid antibodies, to venous and arterial thromboembolism in patients with systemic lupus erythematosus. Blood* 2004; 104 (1): 143-148
  6. Calvo-Alen J, Toloza SMA, Fernández M, et al. *Systemic lupus erythematosus in an multiethnic US cohort (LUMINA). XXV. Smoking, older age, disease activity, lupus anticoagulant and glucocorticoid dose as risk factors for the occurrence of venous thrombosis in lupus patients. Arthritis Rheum* 2005;52 (7): 2060-2068.
  7. Mok CC, Tang SSK, To CH, Petri M. *Incidence and risk factors of thromboembolism in systemic lupus erythematosus. A comparison of three ethnic groups. Arthritis Rheum* 2005;52:2774-82.
  8. Kaiser R, Cleveland CM, Criswell LA. *Risk and protective factors for thrombosis in Systemic Lupus Erythematosus: results from a large, multi-ethnic cohort. Ann Rheum Dis* 2009; 68:238-241.
  9. Romero-Díaz J, García-Sosa I, Sánchez- Guerrero J. *Thrombosis in systemic lupus erythematosus and other autoimmune disease of recent onset. J Rheumatol* 2009; 36-68-75.
  10. Esmon CT. *The interaction between inflammation and coagulation. Br J Haematol* 2005;131:417-30
  11. Aviña-Zubieta JA, Vostretsova K, De Vera J, Sayre E, Choi H. *The risk of pulmonary embolism and deep venous thrombosis in systemic lupus erythematosus: A general population-based study. Semin Arthritis Rheum* 2015; 45:195-201.
  12. Hinojosa-Azaola A, Romero-Díaz J, Vargas-Ruiz A, Nuñez-Alvarez CA, Cicero-Casarrubias A, Ocampo-Torres M, Sánchez-Guerrero J. *Venous and arterial thrombotic events in Systemic Lupus Erythematosus. J Rheumatol* 2016;43:3.
  13. Ruiz-Iraestroza G, Egurbide MV, Martínez-Berriotxo A, Ugalde J, Aguirre C. *Antiphospholipid antibodies predict early damage in patients with systemic lupus erythematosus. Lupus* 2004;13 (12):10934-10938.
  14. Palatinus A, Adams M. *Thrombosis in Systemic Lupus Erythematosus. Semin Thromb Hemost* 2009; 35(7): 621-9.

15. Tarr T, Lakos G, Bhattoa HP, Schoenfeld Y, Szegedi G, Kiss E. Analysis of risk factors for the development of thrombotic complications in antiphospholipid antibody positive lupus patients. *Lupus* 2007; 16:39-45.
16. Tektonidou M, Laskari K, Panagiotakos D, Moutsopoulos H. Risk factors for thrombosis and primary thrombosis prevention in patients with Systemic Lupus Erythematosus with or without Antiphospholipid Antibodies. *Arthritis Care Res* 2009; 61 (1): 29-36
17. Pengo V, Ruffatti A, Legnani C, Testa S, Fierro T, Marongiu F, De Micheli V, Gresele P, Tonello M, Ghirarduzzi A, Bison E, Denas G, Banzato A, Padayatti S, Iliceto S. Incidence of a first thromboembolic event in asymptomatic carriers of high- risk antiphospholipid antibody profile: a multicenter prospective study. *Blood* 2011; 118 (7): 4713-4718.
18. Mustonen P, Lehtonen KV, Javela K, Puurunen M. Persistent antiphospholipid antibody (aPL) in asymptomatic carriers as a risk for future thrombotic events: a nationwide prospective study. *Lupus* 2014; 23:1468-1476.
19. Danowski A, Kickler TS, Petri M. Anti-B2-glycoprotein I: Prevalence, clinical correlations, and importance of persistent positivity in patients with antiphospholipid syndrome and systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 2006; 33:1775-1779.
20. Pengo V, Ruffatti A, Legnani C, Gresele P, Barcellona D, Erba N, Testa S, Marongiu F, Bison E, Denas G, Banzato A, Padayattil Jose S, Iliceto S. Clinical course of high-risk patients diagnosed with antiphospholipid 27ardiac27. *J Thromb Haemost* 2009; 8(2):237-242.
21. Ho KT, Ahn CW, Alarcón GS, Baethge A, Tan FK, Roseman J, Bastian HM, Fessler BJ, McGwin G, Vilá LM, Calvo-Alén J, Reveille JD. Systemic lupus erythematosus in a multiethnic cohort (LUMINA): XXVIII. Factors predictive of thrombotic events. *Rheumatology* 2005;44:1303-1307.
22. Sallai KK, Nagy E, Bodó I, Mohi A, Gergely P. Thrombosis risk in systemic lupus erythematosus: the role of thrombophilic risk factors. *Scand J Rheumatol* 2007;36:198-205.
23. Gladman DD, Ibañez D, Urowitz MB. Systemic lupus erythematosus disease activity index 2000. *J Rheumatol* 2002;29:288-91.
24. Gladman DD, Goldsmith CH, Urowitz MB, Bacos P, Fortin P, Ginzler E, Gordon C, Hanly IG, Isenberg DA, Petri M, Nived O, Snaith M, Sturfelt G. The Systemic Lupus Collaborating Clinics/American College of Rheumatology (SLICC/ARC) Damage Index for Systemic Lupus Erythematosus International Comparison. *J Rheumatology* 2000; 27 (2):373-376.
25. Lwanga SK, Lemeshow S. Sample size determination in health studies. A practical manual. Geneva: World Health Organisation, 1991.
26. Tan E, Cohen A, Fries J, Masi A, Mchane D, Rothfield N, Schaller J, Talal N, Winchester R. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1982; 25(11):1271-1277.
27. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, Derksen R, De Groot G, Koike T, Meroni PL, Reber G, Schoenfeld V, Tincani A, Vlachoyiannopoulos G, Krilis SA. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome. *J Thromb Haemost* 2006; 4(2):295-306
28. Cozzani E, Drosera M, Gasparini G, Parodi A. Serology of Lupus Erythematosus: correlation between Immunopathological Features and Clinical Aspects. *Autoimmune Dis* 2014;

29. Migliorini P, Baldini C, Rocchi V, Bombardieri S. Anti-Sm and anti-RNP antibodies. *Autoimmunity*. 2005;38 (1):47-54.
30. Morais SA, Isenberg DA. A study of the influence of ethnicity on serology and clinical features in lupus. *Lupus* (2016); 0;1-10.
31. Weckerle C, Franek B, Kelly J, Kumabe M, Mikolaitis R, Green S, Utset T, Jolly M, James J, Harley J, Niewold T. Network analysis of associations between serum Interferon- $\alpha$  activity, autoantibodies, and clinical features in Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis Rheum* 2011; 63 (4):1044-1053.
32. Tang X, Huang Y, Deng W, Tang L, Weng W, Zhang X. Clinical and serologic correlations and autoantibody clusters in systemic lupus erythematosus: a retrospective review of 917 patients in South China. *Medicine* 2010; 89;1: 62-67.
33. Artim-Esen B, Cene E, Sahinkaya Y, Ertan S, Pehlivan O, Kamali S, Gül A, Ocal L, Aral O, Inanç M. Cluster analysis of autoantibodies in 852 patients with Systemic Lupus Erythematosus from a Single Center. *J Rheumatol* 2014;41(7);1304-10.
34. Sobanski V, Giovanelli J, Lynch B, Schreiber B, Nihtyanova S, Harvey J, Handler C, Denton C, Coghlan J. Characteristics of survival of Anti-U1 RNP antibody-positive patients with connective tissue disease-associated Pulmonary Arterial Hipertension. *Arthritis Rheum* 2016; 62(2):484-493.
35. Quian J, Li M, Zhao J, Wang Q, Tian Z, Zeng X. The role of anti-U1 RNP positivity in predicting survival in patients with connective tissue disease-associated pulmonary arterial hypertension: angel or demon? *Arthritis Rheum* 2016;68 (7): 1788-1792.
36. Jing Li, Leng X, Zhijun L. Zhizhong Y, Caifeng L, Xiaofeng L, Ping Zhu, Zhengang W, Zheng Y, Xiangpei L, Miaoja Z, Xin-Ping T, Mengtao L, Jiuliang Z, Feng-Chung Z, Yan Z. Chinese SLE Treatment and Research Group Registry: III. Association of autoantibodies with clinical manifestations in Chinese patients with Systemic Lupus Erythematosus. *J Immunol Res* 2014;809389. DOI: 10.1155/2014/809389.
37. To CH, Petri M. Is antibody clustering predictive of clinical subset and damage in Systemic Lupus Erythematosus? *Arthritis Rheum* 2005;52 (12):4003-4010.
38. Ching K, Burbelo P, Tipton C, Wei C, Petri M, Sanz I, Iadarola M. Two major autoantibody clusters in Systemic Lupus Erythematosus. *PLoS One* 2012; 7(2):e32001.
39. Keith M, Moratz C, Tsokos G. Anti-RNP immunity: Implications for tissue injury and the pathogenesis of connective tissue disease. *Autoimmunity Rev* (2007);6:232-236.
40. Okawa-Takatsuji M, Aotsuka S, Fujinami M, Uwakoto S, Kinoshita M, Sumiya M. Up-regulation of intercellular adhesion molecules-1 (ICAM-1), endothelial leucocyte adhesion molecule-1 (ELAM-1) and class II MHC molecules on pulmonary artery endothelial cells by antibodies against U1-ribonucleoprotein. *Clin Exp Immunol* 1999;116:174-180.
41. Okawa-Takatsuji M, Aotsuka S, Uwatoko M, Takaono M, Iwasaki K, Kinoshita M, Sumiya M. Endothelial cell-binding activity of anti-U1-ribonucleoprotein antibodies in patients with connective tissue diseases. *Clin Exp Immunol* 2001;126:345-354.
42. Rao A, Kazzaz N, Knight J. Do neutrophil extracellular traps contribute to the heightened risk of thrombosis in inflammatory diseases? *World J Cardiol* 2015;7(12): 829-842.

43. Fuchs TA, Brill A, Duerschmied D, Schatzberg D, Monestier M, Myers DD, Wroblewski SK, Wakefield TW, Hartwig JH, Wagner DD. Extracellular DNA traps promote thrombosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107:15880-15885.
44. Mak A, Kow NY. Imbalance between endothelial damage and repair: a gateway to cardiovascular disease in systemic lupus erythematosus. *Bpimed Res Int* 2014;178721. DOI:10.1155/2014/178721.
45. Villanueva E, Yalavarti S, Berthier CC, Hodgins JB, Khandapur R, Lin AM, Rubin CJ, Zhao W, Olsen SH, Klinke M, Shealy D, Denny MF, Plumas J, Chaperot L, Kretzler M, Bruce AT, Kaplan MJ. Netting neutrophils induce endothelial damage, infiltrate tissues, and expose immunostimulatory molecules in systemic lupus erythematosus. *J Immunol* 2011;187:538-552.
46. García-Romo G, Caielli S, Vega B, Connolly J, Allantaz F, Punaro M, Baisch J, Guiducci C, Coffman R, Barrat F, Banchereau J, Pascual V. Netting Neutrophils are major inducers of type I IFN Production in Pediatric Systemic Lupus Erythematosus. *Sci Transl Med* 2011; 9:3 (73)

## XVI. ANEXO

**Tabla 1. Características demográficas y factores de riesgo tradicional para trombosis**

<b>Variables</b>	<b>Todos N=126</b>	<b>Trombosis N=63</b>	<b>No 29ardiac29is N=63</b>	<b>p</b>
Sexo femenino—n (%)	111 (88)	55 (87)	56 (89)	1.00
Edad a la inclusión—años <sup>a</sup>	40 (18-69)	40 (18-67)	39 (20-69)	0.70
Tiempo de evolución de la enfermedad—meses	135 (3-523)	138 (3-523)	132 (11-456)	0.46
<b>Comorbilidades basales</b>				
IMC <sup>b</sup>	25.7± 5.6	26.3 ± 5.7	25.2 ± 5.4	0.24
Tabaquismo—n (%)	8 (6)	5 (8)	3 (5)	0.71
Diabetes mellitus—n (%)	4 (3)	1 (2)	3 (5)	0.61
Dislipidemia—n (%)	22 (17)	11 (17)	11 (17)	1.00
Hipertensión arterial sistémica—n (%)	25 (20)	15 (24)	10 (16)	0.37
Insuficiencia 29ardiac congestiva—n (%)	2 (2)	0	2 (3)	0.49
Anticonceptivos orales—n (%)	1 (1)	1 (2)	0	1.00
Terapia hormonal de remplazo—n (%)	1(1)	0	1 (2)	1.00

<sup>a</sup> Mediana (min-max)

<sup>b</sup> Media±DE

**Tabla 2. Características de la enfermedad**

<b>Variables</b>	<b>Todos N=126</b>	<b>Trombosis N=63</b>	<b>No 30ardiac30is N=63</b>	<b>p</b>
Edad al diagnóstico—años <sup>a</sup>	26 (13-60)	26 (13-60)	26 (13-56)	0.96
Número de criterios al diagnóstico <sup>a</sup>	5 (4-8)	5 (4-8)	4 (4-7)	0.06
Fotosensibilidad—n (%)	25 (20)	12 (19)	13 (21)	1.00
Eritema malar—n (%)	41 (33)	23 (37)	18 (29)	0.44
Úlceras orales—n (%)	44 (35)	24 (38)	20 (32)	0.57
Lupus discoide—n (%)	8 (6)	1 (2)	7 (11)	0.06
Artritis—n (%)	94 (75)	47 (75)	47 (75)	1.00
Serositis—n (%)	41 (33)	22 (35)	19 (30)	0.70
Nefropatía—n (%)	59 (47)	25 (40)	34 (54)	0.15
Neurológico—n (%)	7 (6)	4 (6)	3 (5)	1.00
Hematológico—n (%)	79 (63)	43 (68)	36 (57)	0.26
Inmunológico—n (%)	95 (75)	52 (83)	43 (68)	0.09
ANA—n (%)	107 (85)	57 (90)	50 (79)	0.13
SAF obstétrico—n (%)	6 (5)	4 (6)	2 (3)	0.68

<sup>a</sup> Mediana (min-max)

**Tabla 3. Características serológicas**

<b>Variables</b>	<b>Todos N=126</b>	<b>Trombosis N=63</b>	<b>No 30ardiac30is N=63</b>	<b>p</b>
Anti-RNP/Sm—n (%)	91 (72)	52 (83)	39 (62)	0.001
Anti-RNP/Sm—U/mL	8 (3.7-51.2)	8.4 (6.4-588.7)	7.7 (3.7-851.2)	0.17
Anti-RNP/Sm p99—n (%)	78 (62)	43 (68)	35 (56)	0.19
Anti-Sm—n (%)	91 (72)	49 (78)	42 (67)	0.23
Anti-Sm—U/mL	8.2 (6.5-381.8)	8.2 (7.2-256.4)	8.2 (6.5-381.8)	0.75
Anti-cardiolipina IgG—n (%)	25 (20)	18 (29)	7 (11)	0.02
Anti-cardiolipina IgG—UGPL	3.4 (1.6-126.7)	3.1 (1.6-126.7)	3.4 (1.6-75.3)	0.64
Anti-cardiolipina IgM—n (%)	15 (12)	11 (17)	4 (6)	0.09
Anti-cardiolipina IgM—UMPL	7.1 (5.4-197.1)	7.8 (6 -90.5)	6.7 (5.4-197.1)	0.004
Anti-cardiolipina cualquiera —n (%)	32 (25)	24 (38)	8 (13)	0.002
Anti-B2 GP1 IgG—n (%)	17 (13)	13 (21)	4 (13)	0.03
Anti-B2 GP1 IgG—U/mL	4.4 (3.5-75.9)	4.5 (4.2-75.9)	3.9 (3.5-59)	<0.001

Anti-B2 GP1 IgM—n (%)	13 (10)	4.6 (3.4-229)	4.2 (3.4-147.3)	0.11
Anti-B2 GP1 IgM—U/mL	4.3 (3.4-229)	10 (16)	3 (5)	0.07
Anti-B2 GP1 cualquiera—n (%)	22 (17)	17 (27)	5 (8)	0.009
AL—n (%)	50 (40)	38 (62)	12 (19)	<0.001
Anti-RNP/Sm + AL—n (%)	41 (33)	32 (52)	9 (14)	<0.001
Doble marcador AFL positivo—n (%)	18 (14)	11 (17)	7 (11)	0.44
Triple marcador AFL positivo—n (%)	12 (10)	11 (17)	1 (2)	0.04

Los valores se expresan como n (%) o mediana (min-max).

**Tabla 4. Características al momento de la trombosis/dummy date**

<b>Variables</b>	<b>Todos N=126</b>	<b>Trombosis N=63</b>	<b>No 31ardiac31is N=63</b>	<b>p</b>
Edad—años <sup>a</sup>	33 (15-65)	32 (15-65)	34 (19-60)	0.43
Tiempo de evolución de la enfermedad a trombosis—meses	48 (0-311)	37 (0-311)	57 (1-309)	0.002
SLEDAI <sup>a</sup>	2 (0-31)	4 (0-31)	0 (0-14)	<0.001
SLICC acumulado <sup>a</sup>	0 (0-4)	0 (0-4)	0 (0-3)	0.51
Síndrome nefrótico—n (%)	11 (9)	8 (13)	3 (5)	0.20
Cirugía reciente—n (%)	2 (2)	1 (2)	1 (2)	1.00
Inmovilización—n (%)	6 (5)	6 (10)	0	0.002
Vasculitis—n (%)	3 (2)	3 (2)	0	0.24
Prednisona—n (%)	79 (63)	49 (78)	30 (48)	0.001
Prednisona—mg <sup>a</sup>	10 (1-100)	15 (1-100)	7.5 (2.5-52.5)	0.0004
Antimaláricos—n (%)	61 (48)	25 (40)	36 (58)	0.07
Azatioprina—n (%)	48 (38)	24 (38)	24 (38)	1.00
Ciclofosfamida—n (%)	11 (9)	6 (10)	5 (8)	1.00
Mofetil micofenolato—n (%)	16 (13)	5 (8)	11 (17)	0.18
Metotrexate—n (%)	9 (7)	1 (2)	8 (13)	0.03
Antiagregantes—n (%)	21 (17)	11 (17)	10 (16)	1.00

<sup>a</sup> Mediana (min-max)

**Tabla 5. Características de los pacientes con trombosis (N=63)**

<b>Variables</b>	<b>N (%)</b>
Trombosis arterial	20 (32)
Trombosis venosa	43 (68)
<b>Sitio de thrombosis</b>	
- TVP	19 (30)
- EVC ó TIA	16 (25)
- TEP	8 (13)
- TVP + TEP	5 (8)



- Trombosis vena central retina	5 (8)
- IAM	3 (5)
- Trombosis seno venoso	3 (5)
- Trombosis venosa visceral	3 (5)
- Trombosis arterial	1 (2)
- Trombosis arterial visceral	1 (2)
Trombosis definitiva	63 (100)
Trombosis probable	63 (100)
Anticoagulación previa	2 (3)
Antiagregantes previos	11 (17)
Anticoagulación posterior	59 (94)
Anticoagulación a la inclusión	56 (89)
Antagonistas de vitamina K	56 (89)
<b>Retrombosis</b>	12 (19)
Arterial	3 (25)
Venosa	9 (75)
<b>Retrombosis tipo</b>	
- TVP	4 (33)
- TEP	4 (33)
- EVC ó TIA	2 (17)
- TVP + TEP	1 (8)
- IAM	1 (8)
Retrombosis con anticoagulación	9 (75)

**Tabla 6. Características de los pacientes con trombosis temprana y tardía**

<b>Variables</b>	<b>Trombosis temprana N=32</b>	<b>Trombosis tardía N=31</b>	<b>p</b>
Edad al Dx de LEG—años <sup>a</sup>	25 (15-55)	29 (13-60)	0.71
Edad a la trombosis—años	25 (15-55)	39 (20-65)	0.0005
SLEDAI <sup>a</sup>	6 (0-31)	2 (0-14)	<0.0001
SLICC acumulado <sup>a</sup>	0 (0-1)	0 (0-4)	0.04
Tipo de trombosis			
-Trombosis arterial	6 (19)	14 (45)	0.03
-Trombosis venosa	26 (81)	17 (55)	
Síndrome nefrótico—n (%)	6 (19)	2 (6)	0.25
Cirugía reciente—n (%)	0 (1)	1(3)	0.49
Inmovilización—n (%)	4 (13)	2(6)	0.67
Vasculitis—n (%)	2 (6)	1 (3)	1.00
Prednisona—n (%)	25 (78)	24 (78)	1.00
Prednisona—mg <sup>a</sup>	40 (5-100)	10 (1-60)	0.003
Antimaláricos—n (%)	10 (31)	5 (48)	0.20

Azatioprina—n (%)	11 (34)	13 (42)	0.60
Ciclofosfamida—n (%)	10 (31)	2 (6)	0.67
Mofetil micofenolato—n (%)	4 (13)	1 (3)	0.35
Metotrexate—n (%)	0	1 (3)	0.49
Antiagregantes—n (%)	5 (16)	6 (19)	0.75
<b>Características serológicas</b>			
Anti-RNP/Sm—n (%)	26 (81)	26 (84)	1.00
Anti-Sm—n (%)	26 (81)	23 (74)	0.55
Anti-cardiolipina IgG—n (%)	7 (22)	11 (35)	0.27
Anti-cardiolipina IgM—n (%)	5 (16)	6 (19)	0.75
Anti-cardiolipina cualquiera—n (%)	9 (28)	15 (48)	0.12
Anti-B2 GP1 IgG—n (%)	5 (16)	8 (26)	0.26
Anti-B2 GP1 IgM—n (%)	6 (19)	4 (13)	0.73
Anti-B2 GP1 cualquiera—n (%)	8 (25)	9 (29)	0.78
AL—n (%)	17 (57)	21 (68)	0.43
Doble marcador	4 (13)	7 (23)	0.33
Triple marcador	4 (13)	7 (23)	0.33
Anti-RNP/Sm + AL- n (%)	14 (47)	18 (58)	0.44

<sup>a</sup> Mediana (min-max)

**Tabla 7. Características de los pacientes con trombosis arteriales y venosas**

<b>Variables</b>	<b>Trombosis arterial N=20</b>	<b>Trombosis venosa N=43</b>	<b>p</b>
Edad al Dx de LEG—años <sup>a</sup>	31 (13-54)	24 (15-60)	0.21
Edad a la trombosis—años	37 (20-55)	29 (15-65)	0.10
Tiempo de evolución de LEG—meses	75 (0-224)	9 (0-311)	0.01
SLEDAI <sup>a</sup>	4 (0-20)	4 (0-31)	0.32
SLICC modificado <sup>a</sup>	0 (0-3)	0 (0-4)	0.10
Síndrome nefrótico—n (%)	1 (5)	7 (16)	0.41
Cirugía reciente—n (%)	0	1 (2)	1.00
Inmovilización—n (%)	1 (5)	5 (12)	0.65
Vasculitis—n (%)	1 (5)	2 (5)	1.00
Prednisona—n (%)	17 (85)	32 (74)	0.51
Prednisona—mg <sup>a</sup>	10 (5-60)	23 (1-100)	0.04
Antimaláricos—n (%)	7 (35)	18 (42)	0.78
Azatioprina—n (%)	10 (50)	14 (33)	0.26
Ciclofosfamida—n (%)	1 (5)	5 (12)	0.65
Mofetil micofenolato—n (%)	0	5 (12)	0.16
Metotrexate—n (%)	1 (5)	0	0.31
Antiagregantes—n (%)	5 (25)	6 (14)	0.30
<b>Características serológicas</b>			
Anti-RNP/Sm—n (%)	17 (85)	35 (81)	1.00
Anti-Sm—n (%)	16 (80)	33 (76)	1.00

Anti-cardiolipina IgG—n (%)	5 (25)	13 (30)	0.77
Anti-cardiolipina IgM—n (%)	5 (25)	6 (14)	0.30
Anti-cardiolipina cualquiera—n (%)	8 (40)	16 (37)	1.00
Anti-B2 GP1 IgG—n (%)	6 (30)	7 (16)	0.31
Anti-B2 GP1 IgM—n (%)	3 (15)	7 (16)	1.00
Anti-B2 GP1 cualquiera—n (%)	6 (30)	11 (26)	0.76
AL—n (%)	11 (55)	27 (66)	0.57
Doble marcador—n (%)	4 (20)	7 (16)	0.73
Triple marcador—n (%)	4 (20)	7 (16)	0.73
Anti-RNP/Sm + AL—n (%)	9 (45)	23 (56)	0.58

<sup>a</sup> Mediana (min-max)

**Tabla 8. Características de los pacientes con trombosis arteriales y sin trombosis**

Variables	Trombosis arterial N=20	No 34ardiac 34is N=63	p
Edad al Dx de LEG—años <sup>a</sup>	31 (13-54)	26 (13-56)	0.34
Edad a la trombosis/DD—años	37 (20-55)	34 (19-60)	0.52
Tiempo de evolución de LEG—meses	75 (0-224)	57 (1-309)	0.60
SLEDAI <sup>a</sup>	4 (0-20)	0 (0-14)	0.009
SLICC modificado <sup>a</sup>	0 (0-3)	0 (0-3)	0.09
Síndrome nefrótico—n (%)	1 (5)	3 (5)	1.00
Cirugía reciente—n (%)	0	1 (2)	1.00
Inmovilización—n (%)	1 (5)	0	0.24
Vasculitis—n (%)	1 (5)	0	0.24
Prednisona—n (%)	17 (85)	30 (48)	0.004
Prednisona—mg <sup>a</sup>	10 (5-60)	7.5 (2.5-53)	0.07
Antimaláricos—n (%)	7 (35)	36 (57)	0.12
Azatioprina—n (%)	10 (50)	24 (38)	0.43
Ciclofosfamida—n (%)	1 (5)	5 (8)	1.00
Mofetil micofenolato—n (%)	0	11 (17)	0.05
Metotrexate—n (%)	1 (5)	8 (13)	0.68
Antiagregantes—n (%)	5 (25)	10 (16)	0.34
<b>Características serológicas</b>			
Anti-RNP/Sm—n (%)	17 (85)	39 (62)	0.06
Anti-Sm—n (%)	16 (80)	42 (67)	0.40
Anti-cardiolipina IgG—n (%)	5 (25)	7 (11)	0.15
Anti-cardiolipina IgM—n (%)	5 (25)	4 (6)	0.03
Anti-cardiolipina cualquiera—n (%)	8 (40)	8 (13)	0.01
Anti-B2 GP1 IgG—n (%)	6 (30)	4 (6)	0.01
Anti-B2 GP1 IgM—n (%)	3 (15)	3 (5)	0.14

Anti-B2 GP1 cualquiera—n (%)	6 (30)	5 (8)	0.02
AL—n (%)	11 (55)	12 (19)	0.003
Doble marcador—n (%)	4 (20)	7 (11)	0.44
Triple marcador—n (%)	4 (20)	1 (2)	0.01
Anti-RNP/Sm + AL—n (%)	9 (45)	9 (14)	0.01

<sup>a</sup> Mediana (min-max)

**Tabla 8.1. Características de los pacientes con trombosis venosa y sin trombosis**

Variables	Trombosis venosa N=43	No 35 cardiac 35is N=63	p
Edad al Dx de LEG—años <sup>a</sup>	24 (15-60)	26 (13-56)	0.52
Edad a la trombosis/DD—años	29 (15-65)	34 (19-60)	0.16
Tiempo de evolución de LEG—meses	9 (0-311)	57 (1-309)	0.001
SLEDAI <sup>a</sup>	4 (0-31)	0 (0-14)	<0.0001
SLICC modificado <sup>a</sup>	0 (0-4)	0 (0-3)	0.85
Síndrome nefrótico—n (%)	7 (16)	3 (5)	0.08
Cirugía reciente—n (%)	1 (2)	1 (2)	1.00
Inmovilización—n (%)	5 (12)	0	0.009
Vasculitis—n (%)	2 (5)	0	0.16
Prednisona—n (%)	32 (74)	30 (48)	
Prednisona—mg <sup>a</sup>	23 (1-100)	7.5 (2.5-53)	0.0001
Antimaláricos—n (%)	18 (42)	36 (57)	0.009
Azatioprina—n (%)	14 (33)	24 (38)	0.68
Ciclofosfamida—n (%)	5 (12)	5 (8)	0.52
Mofetil micofenolato—n (%)	5 (12)	11 (17)	0.58
Metotrexate—n (%)	0	8 (13)	0.02
Antiagregantes—n (%)	6 (14)	10 (16)	1.00
<b>Características serológicas</b>			
Anti-RNP/Sm—n (%)	35 (81)	39 (62)	0.03
Anti-Sm—n (%)	33 (76)	42 (67)	0.28
Anti-cardiolipina IgG—n (%)	13 (30)	7 (11)	0.02
Anti-cardiolipina IgM—n (%)	6 (14)	4 (6)	0.31
Anti-cardiolipina cualquiera—n (%)	16 (37)	8 (13)	0.004
Anti-B2 GP1 IgG—n (%)	7 (16)	4 (6)	0.11
Anti-B2 GP1 IgM—n (%)	7 (16)	3 (5)	0.08
Anti-B2 GP1 cualquiera—n (%)	11 (26)	5 (8)	0.02
AL—n (%)	27 (66)	12 (19)	<0.0001
Doble marcador—n (%)	7 (16)	7 (11)	0.56
Triple marcador—n (%)	7 (16)	1 (2)	0.007
Anti-RNP/Sm + AL—n (%)	23 (56)	9 (14)	<0.0001

<sup>a</sup> Mediana (min-max)

**Tabla 9. Características de los pacientes con anti-RNP/Sm positivo y negativo**

Variable	Anti-RNP/Sm+ N=91	Anti-RNP/Sm- N=35	p
<b>Características demográficas</b>			
Sexo femenino—n (%)	86 (95)	25 (71)	0.001
Edad a la inclusión—años <sup>a</sup>	36 (18-64)	45 (20-69)	0.25
Tiempo de evolución—meses <sup>a</sup>	110 (3-523)	164 (13-456)	0.03
IMC <sup>b</sup>	25.4 ± 5.3	26.6 ± 6.2	0.30
Tabaquismo—n (%)	4 (4)	4 (11)	0.21
Diabetes mellitus—n (%)	4 (4)	0	0.57
Dislipidemia—n (%)	15 (16)	7 (20)	0.61
Síndrome nefrótico—n (%)	9 (10)	2 (6)	0.72
Hipertensión arterial sistémica—n (%)	17 (19)	8 (23)	0.62
Insuficiencia 36ardiac congestiva—n (%)	2 (2)	0	1.00
Cirugía reciente—n (%)	1 (1)	1 (3)	0.48
Inmovilización—n (%)	2 (2)	4 (11)	0.05
Anticonceptivos orales—n (%)	1 (1)	0	1.00
Terapia hormonal de remplazo—n (%)	0	1 (3)	0.27
<b>Características de la enfermedad</b>			
Número de criterios al diagnóstico <sup>a</sup>	5 (4-8)	4 (4-6)	0.23
Fotosensibilidad—n (%)	12 (13)	13 (37)	0.005
Eritema malar—n (%)	30 (33)	11 (31)	1.00
Úlceras orales—n (%)	32 (35)	12 (34)	1.00
Lupus discoide—n (%)	7 (7)	1 (3)	0.44
Artritis—n (%)	68 (75)	26 (74)	1.00
Serositis—n (%)	35 (38)	6 (17)	0.03
Nefropatía—n (%)	42 (46)	17 (49)	0.84
Neurológico—n (%)	5 (5)	2 (6)	1.00
Hematológico—n (%)	55 (60)	24 (69)	0.42
Inmunológico—n (%)	77 (85)	18 (51)	<0.001
ANA—n (%)	77 (85)	30 (86)	1.00
Vasculitis—n (%)	2 (2)	1 (3)	1.00
SAF obstétrico—n (%)	5 (4)	1 (3)	1.00
<b>Características serológicas</b>			
Anti-cardiolipina IgG—n (%)	21 (23)	4 (11)	0.21
Anti-cardiolipina IgM—n (%)	13 (14)	2 (6)	0.23
Anti-B2 GP1 IgG—n (%)	14 (15)	3 (9)	0.39
Anti-B2 GP1 IgM—n (%)	12 (13)	1 (3)	0.11
AL—n (%)	42 (47)	8 (24)	0.02
Doble marcador AFL positivo—n (%)	16 (18)	2 (6)	0.15
Triple marcador AFL positivo—n (%)	10 (11)	2 (6)	0.50
<b>Características a la trombosis/DD</b>			
Trombosis—n (%)	52 (57)	11 (31)	0.01
SLEDAI <sup>a</sup>	2 (0-31)	0 (0-20)	0.005

SLICC <sup>a</sup>	0 (0-4)	0 (0-2)	0.36
Prednisona—n (%)	64 (70)	15 (43)	0.007
Prednisona—mg <sup>a</sup>	10 (2.5-100)	15 (1-52.5)	0.30
Antimaláricos—n (%)	41 (45)	20 (57)	0.23
Azatioprina—n (%)	39 (43)	9 (26)	0.10
Ciclofosfamida—n (%)	10 (11)	1 (3)	0.28
Mofetil micofenolato—n (%)	11 (12)	5 (14)	0.76
Metotrexate—n (%)	6 (6)	3 (9)	0.70

<sup>a</sup> Mediana (min-max)

<sup>b</sup> Media±DE

**Tabla 10. Características de los pacientes con AL positivo y negativo (N=124)**

Variable	AL+ N=50	AL- N=74	p
<b>Características demográficas</b>			
Sexo femenino—n (%)	46 (92)	64 (87)	0.39
Edad a la inclusión—años <sup>a</sup>	43 (22-69)	39 (18-68)	0.63
Tiempo de evolución—meses <sup>a</sup>	167 (3-523)	117 (6-456)	0.09
IMC <sup>b</sup>	26.1 ± 6.2	25.4 ± 5.1	0.80
Tabaquismo—n (%)	3 (6)	5 (7)	1.00
Diabetes mellitus—n (%)	1 (2)	3 (4)	0.64
Dislipidemia—n (%)	4 (8)	18 (24)	0.02
Síndrome nefrótico—n (%)	4 (8)	7 (9)	1.00
Hipertensión arterial sistémica—n (%)	8 (16)	17 (23)	0.37
Insuficiencia 37ardiac congestiva—n (%)	1 (2)	1 (1)	1.00
Cirugía reciente—n (%)	1 (2)	1 (1)	1.00
Inmovilización—n (%)	6 (12)	0	0.004
Anticonceptivos orales—n (%)	1 (2)	0	0.40
Terapia hormonal de reemplazo—n (%)	0	1 (1)	1.00
<b>Características de la enfermedad</b>			
Número de criterios al diagnóstico <sup>a</sup>	5 (4-8)	4 (4-7)	0.17
Fotosensibilidad—n (%)	9 (18)	15 (20)	0.82
Eritema malar—n (%)	20 (40)	20 (27)	0.17
Úlceras orales—n (%)	19 (38)	25 (34)	0.70
Lupus discoide—n (%)	4 (8)	4 (5)	0.71
Artritis—n (%)	37 (74)	55 (74)	1.00
Serositis—n (%)	14 (28)	27 (36)	0.33
Nefropatía—n (%)	20 (40)	39 (53)	0.20
Neurológico—n (%)	3 (6)	4 (5)	1.00
Hematológico—n (%)	35 (70)	42 (57)	0.18
Inmunológico—n (%)	38 (76)	55 (74)	1.00
ANA—n (%)	44 (88)	61 (82)	0.45
Vasculitis—n (%)	2 (4)	1 (1)	0.56
SAF obstétrico—n (%)	4 (8)	2 (3)	0.21

<b>Características serológicas</b>			
Anti-RNP/Sm—n (%)	42 (84)	48 (65)	0.02
Anti-Sm—n (%)	39 (78)	50 (68)	0.22
Anti-cardiolipina IgG—n (%)	19 (38)	5 (7)	<0.0001
Anti-cardiolipina IgM—n (%)	8 (16)	7 (9)	0.40
Anti-B2 GP1 IgG—n (%)	12 (24)	5 (7)	0.008
Anti-B2 GP1 IgM—n (%)	9 (18)	4 (5)	0.03
<b>Características a la trombosis/DD</b>			
Trombosis—n (%)	38 (76)	23 (31)	<0.0001
SLEDAI <sup>a</sup>	4 (0-31)	2 (0-16)	0.03
SLICC <sup>a</sup>	0 (0-4)	0 (0-3)	0.74
Prednisona—n (%)	33 (66)	44 (59)	0.57
Prednisona—mg <sup>a</sup>	15 (2.5-100)	10 (1-60)	0.008
Antimaláricos—n (%)	23 (46)	37 (50)	0.71
Azatioprina—n (%)	16 (32)	32 (43)	0.26
Ciclofosfamida—n (%)	5 (10)	6 (8)	0.75
Mofetil micofenolato—n (%)	3 (6)	13 (18)	0.09
Metotrexate—n (%)	2 (4)	7 (9)	0.31

<sup>a</sup> Mediana (min-max)

<sup>b</sup> Media±DE

**Tabla 11. Características de los pacientes con RNP/Sm+ AL positivo y negativo (N=124)**

<b>Variable</b>	<b>Anti/RNP/Sm+AL+ N=41</b>	<b>Anti- RNP/Sm+AL- N=83</b>	<b>p</b>
<b>Características demográficas</b>			
Sexo femenino—n (%)	39 (95)	71 (86)	0.14
Edad a la inclusión—años <sup>a</sup>	40 (22-63)	40 (18-69)	0.78
Tiempo de evolución—meses <sup>a</sup>	155 (3-523)	132 (6-456)	0.49
IMC <sup>b</sup>	25.7 ± 5.5	25.6 ± 5.6	0.98
Tabaquismo—n (%)	2 (5)	6 (7)	1.00
Diabetes mellitus—n (%)	1 (2)	3 (4)	1.00
Dislipidemia—n (%)	2 (5)	20 (24)	0.01
Síndrome nefrótico—n (%)	4 (10)	7 (8)	1.00
Hipertensión arterial sistémica—n (%)	6 (15)	19 (23)	0.34
Insuficiencia 38ardiac congestiva—n (%)	1 (2)	1 (1)	1.00
Cirugía reciente—n (%)	1 (2)	1 (1)	1.00
Inmovilización—n (%)	2 (5)	4 (5)	1.00
Anticonceptivos orales—n (%)	1 (2)	0	0.33
Terapia hormonal de remplazo—n (%)	0	1 (1)	1.00
<b>Características de la enfermedad</b>			

Número de criterios al diagnóstico <sup>a</sup>	5 (5-8)	4 (4-7)	0.24
Fotosensibilidad—n (%)	7 (17)	17 (20)	0.81
Eritema malar—n (%)	17 (41)	23 (28)	0.15
Úlceras orales—n (%)	15 (37)	29 (35)	1.00
Lupus discoide—n (%)	3 (7)	5 (6)	1.00
Artritis—n (%)	30 (73)	62 (75)	1.00
Serositis—n (%)	13 (32)	28 (34)	1.00
Nefropatía—n (%)	18 (44)	41 (49)	0.57
Neurológico—n (%)	2 (5)	5 (6)	1.00
Hematológico—n (%)	28 (68)	49 (59)	0.33
Inmunológico—n (%)	32 (78)	61 (73)	0.66
ANA—n (%)	36 (88)	69 (83)	0.60
Vasculitis—n (%)	1 (2)	2 (2)	1.00
SAF obstétrico—n (%)	4 (10)	2 (2)	0.09
<b>Características serológicas</b>			
Anti-cardiolipina IgG—n (%)	15 (37)	9 (11)	0.001
Anti-cardiolipina IgM—n (%)	6 (15)	9 (11)	0.56
Anti-B2 GP1 IgG—n (%)	10 (24)	7 (8)	0.02
Anti-B2 GP1 IgM—n (%)	8 (20)	5 (6)	0.03
<b>Características a la trombosis/DD</b>			
Trombosis—n (%)	32 (78)	29 (35)	<0.0001
SLEDAI <sup>a</sup>	4 (0-31)	2 (0-20)	0.004
SLICC <sup>a</sup>	0 (0-4)	0 (0-3)	0.71
Prednisona—n (%)	27 (66)	50 (60)	0.56
Prednisona—mg <sup>a</sup>	15 (2.5-100)	10 (1-60)	0.05
Antimaláricos—n (%)	17 (41)	43 (52)	0.34
Azatioprina—n (%)	13 (32)	35 (42)	0.32
Ciclofosfamida—n (%)	5 (12)	6 (7)	0.50
Mofetil micofenolato—n (%)	3 (7)	13 (16)	0.26
Metotrexate—n (%)	2 (5)	7 (8)	0.71

<sup>a</sup> Mediana (min-max)

<sup>b</sup> Media±DE

**Tabla 12. Análisis de regresión logística univariado**

Variable	OR	IC 95%	P
SLEDAI-2K	1.22	1.09-1.35	<0.001
AL	2.91	3.10-15.85	<0.001
Anti-RNP/Sm	2.9	1.27-6.64	0.01
Triple marcador	6.62	2.78-15.74	<0.001
Anti-RNP/Sm+AL	5.84	2.51-13.57	<0.001

**Tabla 13. Análisis de regresión logística multivariado**



Variable	OR	IC 95%	P
SLEDAI-2K	1.22	1.09-1.39	<0.001
Anti-RNP/Sm+AL	4.45	2.51-13.57	<0.001
Anticardiolipina (IgM o IgG)	3.85	1.36-10.92	0.01

**Tabla 14. Rendimiento diagnóstico de los anticuerpos en trombosis general**

Prueba	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN	LR + (IC 95%)	LR – (IC 95%)
Anti-RNP/Sm	83	38	57	68	1.33 (1.07-1.67)	0.46 (0.25-0.85)
AL	62	81	76	69	3.27 (1.90-5.64)	0.47 (0.33-0.66)
Doble marcador	17	89	61	52	1.57 (0.55-3.69)	0.93 (0.8-1.07)
Triple marcador AFL	17	98	92	55	11.36 (1.51-85.35)	0.83 (0.74-0.94)
Anti- RNP/Sm+AL	52	86	78	65	3.67 (1.92-7.04)	0.55 (0.42-0.74)

**Tabla 15. Rendimiento diagnóstico de los anticuerpos en trombosis venosa**

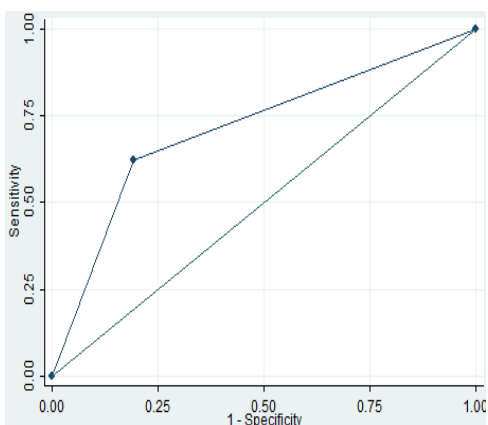
Prueba	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN	LR + (IC 95%)	LR – (IC 95%)
Anti-RNP/Sm	81	38	47	75	1.31 (1.07-1.67)	0.49 (0.24-0.98)
AL	66	81	70	79	3.46 (1.99-6.02)	0.42 (0.27-0.66)
Doble marcador	16	89	50	61	1.47 (0.55-3.88)	0.94 (0.8-1.10)
Triple marcador AFL	16	98	88	63	10.26 (1.31-80.4)	0.85 (0.74-0.97)
Anti- RNP/Sm+AL	56	84	70	75	3.53 (1.88-6.63)	0.52 (0.36-0.75)

**Tabla 16. Rendimiento diagnóstico de los anticuerpos en trombosis arterial**

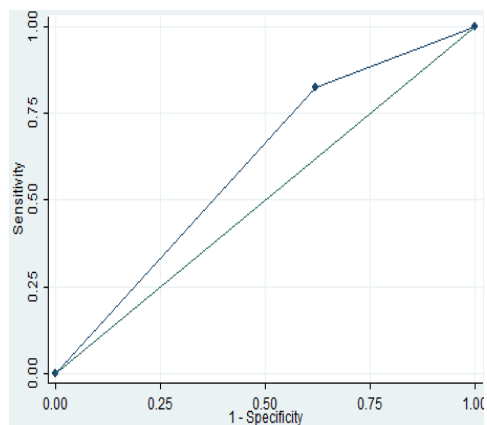
Prueba	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN	LR + (IC 95%)	LR – (IC 95%)
Anti-RNP/Sm	85	38	31	89	1.37 (1.05-1.79)	0.39 (0.24-0.98)
AL	55	81	48	85	2.89 (1.51-5.5)	0.56 (0.34-0.92)

<b>Doble marcador</b>	20	89	36	78	1.8 (0.59-5.52)	0.9 (0.7-1.14)
<b>Triple marcador AFL</b>	20	98	80	79	12.6 (1.49-106.3)	0.81 (0.42-0.74)
<b>Anti-RNP/Sm+AL</b>	45	84	47	83	2.84 (1.34-5.98)	0.65 (0.43-0.99)

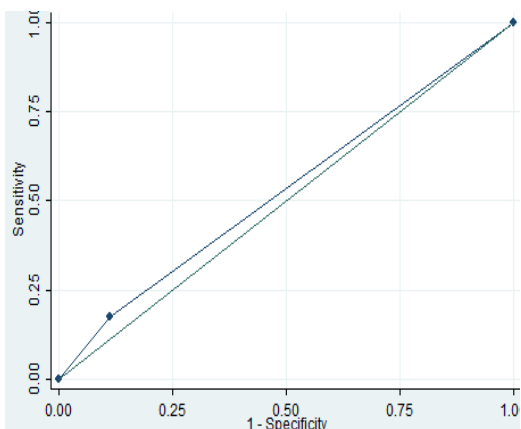
**Figura 1. Área bajo la curva ROC para trombosis general**



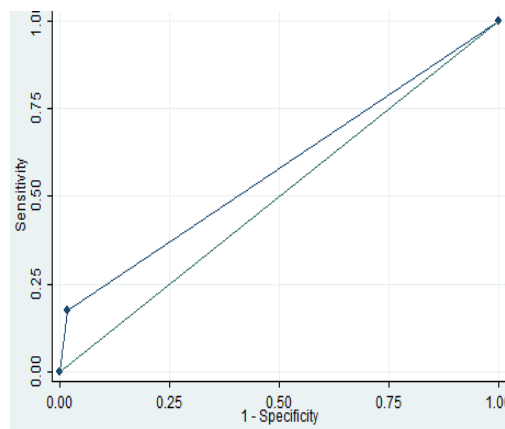
**Anti-RNP/Sm (AUC= 0.6)**



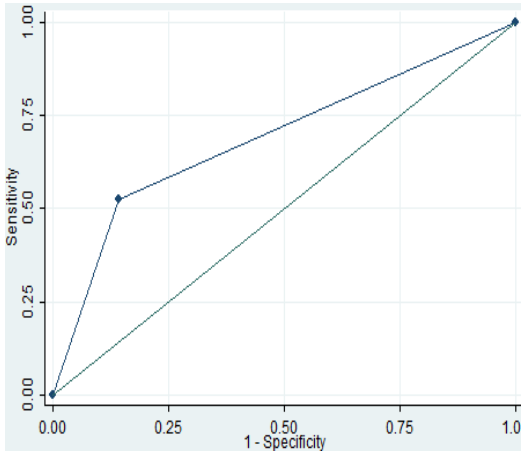
**AL (AUC =0.71)**



**Triple marcador (AUC =0.57)**

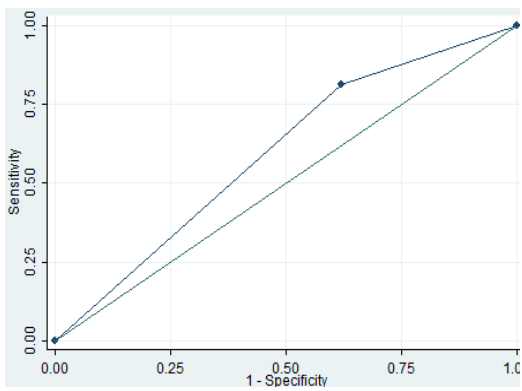


**Doble marcador (AUC= 0.53)**

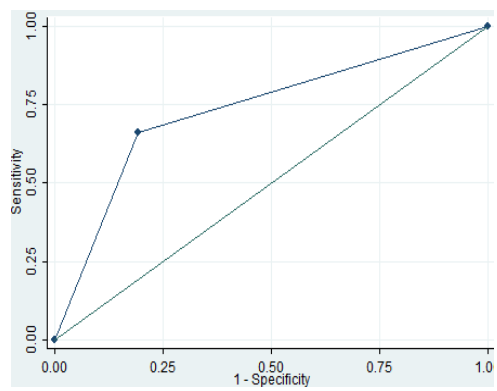


**Anti-RNP/Sm + AL (AUC=0.69)**

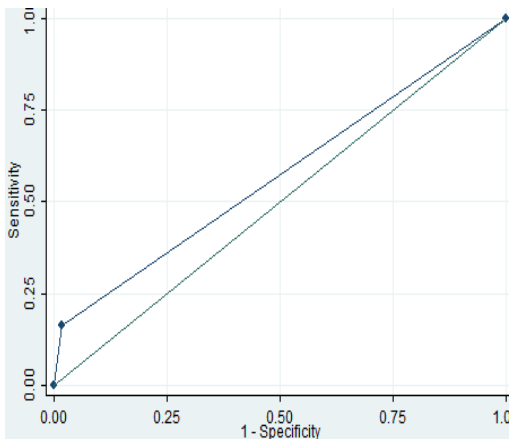
**Figura 2. Área bajo la curva ROC para trombosis venosa**



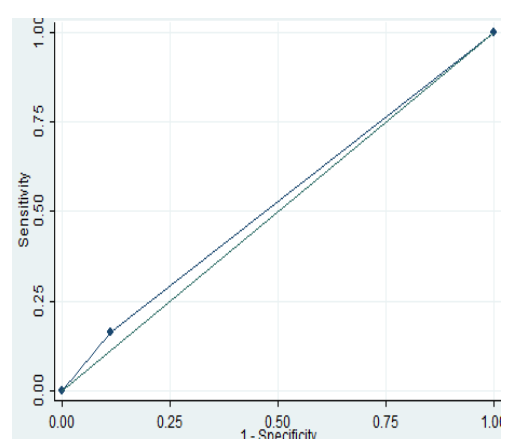
**Anti-RNP/Sm (AUC=0.6)**



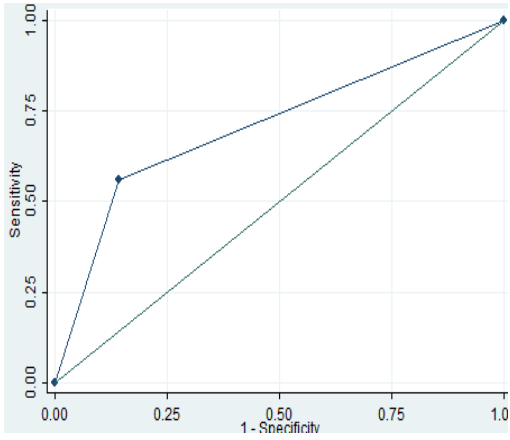
**AL (AUC= 0.73)**



**Triple marcador (AUC= 0.57)**

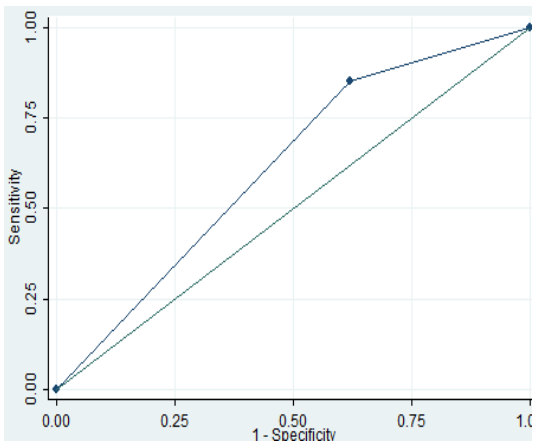


**Doble marcador (AUC= 0.52)**

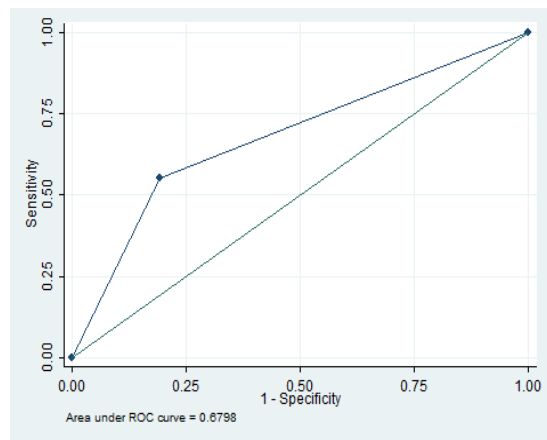


**Anti-RNP/Sm + AL (AUC= 0.69)**

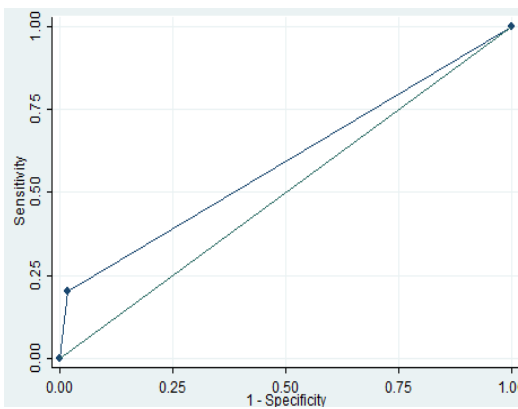
**Figura 3. Área bajo la curva ROC para trombosis arterial**



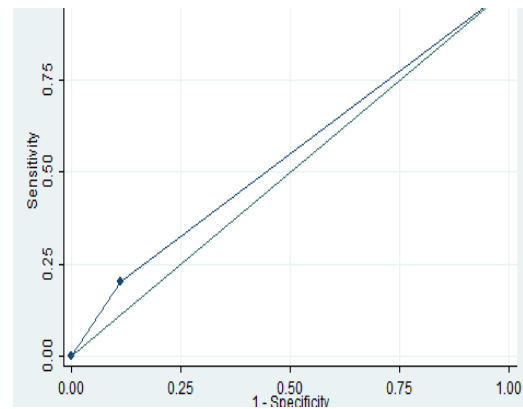
**Anti-RNP/Sm (AUC=0.62 )**



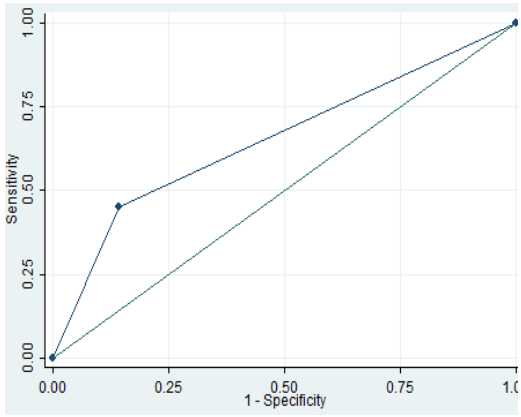
**AL (AUC=0.68)**



**Triple marcador (AUC=0.59)**



**Doble marcador (AUC=0.54)**



**Anti-RNP/Sm + AL (AUC=0.65)**