



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS POSGRADO E
INVESTIGACIÓN

INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y
NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN

**EVALUACIÓN DE ANTICUERPOS
ANTIFOSFATIDILSERINA/PROTROMBINA Y SU
ASOCIACIÓN CON MANIFESTACIONES CLÍNICAS
EN SÍNDROME ANTIFOSFOLÍPIDOS PRIMARIO**

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

PRESENTA
DRA. PAOLA ESTEFANÍA BERMÚDEZ BERMEJO

TUTOR DE TESIS
**DRA. GABRIELA AURORA HERNÁNDEZ MOLINA
DR. CARLOS NUÑEZ ÁLVAREZ**



CIUDAD DE MÉXICO, 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE LA ESPECIALIDAD DE REUMATOLOGÍA
EVALUACIÓN DE ANTICUERPOS ANTIFOSFATIDILSERINA/PROTROMBINA Y SU ASOCIACIÓN CON
MANIFESTACIONES CLÍNICAS EN SÍNDROME ANTIFOSFOLÍPIDOS PRIMARIO



Dr. Sergio Ponce de León Rosales
Director de Enseñanza del INCMNSZ



INCMNSZ
INSTITUTO NACIONAL
DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN
"DR. SALVADOR ZUBIRÁN"
DIRECCIÓN DE ENSEÑANZA
México, D.F.



Dra. Marina Rull Gabayet
Jefa del Departamento de Inmunología y Reumatología
Profesor titular del curso de Reumatología



Dra. Gabriela Hernández Molina
Investigadora en ciencias médicas letra "E"
Adscrita al Departamento de Inmunología y Reumatología
Tutor de tesis



Dra. Paola Estefanía Bermúdez Bermejo
Residente de segundo año de Reumatología

INDICE

1. Resumen	p. 4
2. Marco teórico	p. 6
3. Planteamiento y justificación del problema	p. 12
4. Hipótesis	p. 13
5. Objetivos	p. 13
6. Métodos	p. 14
7. Análisis estadístico	p. 16
8. Consideraciones éticas	p. 16
9. Resultados	p. 17
10. Discusión	p. 21
11. Referencias	p. 25

RESUMEN

Antecedentes. Existen resultados contradictorios del significado de los anticuerpos(acs) antifosfatidilserina/protrombina (aFS/PT), sin embargo su asociación con trombosis es cada vez más reconocida. La mayoría de los estudios se han realizado en pacientes con Lupus eritematoso sistémico y Síndrome antifosfolípidos (SAF) secundario. **Objetivos.** Evaluar la prevalencia de anticuerpos aFS/PT, su asociación con otros anticuerpos antifosfolípidos y manifestaciones clínicas en una cohorte de pacientes con SAF primario (SAFP). **Métodos.** Incluimos 96 pacientes con SAFP del INCMNSZ. Los pacientes reunieron criterios clínicos y serológicos de Sydney para SAF, o podían tener trombocitopenia y/o anemia hemolítica+ el criterios serológico. Se registraron datos demográficos y tipo de manifestaciones. Los anticuerpos anti-cardiolipina (aCL) IgG e IgM, a β 2GLP1 (IgG e IgM) y aFS/PT (IgG e IgM) fueron evaluados mediante ELISA. El resultado de AL fue registrado del expediente clínico. Se utilizó estadística descriptiva, correlación de Spearman, concordancia con kappa de Cohen y regresión logística. **Resultados.** La mayoría de los pacientes fueron mujeres (69.7%), edad 44.5 ± 14.6 , y mediana de duración de la enfermedad de 7.3 años. La principal manifestación fue trombosis (n=74, 77%), hematológicas (n=49 pacientes, 51%) y obstétricas (n=24, 25%) (grupos no exclusivos). La frecuencia de anticuerpos aFS/PT fue de 61.2% y 61.6% para isotipos IgG e IgM respectivamente. Al comparar pacientes con AL+ (n=58) vs. AL- (N=25), el primer grupo tuvo una mayor prevalencia de aFS/PT-IgG (79.3% vs. 16%, $p=0.0001$) y aFS/PT IgM (81.5% vs. 31.8%, $p=0.001$), así como títulos mayores. Los anticuerpos aFS/PT IgG correlacionaron con el isotipo IgM y los anticuerpos aFS/PT IgM con los anticuerpos aCL IgG e IgM, y a β 2GLP1 IgG e IgM. Hubo asociación

moderada entre el AL y ambos isotipos aFS/PT. La trombosis se asoció con aFS/PT IgG (87.7% vs 61.1 %, $p=0.0003$). En el análisis de regresión logística, los aFS/PT IgG mostraron persistente asociación con trombosis RM 8.6 IC 95% 2.1-33.8, $p=0.002$). De manera interesante encontramos que los aFS/PT IgG fueron protectores para manifestaciones hematológicas puras (RM 0.13, IC 95% 0.03-0.51, $p=0.004$).

Conclusiones. En esta cohorte de SAF primario, los anticuerpos aFS/PT fueron altamente prevalentes, correlacionaron con otros anticuerpos antifosfolípidos (aFL), se asociaron de manera independiente con trombosis y fueron factor protector para manifestaciones hematológicas.

Marco teórico

El Síndrome antifosfolípidos (SAF) es una enfermedad sistémica autoinmune que se caracteriza por trombosis recurrente, morbilidad en el embarazo y títulos altos de aFL (1).

Fue descrito por primera vez en la década de los 80 por Graham Hughes, en pacientes con LEG con trombosis recurrente, enfermedad en sistema nervioso central incluyendo trombosis cerebral, mielitis o ambos, y abortos recurrentes, asociado a reacciones de falsos positivos para la prueba de sífilis. A la postre se mostró que existía un anticuerpo que interfiere con la unión de los fosfolípidos al activador de protrombina, prolongando el tiempo parcial de tromboplastina in vitro, presentando de manera paradójica una tendencia a trombosis. (2).

De manera interesante, Alarcón-Segovia y cols, describieron 667 pacientes con manifestaciones trombóticas, hematológicas y aFL, sin evidencia de otra enfermedad autoinmune, y propuso los criterios preliminares de clasificación para SAF (Tabla 1). (3).

Tabla 1. Criterios diagnósticos de Síndrome antifosfolípido primario. Propuestos por Alarcón-Segovia
Definido por 2 o más de las siguientes manifestaciones clínicas
<ul style="list-style-type: none"> • Pérdida fetal recidivante • Anemia hemolítica • Trombocitopenia • Trombosis venosa • Trombosis arterial • Úlceras en piernas • Livedo reticularis
Más: Títulos altos de aFL (IgG o IgM > 5 DE)

En 1999 fueron publicados los criterios preliminares de clasificación de SAF formulados en Sapporo, Japón, después del octavo simposio Internacional sobre aFL (4). Estos criterios fueron posteriormente revisados en 2006 y son los criterios que se encuentran actualmente vigentes para su clasificación (Tabla 2) (1).

Por lo que hoy en día para el diagnóstico de SAF se requiere cumplir con un criterio clínico, que incluye manifestaciones trombóticas y manifestaciones ginecobstétricos.

Así como presentar positividad para al menos un criterio de laboratorio (AL, aCL IgG, IgM, aβ2GP1 IgG, IgM). Todos ellos deben ser positivos en más de dos ocasiones con un intervalo mínimo de 12 semanas (1).

Tabla 2. Criterios de Sydney revisados de clasificación de Síndrome Antifosfolípidos (2006).

Al menos un criterio clínico y un criterio de laboratorio

Criterios clínicos:

1. Trombosis vascular: Uno o más episodios de trombosis arterial, venosa o de pequeños vasos en cualquier tejido u órgano. Validado objetivamente mediante estudios de imagen o por histología. Para la confirmación histológica, la trombosis debe estar presente sin evidencia significativa de inflamación vascular
2. Complicaciones obstétricas:
 - Uno o más muertes inexplicables de fetos morfológicamente normales a las 10 semanas o más de gestación, con morfología normal del feto documentada por ultrasonido o por examinación directa del feto, o
 - Uno o más nacimientos prematuros de neonatos morfológicamente normales, a las 34 semanas de gestación o antes, debido a eclampsia, preeclampsia severa o insuficiencia placentaria severa, o
 - Tres o más abortos espontáneos consecutivos inexplicables antes de la semana 10 de gestación, habiéndose excluido anomalías maternas anatómicas u hormonales, y alteraciones cromosómicas en ambos padres.

Criterios de laboratorio:

1. Presencia de AL en plasma, en dos o más ocasiones, con un intervalo mínimo de 12 semanas, de acuerdo a las pautas establecidas por la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia.
2. aCL IgG y/o IgM en suero o plasma, con títulos medios o altos (>40 GPL o MPL, o > percentil 99), en dos o más ocasiones, con un intervalo mínimo de 12 semanas, determinados por una prueba de ELISA estandarizada.
3. aB2GPI IgG y/o IgM en suero o plasma, con títulos medios o altos (>40 GPL o MPL, o > percentil 99), en dos o más ocasiones, con un intervalo mínimo de 12 semanas, determinados por una prueba de ELISA estandarizada.

Además de las manifestaciones trombóticas y obstétricas descritas en los criterios revisados de Sydney, existen algunas otras manifestaciones clínicas y de laboratorio no incluidas en esta clasificación.

Manifestaciones clínicas consideradas como “no criterio”

A este respecto, el grupo de trabajo sobre aFL llevó a cabo las recomendaciones con el fin de sugerir una revisión de los criterios de clasificación actuales. Por lo que actualmente se discuten las manifestaciones no incluidas en criterios diagnósticos: trombosis venosa superficial, trombocitopenia, nefropatía, enfermedad valvular cardíaca, migraña, corea, mielitis transversa y crisis convulsivas (5).

La prevalencia de trombocitopenia en pacientes con SAF primario, se ha calculado entre 15% y 42% (6, 7, 8, 9, 10, 11) y la de anemia hemolítica se ha reportado en 10.4% en una cohorte de pacientes con SAF (12). Mientras que en otras cohortes de pacientes con LEG + SAF la incidencia de anemia hemolítica va desde 6.6% hasta 9% (9, 3).

En nuestro instituto se realizó un estudio retrospectivo con 187 pacientes consecutivos que cumplían criterios actuales de clasificación para SAF o criterios de Alarcón-Segovia, encontrando que el 64% de los pacientes tuvieron trombocitopenia, 14% anemia hemolítica y 11% síndrome de Evans. La trombocitopenia precedió la aparición de trombosis en el 24% de los pacientes, en una media de 3 años (0.5 - 10 años). Los pacientes con trombocitopenia fueron 2 veces más frecuentemente positivos para AL en aquellos con episodios de trombosis (71 vs 35%, con OR 4.46).

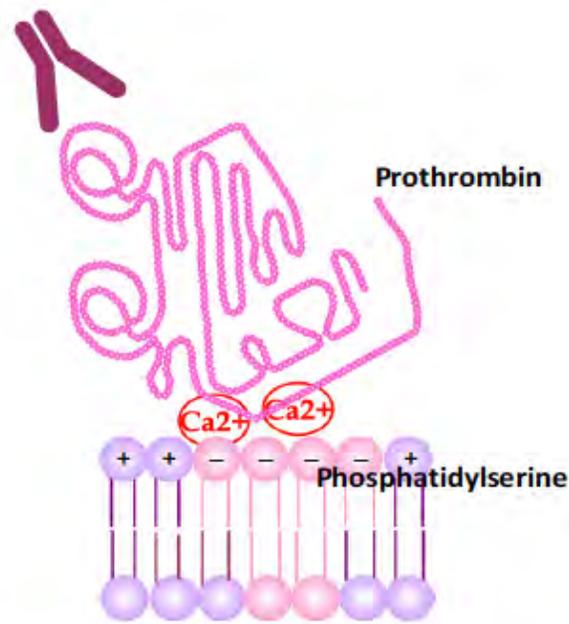
(13).

Anticuerpos antifosfolípidos considerados como “no criterio”

Además de los anticuerpos incluidos en criterios de laboratorio de Sydney, actualmente existen otros anticuerpos que han mostrado una fuerte asociación con el SAF y que en los últimos años han tenido un mayor enfoque en su utilidad clínica, entre ellos encontramos: los antifosfatidiletanolamina, antifosfatidilcolina, anti-anexina A5, anti-D1 de la β 2GLP1 y antifosfatidilserina/protrombina (aFS/PT) (14).

En relación a los aFS/PT, éstos han sido objeto de estudio y aunque se han encontrado resultados contradictorios, han tomado un valor importante en el SAF. Los aFS/PT se unen a neoepítopes expuestos posterior al cambio conformacional que genera la unión de la PT a la FS (Figura 1). Esta interacción ocasiona la inhibición del complejo protrombinasa y favorece la formación de trombina (15). Adicionalmente se sabe que el complejo aFS/PT es más protrombótico que los dirigidos únicamente contra PT (16,17,18). Algunos estudios han reportado una mayor prevalencia de este anticuerpo en comparación con aCL y a β 2GLP1 en pacientes con SAFP (62 % vs 25%).

Figura 1. Representación de los anticuerpos aFS/PT



En algunos estudios de pacientes con LEG y SAF se ha evaluado la correlación de los aFS/PT con trombosis. **Hoxha A. et al** encontraron un OR para trombosis arterial asociado al isotipo IgM de 2.7 ($P < 0.001$) dependiente de los títulos, **Nojima et al**, correlacionaron los anticuerpos aPS/PT con un mayor riesgo de trombosis arterial. Por otro lado, se conoce también que existe el riesgo independiente de trombosis de los anticuerpos aFS/PT isotipo IgG (OR 10.8, $p=0.001$) (21).

Por otra parte, se han comparado los títulos de aFS/PT en SAFP vs secundario, encontrando títulos más altos en SAFP (16, 20, 22).

Algunos grupos de investigación sugieren que estos anticuerpos pueden ser propuestos como una prueba confirmatoria para AL ya que identifica hasta el 39% de pacientes previamente no identificados (16, 17, 18, 23).

También se les ha atribuido una sensibilidad del 51% y especificidad del 85%, por lo que su identificación puede tener un valor clínico importante. No obstante, cabe mencionar que los anticuerpos aFS/PT no han sido validados totalmente pero la prueba ha sido reproducible (24).

Adicionalmente, se ha descrito que los anticuerpos aFS/PT junto con el AL positivo correlacionan con un mayor riesgo de trombosis en pacientes con SAF secundario (19, 20, 23, 33). También los anticuerpos aFS/PT han sido relacionados con manifestaciones ginecobstétricas (22), específicamente con muerte fetal. En este sentido, estos anticuerpos aparecen en un 50% de mujeres con SAF y abortos recurrentes. También se ha descrito una correlación con abortos menores a 10 SDG, muerte fetal y parto prematuro (25, 26). En contraste, Tsustsumi et al. no encontraron asociación entre pacientes con abortos recurrentes y la presencia de aFS/PT.

Planteamiento y Justificación del problema

Los aFS/PT se han asociado a episodios trombóticos en pacientes con SAFP y se han correlacionado con la presencia de AL positivo. No obstante los estudios que han abordado este tema, han sido en su gran mayoría realizados en población de pacientes con LEG+SAF y no en pacientes con SAF primario.

Por otra parte, existe evidencia contradictoria de su asociación con manifestaciones ginecobstétricas y su asociación con manifestaciones hematológicas no ha sido evaluada.

El presente trabajo, explorará la presencia de estos anticuerpos en una cohorte de pacientes con SAFP y su asociación con manifestaciones trombóticas y hematológicas; así como su asociación con los aFL incluidos en los criterios de clasificación de SAF primario.

Hipótesis

1. Los aFS/PT se asociarán a la presencia de manifestaciones trombóticas y hematológicas en pacientes con SAF primario.
2. Los anticuerpos aFS/PT se correlacionarán con la presencia de AL positivo.

Objetivos

1. Determinar la prevalencia de aFS/PT en una cohorte de pacientes con SAFP.
2. Evaluar la asociación de estos anticuerpos con la presencia de manifestaciones trombóticas y hematológicas.
3. Evaluar la correlación de los aFS/PT con aCL IgG e IgM, anti-B2GPI IgG e IgM y AL.

Métodos

Pacientes

Se trata de un estudio transversal, en el cual se incluyeron 96 pacientes consecutivos quienes acuden de forma rutinaria a la consulta externa del INCMNSZ (Centro de atención de tercer nivel), centro de atención de tercer nivel. El estudio se realizó de septiembre 2015-enero 2017.

- Criterios de inclusión
 1. Diagnóstico de SAFP de acuerdo a los criterios de Sidney o a los criterios de Alarcón-Segovia.
 2. Aceptaran participar bajo consentimiento informado

- Criterios de exclusión
 - 1.- Diagnóstico de SAF secundario

Se registró en forma retrospectiva utilizando un cuestionario previamente estandarizado diversas variables demográficas, fecha de diagnóstico, fecha de última cita, así como la presencia de manifestaciones clínicas obstétricas, trombóticas y hematológicas (anemia hemolítica autoinmune, trombocitopenia).

En la siguiente tabla (Tabla 3) se muestran las definiciones para los eventos trombóticos que fueron utilizadas.

Tabla 3. Métodos para definición de Trombosis
Ataque isquémico transitorio: Signos o síntomas neurológicos de menos de 24 horas de duración
Evento vascular cerebral: Signos o síntomas neurológicos > 24 hrs de duración que sean consistentes con un estudio de imagen (TAC, RMI o angiografía) que demuestre isquemia.
Trombosis de arteria/vena retiniana: Síntomas compatibles y diagnosticada por oftalmólogo en una revisión de fondo de ojo.
Angina inestable/Infarto agudo de miocardio: Presentación clínica asociada a cambios en electrocardiograma y elevación de enzimas cardíacas
Trombo intracardiaco: Detectado por ecocardiograma
Trombosis seno venoso cerebral: Documentada por TAC o RMI
Trombosis venosa profunda: Documentada por USG Doppler o venografía
Tromboembolia pulmonar: Documentada por TAC, gammagrafía V/Q o angiografía

Serología anticuerpos antifosfolípidos

Se tomó una muestra de sangre periférica de 5 ml para las determinaciones de aFS/PT, aCL (IgG e IgM) y a β 2GLP1 (IgG e IgM), las cuales se realizaron mediante ELISA; INOVA Diagnostics; San Diego CA, USA) en un equipo automatizado (DSX System; DYNEX Technologies).

En cuanto a la determinación del AL, dado a que muchos de los pacientes se encontraban anticoagulados, se decidió que esta variable solo se registraría del expediente clínico previo al inicio de anticoagulación (dato histórico). El AL fue determinado mediante el reactante de escrutinio LA/1 y la prueba confirmatoria fue LA/2, de acuerdo a las guías publicadas (28).

Los aFS/PT (isotipos IgG e IgM) se midieron utilizando un kit comercial por ELISA (INOVA Diagnostic) de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Los resultados se expresaron como U/ml derivadas de una curva estándar. Los puntos de corte para considerarlos positivos fueron de acuerdo a los valores de referencia de nuestro laboratorio. Estos valores corresponden a cifras por arriba de la percentila 95 en 60 controles sanos (IgG: \leq 15.7 U/mL y para IgM \leq 19.5 U/mL). Los ELISAs fueron procesados en un sistema DSX (DYNEX).

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó estadística descriptiva y para la comparación de grupos se utilizó T-student, U de Mann-Whitney, X^2 según la distribución de cada una de las variables. Para el análisis de correlación, se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson y para la concordancia Kappa de Cohen. Se consideró un valor significativo una $p < 0.05$. Se utilizó el software SPSS 20.

Consideraciones éticas

El estudio se realizó con aprobación del Comité de Ética del INCMNSZ y los pacientes proporcionaron consentimiento informado por escrito.

Resultados

Se incluyeron 95 pacientes, de los cuales el 69.7% fueron mujeres, con una edad promedio de 44.5 ± 14.6 años y con una mediana de enfermedad de 7.3 años. Setenta y cuatro pacientes (77%) presentaron manifestaciones trombóticas, 49 pacientes (51%) hematológicas y 24 (25%) obstétricas (grupos no mutuamente excluyentes).

Las características serológicas de los pacientes se observan en la Tabla 4; siendo el anticuerpo más prevalente el AL, seguido de los aFS/PT para ambos isotipos, los anticuerpos aCL isotipo IgG y los anticuerpos a β 2GPI isotipo IgG.

Tabla 4. Características serológicas

AL (n, %)	58/83 (69.8)
aCL IgG (n,%)	54 (56.8)
aCL IgM (n,%)	30 (31.5)
a β 2GPI IgG (n,%)	41 (43.1)
a β 2GPI IgM(n,%)	20 (21)
aFS/PT IgG (n,%)	57/93 (61.2)
aFS/PT IgM (n,%)	53/86 (61.6)

Al comparar al grupo de pacientes con AL positivo (n=58) vs. el grupo con AL negativo (n=25), el primero mostró una mayor prevalencia de aFS/PT IgG (79.3% vs.16%, p=0.0001) y de aFS/PT IgM (81.5% vs. 31.8%, p=0.001), así como títulos altos de aFS/PT IgG (aPS/PT-IgG 130.5 U vs. 8.2 U and aPS/PT-IgM 58.5 U vs. 16.6 U, p=0.0001).

Asociaciones entre aFS/PT y otros anticuerpos antifosfolípidos

Se calcularon correlaciones de los anticuerpos aFS/PT IgG e IgM con el resto de los aFL.

Como se observa en la Tabla 5 encontramos una correlación significativa de los aFS/PT isotipo IgG con los aFS/PT IgM, aCL-IgG, a β 2GP-I IgG y a β 2GP-I IgM.

Mientras que el anticuerpo aFS/PT isotipo IgM correlacionó con todos los anticuerpos: aCL ambos isotipos y con los anticuerpos anti-B2GP1 ambos isotipos.

Tabla 5. Correlaciones de anticuerpos aFS/PT.

Correlaciones aFS/PT-IgG	ρ	P
aFS/PT IgM	0.59	0.0001
aCL-IgG	0.62	0.0001
a β 2GP-I IgG	0.63	0.001
a β 2GP-I IgM	0.35	0.001
aCL-IgM		No significativo
Correlaciones aFS/PT-IgM		
aCL-IgG	0.57	0.0001
aCL-IgM	0.42	0.001
a β 2GP-I IgG	0.48	0.001
a β 2GP-I IgM	0.59	0.0001
aFS/PT-IgG	0.59	0.0001

Asimismo encontramos una concordancia moderada entre la presencia de AL y aFS/PT IgG e IgM ($k= 0.58$ $p=0.0001$ para el isotipo IgG, and $k=0.47$ $p=0.001$ para el isotipo IgM).

Asociación de aFS/PT con manifestaciones clínicas.

La Tabla 6 y 7 muestra la distribución de aPTS/PT isotipo IgG e IgM respectivamente de acuerdo a las manifestaciones clínicas. Observamos una mayor prevalencia del isotipo IgG en pacientes con trombosis y una menor prevalencia en pacientes solo con manifestaciones hematológicas. No hubo diferencias en la prevalencia del isotipo IgM entre los diferentes fenotipos clínicos.

Tabla 6. Manifestación clínica según estatus de anticuerpo aFS/PT IgG

Manifestación	aFS/PT IgG+	aFS /PT IgG-	p
Trombótica (aislada o combinada)	50 (87.7%)	22 (61.1%)	0.003
Solo hematológicas	7 (12.3%)	13 (36.1%)	0.009
Ambas	23 (40.4%)	4 (11.1%)	0.002

Tabla 7. Manifestación clínica según estatus de anticuerpo FPS/PT IgM

Manifestación	aFS /PT IgM+	aFS /PT IgM-	p
Trombóticas (aislada o combinada)	39(73.6%)	22 (81.1%)	0.37
Solo hematológicas	14(26.4%)	5 (15.2%)	0.20
Ambas	19 (35.2%)	7 (21.1%)	0.15

Se realizaron dos modelos de regresión logística ajustados cada uno para las variables significativas relacionadas en cada uno de ellos.

En el modelo para evaluar asociación de trombosis (ajustado para aCL IgG, anti-B2GP1 IgG, anti-B2GP-1 IgM, y AL), se identificó como factores de riesgo a los aB2GP-1 con RM de 7.40 IC 95% 1.76-31.1, $p=0.006$ y a los aFS/PT IgG RM 8.6 95% IC 95% 2.1-33.8, $p=0.002$.

Con respecto a manifestaciones hematológicas (ajustado para aCL IgG, anti-B2GP1 IgM y AL), se identificó como variable de riesgo a los anticuerpos anti-B2GPI IgM con una RM 7.93 IC 95% 1.88-33.2, $p=0.005$ y como factor protector a los aFS/PT IgG con una RM 0.13 IC 95% 0.03-0.51, $p=0.004$

Discusión

Dentro de los anticuerpos no considerados en los criterios actuales de clasificación para SAF, los anticuerpos aFS/PT han sido recientemente estudiados, mostrando resultados controversiales. Cabe resaltar que la mayoría de la literatura, deriva del estudio de SAF secundario en pacientes con LEG, o bien en grupos de pacientes no bien definidos clínicamente a los cuales le solicitan determinaciones de aFL.

En el presente trabajo de investigación encontramos un alta prevalencia de anticuerpos aFS/PT en pacientes con SAFP: isotipo IgG 61.2% e isotipo IgM 61.6%. Este hallazgo coincide con la prevalencia en otras cohortes que incluyen pacientes con SAFP y secundario los cuales oscilan del 50.6% al 62.5% considerando ambos isotipos (17,18). Por otra parte, al considerar los isotipos individualmente, nuestra prevalencia fue mayor que en otros estudios, por ejemplo en población japonesa se observó 16% del isotipo IgG y 10% del isotipo IgM (33).

Es importante mencionar que en nuestra cohorte se incluyeron únicamente pacientes con SAFP a comparación de los trabajos previamente publicados al respecto (16, 17, 18, 22, 33), además incluimos pacientes con manifestaciones hematológicas y serología positiva de acuerdo a los criterios de clasificación de Sydney.

Atsumi y colaboradores mostraron en población japonesa en su mayoría de pacientes con SAF secundario que la sensibilidad de los aFS/PT IgG es de 21.2% y para IgM de 24.4% a comparación de 35.4% atribuida al AL. La especificidad de los aFS/PT se ha descrito de 93.9% para el isotipo IgG y de 93.1% para el isotipo IgM a comparación de 88.3% atribuida al AL (33).

Como ha sido reportado previamente, pudimos confirmar que la prevalencia de los aFS/PT fue inclusive más alta que los aCL y anti-B2GP1 (17,18). Y también títulos más altos de aFS/PT en SAFP en comparación con pacientes con SAF secundario (16, 17, 20, 22, 33).

Por otra parte, Amengual y colaboradores observaron en pacientes con SAF secundario, que la presencia de aFS/PT positivos correlacionaba con AL positivo (16). De manera similar, nuestros resultados muestran una concordancia moderada de aFS/PT y AL para ambos isotipos, corroborando estos hallazgos en una cohorte exclusivamente de SAFP.

Estos hallazgos sugieren que los aFS/PT pudieran ser usados como parte de las pruebas diagnósticas y/o confirmatoria en SAF (16, 17, 18, 23, 33).

En nuestro trabajo también observamos que los aFS/PT isotipo IgG correlacionaron principalmente con manifestaciones trombóticas, pero no así con manifestaciones hematológicas aunque la prevalencia de estas manifestaciones fue alta. De manera interesante, observamos un riesgo 8 veces mayor de trombosis asociado a la presencia del aFS/PT IgG, de forma independiente, siendo mayor que el riesgo atribuido a estos anticuerpos en otras cohortes como en la de Atsumi et al. en donde se reportó un riesgo de 3.6 veces (33). Sin embargo, el riesgo de trombosis fue comparable con los resultados obtenidos en otras cohortes (18, 21).

En el presente estudio la asociación con trombosis atribuida a la presencia de aFS/PT fue incluso mayor que la del resto de aFL incluidos los aB2GLP-1 IgM (29, 30, 31, 32).

Aunque algunas otras cohortes han reportado correlación del isotipo IgM para los aFS/PT con manifestaciones trombóticas, nuestro grupo no lo confirmó.

Si bien este isotipo no se encontró asociado a una manifestación en específico, si correlacionó con todos los demás anticuerpos evaluados, tanto isotipo IgG como IgM de aCL y antiB2GPI (34). Recientemente un meta-análisis en 177 estudios de pacientes con SAF secundario sugirió que los isotipos IgM de aCL y aB2GLP-1 en su mayoría no correlacionaban significativamente con manifestaciones trombóticas al contrario del isotipos IgG (32). Con nuestros hallazgos pudiéramos inferir que es probable que los aFS/PT de isotipo IgM tampoco se asocien significativamente a trombosis.

Finalmente, la prevalencia de manifestaciones hematológicas en SAFF no es despreciable, y aunque no forma parte actual de los criterios clínicos de clasificación de Sydney para SAF, se reconoce como una manifestación asociada. El presente trabajo es el primero en evaluar la asociación de manifestaciones hematológicas y la presencia de anticuerpos aFS/PT. En este sentido, nosotros observamos en el análisis univariado y multivariado que el anticuerpo aFS/PT IgG fue un factor protector para presentar estas manifestaciones. En cuanto a la serología de otros anticuerpos en manifestaciones hematológicas en otros trabajos se ha descrito al anticuerpo aB2GLP-1 IgM como factor de riesgo lo cual no lo encontramos en nuestro trabajo.

Entre las debilidades de este trabajo encontramos que es un estudio transversal, con información retrolectiva y que no todas las mediciones se realizaron en el momento de la trombosis. Además por el diseño del estudio, no pudimos evaluar el comportamiento de los anticuerpos aFS/PT. No obstante, consideramos que nuestro trabajo es de relevancia dada a la escasa literatura existente de los anticuerpos aFS/PT al tratarse de una cohorte bien

establecida de solo pacientes con SAFP, incluyendo un gran número de pacientes y diversas manifestaciones clínicas no evaluadas en otros trabajos.

En conclusión, en esta cohorte de pacientes con SAFP proveniente de un hospital de referencia en la Ciudad de México encontramos principalmente que: 1) los anticuerpos aFS/PT son altamente prevalentes, 2) tienen títulos altos de estos anticuerpos y 3) correlacionan con la presencia de AL positivo. Aunado a lo anterior, encontramos asociación como factor de riesgo independiente para trombosis y que el aFS/PT isotipo IgG es un factor protector para manifestaciones hematológicas puras.

Referencias

1. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, Derksen RH, DE Groot PG, Koike T, Meroni PL, Reber G, Shoenfeld Y, Tincani A, Vlachoyiannopoulos PG, Krilis SA. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost* 2006 ;4:295-306.
2. Hughes GRV. Thrombosis, abortion, cerebral disease, and the lupus anticoagulant. *Br Med J* 1983;287:1088-89.
3. Alarcón-Segovia D, Pérez-Vázquez ME, Villa AR, Drenkard C, Cabiedes J. Preliminary classification criteria for the antiphospholipid syndrome within systemic lupus erythematosus. *Semin Arthritis Rheum* 1992;21:275-86.
4. Wilson W.A, Gharavi A.E, Koike T, et al. International Consensus Statement on preliminary classification criteria for definite Antophospholipid Syndrome: report of an International Workshop. *Arthritis Rheum* 1999;42: 1309-11.
5. Abreu M, Danowski A, Wahl DG, et al. The relevance of “non-criteria” clinical manifestations of antiphospholipid syndrome: 14th International Congress on Antiphospholipid Antibodies Technical Task Force Report on Antiphospholipid Syndrome Clinical Features. *Autoimmunity Reviews* 2015; 14:401-14.

6. [No authors listed] Thrombosis and thrombocytopenia in antiphospholipid syndrome (idiopathic and secondary to SLE): first report from the Italian Registry. Italian Registry of Antiphospholipid Antibodies (IR-APA). *Haematologica* 1993;78:313-8.
7. Cuadrado MJ, Mujic F, Muñoz E, Khamashta MA, Hughes GR. Thrombocytopenia in the antiphospholipid syndrome. *Annals of the Rheumatic Diseases* 1997;56:194–196.
8. Muñoz-Rodríguez FJ, Font J, Cervera R, Reverter JC, Tàssies D, Espinosa G, López-Soto A, Carmona F, Balasch J, Ordinas A, Ingelmo M. Clinical study and follow-up of 100 patients with the antiphospholipid syndrome. *Semin Arthritis Rheum.* 1999;29:182-90.
9. Cervera R, Piette JC, Font J, Khamashta MA, Shoenfeld Y, Camps MT, Jacobsen S, Lakos G, Tincani A, Kontopoulou-Griva I, Galeazzi M, Meroni PL, Derksen RH, de Groot PG, Gromnica-Ihle E, Baleva M, Mosca M, Bombardieri S, Houssiau F, Gris JC, Quéré I, Hachulla E, Vasconcelos C, Roch B, Fernández-Nebro A, Boffa MC, Hughes GR, Ingelmo M; Euro-Phospholipid Project Group. Antiphospholipid syndrome: clinical and immunologic manifestations and patterns of disease expression in a cohort of 1,000 patients. *Arthritis Rheum* 2002;46:1019-27.
10. Atsumi T, Furukawa S, Amengual O, Koike T. Antiphospholipid antibody associated thrombocytopenia and the paradoxical risk of thrombosis. *Lupus* 2005;14:499-504.

11. Krause I, Blank M, Fraser A, Lorber M, Stojanovich L, Rovensky J, Shoenfeld Y. The association of thrombocytopenia with systemic manifestations in the antiphospholipid syndrome. *Immunobiology* 2005;210:749-54.
12. M Rottem, I Krause, A Fraser, L Stojanovich, J Rovensky and Y Shoenfeld. Autoimmune hemolytic anaemia in the antiphospholipid syndrome. *Lupus* 2006; 15, 473–477.
13. Comellas-Kirkerup L, Hernández-Molina G, Cabral AR. Antiphospholipid-associated thrombocytopenia or autoimmune hemolytic anemia in patients with or without definite primary antiphospholipid syndrome according to the Sapporo revised classification criteria: a 6-year follow-up study. *Blood* 2010;116:3058-63.
14. Nayfe R, Uthman I, Aoun J, Saad Aldin E, Merashli M, Khamashta MA. Seronegative antiphospholipid syndrome. *Rheumatology*; 2013;52:1358-67.
15. Koike T. Antiphospholipid syndrome: 30 years and our contribution. *Int J Rheum Dis* 2015;18:233-41.
16. Amengual O, Forastiero R, Sugiura-Ogasawara M, Otomo K, Oku K, Favas C, Delgado Alves 4, Žigon P, Ambrožič A, Tomšič M, Ruiz-Arruza I, Ruiz-Irastorza G, Bertolaccini ML, Norman GL, Shums Z, Arai J, Murashima A, Tebo AE, Gerosa M, Meroni PL, Rodriguez-Pintó , Cervera R, Swadzba J, Musial J, Atsumi T. Evaluation of phosphatidylserine-dependent antiprothrombin antibody testing for the diagnosis of

antiphospholipid syndrome: results of an international multicentre study. *Lupus* 2017;26:266-76.

17. Heikal NM, Jaskowski TD, Malmberg E, Lakos G, Branch DW, Tebo AE. Laboratory evaluation of anti-phospholipid syndrome: a preliminary prospective study of phosphatidylserine/prothrombin antibodies in an at-risk patient cohort. *Clin Exp Immunol* 2015;180:218-26.

18. Vlagea A, Gil A, Cuesta MV, Arribas F, Diez J, Lavilla P, Pascual-Salcedo D. Antiphosphatidylserine/prothrombin antibodies (aPS/PT) as potential markers of antiphospholipid syndrome. *Clin Appl Thromb Hemost* 2013;19:289-96.

19. Hoxha A, Ruffatti A, Tonello M, Bontadi A, Salvan E, Banzato A, Pengo V, Punzi L. Antiphosphatidylserine/prothrombin antibodies in primary antiphospholipid syndrome. *Lupus* 2012;21:787-9.

20. Nojima J, Motoki Y, Aoki N, Tsuneoka H, Ichihara K. A novel ELISA system for simultaneous detection of six subclasses of anti-phospholipid antibodies for prediction of thrombotic complications among SLE patients. *Thromb Res* 2014;133:1135-40.

21. Zhu L, Li C, Liu N, Yang X, Jia RL, Mu R, Su Y, Li ZG. Diagnostic value of antibodies to phosphatidylserine/prothrombin complex for antiphospholipid syndrome in Chinese patients. *Clin Rheumatol* 2017;36:401-6.

22. Bertolaccini ML, Atsumi T, Koike T, Hughes GR, Khamashta MA. Antiprothrombin antibodies detected in two different assay systems. Prevalence and clinical significance in systemic lupus erythematosus. *Thromb Haemost* 2005;93:289-97.
23. Sciascia S, Bertolaccini ML. Antibodies to phosphatidylserine/prothrombin complex and the antiphospholipid syndrome. *Lupus* 2014;23:1309-12.
24. Fabris M, Giacomello R, Poz A, Pantarotto L, Tanzi N, Curcio F, Tonutti E. The introduction of anti-phosphatidylserine/prothrombin autoantibodies in the laboratory diagnostic process of anti-phospholipid antibody syndrome: 6 months of observation. *Auto Immun Highlights* 2014;5:63-7.
25. Mekinian A, Bourrienne MC, Carbillon L, Benbara A, Noémie A, Chollet-Martin S, Tigaizin A, Montestruc F, Fain O, Nicaise-Roland P. Non-conventional antiphospholipid antibodies in patients with clinical obstetrical APS: Prevalence and treatment efficacy in pregnancies. *Semin Arthritis Rheum* 2016;46:232-7.
26. Žigon P, Perdani Pirkmajer K, Tomšič M, Kveder T, Božič B, Sodin Šemrl S, Čučnik S, Ambrožič A. Anti-Phosphatidylserine/Prothrombin Antibodies Are Associated with Adverse Pregnancy Outcomes. *J Immunol Res* 2015; 2015:975704.
27. Tsutsumi A, Atsumi T, Yamada H, Hirayama Kato E, Ichikawa K, Fujimoto S, Koike T. Anti-phosphatidylserine/prothrombin antibodies are not frequently found in patients with unexplained recurrent miscarriages. *Am J Reprod Immunol* 2001;46:242-4.

28. Pengo V, Tripodi A, Reber G, Rand JH, Ortel TL, Galli M, De Groot PG; Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibody of the Scientific and Standardisation Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibody of the Scientific and Standardisation Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. *J Thromb Haemost* 2009;7:1737-40.

29. Reynaud Q, Lega JC, Mismetti P, Chapelle C, Wahl D, Cathébras P, Laporte S. Risk of venous and arterial thrombosis according to type of antiphospholipid antibodies in adults without systemic lupus erythematosus: a systematic review and meta-analysis. *Autoimmun Rev* 2014;13:595-608.

30. Palomo I, Pereira J, Alarcon M, Vasquez M, Pinochet C, Velez MT, Sandoval J, Icaza G, Pierangeli S. Prevalence and isotype distribution of antiphospholipid antibodies in unselected Chilean patients with venous and arterial thrombosis. *Clin Rheumatol* 2004; 23: 129–33.

31. Meroni PL, Peyvandi F, Foco L, Bernardinelli L, Fetiveau R, Mannucci PM, Tincani A. Anti-beta 2 glycoprotein I antibodies and the risk of myocardial infarction in young premenopausal women. *J Thromb Haemost* 2007; 5: 2421–8.

32. Kelchtermans H, Pelkmans L, de Laat B, Devreese KM. IgG/IgM antiphospholipid antibodies present in the classification criteria for the antiphospholipid syndrome: a critical review of their association with thrombosis. *J Thromb Haemost* 2016;14:1530-48.
33. Atsumi T, Ieko M, Bertolaccini ML, Ichikawa K, Tsutsumi A, Matsuura E, Koike T. Association of autoantibodies against the phosphatidylserine-prothrombin complex with manifestations of the antiphospholipid syndrome and with the presence of lupus anticoagulant. *Arthritis Rheum* 2000;43:1982-93.
34. Hoxha A, Ruffatti A, Mattia E, Meneghel L, Tonello M, Salvan E, Pengo V, Punzi L. Relationship between antiphosphatidylserine/prothrombin and conventional antiphospholipid antibodies in primary antiphospholipid syndrome. *Clin Chem Lab Med* 2015; 53:1265-70.