

(043) "1998" DAR

Universitat de Lleida  
Registre General

21 MAIG 1998

E: 1998

S:

# Estudio de los anticuerpos anticardiolipina y de sus isotipos en pacientes con enfermedad tromboembólica venosa y sin lupus eritematoso sistémico

Victor Marco Betés

Departament de Medicina

Universitat de Lleida



Director: Dr. Javier Gómez Arbonés

0141\_32260

## **Estudio de los anticuerpos anticardiolipina y de sus isotipos en pacientes con enfermedad tromboembólica venosa y sin lupus**

**Introducción:** Los AAPL son unos autoanticuerpos muy heterogéneos, constituidos principalmente por los AL y los ACA, que van dirigidos contra complejos de fosfolípidos y proteínas plasmáticas. La presencia de los AAPL junto con trombosis venosa y arterial, abortos de repetición y trombocitopenia constituyen el denominado SAPL.

El interés clínico de estos autoanticuerpos viene dado por su frecuencia y por las manifestaciones de tipo trombótico a las que se han asociado, principalmente en pacientes con LES. Sin embargo, no se ha descrito un mecanismo fisiopatológico general que explique cómo estos anticuerpos pueden originar fenómenos trombóticos.

La asociación y significado clínico entre ACA y eventos trombóticos en pacientes sin LES o enfermedades autoinmunes son controvertidos y han sido poco estudiados. El gran interés de los estudios sobre los ACA radica en conocer si son predictores de riesgo trombótico y, si esto fuese así, estudiar si esta asociación es específica de los pacientes con LES o se da también fuera de este contexto para poder tomar actitudes terapéuticas y/o profilácticas en un intento de disminuir el problema clínico que supone la ETEV.

**Hipótesis:** Los ACA no son un epifenómeno de ETEV y, a títulos permanentemente elevados, son un factor de riesgo trombótico en pacientes sin LES o enfermedades autoinmunes relacionadas. Por otra parte, la presencia de ACA a título débil y transitorio sería un fenómeno secundario o coincidente con la ETEV.

**Objetivos:** Los objetivos de nuestro trabajo son: determinar en nuestro medio la frecuencia de ACA positivos en pacientes con ETEV y sin LES o enfermedades autoinmunes relacionadas, ver si hay diferencias con un grupo de sujetos sanos y, evaluar si algún isotipo de ACA concreto se asocia significativamente a ETEV. Además vamos a estudiar si los ACA o alguno de sus isotipos son causa o fenómeno secundario de la ETEV valorando su comportamiento evolutivo en diferentes determinaciones y las variables clínico-biológicas que pueden modificarlo.

**Pacientes y métodos:** Desde enero de 1992 hasta marzo de 1995 hemos estudiado 295 pacientes diagnosticados de ETEV. Se han excluido los pacientes con LES, enfermedades autoinmunes y hepatopatía. De los pacientes se ha recogido información demográfica e información clínica relacionada con la trombosis, incluyendo todos los factores de riesgo conocidos de ETEV, y datos biológicos (hemostasia básica, tiempo de trombina, dímeros D, proteína C y S funcionales, antitrombina-III y plasminógeno funcionales, ACA y AL).

Se ha determinado en el momento del diagnóstico de ETEV la presencia de ACA mediante ELISA. Los valores superiores a 13 GLP para ACA IgG y 11 MPL para ACA IgM se han considerado positivos. En 211 pacientes también se han determinado los ACA al mes del inicio del cuadro y/o un mes después de concluir el tratamiento anticoagulante oral. En ellos es posible estudiar si los ACA se comportan como epifenómeno, no epifenómeno (y dentro de estos si existe una positividad permanente o transitoria). En 115 controles sanos, se han determinado los títulos de ACA en una ocasión con la misma técnica utilizada para los pacientes.

**Resultados:** En el grupo control, 2,6% de los sujetos son ACA positivos: 1,7% para ACA IgG y 0,9% para ACA IgM. De los 295 pacientes 17,7% presentan positividad para ACA en alguna determinación: 9,5% de ACA IgG, 4,1% de ACA IgM y 4,1% de ACA IgG e IgM. La frecuencia de positividad para ACA en los pacientes con ETEV es significativamente superior respecto a la de los controles ( $p < 0,001$ ).

En los pacientes con ETEV, el isotipo ACA IgG es más frecuente que el isotipo ACA IgM ( $p = 0,02$ ).

Los pacientes menores de 40 años presentan una mayor proporción de ACA positivos para ambos isotipos que el grupo de edad superior a 40 años.

La existencia de ETEV previa se relaciona con la positividad para ACA IgG ( $p = 0,01$ ). Los pacientes que presentan arteriopatía y aquellos que tienen el antecedente de cirugía presentan más frecuentemente positividad para ACA IgM ( $p = 0,01$  y  $p = 0,03$ ).

Los pacientes con déficits de proteínas inhibitoras de la coagulación presentan con más frecuencia positividad para ACA IgG que los pacientes sin dichos déficits ( $p = 0,03$ ).

La media de los títulos de ACA en los pacientes con positividad permanente para ambos isotipos de ACA es significativamente superior a la media de los títulos de ACA en los pacientes con positividad de ACA transitoria o epifenómeno.

Si estudiamos la media de los títulos de ACA de los 47 pacientes positivos que presentan más de una determinación, observamos que los pacientes que presentaron su primer episodio de ETEV antes de los 40 años

tienen unos títulos de ACA IgG significativamente superiores que los pacientes con edad superior; además, se obtiene que los pacientes que recidivaron antes del año del episodio actual presentan unos títulos más elevados de ACA IgG que los pacientes que tardaron un año o más en presentar un nuevo episodio de ETEV.

La positividad permanente de ACA IgG es más frecuente que la positividad permanente de ACA IgM ( $p=0,01$ ).

Los pacientes con positividad permanente de ACA IgG presentan relación significativa con la edad inferior a 40 años ( $p=0,01$ ); la media de los títulos también es superior en estos pacientes ( $p=0,03$ ).

La ETEV previa se relaciona de forma significativa con una positividad permanente tanto para ACA IgG como para ACA IgM.

Los antecedentes familiares de ETEV se asocian con una positividad permanente para ACA IgG ( $p=0,004$ ) pero la media de los títulos no presenta diferencias significativas respecto a los pacientes sin antecedentes familiares de ETEV.

Los pacientes con ETEV previa menores de 40 años, presentan títulos de ACA IgG positivos permanentes de forma más frecuente que los pacientes de mayor edad ( $p=0,01$ ); además, la media de los títulos de ACA IgG permanentes en estos pacientes se relaciona de forma significativa con una edad inferior a 40 años.

La media de los títulos de ACA IgG de los 10 pacientes (27%) que presentaron el episodio previo de ETEV en el año precedente al episodio actual es superior a la media de los títulos de 27 pacientes (73%) que presentaron el episodio previo de ETEV hacía más de un año.

Existe un grupo de pacientes con positividad de ACA transitoria negativos en el momento agudo de la ETEV y que posteriormente se positivizan.

**Discusión:** La proporción de sujetos sanos ACA positivos es similar a la de la literatura, pero es inferior a la de grupos que estudian sujetos seleccionados con edad avanzada. El porcentaje de positividad para ACA en pacientes con ETEV es parecida a la de otros estudios publicados que hacen referencia a pacientes sin lupus no seleccionados. Nuestros resultados coinciden con la opinión generalizada de que el isotipo IgG de los ACA se presenta con mayor frecuencia en los enfermos con ETEV. Las discrepancias con las frecuencias observadas por otros grupos creemos que se deben a diferencias en el tipo de población estudiada, a la ausencia de datos a cerca de los posibles factores de riesgo o enfermedades predisponentes a ETEV que presentan los pacientes, a la falta de estandarización de la técnica de detección de los ACA y a los pocos trabajos que realizan la determinación de ACA en más de una ocasión y que especifiquen el isotipo.

Coincidimos con otros autores en que los pacientes que presentan títulos de ACA IgG a títulos altos y de forma permanente son un factor de riesgo de ETEV. La fluctuación observada en el tiempo de los títulos de ACA ha sido también descrita en la literatura. Pensamos que la asociación con la trombosis de los ACA positivos de forma transitoria es difícil de demostrar, estos anticuerpos pueden estar en relación con las patologías subyacentes que presentan los pacientes con ETEV. También hay pacientes en los que se podría sugerir que la positividad transitoria se debe a un "consumo" de los ACA durante la fase aguda de la ETEV. Otro grupo de pacientes son positivos sólo en el momento de la trombosis, lo cual nos lleva a considerar que los ACA sean secundarios al daño endotelial producido en ese momento.

De nuestro trabajo se desprende que los porcentajes de positividad del isotipo IgG e IgM son superiores en los pacientes con ETEV que en los controles sanos. En los enfermos con ETEV la evolución de los ACA es variable, pudiéndose comportar como epifenómeno, positividad permanente o transitoria, por lo que es necesario realizar determinaciones de ACA seriadas para poder valorar el significado clínico de los mismos. Los títulos de los ACA son significativamente superiores en los pacientes ACA positivos de forma permanente y son más frecuentes en los pacientes jóvenes y en pacientes con ETEV previa. Los títulos de ACA IgG positivos en pacientes jóvenes y en pacientes que, teniendo antecedentes de ETEV, presentan una recidiva precoz de la misma son superiores. El estudio de los ACA y de sus isotipos debe formar parte del estudio de trombofilia de todos los pacientes con ETEV ya que los ACA IgG con positividad permanente a título alto son un factor de riesgo de ETEV en pacientes sin LES. En los pacientes con ETEV y en lo que se objeive unos niveles de ACA positivo IgG de forma permanente y a título elevado es aconsejable el tratamiento con anticoagulantes a largo plazo.

**Estudio de los anticuerpos anticardiolipina  
y de sus isotipos en pacientes con  
enfermedad tromboembólica venosa y sin  
lupus eritematoso sistémico**

Victor Marco Betés

Departament de Medicina

Universitat de Lleida

Director: Dr. Javier Gómez Arbonés

## **Agradecimientos**

Este trabajo no se podría haber llevado a cabo sin el apoyo de un buen número de personas a las que quiero agradecer su ayuda.

Al Dr. Josep Macià i Virgili, Jefe del Servicio de Hematología y Hemoterapia del Hospital Universitario Arnau de Vilanova y profesor de Patología Médica de la Facultat de Medicina de la Universitat de Lleida. Por su constante estímulo para la realización de este trabajo.

A la Sección de Proteínas del Servicio de Análisis Clínicos del Hospital Universitario Arnau de Vilanova, especialmente a la Dra. Begoña Pérez Remón por la realización de las determinaciones de los anticuerpos anticardiolipina.

A todas las personas que trabajan en el Servicio de Hematología y Hemoterapia del Hospital Universitario Arnau de Vilanova, especialmente a la Sección de Hemostasia por su contribución desinteresada. A María Carmen Martínez por su inestimable ayuda en la recogida de datos clínicos y que, desgraciadamente, no se encuentra entre nosotros.

Especial mención merecen:

El Dr. **Xavier Gómez i Arbonés** a quien tengo la enorme satisfacción de tener como Director de esta Tesis. Deseo expresarle mi agradecimiento por el apoyo y constante ayuda en la elaboración de este trabajo.

La Dra. **Carmen Araguas Arasanz** del Servicio de Hematología y Hemoterapia del Hospital Arnau de Vilanova que durante mi formación como residente despertó mi interés por la trombofilia y cuyo trabajo, estímulo y constante apoyo han resultado imprescindibles para que se haya podido realizar este trabajo.

## INDICE

Agradecimientos

Indice de gráficos y tablas

I.- Introducción.....	14
1.- Generalidades.....	15
2.- Antecedentes históricos.....	19
2.1.- Tests serológicos falsamente positivos para sífilis.....	19
2.2.- Anticoagulante lúpico.....	20
2.3.- Anticuerpos anticardiolipina.....	21
2.4.- Cofactores de los anticuerpos antifosfolípido.....	22
2.5.- Síndrome antifosfolípido.....	22
3.- Terminología actual.....	25
3.1.- Anticoagulante lúpico.....	25
3.2.- Anticuerpos anticardiolipina.....	25
3.3.- Anticuerpos antifosfolípido.....	25
3.4.- Síndrome anticuerpo antifosfolípido.....	26
3.5.- Autoanticuerpos frente a complejos formados por fosfolípidos y proteínas plasmáticas.....	26
4.- Mecanismo de acción de los anticuerpos antifosfolípido.....	28
4.1.- Anticuerpos antifosfolípido y endotelio.....	28
4.1.1.- Disminución de la síntesis de prostaciclina.....	28
4.1.2.- Aumento de la síntesis de factor tisular.....	29
4.1.3.- Vía proteína C / trombomodulina.....	30
4.1.4.- Moléculas de adhesión.....	31
4.1.5.- Alteración de la fibrinólisis.....	31
4.2.- Anticuerpos antifosfolípido y células sanguíneas.....	31
4.2.1.- Plaquetas.....	31

---

4.2.2.- Monocitos .....	32
4.2.3.- Eritrocitos .....	32
5.- Métodos de detección de los anticuerpos antifosfolípido .....	33
5.1.- Anticoagulante lúpico: tests coagulométricos.....	33
5.1.1.- Demostración de la anomalía .....	33
5.1.2.- Demostración del inhibidor .....	34
5.1.3.- Test confirmatorio .....	34
5.2.- Anticuerpos anticardiolipina.....	36
5.2.1.- Técnicas inmunológicas.....	36
5.2.2.- Citometría de flujo.....	37
6.- Prevalencia y contexto clínico.....	38
6.1.- Prevalencia.....	38
6.1.1.- Pacientes con enfermedades autoinmunes .....	38
6.1.2.- Pacientes sin LES.....	39
6.2.- Contexto clínico.....	40
6.2.1.- Trombosis venosas y arteriales .....	40
6.2.2.- Pérdidas fetales de repetición.....	42
6.2.3.- Trombocitopenias .....	43
6.2.4.- Enfermedad neurológica.....	43
6.2.5.- Enfermedad coronaria .....	43
7.- Manejo terapéutico.....	45
7.1.- Tratamientos dirigidos frente a la respuesta inmune.....	46
7.1.1.- Corticoesteroides e inmunosupresores.....	46
7.1.2.- Recambio plasmático.....	46
7.1.3.- Inmunoglobulinas.....	46
7.2.- Tratamientos frente al sistema hemostático.....	47
7.2.1.- Fármacos antiplaquetarios.....	47
7.2.2.- Fármacos anticoagulantes.....	48

---

II.- Justificación, hipótesis y objetivos.....	50
A.- Justificación del trabajo.....	51
B.- Hipótesis del estudio.....	54
1.- Hipótesis primera.....	54
2.- Hipótesis segunda.....	54
3.- Hipótesis tercera.....	54
4.- Hipótesis cuarta.....	54
C.- Objetivos del estudio.....	55
1.- Objetivo general.....	55
2.- Objetivos específicos.....	55
III.- Pacientes y métodos.....	56
1.- Planteamiento metodológico.....	57
2.- Muestra del estudio.....	59
2.1.- Criterios de inclusión.....	59
2.2.- Criterios de exclusión.....	60
3.- Procedimientos, técnicas y aparatos utilizados.....	60
3.1.- Recogida de datos.....	60
3.2.- Procesamiento de muestras.....	60
3.3.- Procedimientos y técnicas.....	61
4.- Interpretación de resultados.....	64
5.- Variables del estudio.....	67
5.1.- Identificación de los casos.....	67
5.2.- Variables demográficas.....	67
5.2.1.- Edad.....	67
5.2.2.- Edad de la primera ETEV.....	67
5.2.3.- Sexo.....	67
5.3.- Datos clínicos de los pacientes.....	68
5.3.1.- ETEV.....	68



---

5.3.2.- Tipo de ETEV.....	68
5.3.3.- Localización del episodio de la TVP actual.....	68
5.3.4.- ETEV previa.....	68
5.3.5.- Número de episodios de la ETEV previa.....	68
5.3.6.- Tiempo de recidiva de la ETEV.....	69
5.3.7.- Factores de riesgo de la ETEV.....	69
5.3.8.- Número de factores de riesgo de ETEV.....	71
5.3.9.- Número de enfermedades predisponentes a ETEV.....	71
5.3.10.- Antecedentes familiares de ETEV.....	71
5.4.- Datos biológicos.....	72
5.4.1.- Hemostasia básica.....	72
5.4.2.- Tiempo de trombina.....	72
5.4.3.- Dímeros D.....	73
5.4.4.- Proteína C y proteína S funcionales.....	73
5.4.5.- Antitrombina III y plasminógeno funcionales.....	73
5.4.6.- Déficit de proteínas inhibidoras de la coagulación:73 proteína C, proteína S y antitrombina III.....	73
5.4.7.- Anticuerpos anticardiolipina.....	74
5.4.8.- Paciente ACA positivo.....	74
5.4.9.- Paciente ACA negativo.....	74
5.4.10.- Epifenómeno para ACA.....	75
5.4.11.- No epifenómeno para ACA.....	75
5.4.11.1.- Positividad permanente de ACA.....	75
5.4.11.2.- Positividad transitoria de ACA.....	75
5.4.12.- Títulos de ACA.....	75
5.4.13.- Anticoagulante lúpico.....	76
6.- Base de datos, tratamiento de la base de datos.....	76
7.- Estudio estadístico de los resultados.....	76
7.1.- Comparación de variables cualitativas.....	77

---

7.2.- Comparación de variables cualitativas y cuantitativas .....	77
7.3.- Comparación de variables cuantitativas .....	77
IV.- Resultados .....	78
A.- Resultados I. Estadística descriptiva univariante .....	79
1.- Edad y sexo .....	79
1.1.- Edad .....	79
1.2.- Sexo .....	79
2.- Presentación clínica .....	79
2.1.- Tipo de ETEV .....	79
2.2.- Localización de la ETEV .....	80
2.3.- Antecedentes previos de ETEV .....	80
2.4.- Antecedentes familiares de ETEV .....	81
2.5.- Enfermedades predisponentes para ETEV .....	81
2.6.- Factores de riesgo de ETEV .....	82
3.- Diagnóstico de la ETEV .....	83
4.- Datos biológicos .....	83
4.1.- Obtenidos en el momento agudo de la ETEV .....	83
4.2.- Obtenidos al realizar el estudio de trombofilia .....	84
5.- Anticuerpos anticardiolipina .....	85
5.1.- Controles .....	85
5.2.- Pacientes .....	86
5.3.- Resultados de los ACA .....	86
5.4.- Títulos de los ACA .....	87
B.- Resultados II. Estudio estadístico analítico. Comparaciones previas .....	89
1.- Variables demográficas en función de los parámetros clínicos y biológicos de la ETEV .....	89
2.- Variables clínicas entre sí .....	90
3.- Variables biológicas en función de los parámetros clínicos .....	90

---

C.- Resultados III. Estudio estadístico. Anticuerpos anticardiolipina .....	91
1.- Distribución de la positividad de los ACA en controles y pacientes .....	91
2.- Comparación entre los dos isotipos de ACA.....	93
3.- Comparación de los ACA con el resto de variables .....	93
3.1.- Edad y sexo.....	93
3.2.- Variables clínicas.....	95
3.3.- Factores de riesgo.....	97
3.4.- Enfermedades predisponentes.....	98
3.5.- Variables biológicas.....	99
4.- Estudio evolutivo de los pacientes ACA positivos.....	100
4.1.- Epifenómeno y no epifenómeno.....	100
4.2.- Isotipo de ACA (IgG e IgM) .....	103
4.3.- Media de los títulos de ambos isotipos de ACA .....	103
4.4.- Resto de variables.....	104
4.4.1.- Edad y sexo .....	105
4.4.2.- Parámetros clínicos .....	105
4.4.3.- Enfermedades predisponentes .....	106
4.4.4.- Factores de riesgo .....	107
4.4.5.- Variables biológicas.....	108
5.- Estudio de los pacientes con positividad permanente de ACA .....	109
5.1.- Isotipos de ACA.....	109
5.2.- Títulos de ACA .....	109
5.3.- Resto de variables.....	110
5.3.1.- Edad y sexo .....	110
5.3.2.- Variables clínicas .....	111
5.3.3.- Enfermedades predisponentes .....	113
5.3.4.- Factores de riesgo .....	114
5.3.5.- Variables biológicas.....	115

---

D. Resultados IV. Estudio de los pacientes que presentan historia de ETEV previa.....	116
1.- Descriptiva y estudio estadístico entre los pacientes con y sin ETEV previa .....	116
2.- Descriptiva y estudio estadístico de los títulos de ACA positivos en los pacientes con ETEV previa según el tipo de positividad y el resto de variables .....	118
V.- Discusión .....	121
1.- Introducción .....	122
2.- Consideraciones previas sobre la metodología .....	122
3.- Consideraciones sobre la prevalencia de los ACA positivos .....	127
3.1.- Pacientes y controles .....	127
3.2.- Sexo y edad .....	129
3.3.- Isotipos de ACA (IgG e IgM).....	131
4.- Consideraciones sobre los ACA y las variables clínicas.....	132
5.- Consideraciones sobre los ACA y las variables biológicas.....	134
5.1.- TTPA .....	134
5.2.- Cifra de plaquetas .....	134
5.3.- Déficits de proteína C y S anticoagulantes.....	135
6.- Consideraciones evolutivas sobre el tipo de positividad de los ACA .....	136
6.1.- Epifenómeno / no epifenómeno.....	136
6.2.- Positividad permanente / positividad transitoria .....	137
6.3.- Títulos de ACA .....	139
7.- Consideraciones sobre los ACA positivos permanentes.....	141
8.- Consideraciones sobre los pacientes con ETEV previa.....	144

---

VI.- Resumen .....	147
1.- Introducción.....	148
2.- Justificación, hipótesis y objetivos .....	149
3.- Pacientes y métodos.....	150
4.- Resultados .....	152
5.- Discusión .....	156
VII.- Conclusiones .....	158
VIII.- Bibliografía.....	162

---

## INDICE DE GRAFICOS Y TABLAS

### A.- Indice de Gráficos

Gráfico 1. Factores que intervienen en la formación de la trombosis.

Gráfico 2. Algoritmo del diagnóstico del anticoagulante lúpico.

Gráfico 3. Esquema de la técnica de ELISA.

Gráfico 4. Esquema de la metodología del trabajo.

Gráfico 5. Distribución de los pacientes según el grupo de edad.

Gráfico 6. Distribución de los pacientes según la edad de presentación del primer episodio de ETEV.

Gráfico 7. Distribución de los pacientes según el tiempo de recidiva de la ETEV.

Gráfico 8. Distribución de los pacientes y de los controles según la positividad de ambos isotipos de ACA.

Gráfico 9. Distribución de los pacientes según el número de determinaciones de ACA realizadas, de su positividad o negatividad, de los isotipos de ACA estudiados y de los conceptos predefinidos en el apartado pacientes y métodos (epifenómeno y no epifenómeno).

Gráfico 10. Media de los títulos de ambos isotipos de ACA según su positividad o negatividad.

Gráfico 11. Distribución de los pacientes y controles positivos para ACA en función del momento en que se ha realizado la determinación.

Gráfico 12. Distribución de los pacientes positivos y negativos para ambos isotipos de ACA en función de su grupo de edad.

Gráfico 13. Títulos de ACA según la edad del primer episodio de ETEV.

Gráfico 14. Distribución de los pacientes positivos y negativos para ambos isotipos de ACA en función de la existencia o no de ETEV previa.

Gráfico 15. Títulos de ACA en función del tiempo de recidiva de ETEV.

---

Gráfico 16. Distribución de los pacientes en función del tipo de positividad para ACA y de su evolución como epifenómeno o no epifenómeno.

Gráfico 17. Distribución de los pacientes según su comportamiento como epifenómeno o no epifenómeno para ambos isotipos de ACA.

Gráfico 18. Distribución de la media de los títulos de ambos isotipos de ACA según el tipo de positividad o negatividad.

Gráfico 19. Distribución de la media de los títulos de ACA IgG positivos según el grupo de edad de los pacientes.

Gráfico 20. Distribución de la media de los títulos de ambos isotipos de ACA en función de su positividad permanente o no.

Gráfico 21. Distribución de la media de los títulos de ACA IgG positivos de forma permanente según el grupo de edad.

Gráfico 22. Distribución de la media de los títulos de ACA IgG totales y de ACA IgG con positividad permanente en función de la existencia o no de pacientes con antecedentes familiares de ETEV.

Gráfico 23. Distribución de la media de los títulos de ambos isotipos de ACA en función de la existencia o no de ETEV previa.

Gráfico 24. Distribución de la media de los títulos de ACA IgG con positividad permanente en función del grupo de edad.

Gráfico 25. Distribución de la media de los títulos de ACA IgG en los pacientes con ETEV previa en función del tiempo de recidiva de la ETEV.

Gráfico 26. Distribución de la media de los títulos de ACA gM en los pacientes con ETEV previa en función del tiempo de recidiva de la ETEV.

## **B.- Índice de Tablas**

Tabla 1. Criterios de clasificación del SAPL según Harris.

Tabla 2. Criterios de clasificación del SAPL propuestos por Alarcón-Segovia.

Tabla 3. Reactividad de los principales autoanticuerpos frente a complejos fosfolípido/proteínas del plasma en los tests de los anticuerpos "antifosfolípido".

Tabla 4. Principales manifestaciones clínicas descritas de los AAPL.

Tabla 5. Metodología del test de PNP (StacLOT-PNP).

Tabla 6. Pruebas utilizadas en el estudio estadístico.

Tabla 7. Tipo de enfermedades predisponentes a ETEV.

Tabla 8. Tipo de factores de riesgo que predisponen a ETEV.

Tabla 9. Distribución de los pacientes según el método diagnóstico de ETEV.

Tabla 10. Medias de los valores de las variables biológicas.

Tabla 11. Media de los títulos de ACA IgG en dependencia de su positividad o negatividad.

Tabla 12. Media de los títulos de ACA IgM en dependencia de su positividad o negatividad.

Tabla 13. Factores de riesgo para ETEV en dependencia de la edad.

Tabla 14. Distribución de los pacientes según el isotipo de ACA.

Tabla 15. Resultado de la comparación del porcentaje de pacientes ACA positivo entre el grupo de edad inferior a 40 años y el resto de pacientes.

Tabla 16. Positividad de ACA en dependencia de las variables clínicas.

Tabla 17. Positividad de ACA en dependencia de los factores de riesgo para ETEV.

Tabla 18. Positividad de ACA en dependencia de las enfermedades predisponentes para ETEV.



Tabla 19. Positividad de ACA en dependencia de la existencia de déficit de proteínas inhibidoras de la coagulación.

Tabla 20.- Comparación de los pacientes que se comportan como epifenómeno para ACA con los controles positivos.

Tabla 21.- Comparación de los pacientes que se comportan como no epifenómeno para ACA con los controles positivos.

Tabla 22.- Comparación de los pacientes positivos permanentes para ACA con los controles positivos.

Tabla 23. Distribución de los pacientes con positividad transitoria para ambos isotipos de ACA.

Tabla 24. Estudio comparativo del tipo de positividad para ACA en dependencia del isotipo.

Tabla 25. Comparación de la media de los títulos de ACA en ambos isotipos según el tipo de positividad.

Tabla 26. Comparación del tipo de positividad de los ACA IgG e IgM según la edad y el sexo de los pacientes.

Tabla 27. Comparación del tipo de positividad de los ACA IgG e IgM según las variables clínicas de los pacientes.

Tabla 28. Comparación del tipo de positividad de los ACA IgG e IgM según las enfermedades predisponentes a ETEV.

Tabla 29. Comparación del tipo de positividad de los ACA IgG e IgM según los factores de riesgo predisponentes a ETEV.

Tabla 30. Comparación del tipo de positividad de los ACA IgG e IgM en dependencia de las variables biológicas.

Tabla 31. Distribución de la positividad permanente de ambos isotipos de ACA.

Tabla 32. Distribución de la media de los títulos positivos permanentes de ambos isotipos de ACA.

Tabla 33. Distribución de los pacientes según la positividad permanente de ambos isotipos de ACA con la edad y el sexo.

Tabla 34. Distribución de los pacientes según la positividad permanente de ambos isotipos de ACA y los datos clínicos.

Tabla 35. Distribución de los pacientes según la positividad permanente de ambos isotipos de ACA y las enfermedades predisponentes.

Tabla 36. Distribución de los pacientes según la positividad permanente de ambos isotipos de ACA y los factores de riesgo para ETEV.

Tabla 37. Distribución de los pacientes según la positividad permanente de ambos isotipos de ACA y los datos biológicos.

Tabla 38. Distribución de la edad y el sexo según la existencia o no de ETEV previa.

Tabla 39. Distribución de la enfermedades predisponentes a ETEV según la existencia o no de ETEV previa.

Tabla 40. Distribución de los pacientes con ETEV previa según su edad.

Tabla 41. Distribución de los pacientes con ETEV previa según el tiempo de recidiva de la ETEV y el tipo de positividad o negatividad de los ACA IgG.

Tabla 42. Media de los títulos de ACA IgG según el tiempo de recidiva de la ETEV.

## **Introducción**

## I.- INTRODUCCION

### 1.- Generalidades.

En 1845 Virchow<sup>1</sup> describió tres factores (todavía vigentes en la actualidad) que tienen un papel principal en la formación del trombo en la pared de los vasos: (1) los cambios en el flujo sanguíneo, (2) las modificaciones orgánicas o físicas en las paredes de los vasos, y (3) las alteraciones en la sangre circulante.

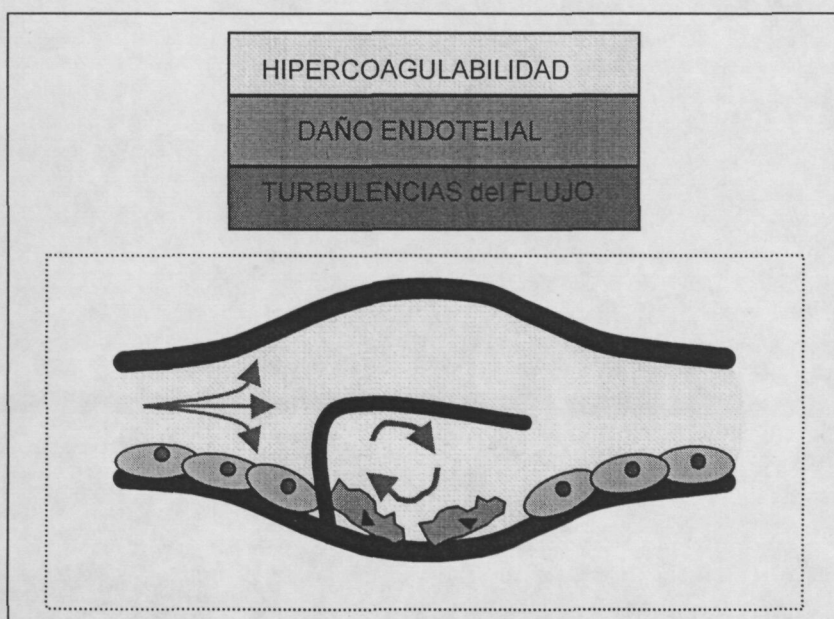


Gráfico 1. Factores que intervienen en la formación de la trombosis.

Actualmente, estas alteraciones son consideradas como **estados de trombofilia** y se deben a defectos o anomalías congénitas o adquiridas de diversos componentes del mecanismo hemostático (tanto circulantes como de la pared del vaso) que van a favorecer la formación, persistencia o extensión del trombo.

Los estados de trombofilia **congénitos** constituyen diversas alteraciones hemostáticas hereditarias, que afectan generalmente un solo factor de la coagulación o de la fibrinólisis. Se trata, en general, de situaciones caracterizadas por defecto o disfunción de alguna de las proteínas involucradas en esos sistemas, principalmente la antitrombina-III, proteína C y proteína S, junto con la resistencia a la proteína C activada, las disfibrinogenemias y displasminogenemias.

Los estados de trombofilia **adquiridos** comprenden un amplio grupo de condiciones diversas en las que existe un riesgo evidente de aparición de complicaciones tromboembólicas y cuya fisiopatología es compleja, ya que pueden participar simultáneamente diferentes factores del sistema hemostático. Dentro de esta clasificación se encuentran los **anticuerpos “antifosfolípido” (AAPL)**, además de algunas situaciones clínicas como: cirugía, traumatismos, infecciones, síndrome nefrótico, neoplasias, síndromes mieloproliferativos, anticonceptivos orales, embarazo, preeclampsia, inmovilización, diabetes, aterosclerosis, síndromes microangiopáticos o la trombocitopenia inducida por heparina. Todos ellos, conducen a una alteración de la tromborregulación que favorece el fenómeno trombótico.

En las dos últimas décadas se han realizado un gran número de estudios sobre distintos aspectos de los AAPL. Muchos de estos trabajos se han centrado en optimizar métodos para su detección<sup>2,3,4</sup>, en definir las condiciones clínicas asociadas con la presencia de estos anticuerpos<sup>2,5,6</sup> y en estudiar su mecanismo de acción sobre el sistema hemostático<sup>7-9</sup>.

Los AAPL son autoanticuerpos heterogéneos y están constituidos principalmente por dos grandes grupos. El primero, por AAPL con actividad de **anticoagulante lúpico (AL)**; estos anticuerpos son detectados por la prolongación de los tests de coagulación dependientes de fosfolípidos<sup>10,11</sup>. El otro grupo incluye a los **anticuerpos anticardiolipina (ACA)**; detectados por técnicas de ELISA en fase sólida empleando la cardiolipina (fosfolípido cargado negativamente) como antígeno<sup>6</sup>. Las manifestaciones clínicas derivadas de la acción de estos dos grupos de anticuerpos, constituyen entidades separadas en relación con su prevalencia, etiología, presentación clínica, diagnóstico y manejo terapéutico<sup>12</sup>. Su interés viene dado por su relativa frecuencia y por las manifestaciones clínicas a las que se han asociado: trombosis o tromboembolismos<sup>3</sup>, abortos de repetición<sup>13</sup> y trombocitopenia<sup>14,15</sup>. Los ACA, más frecuentes que los AL<sup>16</sup>, se han descrito principalmente en pacientes jóvenes con trombosis arteriales y venosas (trombosis venosas profundas, embolismos pulmonares, arteriopatía coronaria, enfermedad cerebrovascular o retinopatía). Los AL, aunque a veces asociados con enfermedad trombótica arterial, se describen más frecuentemente asociados a trombosis venosas<sup>12</sup>.

La presencia de ambos anticuerpos se ha demostrado principalmente en pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES), pero también en numerosas circunstancias clínicas diferentes como: neoplasias, infecciones, púrpura trombocitopénica idiopática, leucemias; así como en individuos en tratamiento con clorpromazina, fansidar, hidralazina, quinidina o procainamida; y en sujetos aparentemente sanos<sup>5</sup>.

El efecto de los AAPL se ha estudiado sobre diversos mecanismos reguladores de la hemostasia, como la síntesis de prostaciclina,<sup>17</sup> la fibrinólisis<sup>18,19</sup> y la activación de la proteína C<sup>20-23</sup>. Sin embargo, hasta la fecha no se ha descrito un mecanismo fisiopatológico general que explique cómo estos anticuerpos pueden originar trombosis.

Según algunos autores, el carácter patógeno de los AAPL estaría condicionado por su diferente especificidad antigénica:

Existiría un tipo de AAPL de tipo "inmune" que se mantendrían positivos a título elevado y durante tiempos prolongados, como se ha visto en pacientes con LES. En estas condiciones, el riesgo de trombosis recidivantes y de abortos de repetición estaría bien establecido. Dos estudios efectuados entre pacientes con LES, muestran que la existencia de una relación AAPL/trombosis o AAPL/abortos de repetición está asociada a la persistencia de positividad de estos anticuerpos<sup>24,25</sup>.

Sin embargo, en situaciones diferentes al LES, se presentan frecuentemente títulos bajos y a veces transitorios, por lo que podría tratarse de anticuerpos "naturales" preexistentes desenmascarados durante el proceso patológico y no constituirían un factor de riesgo trombótico. Estos anticuerpos podrían ser considerados como epifenómenos o simples marcadores de una lesión endotelial debida al propio proceso trombótico<sup>26</sup>.

## **2.- Antecedentes históricos.**

El descubrimiento de diversas variedades de anticuerpos antifosfolípido como la "reagina" de los tests falsos positivos para la sífilis, los anticuerpos responsables del fenómeno anticoagulante lúpico, aquellos anticuerpos dirigidos contra la cardiolípinina y otros fosfolípidos cargados negativamente así como la creencia de que estos anticuerpos estaban relacionados con los fenómenos trombóticos y el concepto de que estos hechos clínicos y serológicos constituyen el denominado síndrome antifosfolípido, son conceptos que se comenzaron a describir a principios de los años 1960. Las primeras publicaciones corresponden a Bowie y colaboradores<sup>27</sup> y Alarcón-Segovia y Osmundson<sup>28</sup>.

### **2.1.- Tests serológicos falsamente positivos para la sífilis.**

La primera comunicación indirecta de los ACA fue efectuada por Wassermann en 1906 al detectar en el suero de enfermos luéticos una "reagina" que reaccionaba con el extracto hepático salino de fetos con sífilis congénita<sup>29</sup>. Después de la introducción del test de Wassermann se utilizaron una amplia variedad de procedimientos para el diagnóstico de la sífilis. Pangborn en 1941 demostró que el antígeno aislado de extractos alcohólicos de músculo cardíaco de buey era un fosfolípido que se denominó posteriormente cardiolípinina<sup>30</sup>. El empleo de cardiolípinina pura mezclada con cantidades equitativas y ajustadas de lecitina y colesterol como agentes sensibilizantes permitió posteriormente la realización de las pruebas de fijación del complemento y floculación para detectar esta "reagina", la cual estaría constituida en parte por ACA. Como resultado de los estudios realizados en personal civil y militar durante



la Segunda Guerra Mundial se pudo comprobar que un gran número de individuos presentaba positividad de alguna de estas pruebas, sin evidencia clínica de sífilis<sup>31</sup>. El desarrollo de la prueba de inmovilización de treponemas por Nelson y colaboradores en 1949, permitió una mejor diferenciación entre los enfermos con pruebas positivas frente a la sífilis y aquéllos con serología luética falsamente positiva (SLFP).

Moore y Mohr observaron dos grupos de pacientes con serología luética falsamente positiva: unos con positividad transitoria (generalmente secundaria a una infección) y otros con positividad persistente<sup>31</sup>. Este último grupo incluía a todos aquellos individuos sin evidencia clínica o epidemiológica de sífilis que presentaban de forma repetida, serología luética reagínica positiva y a la vez determinaciones negativas de las pruebas treponémicas durante más de 6 meses. En 1955 Moor y Lutz observaron que estos enfermos presentaban una incidencia elevada de enfermedades autoinmunes, principalmente LES, artritis reumatoide y síndrome de Sjögren<sup>32</sup>. Posteriormente se demostró que esta serología luética falsamente positiva podía, incluso, preceder en varios años a diversas enfermedades autoinmunes, sobre todo al LES.

## **2.2.- Anticoagulante lúpico.**

La primera comunicación del AL se atribuye a Conley y Hartman que lo describieron en 1952 en dos pacientes afectados de LES con diátesis hemorrágica<sup>33</sup>. Posteriormente, se confirmó la existencia de este anticoagulante al observar que producía in vitro un alargamiento de algunas pruebas de coagulación como el tiempo de cefalina y el tiempo de protrombina. Este anticoagulante fue denominado "lúpico" por Feinstein y Rapaport por el hecho de haber sido descrito

---

originariamente en enfermos con LES<sup>10</sup>. Posteriormente se observó que aproximadamente el 50% de estos pacientes no tenían LES, no presentaban sangrados y, de hecho, parecían tener mayor riesgo para eventos tromboembólicos<sup>34</sup>.

Como se desprende de los comentarios anteriores el término AL es en sí erróneo, aunque sigue aplicándose hoy en día por razones históricas y en consideración a que es un anticuerpo antifosfolípido que se comporta in vitro como anticoagulante al prolongar diversas pruebas de coagulación, a pesar de que in vivo se relaciona con la presencia de fenómenos trombóticos.

### **2.3.- Anticuerpos anticardiolipina.**

En 1983, Harris y colaboradores describieron inmunoensayos que usaron para detectar anticuerpos que se unían a antígenos fosfolipídicos<sup>3</sup>. Este test consistía en un radioinmunoensayo en fase sólida (RIA) que utilizaba cardiolipina como antígeno y cuya sensibilidad era muy superior a los tests serológicos convencionales para la sífilis. Poco después, en 1985, se introdujo el test de inmunoabsorbancia unida a enzimas (técnica de ELISA), para detectar y medir los anticuerpos anticardiolipina<sup>35,36</sup>. Actualmente este test se considera de elección tanto para estudiar los ACA como sus isotipos (IgG, IgM e IgA).

La asociación de estos anticuerpos con complicaciones trombóticas era muy similar a la descrita previamente para el anticoagulante lúpico por lo que, inicialmente, se pensó que ambos tipos de anticuerpos eran el mismo. Posteriormente se ha visto que no existe siempre una concordancia de positividad de ambos anticuerpos y por ello para establecer la presencia de AAPL es preciso realizar ambos tests. Aproximadamente el 60% de los

pacientes presentan ambos anticuerpos positivos y, en el restante 40% los resultados son contradictorios.

#### 2.4.- Cofactores de los anticuerpos antifosfolípido.

En 1959, Loeliger y colaboradores describieron un paciente con LES cuyo plasma era deficitario de un cofactor y se demostró que este cofactor era la protrombina<sup>37</sup>. En los tests de los ACA se demostró la necesidad de utilizar suero bovino como diluyente para aumentar la unión de los ACA a los fosfolípidos. En 1990, se objetivó que los ACA autoinmunes necesitan un cofactor para su unión al antígeno<sup>38-40</sup>. Este cofactor era la  $\beta$ 2-glicoproteína ( $\beta$ 2-GPI).

#### 2.5.- Síndrome antifosfolípido.

En 1985, Hughes y colaboradores introducen por primera vez el término de "síndrome anticardiolipina"<sup>41,42</sup> y en 1987 Harris y colaboradores el término "síndrome antifosfolípido" (SAPL)<sup>43</sup>. El SAPL se caracteriza por episodios repetidos de trombosis arteriales y venosas, muertes fetales de repetición y moderada trombocitopenia en presencia de AL y/o ACA positivos.

CLINICA	LABORATORIO
Trombosis venosa	IgGACA (niveles moderados/altos)
Trombosis arterial	IgMACA (niveles moderados/altos)
Abortos de repetición	Test AL positivo
Trombocitopenia	

Tabla 1. Criterios de clasificación del SAPL<sup>a</sup> según Harris.

<sup>a</sup> Pacientes con el síndrome deben tener al menos un hecho clínico y un hecho de laboratorio durante su enfermedad. El test de los anticuerpos antifosfolípidos (AAPL) debe ser positivo en al menos dos ocasiones separadas 3 meses entre sí.

Posteriormente, Alarcón-Segovia y colaboradores en 1989 sugirieron otros criterios diagnósticos del SAPL<sup>44</sup>. En 1992, estudiaron 667 pacientes con LES y demostraron que el 10% tenían

SAPL “definitivo” porque presentaban dos o más manifestaciones clínicas relacionadas y títulos de ACA superiores a 5 desviaciones estándar de la media de los controles. Un 14% presentaban una manifestación clínica con títulos altos de ACA o dos manifestaciones clínicas con títulos bajos de ACA (SAPL “probable”). También objetivaron que el 25% de los pacientes no presentaban manifestaciones clínicas pero sí títulos altos de ACA, una manifestación y títulos bajos o dos o más manifestaciones y títulos de ACA negativos (SAPL “dudoso”). Esta definición es más útil y representa una mejoría respecto a la original<sup>45</sup>.

<b>DEFINITIVO</b>
Dos o más de las siguientes manifestaciones clínicas:
Muerte fetal recurrente
Trombosis venosa
Oclusiones arteriales
Úlceras en piernas
Lívedo reticularis
Anemia hemolítica
Trombocitopenia
Niveles elevados de AAPL (IgG o IgM > 5 DS)
<b>PROBABLE</b>
Una manifestación clínica y niveles altos de AAPL, o Dos o más manifestaciones clínicas y niveles bajos de AAPL (IgG o IgM: 2 a 5 DS)

Tabla 2. Criterios de clasificación del SAPL propuestos por Alarcón-Segovia.

Una alta proporción de pacientes que manifestaba el SAPL no se ajusta al diagnóstico clásico de LES según los criterios revisados en 1982. Este hecho ha llevado a hacer dos grupos de SAPL:

a.- Síndrome antifosfolípido secundario: comprende aquellos pacientes afectos del SAPL como consecuencia del LES u otra enfermedad sistémica autoinmune bien definida.

b.- Síndrome antifosfolípido primario: se trata de un grupo de pacientes que presentan AAPL y fenómenos trombóticos en ausencia

de manifestaciones de LES o enfermedad sistémica subyacente. Los pacientes con SAPL primario suelen presentar un perfil clínico y biológico similar al del síndrome antifosfolípido secundario, aunque la presencia de enfermedad valvular cardíaca, anemia hemolítica autoinmune, linfopenia, neutropenia y bajos niveles de complemento (C4) son más frecuentes en el grupo con LES<sup>46</sup>.

### **3.- Terminología actual.**

El término "antifosfolípido" es considerado erróneo ya que actualmente se sabe que estos anticuerpos no se dirigen contra fosfolípidos aniónicos como anteriormente se creía, sino que forman parte de un gran grupo de autoanticuerpos dirigidos contra ciertos complejos formados por fosfolípidos unidos a proteínas plasmáticas<sup>38,39</sup>. Se hipotetiza que estos autoanticuerpos contribuyen directamente en la diátesis trombótica, interfiriendo con las reacciones hemostáticas que ocurren in vivo en los fosfolípidos aniónicos de las membranas celulares<sup>7</sup>.

#### **3.1.- Anticoagulante lúpico.**

Son anticuerpos que inhiben ciertas reacciones de la coagulación dependientes de los fosfolípidos, típicamente la conversión de protrombina a trombina. Se dirigen frente a fosfolípidos aniónicos pero existe algún subtipo de AL que es específico frente a la unión fosfolípido-protrombina o frente a la unión fosfolípido- $\beta$ 2-GPI<sup>47,48</sup>.

#### **3.2.- Anticuerpos anticardiolipina.**

Son anticuerpos detectados por técnicas de ELISA dirigidos contra la cardiolipina. Esta técnica también detecta anticuerpos en el suero o proteínas plasmáticas que se unen a la cardiolipina, en particular, anticuerpos frente a  $\beta$ 2-GPI<sup>7</sup>.

#### **3.3.- Anticuerpos antifosfolípido.**

Son anticuerpos detectados con los tests de AL, anticardiolipina y, ciertos tests serológicos para la sífilis.

### 3.4.- Síndrome anticuerpo antifosfolípido.

Es la asociación de títulos moderados o altos de autoanticuerpos “antifosfolípido” con trombosis arterial, venosa, abortos de repetición o trombocitopenia.

### 3.5.- Autoanticuerpos frente a complejos formados por fosfolípidos y proteínas plasmáticas.

Término que incluye a los anticuerpos “antifosfolípido” así como a los anticuerpos dirigidos frente a otras proteínas del plasma unidas a fosfolípidos que no son detectables mediante los tests de AL y ACA. Estos anticuerpos pueden tener significado patológico y, hasta la fecha, los antígenos diana más frecuentes y mejor caracterizados son la  $\beta$ 2-GPI<sup>38,39</sup> y la protrombina<sup>8,47</sup>. Otros antígenos diana que se han descrito son la proteína C y S<sup>8,49</sup>, las anexinas<sup>50</sup> y la fosfolipasa A2<sup>51</sup>.

Anticuerpo	Reactividad en test estándar de antifosfolípidos	
	“Anticardiolipina”	“Anticoagulante lúpico”
Anti-B2-GPI	SI	SI/NO
Anti-Protrombina	NO	SI
Anti-factor X	NO	SI
Anti-Proteína C	NO	NO
Anti-proteína S	NO	NO

Tabla 3. Reactividad de los principales autoanticuerpos frente a complejos fosfolípido/proteínas del plasma en los tests de los anticuerpos “antifosfolípido”.

La  $\beta$ 2-GPI es una glicoproteína sérica con actividad anticoagulante por inhibir la fase de contacto de la coagulación, la agregación plaquetar dependiente del ADP, la actividad protrombinasa de las plaquetas y jugar un papel regulador en la vía de la proteína C<sup>7</sup>.

---

La naturaleza exacta de la interacción de los ACA de origen autoinmune con la  $\beta$ 2-GPI no ha sido determinada todavía. Hay distintas hipótesis para explicarla:

- Los ACA reconocen un epítoto que se encuentra entre el fosfolípido (cardiolipina) y la  $\beta$ 2-GPI<sup>52</sup>.
- Los ACA reconocen un epítoto críptico en la molécula de la  $\beta$ 2-GPI que se manifiesta después de la unión  $\beta$ 2-GPI-cardiolipina<sup>38,53</sup>.
- Los ACA se unen a la cardiolipina directamente debido a que la  $\beta$ 2-GPI causa un cambio en la conformación de la cardiolipina, incrementando su avidéz/afinidad<sup>54,55</sup>.
- El ACA reacciona sólo con fosfolípidos gracias a que la  $\beta$ 2-GPI actúa como una proteína transportadora del fosfolípido<sup>52</sup>.

Por otro lado, algunos de los autoanticuerpos anti- $\beta$ 2-GPI tienen actividad de AL mientras que otros no. Este hecho puede tener relación con la avidéz y/o especificidad del epítoto<sup>7</sup>.



#### **4.- Mecanismo de acción de los anticuerpos antifosfolípido.**

##### **4.1.- Anticuerpos antifosfolípido y endotelio.**

Las células endoteliales en condiciones normales constituyen una superficie no trombogénica. Esta característica no es una propiedad pasiva del endotelio, sino que depende de la actividad metabólica de sus células que son susceptibles al daño endotelial<sup>56,57</sup>.

Los fosfolípidos son componentes integrales de las membranas celulares y de las células endoteliales, juegan un papel central en la prevención de la activación de la coagulación por parte de las células endoteliales en los vasos intactos y son los principales antígenos envueltos en la actividad patológica de los AAPL.

Se ha propuesto un gran número de mecanismos patogénicos de los AAPL para inducir la trombosis basados en la alteración de la función endotelial:

4.1.1.- Disminución de la síntesis de prostaciclina: la prostaciclina (Pgl<sub>2</sub>), principal metabolito del ácido araquidónico, es una sustancia secretada por el endotelio con acción vasodilatadora e inhibidora de la agregación plaquetar. Su ausencia podría, teóricamente, predisponer a la trombosis. Algunos autores han objetivado inhibición en la producción de prostaciclina<sup>58-60</sup> mientras que otros no han demostrado este efecto o incluso han encontrado una producción elevada<sup>61</sup>. Carreras y colaboradores en un reciente estudio han sugerido varias razones para estas discrepancias: la heterogeneidad de los vasos estudiados, las diferentes condiciones de cultivo, los agonistas utilizados y los métodos de preparación del anticuerpo<sup>62</sup>. Otro factor importante es el estado relativo de activación de las células endoteliales por citokinas y mediadores inflamatorios que

alteran la expresión de las proteínas en la superficie celular<sup>63</sup>.

Con los datos disponibles en el momento actual, parece que no podemos relacionar los fenómenos trombóticos del SAPL con la disminución de la producción de Pgl2 por parte de las células endoteliales.

4.1.2.- Aumento de la síntesis de factor tisular: el factor tisular (FT) es un pequeño receptor que atraviesa la membrana de la superficie celular y que media el inicio de la activación de las serín-proteasas del proceso coagulativo. El complejo formado por el FT-VIIIa activa a los factores IX y X conduciendo a la formación de trombina y finalmente de fibrina. Esta activación requiere la participación de fosfolípidos aniónicos<sup>64</sup>. Por tanto, un incremento de la expresión de FT podría, en teoría, explicar las complicaciones trombóticas.

Las células endoteliales y monocíticas expresan muy poca cantidad de FT en superficie, a menos que sean estimuladas por sustancias inflamatorias como son la Interleukina 1 (IL-1), el factor de necrosis tumoral (TNF) y algunas endotoxinas bacterianas. Oosting y colaboradores demuestran que los AAPL actúan de forma sinérgica con el TNF para aumentar la actividad procoagulante de la célula endotelial<sup>65</sup>. No está claro si este efecto es originado por el daño celular o por la presencia de antígenos endoteliales específicos.

Los trabajos de Cuadrado y colaboradores sugieren que los pacientes con SAPL presentan una mayor actividad procoagulante mediada por FT<sup>66</sup>. Sin embargo, no se han determinado los mecanismos moleculares que subyacen tras el incremento de expresión del FT en los pacientes con SAPL.

4.1.3.- Vía proteína C / trombomodulina: esta importante vía antitrombótica dependiente de fosfolípidos fue descrita a principios de los años 80<sup>67,68</sup>. La trombomodulina (TBM), que se sintetiza y expresa en las células endoteliales, se une a la trombina evitando la activación plaquetar y la formación de fibrina. Además, el complejo trombina-TBM activa a la proteína C promoviendo la fibrinólisis y, cuando se une a su cofactor (la proteína S libre), inactiva los factores VIIIa y Va por proteólisis limitada.

Se ha descrito que los AAPL podrían inducir un estado de hipercoagulabilidad interfiriendo este sistema anticoagulante a diferentes niveles:

- Interferencia de la activación de la proteína C por el complejo TBM-trombina<sup>21</sup>. Estos resultados no se han confirmado en otros trabajos<sup>23</sup>.
- Inhibición de la unión de la proteína C activada (PCa) con los fosfolípidos de membrana ya que la PCa sólo ejerce su acción biológica si está unida a fosfolípidos de membrana<sup>69</sup>.
- Inhibición de la proteína C activada. La fracción IgG del AL es capaz de inhibir la función de la PCa al dirigirse contra la proteína C y/o proteína S, cuando están unidas a fosfolípidos<sup>8,70</sup>. Además, los anticuerpos anti- $\beta$ 2-GPI podrían alterar el nivel de proteína S libre<sup>7</sup>.
- Resistencia a la proteína C activada. Los AAPL dirigidos contra el complejo Va-fosfolípido pueden proteger el factor Va de su inactivación por la proteína C activada, reproduciendo un cuadro similar al encontrado en los pacientes portadores de factor V Leiden<sup>71</sup>.

4.1.4.- Moléculas de adhesión: otro mecanismo es la activación del endotelio en el curso del SAPL a través de las moléculas de adhesión. La fracción IgG de los AAPL, en presencia de  $\beta$ 2-GPI, induce la expresión de E-selectina, VCAM-1 e ICAM-1, que incrementan la adhesión de los monocitos al endotelio.

4.1.5.- Alteración de la fibrinólisis: los AAPL se han involucrado en la alteración de la fibrinólisis por implicación del inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1)<sup>72,73</sup> y del sistema de contacto de la coagulación<sup>74</sup>. Sin embargo, los datos actuales no permiten establecer una clara relación entre fibrinólisis anómala, presencia de AAPL y trombosis.

#### **4.2.- Anticuerpos antifosfolípido y células sanguíneas.**

El mecanismo patológico de los AAPL no está exclusivamente mediado por la interacción con los componentes celulares de los vasos. Otras células, como plaquetas, monocitos y eritrocitos juegan un papel central en la regulación de los eventos trombóticos y, por tanto, la tendencia trombótica en pacientes con AAPL podría ser el resultado de la interferencia con estas células. Es probable que los AAPL actúen indirectamente en un tipo celular por interferencia con el proceso metabólico de otras líneas celulares. Por ejemplo, los AAPL pueden activar a los monocitos y que éstos produzcan citocinas inmunorreguladoras como son la IL-1 y el TNF y que estas sustancias estimulen las células endoteliales. Lamentablemente, no se ha estudiado mucho la influencia de los AAPL en la cooperación entre diferentes tipos celulares.

4.2.1.- Plaquetas: la trombocitopenia es frecuente en pacientes con AAPL durante los episodios trombóticos<sup>75</sup>. Los niveles de AAPL se han relacionado estrechamente con el contaje plaquetar. Hasselaar y colaboradores demostraron que el 33% de pacientes con AL tenían moderada trombocitopenia y que ésta estaba significativamente asociada con una historia de complicaciones trombóticas<sup>76</sup>. Es poco probable que los AAPL activen a las plaquetas pero en presencia de condiciones conocidas de activación plaquetar como son la aterosclerosis, la diabetes o la hipertensión, los AAPL pueden promover posteriores eventos trombóticos<sup>77</sup>.

4.2.2.- Monocitos: los anticuerpos IgG aislados de pacientes con AL positivo aumentan la síntesis de FT mediada por el TNF de los monocitos. Existe la hipótesis de que la interacción y cooperación entre leucocitos, linfocitos y células endoteliales es un importante mecanismo fisiopatológico de lesión de la célula endotelial<sup>56</sup>.

4.2.3.- Eritrocitos: se ha descrito que los AAPL se unen a los receptores del complemento tipo 1 presentes en los eritrocitos y esto quizás explique la anemia hemolítica vista en algunos pacientes con AAPL<sup>78</sup>.

## **5.- Métodos de detección de los anticuerpos antifosfolípido.**

La metodología en el diagnóstico de los AAPL se describe a continuación:

### **5.1.- Detección del anticoagulante lúpico: tests coagulométricos.**

Los AL interfieren con los tests de la coagulación dependientes de los fosfolípidos (por ejemplo, el tiempo de tromboplastina parcial activado) pero no hay una opinión uniforme en cuanto a los criterios mínimos para su diagnóstico o el test más sensible y específico que debe usarse.

Actualmente se recomiendan los siguientes criterios para su diagnóstico:

- Demostración de la anomalía en un test de coagulación dependiente de fosfolípidos.
- Probar que esta anomalía es debida a un inhibidor.
- Demostrar que la actividad del inhibidor se dirige frente a fosfolípidos.

5.1.1.- Demostración de la anomalía en un test de coagulación dependiente de fosfolípidos: debido a que la variabilidad inter e intrapaciente en los test de coagulación es bastante elevada y la detección de AL es altamente específica del reactivo, es preciso que todos los laboratorios realicen al menos 2 de los siguientes tests:

- TTPA sensibilizado: el TTPA es un test de la coagulación diseñado para analizar el también llamado "sistema intrínseco de la coagulación". El reactivo TTPA sensibilizado contiene un activador y una fuente de fosfolípido (de origen vegetal o animal) cuya concentración, composición y, quizás, la configuración del

fosfolípido son importantes para determinar la sensibilidad del reactivo a la presencia de AL<sup>79</sup>.

- Tiempo de veneno de víbora diluido de Russell's (dRVVT): se utiliza extracto de veneno de víbora y fosfolípido para evaluar la "vía común de la coagulación". Es menos sensible y más específico que la TTPA sensibilizada<sup>80</sup>.
- Tiempo de coagulación plasmática (TCP): este test no se utiliza debido a que precisa plasma fresco rico en plaquetas, por lo que la muestra no puede ser congelada.
- Tiempo de coagulación de kaolín (TCK): es un TTPA sensibilizado pero sin la adición de plaquetas. No es tan sensible como el TTPA sensibilizado<sup>81,82</sup> pero en situaciones especiales como el embarazo, es el más sensible<sup>83</sup>.

5.1.2.- Demostración del inhibidor: ante los resultados anómalos de los tests de screening, es necesario documentar la presencia de un inhibidor. Para ello se incubaba el plasma patológico con plasma normal, cuatro partes de plasma del paciente con una de plasma normal representa la dilución más sensible para identificar el inhibidor<sup>81,84</sup>. En el caso de que el plasma del enfermo contenga un inhibidor, la prueba coagulométrica persistirá alterada.

5.1.3.- Test confirmatorio: demostración de que el inhibidor está dirigido contra los fosfolípidos. Los AL deben ser diferenciados de los inhibidores específicos de factores de la coagulación, ya que éstos se encuentran asociados con diátesis hemorrágicas y, por contra, los AL están asociados con eventos tromboembólicos<sup>10,85</sup>.

Existe una relación inversa entre el contenido de fosfolípidos del test confirmatorio y el grado de prolongación de las pruebas de

coagulación. El test más utilizado y específico es el procedimiento de neutralización plaquetar (PNP) que consiste en añadir plaquetas lavadas al plasma del paciente. Si la causa del alargamiento de las pruebas de coagulación es un AL, al añadir las plaquetas, se normaliza, al menos parcialmente, el tiempo de coagulación ya que éstas aportan los fosfolípidos necesarios para “neutralizar” el inhibidor.

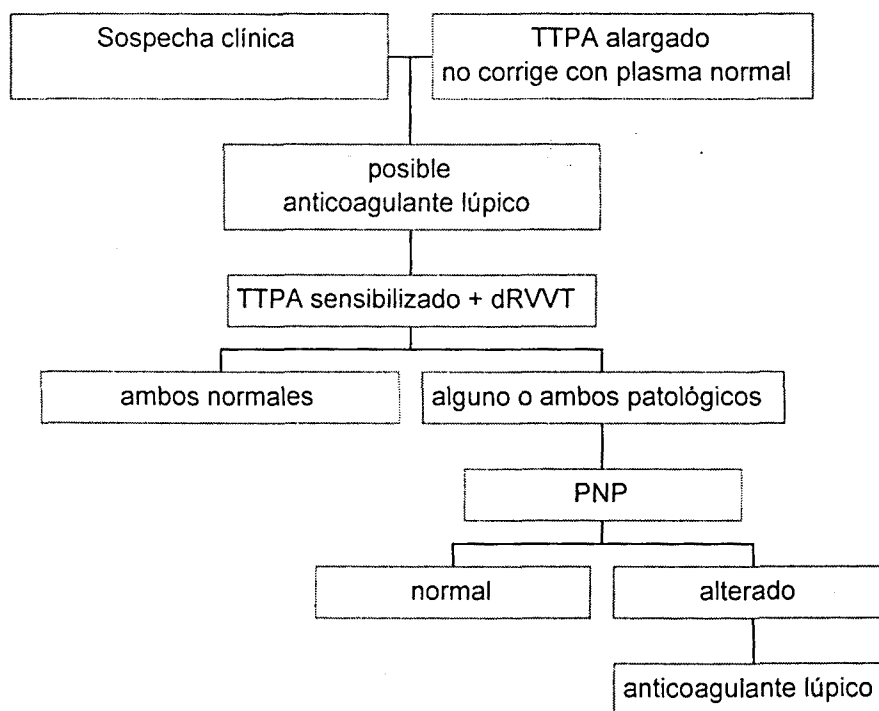


Gráfico 2. Algoritmo del diagnóstico del anticoagulante lúpico.



## 5.2.- Detección anticuerpos anticardiolipina.

La principal técnica son los métodos inmunológicos, aunque han aparecido otras técnicas como la citometría de flujo.

5.2.1.- Técnicas inmunológicas: fundamentalmente son el radioinmunoensayo (RIA) y el enzimoimmunoensayo (ELISA). Ambas técnicas consisten en fijar el fosfolípido (cardiolipina, fosfatidilserina, fosfatidilinositol, etc.) al que se añade posteriormente el suero del paciente y después antiinmunoglobulinas marcadas, bien radiactivamente en el caso del RIA o con una enzima en el ELISA. Con estas técnicas la cantidad de radiactividad (RIA) o la intensidad del color detectada al añadir el sustrato cromogénico de la enzima (ELISA) será proporcional a la cantidad de anticuerpo antifosfolípido presente.

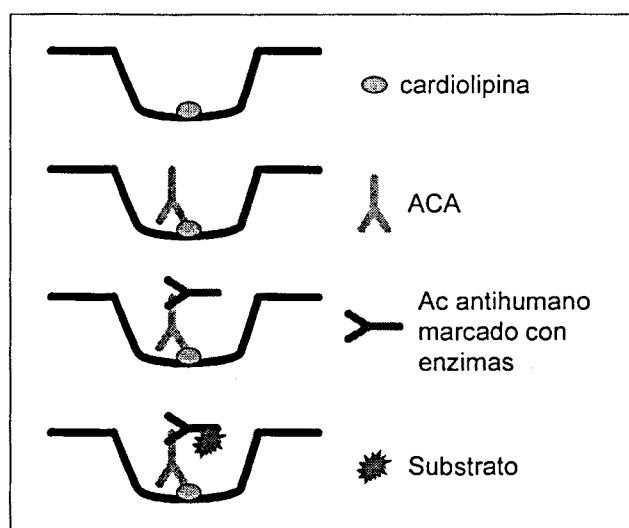


Gráfico 3. Esquema de la técnica de ELISA.

Actualmente la técnica de ELISA es la más aceptada y se efectúa de forma rutinaria en la mayoría de los laboratorios ya que no se emplea material radiactivo. Generalmente se utilizan kits comerciales

que expresan los resultados de los isotipos ACA en unidades (GPL, MPL) y definen la actividad de unión a la cardiolipina de 1µg de ACA, IgG o IgM respectivamente, a partir de un suero estándar<sup>86,87</sup>.

5.2.2.- Citometría de flujo: M.W. Stewart y colaboradores desarrollan un nuevo método para la detección de AAPL utilizando la citometría de flujo. Han observado que los resultados de la citometría de flujo están estrechamente relacionados con los de la técnica de ELISA, pero consideran que la citometría es más rápida y versátil en su habilidad para detectar los isotipos de ACA<sup>88</sup>.

Este método promete ser útil para evaluar el significado de la especificidad de los fosfolípidos y de los isotipos de anticuerpos en pacientes con síndrome antifosfolípido.

## 6.- Prevalencia y contexto clínico.

El interés clínico de los AAPL viene dado por su relativa frecuencia y por las manifestaciones de tipo trombótico a las que se han asociado.

### 6.1.- Prevalencia.

6.1.1.- En pacientes con enfermedades autoinmunes: la prevalencia exacta de los AAPL es difícil de establecer ya que varía en función de los pacientes seleccionados y del método de laboratorio utilizado<sup>89</sup>. Esto contribuye al amplio rango de frecuencias descritas. Los diferentes tests de AL difieren considerablemente en su sensibilidad<sup>79,83,90</sup>. Los criterios de positividad de los test de anticardiolipina varían respecto a la clase o clases de anticuerpos detectados y su nivel de corte<sup>35,91,92</sup>.

La presencia de AAPL está asociada con variedad de enfermedades autoinmunes. La enfermedad que se describe con más alta prevalencia de AAPL es el LES. Una amplia revisión de pacientes con LES describe una frecuencia de un 34% para AL y de un 44% para ACA positivos<sup>5</sup>. Además, se observa una fuerte correlación entre niveles elevados de ACA y AL, de tal forma que el 45% de los pacientes ACA positivos presentan AL y el 59% de los pacientes con AL tienen títulos de ACA elevados<sup>93</sup>. Otros estudios no objetivan tal asociación<sup>94</sup>.

Los enfermos con conectivopatía, artritis reumatoide, síndrome de Beçet o síndrome de Sjögren, probablemente presentan una frecuencia de positividad de ACA comparable a los enfermos con LES<sup>5</sup>.

Los AAPL no se correlacionan con una serie de variables clínico-

biológicas como son: la edad de los pacientes, la duración de la enfermedad, las manifestaciones de enfermedad activa (salvo las manifestaciones neuropsiquiátricas y la trombocitopenia que se dan en pacientes con LES de menor edad) y/o la positividad de anticuerpos anti-DNA o ANA<sup>5</sup>.

Los corticoesteroides tienen mayor efecto supresor sobre el AL que sobre los ACA. Algunos autores no observan diferencia en la frecuencia de ACA entre pacientes con o sin corticoesteroides, mientras que la frecuencia de AL es inferior en los pacientes que reciben dicho tratamiento<sup>5</sup>.

6.1.2.- En pacientes sin LES: se han descrito los AAPL en situaciones clínicas diferentes al entorno autoinmune (infecciones, neoplasias, drogas...) y también en individuos aparentemente sanos. Aunque los datos de que disponemos sobre los AAPL en pacientes sin LES son escasos, la prevalencia de AAPL en estas situaciones suele ser menor que en los pacientes con LES, darse en pacientes de mayor edad y la ratio hombre/mujer es cercana a la unidad.

La prevalencia de ACA en la población general se ha estimado en un 2% en algunos trabajos<sup>91,95,96</sup>. Aunque los valores varían notablemente en función de la aproximación metodológica del grupo y del nivel de positividad empleado<sup>97-99</sup>.

Hay autores que piensan que se trata de ACA isotipo IgM la mayoría de las veces transitorios y posiblemente sin traducción clínica evidente<sup>100-102</sup>; sin embargo, otros consideran que estos pacientes también tienen un riesgo elevado de trombosis<sup>16,103</sup>. Se ha descrito una prevalencia de trombosis previa en pacientes con AAPL y sin LES de casi un 22%<sup>5</sup>.

## 6.2.- Contexto clínico.

6.2.1.- Trombosis venosas y arteriales: en pacientes con AAPL se ha descrito la presencia de trombosis venosas, arteriales y de pequeños vasos de la dermis. Existen series y estudios clínicos que han hecho énfasis en que pueden afectarse todos los vasos (arteriales o venosos) del organismo. Entre las localizaciones arteriales más frecuentes se encuentran la cerebral, coronaria y ocular, principalmente en sujetos jóvenes y sin distinción de sexo. Los eventos venosos más comunes son las trombosis venosas profundas (TVP) de extremidades y los embolismos pulmonares; sin embargo, también se han descrito localizaciones inusuales como el riñón o el hígado.

Los datos de la literatura sugieren que en los pacientes con AAPL, aproximadamente el 70% de los eventos tromboticos son venosos y el 30% son arteriales, pero esta proporción actualmente tiende a igualarse debido al aumento de procesos tromboticos arteriales.

En pacientes con LES la mayoría de autores defiende la existencia de una asociación estadísticamente significativa entre AAPL y antecedentes de episodios tromboticos venosos o arteriales<sup>5,24,44,46,104,105</sup>. La prevalencia de trombosis previa en pacientes con LES es 3-4 veces más alta si presentan AL y 2-4 veces mayor si son ACA positivos<sup>5</sup>.

Se ha incidido bastante en la idea de que el título del isotipo de ACA puede ser importante para determinar qué pacientes tienen mayor riesgo de trombosis. Algunas series demuestran una fuerte asociación entre títulos altos de ACA y antecedentes de trombosis<sup>91,93,106-108</sup> y otras no objetivan dicha asociación<sup>90,92</sup>. El estudio de Alarcón-Segovia y colaboradores que comprendía 500 pacientes con LES demostró un riesgo relativo de 2,1 para una

primera trombosis (TVP) y de 10,5 para TVP recurrente en sujetos con título alto de ACA isotipo IgG<sup>44</sup>.

Inicialmente se asumió que los ACA de isotipo IgG se asociaban con trombosis; sin embargo, algunos autores creen que también los isotipos IgM e IgA pueden estar asociados con trombosis. Pueden darse diferentes tipos de trombosis pero no hay asociación entre el tipo de evento trombótico y el tipo de ACA presente<sup>12</sup> y, tampoco hay estudios en los que la positividad de más de un isotipo de ACA distinga pacientes con y sin historia de trombosis<sup>5</sup>.

En la mayoría de series resulta imposible valorar el significado clínico de los ACA o de uno de sus isotipos debido a que la determinación de estos anticuerpos se hizo en una sola ocasión. La positividad de los ACA fluctúa a lo largo del tiempo (con y sin tratamiento inmunosupresor) y estos cambios pueden originar una alteración en la positividad de los ACA. En estos trabajos se cuestiona si el significado clínico del título o isotipo de ACA tiene valor mediante una única determinación. Los datos más convincentes de la asociación entre ACA y antecedentes de trombosis se deben a estudios que demuestran un título de ACA elevado de forma mantenida<sup>24,25</sup>.

Basándose en los datos publicados hasta ahora es difícil asegurar la asociación de ACA con trombosis en pacientes sin LES. En pacientes jóvenes con trombosis venosa, accidente vascular cerebral, accidente isquémico transitorio e infarto de miocardio, los ACA positivos se demuestran con más frecuencia que en sujetos sanos o sin enfermedad trombótica pero su significación clínica en estos pacientes es todavía desconocida. Algunos estudios valoran si estos sujetos con ACA positivos tienen un mayor riesgo de recurrencia de trombosis, pero los resultados son conflictivos<sup>109,110</sup>.

El estudio prospectivo de caso-control de Ginsburg y colaboradores demuestra que los varones adultos sanos con título alto de ACA tienen un riesgo significativamente más elevado para padecer TVP o embolismo pulmonar que los varones ACA negativos. Este mayor riesgo es muy significativo con títulos de ACA > 30 GPL, que corresponden al 95 percentil de los valores<sup>106</sup>. El riesgo estimado para TVP o TEP en sujetos ACA positivos en este estudio es similar a otros factores de riesgo bien establecidos para trombosis, como son los estrógenos, anticonceptivos orales, tabaco, hipertensión arterial y obesidad.

6.2.2.- Pérdidas fetales de repetición: la presencia de AAPL es la alteración trombofílica adquirida más frecuente en el embarazo. Diversos autores han descrito la asociación de pérdidas fetales de repetición (al menos tres eventos) con AAPL y podría explicarse por la aparición de trombosis en la circulación útero-placentaria<sup>13,25</sup>. En los estudios prospectivos realizados en embarazadas con LES, la incidencia de pérdida fetal es 4 a 10 veces mayor en los casos AAPL positivos; las mujeres con AAPL tienen un 60% de riesgo de pérdida fetal<sup>5</sup>. El riesgo depende del título y del isotipo IgG de ACA<sup>13,111</sup>. Al realizar diferentes tests de AL y ACA en más de un ocasión e identificar a las pacientes persistentemente positivas, la asociación entre AAPL y pérdidas fetales en embarazadas con LES aumenta de forma significativa<sup>25</sup>.

Los AAPL se han detectado en una pequeña proporción (<15%) de mujeres sanas sin LES con historia de abortos de repetición. La frecuencia de estos anticuerpos en pacientes con LES con una historia similar es desconocida. Las pérdidas fetales se pueden dar en cualquier trimestre del embarazo y en el 90% de los casos se

repiten en ausencia de tratamiento. La asociación AL, trombosis venosas y abortos de repetición constituye el síndrome de Soulier et Boffa.

6.2.3.- Trombocitopenias: en el caso de pacientes con LES o enfermedades relacionadas existe una clara asociación entre AAPL y trombocitopenia<sup>46,112-116</sup>. Los pacientes con ACA o AL positivos tienen una frecuencia tres veces superior de trombocitopenia moderada o severa que los pacientes sin estos anticuerpos<sup>5</sup>. Fuera de esta patología autoinmune no se ha demostrado dicha relación.

6.2.4.- Enfermedad neurológica: la mayoría de veces se trata de isquemias o infartos focales a nivel cerebral u ocular descritas en pacientes con LES o enfermedades autoinmunes. No existen datos suficientes para aclarar el significado de los AAPL en pacientes sin dichas enfermedades. Un trabajo reciente evidencia que los ACA no son un factor de riesgo para este tipo de patología sugiriendo, incluso, que pueden ser un acompañante inespecífico de la enfermedad vascular, por lo que considera innecesaria la determinación rutinaria de ACA en estos pacientes<sup>117</sup>. Sin embargo, otro estudio realizado en 1993 detecta AL y ACA en un 18% y 24% respectivamente de pacientes jóvenes con embolismo y sólo una minoría de estos pacientes tenían LES; además, los sujetos AAPL positivos eran más jóvenes y tenían historia de episodios frecuentes de isquemia cerebral recurrente<sup>118</sup>.

6.2.5.- Enfermedad coronaria: respecto a las enfermedades coronarias, dos trabajos son interesantes para citar. Uno considera que los AAPL en pacientes jóvenes con infarto agudo de miocardio podrían constituir un factor de riesgo y recidiva<sup>109</sup>. Esta observación



no fue confirmada en tres estudios posteriores que no objetivaron mayor mortalidad, reinfarto ni tromboembolismo venoso durante 12-24 meses de seguimiento<sup>110,119,120</sup>. El otro estudio observa que existe relación entre la presencia de AAPL y reoclusión después de la angioplastia coronaria<sup>121</sup>.

Estos resultados conflictivos se pueden explicar por la ausencia de estandarización de los test de AAPL, los diferentes criterios de positividad para ACA, la presencia de AAPL positivos de forma transitoria y el pequeño número de casos en muchos de los trabajos.

VASCULAR	Trombosis venosas y arteriales Endocarditis trombótica Valvulopatía
OBSTETRICA	Abortos espontáneos recurrentes Daño fetal intrauterino Retraso en el crecimiento fetal Pre-eclampsia Corea gravídica Serositis post-parto Trombosis neonatal
NEUROLOGICA	Accidente isquémico transitorio Corea Neuropatía periférica Migraña
DERMATOLOGICA	Lívedo reticularis Necrosis cutánea Hemorragia subungueal en "astillas"
HEMATOLOGICA	Trombocitopenia Linfoma

Tabla 4. Principales manifestaciones clínicas descritas de los AAPL.

## 7.- Manejo terapéutico.

Una de las principales consecuencias prácticas del descubrimiento del SAPL es la importancia de los mecanismos trombóticos en algunas de sus manifestaciones. Mientras que anteriormente todas las manifestaciones “cerebrales” del LES se atribuían a “vasculitis” y se trataban con pautas antiinflamatorias que incluían dosis altas de corticoides, actualmente se ha demostrado que en muchos casos el mecanismo responsable es la trombosis. Así, procesos tan diversos como la migraña atípica, trastornos de la conducta, epilepsia y corea pueden, en parte de los pacientes con SAPL, responder mejor a los anticoagulantes que a los esteroides e inmunosupresores. No obstante, en muchos pacientes el SAPL, además de serias enfermedades, causa grandes dificultades para tratarlas.

Actualmente algunos autores consideran que la trombosis tiende a recurrir en este síndrome y, por tanto requiere tratamiento profiláctico<sup>104,122,123</sup>. Hasta ahora no se han realizado estudios clínicos prospectivos para el tratamiento o profilaxis de las trombosis<sup>124</sup>.

Los estudios de laboratorio indican que los AL y ACA pueden interactuar con plaquetas y factores de la coagulación. Los regímenes terapéuticos usados en pacientes con AAPL se dirigen contra las alteraciones inmunológicas evidenciadas por la presencia de estos anticuerpos o frente a los efectos que producen en el sistema hemostático.

### 7.1.- Tratamientos dirigidos frente a la **respuesta inmune**.

Dentro de este apartado se encuentran las siguientes posibilidades terapéuticas:

7.1.1.- Corticoesteroides e inmunosupresores: reducen los niveles de anticuerpo pero no tienen beneficio a largo plazo, ya que se produce un efecto rebote después de cesar el tratamiento. Estas drogas deberían utilizarse sólo si la enfermedad subyacente (por ejemplo, el LES) lo requiere.

En pacientes con LES diagnosticado o desenmascarado durante el embarazo y abortos de repetición se utilizan a dosis inmunosupresoras y los resultados difieren en dependencia de los centros.

En las trombocitopenias inmunes de los pacientes con LES son la primera línea de tratamiento.

Para la prevención de complicaciones trombóticas no se ha demostrado su efectividad.

7.1.2.- Recambio plasmático: se ha utilizado para reducir los títulos de anticuerpo circulante en enfermedades autoinmunes, principalmente ante eventos trombóticos sistémicos y graves. Su efectividad en reducir los riesgos de complicaciones asociadas con estos anticuerpos está por determinar.

7.1.3.- Inmunoglobulinas: se hipotetiza que pueden unirse a los receptores del anticuerpo situados en la célula endotelial bloqueando la interacción del anticuerpo con estos receptores. Se han mostrado efectivas en pacientes trombocitopénicos como tratamiento previo a la esplenectomía y su efecto puede ser dosis dependiente. Se han

---

utilizado en embarazadas con abortos de repetición que no respondieron previamente a anticoagulación o inmunosupresores. La experiencia con este tratamiento es limitada.

## 7.2.- Tratamientos frente al sistema hemostático.

En este apartado disponemos de las siguientes posibilidades terapéuticas:

7.2.1.- Fármacos antiplaquetares: los pacientes con AAPL presentan una alteración de las funciones plaquetar y endotelial. La aspirina inhibe la agregación plaquetar y la síntesis de prostaciclina endotelial y es efectiva en reducir el riesgo de embolismos recurrentes, por lo que no sorprende que haya sido prescrita a pacientes con AAPL y abortos de repetición o enfermedad cerebrovascular. Los pacientes con ataques isquémicos transitorios (AIT) pueden responder a aspirina sola o asociada con dipiridamol pero no deben ser anticoagulados.

La aspirina sola se ha utilizado para tratar mujeres con abortos de repetición. Para algunos autores, a dosis bajas (100mg/día) es el tratamiento mínimo que debe recibir toda embarazada con SAPL primario y sin antecedentes tromboembólicos<sup>125</sup>. Sin embargo, otros autores no consideran indicado el tratamiento cuando no existen antecedentes trombóticos o pérdida fetal<sup>126,127</sup>. Cuando existe riesgo trombótico documentado se prescribe junto con prednisona<sup>128-131</sup> o con heparina subcutánea<sup>131,132</sup> pero los resultados son diversos<sup>128-130,133</sup>. Khamashta y colaboradores objetivan que dosis bajas de aspirina no previenen las recurrencias de trombosis<sup>134</sup>, hecho similar al descrito por Rosove y Brewer<sup>104</sup>.

Es imposible concluir si la aspirina reduce o no el riesgo de

---

embolismos recurrentes en pacientes con AAPL. Los resultados diferentes en pacientes que reciben la misma dosis de aspirina, sugieren que algunos pueden tener un mayor riesgo para padecer eventos tromboembólicos recurrentes que otros.

7.2.2.- Fármacos anticoagulantes: no se han realizado estudios clínicos prospectivos para el tratamiento o prevención de las trombosis<sup>124</sup>. La actitud a seguir en sujetos con AAPL que no han padecido eventos trombóticos es controvertida, la mayoría de clínicos no consideran que sea suficiente razón para anticoagulación profiláctica y la profilaxis debería utilizarse para cubrir situaciones de alto riesgo como, por ejemplo, la cirugía. La mayoría de autores consideran que los pacientes que ya han padecido un evento trombótico requieren tratamiento profiláctico<sup>46,123</sup> dado que la trombosis en el SAPL tiende a recurrir. Así, los pacientes con manifestaciones trombóticas (arteriales o venosas) asociadas a AAPL deben recibir tratamiento anticoagulante a largo plazo, con o sin dosis bajas de aspirina, manteniendo un  $INR \geq 3$ , como lo demuestran los siguientes estudios:

Khamashta y colaboradores demuestran que la anticoagulación oral con INR (ratio internacional normalizada) superiores o iguales a 3, con o sin dosis bajas de aspirina, es una profilaxis efectiva contra trombosis arteriales y venosas en la mayoría de pacientes con síndrome antifosfolípido<sup>134</sup>. Según algunos autores el tratamiento anticoagulante oral con  $INR = [2-3]$  no previene los eventos trombóticos<sup>104,122</sup>.

El cese del tratamiento anticoagulante en estos pacientes conlleva un riesgo de trombosis recurrente elevado<sup>123</sup>. En un estudio retrospectivo de 19 pacientes con AAPL y episodios

tromboembólicos venosos (ETE V), Derksen y colaboradores demostraron que la probabilidad de no tener recurrencia de trombosis durante un período de 8 años era del 100% entre los pacientes que estaban anticoagulados (manteniendo un INR entre 2.5 y 4), en comparación con un 22% de los pacientes que dejaron de tomar el tratamiento anticoagulante<sup>122</sup>. Otros estudios han obtenido resultados y conclusiones similares. Las recurrencias suelen darse en los primeros 6 meses tras suspender la anticoagulación<sup>134</sup>.

## **Justificación, hipótesis y objetivos**

## II.- JUSTIFICACION, HIPOTESIS Y OBJETIVOS

### A.- Justificación del trabajo.

Se han realizado muchos trabajos para estudiar la relación de los ACA con complicaciones tromboembólicas en pacientes con LES o enfermedades autoinmunes y la mayoría de estos trabajos consideran que en estos pacientes los ACA, a títulos elevados y persistentemente positivos, son un factor de riesgo establecido para padecer ETEV. Sin embargo, la asociación y significado clínico entre ACA y eventos trombóticos en pacientes sin LES o enfermedades autoinmunes son controvertidos y han sido poco estudiados. Prueba de ello, es que hasta la actualidad, en la literatura existen pocos estudios prospectivos y randomizados que nos ayuden a resolver las discrepancias en los resultados.

La variabilidad de los resultados descrita en la literatura en relación con la asociación ACA-ETEV en pacientes sin LES o enfermedades autoinmunes puede deberse a que la mayoría de los trabajos no valoran los factores de riesgo de ETEV que presentan los pacientes. Las enfermedades no autoinmunes asociadas o los déficits de proteínas de la coagulación podrían actuar como factores de confusión e interferir en el cálculo de la prevalencia de pacientes ACA positivos. Además, en pocas ocasiones se especifican los criterios diagnósticos para los eventos trombóticos, el anticuerpo anticardiolipina específico, la variación inter e intraensayo del método de laboratorio utilizado para el diagnóstico de ACA o el número de determinaciones de ACA realizadas y su secuencia temporal.





Hoy día los ACA han vuelto a ser tema de gran interés tanto para los clínicos como para biólogos e inmunólogos. Aunque la asociación entre estos anticuerpos y las manifestaciones tromboembólicas se ha planteado frecuentemente, se precisan estudios prospectivos realizados de forma adecuada para establecer su papel etiológico en la presencia de trombosis. Además, los criterios actuales para su diagnóstico biológico, todavía en vías de estandarización, están llamados a evolucionar para mejorar la fiabilidad de los resultados y facilitar su confrontación entre distintos estudios clínicos. Por otro lado, la naturaleza exacta de la interacción antígeno-anticuerpo no está claramente establecida.

Numerosas cuestiones, todavía por resolver, justifican la realización de estudios a cerca de los ACA:

¿Pueden los ACA ser utilizados como predictores de mayor riesgo de trombosis, enfermedad neurológica, trombocitopenia y/o morbi-mortalidad fetal?

Si es así:

¿Son estas relaciones específicas de los pacientes con LES o pueden darse también en otros grupos de pacientes no afectados de LES o enfermedad autoinmune relacionada?

¿Cuál es el manejo terapéutico óptimo para los pacientes que presentan títulos elevados de ACA de forma persistente y ya han presentado un evento tromboembólico?

¿Cuál sería el método preventivo más idóneo en aquellos pacientes que no hubiesen padecido patología alguna tromboembólica?.

Poder contestar a estas preguntas es, quizás, el gran interés de los estudios clínicos sobre los ACA. Además, conocer el comportamiento de estos anticuerpos permitiría identificar a un grupo de pacientes con alto riesgo para padecer ETEV o ETEV de repetición y al mismo tiempo adoptar medidas terapéuticas o profilácticas para disminuir el importante problema clínico que supone la enfermedad tromboembólica venosa.

Con esta voluntad, nuestro grupo ha realizado un estudio para valorar si los ACA o alguno de sus isotipos son un factor de riesgo para ETEV en pacientes sin LES o constituyen un epifenómeno asociado y, de esta forma, poder identificar grupos de pacientes con diferente riesgo para padecer ETEV.

## **B.- Hipótesis del estudio.**

Las hipótesis que se plantean en el estudio son las que se describen a continuación:

1.-Hipótesis Primera: los ACA positivos se asocian con ETEV en pacientes sin LES.

2.- Hipótesis Segunda: los ACA positivos en los enfermos con ETEV y sin LES no se comportan como un epifenómeno.

3.-Hipótesis Tercera: la presencia de anticuerpos anticardiolipina de forma permanente, en sujetos sin lupus eritematoso sistémico ni otra enfermedad autoinmune asociada, es un factor de riesgo de enfermedad tromboembólica venosa.

4.- Hipótesis Cuarta: existe un grupo de pacientes con anticuerpos anticardiolipina positivos, a títulos débiles y de forma transitoria, que no presentarían un aumento del riesgo trombótico. Estos ACA formarían parte de un conjunto de anticuerpos que podrían constituir un fenómeno secundario al daño vascular producido por la propia enfermedad tromboembólica venosa.

### **C.- Objetivos del estudio.**

En este estudio determinamos los niveles de anticuerpos anticardiolipina en un grupo de pacientes con enfermedad tromboembólica venosa sin LES o enfermedades autoinmunes y en un grupo de sujetos sanos.

Los objetivos del presente trabajo son:

#### 1.- Objetivos generales:

1.1.- Determinar en nuestro medio la proporción de pacientes con ETEV y sin LES que presentan niveles elevados de ACA.

1.2.- Estudiar si existen diferencias significativas en cuanto a la prevalencia de positividad para ACA entre este grupo de pacientes y un grupo control de sujetos sanos.

#### 2.- Objetivos específicos:

2.1.- Valorar si algún isotipo de ACA concreto (IgG o IgM) se asocia significativamente a ETEV.

2.2.- Evaluar si existe relación en estos pacientes entre la positividad para ACA con:

- la presencia de factores de riesgo conocidos de ETEV.
- el tipo y localización del episodio tromboembólico.
- la presencia de algunas alteraciones de la hemostasia concretas

2.3.- Estudiar el comportamiento de los ACA y de sus isotipos (IgG e IgM) en los pacientes con ETEV.

2.4.- Valorar si los ACA son causa o fenómeno secundario de la propia ETEV.

2.5.- Determinar si los factores de riesgo para ETEV modifican la frecuencia y comportamiento de los ACA.

## **Pacientes y métodos**

### III.- PACIENTES Y METODOS

#### 1.- Planteamiento metodológico.

Desde Enero de 1992 hasta Marzo de 1995 se han registrado en el Servicio de Hematología y Hemoterapia del Hospital Universitario Arnau de Vilanova de Lleida un total 295 pacientes diagnosticados y/o tratados de ETEV. A partir del historial clínico, se han recogido los datos clínicos y biológicos del momento del diagnóstico.

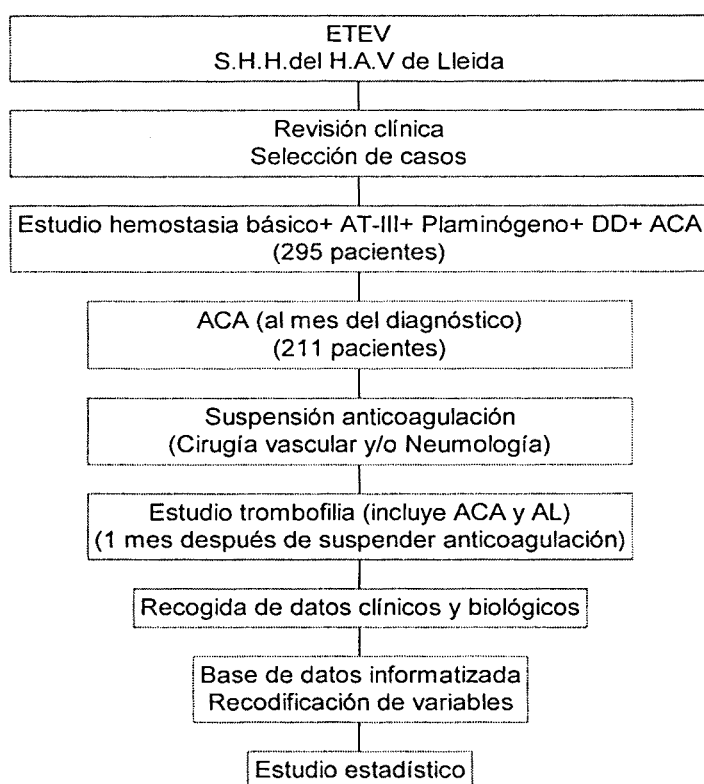


Gráfico 4. Esquema de la metodología del trabajo.

El diagnóstico de ETEV ha sido realizado por profesionales pertenecientes a los Servicios de Cirugía Vascular y de Neumología en dependencia de si se tratase de TVP o TEP respectivamente y sin

---

tener conocimiento del resultado de los ACA. Cuando los pacientes son diagnosticados de ETEV, previamente al inicio de anticoagulación con heparina sódica endovenosa, se les ha realizado un estudio de hemostasia básico (cifra de plaquetas, tiempo de protrombina, tiempo de tromboplastina parcial activado y fibrinógeno) junto con determinación de antitrombina-III, plasminógeno funcionales y dímeros D.

En todos los pacientes se ha determinado la presencia de anticuerpos anticardiolipina (ACA) en el momento del diagnóstico de ETEV y, en 211 pacientes, al mes del inicio del cuadro y/o un mes después de concluir el tratamiento anticoagulante oral (4 ó 7 meses según se tratase de TVP o TEP respectivamente). La detección del AL ha sido realizada un mes después de suspender la anticoagulación. Ningún paciente presentaba en el momento de la determinación déficits congénitos de factores de la coagulación, presencia de anticoagulantes circulantes o coagulopatía de consumo que pudiesen alterar el resultado.

El control de anticoagulación ha sido realizado en nuestras consultas externas manteniendo INR (ratio internacional normalizada) entre 2,5 y 3,5. Todos los pacientes han sido valorados nuevamente por los Servicios de Cirugía Vascul ar y/o Neumología antes de suspender la anticoagulación. Una vez concluido el tratamiento anticoagulante oral, en todos los pacientes, se ha realizado estudio de hemostasia similar al realizado en el momento del diagnóstico y/o seguimiento. Además se ha determinado la proteína C y proteína S funcional.

A los pacientes que cumplían criterios de anticoagulación

---

permanente, el estudio de trombofilia se les ha realizado suspendiendo anticoagulación oral y sustituyéndola por heparina cálcica subcutánea durante un mes.

Los datos clínico-biológicos han sido guardados en forma de base de datos informatizada y con ellos se han realizado los estudios estadísticos para alcanzar los objetivos y comparar o rechazar las hipótesis planteadas.

El diseño del presente estudio es el de un estudio transversal que se continúa con uno de cohortes prospectivo. En este trabajo se emplean los datos observados en el momento del diagnóstico y la evolución de determinados parámetros biológicos.

## **2.- Muestra del estudio.**

### **2.1.- Criterios de inclusión.**

Están incluidos en el estudio todos aquellos pacientes diagnosticados por los Servicios de Cirugía Vascul ar y/o Neumología de ETEV mediante criterios clínicos (TVP: inflamación, edema y dolor simultáneamente del área afectada. TEP: disnea súbita), biológicos (gasometría arterial, dímeros D elevados sin otra causa que los explique) y/o pruebas complementarias (radiografía de tórax, electrocardiograma, eco-doppler venoso, flebografía, gammagrafía de V/P y/o DIVAS). Todos los pacientes sin diagnóstico objetivo de TVP requieren, para ser incluidos, clínica evidente y Dímeros D elevados. Los pacientes con TEP en los que no disponemos de pruebas diagnósticas objetivas requieren clínica evidente, Dímeros D elevados y, gasometría arterial y electrocardiograma compatibles.



Todos los pacientes han permanecido con anticoagulantes orales durante el tiempo correspondiente, en dependencia del tipo de evento trombótico, los factores de riesgo y la evolución clínica de la ETEV.

## **2.2.- Criterios de exclusión.**

Se excluyeron del estudio los pacientes con: 1) Lupus Eritematoso Sistémico (LES) o enfermedades autoinmunes relacionadas conocidas o diagnosticadas a raíz del episodio de ETEV por el Servicio de Medicina Interna, 2) antecedente de hepatopatía crónica o diagnosticados a partir del episodio de ETEV por presentar alteración de la función hepática (datos clínicos y biológicos) o por criterio anatomopatológico y 3) aquellos pacientes que iniciaron anticoagulación con heparina endovenosa pero a los que se les suspendió por no confirmarse el diagnóstico de ETEV.

## **3.- Procedimientos, técnicas y aparatos utilizados.**

### **3.1.- Recogida de datos.**

Todos los datos correspondientes a las variables objeto de estudio fueron consignados en una "hoja de recogida de datos" precodificada diseñada para este fin.

### **3.2.- Procesamiento de muestras.**

Las extracciones de sangre se han realizado en tubos con EDTA (para el conteo plaquetar), citrato sódico (para el estudio de hemostasia) y tubo vacutainer SST® con gel separador (para estudiar los ACA). Todas las determinaciones se han realizado en el

laboratorio de hematología y análisis clínicos del HUAV.

### **3.3.- Procedimientos y técnicas.**

Todas las técnicas realizadas por los aparatos de nuestro laboratorio están sujetas a controles de calidad internos de forma diaria y controles de calidad externos de forma periódica. Hemos determinado:

- Cifra de plaquetas: se ha realizado mediante sistema Coulter ONYX de laboratorios Izasa, Coulter JT3 de laboratorios Izasa o mediante sistema Technicon H-3 RTC <sup>TM</sup> de laboratorios Bayer.
- Tiempo de protrombina (TP), tiempo de trombina (TT), tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPA) y ratio de la TTPA: realizados por método coagulométrico mediante aparato Amax Amelung de laboratorios Movaco-D.Grifols o por medio de Amelung KC-40 de laboratorios Movaco-D.Grifols.
- Fibrinógeno: por método Clauss, mediante aparato Amelung KC-40 de laboratorios Movaco-D.Grifols y Amax Amelung de laboratorios Movaco-D.Grifols.
- Dímeros D: realizados mediante test inmunológico con aparato Nycocard-D Dimer de Nycomed-Pharma, S.A.
- Proteína C y proteína S funcionales: mediante tests coagulativos con aparato Amax Amelung de laboratorios Movaco-D.Grifols.
- Antitrombina III y plasminógeno funcionales: realizados por sustrato cromogénico mediante sistema Amax Amelung de laboratorios Movaco-D.Grifols.
- Los anticuerpos anticardiolipina (ACA): las determinaciones de ACA se han realizado mediante técnica de sandwich por ELISA con el "Kit-ACA formato líquido" de Menarini diagnósticos S.A..

Los pasos de la técnica se describen a continuación:

- \* Preparación de reactivos ACA IgG y/o IgM para obtención de 12 tiras: 60 ml de solución diluyente + 600 ml de tampón de lavado + 12 ml de reactivo IgG o 12 ml de reactivo IgM + 15 ml de volumen substrato + 10 ml volumen solución parada. Los componentes del kit se han mantenido a temperatura ambiente durante unos minutos antes de su utilización.
- \* Como solución diluyente se ha realizado diluciones de las muestras de los pacientes 1:100.
- \* Se han realizado 6 diluciones dobles de la solución estándar reconstituida.
- \* Se añaden por duplicado, 100  $\mu$ l de diluyente (blanco), estándares, muestras diluidas de los pacientes y controles negativos.
- \* Posterior incubación de las tiras durante 30 minutos a temperatura ambiente sobre superficie horizontal.
- \* Vaciamiento de pocillos y lavado cuatro veces con 200  $\mu$ l de tampón.
- \* Se añaden 100  $\mu$ l de reactivo ACA IgG y / o de ACA IgM y se incuban durante 30 minutos. Después se vacían los pocillos y se lavan 4 veces con 200  $\mu$ l de tampón.
- \* Se añaden rápidamente 100  $\mu$ l de substrato y se incuba en la oscuridad durante 30 minutos a temperatura ambiente. Durante este período, los pocillos que expresen positividad, viran a color amarillo. No se vacía el contenido de los pocillos al finalizar este paso.

- 
- \* Para frenar la reacción colorimétrica se añaden 50  $\mu$ l de Hidróxido sódico (NaOH) 3 Molar a todos los pocillos cuando la absorbancia óptica del estándar S1(puro, sin solución diluyente) se sitúa entre 1.0 - 1.3.
  - \* Lectura de la absorbancia óptica en la placa de un espectrofotómetro a 405 nm.
  - El anticoagulante lúpico (AL): la detección de AL se ha realizado mediante dos tests de screening: uno que utiliza reactivo sensibilizado frente al anticoagulante lúpico (PTT-LA de Boehringer-Mannheim) y otro que usa el tiempo de veneno de víbora de Russell diluido (DRVVT, Bioclot-LA de Menarini) y un test confirmatorio de neutralización plaquetar (Staclot-PNP de Boehringer-Mannheim).
  - \* El test de PTT-LA se ha realizado según Langdell et al. y Larrieu M.-J.,Weilland C. La TTPA del paciente debe ser comparada a la de un plasma testigo constituido por varios plasmas normales o "pool" de donantes de sangre, hombres y mujeres entre 18 y 55 años. En un tubo de hemólisis a 37 °C, se mezcla 0,1 ml de plasma (testigo o del paciente) con 0,1 ml de la PTT-LA homogeneizada y se incuba posteriormente durante 3 minutos. Se añade  $\text{Cl}_2\text{Ca}$  0,025 M preincubado a 37°C y mediante un cronómetro se anota el tiempo de coagulación.
  - \* El test de DRVVT (Bioclot-LA) se ha realizado de la siguiente forma: cada vial contiene 0,25 (g de veneno de víbora de Russell co-liofilizado con  $\text{Cl}_2\text{Ca}$  (0,025M) y fosfolípidos de cerebro de conejo. Se añaden 0,1 ml del plasma del paciente o plasma control y 0,2 ml de reactivo Bioclot-LA y se cronometra el tiempo

que tarda en coagular. Los tiempos de coagulación superiores al rango normal esperado se han retestado mezclando el plasma del paciente con plasma normal de la forma siguiente: 0,05 ml de plasma del paciente + 0,05 ml de plasma normal pool + 0,2 ml de reactivo Bioclot-LA y se cronometra el tiempo de coagulación.

\* El test de PNP (Staclot-PNP) se ha realizado ante la positividad o resultado dudoso de cualquiera de los dos tests de screening mencionados. Este test comprende 3 reactivos: reactivo 1, que contiene excipiente de control en comprimidos, reactivo 2, lisado plaquetar en comprimidos y, reactivo 3 que contiene cefalina adicional de un activador particular. En dos tubos de hemólisis a 37°C se realizan las mezclas especificadas en la siguiente tabla:

	Tubo 1	Tubo 2
Plasma del paciente	0,1 ml	0,1 ml
Reactivo 1	1 comprimido	----
Reactivo 2	----	1 comprimido
Mezclar e incubar	5 minutos	5 minutos
Reactivo 3	0,1 ml	0,1 ml
Mezclar e incubar	3 minutos	3 minutos
Añadir $Cl^2Ca$ 0,025 M	0,1 ml	0,1 ml
Mezclar y anotar el tiempo de coagulación de cada tubo		

Tabla 5. Metodología del test de PNP (Staclot-PNP).

- Controles: en 115 controles sanos, se han determinado los títulos de anticuerpos anticardiolipina en una ocasión con la misma técnica utilizada para los pacientes.

#### 4.- Interpretación de resultados.

- La cifra de plaquetas situada entre  $150$  y  $500 \times 10^9 / l$  es considerada normal. Hablamos de trombocitopenia con cifras  $< 150 \times 10^9 / l$  y de trombocitosis con cifras  $> 500 \times 10^9 / l$ .

- 
- El tiempo de protrombina: los pacientes que presentan porcentajes de funcionalidad inferiores al 70% o INR (ratio internacional normalizada)  $> 1,2$  se consideran que tienen tiempos de protrombina alargados; los valores situados entre el 70%-130% ó entre 1,2 y 0,85 de INR son considerados normales y, aquellos  $>$  al 130% ó  $<$  a 0,85 de INR son valores acortados.
  - El tiempo de trombina: el rango de normalidad se encuentra entre 3 segundos menos y 4 segundos más que el control. Valores superiores a 4 segundos respecto al control son tiempos alargados y los inferiores a 3 segundos respecto al control son acortados.
  - El tiempo de tromboplastina parcial activado (ratio TTPA): la ratio de la TTPA se obtiene del cociente entre TTPA del paciente en segundos y TTPA de la muestra control en segundos y, puede ser acortada (ratio de la TTPA inferior a 0,8), normal (ratio de la TTPA entre 0,8 y 1,2) o alargada (ratio de la TTPA superior a 1,2).
  - El fibrinógeno: los niveles de normalidad son expresados en gr/l y, se encuentran entre 2 y 4 gr/l.
  - La AT-III, el plasminógeno y la proteína C funcionales: los niveles de funcionalidad considerados normales para estas variables son superiores o iguales al 70%. Para la proteína S funcional hemos considerado normales los niveles de funcionalidad iguales o superiores al 65%. Los valores inferiores a la normalidad son considerados deficitarios cuando se confirman en una segunda determinación de diferente extracción y separada como mínimo un mes de la primera.
  - Los dímeros D: los niveles inferiores o iguales a 500  $\mu\text{g/l}$  son considerados normales. Niveles superiores son patológicos e

indicativos de formación de fibrina intravascular.

- Los anticuerpos anticardiolipina: el rango de normalidad para los isotipos de ACA según la técnica utilizada en nuestro laboratorio es: ACA IgG (13 GPL e ACA IgM 11 MPL). Se ha considerado como positividad para ACA IgG un nivel superior a 13 GPL y para ACA IgM un valor superior a 11 MPL (el límite superior para la normalidad se ha establecido calculando la media de los resultados obtenidos de 115 controles sanos más 3 desviaciones estándar, ya que el 98,3% de los valores obtenidos fueron inferiores a los 13 GPL para IgG y el 99,1% inferiores a 11 MPL para IgM). Los valores situados dentro del rango de normalidad se han considerado negativos. La precisión intra-ensayo se ha determinado analizando la misma muestra 15 veces y la precisión inter-ensayo analizando dos controles distintos en 16 diferentes ocasiones en que se realizó la técnica utilizando 4 lotes distintos. Los resultados de la precisión intra-ensayo fueron, para la IgG (media 5,8 GPL, 0,55 a 9,48) y para la IgM (media 4,9 MPL, 0,62 a 12,65) y los resultados referentes a la precisión inter-ensayo fueron, para la IgG (media 9,5 GPL, 1,00 a 10,52) y para la IgM (media 6,8 MPL, 0,53 a 7,79).
- El anticoagulante lúpico: los rangos de normalidad para nuestro laboratorio son: para el test de PTT-LA entre [34" - 43"] y para el DRVVT entre [45" - 67"]. Se considera patológico el alargamiento de estos tiempos cuando no se corrigen incubando la muestra con plasma normal. El test confirmatorio de neutralización plaquetar se ha considerado positivo cuando el tiempo de coagulación del tubo 2 es superior o igual a 8 segundos con relación al del tubo 1 según se describe en el apartado de la técnica.

## **5. Variables del estudio.**

En la hoja de recogida de datos se han registrado las siguientes variables:

### **5.1.- Identificación de los casos.**

El número de orden, nombre y apellidos de los pacientes y el número de historia clínica: son tres variables cualitativas que permiten identificar a cada paciente y acceder a los datos e información necesarios.

### **5.2.- Variables demográficas.**

5.2.1. Edad: variable cuantitativa que corresponde a la edad cronológica del paciente expresada como años cumplidos en el momento de la inclusión en el estudio. Consta de tres categorías que hacen referencia al grupo de edad inferior a 40 años, entre 40 y 59 años y mayor o igual a 60 años.

5.2.2. Edad de la primera ETEV: variable cuantitativa que hace relación a los años cumplidos por el paciente en el momento de ser diagnosticado de su primer episodio de trombosis venosa profunda y/o tromboembolismo pulmonar.

5.2.3. Sexo: variable cualitativa que puede tener dos categorías: hombre y mujer.



### **5.3.- Datos clínicos de los pacientes.**

5.3.1. ETEV: es una variable cuantitativa que define el número de pacientes que forman parte del estudio porque han sido diagnosticados mediante criterios clínicos, biológicos y pruebas complementarias de trombosis venosa profunda y/o tromboembolismo pulmonar.

5.3.2. Tipo de ETEV: variable cualitativa que puede tener tres categorías: TVP, TEP y TVP + TEP. Cada una de estas categorías describe el tipo de episodio trombótico que padecen los pacientes al diagnóstico de ETEV. En la última categoría coexiste el episodio de trombosis y tromboembolismo pulmonar.

5.3.3. Localización del episodio de TVP actual: variable cualitativa que hace referencia a la ubicación de la trombosis venosa profunda en el momento del diagnóstico, según se trate de las extremidades (EID,EII,EESS) u otras localizaciones venosas (venas yugular, subclavia, mesentérica, renal, cava, etc.). También hace referencia a los pacientes en que coexisten varias localizaciones. No define la localización del TEP.

5.3.4. ETEV previa: se trata de una variable cualitativa que hace referencia a cualquier evento trombótico (TVP y/o TEP) que hubiesen padecido los pacientes previamente al diagnóstico de ETEV actual. Obtenida mediante los mismos criterios diagnósticos que definen el episodio de ETEV actual. Forma parte de los factores de riesgo para posteriores episodios de ETEV.

5.3.5. Número de episodios de ETEV previa: variable cuantitativa

que define la cantidad de episodios de ETEV previa al actual que han padecido los pacientes. La coexistencia de TVP y TEP en un mismo paciente se ha considerado un episodio único.

5.3.6. Tiempo de recidiva de la ETEV: variable cualitativa que hace referencia al tiempo que ha transcurrido desde el primer episodio de ETEV que padecieron los pacientes hasta el episodio de ETEV actual. Está constituida por tiempo de recidiva inferior a 1 año y tiempo de recidiva igual o superior a 1 año.

5.3.7. Factores de riesgo de ETEV: es una variable cuantitativa que se compone de varias categorías y que hace referencia a aquellas situaciones conocidas y aceptadas actualmente que predisponen a un mayor riesgo de ETEV:

- Edad mayor o igual a 65 años: corresponde al número de pacientes cuya edad cronológica en el momento del episodio de ETEV es igual o superior a 65 años.
- Tabaquismo: forman parte de esta categoría el número de pacientes que han fumado al menos 10 cigarrillos diarios como mínimo desde un año antes del diagnóstico de ETEV.
- Encamamiento: son todos aquellos pacientes que han permanecido encamados al menos las 48 horas previas al episodio de ETEV.
- Cirugía: categoría que representa el número de pacientes que desde la realización del acto quirúrgico hasta 4 semanas después del mismo han sido diagnosticados de ETEV.
- Enfermedad varicosa: define los pacientes que mediante criterio clínico o radiológico estaban diagnosticados de varices (dilatación de venas superficiales) o varicoflebitis.

- 
- Tratamiento hormonal: hace referencia al número de mujeres que tomaban anticonceptivos hormonales.
  - Embarazo: hace referencia a todas las mujeres que durante el embarazo o en el puerperio (3 meses post-parto) han presentado ETEV.
  - ETEV previa: variable definida con anterioridad.
  - Politraumatismo: define el número de pacientes con al menos dos fracturas traumáticas que presentan ETEV en el momento del traumatismo o hasta 4 semanas después del mismo.
  - Enfermedades predisponentes a ETEV: es una categoría que engloba todas aquellas patologías que presentan los pacientes y que son un factor de riesgo conocido de ETEV. Define el número de pacientes que tienen antecedentes o han sido diagnosticados de estas enfermedades en el momento del ETEV:
    - Cardiopatía: hace referencia al número de pacientes que presentan alguna de las siguientes enfermedades cardíacas: cardioesclerosis, miocardiopatía dilatada o hipertrófica, cardiopatía isquémica, insuficiencia cardíaca, fibrilación auricular y/o valvulopatía.
    - Neumopatía: incluye esta patología a los pacientes con enfermedad pulmonar crónica (obstructiva y/o restrictiva).
    - Neuropatía: se refiere al número de pacientes diagnosticados de accidente cerebral vascular (isquémico o hemorrágico) y/o polineuropatía sensitivo-motora.
    - Infecciones: hace referneicia al número de pacientes que en el momento del diagnóstico de ETEV presentaban episodios infecciosos como neumonía, endocarditis, pericarditis, peritonitis, tuberculosis pulmonar, absesos, etc.

- 
- Neoplasias: este grupo incluye el número de pacientes con antecedentes de enfermedad neoplásica de cualquier órgano. No se han excluido a los pacientes con remisiones completas de estas enfermedades.
  - Síndromes mieloproliferativos: el número de pacientes con enfermedades mieloproliferativas como policitemia vera y trombocitemia esencial.
  - Nefropatía: se trata de aquellos pacientes que han sido diagnosticados de insuficiencia renal crónica, independientemente de la causa de ésta.
  - Arteriopatía: hace referencia a aquellos pacientes diagnosticados de angiopatía secundaria a arteriopatía esclerosa o a diabetes mellitus (tanto en tratamiento con insulina como con antidiabéticos orales).
  - Otras enfermedades: con esta denominación se engloba a un grupo de pacientes diagnosticados de paraproteinemia, plasmocitoma, artropatía degenerativa...

5.3.8. Número de factores de riesgo de ETEV: variable cuantitativa que representa la cantidad de factores de riesgo que tiene el paciente para padecer ETEV.

5.3.9. Número de enfermedades predisponentes a ETEV: variable cuantitativa que representa la cantidad de enfermedades predisponentes que tiene el paciente para padecer ETEV.

5.3.10. Antecedentes familiares de ETEV: variable cuantitativa que hace referencia a aquellos pacientes con familiares de primer grado que hubiesen presentado algún episodio de enfermedad

tromboembólica venosa documentada con métodos objetivos.

#### **5.4.- Datos biológicos.**

5.4.1. Hemostasia básica: variable constituida de varias categorías y estudiada en el momento del diagnóstico de ETEV, previamente a iniciar anticoagulación y un mes después de concluido el tratamiento anticoagulante:

- Cifra de plaquetas: se trata de una variable cuantitativa expresada en número de plaquetas  $\times 10^9/l$  a partir de la cual se obtienen tres categorías que definen el número de pacientes que presentan cifras de plaquetas normales, bajas (trombocitopenia) o elevadas (trombocitosis).
- Tiempo de protrombina (TP): es una variable cuantitativa expresada en porcentaje que se convierte en cualitativa al definir el número de pacientes con tiempo de protrombina normal, acortado o alargado.
- Tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPA): variable cuantitativa expresada en segundos. Define la ratio de la TTPA que es una variable cualitativa que consta de tres categorías: ratio de la TTPA acortada, normal y alargada.
- Fibrinógeno: variable cuantitativa expresada en gr/l. Define el número de pacientes con niveles de fibrinógeno normales, elevados o descendidos.

5.4.2. Tiempo de trombina (TT): se trata de una variable cuantitativa expresada en segundos que se convierte en cualitativa al definir el número de pacientes con TT normal, alargada o acortada.

5.4.3. Dímeros D (DD): variable cuantitativa determinada por test

---

inmunológico en el momento del diagnóstico de ETEV y que forma parte de los datos diagnósticos de ETEV.

5.4.4. Proteína C (PC) y proteína S (PS) funcionales: son dos variables cuantitativas que indican la funcionalidad, expresada en porcentaje, de proteína C y proteína S que presentan los pacientes. Se han determinado un mes después de que los pacientes finalizaran el tratamiento anticoagulante.

5.4.5. Antitrombina-III y plasminógeno funcionales: son variables cuantitativas expresadas en porcentaje de AT-III y plasminógeno que presentan los pacientes. Se han estudiado previamente a iniciar anticoagulación y un mes después de concluido el tratamiento anticoagulante.

5.4.6. Déficits de proteínas inhibidoras de la coagulación: proteína C, proteína S y antitrombina III. Son variables cualitativas que definen el número de pacientes que presentan niveles de funcionalidad inferiores a los considerados normales, confirmados en dos ocasiones y habiendo descartado la existencia de alteración de la síntesis hepática u otras causas que los justifiquen.

5.4.7. Anticuerpos anticardiolipina: representa una variable cualitativa con dos categorías, ACA positivo y ACA negativo. Cada una de estas categorías consta de dos subcategorías que hacen referencia al isotipo de ACA estudiado (ACA IgG o ACA IgM):

- ACA positivo: hace referencia al número de determinaciones positivas para dicho anticuerpo, ACA positivo isotipo IgG (determinaciones positivas para el isotipo ACA IgG) y ACA

positivo isotipo IgM (determinaciones positivas para el isotipo ACA IgM).

- ACA negativo: representa el número de determinaciones negativas para dicho anticuerpo, ACA negativo isotipo IgG (determinaciones negativas para el isotipo ACA IgG) y ACA negativo isotipo IgM (determinaciones negativas para el isotipo ACA IgM).
- Controles ACA positivos y negativos: definidos teniendo en cuenta las mismas consideraciones.

5.4.8. Paciente ACA positivo: variable cuantitativa que hace referencia al número de pacientes con ETEV que presentan alguna determinación de ACA positiva. Consta de dos subtipos en dependencia del isotipo de ACA positivo: pacientes ACA IgG positivos y pacientes ACA IgM positivos.

5.4.9. Paciente ACA negativo: variable cuantitativa que hace referencia al número de pacientes con ETEV que presentan todas las determinaciones de ACA negativas. Consta de dos subtipos en dependencia del isotipo de ACA negativo: pacientes ACA IgG negativos y pacientes ACA IgM negativos.

5.4.10. Epifenómeno para ACA: se trata de una variable cualitativa estudiada en los pacientes a los que se les ha realizado más de una determinación de ACA (211pacientes); se ha considerado que un paciente presenta una positividad de los ACA como epifenómeno cuando esta positividad coincide con el episodio de ETEV y se negativizan los valores posteriormente. Consta de dos categorías: epifenómeno para ACA IgG y epifenómeno para ACA IgM en

---

dependencia del isotipo estudiado.

5.4.11. No epifenómeno para ACA: variable cualitativa estudiada en los pacientes a los que se les ha realizado más de una determinación de ACA (211 pacientes) y, que se compone de dos categorías:

5.4.11.1.- Positividad permanente de ACA: hace referencia al número de pacientes que mantienen positivos los ACA en todas las determinaciones realizadas. A su vez, puede dividirse en positividad permanente para ACA IgG o para ACA IgM en dependencia del isotipo estudiado.

5.4.11.2. Positividad transitoria de ACA: describe el número de pacientes cuyos ACA han sido negativos en el momento del episodio tromboembólico y se han positivizado posteriormente. A su vez, puede dividirse en positividad transitoria para ACA IgG o ACA IgM en dependencia del isotipo estudiado.

5.4.12. Títulos de ACA: es una variable cuantitativa que define la media de los niveles de anticuerpos anticardiolipina que presentan los pacientes que tienen más de una determinación de ACA realizada (211 pacientes). Está constituida por tres categorías:

- Títulos de ACA en pacientes con positividad de epifenómeno: describe la media de los títulos de ACA que presentan los pacientes afectados del epifenómeno. En esta variable se estudia la media de los niveles de ambos isotipos de ACA (IgG e IgM) por separado.
- Títulos de ACA en pacientes con positividad permanente: define la media de los títulos de ACA que presentan los pacientes con positividad permanente. Esta variable estudia la media de los



niveles de ambos isotipos de ACA (IgG e IgM) por separado.

- Títulos de ACA en pacientes con positividad transitoria: se refiere a la media de los títulos de ACA que presentan los pacientes con positividad transitoria. Esta variable estudia la media de los niveles de ambos isotipos de ACA (IgG e IgM) por separado.

5.4.13. Anticoagulante lúpico: variable cualitativa determinada por test coagulométricos que define a los pacientes que son positivos para dicho anticuerpo. La positividad viene definida por el resultado del test de neutralización plaquetar (Staclot-PNP). Se considera que un paciente presenta AL cuando el resultado de dicho test es positivo.

## **6.- Base de datos, tratamiento de la base de datos.**

Toda la información recopilada de los casos se ha almacenado en una base de datos matricial e informatizada. Se ha empleado un sistema de filas y columnas capaz de ser leído por el programa informático SPSS/PC + con el que se ha realizado el estudio estadístico; se ha utilizado el procedimiento REVIEW del programa SPSS/PC +, donde cada caso dispone de 1 fila y columnas para introducir información y en función de la posición de la misma en la matriz de datos representa el valor de una variable determinada.

## **7.- Estudio estadístico de los resultados.**

El estudio estadístico de los resultados se ha realizado con la ayuda de diversos programas informáticos (SPSS/PC). El empleo de uno u otro método estadístico depende del tipo de variables estudiadas y del cumplimiento de determinadas condiciones de aplicación de las pruebas. Para el estudio estadístico se han utilizado

métodos uni y bivalentes para la comparación de variables cualitativas y/o cuantitativas. El nivel de significación bilateral se considerará en  $p < 0,05$ .

Los métodos estadísticos utilizados más frecuentemente son los siguientes:

7.1.- Comparación de variables cualitativas: para el estudio estadístico de la relación entre variables cualitativas se ha empleado una prueba de independencia de  $X^2$ . Cuando los efectivos calculados eran cercanos a 5 y alguna de las variables tenía más de 2 categorías se ha utilizado la prueba de  $X^2$  con la corrección de Yates. Si los efectivos calculados eran inferiores a 5 o el número total de casos inferior a 20 en una tabla de 2 x 2 se ha empleado la prueba exacta de Fischer.

7.2.- Comparación de variables cualitativas y cuantitativas: Kruskal-Wallis que es una prueba no paramétrica para la comparación de 2 o más medias. En el caso de que se cumplieran las condiciones de aplicación se ha utilizado el análisis de la varianza.

7.3.- Comparación de variables cuantitativas: para el estudio de relación entre variables cuantitativas se han empleado modelos de regresión lineal simple.

Tipos de variables	Pruebas estadísticas
Cualitativa/Cualitativa	Prueba de independencia de $X^2$ Prueba exacta de Fischer(tablas 2x2)
Cualitativa/Cuantitativa	Comparación de K medias: Prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis
Cuantitativa/Cuantitativa	Regresión lineal

Tabla 6. Pruebas utilizadas en el estudio estadístico.

## Resultados

## IV.- RESULTADOS

### A.- Resultados I. Estadística descriptiva univariante.

#### 1.- Edad y sexo.

##### 1.1.- Edad.

La edad media de los pacientes estudiados es de 63 años, con una desviación estándar (DS) de 16 años. La varianza es de 249,66. El valor mínimo es de 18 años y el máximo de 98 años.

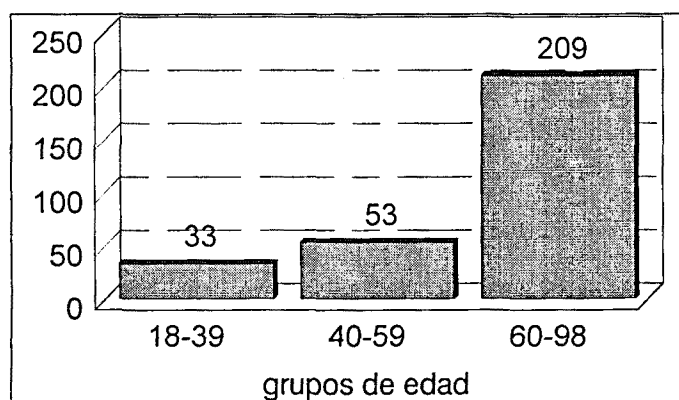


Gráfico 5. Distribución de los pacientes según el grupo de edad.

##### 1.2.- Sexo.

De los 295 pacientes estudiados, la ratio hombre/mujer es de 1,3: 167 son hombres y 128 son mujeres.

#### 2.- Presentación clínica.

##### 2.1.- Tipo de ETEV.

181 pacientes (61,3%) presentan TVP; 45 pacientes (15,3%) TEP y 69 pacientes (23,4%) padecen TVP + TEP.

## 2.2.- Localización de la ETEV.

La mayoría de pacientes (212 pacientes) presentan la TVP en extremidades inferiores, lo que corresponde al 84,8%. 8 pacientes (3,2%) en extremidades superiores. Otras localizaciones más infrecuentes como venas yugulares, subclavias, renales, oculares, mesentéricas y cerebrales representan el 5,6% de los casos (14 pacientes). 16 pacientes (6,4%) tienen más de una localización afectada de trombosis en el momento del diagnóstico.

## 2.3.- Antecedentes previos de ETEV.

La edad media de los pacientes que presentan antecedentes de ETEV es de 60,6 con una desviación estándar de 14,2, el valor mínimo es de 30 y el máximo de 83. La ratio hombre/mujer es de 1,2: 27 son hombres y 22 son mujeres. 49 pacientes (16,6%) tienen historia de ETEV previa y 10 pacientes habían presentado más de un episodio de ETEV previa.

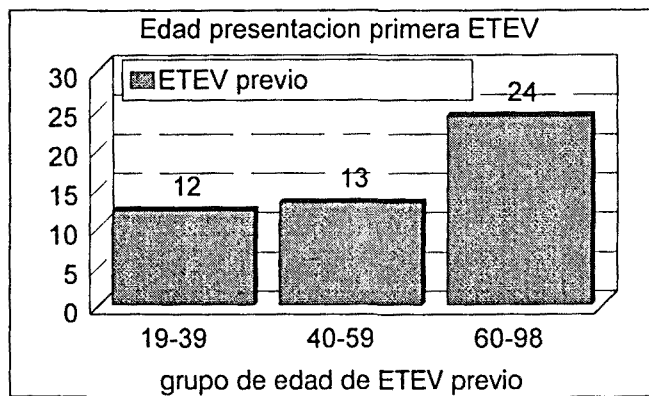


Gráfico 6. Distribución de los pacientes según la edad de presentación del primer episodio de ETEV.

La media de edad del primer episodio de ETEV es de  $55,9 \pm 15,2$  años (mínimo de 24, máximo de 82). 24 pacientes (49%) tenían más de 60 años al diagnóstico del primer episodio de ETEV. 25 pacientes

(51%) tenían menos de 60 años cuando se diagnosticó el primer episodio de ETEV y, de estos 25 pacientes, 12 tenían menos de 40 años.

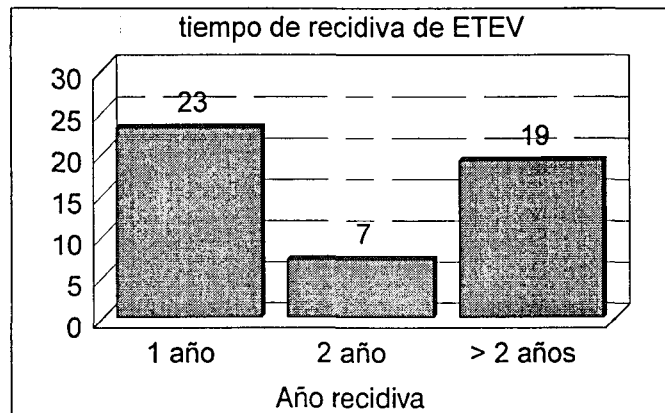


Gráfico 7. Distribución de los pacientes según el tiempo de recidiva de la ETEV.

De los 49 pacientes con ETEV previa al episodio actual, 30 pacientes (61%) habían presentado el episodio previo 2 años antes como máximo y, de estos, 23 lo presentaron 1 año antes del episodio actual. De estos últimos 23 pacientes, 10 (43,5%) presentan títulos de ACA positivos.

#### 2.4.- Antecedentes familiares de ETEV.

16 pacientes (5,4%) presentan algún familiar de primer grado con antecedentes de ETEV. De estos 16 pacientes, sólo 2 pacientes (12,5%) presentan déficit de proteínas inhibidoras de la coagulación.

#### 2.5.- Enfermedades predisponentes para ETEV.

111 pacientes no presentan ninguna enfermedad asociada en el momento del estudio. El resto de pacientes, se han diagnosticado por orden de frecuencia de las siguientes patologías: neoplasias, cardiopatías, neumopatías, arteriopatías, infecciones, neuronafías

nefropatías, síndromes mieloproliferativos crónicos (SMPCr) y, otras.

ENFERMEDADES ASOCIADAS	Número pacientes	Porcentaje
ninguna	111	38
neoplasias	56	19
cardiopatía	54	18
neumopatía	48	16
arteriopatía	39	13
infecciones	19	7
neuropatía	17	6
nefropatía	9	3
sdr. mieloproliferativo crónico	5	2
otras	22	8

Tabla 7. Tipo de enfermedades predisponentes a ETEV.

184 pacientes (62,4%) presentan al menos una enfermedad que predispone a ETEV. 112 pacientes (38%) presentan una enfermedad, 59 (20%) presentan dos y 13 (4,4%) presentan 3 enfermedades asociadas.

#### 2.6.- Factores de riesgo de ETEV.

FACTORES de RIESGO	Número pacientes	Porcentaje pacientes
ninguno	10	3,4
enfermedades predisponentes	184	62,4
edad > 65 años	168	57
encamamiento	129	43,7
postcirugía	81	27,5
ETEV previa	49	16,6
tabaco	48	16,3
insuficiencia venosa	30	10,2
traumatismo	11	3,7
tratamiento hormonal	10	3,4
embarazo	3	1

Tabla 8. Tipo de factores de riesgo que predisponen a ETEV.

285 pacientes (96,6%) presentan algún factor de riesgo que predispone a ETEV, siendo la edad superior a 65 años, la presencia de enfermedades predisponentes y el encamamiento los más

frecuentes.

El 80% de los pacientes presentan 2 o más factores de riesgo: 96 pacientes (32,6%) presentan dos factores de riesgo, 91 pacientes (31%) tres, 42 pacientes (14,2%) cuatro y 6 pacientes (2%) cinco factores de riesgo.

### 3.- Diagnóstico de la ETEV.

En 232 pacientes (79%) el diagnóstico de ETEV se ha realizado mediante pruebas objetivas. En los 63 pacientes restantes (21%) el diagnóstico se ha basado en criterios clínico-biológicos estrictos: clínica evidente, dímeros D aumentados junto con gasometría arterial y electrocardiograma compatibles en caso de TEP.

Diagnóstico	TVP	TEP	TVP+TEP	TOTAL
Clínico/Biológico	181	45	69	295
Eco-doppler	113		27	140
Flebografía	50		37	87
Gammagrafía V/P		19	23	42
DIVAS		1	6	7

Tabla 9.- Distribución de los pacientes según el método diagnóstico de ETEV.

### 4.- Datos biológicos.

#### 4.1. Obtenidos en el momento agudo de la ETEV.

- Cifra de plaquetas (disponibles en 285 pacientes): 235 pacientes (82,5%) presentan cifra de plaquetas dentro de los valores normales, 16 pacientes presentan trombocitosis. En 34 pacientes (11,9%) se detecta trombocitopenia y, de éstos, en 30 (88%) es discreta (cifra de plaquetas entre 100 y 140 x 10<sup>9</sup>/l). Sólo 4 pacientes presentan cifras de plaquetas inferiores a 100 x 10<sup>9</sup>/l.
- Tiempo de protrombina (disponible en 285 pacientes): el 92% de



los pacientes a los que se les ha determinado el TP presentan valores dentro de los rangos normales. Sólo en 12 pacientes (4,2%) objetivamos T.P alargados y en 11 pacientes (3,8%) TP acortados.

- TTPA (disponible en 292 pacientes): 231 pacientes (79,1%) presentan la TTPA normal, 50 pacientes (17,1%) TTPA acortada y, tan solo 11 pacientes (3,8%) la presentan alargada. No hemos detectado la existencia de un AL en ningún paciente con TTPA alargada.
- Fibrinógeno (disponible en 284 pacientes): 106 pacientes (37,3%) a los que se les ha determinado el fibrinógeno funcional presentan valores elevados y, en sólo un 2,1% (6 pacientes) se detecta fibrinógeno descendido.
- Dímeros D: de los 186 pacientes a los que se les ha determinado Dímeros D (DD), 133 (71,5%) los presentan positivos. De estos 133 pacientes, 43 (32,3%) tienen valores entre 500 y 1000  $\mu\text{g/l}$ , 63 (47,4%) entre >1000 y 4000  $\mu\text{g/l}$  y 27 pacientes (20,3%) superiores a 4000  $\mu\text{g/l}$ . De los 53 pacientes que presentan los DD negativos, 21 (39,6%) tienen la determinación realizada estando anticoagulados con heparina durante al menos 24 horas.

Determinación	Media	D.S.	Mínimo	Máximo	número
Plaquetas	255000	124607	66000	1221000	285
Ratio TTPA	0.9207	0.1500	0.5700	1.3300	292
Fibrinógeno	4.3323	1.6924	1.7400	10.3400	284
Dímeros D	3.1113	5.2878	500	32.000	186

Tabla 10. Medias de los valores de las variables biológicas.

#### 4.2. Obtenidos al realizar el estudio de trombofilia.

- Proteína C, S, AT-III, Plasminógeno: 16 pacientes (5,4%) presentan algún déficit de proteínas inhibidoras de la coagulación. 13 se deben al déficit de proteína C, y 3 al déficit de

proteína S. Ningún paciente ha presentado otro tipo de déficit. De estos 16 pacientes, 5 (31%) presentan ACA positivos.

## 5.- Anticuerpos anticardiolipina.

### 5.1.- Controles.

De los 115 casos, 113 (98,3%) presentan ACA IgG negativos, y sólo 2 casos (1,7%) presentan ACA IgG positivos; 114 casos (99,1%) presentan negatividad para ACA IgM y 1 (0,9%) es positivo. La media de los títulos de anticuerpos anticardiolipina IgG e IgM en los controles es de 7,8 GPL y 5,8 MPL (rango: 0,75 a 10 GPL y 0,55 a 8 MPL respectivamente). El 95 percentil de los títulos de ACA IgG e IgM en el grupo control más 3 desviaciones estándar (DS) es de 13 GPL y 11 MPL respectivamente.

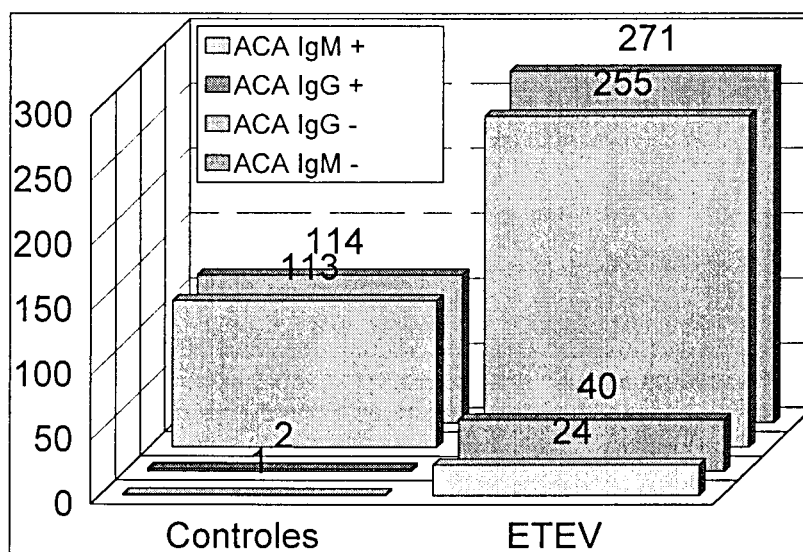


Gráfico 8. Distribución de los pacientes y de los controles según la positividad de ambos isotipos de ACA.

### 5.2.- Pacientes.

De los 295 pacientes con ETEV a los que se les ha realizado determinación de ACA, 243 pacientes (82,3%) presentan negatividad para ACA, 28 pacientes (9,5%) presentan positividad para ACA IgG, 12 pacientes (4,1%) positividad para ACA IgM y, 12 pacientes (4,1%) para ACA IgG y ACA IgM simultáneamente. La media de los títulos de ACA IgG e IgM en los pacientes es de 8,44 GPL y 5,86 MPL (rango: 3 a 200 GPL y 3 a 91,5 MPL respectivamente).

### 5.3.- Resultados de los ACA.

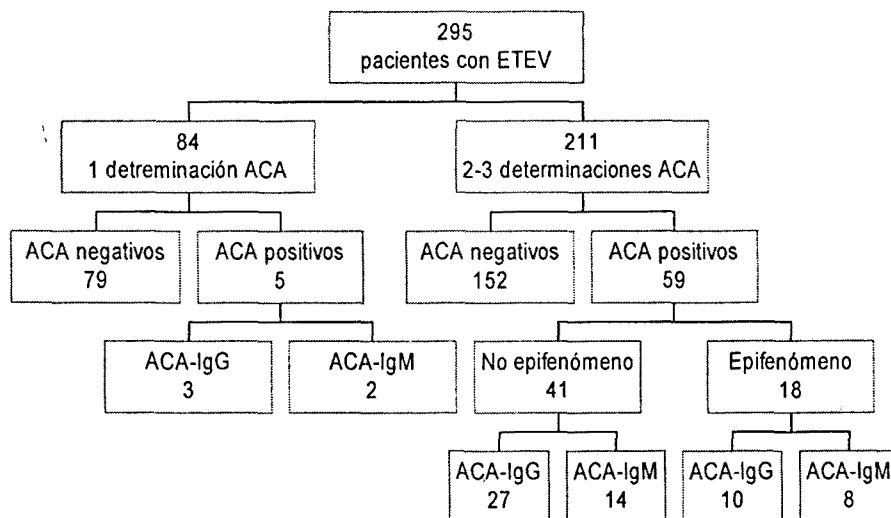


Gráfico 9. Distribución de los pacientes según el número de determinaciones de ACA realizadas, de su positividad o negatividad, de los isotipos de ACA estudiados y de los conceptos predefinidos en el apartado pacientes y métodos (epifenómeno y no epifenómeno).

Para estudiar la evolución natural de los anticuerpos anticardiolipina a lo largo del tiempo, valoramos un total de 211 pacientes que tienen realizada más de una determinación. De este grupo de pacientes, 59 han presentado alguna determinación positiva para ACA: 37 para ACA IgG (17,5%) y 22 para ACA IgM (10,4%).

Valorando el curso evolutivo de los ACA en cada paciente de forma individualizada, y teniendo en cuenta el concepto de epifenómeno y no epifenómeno descrito en pacientes y métodos, objetivamos que:

- De los 37 pacientes positivos para ACA IgG, 10 (27%) se comportan como epifenómeno y 27 (73%) como no epifenómeno.
- De los 22 pacientes positivos para ACA IgM, 8 (36,4%) se comportan como epifenómeno y 14 (63,6%) como no epifenómeno.

#### 5.4.- Títulos de anticuerpos anticardiolipina.

De los 211 pacientes estudiados, las medias de los títulos de todas las determinaciones realizadas a cada paciente son las que se muestran a continuación:

	Títulos ACA IgG			
	media	DS	mínimo	máximo
negatividad	4,5	1,5	2,6	10,7
positividad	31,3	42	7,5	208,6

Tabla 11. Media de los títulos de ACA IgG en dependencia de su positividad o negatividad.

	Títulos ACA IgM			
	media	DS	mínimo	máximo
negatividad	4,2	1,6	,00	9,9
positividad	17,1	19,4	6,2	98,7

Tabla 12. Media de los títulos de ACA IgM en dependencia de su positividad o negatividad.

Los resultados de la media de los títulos de ambos isotipos de ACA se muestran en el gráfico siguiente.

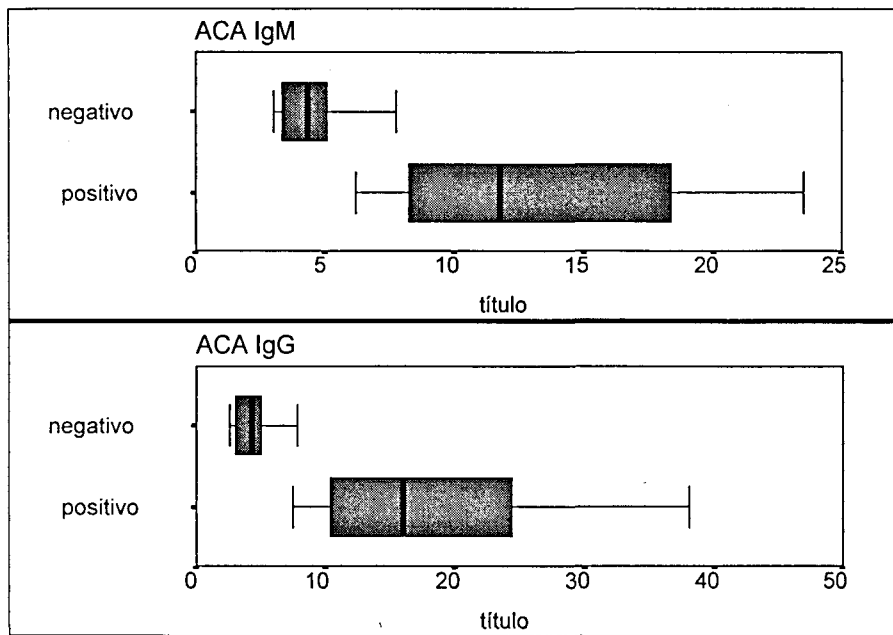


Gráfico 10. Media de los títulos de ambos isotipos de ACA según su positividad o negatividad.

## B.- Resultados II. Estudio estadístico analítico. Comparaciones previas.

Hemos realizado en los pacientes con ETEV las siguientes comparaciones:

### 1.- Distribución de los resultados de las variables demográficas en función de los parámetros clínicos y biológicos de la ETEV.

Los pacientes con antecedentes familiares de ETEV, fumadores, en tratamiento anticonceptivo, embarazadas y con antecedentes de politraumatismo tienen una edad media significativamente inferior y aquellos de mayor edad padecen con más frecuencia enfermedades predisponentes a ETEV y arteriopatía. El resto de comparaciones no han mostrado diferencias significativas entre los grupos.

CATEGORIAS	EDAD (MEDIA)	(P)
ETEV familiar sí	46.5	0.005
ETEV familiar no	64.01	
tabaco sí	57.0208	0.004
tabaco no	64.2348	
enferm.asociada sí	66.6467	<0.0001
enferm.asociada no	57.1171	
TTO hormonal sí	46.3000	0.0078
TTO hormonal no	63.6491	
embarazo sí	28.3333	0.0069
embarazo no	63.4178	
traumatismo SI	47.8182	0.0139
traumatismo NO	63.6514	
arteriopatía SI	67.9487	0.038
arteriopatía NO	62.3164	

Tabla 13. Factores de riesgo para ETEV en dependencia de la edad.

En cuanto a la distribución del sexo en las variables estudiadas sólo hemos de destacar los siguientes resultados significativos. La proporción de fumadores es significativamente superior en los

hombres que en las mujeres ( $p < 0,001$ ). Las mujeres con ETEV padecen con mayor frecuencia enfermedades neoplásicas ( $p = 0,009$ ) que los hombres.

## **2.- Estudio bivariante de los parámetros clínicos entre sí.**

La comparación de las variables clínicas entre sí, ha objetivado las siguientes diferencias significativas:

Los pacientes que han sido intervenidos quirúrgicamente presentan mayor número de factores de riesgo ( $p < 0,001$ ), se encuentran más encamados ( $p < 0,001$ ) y han sufrido politraumatismo con más frecuencia ( $p = 0,04$ ) que los pacientes no intervenidos quirúrgicamente.

Los pacientes que fuman presentan arteriopatía ( $p = 0,03$ ) y mayor número de factores de riesgo para etev ( $p < 0,001$ ) que los pacientes que no fuman.

El resto de comparaciones clínicas bivariantes no ha demostrado diferencias significativas.

## **3.- Resultados de los parámetros biológicos en función de los parámetros clínicos de la ETEV.**

No se ha encontrado ninguna diferencia significativa entre los resultados de los parámetros biológicos de laboratorio estudiados (cifra de plaquetas, T.P, ratio de la TTPA, fibrinógeno, Dímeros D y déficit de proteínas inhibidoras de la coagulación) y el tipo de ETEV, el número de localizaciones de ETEV, antecedentes personales o familiares de ETEV previo y presencia de factores de riesgo de ETEV.

---

### **C.- Resultados III. Estudio estadístico. Anticuerpos anticardiolipina.**

#### **1. Distribución de la positividad de los ACA en controles y pacientes.**

3 sujetos del grupo control (2,6%) son positivos para ACA (2 sujetos para ACA IgG y 1 sujeto para ACA IgM).

- Comparación considerando cualquier determinación de ACA.

De los 295 pacientes con ETEV, 52 (17,6%) son positivos: 40 pacientes (13,5%) para ACA IgG y 24 pacientes (8,1%) para ACA IgM. El porcentaje de sujetos ACA positivos en los pacientes con ETEV es significativamente superior ( $p < 0,001$ , OR: 14,39) al del grupo control.

- Comparación considerando la primera determinación de ACA.

De los 295 pacientes que tienen la 1ª determinación de ACA realizada, 48 (16,3%) son positivos: 32 (10,8%) para ACA IgG y 16 (5,5%) para ACA IgM. El porcentaje de sujetos con ACA positivos en los pacientes con ETEV es significativamente superior ( $p < 0,001$ , OR: 7,25) al del grupo control.

- Comparación considerando la segunda determinación de ACA.

De los 146 pacientes que tienen la 2ª determinación de ACA realizada, 35 (23,9%) son positivos: 23 (15,7%) para ACA IgG y 12 (8,2%) para ACA IgM. El porcentaje de sujetos ACA positivos en los pacientes con ETEV es significativamente superior ( $p < 0,001$ , OR: 11,77) al del grupo control.



- Comparación considerando la tercera determinación de ACA.

De los 171 pacientes que tienen la 3ª determinación de ACA realizada, 15 (8,7%) son positivos: 10 (5,8%) para ACA IgG y 5 (2,9%) para ACA IgM. El porcentaje de sujetos ACA positivos en los pacientes con ETEV es significativamente superior ( $p < 0,02$ , OR: 3,58) al del grupo control.

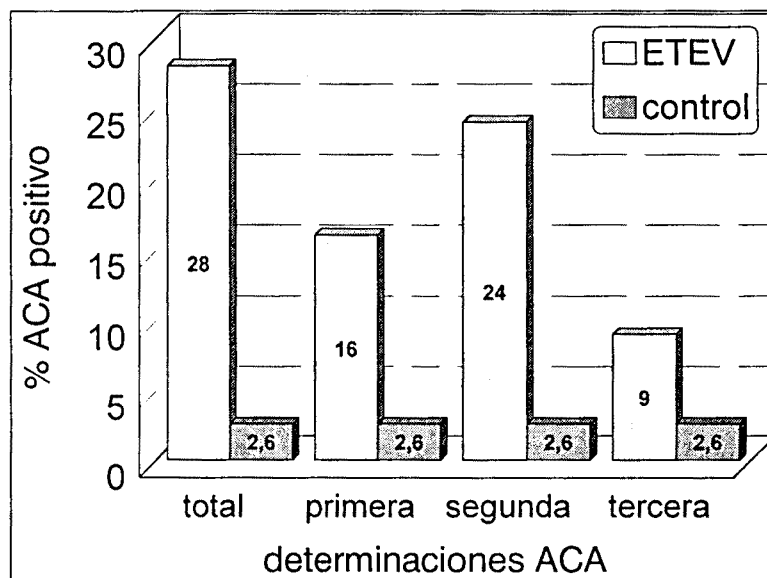


Gráfico 11. Distribución de los pacientes y controles positivos para ACA en función del momento en que se ha realizado la determinación.

De estos resultados estadísticos se deduce que independientemente del momento en que se realice la determinación de los ACA, éstos son más frecuentes en los pacientes con ETEV que en el grupo control.

## 2.- Comparación entre los dos isotipos de ACA.

El isotipo ACA IgG es significativamente más frecuente que el isotipo ACA IgM, como se muestra en la siguiente tabla:

		ACA	
		POSITIVO	NEGATIVO
ISOTIPO	ACA IgG	37	174
	ACA IgM	22	189
		p=0,0244	

Tabla 14. Distribución de los pacientes según el isotipo de ACA.

## 3.- Comparación de los ACA con el resto de variables.

### 3.1.- Sexo y edad:

		ACA IgG		ACA IgM	
		Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
Sexo	Hombre	22	145	14	153
	Mujer	18	110	10	118
		p=0,82		p=0,85	
Edad **	<40 años	8	25	7	26
	40-59	5	48	4	49
	=>60	27	182	13	196
		p=0,049		p=0,003	

Tabla 15.\*\* p resultado de la comparación del porcentaje de pacientes ACA positivo entre el grupo de edad inferior a 40 años y el resto de pacientes.

La positividad para ACA IgG e IgM no está relacionada con el sexo. Observamos que los pacientes menores de 40 años presentan una mayor proporción de ACA positivos para ambos isotipos que el grupo de edad superior a 40 años.

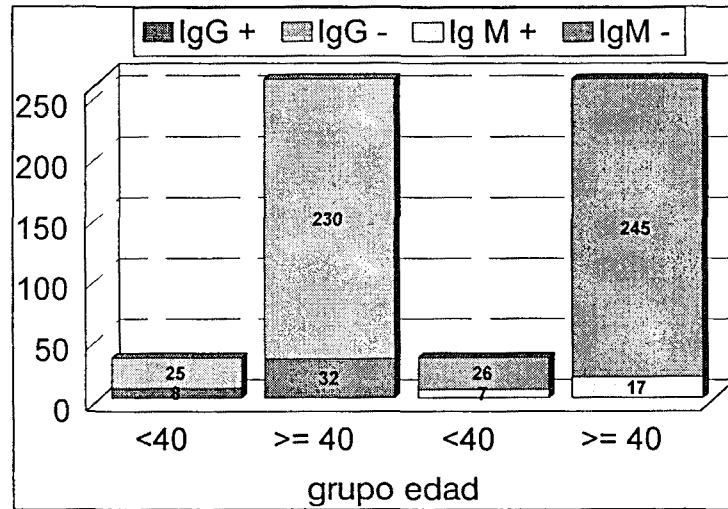


Gráfico 12. Distribución de los pacientes positivos y negativos para ambos isotipos de ACA en función de su grupo de edad.

Si estudiamos la media de los títulos de ACA de los 47 pacientes positivos que presentan más de una determinación en relación con la edad del primer episodio de ETEV:

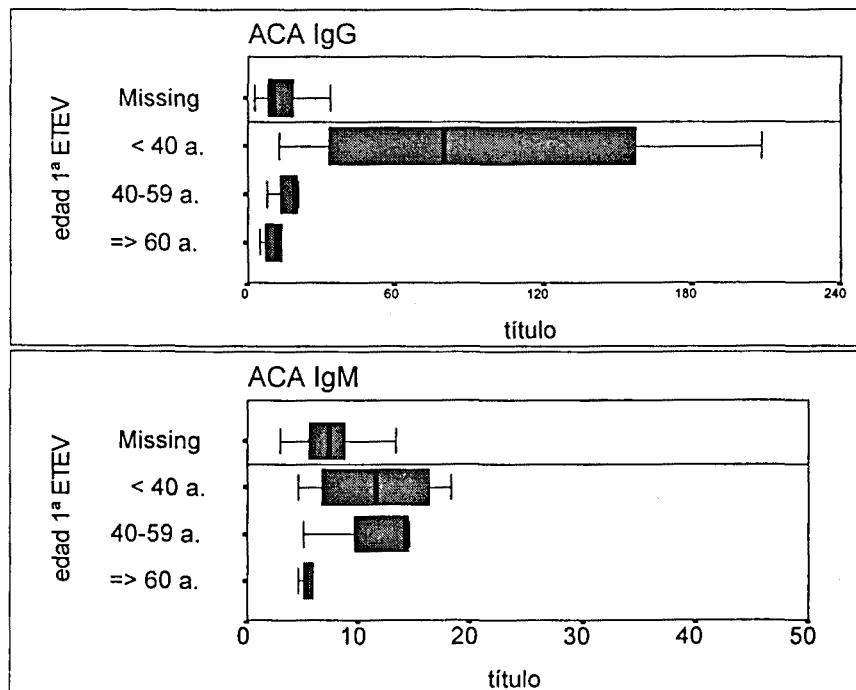


Gráfico 13. Títulos de ACA según la edad del primer episodio de ETEV

Observamos que los pacientes que presentaron su primer episodio de ETEV antes de los 40 años presentan unos títulos de ACA IgG significativamente superiores que los pacientes con edad superior.

Para el isotipo ACA IgM, los títulos son superiores en los pacientes que tuvieron su primer episodio de ETEV con una edad inferior a 60 años.

### 3.2.- Variables clínicas.

		ACA IgG		ACA IgM	
		Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
tipo ETEV	TVP	28	153	13	168
	TEP	2	43	3	42
	TVP+TEP	10	59	8	61
localiz.	EID	18	86	9	95
	EII	17	117	11	123
	EESS	1	9	0	10
	otras	5	13	2	16
tipo localiz.	usual	33	199	19	213
	inusual	5	13	2	16
número localiz.	una	35	199	20	214
	> una	3	13	1	15
ETEV previa **	sí	12	37	6	43
	no	28	218	18	228
ETEV familiar	sí	4	12	1	15
	no	36	243	23	256

Tabla 16. Positividad de ACA en dependencia de las variables clínicas.  
\*\*indica diferencias significativas.

Ni el tipo de episodio de ETEV que presentan los pacientes ni la localización de dicho episodio, el número de localizaciones o la existencia de antecedentes familiares de ETEV tienen relación con una mayor positividad para ningún isotipo de ACA. De los 16 pacientes que tienen más de una localización afectada, el 18,7% presentan ACA IgG positivo y el 6,2% ACA IgM positivo.

La existencia de ETEV previa se relaciona de forma significativa

con la positividad para ACA IgG ( $p=0,01$ ), no así con la positividad para ACA IgM.

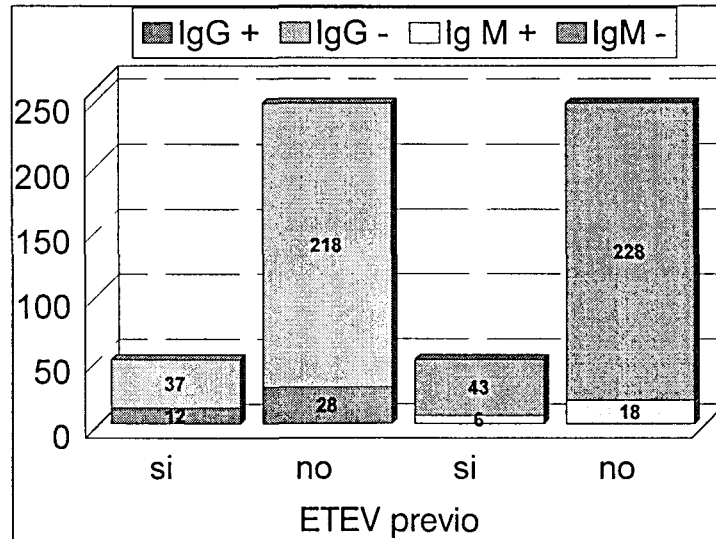


Gráfico 14. Distribución de los pacientes positivos y negativos para ambos isotipos de ACA en función de la existencia o no de ETEV previa.

Si estudiamos la media de los títulos de ACA de los 47 pacientes positivos que presentan más de una determinación en relación con el tiempo de recidiva de la ETEV, observamos que los pacientes que recidivaron antes del año al episodio actual, presentan unos títulos más elevados de ACA IgG que los pacientes que tardaron un año o más en presentar un nuevo episodio de ETEV. No se observan estas diferencias con los títulos del isotipo ACA IgM.

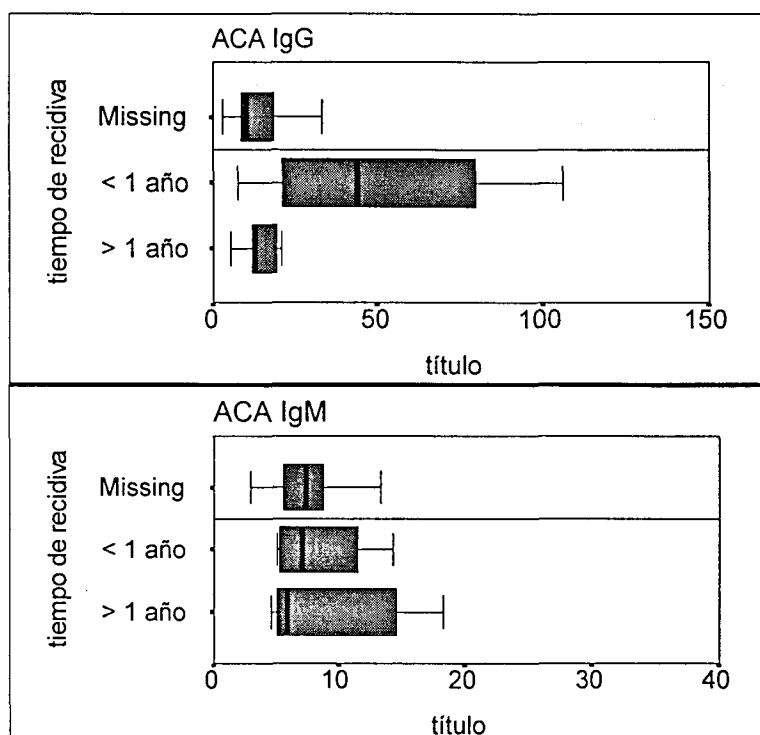


Gráfico 15. Títulos de ACA en función del tiempo de recidiva de ETEV.

### 3.3.- Factores de riesgo.

La cirugía es un factor de riesgo para ETEV que se relaciona de forma significativa con la positividad para ACA IgM ( $p=0,03$ ), no así con la positividad para ACA IgG. Como ya hemos mencionado con anterioridad, la existencia de ETEV previa, es un factor de riesgo que se asocia con la positividad para ACA IgG ( $p=0,01$ ). Se observa una tendencia a la positividad para ACA IgM ( $p=0,04$ ) en los pacientes con edad inferior a 65 años. El resto de factores de riesgo para ETEV que presentan los pacientes, no se relacionan con la positividad para ningún isotipo de ACA.

		ACA IgG		ACA IgM	
		Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
factores riesgo	sí	40	246	24	262
	no	0	9	0	9
edad**	=> 65	20	148	9	159
	< 65	20	107	15	112
tabaco	sí	10	38	7	41
	no	30	217	17	230
cama	sí	18	111	11	118
	no	22	144	13	153
cirugía**	sí	13	68	11	70
	no	27	187	13	201
varices	sí	2	28	3	27
	no	38	227	21	244
anticonceptivos	sí	0	10	0	10
	No	40	245	24	261
embarazo	Sí	0	3	1	2
	no	40	252	23	269
etev previa**	sí	12	37	6	43
	no	28	218	18	228
trauma	sí	0	11	1	10
	no	40	244	23	261

Tabla 17. Positividad de ACA en dependencia de los factores de riesgo para ETEV. \*\* Indica diferencias significativas.

Los pacientes con elevado número de factores de riesgo para ETEV no presentan diferencia significativa en cuanto a la positividad para ambos isotipos de ACA, respecto a los pacientes con menos o ningún factor de riesgo.

#### 3.4.- Enfermedades predisponentes.

Los pacientes con arteriopatía se relacionan de forma significativa con la positividad para ACA IgM ( $p=0,01$ ), no así para la positividad ACA IgG. El resto de enfermedades predisponentes para ETEV no se relaciona con un mayor porcentaje de positividad para ningún isotipo de ACA.

		ACA IgG		ACA IgM	
		Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
enferm predispos	sí	28	156	16	168
	no	12	99	8	103
cardiopat	sí	4	50	3	51
	no	36	205	21	220
neumopat	sí	5	43	3	45
	no	35	212	21	226
neuropat	sí	3	14	1	16
	no	37	241	23	255
infección	sí	2	17	1	18
	no	38	238	23	253
neoplasia	sí	6	50	3	53
	no	34	205	21	218
SMPC	sí	1	4	0	5
	no	39	251	24	266
nefropat	sí	1	8	0	9
	no	39	247	24	262
arteriop.**	sí	7	32	7	32
	no	33	223	17	239

Tabla 18. Positividad de ACA en dependencia de las enfermedades predisponentes para ETEV. \*\* Indica diferencias significativas.

El número de enfermedades predisponentes no se asocia con la positividad de ningún isotipo de ACA.

### 3.5.- Variables biológicas.

Los pacientes con positividad para ACA IgG presentan más frecuentemente ( $p=0,03$ ) déficits de proteínas inhibidoras de la coagulación que los pacientes ACA IgG negativos. No existen diferencias en este sentido para los ACA IgM.

		ACA IgG		ACA IgM	
		Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
déficit proteínas	sí	5	11	0	16
	no	35	244	24	256
		$p=0,03$		$p=0,2$	

Tabla 19. Positividad de ACA en dependencia de la existencia de déficit de proteínas inhibidoras de la coagulación.



No se objetiva diferencia significativa para la positividad para ningún tipo de ACA y el resto de variables biológicas estudiadas.

#### 4.- Estudio evolutivo de los pacientes ACA positivos.

4.1.- Descriptiva y estudio estadístico en función del concepto de epifenómeno y no epifenómeno.

- De los 37 pacientes positivos para ACA IgG, 10 (27%) se comportan como epifenómeno y 27 (73%) como no epifenómeno. De estos últimos 27 pacientes, 14 (52%) son positivos permanentes y, 13 (48%) son positivos transitorios.
- De los 22 pacientes positivos para ACA IgM, 8 (36,4%) se comportan como epifenómeno y 14 (63,6%) como no epifenómeno. De estos últimos 14 pacientes, 4 (28,6%) son positivos permanentes y, 10 (71,4%) son positivos transitorios.

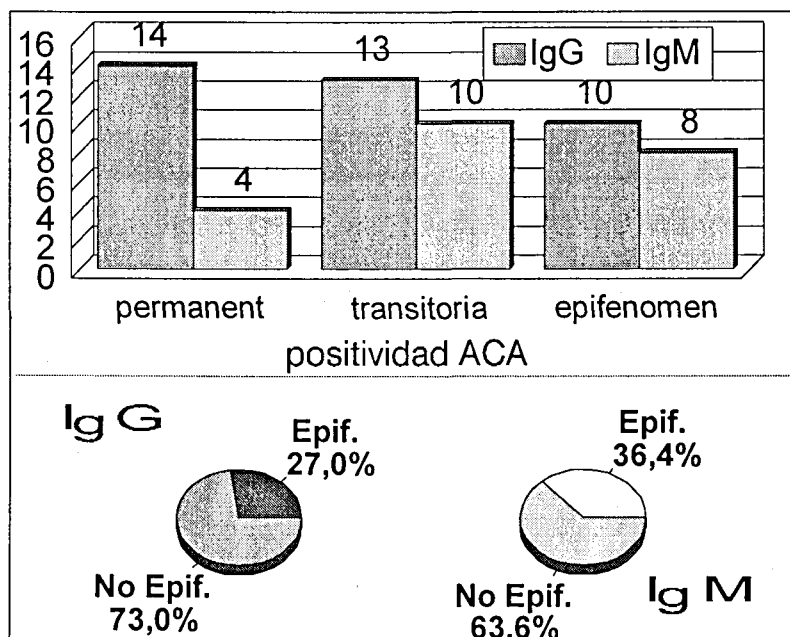


Gráfico 16. Distribución de los pacientes en función del tipo de positividad para ACA y de su evolución como epifenómeno o no epifenómeno.

El hecho de que los pacientes ACA IgG positivos se comporten como no epifenómeno, no es fruto del azar (prueba de conformidad). Es decir, existe una asociación entre comportarse como no epifenómeno ACA IgG y la presencia de ETEV. Este hecho no se constata para el isotipo ACA IgM.

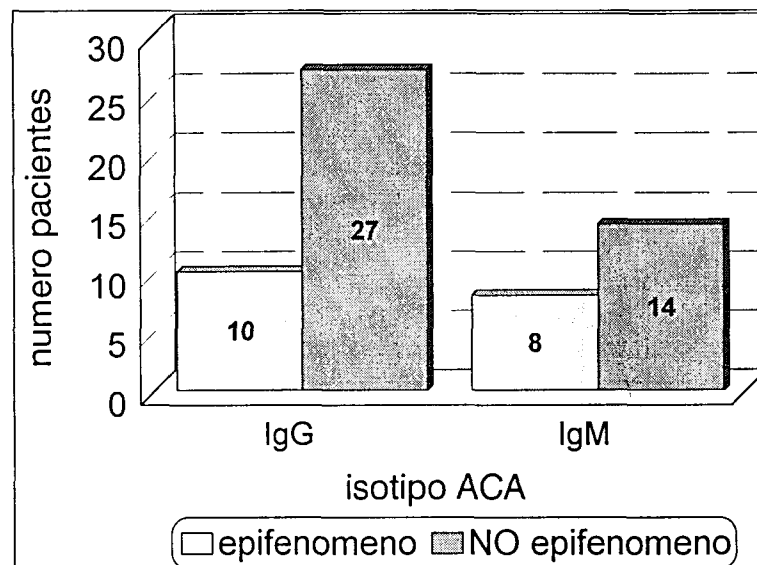


Gráfico 17. Distribución de los pacientes según su comportamiento como epifenómeno o no epifenómeno para ambos isotipos de ACA.

Si comparamos el porcentaje de positividad para ACA de los pacientes que se comportan como epifenómeno con el porcentaje de positividad para ACA de los controles, observamos:

	ACA IgG negativos	ACA IgG positivos
CONTROLES	113	2
	ACA IgG negativos	ACA IgG epifenómenos
ETEV	201	10
	p=0,1419	
	ACA IgM negativos	ACA IgM positivos
CONTROLES	114	1
	ACA IgM negativos	ACA IgM epifenómenos
ETEV	203	8
	p=0,1143	

Tabla 20.- Comparación de los pacientes que se comportan como epifenómeno para ACA con los controles positivos.

Al comparar el porcentaje de positividad para ACA de los

pacientes que se comportan como no epifenómeno con el porcentaje de positividad para ACA de los controles, observamos:

	ACA IgG negativos	ACA IgG positivos
CONTROLES	113	2
	ACA IgG negativos	ACA IgG no pifenómenos
EDEV	184	27
	$p < 0,001$	
	ACA IgM negativos	ACA IgM positivos
CONTROLES	114	1
	ACA IgM negativos	ACA IgM no pifenómenos
EDEV	197	14
	$p = 0,0119$	

Tabla 21.- Comparación de los pacientes que se comportan como no epifenómeno para ACA con los controles positivos.

Si comparamos el porcentaje de positividad para ACA de los pacientes que son positivos permanentes con el porcentaje de positividad para ACA de los controles, observamos:

	ACA IgG negativo	ACA IgG positivos
CONTROLES	113	2
	ACA IgG no permanente	ACA IgG permanente
EDEV	197	14
	$p < 0,0393$	
	ACA IgM negativo	ACA IgM positivos
CONTROLES	114	1
	ACA IgM no permanente	ACA IgM permanente
EDEV	207	4
	$p = 0,4219$	

Tabla 22.- Comparación de los pacientes positivos permanentes para ACA con los controles positivos.

Si estudiamos la evolución de los pacientes con positividad transitoria para ACA, observamos que este grupo es muy heterogéneo:

- De los 13 pacientes positivos transitorios para ACA IgG, 8 (61%) presentan la determinación negativa en el momento del episodio agudo de la EDEV para positivizarse posteriormente.
- De los 10 pacientes positivos transitorios para ACA IgM, 8 (80%) presentan la determinación negativa en el momento del episodio

agudo de la ETEV para positivizarse posteriormente.

Determinac.	ACA IgG	Media IgG	ACA IgM	Media IgM
(+) (+) (-)	4	19.95	1	8.27
(+) (-) (+)	1	16	1	8.70
(-) (+) (-)	3	8.94	3	9.4
(-) (-) (+)	1	9.23	1	13.33
(-) (+) (+)	1	10.82	1	14.65
(-) (+)	3	11.81	3	18.91
total	13	13.7	10	13

Tabla 23. Distribución de los pacientes con positividad transitoria para ambos isotipos de ACA.

4.2.- Descriptiva y estudio estadístico de los pacientes en función del isotipo de ACA positivo.

		ACA					
		epifenómeno		+ transitoria		+ permanente	
		num	%	num	%	num	%
isotipo	ACA IgG	10	27	13	35	14	38
	ACA IgM	8	36,3	10	45,5	4	18,2
p=0,2839							

Tabla 24. Estudio comparativo del tipo de positividad para ACA en dependencia del isotipo.

El tipo de positividad de los ACA no presenta diferencias significativas para ningún isotipo de ACA.

4.3.- Descriptiva y estudio estadístico de las medias de los títulos de los pacientes ACA IgG e IgM positivos según el tipo de positividad.

tipo de positividad	ACA IgG	ACA IgM
	media / DS	media / DS
epifenómeno	11,6 / 3,3	11,6 / 9,2
+ transitoria	13,7 / 6,8	13,0 / 5,1
+ permanente	61,6 / 57	38,6 / 40,3
	p<0,05	p<0,05

Tabla 25. Comparación de la media de los títulos de ACA en ambos isotipos según el tipo de positividad.

La media de los títulos de ACA en los pacientes con positividad permanente para ambos isotipos de ACA se diferencian de forma significativa respecto a la media de los títulos de ACA en los pacientes con positividad de ACA transitoria o epifenómeno.

En el siguiente gráfico se representa la distribución de la media de los títulos de ambos isotipos de ACA en dependencia del tipo de positividad o negatividad:

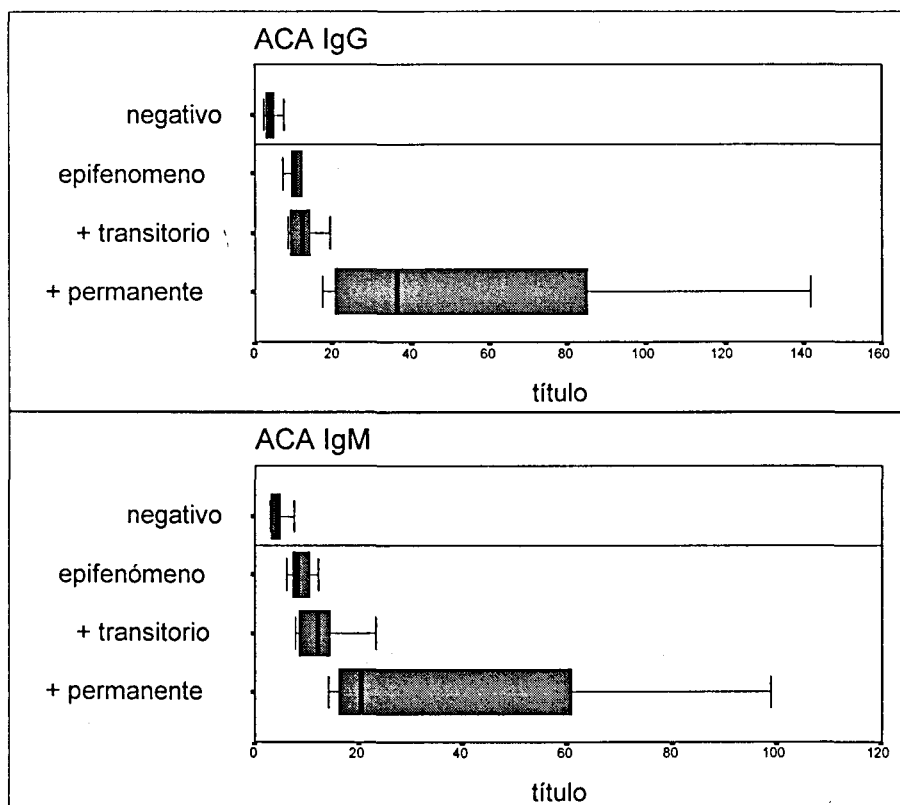


Gráfico 18. Distribución de la media de los títulos de ambos isotipos de ACA según el tipo de positividad o negatividad.

4.4.- Descriptiva y estudio estadístico de los pacientes ACA IgG e IgM positivos según el tipo de positividad y el resto de variables clínico-biológicas.

4.4.1.- Edad y sexo: no existen diferencias significativas entre el tipo de positividad de ambos isotipos de ACA y el sexo o grupo de edad de los pacientes.

		PACIENTES ACA POSITIVOS					
		ACA IgG			ACA IgM		
		epifen	+ trans	+ pte	epifen	+ trans	+ pte
edad	< 40	0	2	5	2	4	1
	40-59	1	2	2	0	2	1
	≥ 60	9	9	7	6	4	2
sexo	varón	5	8	8	6	5	2
	mujer	5	5	6	2	5	2

Tabla 26. Comparación del tipo de positividad de los ACA IgG e IgM según la edad y el sexo de los pacientes.

La media de los títulos de ACA IgG es significativamente superior en los pacientes menores a 40 años ( $p=0,02$ ).

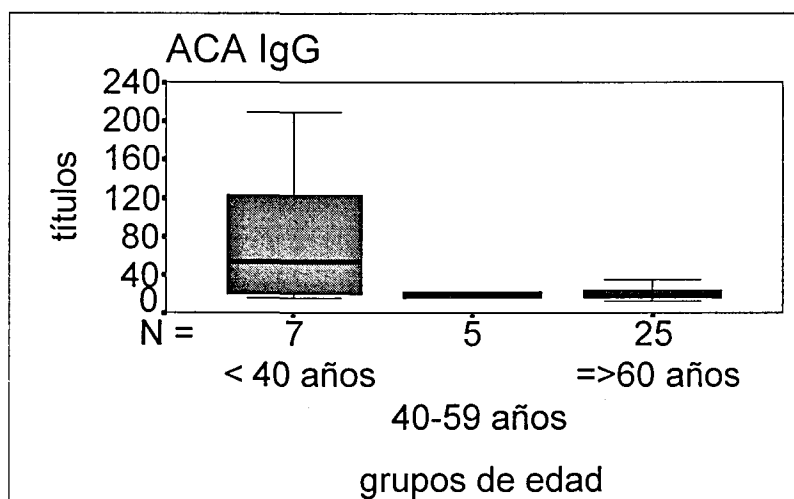


Gráfico 19. Distribución de la media de los títulos de ACA IgG positivos según el grupo de edad de los pacientes.

4.4.2.- Variables clínicas: existen diferencias significativas en cuanto al tipo de positividad de los ACA IgM en pacientes con ETEV previa ( $p=0,02$ ); estas diferencias se deben a una tendencia de los ACA a comportarse como epifenómeno en los pacientes sin ETEV

previa ( $p=0,04$ ) y como positivos permanentes en los pacientes con ETEV previa ( $p=0,04$ ).

		PACIENTES ACA POSITIVOS					
		ACA IgG			ACA IgM		
		epifen	+ trans	+ pte	epifen	+ trans	+ pte
tipo	usual	9	11	10	7	9	2
localiz	inusual	1	2	2	1	1	0
num	una	9	12	11	8	9	2
localiz	> una	1	1	1	0	1	0
etev **	si	3	2	6	0	3	3
previa	no	7	11	8	8	7	1
etev	si	0	1	3	1	0	0
familia	no	10	12	11	7	10	4

Tabla 27. Comparación del tipo de positividad de los ACA IgG e IgM según las variables clínicas de los pacientes. \*\* Indica diferencias significativas.

#### 4.4.3.- Enfermedades predisponentes:

		PACIENTES ACA POSITIVOS					
		ACA IgG			ACA IgM		
		epifen	+ trans	+ pte	epifen	+ trans	+ pte
enferm pred.**	si	8	11	6	7	5	2
	no	2	2	8	1	5	2
num	0	2	2	8	1	5	2
enferm	1	6	8	5	6	2	2
predis	$\geq 2$	2	3	1	1	3	0
cardiop	si	1	2	1	0	2	0
	no	9	11	13	8	8	4
neumo	si	3	2	0	2	1	0
	no	7	11	14	6	9	4
neurop	si	0	2	1	0	1	0
	no	10	11	13	8	9	4
infecci	si	1	1	0	1	0	0
	no	9	12	14	7	10	4
neopla	si	1	3	1	0	3	0
	no	9	10	13	8	7	4
SMPCr	si	0	1	0	0	0	0
	no	10	12	14	8	10	4
nefrop	si	0	1	0	0	0	0
	no	10	12	14	8	10	4
arterio	si	2	2	2	4	1	1
	no	8	11	12	4	9	3

Tabla 28. Comparación del tipo de positividad de los ACA IgG e IgM según las enfermedades predisponentes a ETEV.\*\*Indica diferencias significativas.

Existe tendencia a presentar diferencias entre el tipo de positividad para ACA IgG y la existencia o no de enfermedades predisponentes para ETEV ( $p=0,04$ ). Esta tendencia es atribuible a que los pacientes con ACA IgG positivos permanentes presentan menos enfermedades predisponentes que el resto de positividades para ACA IgG ( $p=0,0164$ ). No existen diferencias entre el tipo de positividad de ambos isotipos de ACA y el resto de datos clínicos.

#### 4.4.4.- Factores de riesgo:

		PACIENTES ACA POSITIVOS					
		ACA IgG			ACA IgM		
		epifen	+ trans	+ pte	epifen	+ trans	+ pte
factor riesgo	si	10	13	14	8	10	4
	no	0	0	0	0	0	0
num factor riesgo	1	1	1	3	1	2	0
	2	1	4	4	1	2	2
	3	7	6	6	3	5	2
	$\geq 4$	1	2	1	3	1	0
edad	$\geq 65$	7	7	5	2	4	2
	$< 65$	3	6	9	6	6	2
tabaco	si	2	1	6	3	2	1
	no	8	12	8	5	8	3
cama**	si	5	7	6	6	5	0
	no	5	6	8	2	5	4
cirugía	si	2	6	4	5	4	1
	no	8	7	10	3	6	3
varices	si	1	1	0	1	1	1
	no	9	12	14	7	9	3
anticonceptivo	si	0	0	0	0	0	0
	no	10	13	14	8	10	4
embarazo	si	0	0	0	0	1	0
	no	10	13	14	8	9	4
etev ** previa	si	3	2	6	0	3	3
	no	7	11	8	8	7	1
trauma	si	0	0	0	1	0	0
	no	10	13	14	7	10	4

Tabla 29. Comparación del tipo de positividad de los ACA IgG e IgM según los factores de riesgo predisponentes a ETEV.



Existe tendencia a presentar diferencias entre el tipo de positividad para ACA IgM y la existencia o no de encamamiento\*\* ( $p=0,04$ ). Esta tendencia es atribuible a que los pacientes con ACA IgM positivos de permanentes están menos encamados que el resto de positivities para ACA IgM ( $p=0,0451$ ). No existen diferencias significativas entre el tipo de positividad de ambos isotipos de ACA y el resto de factores de riesgo, salvo la relación descrita anteriormente entre el factor de riesgo de ETEV previa\*\* y el isotipo ACA IgM.

#### 4.4.5.- Variables biológicas:

		PACIENTES ACA POSITIVOS					
		ACA IgG			ACA IgM		
		epifen	+ trans	+ pte	epifen	+ trans	+ pte
cifra plqt	normal	7	10	12	6	7	4
	alta	2	2	1	1	1	0
	baja	1	0	0	1	0	0
T.P	normal	9	10	12	8	8	3
	acorta	1	0	0	0	0	0
	alarga	0	1	0	0	0	0
ratio TTPA	normal	9	6	13	4	8	2
	acorta	0	5	0	4	1	0
	alarga	1	1	0	0	0	1
fibri	normal	6	7	10	4	3	4
	eleva	4	4	4	4	5	0
	bajo	0	0	0	0	0	0
D.D	neg	9	7	12	6	7	4
	pos	1	5	2	2	3	0
deficit protein	si	0	3	1	0	0	0
	no	10	10	13	8	10	4

Tabla 30. Comparación del tipo de positividad de los ACA IgG e IgM en dependencia de las variables biológicas.

No se observa diferencias entre ningún dato biológico y los diferentes tipos de positividad de ambos isotipos de ACA.

## 5.- Estudio de los pacientes con positividad permanente de ACA.

5.1.- Comparación de las positividades permanentes entre ambos isotipos de ACA.

		ACA + PERMANENTE	
		NO	SI
ISOTIPOS	ACA IgG	197	14
	ACA IgM	207	4
		p=0,01	

Tabla 31. Distribución de la positividad permanente de ambos isotipos de ACA.

La positividad de ACA IgG de forma permanente es significativamente más frecuente que la positividad permanente de ACA IgM.

5.2.- Media de los títulos de ACA positivos de forma permanente en ambos isotipos.

		MEDIA / DS de TITULOS ACA	
		ACA IgG	ACA IgM
+ permanente	si	61,6 / 57	38,6 / 40,3
	no	5,5 / 3,5	5,2 / 3,2
		P < 0,05	P < 0,05

Tabla 32. Distribución de la media de los títulos positivos permanentes de ambos isotipos de ACA.

La media de los títulos de los pacientes ACA positivos permanentes en ambos isotipos es significativamente superior respecto a la media de los títulos del resto de pacientes, como se demuestra en el siguiente gráfico:

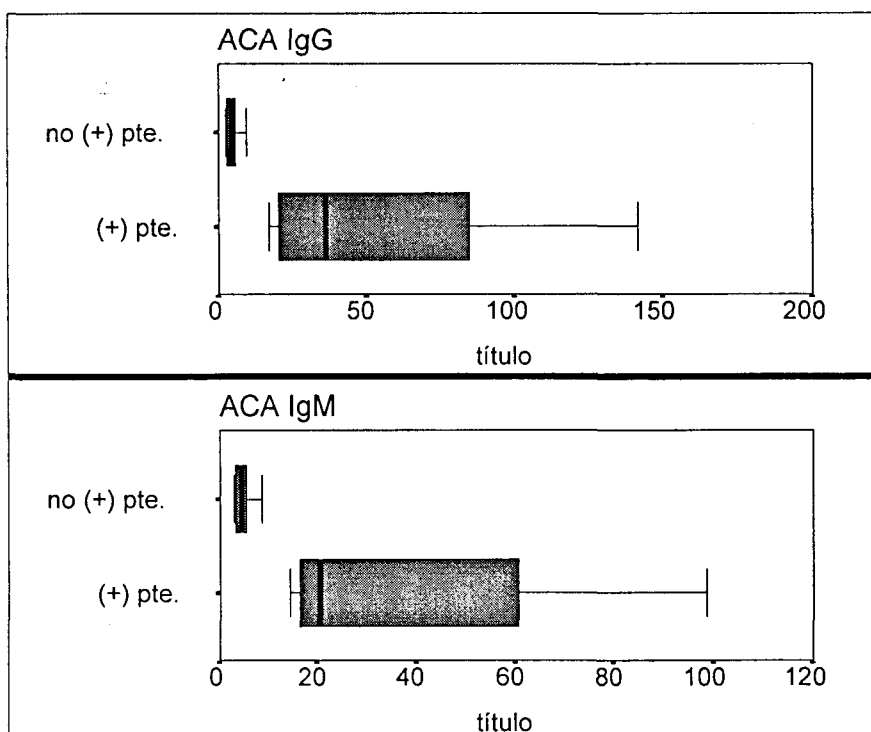


Gráfico 20. Distribución de la media de los títulos de ambos isotipos de ACA en función de su positividad permanente o no.

### 5.3.- Descriptiva y estudio estadístico de los pacientes ACA IgG e IgM positivos permanentes y el resto de variables clínico-biológicas.

#### 5.3.1.- Edad y sexo:

		IgG + PERMANENTE		IgM + PERMANENTE	
		NO	SI	NO	SI
edad **	< 40 a.	20	5	24	1
	40-59 a.	37	2	38	1
	≥ 60 a.	140	7	145	2
sexo	Hombre	113	8	119	2
	mujer	84	6	88	2

Tabla 33. Distribución de los pacientes según la positividad permanente de ambos isotipos de ACA con la edad y sexo. \*\*Indica diferencias significativas.

Los pacientes con positividad permanente de ACA IgG, presentan relación significativa con la edad inferior a 40 años ( $p= 0,01$ ). La

media de los títulos de ACA IgG en pacientes positivos permanentes es significativamente superior en el grupo de pacientes con edad inferior a 40 años ( $p=0,03$ ).

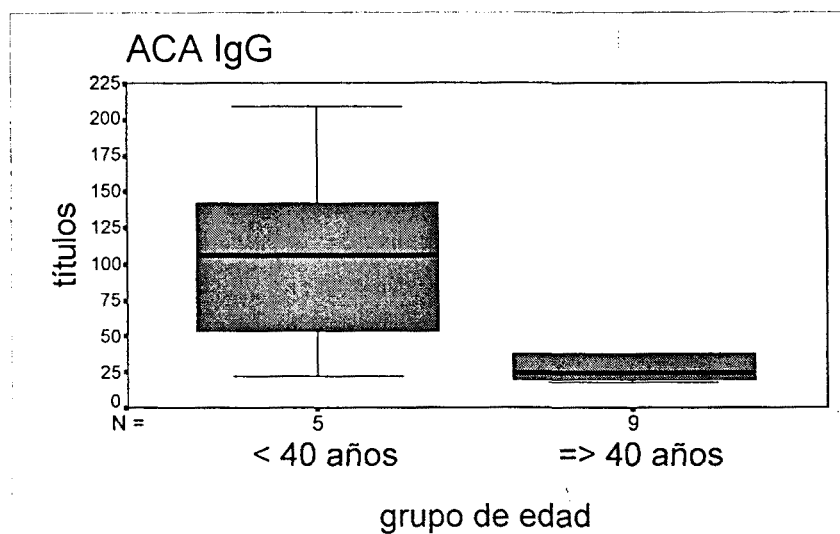


Gráfico 21. Distribución de la media de los títulos de ACA IgG positivos de forma permanente según el grupo de edad.

No existen diferencias significativas entre la positividad permanente para ningún isotipo de ACA y el sexo de los pacientes.

### 5.3.2.- Variables clínicas:

		IgG + PERMANENTE		IgM + PERMANENTE	
		NO	SI	NO	SI
tipo localiza.	usual	160	10	168	2
	inusual	10	2	12	0
numero localiza.	una	159	11	168	2
	> una	11	1	12	0
etev ** previa	si	31	6	34	3
	no	166	8	173	1
etev ** familiar	si	8	3	11	0
	no	189	11	196	4

Tabla 34. Distribución de los pacientes según la positividad permanente de ambos isotipos de ACA y los datos clínicos. \*\*Indica diferencias significativas.

Los pacientes con ETEV previa se relacionan de forma significativa con la positividad permanente para ACA IgG ( $p=0,009$ ) y con la positividad permanente para ACA IgM ( $p=0,002$ ).

Los pacientes con antecedentes familiares de ETEV se relacionan de forma significativa con la positividad permanente para ACA IgG ( $p=0,004$ ). La media de los títulos de ACA IgG en pacientes con antecedentes familiares de ETEV no presenta diferencias significativas respecto los pacientes sin antecedentes familiares de ETEV. Sin embargo, los pacientes con positividad permanente de ACA IgG y sin antecedentes familiares de ETEV, tienen títulos más elevados que los pacientes con antecedentes familiares de ETEV.

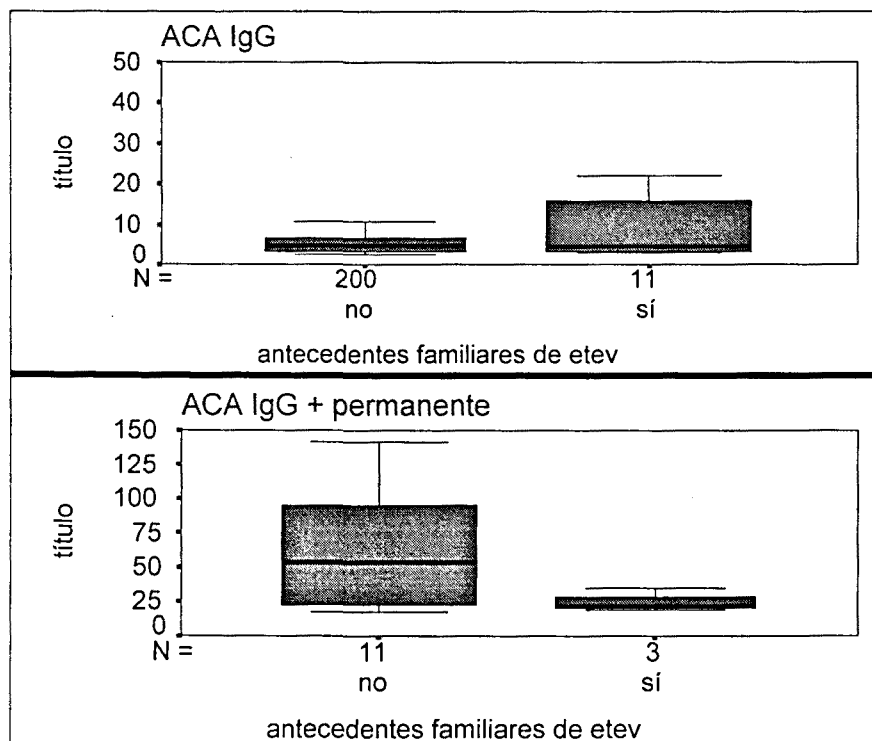


Gráfico 22. Distribución de la media de los títulos de ACA IgG totales y de ACA IgG con positividad permanente en función de la existencia o no de pacientes con antecedentes familiares de ETEV.

El resto de variables estudiadas no presentan relación significativa

con la positividad permanente para ningún isotipo de ACA.

5.3.3.- Enfermedades predisponentes: ni la existencia de enfermedades predisponentes para ETEV, ni el número o tipo de enfermedad predisponente, se relaciona con la positividad permanente para ningún isotipo de ACA.

		IgG + PERMANENTE		IgM + PERMANENTE	
		NO	SI	NO	SI
número	0	86	8	92	2
enfermed	1	65	5	68	2
predisp	≥ 2	46	1	47	0
enfermed	si	111	6	115	2
predisp	no	86	8	92	2
cardiopat	si	33	1	34	0
	no	164	13	173	4
neumopat	si	30	0	30	0
	no	167	14	177	4
neuropat	si	11	1	12	0
	no	186	13	195	4
infección	si	11	0	11	0
	no	186	14	196	4
neoplasia	si	33	1	34	0
	no	164	13	173	4
SMPCr	si	3	0	3	0
	no	194	14	204	4
nefropat	si	6	0	6	0
	no	191	14	201	4
arteriopat	si	26	2	27	1
	no	171	12	180	3

Tabla 35. Distribución de los pacientes según la positividad permanente para ambos isotipos de ACA y las enfermedades predisponentes.

5.3.4.- Factores de riesgo: los pacientes que fuman presentan de forma más frecuente positividad permanente de ACA IgG que los pacientes que no fuman ( $p=0,002$ ). El resto de factores de riesgo no presentan diferencias significativas con la positividad permanente de ningún isotipo de ACA, salvo con relación a la existencia de etev previa como ya hemos mencionado anteriormente en el apartado de datos clínicos.\*\*

		IgG + PERMANENTE		IgM + PERMANENTE	
		NO	SI	NO	SI
número factores riesgo	ninguno	7	0	7	0
	uno	35	3	38	0
	dos	64	4	66	2
	tres	65	6	69	2
	≥ cuatro	26	1	27	0
factores riesgo	si	190	14	200	4
	no	7	0	7	0
edad	≥ 65 años	113	5	116	2
	< 65 años	84	9	91	2
tabaco **	si	26	6	31	1
	no	171	8	176	3
cama	si	88	6	94	0
	no	109	8	113	4
cirugía	si	57	4	60	1
	no	140	10	147	3
varices	si	20	0	19	1
	no	177	14	188	3
anticon-ceptivos	si	7	0	7	0
	no	190	14	200	4
embarazo	si	2	0	2	0
	no	195	14	205	4
etev ** previa	si	31	6	34	3
	no	166	8	173	1
trauma	si	11	0	11	0
	no	186	14	196	4

Tabla 36. Distribución de los pacientes según la positividad permanente de ambos isotipos de ACA y los factores de riesgo para ETEV.\*\* Indica diferencias significativas.

5.3.5.- Variables biológicas: Ninguna de las variables biológicas estudiadas se relaciona de forma significativa con la positividad permanente de ningún isotipo de ACA.

		IgG + PERMANENTE		IgM + PERMANENTE	
		NO	SI	NO	SI
cifra plaquetas	normal	159	12	167	4
	elevada	13	1	14	0
	baja	22	0	22	0
T.P	normal	176	12	185	3
	acortado	10	0	10	0
	alargado	8	0	8	0
ratio TTPA	normal	148	13	159	2
	acortada	41	0	41	0
	alargada	7	0	6	1
fibri.	normal	113	10	119	4
	elevado	77	3	80	0
	bajo	4	0	4	0
D.D	negativos	40	1	41	0
	positivos	101	2	103	0
déficit proteínas	si	11	1	12	0
	no	186	13	195	4

Tabla 37. Distribución de los pacientes según su positividad permanente de ambos isotipos de ACA y los datos biológicos.

Los pacientes que presentan déficits de proteínas inhibidoras de la coagulación se relacionan de forma significativa con la positividad **transitoria** para ACA IgG ( $p=0,02$ ). La media de los títulos de ACA IgG en estos pacientes no presenta diferencias significativas entre los diferentes grupos de positividad para ACA.



**D.- Resultados IV. Estudio de los pacientes que presentan historia de ETEV previa.**

**1.- Descriptiva y estudio estadístico entre los pacientes con ETEV previa y los pacientes sin ETEV previa.**

		ETEVI PREVIU	
		SI	NO
Sexo	Hombre	27	140
	Mujer	22	106
		p=0,8	
Media de edad		60,6 ± 14,2	63,5 ± 16,1
Grupos de edad	18-39 años	6	27
	40-59 años	13	40
	60-89 años	30	179
		p= 0,1	

Tabla 38. Distribución de la edad y el sexo de los pacientes según la existencia o no de ETEV previa.

El estudio comparativo de las variables demográficas entre los pacientes con ETEV previa y sin ETEV previa no muestra diferencias significativas.

		ETEVI PREVIU	
		SI	NO
cardiopatía	Si	3	51
	No	46	195
		p=0,01	
encamamiento	Si	11	118
	No	38	128
		p=0,001	
nefropatía	Si	5	4
	No	44	242
		p=0,001	
SMPCr	Si	3	2
	No	46	244
		p=0,008	

Tabla 39. Distribución de las enfermedades predisponentes a ETEV según la existencia o no de ETEV previa.

Los pacientes con ETEV previa presentan con menos frecuencia enfermedad cardíaca y encamamiento durante el episodio actual que los pacientes sin ETEV previa. Sin embargo, la existencia de nefropatías y de SMPCr es más frecuente en los pacientes con ETEV previa. Ambos grupos de pacientes no se diferencian en el resto de variables clínico-biológicas estudiadas como: número de localizaciones de la TVP, localización inusual de la TVP, déficit de proteínas inhibidoras de la coagulación, antecedentes familiares de ETEV, número de factores de riesgo o de enfermedades predisponentes para ETEV.

La media de los títulos de ambos isotipos de ACA no presenta diferencias significativas entre los pacientes con antecedentes de ETEV y los pacientes sin dichos antecedentes.

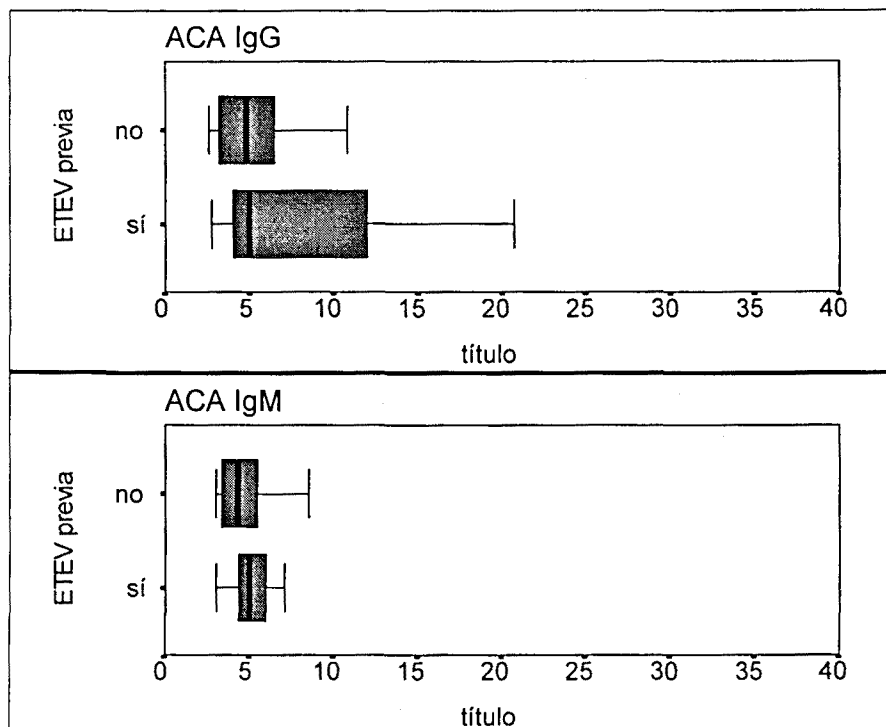


Gráfico 23. Distribución de la media de los títulos de ambos isotipos de ACA en función de la existencia o no de ETEV previa.

**2.- Descriptiva y estudio estadístico de los títulos de ACA positivo en los pacientes con ETEV previa según el tipo de positividad y el resto de variables clínico-biológicas.**

Los pacientes con ETEV previa menores de 40 años, presentan títulos de ACA IgG permanentemente positivos de forma más frecuente que los pacientes de mayor edad.

		ACA IgG + permanente	
		SI	NO
grupo de edad ETEV actual	18-39 años	3	2
	40-59 años	2	9
	60-89 años	1	20
		p=0,01	

Tabla 40. Distribución de los pacientes con ETEV previa según su edad.

La media de los títulos de los pacientes ACA IgG positivos permanentes se relaciona de forma significativa con la edad inferior a 40 años.

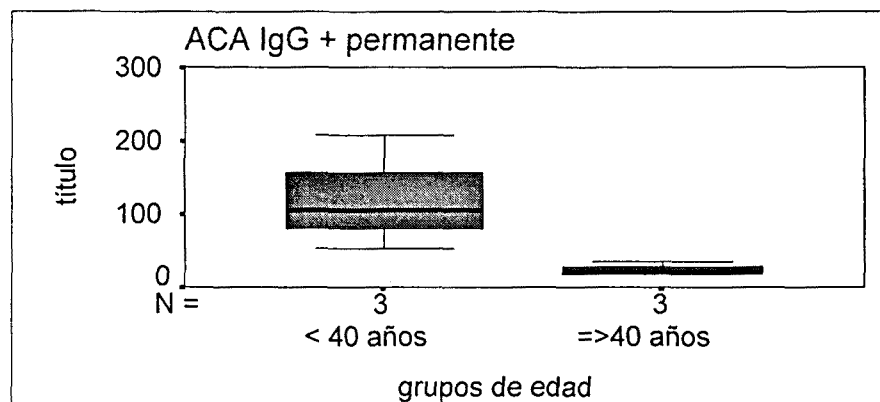


Gráfico 24. Distribución de la media de los títulos de ACA IgG con positividad permanente en función del grupo de edad.

De los 37 pacientes con antecedentes de ETEV previa que tienen más de una determinación de ACA realizada, 26 pacientes son ACA IgG negativos, 3 ACA IgG epifenómeno, 2 ACA IgG positivos transitorios y 6 pacientes son ACA IgG positivos de forma

permanente.

El tiempo de recidiva de la trombosis en dependencia del tipo de positividad de los ACA, se muestra en la siguiente tabla:

		ACA IgG			
		negativo	epifenóm.	+ transit.	+ pte.
tiempo recidiva	< 1 año	6	1	0	3
	>= 1 año	20	2	2	3
p=0,4553					

Tabla 41. Distribución de los pacientes con ETEV previa según el tiempo de recidiva de la ETEV y el tipo de positividad o negatividad de los ACA IgG.

Aunque no se observan diferencias significativas entre el tiempo de recidiva de la ETEV y el tipo de positividad de los ACA IgG, se objetiva que de los 26 pacientes negativos para ACA IgG, 6 (23%) tuvieron el primer episodio de ETEV antes del año del episodio actual, frente al 50% de pacientes ACA IgG positivos de forma permanente.

Si comparamos la media de los títulos de ACA IgG de los 10 pacientes (27%) que presentaron el episodio previo de ETEV en el año precedente al episodio actual con la media de los títulos de los 27 pacientes (73%) que presentaron el episodio previo de ETEV hacía más de un año, los resultados son los siguientes:

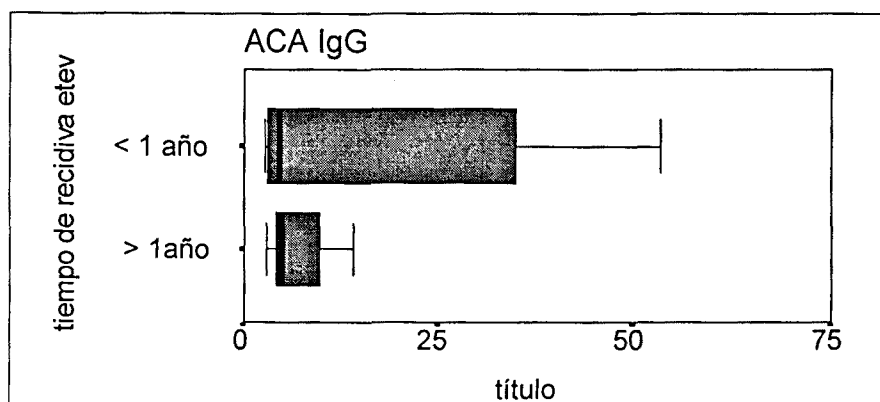


Gráfico 25. Distribución de la media de los títulos de ACA IgG en los pacientes con ETEV previa en función del tiempo de recidiva de la ETEV.

tiempo recidiva	niveles de los títulos de ACA IgG		
	media	DS	casos
< 1 año	22,4517	34,0382	10
>= 1 año	14,5027	39,1118	27
p=0,9183			

Tabla 42. Media de los títulos de ACA IgG según el tiempo de recidiva de la ETEV.

No se observan diferencias de las medias de los títulos de ACA IgM en dependencia del tiempo de recidiva de la ETEV.

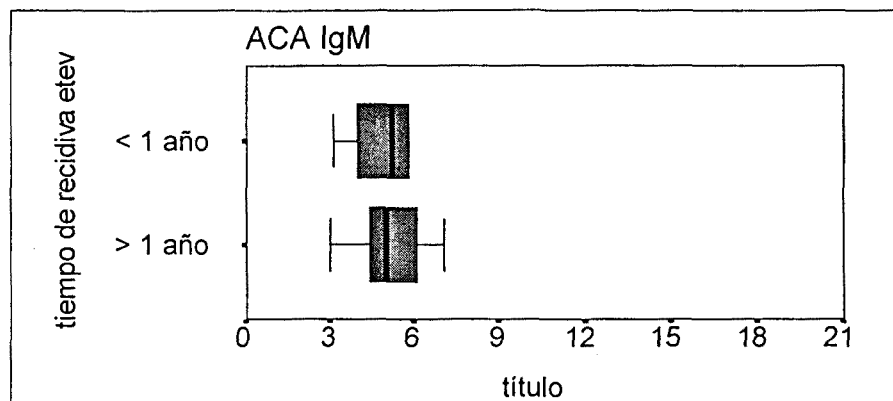


Gráfico 26. Distribución de la media de los títulos de ACA IgM en los pacientes con ETEV previa en función del tiempo de recidiva de la ETEV.

El resto de parámetros clínico-biológicos en los pacientes con ETEV previa no se relaciona con el tipo de positividad de ninguno de los isotipos de ACA.

## Discusión

## V.- DISCUSION

### 1.- Introducción.

Las principales causas de discrepancia en los diferentes trabajos realizados que hacen referencia a la ETEV y a los ACA son debidas a que:

La información disponible sobre la prevalencia y evolución natural de los ACA en sujetos sanos (grupo control) es limitada<sup>95</sup>. No se reflejan los posibles estados de trombofilia, todos los factores de riesgo de ETEV y las enfermedades asociadas que pueden presentar los pacientes con trombosis y que podrían interferir en la verdadera relación de los ACA con la ETEV<sup>103,135</sup>. En pocas ocasiones se especifican los criterios diagnósticos para los eventos clínicos<sup>24,135</sup>. No suele especificarse la variación inter e intraensayo del método de laboratorio utilizado<sup>117,136-139</sup>, el anticuerpo anticardiolipina específico<sup>135,136,139</sup> o el número de determinaciones de ACA realizadas<sup>103,135,136,140</sup>.

Creemos que nuestro trabajo tiene el interés de valorar los elementos clínicos de forma exhaustiva junto con el hecho de que a todos los pacientes se les ha realizado estudio de trombofilia y, en un grupo de 211 pacientes, varias determinaciones de ACA y de sus isotipos.

### 2.- Consideraciones previas sobre la metodología.

Hemos estudiado una serie de 295 pacientes diagnosticados de ETEV.

Es conocido que cuando se realiza una cuidadosa historia clínica

---

junto con un exhaustivo estudio de trombofilia a todo paciente con trombosis y/o tromboembolismo venoso inexplicado, en un 80% de los casos se encuentran circunstancias clínicas o alteraciones biológicas favorecedoras de ETEV<sup>141</sup>.

Más del 90% de nuestros pacientes presenta un factor de riesgo clínico que predispone a ETEV como son las enfermedades asociadas (principalmente las neoplasias, cardiopatías, neumopatías, arteriopatía e infecciones), la edad superior a 65 años, el encamamiento, la cirugía, la existencia de ETEV previa, el tabaquismo, etc. Este porcentaje tan elevado, en relación con otros trabajos<sup>136-138,141-144</sup>, creemos que es debido a que nosotros hemos valorado todos los factores de riesgo conocidos en los pacientes con ETEV, no hemos seleccionado la muestra, describimos todas las circunstancias clínicas coexistentes en el momento del episodio trombótico, así como los antecedentes personales que pudieran estar implicados en la ETEV (como la existencia de ETEV previa o la trombofilia familiar).

Hemos apreciado alteraciones específicas o defectos plasmáticos conocidos y asociados a trombosis en un 23 % de nuestros pacientes: 17,6% de origen adquirido y 5,4% congénito. La prevalencia global de estas alteraciones, descrita en la literatura previa al año 1993, varía de un 18% a un 47%<sup>141,143-146</sup>.

Los déficits de proteína C, S y antitrombina-III fueron hasta hace poco los más implicados en la trombofilia venosa familiar. Este hecho ha cambiado drásticamente desde que recientemente, Dahlbäck y colaboradores describieron un importante factor de riesgo hereditario para ETEV, la resistencia a la proteína C activada (APC-R)<sup>147</sup>. Poco más tarde se localizó la mutación puntual en el gen del factor V



(factor V Leiden)<sup>148-151</sup>. La APC-R asociada a la presencia de factor V Leiden es la anomalía genética conocida responsable del mayor número de casos de trombosis. Más recientemente se ha identificado un nuevo factor de riesgo genético de trombofilia, debido a una mutación en el gen de la protrombina<sup>152</sup>. Estas dos últimas alteraciones eran desconocidas en el momento que iniciamos el estudio. Desde el año 1994 estamos realizando el estudio de APC-R (deficitaria en factor V) en pacientes con ETEV no seleccionados y hemos objetivado una incidencia del 10,5% (similar a la descrita en nuestro medio<sup>153</sup>). De esta forma, hoy día en más del 30% de los pacientes con ETEV podemos diagnosticar alteraciones biológicas.

El 5,4% de nuestros pacientes presentan trombofilia congénita, prevalencia semejante a la descrita en población con ETEV no seleccionada en trabajos anteriores a 1993<sup>143,145,154</sup> aunque algunos autores refieren frecuencias más elevadas<sup>146,155,156</sup> probablemente por seleccionar pacientes jóvenes y no confirmar los déficits.

La frecuencia de los diferentes déficits encontrados por nosotros no difiere de la descrita por otros autores<sup>143,145,154,155,157,158</sup>.

No hemos encontrado alteraciones del plasminógeno ni disfibrinogenemias y no se ha determinado el cofactor II de la heparina. El papel que desempeñan estas alteraciones en la trombosis no está claro y hoy día se considera que no deben formar parte del screening inicial de trombofilia.

Es de destacar que en nuestra serie en 232 pacientes (79%) el diagnóstico de ETEV se ha realizado mediante pruebas objetivas y sin conocer los resultados de los ACA. En los 63 pacientes restantes (21%), el diagnóstico de ETEV se ha basado en criterios clínico-biológicos estrictos: clínica evidente, dímeros D aumentados junto

con gasometría arterial y electrocardiograma compatible en caso de TEP. Este último grupo de pacientes presenta una similitud de resultados ACA positivos respecto al resto de pacientes diagnosticados con pruebas objetivas (14% versus 18%,  $p=0,3$ ) y, además, no presentan diferencias significativas en la prevalencia de ACA si comparamos ambos grupos de pacientes según el tipo de ETEV (TVP, TEP y TVP+TEP,  $p=0,44$ ; 0,69 y 0,13 respectivamente).

Otro tema de interés es la estandarización de la técnica de ELISA. La mayoría de estudios no dan el coeficiente de variación para el test de ELISA y, en los que lo dan, el coeficiente de variación intra e interensayo es muy variable<sup>121,159</sup>, por este motivo Gissburg y colaboradores piensan que es mejor expresar los títulos de ACA en valores relativos en lugar de absolutos y consideran oportuno describir rutinariamente el coeficiente de variación entre estudios<sup>106</sup>. En nuestro trabajo, se han rechazado las muestras hemolizadas o inactivadas por el calor para evitar falsos positivos y los resultados de los títulos de ACA son estrictamente referidos al estándar Internacional de Anticuerpos Antifosfolípido (KAPS), incluido en el Kit<sup>86,160</sup> y, reflejan buena precisión inter e intraensayo.

Es posible que la selección de los pacientes origine discrepancias en la prevalencia de los ACA, tanto en población general como en pacientes con diferentes patologías (LES, ETEV, etc.), pero también es muy probable que diferencias técnicas como la dependencia de cofactor, el nivel de positividad, etc., puedan contribuir también a estos resultados dispares<sup>26,161-165</sup>. Nosotros hemos intentado minimizar estas deficiencias valorando, además de la positividad o negatividad de los ACA, los títulos, las medias de los mismos para cada grupo de positividad establecido y su evolución en el tiempo.

---

Creemos que es necesario realizar determinaciones seriadas de los títulos de ACA y especificar el isotipo concreto para establecer el valor real de los mismos en la ETEV. Estos hechos según la literatura pueden influir en la relación ACA-ETEV. Nuestro grupo ha realizado varias determinaciones de ACA y ha especificado su isotipo en 211 pacientes.

En nuestro estudio no hemos objetivado ningún paciente positivo para AL; esto coincide con los datos obtenidos por Mateo y colaboradores que en un estudio multicéntrico de 2.132 pacientes con ETEV describen un 0.56% de AL<sup>143</sup>. Ginsberg y colaboradores en 65 pacientes con ETEV y sin LES hallan un 14% de AL y consideran que existe una fuerte asociación entre ETEV y AL, además de esta incidencia tan elevada, resulta curiosa la alta proporción de TEP/TVP y la edad media de los pacientes<sup>135</sup>. Estos datos hacen pensar que la muestra fue seleccionada en algún sentido. Basándose en los datos publicados es difícil argumentar que el AL se asocie a trombosis fuera del contexto del LES o enfermedades autoinmunes porque los estudios constan de pocos pacientes<sup>5</sup>.

Por último, es de destacar que los pacientes incluidos han recibido un tratamiento homogéneo para la ETEV, ya que el 100% fueron tratados según idéntico protocolo de anticoagulación, manteniendo INR entre 2,5 y 3,5. De esta forma se han evitado las posibles diferencias en los resultados de positividad de los ACA que pudieran atribuirse al tratamiento anticoagulante.

### 3.- Consideraciones sobre prevalencia de los ACA positivos.

#### 3.1.- Pacientes y controles.

Además de las deficiencias de la técnica de ELISA comentadas con anterioridad, otra causa de discrepancia en la relación ACA-EDEV es debida a la selección de los pacientes y de los sujetos sanos.

En nuestro estudio observamos en el grupo control una prevalencia de positividad para ACA del 2,6% (ACA IgG = 1,7% y ACA IgM = 0,9%), esta baja prevalencia es consistente con la de otros autores que la describen entre un 1 y un 3%<sup>91,95,96</sup>. No obstante, la verdadera prevalencia (incidencia), evolución natural y trascendencia clínica de los ACA en sujetos sanos es todavía controvertida debido, por un lado, a los pocos trabajos realizados y, por otro, a las posibles diferencias en las poblaciones estudiadas (principalmente en cuanto a sexo y edad). Se han descrito prevalencias en controles sanos desde el 0 al 50%<sup>97-99</sup> lo cual demuestra la falta de estandarización tanto de la técnica (nivel de positividad) como de los sujetos elegidos.

En pacientes sin LES y sin SAPL primario no se ha demostrado relación de los ACA con la EDEV probablemente debido al pequeño número de pacientes estudiados y a la amplia heterogeneidad de las series estudiadas<sup>5,112,166</sup>. En el total de nuestros pacientes con EDEV y sin LES (295 pacientes) y, considerando cualquier determinación positiva de ACA realizada en diferentes momentos, observamos una alta prevalencia de pacientes ACA positivos, al igual que Bick y colaboradores<sup>141</sup>. Dicha prevalencia es significativamente superior respecto a la de los controles sanos (17,7 % vs. 2,6 %,  $p < 0,001$ ) con

títulos de ACA muy por encima del nivel de positividad empleado en la técnica. Además, estas diferencias significativas también existen cuando las comparaciones se realizan teniendo en cuenta las determinaciones de ACA en el momento agudo de la ETEV, al mes y a los 4 ó 6 meses. Ginsberg y colaboradores no observan relación de los ACA con la ETEV en pacientes sin LES al objetivar un alto porcentaje de ACA positivos en su grupo control<sup>135</sup>; este hecho podría explicarse debido a que el grupo control no estaba constituido por sujetos sanos; el número de ACA positivos sería superior por tratarse de pacientes con posibles procesos intercurrentes. Además no definen el número de determinaciones de ACA realizadas ni especifican el isotipo.

Este porcentaje de positividad que nosotros observamos hace, que como en otros trabajos<sup>16,141</sup>, los ACA sean la alteración adquirida más frecuentemente demostrada en nuestros pacientes con ETEV.

A diferencia de los estudios en pacientes sin LES, la mayoría de los resultados descritos en grandes series de pacientes con LES sugieren que la presencia de anticuerpos antifosfolípido está asociada con complicaciones trombóticas venosas<sup>5,24,44,46,104,105</sup>. En estos pacientes la asociación ACA-ETEV está en relación con el título del anticuerpo, el isotipo IgG, el tiempo de persistencia de la positividad y la dependencia de cofactor ( $\beta_2$ -GPI) de los ACA. Los ACA pueden estar influenciados por la actividad de la propia enfermedad o por otros autoanticuerpos patógenos<sup>44</sup>. Los pacientes con LES presentan una alta incidencia de ETEV (en torno al 40%) incluso en ausencia de anticuerpos antifosfolípido<sup>5,24</sup>. Es preciso hacer estudios de ACA en pacientes con ETEV y sin LES o enfermedades autoinmunes para poder valorar su significado clínico

en estos pacientes.

También los trabajos realizados en los pacientes con SAPL primario muestran asociación de los ACA con la ETEV, pero la mayoría son estudios con pocos casos<sup>46,112,167</sup>.

### 3.2.- Sexo y edad.

Respecto al sexo, nuestra serie es bastante homogénea (ratio hombre/mujer de 1,3) y no presenta diferencias significativas en cuanto a la positividad para ningún isotipo de ACA. Muir y colaboradores tampoco observan relación de los ACA con el sexo en pacientes sin LES<sup>117</sup>. Otros trabajos en pacientes con SAPL primario muestran una proporción hombre/mujer cercana a la nuestra<sup>114,115</sup>. En pacientes con LES se objetiva una relación de los ACA con el sexo femenino debida, lógicamente, a que los pacientes con LES son mayoritariamente mujeres.

Hay pocos estudios sobre la frecuencia de los ACA en hombres sanos para poder determinar el efecto del sexo, pero la tendencia existente a asumir que (como suele ocurrir con la mayoría de autoanticuerpos) los ACA son más frecuentes en las mujeres que en los hombres es bastante arriesgada. Shi y colaboradores, en un total de 499 donantes de sangre objetivaron un 4,6% de muestras positivas para ACA IgG y un 4,6% para ACA IgM y no observaron asociación significativa de estos anticuerpos con la edad o el sexo<sup>96</sup>.

Destacamos que las mujeres con ETEV padecen neoplasias con más frecuencia que los hombres pero no existe asociación entre ACA y neoplasias.

La media de edad de nuestros pacientes es de 63 años, con una desviación estándar de 16 años.

En nuestro estudio los pacientes jóvenes (menores de 40 años) con ETEV presentan ACA positivos con más frecuencia que los pacientes mayores de 40 años. Además, existe esta tendencia para ambos isotipos de ACA por separado. Este hecho apoya nuestra hipótesis de que los ACA estén relacionados con el fenómeno trombótico y que no sean consecuencia del daño endotelial atribuible a la mayor incidencia de enfermedades asociadas que presentan los pacientes de mayor edad ( $p < 0,0001$ ). Pensamos, por tanto, que la asociación entre ACA y ETEV no depende de los factores de riesgo o de las enfermedades asociadas a la edad avanzada. Los politraumatismos y el tabaco son más frecuentes en pacientes jóvenes pero no existe asociación entre estos parámetros y los ACA. Muir y colaboradores observaron un incremento del título de ACA IgG dependiente de la edad y del número de factores de riesgo vascular en pacientes no seleccionados con embolismo agudo y sugieren que los ACA son acompañantes inespecíficos de enfermedad vascular<sup>117</sup>. Al respecto hay que comentar que no definen la edad media de los pacientes y la población consta de pacientes con patología arterial principalmente y con factores de riesgo cardiovasculares diferentes a los nuestros.

CATEGORIAS	EDAD (MEDIA)	(P)
tabaco sí	57,0208	0,004
tabaco no	64,2348	
enf. asociada sí	66,6467	<0,0001
enf. asociada no	57,1171	
traumatismo sí	47,8182	0,0139
traumatismo no	63,6514	
arteriopatía sí	67,9487	0,038
arteriopatía no	62,3164	

Factores de riesgo para ETEV en dependencia de la edad.

Los trabajos hechos en población sana describen una mayor prevalencia de ACA en sujetos de mayor edad. Sin embargo, estos estudios definen la positividad para ACA de forma diferente (cualquier positivo versus altamente positivos, superiores a 5 DS de la media) por lo que no son comparables; de hecho, son infrecuentes los ACA positivos a títulos altos en la población adulta<sup>99</sup>.

### **3.3.- Isotipos de ACA (IgG e IgM).**

En nuestro estudio ambos isotipos de ACA (IgG e IgM) presentan individualmente una prevalencia significativamente mayor en los pacientes que en los controles sanos, sin embargo, el isotipo ACA IgG se detecta con más frecuencia (13,6% IgG versus 8,2% IgM,  $p=0,02$ ). Estos datos son similares a los obtenidos en otros trabajos que consideran a los ACA IgG como los anticuerpos que se asocian con la trombosis y que los ACA IgM son relativamente inespecíficos y meros acompañantes del daño endotelial que se produce en la ETEV<sup>87,93,168</sup>. El trabajo de Oger y colaboradores sugiere que son los ACA IgM los que se asocian con trombosis pero no incluye pacientes con TEP, no valora los factores de riesgo ni las enfermedades asociadas que podrían relacionarse con los ACA IgM y, el porcentaje de controles positivos para ACA IgG es muy elevado (23%)<sup>103</sup>.

En cuanto a la valoración de los factores de riesgo: 1) en los pacientes con más de una localización afecta de TVP son más frecuentes los ACA IgG que los ACA IgM (18,7% versus 6,2%). 2) los pacientes con antecedentes de ETEV previa tienen mayor frecuencia de ACA IgG positivos ( $p=0,01$ ) que los pacientes sin estos antecedentes, hecho que no ocurre con los ACA IgM. 3) los pacientes con arteriopatía o cirugía previa presentan con más frecuencia ACA IgM positivos ( $p=0,03$  y  $p=0,01$  respectivamente) que



los pacientes sin estos factores de riesgo; esto no ocurre con los ACA IgG. Todos estos datos nos apoyan la hipótesis de que los ACA IgG se comportarían como factores de riesgo de ETEV y los ACA IgM estarían asociados a circunstancias patológicas concomitantes.

#### **4.- Consideraciones sobre los ACA y las variables clínicas.**

Nosotros hemos considerado los factores de riesgo de ETEV aceptados actualmente además de las enfermedades asociadas que presentaban los pacientes en el episodio agudo de la ETEV. Dado el alto porcentaje de pacientes que presentan factores de riesgo conocidos de ETEV (96,6%), se podría postular que los ACA actúan conjuntamente con alguno o varios de ellos para causar la trombosis. Los ACA pudieran asociarse a alguno de estos factores de riesgo o a alguna de las enfermedades asociadas presentes en el momento de la determinación. El estudio estadístico muestra que los ACA positivos en pacientes con ETEV son independientes de la mayoría de estas variables.

De todos los factores de riesgo y enfermedades asociadas solamente la edad, los antecedentes previos de ETEV, la cirugía reciente y la arteriopatía junto con los déficits de proteínas inhibitoras (que se discutirán en el apartado de variables biológicas) merecen ser comentadas.

Como hemos visto anteriormente, en nuestra serie no existe asociación entre ACA positivos IgG e IgM con la edad avanzada.

Ya hemos comentado la asociación entre la ETEV previa y los ACA IgG positivos. Es conocido que la ETEV previa es un factor de riesgo muy importante en cuanto al padecimiento de ETEV posterior. Además del daño vascular que se produce tras un episodio de

---

trombosis (síndrome postrombótico) que favorece la recurrencia de episodios en el mismo territorio vascular, creemos que los ACA IgG juegan un papel importante en dichas recurrencias ya que la mencionada asociación no se da con igual tendencia para los pacientes ACA IgM positivos ni para los pacientes ACA negativos. Además, en el análisis bivariante de los parámetros clínicos, la ETEV previa no se relaciona con ninguno de los demás.

La frecuencia de complicaciones trombóticas en el curso de diversos tipos de cirugía es elevada. Además del estasis circulatorio que se produce y las alteraciones de proteínas de la hemostasia, hoy día se considera que el factor patogénico más importante es la disminución de la actividad fibrinolítica local que alcanza su máxima intensidad a las 24 horas de la cirugía<sup>169,170</sup>. En el estudio bivariante de los parámetros clínicos, los pacientes intervenidos quirúrgicamente presentan, como es lógico, mayor número de factores de riesgo ( $p < 0,001$ ) a expensas de la inmovilización y de los politraumatismos. Como hemos discutido con anterioridad, estos pacientes presentan mayor frecuencia de positividad para ACA IgM.

En nuestro estudio, los pacientes que fuman presentan arteriopatía y mayor número de factores de riesgo con más frecuencia ( $p = 0,03$  y  $p < 0,001$  respectivamente, en el análisis bivariante). Estos datos ya demostrados en la población general son válidos para nuestra población de pacientes con ETEV. No existe asociación entre arteriopatía y otras variables clínicas estudiadas. También los pacientes afectados de arteriopatía presentan con mayor frecuencia ACA IgM positivos que los no afectados de arteriopatía como hemos discutido anteriormente.

## 5.- Consideraciones sobre los ACA y las variables biológicas.

### 5.1.- TTPA.

Al igual que Bick y colaboradores no observamos diferencias significativas en la ratio de TTPA entre los pacientes ACA positivos y ACA negativos y, en cuanto al AL consideramos que la determinación de la TTPA no es el método de screening ideal para su detección<sup>171</sup>. El 96,2% de nuestros pacientes presentan una ratio de TTPA normal o acortada. Existen trabajos que demuestran alargamiento de TTPA en pacientes con anticuerpos antifosfolípido<sup>44</sup>. Este hecho se explica porque son pacientes que presentan AL cuya característica biológica es alargar la TTPA<sup>172</sup>. Nuestros pacientes no presentan AL (ya se ha discutido en apartado de prevalencia).

### 5.2.- Cifra de plaquetas.

El 11,9% de nuestros pacientes presentan trombocitopenia y sólo 4 pacientes presentan cifras inferiores a  $100 \times 10^9/L$ . En nuestra serie no existe asociación entre trombocitopenia y ACA positivos en pacientes con ETEV sin enfermedad autoinmune. Los estudios que demuestran asociación de los ACA con trombocitopenia están compuestos por pacientes con ETEV, LES o SAPL primario<sup>46,112-116</sup>. No obstante, los datos existentes en relación a la patogénesis de los ACA con trombocitopenia son poco claros<sup>173-175</sup>. Galli y colaboradores demuestran que el desarrollo de trombocitopenia es debido, más que a los ACA y/o AL, a la presencia de altos niveles de anticuerpos anti-glicoproteína plaquetar<sup>175</sup>. Creemos que los ACA no son el origen de la trombocitopenia que pueda aparecer en pacientes con ETEV y sin LES o enfermedades autoinmunes relacionadas y, quizás esté asociada con la propia enfermedad autoinmune. Así mismo, en

pacientes con SAPL primario es preciso descartar que la trombocitopenia sea debida a la PTA (púrpura trombocitopénica autoinmune), entidad en la que se describen los ACA hasta en un 31%<sup>173,176</sup>.

### 5.3.- Déficits de proteína C y S anticoagulantes.

De los 16 pacientes con defectos de proteínas, 5 tienen ACA positivos y todos ellos del isotipo IgG. Existe una asociación entre estos déficits y los ACA IgG positivos.

Se ha descrito que algunas fracciones de IgG que se unen a antifosfolípidos pueden inhibir la actividad de la proteína C<sup>177</sup>. También se ha sugerido que los ACA pueden ser autoanticuerpos anti-proteína S patogénicos<sup>178</sup>. Tras la generalización del test de la APC-R, se han publicado gran número de estudios que encuentran con alta frecuencia el fenotipo de APC-R en pacientes con AL<sup>179</sup> y en portadores de AAPL<sup>179-183</sup>. Sin embargo, se trata de un rasgo adquirido y no dependiente de la presencia del alelo FV:Q<sup>506</sup><sup>184-188</sup>. En ninguno de estos estudios se encuentra una prevalencia de la mutación en los pacientes con AAPL superior a la esperada. Se ha comprobado que el AL y el FV:Q<sup>506</sup> son factores de riesgo independiente para la trombosis venosa<sup>188</sup>.

Creemos que la asociación de ACA IgG con el déficit congénito de proteína C o S es casual pero, lógicamente, aumenta el riesgo de ETEV por lo que en nuestra serie (compuesta exclusivamente por pacientes con ETEV) no es despreciable esta asociación.

## 6.- Consideraciones evolutivas sobre el tipo de positividad de los ACA.

### 6.1.- Epifenómeno / no epifenómeno.

Como ya hemos visto anteriormente, el porcentaje de pacientes ACA positivos es significativamente superior al de los controles independientemente del momento en que se realice la determinación. Estos datos no nos ofrecen información acerca de la posible relación con la ETEV en dependencia del tipo de positividad y del isotipo de ACA con lo cual es difícil, en la práctica, dar valor a las técnicas biológicas debido a la variabilidad de los resultados de ACA en un mismo paciente estudiado en diferentes momentos<sup>189</sup>.

De los 211 pacientes de nuestro estudio que tienen más de una determinación de ACA realizada, 59 han presentado alguna positiva: 37 para ACA IgG y 22 para ACA IgM. 10 pacientes (27%) de los ACA IgG positivos y 8 (36,4%) de los ACA IgM positivos se comportan como **epifenómenos**. Si comparamos el porcentaje de positividad para ACA de los pacientes que se comportan como epifenómeno con el porcentaje de positividad para ACA de los controles, no existen diferencias significativas para ninguno de los isotipos ( $p=0,1419$  para ACA IgG y  $p=0,1143$  para ACA IgM). Además, la proporción de epifenómenos en pacientes ACA IgG e IgM es similar.

Estos datos sugieren que existe un grupo de pacientes que son positivos para ACA sólo en el momento agudo de la ETEV y que serían una consecuencia del daño endotelial producido en ese momento. Este hecho puede ser una de las causas de la discrepancia existente en la literatura respecto a la relación entre los ACA y la ETEV. Por tanto, para poder determinar el valor pronóstico de los ACA creemos, al igual que otros autores<sup>189-191</sup>, que es

necesario repetir las determinaciones a distancia del episodio trombótico agudo y realizar un seguimiento de los pacientes (tanto clínico como analítico); los estudios retrospectivos sólo estiman la prevalencia de SAPL en pacientes con una sola determinación de ACA positiva que es preciso interpretar con prudencia.

Por otro lado, 27 (73%) de los pacientes ACA IgG positivos y 14 (63,6%) de los ACA IgM positivos, se comportan como **no epifenómeno**. Si realizamos la comparación con los controles del mismo modo que anteriormente, observamos diferencias significativas para el isotipo ACA IgG ( $p < 0,001$ ). Además, según la "prueba de conformidad", el hecho de que los pacientes ACA IgG positivos se comporten como no epifenómeno, no es fruto del azar; es decir, existe una asociación entre comportarse como no epifenómeno para ACA IgG y la presencia de ETEV. Este hecho no se constata para el isotipo ACA IgM. Los ACA IgM quizás sean relativamente inespecíficos y podrían estar relacionados más con patologías asociadas a los pacientes y de allí que los resultados publicados para este isotipo sean más contradictorios<sup>16,87,93,114,168,171</sup>.

## **6.2.- Positividad permanente / positividad transitoria.**

Si valoramos la evolución de los pacientes con positividad de no epifenómeno para ACA, observamos que de los 27 pacientes ACA IgG, 14 (52%) son positivos permanentes y 13 (48%) transitorios. De los 14 pacientes ACA IgM, 4 (28,6%) son positivos permanentes y 10 (71,4%) transitorios. Es decir, existen dos grupos de pacientes cuya positividad como no epifenómeno evoluciona de forma diferente.

Los pacientes **positivos transitorios** constituyen un porcentaje no despreciable para ambos isotipos, principalmente para los ACA IgM,

---

sin existir diferencias significativas entre ambos. Si realizamos la comparación de estos pacientes con el grupo control (como hicimos con los epifenómenos) no se evidencian diferencias significativas. Estos pacientes no son un grupo homogéneo en cuanto al comportamiento evolutivo de los ACA:

De los 13 pacientes ACA IgG positivos transitorios, 8 (61%) son negativos en el momento agudo de la ETEV y posteriormente se positivizan y, de los 10 pacientes ACA IgM positivos transitorios, en 8 (80%) también se da este comportamiento. Estos datos nos sugieren, al igual que a otros autores<sup>44,138</sup>, que existe un número de pacientes positivos transitorios para ambos isotipos en los que podría producirse un “consumo” de los ACA producido durante el cuadro trombótico. En estos pacientes no podemos descartar que los ACA no sean un factor de riesgo de ETEV. Este hecho nuevamente refuerza el poco valor de una sola determinación de ACA.

Existen 5 pacientes para ACA IgG y 2 para ACA IgM que son positivos en el momento agudo de la ETEV, después se negativizan y, posteriormente se vuelven a positivizar. La evolución “fluctuante”, de estos ACA podría estar relacionada con las patologías asociadas que presentan los pacientes y, no estaría relacionada con la ETEV. Fuera de la patología autoinmune, estos anticuerpos se han descrito como transitorios, pareciendo integrarse en una respuesta a diferentes estímulos ambientales (del entorno)<sup>9,192,193</sup>.

En nuestro estudio los pacientes que presentan déficit de proteínas inhibidoras de la coagulación tienen los ACA IgG positivos con más frecuencia pero esta positividad es transitoria. Este hecho iría a favor de considerar que los pacientes con déficits hereditarios de proteínas inhibidoras de la coagulación pueden presentar de forma coincidente positividad transitoria para ACA IgG. Este tipo de anticuerpo podría

ser considerado como un fenómeno asociado con el proceso trombótico y no tendría una relación de causa-efecto ya que los déficits de proteínas inhibidoras son congénitos y la positividad de los ACA es transitoria. No obstante, se ha descrito asociación de TVP con ACA positivos transitorios y déficits de proteínas adquiridos sugiriendo uno de los posibles mecanismos de trombosis de los ACA<sup>194,195</sup>. Es conocido que los ACA interfieren en las determinaciones de algunos déficits de proteínas por lo que creemos que todas las alteraciones supuestamente congénitas de trombofilia se han de confirmar siempre y, especialmente si el paciente es ACA positivo.

Otro grupo de pacientes son los **positivos permanentes**: 14 pacientes para ACA IgG (52% de los no epifenómenos) y 4 para ACA IgM (28,6% de los no epifenómenos). El porcentaje de positividad de los pacientes ACA IgG es significativamente superior al de los ACA IgM ( $p=0,0137$ ). La comparación de este porcentaje con el del grupo control demuestra diferencias significativas para los ACA IgG ( $p=0,0393$ ), no para los ACA IgM. Los ACA IgG permanentes son los responsables de las diferencias existentes entre el grupo de epifenómenos y no epifenómenos cuando los comparamos con el grupo control y, que este tipo de positividad sería un factor de riesgo de ETEV. Este hecho se ha comprobado por otros autores en pacientes con LES<sup>24</sup> y pensamos que también es válido para pacientes sin LES.

### **6.3.- Títulos de ACA.**

La mayoría de la población presenta niveles de ACA indetectables, éstos no tienen una distribución normal y, además, pueden fluctuar en el tiempo. Por tanto es más apropiado utilizar para el cálculo del



---

límite superior de la normalidad el percentil 95 de la distribución de valores en sujetos sanos<sup>196</sup>.

En nuestro estudio los pacientes ACA positivos presentan las medias de los títulos de todas las determinaciones realizadas a cada paciente significativamente más elevadas que en los pacientes ACA negativos. Dentro del grupo de pacientes ACA positivos, aquellos con positividad permanente presentan la media de sus títulos significativamente más elevada que en los pacientes con positividad transitoria o epifenómenos para ambos isotipos. Estos datos nos sugieren, al igual que a Hughes y colaboradores, que los pacientes con títulos elevados de ACA de forma permanente predisponen a alteraciones tromboticas<sup>107</sup>. En este mismo sentido, los estudios de casos-control han demostrado que la asociación de ACA con ETEV es más fuerte en presencia de niveles altos y persistentes de ACA IgG<sup>106</sup>. Ames y colaboradores observan que la media de los títulos de ACA IgG es significativamente superior en los pacientes que padecen trombosis que en los pacientes sin ella<sup>108</sup>.

Por otro lado, los títulos de ACA de los pacientes con positividad transitoria o epifenómenos no se diferencian entre sí. Estos datos favorecen la hipótesis de que los títulos "fluctuantes" de los ACA puedan ser consecuencia del propio fenómeno trombotico o estar relacionados con la actividad de otras enfermedades que presenten los pacientes.

Así pues, podríamos pensar que existen tres tipos diferentes evolutivos de ACA: unos que se mantienen persistentemente positivos con alta titulación y que son los que verdaderamente predisponen a ETEV (este hecho está ampliamente descrito en pacientes con LES y SAPL primario)<sup>193</sup>, otros cuya positividad sólo se objetiva en el momento agudo de la ETEV (epifenómenos) que

pueden ser secundarios al daño endotelial producido durante la trombosis y, otro grupo de anticuerpos con positividad transitoria en relación con posibles estímulos ambientales o patologías asociadas, descritos en la literatura como "fluctuantes", cuya relación con la trombosis sería difícil de demostrar.

Se ha descrito que las manifestaciones trombóticas en los pacientes con LES y ACA están en relación con la dependencia de cofactor<sup>162,165,193,197,198</sup>. Nosotros no hemos determinado la  $\beta_2$ -GPI, pero podríamos pensar que los diferentes grupos de positividad que presentan los ACA estarían en relación con su dependencia de cofactor. Los ACA transitorios a título débil (incluidos los epifenómenos) podrían no depender de cofactor por lo que no serían patogénicos y, la trascendencia de los ACA a título permanentemente elevado estaría relacionada con su dependencia de cofactor.

#### **7.- Consideraciones sobre los ACA positivos permanentes.**

Se necesitan estudios prospectivos para conocer el significado clínico de los ACA y la actitud a seguir ante sujetos sanos sin ETEV y con ACA positivos. Ginsburg y colaboradores consideran que el nivel de ACA por encima del percentil 95th es un factor de riesgo para ETEV en adultos sanos<sup>106</sup>. En un estudio reciente, la evolución natural de estos anticuerpos muestra una tendencia a la negativización de los niveles de ACA en la mayoría de casos, sin objetivarse repercusión clínica<sup>95</sup>. Los autores piensan que en sujetos sanos con ACA positivos son necesarios otros factores de riesgo de ETEV para que se produzcan trombosis. Probablemente sea la evolución de los ACA en el tiempo la que

---

defina a los sujetos expuestos a un riesgo elevado de trombosis y, como ya hemos mencionado, creemos que los ACA positivos transitorios no tienen la misma significación clínica que los ACA positivos permanentes a título alto. Estos últimos son más frecuentes en la población con ETEV.

En nuestro estudio la positividad de ACA IgG permanente es más frecuente que la positividad permanente de ACA IgM ( $p=0,01$ ).

Además, la positividad permanente para los ACA IgG a títulos altos se asocia a la edad inferior a 40 años, hecho que no hemos demostrado para los ACA IgM. Esto va a favor de considerar que los ACA IgG positivos permanentes no son un fenómeno secundario a la patología vascular típicamente asociada a la edad (ateroesclerosis o el envejecimiento de los vasos) y, este hecho apoya nuevamente nuestra hipótesis de que este patrón de positividad realmente es un factor de riesgo importante de trombosis, cosa que no ocurre con otros tipos de positividad.

Los pacientes con ETEV previa se relacionan de forma significativa con la positividad permanente para ambos isotipos de ACA. En estos pacientes se observan diferencias significativas entre los títulos permanentemente elevados de ACA y los títulos epifenómenos o positivos transitorios. Estos hechos apoyan la teoría de que los ACA tienen un papel importante en el origen del fenómeno trombótico. En este sentido, Alarcon-Segovia y colaboradores proponen que la definición de SAPL debe comprender, además de las manifestaciones clínicas, unos títulos de ACA superiores a 5 desviaciones estándar de la media de los controles durante al menos 2 ocasiones<sup>44</sup>.

Los pacientes con antecedentes familiares de ETEV presentan los ACA IgG positivos de forma permanente más frecuentemente que los

pacientes sin dichos antecedentes pero la media de los títulos no difiere entre ellos. Esta circunstancia no es lógica y creemos que en parte se debe a que, tanto los pacientes con antecedentes familiares de ETEV como los pacientes ACA positivos permanentes, son más jóvenes. Hay autores que mantienen el concepto de “asociaciones familiares de los AAPL”<sup>199</sup>, pero en los familiares de los pacientes ACA positivos no hemos realizado la determinación. Probablemente alguno de estos pacientes con antecedentes familiares padezca otras alteraciones de trombofilia congénitas recientemente descritas (p.e APC-R, alteración del gen de la protrombina, factor VII y factor XII) que no hemos realizado.

Los pacientes que fuman presentan de forma más frecuente positividad permanente de ACA IgG que los pacientes que no fuman ( $p=0,002$ ) y, como hemos comentado antes, este hecho lo atribuimos a que los primeros son más jóvenes.

Al igual que Piette y colaboradores<sup>189</sup>, pensamos que la búsqueda de ACA debe hacerse ante pacientes con trombosis, sobre todo en pacientes jóvenes (no únicamente mujeres), si son recidivantes e incluso en presencia de factores de riesgo clásicos (embarazo, parto, tabaco, toma de estrógenos) porque pueden jugar un papel trombógeno adyuvante en el curso del SAPL. Con los datos obtenidos de nuestro estudio, independientemente de la existencia de LES o enfermedades autoinmunes relacionadas, en los pacientes con ETEV y títulos persistentemente elevados de ACA IgG (y muy especialmente si son jóvenes y tienen historia previa de ETEV) consideramos oportuno el estándar de tratamiento descrito por Khamashta y colaboradores<sup>134</sup>. Es decir, tratamiento con anticoagulantes orales, prácticamente de por vida y manteniendo un INR > 3. En este sentido se debe ser más estricto si el episodio

trombótico se ha producido sin factores de riesgo conocidos. Los antiagregantes plaquetares, aunque tienen la ventaja de mayor inocuidad, no han mostrado su eficacia<sup>104</sup>.

Si los ACA son transitorios y de isotipo IgM no estaría indicado continuar con anticoagulación profiláctica después del primer episodio trombótico.

En los sujetos sanos que presentan los títulos de ACA persistentemente elevados y que todavía no han padecido ningún evento trombótico hay que hacer profilaxis con heparina en situaciones concretas de riesgo trombótico y considerarlos como un factor de riesgo más a la hora de valorar al paciente.

#### **8.- Consideraciones sobre los pacientes con ETEV previa.**

En nuestro estudio no observamos diferencias significativas entre los pacientes con antecedente de ETEV previa y sin dicho antecedente con relación a la edad y el sexo. En este sentido los dos grupos de pacientes son comparables por lo que las diferencias de positividad para ACA IgG que presentan los pacientes con ETEV previa no se pueden atribuir a que éstos sean más jóvenes.

Los pacientes con ETEV previa presentan con menos frecuencia enfermedad cardiológica y encamamiento durante el episodio actual. Es de suponer que estos pacientes tienen otros factores de riesgo más potentes como los ACA positivos, los estados de trombofilia congénitos, la nefropatía, los SMPC y, sin duda alguna, el propio antecedente de ETEV. De esta forma, el encamamiento y la cardiopatía pierden potencia como factores de riesgo.

Los pacientes con ETEV previa con edad inferior a 40 años presentan ACA IgG positivos permanentes y a títulos

significativamente más elevados que los pacientes de edad superior a 40 años. Estos datos van más a favor de que la positividad permanente de ACA IgG sea un factor de riesgo para ETEV al tratarse, por un lado, de pacientes jóvenes con menos enfermedades predisponentes y, por otro, al hecho de que la positividad se mantiene permanente y no "transitoria" después de haber padecido trombosis previas.

Aunque no se observan diferencias estadísticamente significativas, es de resaltar que el 50% de los pacientes con ETEV previa, correspondientes al grupo de positivos permanentes ACA IgG, han presentado el episodio actual (recidiva) antes del año frente al 23% de los pacientes ACA IgG negativos. Los títulos de ACA IgG positivos tienden a ser más elevados en los pacientes que presentaron el episodio previo de ETEV en el año precedente al actual que en aquellos que lo habían presentado hacía más de un año. Como hemos comentado anteriormente estos hechos pueden tener ciertas implicaciones en relación con el tratamiento a seguir ya que existe una tendencia a la recidiva precoz de la ETEV en pacientes con títulos permanentemente elevados de ACA IgG.

Si estudiamos todos los pacientes ACA positivos, observamos que aquellos que presentaron su primer episodio de ETEV antes de los 40 años presentan unos títulos de ACA IgG significativamente superiores a los demás y los que recidivaron antes del año también presentan unos títulos de ACA IgG significativamente más elevados que aquellos que tardaron más tiempo en recidivar. Estos datos parecen indicar que los pacientes con ACA positivos presentan la ETEV en edad joven y tienen tendencia a recidivar precozmente. Vianna y colaboradores estudiaron pacientes con trombosis recurrente y APL positivos y observaron una incidencia total de

trombosis de 3.5% por año<sup>46</sup>. Datos similares al Italian Registry Group de AAPL que en un seguimiento prospectivo de 4 años en 360 casos tuvo una incidencia total de trombosis de 2.5% por año y el antecedente de trombosis fue el factor de riesgo más importante para posteriores eventos vasculares<sup>112</sup>.

## Resumen



## VI.- RESUMEN

### 1.- Introducción.

Los AAPL son unos autoanticuerpos muy heterogéneos constituidos principalmente por dos grandes grupos: los AL (detectados mediante test coagulativos) y los ACA (detectados por técnica enzimática). Forman parte de un gran grupo de autoanticuerpos dirigidos contra ciertos complejos formados por fosfolípidos unidos a proteínas plasmáticas. Hoy día, las proteínas plasmáticas mejor conocidas (cofactores) son la  $\beta_2$ -GPI y la protrombina.

La presencia de los AAPL junto con determinadas manifestaciones clínicas (trombosis venosa y arterial, abortos de repetición y trombocitopenia) constituye el denominado SAPL. El interés clínico de estos autoanticuerpos viene dado por su relativa frecuencia y por las manifestaciones de tipo trombótico a las que se han asociado, principalmente en pacientes con LES; sin embargo, hasta la fecha no se ha descrito un mecanismo fisiopatológico general que explique cómo estos anticuerpos pueden originar fenómenos trombóticos.

Se han utilizado diversos tratamientos del SAPL con resultados diferentes: los dirigidos frente a la respuesta inmune y los encaminados a combatir los efectos que producen en el sistema hemostático. Son precisos estudios clínicos prospectivos para el tratamiento o profilaxis de los fenómenos trombóticos.

## **2.- Justificación, hipótesis y objetivos.**

### **Justificación.**

La asociación y significado clínico entre ACA y eventos trombóticos en pacientes sin LES o enfermedades autoinmunes son controvertidos y han sido poco estudiados.

El gran interés de los estudios sobre los ACA radica en conocer si son predictores de riesgo trombótico y, si esto fuese así, estudiar si esta asociación es específica de los pacientes con LES o se da también fuera de este contexto para poder tomar actitudes terapéuticas y/o profilácticas en un intento de disminuir el problema clínico que supone la ETEV.

Con esta voluntad, hemos realizado un estudio para valorar si los ACA o alguno de sus isotipos constituyen un factor de riesgo o son un epifenómeno de ETEV en pacientes sin LES ni enfermedades autoinmunes relacionadas y, de esta forma, intentar identificar grupos de pacientes con diferente riesgo para padecer fenómenos trombóticos.

### **Hipótesis.**

Planteamos la hipótesis de que los ACA no son un epifenómeno de ETEV y, que a títulos permanentemente elevados, se asocian o constituyen un factor de riesgo trombótico en pacientes sin LES o enfermedades autoinmunes relacionadas.

La presencia de ACA a título débil y transitorio constituirían un fenómeno secundario o coincidente con la ETEV.

### **Objetivos.**

Determinar en nuestro medio la prevalencia de ACA positivos en pacientes con ETEV y sin LES o enfermedades autoinmunes relacionadas, ver si hay diferencias con un grupo de sujetos sanos y, evaluar si algún isotipo de ACA concreto se asocia significativamente a ETEV.

Estudiar si los ACA o alguno de sus isotipos son causa o fenómeno secundario de la ETEV valorando su comportamiento evolutivo y las variables clínico-biológicas que pueden modificarlo.

### **3.- Pacientes y métodos.**

Desde Enero de 1992 hasta Marzo de 1995 hemos incluido en el estudio un total de 295 pacientes diagnosticados y tratados de ETEV (TVP y/o TEP). El rango de anticoagulación (INR) ha sido de 2,5 a 3,5. Se han excluido a los pacientes con LES, enfermedades autoinmunes y hepatopatía aguda o crónica.

Se han determinado los siguientes datos clínicos a los pacientes: edad actual, edad de la primera ETEV, sexo, tipo de ETEV, localización del episodio de TVP actual, número de localizaciones afectadas, ETEV previa, número de episodios de ETEV previa, tiempo de recidiva de la ETEV, factores de riesgo y enfermedades asociados con ETEV, número de factores de riesgo y de enfermedades predisponentes a ETEV y antecedentes familiares de ETEV.

Se han recopilado los siguientes datos biológicos de los pacientes: hemostasia básica, tiempo de trombina, dímeros D, proteína C y S funcionales, antitrombina-III y plasminógeno funcionales, ACA y AL.

En todos los pacientes se ha determinado la presencia de ACA en

el momento del diagnóstico de ETEV y, en 211 pacientes, al mes del inicio del cuadro y/o un mes después de concluir el tratamiento anticoagulante oral (4 ó 7 meses según se tratase de TVP o TEP respectivamente). Las determinaciones de ACA se han realizado mediante técnica de sandwich por ELISA con el "Kit-ACA formato líquido" de Menarini diagnósticos S.A. El rango de normalidad para los isotipos de ACA según la técnica utilizada en nuestro laboratorio es: 13 GPL y 11 MPL respectivamente para ACA IgG y para ACA IgM. Los valores superiores a estos se han considerado positivos.

La detección de AL ha sido realizada un mes después de suspender la anticoagulación. Se han utilizado dos test de screening (PTT-LA y DRVVT) y uno confirmatorio (Staclot-PNP). Se ha considerado que un paciente presenta AL positivo cuando el test confirmatorio es patológico.

En 211 pacientes a los que se les ha determinado en más de una ocasión los títulos de ACA, hemos establecido los siguientes conceptos:

- Epifenómeno para ACA: la positividad de los ACA coincide con el episodio de ETEV y se negativizan los valores posteriormente.
- No epifenómeno para ACA: Es una variable que se compone de dos categorías:
  - Positividad permanente de ACA: que hace referencia al número de pacientes que mantienen positivos sus títulos de ACA en todas las determinaciones.
  - Positividad transitoria de ACA: que describe el número de pacientes cuyos títulos de ACA han sido negativos en el momento del episodio tromboembólico y se han positivizado posteriormente o el número de pacientes que inicialmente



fueron positivos, después se negativizaron y posteriormente volvieron a positivizarse.

- Títulos de ACA: define la media de los niveles de las determinaciones de ACA que presentan los pacientes.

En 115 controles sanos, se han determinado los títulos de ACA en una ocasión con la misma técnica utilizada para los pacientes.

El estudio estadístico de los resultados se ha realizado con la ayuda de diversos programas informáticos (SPSS). El nivel de significación bilateral se considera en  $p < 0,05$ .

#### **4.- Resultados.**

##### **Estudio descriptivo / comparaciones previas.**

En lo que se refiere al grupo control el 2,6% presentan títulos de ACA elevados: 1,7% de ACA IgG y 0,9% de ACA IgM. De los 295 pacientes 17,7% presentan positividad para ACA en alguna determinación: 9,5% de ACA IgG, 4,1% de ACA IgM y 4,1% de ACA IgG e IgM simultáneamente. La prevalencia de positividad para ACA en los pacientes con ETEV es significativamente superior respecto a la de los controles ( $p < 0,001$ ). Estas diferencias significativas también existen cuando las comparaciones con los controles se realizan en el momento agudo de la ETEV, al mes y a los 4 ó 6 meses:  $p < 0,001$ ,  $p < 0,001$  y  $p = 0,02$  respectivamente.

En los pacientes con ETEV, el isotipo ACA IgG es significativamente más frecuente que el isotipo ACA IgM ( $p = 0,02$ ).

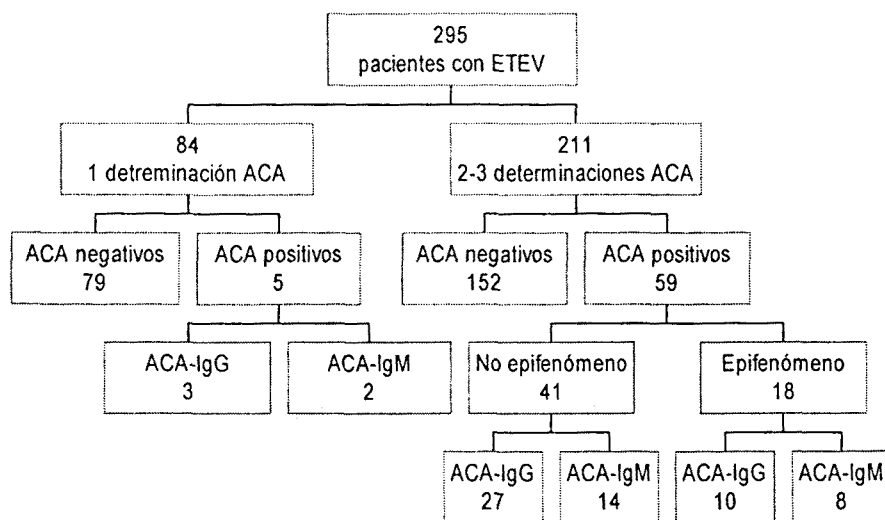
La positividad para ACA IgG e IgM no está relacionada con el sexo. Observamos que los pacientes menores de 40 años presentan una mayor proporción de ACA positivos para ambos isotipos que el grupo de edad superior a 40 años.

La existencia de ETEV previa se relaciona de forma significativa con la positividad para ACA IgG ( $p=0,01$ ). Los pacientes que presentan arteriopatía y aquellos que tienen el antecedente de cirugía se relacionan de forma significativa con la positividad para ACA IgM ( $p=0,01$  y  $p=0,03$  respectivamente).

Los pacientes con déficits de proteínas inhibidoras de la coagulación presentan más frecuentemente positividad para ACA IgG que los pacientes sin dichos déficits ( $p=0,03$ ).

### Estudio evolutivo.

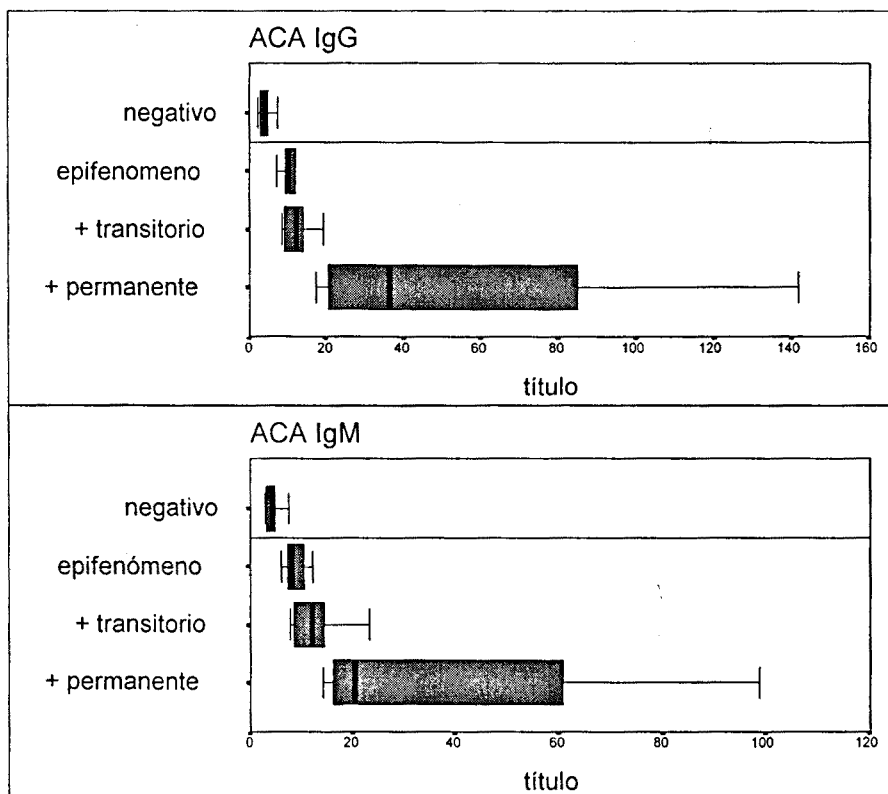
En 211 pacientes que tienen más de una determinación de ACA realizada, el estudio evolutivo de los mismos es el siguiente:



Distribución de los pacientes según el número de determinaciones de ACA realizadas, de su positividad o negatividad, de los isotipos de ACA estudiados y de los conceptos predefinidos en el apartado pacientes y métodos (epifenómeno y no epifenómeno).

La media de los títulos de ACA en los pacientes con positividad permanente para ambos isotipos de ACA se diferencia de forma significativa respecto a la media de los títulos de ACA en los

pacientes con positividad de ACA transitoria o epifenómeno:



Distribución de la media de los títulos de ambos isotipos de ACA según el tipo de positividad o negatividad.

La media de los títulos de ACA IgG es significativamente superior en los pacientes menores a 40 años ( $p=0,02$ ).

Si estudiamos la media de los títulos de ACA de los 47 pacientes positivos que presentan más de una determinación en relación con la edad del primer episodio de ETEV, observamos que los pacientes que presentaron su primer episodio de ETEV antes de los 40 años presentan unos títulos de ACA IgG significativamente superiores que los pacientes con edad superior; además, en relación con el tiempo de recidiva de la ETEV, observamos que los pacientes que recidivaron antes del año del episodio actual, presentan unos títulos

más elevados de ACA IgG que los pacientes que tardaron un año o más en presentar un nuevo episodio de ETEV.

#### **Positividad permanente de ACA.**

La positividad de ACA IgG de forma permanente es significativamente más frecuente que la positividad permanente de ACA IgM ( $p=0,01$ ).

Los pacientes con positividad permanente de ACA IgG presentan relación significativa con la edad inferior a 40 años ( $p=0,01$ ); la media de los títulos también es significativamente superior en estos pacientes ( $p=0,03$ ).

Los pacientes con ETEV previa se relacionan de forma significativa con la positividad permanente para ACA IgG ( $p=0,009$ ) y con la positividad permanente para ACA IgM ( $p=0,002$ ).

Los pacientes con antecedentes familiares de ETEV se relacionan de forma significativa con la positividad permanente para ACA IgG ( $p=0,004$ ); sin embargo, la media de los títulos no presenta diferencias significativas respecto a los pacientes sin antecedentes familiares de ETEV.

#### **Pacientes con ETEV previa.**

Los pacientes con ETEV previa menores de 40 años, presentan títulos de ACA IgG positivos permanentes de forma más frecuente que los pacientes de mayor edad ( $p=0,01$ ); además, la media de los títulos de ACA IgG permanentes en estos pacientes se relaciona de forma significativa con la edad inferior a 40 años.

El 23% de los pacientes negativos para ACA IgG tuvieron el primer episodio de ETEV antes del año del episodio actual frente al 50% de pacientes ACA IgG positivos permanentes.



---

La media de los títulos de ACA IgG de los 10 pacientes (27%) que presentaron el episodio previo de ETEV en el año precedente al episodio actual es superior a la media de los títulos de 27 pacientes (73%) que presentaron el episodio previo de ETEV hacía más de un año.

#### **5.- Discusión.**

La proporción de sujetos sanos ACA positivos es similar a la de la literatura, pero es inferior a la de grupos que estudian sujetos seleccionados con edad avanzada. El porcentaje de positividad para ACA en pacientes con ETEV es más elevado que en la población control, para ambos isotipos, y parecido al de otros estudios publicados que hacen referencia a pacientes sin lupus no seleccionados. Los ACA positivos es la alteración trombofílica que más frecuentemente hemos observado en nuestros pacientes.

Nuestros resultados coinciden con la opinión de que el isotipo IgG de los ACA se presenta con mayor frecuencia en los enfermos con ETEV. Las discrepancias con las frecuencias observadas por otros grupos creemos que se deben a diferencias en el tipo de población estudiada, a la ausencia de datos a cerca de los posibles factores de riesgo o enfermedades predisponentes a ETEV que presentan los pacientes, a la falta de estandarización de la técnica de detección de los ACA y a los pocos trabajos que realizan la determinación de ACA en más de una ocasión y que especifican el isotipo.

Coincidimos con otros autores en que los pacientes que presentan ACA positivos a títulos altos (especialmente los IgG) y de forma permanente, éstos, son un factor de riesgo de ETEV. Aunque la fluctuación observada en el tiempo de los títulos de ACA ha sido descrita en la literatura, hemos evidenciado que los pacientes con

positividad permanente presentan unos títulos significativamente más altos, para ambos isotipos, que el resto. Además, la asociación de éste patron evolutivo de los ACA IgG con la edad inferior a 40 años y la ETEV previa refuerza nuestra creencia de que los ACA predisponen a ETEV.

Pensamos que la asociación con la trombosis de los ACA positivos de forma transitoria es difícil de demostrar, estos anticuerpos pueden estar en relación con las patologías subyacentes que presentan los pacientes con ETEV; a favor de este hecho se da la circunstancia de que se asocia la arteriopatía y el antecedente de cirugía a los ACA IgM. También hay pacientes en los que se podría sugerir que la positividad transitoria se debe a un "consumo" de los ACA durante la fase aguda de la ETEV. Otro grupo de pacientes es positivo sólo en el momento de la trombosis, lo cual nos lleva a considerar que los ACA sean secundarios al daño endotelial producido en ese momento y computarse como epifenomeno.

Este comportamiento tan variado en la evolución en el tiempo de los ACA hace que consideremos imprescindible la realización de más de 1 determinación en los pacientes con ETEV; las decisiones terapéuticas dependen, en algunos pacientes, de dicho comportamiento y de los títulos de los ACA.

## Conclusiones

## VII.- CONCLUSIONES

Consideramos que las conclusiones que se desprenden de nuestro trabajo son las siguientes:

1.- La frecuencia de positividad para ACA en pacientes con ETEV y sin LES en nuestro medio es de un 17,7% frente a un 2,6% en sujetos sanos. Los porcentajes de positividad del isotipo IgG e IgM son significativamente superiores en los pacientes con ETEV que en los controles sanos, aunque el isotipo más frecuente es el IgG.

2.- De los pacientes ACA positivos para el isotipo IgG, sólo un 27% presenta una evolución de la positividad que puede considerarse como epifenómeno. Del 73% restante, un 52% presenta una positividad permanente y un 48% una positividad transitoria de los ACA IgG.

3.- De los pacientes ACA positivos para el isotipo IgM, un 36,4% presenta una evolución de la positividad que puede considerarse como epifenómeno. Del 63,6% restante, sólo un 28,5% presentan una positividad permanente y un 71,5% una positividad transitoria de los ACA IgM.

4.- Los títulos de los ACA, tanto para el isotipo IgG como para el IgM, son significativamente superiores en los pacientes ACA positivos de forma permanente que en aquellos que presentan positividad transitoria o epifenómeno.

---

5.- No se objetiva relación entre la positividad para ACA con la mayoría de las variables clínicobiológicas estudiadas, excepto con una edad inferior a 40 años, antecedente de ETEV y arteriopatía o intervención quirúrgica previa.

6.- La arteriopatía y el antecedente de cirugía se asocian con positividad para los ACA IgM. La positividad para este isotipo probablemente es una consecuencia del daño tisular existente en estas situaciones y no predispondría a ETEV.

7.- Los ACA IgG positivos permanentes son más frecuentes en los pacientes jóvenes y en pacientes con ETEV previa. Los títulos de ACA IgG positivos en pacientes jóvenes y en pacientes que recidivan antes del año son más elevados. Los ACA IgG con positividad permanente a título alto son un factor de riesgo de ETEV en pacientes sin LES.

8.- Es necesario realizar varias determinaciones de ACA seriadas en el tiempo en pacientes con ETEV para poder valorar el significado clínico de los mismos. El carácter oscilante de los niveles de ACA y la influencia que sobre ellos pueden ejercer determinadas situaciones clínicas hace que la interpretación de una única determinación de ACA deba ser cautelosa.

9.- La positividad para ACA es la alteración biológica de la hemostasia plasmática más frecuentemente detectada en los pacientes con ETEV.

10.- El estudio de los ACA y de sus isotipos debe formar parte del estudio de trombofilia, al igual que el de los defectos congénitos de la hemostasia plasmática, en todos los pacientes con ETEV.

11.- En los pacientes con ETEV en los que se objetiven ACA positivos IgG de forma permanente y a título elevado es aconsejable el tratamiento con anticoagulantes a largo plazo. Una positividad de ACA a título débil de forma transitoria o que se comporta como un epifenómeno no justifica una modificación de la actitud terapéutica en base al resultado de los ACA.

## **Bibliografía**

---

## VIII.- BIBLIOGRAFIA

- 1.- Virchow R: Phlogose und thrombose in Gesammelte Abhandlungen zur Wissenschaftlichn Medicin. Frankfurt, Van Meidlinger Sohn, 1856, pp 458-636. Cita del libro: Hemostasis and Thrombosis. Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EW. 1994.
- 2.- Mc.Neil HP, Chesterman CN, Krilis SA: Immunology and clinical importance of antiphospholipid antibodies. *Adv Immunol* 1991; 49:193-280.
- 3.- Harris EN, Gharavi AE, Boey ML et al. Anticardiolipin antibodies: detection by radioimmunoassay and association with thrombosis in systemic lupus erythematosus. *Lancet* 1983; 2: 1211-1214.
- 4.- Harris EN, Gharavi AE, Hughes GR. Anticardiolipin antibody testing: the need for standardization. *Arthritis Rheum* 1987; 30: 835-7 (letter).
- 5.- Love PE, Santoro SA. Antiphospholipid antibodies: anticardiolipin and the lupus anticoagulant in systemic lupus erytematosus (SLE) and in non-SLE disorders. Prevalence and clinical significance. *Ann Intern Med* 1990; 112: 682-698.
- 6.- Harris EN, Ghavari AE, Wasley GD, Hughes GR. Use of an enzyme-linked immunosorbent assay and of inhibition studies to distinguish between antibodies to cardiolipin from patients with syphilis or autoimmune disorders. *J Infect Dis* 1988; 157: 23-31.
- 7.- Roubey RA. Autoantibodies to phospholipid-binding plasma proteins: A new view of lupus anticoagulants and other "antiphospholipid" autoantibodies. *Blood* 1994; 84: 2854-2867.
- 8.- Oosting JD, Derksen RHWM, Bobbink IWG, Hackeng TM, Bouma BN, de Groot PG. Antiphospholipid antibodies directed against a combination of phospholipids with prothrombin, protein C, or protein S: an explanation for their pathogenic machanism?. *Blood* 1993; 81: 2618-2625.
- 9.- Boutière B, Arnoux D, Sampol J. Les anticorps antiphospholipides. *Ann Biol Clin* 1994; 52: 87-93.



- 
- 10.- Feinstein DI, Rapaport SI. Acquired inhibitors of blood coagulation. *Prog Hemost Thromb* 1972; 1: 75-95.
  - 11.- Exner T, Rickard KA, Kronenberg H. A sensitive test demonstrating lupus anticoagulant and its behavioural patterns. *Br J Haematol* 1978; 40:143-51.
  - 12.- Bick RL, Ancypa D. The Antiphospholipid and thrombosis (APL-T) syndromes. *Clinical and Laboratory Correlates. Thromb Hemost Clin Lab* 1995; 15: 27-32.
  - 13.- Locksin MD, Druzin ML, Goei S, et al. Antibody to cardiolipin as a predictor of fetal distress or death in pregnant patients with systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 1985; 313: 152-156.
  - 14.- Cuadrado MJ, Mujic F, Muñoz E, Khamashta MA, Hughes GRV. Thrombocytopenia in the antiphospholipid syndrome. *Ann Rheum Dis* 1997; 56: 194-196.
  - 15.- Galli M, Finazzi G, Barbui T. Thrombocytopenia in the antiphospholipid syndrome. *Br J Haematol* 1996; 93: 1-5.
  - 16.- Bick RL, Baker WF. Anticardiolipin antibodies and thrombosis. *Hemat Onco Clin North Am* 1992; 6: 1287-1299.
  - 17.- Hasselaar P, Derksen RHW, Blokzijl L, De Groot PG: Thrombosis associated with antiphospholipid antibodies cannot be explained by effects on endothelial and platelet prostanoid synthesis. *Thromb Haemost* 1988; 59: 80-85.
  - 18.- Francis RB, McGehee WG, Feinstein DI: Endothelial-dependent fibrinolysis in subjects with the lupus anticoagulant and thrombosis. *Thromb Haemost* 1988; 59: 412-414.
  - 19.- Tsakiris DA, Marbet GA, Makris PE, Settas L, Duckert F: Impaired fibrinolysis as an essential contribution to thrombosis in patients with lupus anticoagulant. *Thromb Haemost* 1989; 61: 175-177.
  - 20.- Comp PC, De Bault LE, Esmon EN, Esmon CP: Human thrombomodulin is inhibited by IgG from two patients with nonspecific anticoagulants. *Blood* 1983; 62: 1099.

- 
- 21.- Freyssinet JM, Wiesel ML, Gauchy J, Boneau B, Cazenave JP: An IgM lupus anticoagulant effect of phospholipid on purified endothelial thrombomodulin activity. A mechanism for thrombosis. *Thromb Haemost* 1986; 55: 309-313.
- 22.- Cariou R, Tobelem G, Bellucci S. Effect of lupus anticoagulant on antithrombogenic properties of endothelial cells: inhibition of thrombomodulin-dependent protein C activation. *Thromb Haemost* 1988; 60: 54-58.
- 23.- Oosting JD, Derksen RM, Hackeng IM, et al. In vitro studies of antiphospholipid antibodies and its cofactor  $\beta$ 2-glycoprotein show negligible effects on endothelial cell mediated protein C activation. *Thromb Haemost* 1991; 66: 666-671.
- 24.- Long AA, Ginsberg JS, Brill-Edwards P, et al. The relationship of antiphospholipid antibodies to thromboembolic disease in systemic lupus erythematosus: a cross-sectional study. *Thromb Haemost* 1991; 66: 520-524.
- 25.- Ginsberg JS, Brill-Edwards P, Johnston M, et al. Relationship of antiphospholipid antibodies to pregnancy loss in patients with systemic lupus erythematosus : A cross-sectional study. *Blood* 1992; 80: 975-980.
- 26.- Triplett DA. Antiphospholipid antibodies and thrombosis. A consequence, coincidence, or cause?. *Arch Pathol Lab Med* 1993; 117: 78-88.
- 27.- Bowie EJ, Thompson JH, Pascuzzi CA, Owen CA. Thrombosis in systemic lupus erythematosus despite circulating anticoagulants. *J Lab Clin Med* 1963; 62: 416-430.
- 28.- Alarcón-Segovia D, Osmundson PJ. Peripheral vascular syndromes associated with systemic lupus erythematosus. *Ann Intern Med* 1965; 62: 907-919. Cita en libro: *The antiphospholipid syndrome*, editado por Asherson RA .1996.
- 29.- Wassermann A, Neisser A, Bruck C. Eine serodiagnostische Reaktion bei Syphilis. *Dtsch Med Wochenschr* 1906; 32: 745-746. Cita en libro: *The antiphospholipid syndrome*, editado por Asherson RA .1996.

- 
- 30.- Pangborn MC. A new serologically active phospholipid from beef heart. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1941; 48: 484-486. Cita en libro: *The antiphospholipid syndrome*, editado por Asherson RA .1996.
- 31.- Moore JE, Mohr CF. Biologically false-positive serologic tests for syphilis: type, incidence, and cause. *JAMA.* 1952; 150: 467-473. Cita en libro: *The antiphospholipid syndrome*, editado por Asherson RA .1996.
- 32.- Moore JE Lutz WB. The natural history of systemic lupus erythematosus: an approach to its study through chronic biologic false-positive reactions. *J Chronic Dis.* 1955; 1: 297-316. Cita en libro: *The antiphospholipid syndrome*, editado por Asherson RA .1996.
- 33.- Conley CL, Hartmann RC. A hemorrhagic disorder caused by circulating anticoagulant in patients with disseminated lupus erythematosus. *J Clin Invest* 1952; 31:621. Cita en libro: *The antiphospholipid syndrome*, editado por Asherson RA .1996.
- 34.- Shoenfeld Y, Shaulian E, Berliner S, Shaklai M, Krugliak Y, Pinkhas J. Thromboembolic phenomenon in patients with lupus-type circulating anticoagulant. *Rheumatologia* 1980; 51: 417-424.
- 35.- Loizou S, McCrea JD, Rudge A, Reynolds A, Boyle CC, Harris EN. Measurement of anticardiolipin antibodies by an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA): standardization and quantitation of results. *Clin Exp Immunol* 1985; 62: 738-745.
- 36.- Gharavi AE, Harris EN, Asherson RA, Hughes GRV. Isotype distribution and phospholipid specificity in the antiphospholipid syndrome. *Ann Rheum Dis* 1987; 46: 1-6.
- 37.- Loeliger A. Prothrombin as a cofactor of the circulating anticoagulant in systemic lupus erythematosus. *Thromb Diath Haemorrh* 1959; 3: 273-276.
- 38.- McNeil HP, Simpson RJ, Chesterman CN, Krilis SA. Antiphospholipid antibodies are directed against a complex antigen that includes a lipid-binding inhibitor of coagulation: beta 2-glycoprotein I (apolipoprotein H). *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87:

4120-4124.

39.- Galli M, Comfurius P, Massau C, et al. Anticardiolipin antibodies (ACA) are directed not to cardiolipin but to a plasma protein cofactor. *Lancet* 1990; 335: 1544-1547.

40.- Matsuura H, Igarasha T, Fujimoto M, Ichikawa K, Koike T. Anticardiolipin cofactor(s) and differential diagnosis of autoimmune disease. *Lancet* 1990; 336: 117-118.

41.- Hughes GRV. The anticardiolipin syndrome. *Clin Exp Rheumatol* 1985; 3: 285-286.

42.- Hughes GRV, Harris EN, Gharavi AE. The anticardiolipin syndrome. *J Rheumatol* 1986; 13: 486-489.

43.- Harris EN, Baguley E, Asherson RA, Hughes GRV. Clinical and serological features of the antiphospholipid syndrome (APS). *Br J Rheumatol* 1987; 26(suppl 2): 19(abstract).

44.- Alarcón-Segovia D, Delezé M, Oria CV, et al. Antiphospholipid antibodies and the antiphospholipid syndrome in systemic lupus erythematosus: a review of 500 consecutive cases. *Medicine (Baltimore)* 1989; 68: 353-365.

45.- Alarcón-Segovia D, Pérez-Vásquez ME, Villa AR, Drenkard C, Cabiedes J. Preliminary classification criteria for the antiphospholipid syndrome within systemic lupus erythematosus. *Sem Arthritis Rheum* 1992; 21: 275-285.

46.- Vianna JL, Khamashta MA, Ordi-Ros J, et al. Comparison of the Primary and Secondary Antiphospholipid Syndrome: A European Multicenter Study of 114 patients. *Am J Med*, 1994; 96: 3-9.

47.- Bevers EM, Galli M, Barbui T, Comfurius P, Zwaal RFA: Lupus anticoagulant IgG's (LA) are not directed to phospholipids only, but to a complex of lipid-bound human prothrombin. *Thromb Haemost* 1991; 66: 629-632.

48.- Galli M, Comfurius P, Barbui T, Zwaal RFA, Bevers EM: Anticoagulant activity of  $\beta$ 2-glycoprotein I is potentiated by a distinct subgroup of anticardiolipin antibodies. *Thromb Haemost* 1992; 68: 297-300.

- 
- 49.- Ruiz-Argüelles A, Vazquez-Prado J, Deleze M, et al. Presence of serum antibodies to coagulation protein C in patients with systemic lupus erythematosus is not associated with antigenic or functional protein C deficiencies. *Am J Hematol* 1993; 44: 58-59.
- 50.- Sammaritano LR, Gharavi AE, Soberano C, Levy RA, Lockshin MD: Phospholipid binding of antiphospholipid antibodies and placental anticoagulant protein. *J Clin Immunol* 1992; 12: 27-35.
- 51.- Vermylen J, Arnout J: Is the antiphospholipid syndrome caused by antibodies directed against physiologically relevant phospholipid-protein complexes? *J Lab Clin Med* 1992; 120: 10-12.
- 52.- Alarcon-Segovia D, Cabral AR: Antiphospholipid antibodies. Where do they come from? Where do they go? *J Rheumatol* 1994; 21: 982-989.
- 53.- Hunt JE, Simpson RJ, Krilis SA. Identification of a region of  $\beta_2$ -glycoprotein I critical for lipid-binding and anticardiolipin antibody cofactor activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 2141-5.
- 54.- Harris NE, Pierangeli S. What is the "true" antigen for antiphospholipid antibodies? *Lancet* 1990; 336: 1505 (letter; comment).
- 55.- Shoenfeld Y, Meroni PL. The beta-2-glycoprotein I and antiphospholipid antibodies. *Clin Exp Rheumatol* 1992; 10: 205-9.
- 56.- De Croot PG, Oosting JD, Derksen RHW. Antiphospholipid antibodies: specificity and pathophysiology. *Baillieres Clin-Haematol* 1993; 691-709.
- 57.- Petri M. Pathogenesis and treatment of the antiphospholipid antibody syndrome. *Med Clin North Am* 1997; 81: 151-177.
- 58.- Carreras LO, Vermylen J: "Lupus" anticoagulant and thrombosis. Possible role of inhibition of prostacyclin formation. *Thromb Haemost* 1982; 48: 30-40.
- 59.- Watson KV, Schorer AE. Lupus anticoagulant inhibition of in vitro prostacyclin release is associated with a thrombosis-prone subset of patients. *Am J Med* 1991; 90: 47-53.

- 
- 60.- Brighton TA, Chesterman CN. Antiphospholipid antibodies and thrombosis. *Clin Haematol* 1994; 7: 541-557.
- 61.- Walker TS, Triplett DA, Javed N, Musgrave K. Evaluation of lupus anticoagulants: antiphospholipid antibodies, endothelium associated immunoglobulin, endothelial prostacyclin secretion, and antigenic protein S levels. *Thromb Res* 1988; 51: 267-281.
- 62.- Carreras LO, Maclouf J. The lupus anticoagulant and eicosanoids. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1993; 49: 483-488.
- 63.- Triplett DA. Antiphospholipid antibodies: proposed mechanisms of action. *Am J Reprod Immunol* 1992; 28: 211-215.
- 64.- Edgington TS, Mackman N, Brand K, Ruf W. The structural biology of expression and function of tissue factor. *Thromb Haemost* 1991; 66: 61-79.
- 65.- Oosting JD, Derksen RHW, Blokzijl L, Sixma JJ, De Groot PG. Antiphospholipid antibody positive sera enhance endothelial cell procoagulant activity: studies in a thrombosis model. *Thromb Haemost* 1992; 68: 278-284.
- 66.- Cuadrado MJ, Lopez-Pedraza Ch, Khamasra MA, et al. Thrombosis in primary antiphospholipid syndrome: a pivotal role for monocyte tissue factor expression. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 834-841.
- 67.- Esmon CT, Owen WG. Identification of an endothelial cell cofactor for thrombin-generated activation of protein C. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 1981; 78: 2249-2252.
- 68.- Clouse LH, Comp PC. The regulation of haemostasis: the protein C system. *N Engl J Med* 1986; 314: 1298-1304.
- 69.- Smirnov MD, Triplett DT, Comp PC, Esmon NL, Esmon CT. On the role of phosphatidylethanolamine in the inhibition of activated protein C activity by antiphospholipid antibodies. *J Clin Invest* 1995; 95: 309-316.
- 70.- Amiral J, Larrivaz I, Cluzeau D, Adam M. Standardization of immunoassays for antiphospholipid antibodies with  $\beta_2$ -GPI and the

role of other phospholipid cofactors. *Haemostasis* 1994; 24: 191-203.

71.- Matsuda J, Gotoh M, Gohchi K, Kawasugi K, Tsukamoto M, Saito N. Resistance to activated protein C activity of an anti- $\beta_2$ -GPI antibody in the presence of  $\beta_2$ -GPI. *Br J Haematol* 1995; 90: 204-206.

72.- Violi F, Ferro D, Valesini G, et al. Tissue plasminogen activator inhibitor in patients with systemic lupus erythematosus and thrombosis. *Br Med J* 1990; 300: 1099-1102.

73.- Jurado M, Páramo JA, Gutierrez-Pimentel M, Rocha E. Fibrinolytic potential and antiphospholipid antibodies in systemic lupus erythematosus and other connective tissue disorders. *Thromb Haemost* 1992; 68: 516-520.

74.- Killeen AA, Meyer KC, Vogt JM, Edson JR. Kallikrein inhibition and C<sub>1</sub>-esterase inhibitor levels in patients with lupus inhibitor. *Am J Clin Pathol* 1987; 88: 223-228.

75.- Khamashta MA, Harris EN, Gharavi AE, et al. Immune mediated mechanism for thrombosis: antiphospholipid antibody binding to platelet membranes. *Ann Rheum Dis* 1988; 47: 849-854.

76.- Hasselaar P, Derksen RHW, Blokzijl L, et al. Risk factors for thrombosis in lupus patients. *Annals of the Rheumatic Diseases* 1989; 48: 933-940.

77.- Galli M, Cortelazzo S, Viero P, Finazzi G, de Gaetano G, Barbui T. Interaction between platelets and lupus anticoagulant. *Eur J Haematol* 1988; 41: 88-94.

78.- Hammond A, Rudge AC, Loizou S, Bowcock SJ, Walport MJ. Reduced numbers of complement receptor type 1 on erythrocytes are associated with increased levels of anticardiolipin antibodies. *Arthritis Rheum* 1989; 32: 259-264.

79.- Brandt JT, Triplett DA, Musgrave K, Orr C. The sensitivity of different coagulation reagents to the presence of lupus anticoagulants. *Arch Pathol Lab Med* 1987; 111: 120-124.

80.- Exner T, Papadopoulos G, Koutts J. Use of a simplified dilute Russell's viper venom time (DRVVT) confirms heterogeneity among "lupus anticoagulants". *Blood Coag Fibrinolysis* 1990; 1: 259-266.

- 
- 81.- Raman SBK, Saeed SM. Lupus anticoagulant: evaluation of sensitivity of various laboratory tests at different levels of APTT. *Am J Clin Pathol* 1988; 90: 508.
- 82.- Forastiero RR, Falcon DR, Carreras LO. Comparison of various screening and confirmatory tests for the detection of the lupus anticoagulant. *Haemostasis* 1990; 20: 208-214.
- 83.- Lubbe WF, Liggins GC. Role of lupus anticoagulant and autoimmunity in recurrent pregnancy loss. *Semin Reprod Endocrinol* 1988; 6: 181-190.
- 84.- Triplett DA. Coagulation assays for the lupus anticoagulant: review and critique of current methodology. *Stroke* 1992; 23: 111-114.
- 85.- Triplett DA, Brandt JT. Lupus anticoagulants: misnomer, paradox, riddle, epiphenomenon. *Hematol Pathol* 1988; 2: 121-143.
- 86.- Harris EN. The second international anticardiolipin standardization workshop/the Kingston antiphospholipid study (KAPS) group. *Am J Clin Pathol* 1990; 94: 476-484.
- 87.- Harris EN, Gharavi AE, Patel S, Hughes GRV. Evaluation of the anticardiolipin antibody test: report on an international workshop held April 4, 1986. *Clin Exp Immunol* 1987; 68: 215-222.
- 88.- Stewart MW, Etches WS, Russell AS, et al. Detection of antiphospholipid antibodies by flow cytometry: rapid detection of antibody isotype and phospholipid specificity. *Thromb Haemost* 1993; 70(4): 603-607.
- 89.- Sampol J, Sié P. Anticoagulants circulants antiphospholipides et thrombose. *Rev Prat* 1992; 42: 601-605.
- 90.- Derksen R, Hasselaar P, Blakzijl L, Meyling F, De Groot P. Coagulation screen is more specific than the anticardiolipin antibody Elisa in defining a thrombotic subset of lupus patients. *Ann Rheum Dis* 1988; 47: 364-371.
- 91.- Manoussakis MN, Gharavi AE, Drosos AA, Kitridou RC, Moustopoulos HM. Anticardiolipin antibodies in unselected autoimmune rheumatic disease patients. *Clin Immunol Immunopathol* 1987; 44: 297-307.



- 
- 92.- Kalunian K, Peter J, Middlekauff H, Sayre J, Hahn B. Clinical significance of a single test for anticardiolipin antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. *Am J Med* 1988; 85: 602-608.
- 93.- Harris EN, Chan JKH, Asherson RA, Aber VR, Gharavi AE, Hughes GRV. Thrombosis, recurrent fetal loss, and thrombocytopenia. Predictive value of the anticardiolipin test. *Arch Intern Med.* 1986, 146: 2153-2156.
- 94.- Rosove MH, Brever P, Runge A. Simultaneous lupus anticoagulant and anticardiolipin assays and clinical detection of antiphospholipids. *Am J Hematol* 1989; 32: 148.
- 95.- Vila P, Hernández MC, López-Fernández MF, Battle J. Prevalence, follow-up and clinical significance of the anticardiolipin antibodies in normal subjects. *Thromb Haemost* 1994; 72(2): 209-213.
- 96.- Shi W, Krilis SA, Chong BH, Gordon S, Chesterman CN. Prevalence of lupus anticoagulant and anticardiolipin antibodies in a healthy population. *Aust N Z J Med* 1990; 20: 231-236.
- 97.- Manoussakis MN, Tzioufas AG, Silis MP, Pange PJE, Goudevenos J, Moutsopoulos HM. High prevalence of anti-cardiolipin and other autoantibodies in a healthy elderly population. *Clin Exp Immunol* 1987; 69: 557-565.
- 98.- Fields RA, Toubbeh H, Searles RP, Bankhurst AD. The prevalence of anticardiolipin antibodies in a healthy elderly population and its association with antinuclear antibodies. *J Rheumatol* 1989; 16: 623-625.
- 99.- Chakravarty KK, Al-Hillawi AH, Byron MA, Durkin CJ. Anticardiolipin antibody associated ischaemic strokes in elderly patients without systemic lupus erythematosus. *Age Ageing* 1990; 19(2): 114-118.
- 100.- Unander AM, Norberg R, Hahn L, Arfors L. Anticardiolipin antibodies and complement in ninety-nine women with habitual abortion. *Am J Obstet Gynecol* 1987; 156: 114-119.
- 101.- Misra R, Venables PJW, Platerzber KC, Watkins PF, Maini RN. Anticardiolipin antibodies in infectious mononucleosis react with the membrane of activated lymphocytes. *Clin Exp Immunol* 1989; 75: 35-

40.

102.- Canoso RT, Zon LI, Groupman JE. Anticardiolipin antibodies associated with HTLV-III infection. *Br J Haematol* 1987; 65: 495-498.

103.- Oger E, Leroyer C, Dueymes M, et al. Association between IgM anticardiolipin antibodies and deep venous thrombosis in patients without systemic lupus erythematosus. *Lupus* 1997; 6: 455-461.

104.- Rosove MH, Brewer PMC. Antiphospholipid thrombosis: clinical course after the first thrombotic event in 70 patients. *Ann Intern Med* 1992; 117: 303-308.

105.- Cervera R, Khamashta MA, Font J, et al. Systemic lupus erythematosus: clinical and immunologic patterns of disease expression in a cohort of 1,000 patients. *Medicine (Baltimore)* 1993; 72: 113-124.

106.- Ginsburg KJ, Liane MH, Newcomer L, et al. Anticardiolipin antibodies and the risk for ischemic stroke and venous thrombosis. *Ann Intern Med* 1992; 117: 997-1002.

107.- Hughes GRV. The antiphospholipid syndrome: ten years on. *Lancet* 1993; 342: 341-344.

108.- Ames PRJ, Pyke S, Iannaccone L, Brancaccio V. Antiphospholipid antibodies, haemostatic variables and thrombosis - A survey of 144 patients. *Thromb Haemost* 1995; 73: 768-773.

109.- Hamsten A, Norberg R, Bjorkholm M, De Faire U, Holm G. Antibodies to cardiolipin in young survivors of myocardial infarction: an association with recurrent cardiovascular events. *Lancet* 1986; 1: 113-116.

110.- Sletnes KE, Smith P, Abdelnoor M, Arnesen H, Wisloff F. Antiphospholipid antibodies after myocardial infarction and their relation to mortality, reinfarction, and non-haemorrhagic stroke. *Lancet* 1992; 339: 451-453.

111.- Loizou S, Byron MA, Englert HJ, David J, Hughes GRV, Walport MJ. Association of quantitative anticardiolipin antibody levels with fetal loss and time of loss in systemic lupus erythematosus. *Q J Med* 1988; 68: 525- 531.

- 112.- Italian Registry of Antiphospholipid Antibodies (IR-APA). Thrombosis and thrombocytopenia in antiphospholipid syndrome (idiopathic and secondary to SLE): first report from Italian Registry. *Haematologica* 1993; 78: 313-318.
- 113.- Asherson RA, Khamashta MA, Ordi-Ros J, et al. The " primary " anti-phospholipid syndrome: major clinical and serological features. *Medicine (Baltimore)* 1989; 68: 366-374.
- 114.- J. Barquinero, J. Ordi, M. Vilardell, et al. Síndrome antifosfolípido primario: estudio de 27 pacientes. *Med Clin (Barc)* 1990; 94: 41-45.
- 115.- Finazzi G. Advances in basic, laboratory and clinical aspects of thromboembolic diseases\*. The Italian registry of antiphospholipid antibodies. *Haematologica* 1997; 82: 101-105.
- 116.- Harris EN, Asherson RA, Gharavi AE, Morgan SH, Derue G, Hughes GR. Thrombocytopenia in SLE and related autoimmune disorders: association with anticardiolipin antibody. *Br J Haematol* 1985; 59: 227-230.
- 117.- Muir KW, Squire IB, Alwan W, Lees KR. Anticardiolipin antibodies in an unselected stroke population. *Lancet* 1994; 344: 452-456.
- 118.- Ferro D, Quintarelli C, Rasura M, Antonini G, Violi F. Lupus anticoagulant and the fibrinolytic system in young patients with stroke. *Stroke* 1993; 24: 368-370.
- 119.- Cortellaro M, Boschetti C, Cardillo M, Barbui T. Antiphospholipid antibodies in patients with previous myocardial infarction. *Lancet* 1992; 339: 929-930.
- 120.- Phadke KV, Phillips RA, Clarke DTR, Jones M, Naish P, Carson P. Anticardiolipin antibodies in ischaemic heart disease: marker or myth?. *Br Heart J* 1993; 69: 391-394.
- 121.- Morton KE, Gavaghan TP, Krilis SA., et al. Coronary artery bypass graft failure: an autoimmune phenomenon? *Lancet* 1986; II: 1353-1357.
- 122.- Derksen RHWM, de Groot PG, Kater L, Nieuwenhuis HK. Patients with antiphospholipid antibodies and venous thrombosis

---

should receive long term anticoagulant treatment. *Ann Rheum Dis* 1993; 52: 689-692.

123.- Asherson RA, Chan JKH, Harris EN, Gharavi AE, Hughes GRV. Anticardiolipin antibody, recurrent thrombosis, and warfarin withdrawal. *Ann Rheum Dis* 1985; 44: 823-825.

124.- Barbui T, Finazzi G. Clinical trials on antiphospholipid syndrome: wath is being done and what is needed? *Lupus* 1994; 3: 303-307.

125.- Edelman P, Rouquette AM. Evaluation of the obstetrical risks of the antiphospholipid syndrome and therapeutic management. *Clin Rev Allerg Immunol* 1995; 13: 91-99.

126.- Khamashta MA, Hughes GRV. Antiphospholipid antibodies: a marker for thrombosis and recurrent abortion. *Clin Rev Allergy* 1994; 12: 287-296

127.- Walker ID. Management of thrombophilia in pregnancy. *Blood Reviews* 1991; 5: 227-233.

128.- Branch DW, Scott JR, Kochenour NK, Hershgold E. Obstetric complications associated with the lupus anticoagulant. *N Engl J Med* 1985; 313: 1322-1326.

129.- Lubbe WF, Butler WS, Palmer SJ, Liggins GC. Fetal survival after prednisone suppression of maternal lupus anticoagulant. *Lancet* 1983; 1: 1361-1363.

130.- Lockshin MD, Druzin ML, Qamar T. Prednisone does not prevent recurrent fetal death in women with antiphospholipid antibody. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 160: 439-443.

131.- Parke A, Maier D, Wilson D, Andreoli J, Ballow M. Intravenous gamma-globulin, antiphospholipid antibodies, and pregnancy. *Ann Intern Med* 1989; 110: 495-496.

132.- Wapner RJ, Cowchock FS, Shapiro SS. Successful treatment in two women with antiphospholipid antibodies and refractory pregnancy losses with intravenous immunoglobulin infusions. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 161: 1271-1272.

133.- Ordi J, Barquinero J, Vilardell M; et al. Fetal loss treatment in

patients with antiphospholipid antibodies. *Ann Rheum Dis* 1989; 48: 798-802.

134.- Khamashta MA, Cuadrado MJ, Mujic F, Taub NA, Hunt BJ, Hughes GRV. The management of thrombosis in the antiphospholipid antibody syndrome. *N Engl J Med* 1995; 332: 993-997.

135.- Ginsberg JS, Wells PS, Brill-Edwards P, et al. Antiphospholipid antibodies and venous thromboembolism. *Blood* 1995; 86: 3685-3691.

136.- Doig RG, O'Malley CJ, Dauer R, McGrath KM. An evaluation of 200 consecutive patients with spontaneous or recurrent thrombosis for primary hypercoagulable states. *Am J Clin Pathol* 1994; 102: 797-801.

137.- Triplett DA, Brandt JT, Musgrave KA, Orr CA. The relationship between lupus anticoagulants and antibodies to phospholipid. *JAMA* 1988; 259: 550-554.

138.- Stegnar M, Bozic B, Peternel P, Kveder T, Vene N, Rozman B. Prevalence of antiphospholipid antibodies in deep vein thrombosis and their relationship to blood coagulation and fibrinolysis. *Thromb Res* 1991; 63: 433-443.

139.- Schved JF, Dupuy-Fons C, Biron C, Quéré I, Janbon C. A prospective epidemiological study on the occurrence of antiphospholipid antibody: The Montpellier Antiphospholipid (MAP) Study. *Haemostasis* 1994; 24: 175-182.

140.- The Antiphospholipid Antibodies and Stroke Study Group (APASS). Anticardiolipin antibodies and the risk of recurrent thrombo-occlusive events and death. *Neurology* 1997; 48: 91-94.

141.- Bick RL, Jakway J, Baker WF. Deep vein thrombosis: prevalence of etiologic factors and results of management in 100 consecutive patients. *Sem Thromb Hemost* 1992; 18(2): 267-274.

142.- Kapiotis S, Speiser W, Pabinger-Fasching I, Kyrle PA, Lechner K. Anticardiolipin antibodies in patients with venous thrombosis. *Haemostasis* 1991; 21: 19-24.

143.- Mateo J, Oliver A, Borrell M, Sala N, Fontcuberta J, and the EMET Group. Laboratory evaluation and clinical characteristics of

2,132 consecutive unselected patients with venous thromboembolism. Results of the Spanish Multicentric Study on Thrombophilia (EMET\*-Study). *Thromb Haemost* 1997; 77(3): 444-451.

144.- Rodríguez MC, Fernández M, Soto I, García JM, Rosón C, Corte JR. Trombofilia en pacientes con tromboembolismo venoso. *Sangre* 1996; 41(1): 37-42.

145.- Malm J, Laurell M, Nilsson IM, Dahlbäck B. Thromboembolic disease. Critical evaluation of laboratory investigation. *Thromb Haemost* 1992; 68: 7-13.

146.- Melissari E, Monte G, Lindo VS, et al. Congenital thrombophilia among patients with venous thromboembolism. *Blood Coagul Fibrinol* 1992; 3: 749-758.

147.- Dahlbäck S, Carlsson M, Svensson PJ. Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C. *Proc Natl Acad Sci* 1993; 90: 1004-1008.

148.- Bertina RM, Koeleman sPC, Koster T, et al. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature* 1994; 369: 64-67.

149.- Greengard JS, Sun X, Xu X, Fernández JA, Griffin JH, Evatt B. Activated protein C resistance caused by Arg506Gln mutation in factor Va. *Lancet* 1994; 343: 1361-1362.

150.- Voorberg J, Roelse J, Koopman R, et al. Association of idiopathic venous thromboembolism with single point mutation at Arg<sup>506</sup> of factor V. *Lancet* 1994; 343: 1535-1536.

151.- Zoller B, Dahlback s. Linkage between inherited resistance to activated protein C and factor V gene mutation in venous thrombosis. *Lancet* 1994; 343: 1536-1538.

152.- Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH, Bertina RM. A common genetic variation in the 3'- untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood* 1996;88:3698-3703

153.- Soto Ortega I, García Gala JM, Rodríguez Pinto C. Activated

protein C: new facts. *Blood Coagul Fibrinol* 1995; 6: 144.

154.- Tabertero MD, Tomás JF, Alberca I, Orfao A, López-Borrascá A, Vicente V. Incidence and clinical characteristics of hereditary disorders associated with venous thrombosis. *Am J Haematol* 1991; 36: 249-254.

155.- Engesser L, Brommer EJP, Kluft C, Briët E. Elevated plasminogen activator inhibitor (PAI), a cause of thrombophilia?. A study in 203 patients with familial or sporadic thrombophilia. *Thromb Haemost* 1989; 62: 673-680.

156.- Briët E, Engesser L, Brommer EJP, Broekmans AW, Bertina RM. Thrombophilia: its causes and rough estimate of its prevalence [abstract]. *Thromb Haemost* 1987; 58:39.

157.- Heijboer H, Brandjes DPM, Büller HR, Sturk A, ten Cate LW. Deficiencies of coagulation-inhibiting and fibrinolytic proteins in outpatients with deep vein thrombosis. *N Engl J Med* 1990; 323: 1512-1516.

158.- Pabinger I, Brücker S, Kyrle PA, et al. Hereditary deficiency of antithrombin III, protein C and protein S: prevalence in patients with a history of venous thrombosis and criteria for rational patient screening. *Blood Coagul Fibrinol* 1992; 3: 547-553.

159.- Klemp P, Cooper RC, Strauss FJ, Jordaan ER, Przybojewski JZ, Nel N. Anti-cardiolipin antibodies in ischemic heart disease. *Clin Exp Immunol* 1988; 74: 254-257.

160.- Loizou S. Anticardiolipin Kits: Techniques of antiphospholipid antibody measurements. *Clin Immunol* 1991; 11: 41-47.

161.- Reber G, Arvieux J, Comby E, et al. Multicenter evaluation of nine commercial kits for the quantitation of anticardiolipin antibodies. *Thromb Haemost* 1995; 73(3): 444-452.

162.- Sanmarco M, Soler C, Christides C, et al. Prevalence and clinical significance of IgG isotype anti- $\beta$ 2-glycoprotein I antibodies in antiphospholipid syndrome: A comparative study with anticardiolipin antibodies. *J Lab Clin Med* 1997; 129: 499-506.

163.- Harris EN, Pierangeli S, Birch D. Anticardiolipin wet workshop report. Fifth international symposium on antiphospholipid antibodies. *Am J Clin Pathol* 1994; 101: 616-624.

- 164.- Harris EN. Antiphospholipid antibodies. *Br J Haematol* 1990; 74: 1-9.
- 165.- Ordi-Ros J, Selva A, Monegal F, Porcel JM, Martínez-Costa X, Vilardell M. Anticardiolipin antibodies and dependence of a serum cofactor. A mechanism of thrombosis. *J Rheumatol* 1993; 20: 1321-1324.
- 166.- Fort JG, Cowchock FS, Abruzzo JL, Smith JB. Anticardiolipin antibodies in patients with rheumatic diseases. *Arthr Rheum* 1987; 30: 752-760.
- 167.- J Vivancos, A López-Soto, J Font, et al. Síndrome antifosfolípido primario: estudio clínico y biológico de 36 casos. *Med Clin (Barc)* 1994; 102: 561-565.
- 168.- Pierangeli SS, Barker JH, Stikovac D, et al. Effect of human IgG antiphospholipid antibodies on an in vivo thrombosis model in mice. *Thromb Haemost* 1994; 71: 670-674.
- 169.- Kluft C, Verheijen JH, Jie AFH, et al. The postoperative fibrinolytic shutdown: a rapidlyrevertingacute phase pattern for the fast acting inhibitor of tissue-type plasminogen after trauma. *Scand J Clin Lab Invest* 1985; 45: 605-610.
- 170.- D'Angelo A, Kluft C, Verheijen JH, Rijken DC, Mozzi E, Mannucci PM. Fibrinolytic shutdown after surgery: impairment of the balance between tissue-type plasminogen activator and its specific inhibitor. *Eur J Clin Invest* 1985; 15: 308-312.
- 171.- Bick RL. The antiphospholipid-thrombosis syndromes. Fact, fiction, confusion, and controversy. *Am J Clin Pathol* 1993; 100(5): 477-480.
- 172.- C. Martínez-Vázquez, C. Albo, A. Rivera, et al. Síndrome antifosfolípido primario. Aspectos clínico-evolutivos de 24 casos. *Rev Clin Esp* 1994; 194: 164-169.
- 173.- Chong BH, Brighton TC, Chesterman CN. Antiphospholipid antibodies and platelets. *Sem Thromb Hemost* 1995; 21: 76-84.
- 174.- Shi W, Chong BH, Hogg PJ, Chesterman CN. Anticardiolipin antibodies block the inhibition by  $\beta_2$ -glycoprotein I of the factor Xa



- generating activity of platelets. *Thromb Haemost* 1993; 70: 342-345.
- 175.- Galli M, Daldossi M, Barbui T. Anti-glycoprotein Ib/IX and IIb/IIIa antibodies in patients with antiphospholipid antibodies. *Thromb Haemost* 1994; 71: 571-575.
- 176.- Harris EN, Gharavi AE, Hegde U, et al. Anticardiolipin antibodies in autoimmune thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 1985; 59: 231-234.
- 177.- Malia RG, Kitchen S, Greaves M. Inhibition of activated protein C and its cofactor protein S by antiphospholipid antibodies. *Br J Haematol* 1990; 76: 101-107.
- 178.- D'Angelo A, Mazzola G, Bergmann F, Safa O, Della Valle P, Viganò D'Angelo S. Autoimmune protein S deficiency: a disorder predisposing to thrombosis. *Haematologica* 1995; 80: 114-121.
- 179.- Ehrenforth S, Radtke KP, Zwinge S, Siegert S, Scharrer I. Acquired APC-resistance in patients with lupus anticoagulants. *Thromb Haemost* 1995; 73: 797-798.
- 180.- Walker ID, Hickman GM, Stevenson C, McCall F. High prevalence of "APC resistance" in the presence of antiphospholipids. *Br J Haematol* 1994; 86: 2.
- 181.- Cooper PC, Hampton KK, Abuzenadah A, Malia RG, Preston FE, Greaves M. Activated protein C resistance in antiphospholipid-containing plasma: a possible mechanism of thrombosis. *Br J Haematol* 1994; 84: 201-203.
- 182.- Cortesse Hasset A, Faruki H, Bontempo FA. An evaluation of APC resistance and factor V Leiden in an unselected patient population. *Blood* 1995; 86: 915.
- 183.- Arnout J, Vanrusselt M, Vermeylen J. Resistance to activated protein C in a population of patients with antiphospholipid antibodies. *Thromb Haemost* 1995; 73: 1272.
- 184.- Davies KA, Ireland H, Athanassiou P, Loizou S, Lane D, Walport MJ. Factor V Leiden mutation and venous thrombosis. *Lancet* 1995; 345: 132-133.
- 185.- Ruiz-Argüelles G, Garcés-Eisele J, Gallaga JC, Alarcón-

Segovia D, Ruiz-Argüelles A. Activated protein C (aPC) resistance phenotype and genotype in patients with primary antiphospholipid syndrome. *Blood* 1995; 89: 924.

186.- Sasso EH, Suzuki LA, Thompson AR, Petri M. Thromboembolic events in lupus patients with antiphospholipid Ab (aPL) are not strongly associated with the factor V mutation or APC resistance. *Blood* 1995; 86: 924.

187.- Dizon-Townson D, Hutchison C, Silver R, Branch DW, Ward K. The factor V Leiden mutation which predisposes to thrombosis is not common in patients with antiphospholipid syndrome. *Thromb Haemost* 1995; 74: 1029-1031.

188.- Fijnheer R, Horbach DA, Donders RCJM, et al. Factor V Leiden, antiphospholipid antibodies and thrombosis in systemic lupus erythematosus. *Thromb Haemost* 1996; 76: 514-517.

189.- Piette JC, Wechsler B, Blétry O, Frances C. Approche clinique du syndrome des antiphospholipides: des faits aux interrogations. *Presse Med* 1992; 21: 2081-2084.

190.- Greaves M, Preston FE. The hypercoagulable state in clinical practice. *Br J Haematol* 1991; 79: 148-151.

191.- Harris EN. Syndrome of the black swan. *Br J Rheumatol* 1987, 26: 324-326.

192.- Vaarala O, Palosuo T, Kleemola M, Aho K. Anticardiolipin response in acute infections. *Clin Immunol Immunopathol* 1986; 41: 8-15.

193.- Karmochkine M, Piette JC, Mazoyer E, et al. Anticorps antiphospholipides: cause des thromboses ou épiphénomène?. *Presse Med* 1994; 23: 267-270.

194.- Sthoeger ZM, Sthoeger D, Mellnick SD, Steen D, Berrebi A. Transient anticardiolipin antibodies, functional protein S deficiency, and deep vein thrombosis. *Am J Hematol* 1991; 36: 206-207.

195.- Oosting JD, Preissner KT, Derksen RHW, de Groot PG. Autoantibodies directed against the epidermal growth factor-like domains of thrombomodulin inhibit protein C activation in vitro. *Br J Haematol* 1993; 85: 761-768.

196.- Kandiah DA, Krilis SA. Immunology and methods of detection of antiphospholipid antibodies. En: The antiphospholipid syndrome, editado por Asherson RA .1996.pp 29-48.

197.- Chamley LW, McKay EJ, Pattison NS. Cofactor dependent and cofactor independent anticardiolipin antibodies. Thromb Res 1991; 61: 291-299.

198.- Martinuzzo ME, Forastiero RR, Carreras LO. Anti  $\beta_2$ -glycoprotein I antibodies: detection and association with thrombosis. Br J Haematol 1995; 89: 397-402.

199.- Goldberg SN, Conti-Kelly AM, Greco TP. A family study of anticardiolipin antibodies and associated clinical conditions. Am J Med 1995; 99: 473-479.

