

*Trabajos Originales***Anticuerpos****Anti Cardiolipinas (ACL)
en Pacientes (PTS) con
Lupus Eritematoso
Sistémico (LES)**

- Dres. Alejandra Babini
- Dr. Francisco Caeiro
- Dr. Alejandro Alvarelos

Servicio de Reumatología, Hospital Privado
y Fundación para el progreso de la Medicina
Córdoba

INTRODUCCION

A) La presencia de anticoagulantes circulantes en pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico (LES) es un fenómeno reconocido desde su descripción original en 1952 (1).

Estos auto-anticuerpos se caracterizan por interferir con los mecanismos de coagulación a través de su interacción con el complejo activador de protrombina (2). Su presencia se manifiesta por alteraciones características de las pruebas de coagulación, prolongando principalmente el Tiempo de Tromboplastina Parcial con Kaolín (TTPK) y en menor medida el Tiempo de Protrombina (TP), anomalías que son corregidas con el agregado de plaquetas o fosfolípidos pero que no se modifican con una dilución 1:1 de plasma normal (3).

En 1963 Bowie y col. (3a.) describen el fenómeno paradójico en que cuatro pacientes con LES y anti-coagulante lúpico (LAC) presentaron frecuentes complicaciones tromboembólicas. Estas observaciones fueron corroboradas y ampliadas en múltiples estudios posteriores. La reciente descripción de ACL en la mayoría de los pacientes con LAC (4, 5) y la estandarización de su determinación por enzima inmunoensayo (ELISA) (6, 7) acrecentaron la sensibilidad y especificidad en la detección de anticuerpos anti-fosfolípidos, teniendo además la ventaja de poder cuantificar su título y determinar variaciones en su concentración a lo largo del tiempo.

En pacientes con LES y otras enfermedades auto-inmunes, un porcentaje variable entre 10o/o y 81o/o tienen ACL-LAC dependiendo de las características de la enfermedad y de la sensibilidad del método usado para su determinación (8, 9). La presencia de estos auto-anticuerpos en pacientes con LES se asocia con una elevada frecuencia de fenómenos tromboembólicos (4, 5) ya sea con compromiso venoso (cava inferior, renal, retina, suprahepática) (10 - 12) o arterial (coronaria, cerebral, digital) (9, 11, 13, 14).

Para correlacionar las características clínicas y serológicas con la presencia de ACL, se estudiaron 60 pacientes con diagnóstico de LES seguidos en nuestro servicio.

PACIENTES Y METODOS

La población estudiada fue seleccionada por las siguientes características: 1) Diagnóstico de LES en base a 4 o más criterios de la American Rheumatism Association (ARA) (15). 2) Posibilidad de obtener sus datos clínicos por revisión de Historia Clínica y/o seguimiento prospectivo. 3) En todos los pacientes se determinaron anticuerpos anti-nucleares (ANA), por inmuno fluorescencia utilizando como sustrato hígado de rata; anti-DNA utilizando el flagelado *Crithidia Lucilliae*, y Anti-Ro, La, Sm, RNP por la técnica de Contra Inmuno Electroforesis (CIE) empleando como sustrato un extracto de bazo humano y los anti-sueros específicos. Los ACL se determinaron mediante la técnica de Enzima inmunoensayo (ELISA) según

fuera descripto (6, 7). Brevemente, en placas de Polyvinilo de cloro con pocillos de base plana (Falcon Labs., CA) se agregó como sustrato 50 ul de una solución de Cardiolipina Sigma en etanol (45 ug/ml); en forma subsiguiente se agregaron sueros de referencia y los sueros problema cada uno por duplicado. Después de lavar con PBS se agregaron 50 ul de una solución 1/1.000 de anti-IgG humana conjugada con fosfatasa alcalina (Sigma Chem.). Luego de lavar se agregaron 50 ul de una solución de p-nitro fenil fosfato en dietanol amina (5 mg/ml) incubándose a 37° por alrededor de 45 min. La reacción se bloqueó con 50 ul de OHNA 3 M y se leyó en espectrofotómetro a una densidad óptica de 405 nm. Utilizando como referencia las lecturas de los sueros con concentraciones conocidas de ACL se trazó una curva en papel semi-logarítmico contra la cual se determinaron las unidades GPL de los sueros problema.

El análisis estadístico de los datos se realizó utilizando el Test T de Student.

RESULTADOS

De los 60 pacientes estudiados 52/60 (86,6o/o) eran mujeres. La edad promedio de comienzo de la enfermedad fue de 27,1 + - 13,6 años con un rango de 10 - 78.

Los hallazgos clínicos que los pacientes presentaron en algún momento de la evolución de su enfermedad, están resumidos en la Tabla 1. Las características de los mismos son similares a los reportados en otras series de pacientes con LES.

Las características serológicas de la población estudiada se resumen en la Tabla 2. Las frecuencias de ANA, Anti-DNA y anticuerpos precipitantes fueron similares a los reportados en otras series. El 50o/o de nuestros pacientes tenían títulos positivos de ACL, por encima de 20 Unidades GPL.

Seleccionamos este valor (20 U-GPL), como el título positivo más bajo por estar por encima del valor promedio + 2 Desvíos Standard de una población de 55 controles sanos, (18,3 U GPL).

Dentro del grupo con valores positivos, subdividimos aquellos con títulos entre 20 y 40 U GPL que llamamos títulos bajos y los que tenían títulos mayores de 40 U GPL, que llamamos títulos altos.

Las asociaciones significativas entre la presencia de ACL y las características clínicas de la población estudiada se resumen en la Tabla 3.

Al comparar el grupo de pacientes con títulos altos de ACL (> 40 U-GPL) con los pacientes ACL negativos, encontramos que los primeros se asocian con una elevada frecuencia de:

- Fenómeno de Raynaud
(70,6o/o vs 20o/o (p < 0,001)
- Vasculitis Cutánea
(47,1o/o vs 6,7o/o) (p < 0,005)
 - Cefalea
(41,2o/o vs 13,3o/o) (p < 0,05)
- Compromiso S.N.C.
 - ACV Isquémico
(17,6o/o vs 3,3o/o)
- Tromboembolismo
(47,1o/o vs 3,3o/o) (p < 0,001)

Once pacientes (18,3o/o) presentaron 13 episodios de tromboembolismo cuyas características y su asociación con ACL se detallan en la Tabla 4.

Los pacientes con títulos bajos de ACL (20 - 40 - U-GPL), mostraron una asociación menos marcada con estas manifestaciones clínicas, no alcanzando significación estadística.

En esta serie de pacientes no encontramos correlación entre la presencia de ACL con trombocitopenia ni con otras manifestaciones clínicas o serológicas.

DISCUSION

Los anticuerpos Anti-Cardiolipinas se presentan en distintas poblaciones con LES en porcentajes que oscilan entre 10o/o y 81o/o (8, 9). En nuestra serie la prevalencia fue de un 50o/o considerando positivos todos aquellos títulos superiores a 20 U-GPL. Estos valores son más altos que los hallados por el comité de estandarización de ACL (16, 17), que considera títulos positivos bajos los valores entre 5 - 20 U-GPL. Sin embargo en nuestra población control de 55 personas, obtuvimos un promedio + 2 Desvíos Standard de 18,3 U-GPL, por lo que 20 U-GPL es el valor mínimo que podemos considerar positivo.

En estos 60 pacientes con LES, la presencia de ACL se asoció en forma estadísticamente significativa con: Fenómeno de Raynaud, Vasculitis Cutánea, Cefaleas y Manifestaciones Trombo Embólicas. Es de hacer notar que dichas correlaciones se presentaron solamente en pacientes con títulos altos de ACL (> 40 U-GPL).

Algunas de estas asociaciones ya han sido reportadas (4, 5, 8, 9, 11 - 14), especialmente cefaleas y fenómenos tromboembólicos. Es probable que estas diversas manifestaciones clínicas tengan nexos patogénicos comunes como agregación plaquetaria (18), daño endotelial (19) o hipercoagulabilidad (20, 21) que explicarían su vinculación con los ACL.

El seguimiento prospectivo de algunos pacientes con títulos altos de ACL no mostró cambios significativos de estos auto-anticuerpos en relación al control clínico de la enfermedad y/o uso de drogas inmuno supresoras.

TABLA I

HALLAZGOS CLINICOS EN 60 PACIENTES CON L.E.S.

Piel y Mucosas.....	83,3o/o
Sistema Nervioso Central.....	63,3o/o
Compromiso Renal.....	51,6o/o
Serositis.....	40,0o/o
Raynaud.....	33,3o/o
Vasculitis Cutánea.....	23,4o/o
Tromboembolismo.....	18,3o/o

TABLA II

SEROLOGIA EN 60 PACIENTES CON L.E.S.

A.N.A.....	60/60	100,0o/o
a D.N.A.....	39/60	65,0o/o
a RO.....	23/60	38,3o/o
a LA.....	11/60	18,3o/o
a RNP.....	10/60	16,6o/o
a SM.....	8/60	13,3o/o
ACL.....	30/60	50,0o/o

TABLA III

CORRELACION ENTRE ACL Y MANIFESTACIONES CLINICAS EN 60 PACIENTES CON L.E.S.

	(-) N = 30	20 - 40 N = 13	> 40 N = 17
1) Raynaud.....	20,0o/o	38,5o/o	70,6o/o
2) Vasculitis Cutánea..	6,7o/o	30,8o/o	47,1o/o
a) Cefalea.....	13,3o/o	41,7o/o	41,2o/o
3) S.N.C.			
b) A.C.V.....	3,3o/o	7,6o/o	17,6o/o
4) Tromboembolismo .	3,3o/o	15,4o/o	47,1o/o

1) $p < 0,001$ - 2) $p < 0,005$ - 3a.) $p < 0,05$ - 4) $p < 0,001$

TABLA IV
FENOMENOS TROMBOEMBOLICOS

	(-) N = 30	20 - 40 N = 30	> 40 N = 17
A.C.V. Isquémico	3,3o/o	7,6o/o	17,6o/o
Tromboflebitis	3,3o/o	15,3o/o	11,7o/o
Trombosis placentaria . . .	0,0o/o	7,6o/o	11,7o/o

**ANTICUERPOS ANTI-CARDIOLIPINAS
(ACL) EN PACIENTES (PTS.) CON LUPUS
ERITEMATOSO SISTEMICO (LES)**

RESUMEN

En 60 pacientes con LES se determinaron ACL y otros auto-anticuerpos (ANA, aDNA, SM, RNP, RO, LA) para establecer correlaciones clínico-serológicas. Todos los pacientes reunían 4 o más criterios para el diagnóstico de LES. Los datos se obtuvieron por revisión de Historias Clínicas y seguimiento prospectivo; los ACL se determinaron con la técnica de ELISA expresándose los resultados en Unidades GPL.

Consideramos negativos los títulos 0 - 20 GPL; títulos intermedios 20 - 40 GPL y títulos altos > 40 GPL.

30/60 (50o/o) pacientes fueron ACL negativos; 13/60 (21,7o/o) tuvieron títulos intermedios y 17/60 (28,3o/o) títulos altos.

El grupo de pacientes con ACL > 40 GPL tuvo un incremento significativo en la frecuencia de: F. de Raynaud (p: . 001); vasculitis (p: . 001) comparado con el grupo ACL negativo. El grupo de valores intermedios (20 - 40 GPL) mostró una tendencia similar aunque sin alcanzar significación estadística.

No hubo correlación entre ACL y otros auto-anticuerpos.

En pacientes con LES los títulos altos de ACL (> 40 GPL) se asocian con F. de Raynaud, vasculitis, cefaleas y tromboembolismo.

**ANTI CARDIOLIPIN ANTIBODIES
(ACA) IN PATIENTS (PTS) WITH
SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS
(SLE)**

SUMMARY

Sixty SLE patients were studied for ACA and other auto antibodies (ANA, a DNA, SM, RNP, RO, LA) to establish clinical and serologic correlations. All patients fulfilled 4 or more of the established criteria for the diagnosis of SLE. Clinical data were obtained by chart review and prospective follow up of patients. Auto antibodies were determined by conventional immunofluorescence and counter immune electroforesis. ACA were determined by ELISA using standardized reference sera.

Results are expressed in GPL Units. We considered ACA negatives those samples with 0 - 20 GPL; low positive 20 - 40 GPL and high positive those > 40 GPL.

30/60 (50o/o) patients were ACA negative; 13/60 (21,7o/o) had ACA between 20 - 40 GPL; 17/60 (28,3o/o) had ACA > 40 GPL Units.

This latter group showed a higher frequency of Raynaud's phenomenon (p: . 001), vasculitis (p: . 005), headaches (p: . 05) and thromboembolism (p: . 001) when compared with the ACA negative group. Patients with a low positive (20 - 40 GPL) titles showed a similar trend without reaching statistical significance.

No association was found between ACA and the presence of other auto antibodies.

According to our data, SLE patients with ACA titres > 40 GPL Units have an increased prevalence of Raynaud's phenomenon, vasculitis headaches and thromboembolic episodes.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Conley, C.; Hartman, R.: (1952) *J. Clin. Invest.* 31:621-2
- 2) Thiagarajan, P. et al: (1980) *J. Clin. Invest.* 66:397 - 405
- 3) Feinstein, D.; Rappaport, S.: (1972) *Prog. Hemost. Thromb.* 1: 75 - 9
- 3a.) Bowie, E. et al: (1963) *J. Lab. Clin. Med.* 62: 416 - 30
- 4) Mueh, J. et al: (1980) *Ann. Int. Med.* 92: 156 - 9
- 5) Hughes, G.; Harris, N.; Gharavi, A.: (1986) *J. Rheumatol.* 13: 486 - 9
- 6) Gharavi, A. et al: (1987) *Ann. Rheum. Dis.* 46: 1 - 6
- 7) Harris, E. et al: (1987) *Clin. Exp. Immunol.* 68: 215 - 22
- 8) Harris, E.; Gharavi, A.; Boey, M.: (1983) *Lancet* 2: 1.211 - 14
- 9) Colaco, C.; Elkon, K. (1985) *Arthritis Rheum.* 28: 67 - 74
- 10) Mintz, G. et al: (1985) *Arthritis Rheum.* 27:539 - 44
- 11) Harris, E.; Gharavi, A.; Hughes, G.: (1985) *Clin. Rheum. Dis.* 11: 591 - 610
- 12) Pappas, S.C. et al: (1984) *Arthritis Rheum.* 27: 104 - 8
- 13) Asherson, R. et al: (1987) *Ann. Rheum. Dis.* 46: 605 - 11
- 14) Hart, R. et al (1984) *Stroke* 15: 114 - 18
- 15) Tan, E. et al: (1982) *Arthritis Rheum.* 25: 1.271 - 7
- 16) Harris, E.: (1988) *Am. J. Med.* 85: 599 - 601
- 17) Asherson, R. et al: (1989) *Am. J. Med.* 86: 391 - 99
- 18) Harris, G. et al (1983) *Clin. Exp. Dermatol.* 9: 535 - 39
- 19) Carreras, L. et al (1981) *Lancet* 1: 244 - 46
- 20) Cosgriff, T. et al (1981) *Arthritis Rheum.* 24: 94 - 96
- 21) Sanfelippo, M. et al (1982) *Am. J. Clin. Pathol.* 77: 275 - 79.