

Evaluación de la capacidad de discriminación de marcadores clínicos y biológicos para el diagnóstico de trombosis por síndrome antifosfolípido

Antonio Iglesias, Octavio Martínez, Cilia Rojas, José Félix Restrepo, Carlos Cañas, Mary Luz Barrera · Santafé de Bogotá.

Este estudio se desarrolló bajo el auspicio del Proyecto Colciencias 2104 10005 de 1992 Colciencias, Hospital San Juan de Dios de Santafé de Bogotá, Instituto Nacional de Salud y el CINDEC de la Universidad Nacional de Colombia.

Dr. Antonio Iglesias: Profesor Asociado, Unidad de Reumatología; Dr. Octavio Martínez: Profesor Asociado, Unidad de Hematología; Lic. Cilia Rojas: Bacterióloga, Unidad de Reumatología; Dr. José Félix Restrepo: Profesor Asociado, Unidad de Reumatología. Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Hospital San Juan de Dios, Santafé de Bogotá; Dr. Carlos Cañas: Médico Internista y Reumatólogo, Manizales; Lic. Mary Luz Barrera: Bacterióloga, Santafé de Bogotá.

Objetivo: determinar si, además de la evaluación clínica y la cuantificación de anticuerpos anti cardiolipina (cLP) del tipo IgG, la edad y otras pruebas de laboratorio comúnmente empleadas en la clasificación diagnóstica de los eventos trombóticos (anticuerpos IgM e IgA anti cLP, IgG anti-B 2-glicoproteína I, y proteínas anticoagulantes naturales C y S), discriminan significativamente el síndrome antifosfolípido (SAF) que cursa con trombosis de los eventos oclusivos vasculares no asociados a actividad antifosfolípida del suero.

Tipo de estudio: estudio de "casos-no casos" anidado dentro de una población definida de pacientes con trombosis vascular.

Lugar y tiempo de estudio: unidades de Reumatología y Hematología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia con sede en el Hospital San Juan de Dios de Santafé de Bogotá, durante un año a partir del 5 de enero de 1998.

Pacientes y métodos: se incluyeron pacientes que cumplieran con la definición operacional de evento oclusivo vascular y fueran casos incidentes. Se evaluaron mediante el sistema de interconsulta hospitalaria, 35 pacientes con edad igual o mayor a 17 años. A todos se les documentó la edad y el género y se les cuantificó por técnica de ELISA los niveles séricos de anticuerpos IgG, IgM e IgA anti-cLP, y los anticuerpos IgG anti-B 2-glicoproteína I, y por la técnica de inmunodifusión radial las proteínas C y S anticoagulantes naturales. Los pacientes se clasificaron en tres grupos así: (i) SAF definitivo, niveles de IgG anti cLP mayores de 80 unidades GPL; (ii) Probable SAF, niveles de IgG anti cLP entre 20 y 80 unidades GPL; y (iii) Evento oclusivo vascular no asociado a actividad antifosfolípida del suero, IgG anti cLP inferior a 20 unidades GPL.

Se realizó un análisis discriminante múltiple lineal para: 1) Contrastar la hipótesis nula de que los valores de los centroides de los tres grupos definidos previamente eran iguales. 2) Determinar el conjunto de las variables independientes que daban cuenta, en caso de presentarse, de las diferencias entre centroides. Se consideran las siguientes variables independientes para análisis; la edad, los niveles séricos de unidades de IgM e IgA anti cLP, de proteínas anticoagulantes naturales C y S y de anticuerpos IgG anti-B 2-GP I.

Resultados: la única función discriminante extraída, se basó en los niveles de IgM anti cLP, la cual aunque estadísticamente significativa, no contó con capacidad de discriminación de casos superior a la previamente efectuada con los niveles de IgG anti cLP.

Discusión: clínicamente el criterio mayor para el diagnóstico de SAF es la trombosis, siempre asociada al criterio biológico de anticuerpos IgG anti cLP a títulos altos. Ni la edad ni los demás criterios biológicos estudiados, aunque descritos en la literatura como predictores de trombosis, aportaron capacidad discriminante (*Acta Med Colomb* 2000;25:68-74).

Palabras clave: *síndrome antifosfolípido, trombosis, IgG anticardiolipina.*

Introducción

En el año 1983, Hughes describió un síndrome clínico caracterizado por trombosis, aborto recurrente, enfermedad neurológica y anticuerpos antifosfolípidos, que se denominó "síndrome anticardiolipina", el cual pronto fue reemplazado por el de "síndrome antifosfolípido" (SAF). Desde entonces, alrededor del tema se han realizado ocho conferencias internacionales, siempre con el propósito inmanente de establecer y mejorar los criterios de clasificación definitivos para el diagnóstico del SAF, término que el grupo mexicano ha propuesto red denominar como "síndrome antifosfolípido/cofactor" (1-7).

Los criterios de clasificación para el SAF han seguido un método de selección de hallazgos clínicos calificados como característicos, sin considerar su sensibilidad ni especificidad diagnósticas, lo que no asegura que necesariamente sean los eventos clínicos que más fuertemente lo reflejen. Esta falencia ha hecho que éstos sean revisados una y otra vez sin haber logrado aún un criterio universalmente aceptado (8). Dadas las limitaciones clínicas, las pruebas biológicas han constituido la base del diagnóstico del SAF, insistiéndose en la medición de los anticuerpos anticardiolipina (cLP) y el "anticoagulante lúpico" (9).

El Octavo Simposio Internacional sobre anticuerpos antifosfolípidos celebrado en 1998 en la ciudad de Sapporo, Japón, consideró que los pacientes con trombosis asociada a SAF, deben estudiarse para excluir otras causas potenciales y que tales pacientes deberían ser estratificados de acuerdo con factores de riesgo probables o identificables como la edad y la comorbilidad (10).

Este simposio hizo eco a los criterios publicados por Harris en el año 1990, al considerar la edad al momento del diagnóstico del SAF. Parece claro que los pacientes, por lo general, tienen edades inferiores a los 45 años en casos de SAF relacionados con lupus eritematoso sistémico y que, en el primario, la edad promedio al momento de la primera trombosis va de 32 a 45 años. La enfermedad primaria raramente ocurre después de los 60 años, pero se ha visto que los anticuerpos anti-cLP son un factor de riesgo independiente para un primer accidente cerebrovascular isquémico en pacientes con edad mediana de 67 años, teniéndose no obstante, serias dificultades en excluir causas ateroscleróticas de eventos trombóticos arteriales. Se propone pues la edad, como un criterio más de ayuda diagnóstica, en especial cuando se trata de pacientes jóvenes (9).

En cuanto a la necesidad de excluir otras causas contributivas de trombosis, empiezan a aparecer nuevas dificultades, puesto que no todo paciente puede ser tamizado en forma rutinaria para las diferentes alteraciones de coagulación causales de trombosis. Las proteínas C y S de la coagulación, anticoagulantes naturales dependientes de fosfolípidos, tras su activación por el complejo trombinatrombomodulina, inhiben la formación de nuevas moléculas de trombina al degradar los factores Va y V_{III},a. En algunos pacientes con trombosis, se ha descrito actividad antifosfolípida del suero que interfiere con la activación de la proteína C, y hay casos informados de SAF primario donde se encuentra disminución en la función anticoagulante de la proteína C sin una verdadera disminución de su concentración antigénica. Esto puede ocurrir como resultado de la reactividad cruzada de anticuerpos antifosfolípido con la trombomodulina, proteoglicano transmembrana de localización endotelial, receptor de la trombina, cuya actividad es dependiente de fosfolípidos (11-15). Podría hablarse en estos casos de una deficiencia adquirida de la proteína C tipo II, en la cual los pacientes cursan con concentraciones normales de proteína C medidas por técnicas cuantitativas (ELISA o inmunodifusión radial), pero baja actividad biológica anticoagulante.

En presencia de anticuerpos antifosfolípido, una deficiencia congénita de la proteína C tipo II, causante de la trombofilia heredofamiliar sería, por lo anterior, factor de confusión diagnóstica, cuya pesquisa depurada obligaría a la detección de la mutación genética causante de la deficiencia. Imposibilita el cumplimiento de las

recomendaciones del octavo consenso, el tamizar indiscriminadamente todo paciente con trombosis para dichas anormalidades. Por otra parte, las deficiencias congénitas cuantitativas de proteínas C y S (deficiencias tipo I) son causas de trombofilia heredofamiliar, en las cuales se encuentran disminuidas las concentraciones de proteína C circulante y proteína S total (complejo proteína S libre/ fracción ligada a la proteína C4b del complemento), cuya detección por técnicas cuantitativas, contribuiría a esclarecer la causa del evento trombótico (16). No obstante, a todos los pacientes no se les practican dichas determinaciones en forma rutinaria. De igual tenor de dificultad en la realización, estarían las determinaciones de antitrombina III y de factor V Leyden (17).

Por consenso, la octava reunión antes dicha, consideró igualmente que, para establecer el diagnóstico de SAF obliga un contexto clínico aceptado como asociado al síndrome y títulos de IgG y/o IgM anti-cLP a títulos medio o alto, en dos o más ocasiones, por lo menos con intervalo de seis semanas y medidos mediante una técnica ELISA para anticuerpos anti-cLP dependiente de B 2-GP I. No se establecieron límites en el intervalo entre el evento clínico y los hallazgos de laboratorio positivos (10).

Estableció la octava reunión, igualmente por consenso, que los hallazgos de laboratorio de SAF tales como anticuerpos antibeta 2-glicoproteína I (anti B 2-GP I), títulos bajos positivos de IgG o IgM anti-cLP, el isotipo IgA anti-cLP y los anticuerpos para otros fosfolípidos o proteínas unidas a fosfolípidos, requieren ulterior estudio y aún no deben ser incluidos como criterios para el diagnóstico.

El apoyo a éstos no puede lograrse con solamente un nivel de evidencia logrado por la reunión de expertos que han llegado a un consenso. Para convertirse en normas, las recomendaciones deben tener la fuerza de un estudio de análisis discriminante múltiple lineal como el propuesto en este trabajo, cuyo objetivo fue determinar si, además de la evaluación clínica y la cuantificación de los anticuerpos anti-cLP del tipo IgG, la edad y otras pruebas de laboratorio comúnmente empleadas en la clasificación diagnóstica de los eventos trombóticos (anticuerpos IgM e IgA anticLP, IgG anti-B 2-glicoproteína I, cuantificación de proteínas anticoagulantes naturales C y S), discriminan significativamente el SAF de los eventos oclusivos vasculares no asociados a actividad antifosfolipídica del plasma.

Material y métodos

Se realizó un estudio de casos-no casos durante un período de un año a partir del 5 de enero de 1998, incluyendo sucesivamente los casos incidentes de eventos oclusivos vasculares en pacientes con edad igual o mayor a 17 años, evaluados mediante el sistema de interconsulta hospitalaria.

La definición operacional de evento oclusivo vascular fue el diagnóstico inequívoco por parte del grupo médico a cargo, de:

Compromiso de perfusión arterial de extremidades, sin alteraciones electrocardiográficas del ritmo cardíaco.

Déficit neurológico cerebral definitivo, motor y/o sensitivo, asociado o no a convulsiones, con documentación por neuroimágenes de evento oclusivo arterial o venoso.

Tromboflebitis venosa profunda de extremidades y casos de alta probabilidad de tromboembolismo pulmonar por gamagrafía de perfusión asociados o no con diagnóstico de trombosis venosa profunda.

A la totalidad de pacientes seleccionados se le cuantificó los niveles séricos de anticuerpos anti-cLP del tipo IgG, en unidades GPL (cada unidad GPL tiene la actividad de unión de 1mg/mL de anti-cLP purificada) y se dividió la cohorte en tres grupos, el primero de ellos considerado grupo de "casos" y los dos restantes grupos "no casos", a saber:

- i. Niveles de IgG anti-cLP superiores a 80 unidades GPL: síndrome antifosfolípido definitivo.
- ii. Niveles de IgG anti-cLP entre 20 y 80 unidades GPL: probable síndrome antifosfolípido.

iii. Niveles de IgG anti-cLP inferiores a 20 unidades GPL: evento oclusivo vascular no asociado a síndrome antifosfolípido.

A la totalidad de pacientes se le practicó cuantificación de proteínas anticoagulantes naturales C y S, determinación de actividad antifosfolípido del suero por otras pruebas tales como, cuantificación de la reactividad de anti-cLP de los tipos IgM e IgA y actividad de anticuerpos IgG anti beta-2 glicoproteína-I (anti-B 2-GP I).

Las cuantificaciones de proteínas C y S se realizaron mediante inmunodifusión radial con incubación durante 96 horas antes de su lectura, siguiendo la técnica recomendada por el estuche comercial (THE BINDING SITE) y fueron informadas en mg/L.

Las determinaciones séricas de anti-cLP IgG, IgM e IgA se efectuaron mediante técnica de micro ELISA (*enzymelinked immunosorbent assays*), común para todos los isotipos, con reactivos comerciales de la casa INOVA. El método se basa en incubar en pozos de láminas plásticas recubiertos con cardiolipina purificada y estabilizada, el suero humano por probar, el cual se supone contiene anticuerpos anticardiolipina. Tras la incubación, los anticuerpos (IgG, IgM, IgA) anti-cLP del suero se unen con la cardiolipina. La proteína que no se une es removida por lavado y adición a los pozos de un conjugado de peroxidasa anti Ig humana. Se incuba de nuevo, y luego el conjugado no unido se remueve por lavado. Se adiciona como sustrato peróxido de hidrógeno, el cual sufre un cambio de color en presencia de la enzima conjugada. Se detiene la reacción con ácido sulfúrico y se adiciona como cromógeno tetrametil benzidina. Los resultados se leyeron en un microlector ELISA (DIAMEDIX BP-96) a 450 nm y se informaron en unidades. Cada unidad tiene la actividad de unión de 1 mg/mL de anticuerpo anti-cLP purificado.

La determinación de anticuerpos IgG anti-B 2-GPI, se realizó por micro ELISA, con reactivos comerciales de la casa INOVA. El método está basado en iguales consideraciones descritas en el párrafo anterior y se informa en unidades.

Métodos estadísticos

La descripción de variables continuas de distribución normal se realizó mediante la mediana y los límites del rango intercuartil (RIC).

Se realizó un análisis discriminante múltiple lineal (18 22) para:

1. Contrastar la hipótesis nula de que los valores de los centroides de los tres grupos definidos previamente eran iguales.
2. Determinar el conjunto de las variables independientes que daban cuenta, en caso de presentarse, de las diferencias entre centroides. Las variables independientes (predictoras de discriminación) consideradas para análisis fueron la edad del paciente en años, los niveles de unidades de IgM e IgA anti-cLP, niveles séricos de proteínas anticoagulantes naturales C y S y los niveles de anticuerpos IgG anti-B 2-GPI.

Se efectuaron los siguientes pasos en el análisis discriminante múltiple lineal:

Paso 1. Selección aleatoria de una submuestra correspondiente a 90% de la serie original, sobre la cual se realizó la extracción de las funciones discriminantes, formándose con el 10% restante una submuestra que se empleó para evaluar la utilidad de clasificación de la función.

Paso 2. Selección de las variables independientes más importantes para el modelo y extracción de las funciones discriminantes. La selección del conjunto de variables independientes que más discriminación aportaran al modelo, se realizó mediante el método computacional "paso a paso" (stepwise). Dicho método selecciona, del total de variables independientes incluidas, aquellas que, en cualquier etapa del proceso, presenten el mínimo valor de la Lambda de Wilks entre las que cumplan la máxima significación de F (máxima significación de F para ingreso 0.05 y para egreso 0.1).

Para probar la homogeneidad de las varianzas de las variables independientes dentro de cada grupo formado por la variable dependiente, se empleó la prueba M de Box usando la distribución F. Si $p(M) < 0.05$, las varianzas se consideraron significativamente diferentes, y violada la asunción de homoscedasticidad.

La evaluación del poder de discriminación aportado por cada función discriminante extraída, se realizó mediante el autovalor asociado con cada función. Para probar la significación estadística del autovalor para cada función discriminante y así contrastar la hipótesis nula de igualdad de los centroides grupales, se empleó el estadístico Lambda de Wilks, considerándose significativo un valor-p, usando la distribución Chi-cuadrada, menor que 0.05.

La determinación de la proporción en que el valor de la función discriminante condiciona los resultados de clasificación, se realizó mediante el porcentaje de varianza atribuible a cada función. Para determinar la magnitud en la que cada función fue de utilidad en determinar las diferencias grupales, se empleó la correlación canónica.

Paso 3. Clasificación de los pacientes en los grupos y validación de los resultados. Se elaboraron las puntuaciones discriminantes individuales y mediante la regla de Bayes se determinó computacionalmente la máxima probabilidad *a posteriori* de un individuo de pertenecer a un grupo, análisis efectuado a las dos submuestras seleccionadas al inicio. Su aplicación partió de las puntuaciones discriminantes individuales y de la probabilidad *a priori* de pertenecer a un determinado grupo, dada por la proporción de casos correspondientes a cada grupo en la muestra seleccionada. Con esta regla, el porcentaje de casos correctamente clasificados, tanto para los que formaron parte de la submuestra seleccionada aleatoriamente para realizar el análisis como para los que no, se constituyó en el índice de la efectividad de la función discriminante.

Sólo si una función discriminante cumple con ser estadísticamente significativa y si además es aceptable el porcentaje de clasificación correcta evaluado sobre la submuestra no considerada para análisis, puede seguirse hacia el desarrollo de los perfiles de los grupos y la predicción.

Los perfiles de puntaje de grupos no aportarán información, si el porcentaje de clasificación correcta *a posteriori* evaluado sobre la submuestra no considerada para análisis, no es significativamente mayor que lo que se esperaría solo por probabilidad *a priori*, y sería el momento de detener el análisis.

El criterio utilizado para comparar el porcentaje de clasificación correcta como aceptable, fue el de clasificación por azar basado en el tamaño del mayor de los grupos de la muestra, expresado como porcentaje de la muestra total. La exactitud de clasificación debe ser como mínimo _ mayor que la obtenida por azar.

Para valorar la significación estadística de la matriz de clasificación se empleó el estadístico Q de Press, comparado con un valor crítico de distribución Chi-cuadrada con un grado de libertad.

Todos los análisis se realizaron mediante el programa de computador SPSS versión 7.5 (23).

Resultados

Se incluyeron en total 35 pacientes con eventos vasculares oclusivos. La incidencia de SAF definitivo, clasificado con base en los niveles de IgG anti-cLP, fue de 17% (Tabla 1). Las estadísticas de resumen de las variables independientes por considerar en el análisis discriminante múltiple, especificadas por grupos diagnósticos, se muestran en las Tablas 2 a 4. La distribución de frecuencia de casos por género, se presenta en la Tabla 5.

Tabla 1. Clasificación diagnóstica de los pacientes con eventos vasculares oclusivos.

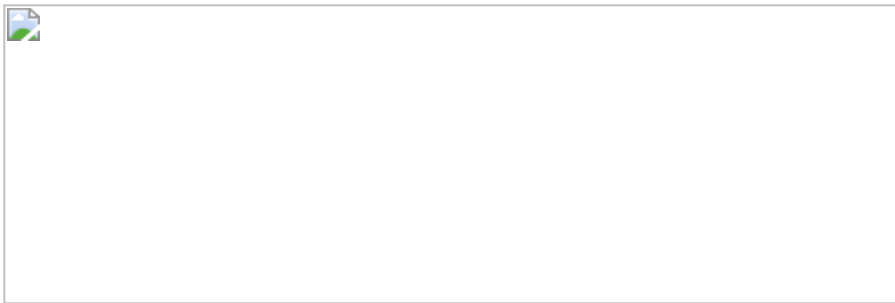


Tabla 2. Medidas de resumen de variables independientes, discriminadas por grupos diagnósticos, incluidas en el análisis discriminante.

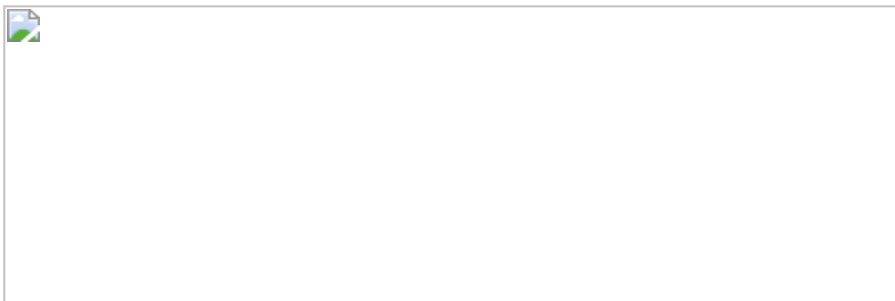


Tabla 3. Otras medidas de resumen de variables independientes, discriminadas por grupos diagnósticos, incluidas en el análisis discriminante

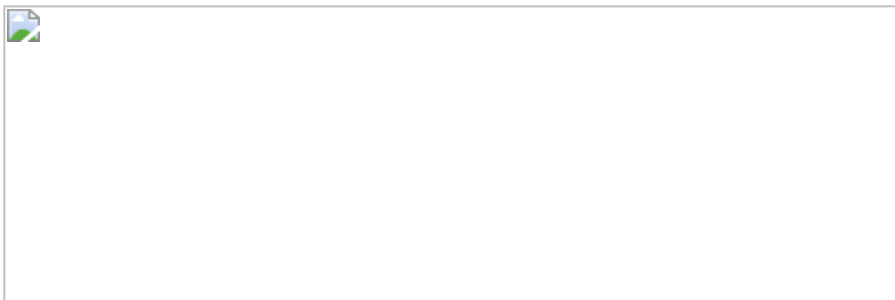


Tabla 4. Continuación de medidas de resumen de variables independientes, discriminadas por grupos diagnósticos, incluidas en el análisis discriminante.

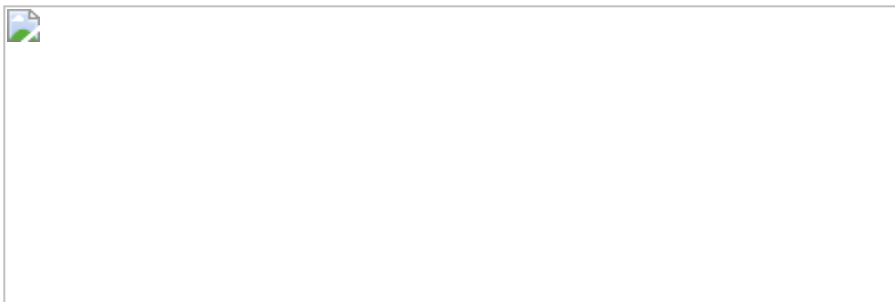
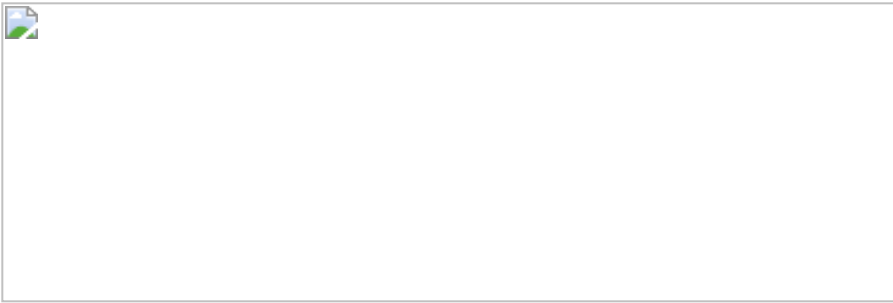


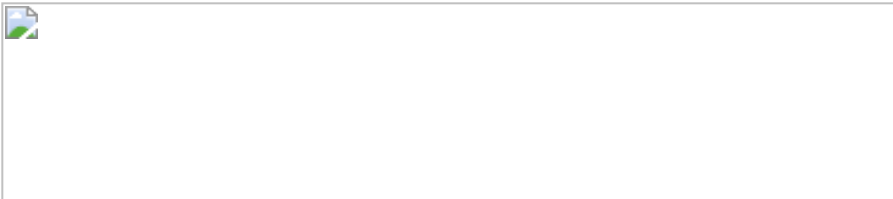
Tabla 5. Distribución de frecuencia de los casos por género.



La prueba M de Box fue significativa ($M=33.8$; $F=16.4$; $p=0$), concluyéndose que los grupos determinados por la variable dependiente diferían en sus matrices covariadas. Se continuó con la extracción de las funciones discriminantes, no obstante la significación de la prueba, dada su "robustez" ante violaciones de la asunción de la homoscedasticidad.

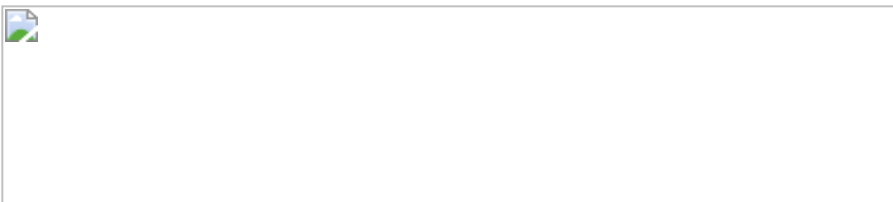
En el proceso de selección de variables mediante el método "paso a paso", la variable que minimizó la Lambda de Wilks en cada uno de los 12 "pasos" totales, además de cumplir con los criterios de significación de F, fue la IgM anti-cLP. En la Tabla 6 se presentan las estadísticas de resumen del proceso de selección de variables.

Tabla 6. Estadísticas de resumen del proceso de selección de variables por el método "paso a paso" para ser incluidas en el análisis discriminante.



De un total posible de dos funciones discriminantes por extraer, el método "paso a paso" extrajo una función canónica discriminante, siendo la única que aportó información en el momento de la clasificación de los individuos a los grupos, además de ser estadísticamente significativa (Tabla 7). La función discriminante extraída se tipificó como, $D = 1 X$ unidades Ig M anti-cLP.

Tabla 7. Significación estadística de la función canónica discriminante.



Las puntuaciones discriminantes no se muestran, como tampoco se informa la máxima probabilidad *a posteriori* de cada individuo de pertenecer a un grupo en el análisis hecho a las dos submuestras seleccionadas al inicio.

El porcentaje de casos correctamente clasificados en la submuestra originalmente seleccionada para análisis, fue de 51.5%. En la segunda submuestra (10% de la muestra original), el porcentaje de casos correctamente clasificados fue de 50%. Con estos resultados, la función discriminante se consideró inefectiva, teniendo en cuenta que el porcentaje de casos que resultaría correctamente clasificado *a priori*, sin realizar el análisis discriminante, sería de 46%, el correspondiente al grupo "otras trombosis". Como mínimo el porcentaje de clasificación correcta que debió alcanzar la función discriminante debió haber sido de 62%. Por esta razón se detiene el análisis y no se elaboran perfiles grupales.

El estadístico Q de Press fue 5.15, con un valor- $p < 0.05$.

Discusión

Este análisis discriminante múltiple lineal, clasifica los pacientes con eventos oclusivos vasculares en tres grupos, diagnosticados con base en los niveles de IgG anti-cLP, y toma el efecto conjunto de variables que por consenso de expertos se consideran de potencial utilidad discriminante entre los subgrupos, como son la edad, los niveles de proteínas C y S anticoagulantes naturales, y la cuantificación de IgM e IgA anti-cLP y de IgG anti-B 2-GP I. La finalidad última radica en poder dar recomendaciones sobre el conjunto de paraclínicos por solicitar, a más de la IgG anticLP, para predecir en un nuevo paciente con un evento oclusivo vascular, a cuál categoría de trombosis pertenece.

La única función discriminante extraída estuvo basada en los niveles de IgM anti-cLP, función que, aunque estadísticamente significativa, no contó con una capacidad de discriminación de casos superior a la previamente efectuada con los niveles de IgG anti-cLP. Así pues, el conjunto de variables analizadas, no aporta más al diagnóstico de síndrome antifosfolípido en el contexto de un evento trombotico, que los niveles de IgG anti-cLP. No obstante, tener en consideración que este resultado pudo haber sido influido sensiblemente por el tamaño total de la muestra en relación con el número de variables independientes incluidas. Igualmente, ante la asimetría de tamaño de los grupos, en la clasificación de las observaciones, los grupos mayores pudieron tener una opción desproporcionadamente mayor de clasificación que el grupo de menor tamaño.

Existen muy pocos estudios que establecen la frecuencia de presentación de IgA anti-cLP concomitantemente con trombosis. En uno de los primeros estudios de SAF, se hace referencia a la positividad de la IgA anti-cLP en 21/40 pacientes (52%); entre tales pacientes con SAF, la Ig A anti-cLP se encontró como único isotipo en solo un paciente, concomitantemente con Ig M anti-cLP en tres pacientes y con Ig G anti-cLP en los demás (24). No obstante dichos resultados, sigue siendo controvertida la asociación patogénica entre IgA anti-cLP y trombosis.

La unión a la cardiolipina de los anticuerpos anti-cLP en pacientes con SAF depende de la B 2-GP I como cofactor, la cual representa el verdadero epítope para los anticuerpos anti-cLP. Las diferencias en la metodología de detección de anticuerpos anti-B 2-GP I han hecho que la comparación de los datos provenientes de laboratorios diferentes sea extremadamente difícil. Para una mayor positividad de los resultados con estos anticuerpos, es importante emplear láminas plásticas comerciales que se denominan de "alta capacidad de unión", consistentes en láminas de poliestireno irradiadas, sobre la superficie de las cuales se han introducido átomos de oxígeno, lo que induce cambios conformacionales de la B 2-GP I que expone antígenos que normalmente son crípticos. Pareciera ser que la diferencia en el tipo de láminas empleadas entre los laboratorios sea la responsable de las diferencias observadas en los estudios y se sugiere que dada la alta especificidad de la prueba con láminas irradiadas, reemplace en el futuro la prueba anticLP en el diagnóstico de SAF (25).

La B 2-GP I inhibe la fase de contacto de la vía intrínseca de la coagulación, así como la actividad de protrombinasa y la agregación plaquetaria inducida por ADP; se la puede considerar como uno más de los anticoagulantes naturales, de tal manera que su inhibición funcional por autoanticuerpos se asocia a trombosis. El estudio de Tsutsumi et al (26), establece que la presencia de anticuerpos IgG anti-B 2-GPI, medidos con láminas de poliestireno irradiadas, se correlaciona firmemente con trombosis, que el significado de la IgA anti-B 2-GP I aún se controvierte y que definitivamente, los anticuerpos IgM anti-B 2-GP I no tienen significación clínica.

Por su parte, El-Kadi et al (27) informaron la fuerte correlación entre el número de manifestaciones clínicas, incluidos los eventos tromboticos, con los altos títulos de anticuerpos IgG anti-B 2-GP I medidos en láminas no irradiadas, a la vez sugirieron la existencia de un nivel mínimo de anticuerpos IgG anti-cLP de aproximadamente 50 uGPL, como un requisito para la unión sustancial de los anticuerpos anti-B 2-GP I séricos, *in vitro*.

Para Roubey et al (28), los anticuerpos anti-B 2-PG I detectados por ELISA, en comparación con pruebas convencionales de anticuerpos anti-cLP, se asocian más estrechamente y con mayor especificidad, con las manifestaciones clínicas del SAF.

Parece claro que la presencia de anticuerpos IgG anti-B 2 GP-I se asocia fuertemente con la presencia de trombosis en SAF. Es menos fuerte la evidencia encontrada para la IgM anti-cLP y contradictoria para la IgA anti-cLP. Las asociaciones, causales y no causales, entre dichos determinantes biológicos y trombosis, independientemente del tipo de prueba utilizada para su detección, nada dicen de la capacidad que tienen para clasificar un paciente con trombosis en el diagnóstico de SAF. Una cosa es considerar un marcador biológico de enfermedad como predictor de un evento clínico específico dada su fuerte asociación y otra cosa es considerarlo como criterio diagnóstico de enfermedad. Ninguno de los criterios biológicos considerados aporta más discriminación diagnóstica de SAF en caso de trombosis arterial y venosa, que lo que hace la IgG anti-cLP.

Desde la perspectiva que considera las trombosis venosa y arterial como eventos multifactoriales, la sospecha clínica de una trombofilia heredofamiliar o de una deficiencia adquirida de factores de coagulación antitrombóticos, no excluye un diagnóstico de SAF, lo que obliga a incluir en los estudios de tamizaje de estos pacientes pruebas biológicas para detectar anticuerpos antifosfolípido (29).

La elaboración de criterios diagnósticos para el SAF es desalentadora y no es una tarea aún acabada, menos cuando se trata de decisiones por consenso. Las preguntas que subsisten son tres: la primera, si los anticuerpos antifosfolípido diferentes a la IgG anti-cLP representan un epifenómeno o están efectivamente asociados con la patogénesis de la trombosis; segunda, si la falta de poder de discriminación observado, es el resultado de las características operativas de las pruebas de laboratorio empleadas; y tercera, si los diferentes anticuerpos antifosfolípidos tienen especificidad para eventos clínicos particulares del SAF.

Lo único que parece cierto es que la trombosis arterial y venosa asociada al criterio de biológico de anticuerpos IgG anti-cLP a títulos altos, es un criterio mayor de SAF.

Summary

Objective. To evaluate the discriminant capacity that variables like age, anticardiolipin (aCL) antibodies IgA and IgM fractions of sera, and IgG anti-B 2-glycoprotein I antibody, add to the diagnosis of anti-phospholipid syndrome with thromboses, previously classified by clinical features and quantification of IgG aCL antibodies.

Design. Cases-no cases study nested in a cohort of patients with vascular thromboses.

Place and time of study. Rheumatology and Hematology Units of the Faculty of Medicine, Universidad Nacional de Colombia and San Juan de Dios Hospital, in Santafé de Bogotá, during one year since 5th January, 1998.

Patients and methods. Inclusion criteria were, to fulfill the operational definition of vascular occlusive event, arterial or venous, and to be incident cases. Thirty five patients, 17 years old or older, were evaluated. Age and sex were recorded and the following sera antibodies were determined by ELISA method: IgG, IgM and IgA anticardiolipin, as well as IgG anti-b2-glycoprotein I. Natural anticoagulant proteins C and S were quantified by radial immunodiffusion. Patients were classified in three groups in accord with sera levels of IgG anticardiolipin antibodies, in this way: (i) Definite antiphospholipid syndrome, IgG anticardiolipin greater than 80 GPL units; (ii) Probable antiphospholipid syndrome, IgG anticardiolipin between 20 and 80 GPL units; and (iii) Thromboses not associated with serum antiphospholipid activity, IgG anticardiolipin lesser than 20 GPL units.

It was performed a lineal and multiple discriminant analysis, to:

1. Test the null hypothesis that centroids of the groups were equals.
2. Determine the aggregate of independent variables that explained possible differences between centroids. Independent variables considered to analysis were age of patients in years, sera levels of anticardiolipin antibodies IgM and IgA measured in units, sera levels of natural anticoagulant proteins C and S and serum level of IgG anti-B2-glycoprotein I antibodies.

Results. Just one discriminant function was extracted, based in IgM anticardiolipin. It was significant statistically but its discriminant capacity was not superior to the previous one done by IgG anticardiolipin antibodies.

Discussion. As a major clinical criterion to consider in antiphospholipid syndrome diagnostic is thromboses associated with high titles of IgG anticardiolipin antibodies. Neither age nor biological criteria studied, although are considered predictors of thromboses, did not add discriminant capacity to diagnostic of SAF.

Key words, antiphospholipid syndrome, thromboses, IgG anticardiolipin antibodies.

Referencias

1. Hughes GRV. Thrombosis, abortion, cerebral disease and lupus anticoagulant. *Br Med J* 1983;187:1088-1089.
2. Hughes GRV. The antiphospholipid syndrome: ten years on. *Lancet* 1993;342:341-344.
3. Hughes GRV. The antiphospholipid syndrome. *Lupus* 1996;5:345-346.
4. Gharavi AE, Wilson WA. The syndrome of thrombosis, thrombocytopenia, and recurrent spontaneous abortions associated with antiphospholipid antibodies: Hughes syndrome. *Lupus* 1996;5:343-344.
5. Hughes GRV. Hughes' Syndrome: The antiphospholipid syndrome. A historical view. *Lupus* 1998;7(Suppl 2): S1-S4.
6. Piette JC. 1966 diagnostic and classification criteria for the antiphospholipid/ cofactor syndrome: a "mission imposible"? *Lupus* 1996;5:354-363.
7. Alarcón-Segovia D, Cabral AR. The concept and classification of antiphospholipid/cofactor syndrome. *Lupus* 1996;5:364-367.
8. Petri M. Epidemiology of the antiphospholipid syndrome. In: Asherson RA, Cervera R, Piette JC, Shoenfeld Y. *The Antiphospholipid Syndrome*. Boca Raton: CRC Press 1996:13-28.
9. Piette JC. Towards improved criteria for the antiphospholipid syndrome. *Lupus* 1998;7: S149-S157.
10. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, et al. International Consensus Statement on Preliminary Classification for Definite Antiphospholipid Syndrome. Report of an International Workshop. *Arthritis Rheum* 1999;42:1309-1311.
11. Bakimer R, Shoenfeld Y. Pathogenesis of the Antiphospholipid Syndrome. In: Asherson RA, Cervera R, Piette JC, Shoenfeld Y, eds. *The Antiphospholipid Syndrome*. Boca Raton: CRC Press 1996:59-70.
12. Boffa MC, Karmochkine M. Thrombomodulin: an overview and potential implications in vascular disorders. *Lupus* 1998;7:S120-S125.
13. Ruiz-Arguelles G J, Ruiz-Arguelles A, Deleze M, Alarcón-Segovia D. Acquired Protein C Deficiency in a Patient with Primary Antiphospholipid Syndrome. Relationship to Reactivity of Anticardiolipin Antibody with Thrombomodulin. *J Rheumatol* 1998;16:381-383.
14. Oosting JD, Derksen RHWN, Bobbink I, et al. Antiphospholipid Antibodies Directed Against Combination of Phospholipids With Prothrombin, Protein C, or Protein S: An Explanation for their Pathogenic Mechanism? *Blood* 1993;81:2618- 2625.
15. De Groot PG, Horbach DA, Derksen RHWN. Protein C and other cofactors involved in the binding of antiphospholipid antibodies: relation to the pathogenesis of thrombosis. *Lupus* 1996;5:488-493.

16. Aiach M, Gandrille S, Emmerich J. A Review of Mutations Causing Deficiencies of Antithrombin, Protein C and Protein S. *Thromb Haemost* 1995;74:81-89.
17. Ieko M, Ichikawa K, Triplett DA, et al. b2-Glycoprotein I is Necessary to Inhibit Protein C Activity by Monoclonal Anticardiolipin Antibodies. *Arthritis Rheum* 1999;42:167-174.
18. Hir JF, Anderson RE, Tathan RL, Black WC. Multiple Discriminant Analysis. In: Hir JF, Anderson RE, Tathan RL, Black WC, eds. *Multivariate Data Analysis with Readings*. New Jersey: Fourth Ed. Prentice Hall. 1995:178-255.
19. Fisher L, VanBelle G. Discriminant Analysis. In: Fisher L, Vanbelle G, eds. *Biostatistics. A Methodology for the Health Sciences*. New York: John Wiley & Sons. 1993:647-668.
20. Everitt BS, Dunn G. Discriminant Analysis. In: Everitt BS, Dunn G. *Applied Multivariate Data Analysis*. London: Edward Arnold 1991:225-238.
21. Everitt BS. Assignment Techniques. In: Everitt BS. *Statistical Methods for Medical Investigations*. London: Second Ed. Edward Arno. 1994: 165-178.
22. Ferrán M. Análisis Discriminante. En: Ferrán M, eds. *SPSS para Windows. Programación y Análisis Estadístico*. Madrid: McGraw-Hill. 1996: 287 - 312.
23. *SPSS 7.5 for Windows Student Version*. Prentice Hall.
24. Wilson WA, Faghiri Z, Taheri F, Gharavi AE. Significance of IgA antiphospholipid antibodies. *Lupus* 1998; 7: S110-S 113.
25. Harris EN, Pierangeli SS, Gharavi AE. Diagnosis of the antiphospholipid syndrome: A proposal for use of laboratory tests. *Lupus* 1998;7:S144-S148.
26. Tsutsumi A, Ichikawa K, Matsuura E, Koike T. Anti-b2-glycoprotein I antibodies. *Lupus* 1998;7:S98-S102.
27. El-Kadi HS, Keil LB, Debari VA. Analytic and Clinical Relationships Between Human IgG Autoantibodies to b2 Glycoprotein I and Anticardiolipin Antibodies. *J Rheumatol* 1995;22:2233-2237.
28. Roubey RA, Maldonado MA, Byrd SN. Comparison of an enzyme-linked immunosorbent assay for antibodies to b2-glycoprotein I and a conventional anticardiolipin immunoassay. *Arthritis Rheum* 1996;39:1606-1607.
29. Cervera R, Font J, Asherson RA. Antiphospholipid Antibodies: Guidelines for Determination. *J Clin Rheumatol* 1997;3:368-373.