

## Artículos originales

Instituto de Hematología e Inmunología

### Determinación del anticoagulante lúpico. Experiencia de 4 años

*Lic. Alina Díaz Concepción, Lic. Patricia Caunedo Almagro y Lic. Yaneth Zamora González*

#### Resumen

Se realizó un estudio retrospectivo de los resultados de la determinación del anticoagulante lúpico (AL) realizadas en el período comprendido entre julio del 2000 y julio del 2004 en el laboratorio de hemostasis del Instituto de Hematología e Inmunología. En este período se le realizó la determinación del AL a 380 muestras, el 86 % de las cuales pertenecían a pacientes del sexo femenino, la positividad global fue del 7,3 %, el tiempo de veneno de víbora de Russell diluido fue la prueba que detectó más casos positivos (50 %), pero se evidenció la necesidad de realizar más de una prueba para detectar todos los casos positivos. La prevalencia del AL se comportó de la siguiente forma: en el lupus eritematoso sistémico fue del 17,8 %, en la anemia hemolítica autoinmune del 21 %, en la púrpura trombocitopénica idiopática del 7,6 %, en un grupo de misceláneas que incluyó principalmente artralgias, vasculitis, síndrome de Evan- Fischer, tiempo parcial de tromboplastina prolongado, sangramientos e infecciones a repetición fue del 3,5 %, en pacientes con trombosis fue del 7,6% y en pacientes con abortos a repetición y/o pérdidas fetales del 4,6 %; resulta de gran importancia su determinación en enfermedades autoinmunes, ya que el 39 % de los casos positivos pertenecían a este grupo, aunque su positividad fue baja en el grupo de mujeres con abortos y/o pérdidas fetales a repetición y en pacientes con trombosis.

**Palabras clave:** anticoagulante lúpico.

Los anticuerpos antifosfolípidos son una familia heterogénea de inmunoglobulinas que incluye entre otros el anticoagulante lúpico (AL) y los anticuerpos anticardiolipina. En la mayoría de los casos, estos autoanticuerpos están asociados con el síndrome antifosfolipídico (SAF), una forma adquirida de trombofilia que se caracteriza por trombosis venosa o arterial, pérdidas fetales a repetición y/o trombocitopenia, <sup>1</sup> y que puede ser primario o secundario principalmente a enfermedades autoinmunes. En la población sana normal se han detectado entre el 1 y 14 % de los casos más frecuentemente en mujeres jóvenes y con una frecuencia que se incrementa con la edad y la coexistencia de una enfermedad crónica. <sup>2</sup>

El AL se comporta como un inhibidor adquirido de la coagulación, prolonga las pruebas de la coagulación dependientes de fosfolípidos in vitro, <sup>3</sup> los anticuerpos anticardiolipina (AAC) se

determinan mediante inmunoensayos utilizando cardiolipina u otro fosfolípido aniónico en fase sólida. <sup>4</sup> En años recientes, se ha demostrado que estos autoanticuerpos están dirigidos contra proteínas plasmáticas unidas a superficies aniónicas apropiadas (fosfolípidos), de ellas la  $\beta 2$  glicoproteína I ( $\beta 2$ -GPI) <sup>5,6</sup> y la protrombina <sup>7</sup> son las más ampliamente investigadas.

La mayoría de los AAC necesitan de la  $\beta 2$ -GPI para reaccionar con la cardiolipina en los inmunoensayos. <sup>6</sup> La actividad del AL depende de la presencia de  $\beta 2$ -GPI o de la protrombina. Los anticuerpos con actividad de AL reconocen específicamente a la fosfatidiletanolamina en fase hexagonal y no bicapas de forma lamelar, <sup>8</sup> y se requiere la bivalencia (isotipo IgG) para incrementar el enlace de la protrombina a las vesículas de fosfolípidos. <sup>2</sup> Se ha establecido que la presencia del AL representa un mayor factor de riesgo para la trombosis que la positividad para AAC, independientemente del sitio y tipo de trombosis, la presencia de lupus eritematoso sistémico (LES) y los ensayos empleados para detectarlo. <sup>9</sup>

Los mecanismos por los cuales el AL puede conducir a manifestaciones trombóticas son múltiples y variados. Se han demostrado efectos en las plaquetas, <sup>10</sup> en las proteínas de la coagulación, que incluyen alteración de los mecanismos anticoagulantes naturales <sup>11-14</sup> y en las células endoteliales. <sup>15-19</sup>

Debido a sus implicaciones clínicas, la determinación del AL es una solicitud frecuente en los laboratorios de Hemostasia; en el nuestro se reciben aproximadamente 100 anuales.

En este trabajo nos propusimos realizar un estudio retrospectivo de los resultados de la determinación del AL en un período de 4 años, para determinar la utilidad de las pruebas utilizadas para la detección del AL y la prevalencia del AL en nuestra población de pacientes.

## **Métodos**

Se analizaron retrospectivamente 393 pacientes referidos a nuestro laboratorio para la detección del AL desde julio del 2000 a julio del 2004. La información obtenida fue introducida en una base de datos y subsecuentemente analizada.

### **Obtención y procesamiento de las muestras**

La sangre venosa se obtuvo en tubos plásticos; se utilizó citrato trisódico al 3,8 % como anticoagulante en una proporción de una parte de anticoagulante para 9 partes de sangre; el plasma pobre en plaquetas se obtuvo por doble centrifugación a 4 000 rpm durante 15 minutos.

### **Determinación del AL**

Todas las pruebas de la coagulación se llevaron a cabo en un coagulómetro Stago modelo ART8. El tiempo de coagulación con caolín (KCT) se realizó mediante la adición de 0,05 mL de caolín 20 mg/mL en tampón imidazol-salino, pH 7,35 a 0,1 mL de plasma; después de 3 minutos de incubación se adicionó 0,1 mL de CaCl<sub>2</sub> precalentado a 37 °C y se registró el tiempo de coagulación; se determinó la

relación plasma paciente/plasma normal, si esta fue de 1,2 o mayor, se realizó el KCT a una mezcla constituida por 4 partes de plasma normal y una parte de plasma del paciente, si la relación con el plasma normal fue mayor de 1,2 se consideró el AL como positivo.<sup>20</sup>

El tiempo de veneno de víbora diluido (TVVRd) se realizó según el método previamente descrito.<sup>21</sup> La dependencia de fosfolípidos del efecto inhibitorio fue confirmada realizando la prueba en presencia de un exceso de fosfolípidos: la prueba de neutralización con plaquetas,<sup>22</sup> se consideró el resultado como positivo cuando se obtuvo más del 10 % de corrección con esta prueba.

## Resultados

De los 393 pacientes referidos a nuestro laboratorio para la determinación del AL se procesaron 380 (96,6 % muestras); las restantes no se pudieron examinar por diferentes causas: plasmas lipémicos, hemólisis o deficiente centrifugación. Correspondieron 327 muestras (86 %) a pacientes del sexo femenino, 28 pacientes (7,3 %) resultaron AL positivos por uno o por ambos métodos utilizados, el TVVRd fue el método que resultó positivo con mayor frecuencia (50 %, 14 de los 28 pacientes con resultado positivo) (tabla 1).

Tabla 1. Positividad del anticoagulante lúpico en las pruebas realizadas

Prueba	No. de pacientes	%
Tiempo de coagulación con caolín	4	14,3
Tiempo del veneno de víbora de Russell diluido	14	50
Ambas	10	35,7
Total	28	100

El 72,4 % de los resultados positivos correspondió a pacientes del sexo femenino. El número y porcentaje de pacientes con AL positivo en cada enfermedad fue: en el LES 3/23 (14,2 %), anemia hemolítica autoinmune (AHAI) 4/25 (23 %), trombosis 4/53 (7,7 %), púrpura trombocitopénica idiopática (PTI) 4/52 (7,6 %) y un grupo de misceláneas de síntomas que incluyó principalmente: artralgias, vasculitis, síndrome de Evan-Fischer, TPT prolongado, sangramientos e infecciones a repetición 3/84 (3,5 %). También se estudio a un grupo de pacientes referidas para el estudio del AL por presentar abortos y/o pérdidas fetales a repetición 7/152 (4,6 %) (tabla 2).

Tabla 2. Prevalencia del anticoagulante lúpico (AL) en los grupos de enfermedades

	LES*(n/%)	Abortos (n/%)	AHAI** (n/%)	Trombosis (n/%)	PTI*** (n/%)	Misceláneas (n/%)
AL negativo	23/82,2	145/95,4	15/79	48/92,4	48/92,4	74/96,2

AL positivo	5/17,8	7/4,6	4/21	4/7,6	4/7,6	3/3,8
Total (N)	28	152	19	52	52	77

\*Lupus eritematoso sistémico.

\*\*Anemia hemolítica autoinmune.

\*\*\*Púrpura trombocitopénica idiopática.

## Discusión

Una revisión de diferentes estudios publicados ha demostrado que el AL está asociado con eventos trombóticos, pérdidas fetales a repetición e infertilidad femenina, y ocasionalmente con fenómenos hemorrágicos por trombocitopenia o hipoprotrombinemia.<sup>23</sup> Debido a estas asociaciones clínicas, la solicitud de realizar pruebas para la detección del AL es un evento común en todo laboratorio de hemostasia. En nuestro laboratorio se recibieron 393 solicitudes para el estudio del AL en un período de 4 años, con una positividad global del 7,3 %, el TVVRd identificó más pacientes con AL (50 %) que el TCC, pero se requirió más de un ensayo para identificar a todos los pacientes con AL positivo, resultados que fueron similares a los obtenidos por Proven y colaboradores, 24 quienes obtuvieron una positividad global para el AL del 9,1 % en una serie de 664 pacientes.

Las mujeres fueron afectadas 3 veces más que los hombres. Existen diferentes estudios que coinciden en demostrar un predominio del sexo femenino en la positividad de las pruebas para demostrar la presencia de anticuerpos antifosfolípidos y en el SAF en general.<sup>25,27</sup> En relación con la presencia de AL por grupos, en el LES el 14,2 % de las muestras ensayadas resultaron positivas, cifra comparable con las obtenidas en una revisión de artículos publicados, en la que se plantea una incidencia del 14 al 34 % en pacientes con LES. En los pacientes con AHAI se detectó el AL con mayor frecuencia que en el resto de los grupos, incluido el LES. En la literatura existen pocas investigaciones que relacionan la AHAI con la presencia del anticuerpos antifosfolípidos, y se ha planteado que estos anticuerpos forman parte del mecanismo patogénico de destrucción eritrocitaria.<sup>28</sup>

La frecuencia del AL en los pacientes con PTI fue menor que la comunicada por otros autores.<sup>29,30</sup> La prevalencia del AL positivo en pacientes con trombosis es altamente variable, se ha encontrado entre el 9 y 46 %<sup>31</sup> de los pacientes con AL positivo; en nuestra casuística la incidencia de AL en pacientes con trombosis es algo menor (7,7 %), en lo cual puede haber influido la falta de asociación temporal entre la determinación del AL y el evento trombótico; además, en general, salvo excepciones, las determinaciones del AL se realizaron solo una vez en cada paciente, lo que también puede ser una explicación para el bajo nivel de positividad obtenido en el grupo de mujeres con abortos y/o pérdidas fetales a repetición, ya que se conoce la importancia de los eventos trombóticos en las complicaciones obstétricas.<sup>32</sup>

En conclusión, se confirma que en la actualidad, el TVVRd es la prueba que identifica más pacientes

con AL, sin embargo, es necesario realizar más de un ensayo para detectar el AL en todos los pacientes, pues resulta de gran importancia su determinación en enfermedades autoinmunes, ya que el 39 % de los casos positivos pertenecían a este grupo, aunque su positividad fue baja en el grupo de mujeres con abortos y/o pérdidas fetales a repetición y en pacientes con trombosis.

## Referencias bibliográficas

1. Hughes GRV. The antiphospholipid syndrome: ten years on. *Lancet* 1993;342:341-4.
2. Pierangeli SS, Harris EN. Advances in antiphospholipid antibody testing. *Clin Appl Immunol Rev* 2000;1:59-72.
3. Mackie JL, Donohoe S, Machin SJ. Lupus anticoagulant measurement. En: Khamashta MA, ed. *Hughes Syndrome. Antiphospholipid syndrome*. London: Springer; 2000. p.214-24.
4. Loizou S, McCrea JD, Rudge AC, Reynolds R, Boyle CC, Harris EN. Measurement of anticardiolipin antibodies by an enzyme-linked immunoabsorbent assay: Standardization and quantitation of results. *Clin Exp Immunol* 1985;62:739-44.
5. McNeil HP, Simpson RJ, Chesterman CN, Krilis SA. Anti-phospholipid 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;87:4120-4.
6. Galli M, Comfurius P, Maasen C, et al. Anticardiolipin antibodies (ACA) directed not to cardiolipin but to a plasma cofactor. *Lancet* 1990;334:1544-7.
7. Amengual O, Atsumi T, Koike T. Antiprothrombin antibodies and the diagnosis of antiphospholipid syndrome. *Clin Immunol* 2004;11:144-9.
8. Rauch I, Janoff AS. The nature of antiphospholipid antibodies. *J Rheumatol* 1992;17, 82-5.
9. Galli M, Luciani D, Bertolini G, Barbui T. Lupus anticoagulant are stronger risk factors for thrombosis than anticardiolipin antibodies in the antiphospholipid syndrome: A systematic review of the literature. *Blood* 2003;101:1827-32.
10. Ferro D, Basili AC, Rocaforte S, Di Franco M, Cipolone F, Davi G. Determinants of enhance thromboxane biosynthesis in patients with lupus erythematosus *Arthritis Rheum* 1999;42:2689-97.
11. Forastiero RR, Kordich L, Basilleta F, Carreras LO. Differences in protein S and C4b-binding protein levels in different groups of patients with antiphospholipid antibodies. *Blood* 1994;5:609-16.
12. Rand JH, Wu XX, Andree HA, Ross JB, Riusinova E, Gascon-Lema MG, et al. Antiphospholipid antibodies accelerate plasma coagulation by inhibiting annexin-V binding to phospholipid: A "lupus anticoagulant" phenomenon. *Blood* 1998;92:1652-60.
13. Pierangeli SS, Colden-Stanfield M, Liu X, Barker JH, Anderson GL, Harris EN. Antiphospholipid antibodies from antiphospholipid syndrome patients activate endothelial cells in vivo and in vitro. *Circulation* 1999;20:1997-2001.
14. Field SI, Hogg PJ, Daly EB, Dai YP, Murray B, Owens D, et al. Lupus anticoagulant form immune complexes with prothrombin and phospholipid that can augment thrombin production in flow. *Blood* 1999;94:3421-31.

15. Kaplansky G, Cacoub P, Farnarier C, Marin V, Gregoire R, Gatel A, et al. Increased soluble vascular cell adhesion molecule I concentrations in patients with primary or systemic lupus erythematosus related antiphospholipid syndrome: Correlations with the severity of thrombosis. *Arthritis Rheum* 2000;43;55-64.
16. Afek A, Shoenfeld Y, Manor R, Goldberg I, Zipporen I, George J, et al. Increased endothelial cell expression of alpha3beta 1 integrin in cardiac valvulopathy in the primary and secondary antiphospholipid syndrome. *Lupus* 1999;8;502-7.
17. Nakamura N, Ban T, Yamaji K, Wada Y. Localisation of the apoptosis-inducing activity of lupus anticoagulant in an annexin V-binding antibody subset. *J Clin Invest* 1998;101;1951-9.
18. Wakita Y, Wada H, Nakasaki T, Shimura M, Hiyoyama K, Mori Y, et al. Abberations of the tissue factor pathway in patients positive for lupus anticoagulant. *Clin Appl Thromb Hemost* 1999;5;10-5.
19. Combes V, Simon AC, Greu GF, Arnuox D, Camoin L, Sabatier F, et al. In vitro generation of endotelial microparticles and posible activity in patients with lupus anticoagulant. *J Clin Invest* 1999;104;93-102.
20. Exner T, Rickard KA, Kronenberg H. A sensitive test demonstrating lupus anticoagulant and its behavioural patterns. *Br J Haematol* 1978;40:143-51.
21. Thiagarajan P, Pengo V, Shapiro SS. The use of the dilute Russell viper venom time for the diagnosis of lupus anticoagulants. *Blood* 1986;68:869-74.
22. Brandt JT, Triplett DA, Alving B, Scharer I. Guidelines for testing and revised criteria for lupus anticoagulants. *Thromb Haemost* 1995;74:1185-90.
23. Mwanda OW. Lupus anticoagulants: pathophysiology, clinical and laboratory associations: A review. *East Afr Med J* 2003;80:564-8.
24. Proven A, Bartlett RP, Moder KG, Chang-Miller A, Cardel LK, Heit JA, et al. Clinical importance of positive results for lupus anticoagulant and cardiolipin antibodies. *Mayo Clin Proc* 2004; 79:467-475.
25. Leng XM, Liu XM, Ai MX, Zeng XF, Tang FL. Clinical analysis of 61 patients with antiphospholipid syndrome. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2004;17:846:1367-70.
26. Camps MT, Fernández A, Díaz C, Haro M, Baron MA, de Ramón E. Clinical and immunological features in 112 patients with antiphospholipid syndrome. *Med Clin* 2004;123:466-70.
27. Gezer S. Antiphospholipid syndrome.. *Dis Mon* 2003;49:696-741.
28. Long B, Straub RH, Weber S, Rother E, Fleck M, Peter HH. Elevated anticardiolipin antibodies in autoimmune haemolytic anaemia irrespective of underlying systemic lupus erythematosus. *Lupus* 1997:652-5.
29. Kucukkaya RD, Hacıhanefioglu A, Yenevel M, et al. Antiphospholipid antibodies and antiphospholipid syndrome in patients presenting with immune thrombocytopenic púrpuro: a prospective cohort study. *Blood* 2001;98:1760-4.
30. Dash S, Marwaha RK, Mohanty S. Lupus anticoagulant in immune thrombocytopenic purpura. *Indian J Pediatr* 2004;71:505-7.
31. Tokuyama K, Kiuchi K, Nojima J, Takayama M, Takano T, Hayakawa H. Potential role of primary hypercoagulability and antiphospholipid antibody as a risk factor of acute pulmonary thromboembolism. *J Cardiol* 1998;32:263-8.
32. Carp HJ. Antiphospholipid syndrome in pregnancy. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2004; 16:129-35.

Recibido: 3 de abril de 2005. Aprobado: 25 de abril de 2005.

Lic. *Alina Díaz Concepción*. Instituto de Hematología e Inmunología. Apartado Postal 8070, Ciudad de La Habana, CP 10800, Cuba. Tel (537) 578268, 578695, 544214. Fax (537) 442334. e-mail:

[ihidir@hemato.sld.cu](mailto:ihidir@hemato.sld.cu)

[Indice Anterior](#) [Siguiete](#)