

## Síndrome antifosfolípido en mujeres con pérdidas recurrentes de embarazo: diagnóstico de laboratorio

### Antiphospholipid syndrome in women with recurrent pregnancy loss: laboratory diagnosis

MSc. Loreta Rodríguez Pérez, Dra. Dunia Castillo González, Dra. Yusselys Cabrera Payne, Lic. Maribel Tejeda González

Instituto de Hematología e Inmunología. La Habana, Cuba.

---

#### RESUMEN

El síndrome antifosfolípido es el tipo de trombofilia adquirida más frecuente y se define como un estado de hipercoagulabilidad de causa autoinmune, que puede provocar trombosis arterial, venosa, o ambas; así como una amplia gama de complicaciones obstétricas por lo general asociadas a insuficiencia placentaria. Entre ellas están: la pérdida gestacional recurrente, la muerte fetal, la preclampsia grave precoz, la restricción del crecimiento intrauterino, el desprendimiento precoz de placenta y los partos prematuros. En general, en los países en vías de desarrollo se desconoce la magnitud del problema ocasionado por estos anticuerpos antifosfolípidos en mujeres con pérdidas recurrentes de embarazo, debido a que para el diagnóstico de esta entidad se precisa de pruebas que resultan costosas, que requieren de personal calificado para su interpretación y por otra parte, no existe uniformidad en los criterios de laboratorio utilizados por diferentes instituciones para realizar el diagnóstico. En Cuba contamos con posibilidades diagnósticas para la identificación de los anticuerpos antifosfolípidos, lo que constituye un pilar fundamental en el análisis diferencial de esta entidad obstétrica; por ello, la combinación de un diagnóstico adecuado, un minucioso seguimiento y un tratamiento certero redundarán en el éxito del embarazo.

**Palabras clave:** síndrome antifosfolípido, pérdidas recurrentes de embarazo, diagnóstico de laboratorio.

## ABSTRACT

The antiphospholipid syndrome is the most common type of acquired thrombophilia and is defined as a hypercoagulable state of autoimmune cause, which can provoke arterial and/or venous thrombosis, as well as a wide range of adverse obstetric complications associated to placental insufficiency. Among them are the recurrent pregnancy loss, stillbirth, early severe preeclampsia, intrauterine growth restriction, premature placental abruption and premature births. In general, in developing countries the magnitude of the problem caused by these antiphospholipid antibodies in women with recurrent pregnancy losses is high, as tests of elevated cost for the diagnosis of this disease are needed, which also requires qualified personnel for the interpretation of results and there is no uniformity in the laboratory criteria used for diagnosis by different institutions. In Cuba we have diagnostic possibilities for the identification of these antiphospholipids which is a fundamental pillar in the differential analysis of this obstetric entity; therefore, the combination of an accurate diagnosis, careful monitoring and the proper treatment, guarantees pregnancy success.

**Keywords:** antiphospholipid syndrome, recurrent pregnancy loss, laboratory diagnosis.

---

## INTRODUCCIÓN

El síndrome antifosfolípido (SAF) es el tipo de trombofilia adquirida más frecuente y se define como un estado de hipercoagulabilidad de causa autoinmune, que puede provocar trombosis arterial, venosa, o ambas; así como una amplia gama de complicaciones obstétricas asociadas, por lo general, a la insuficiencia placentaria. Entre ellas están la pérdida gestacional recurrente, la muerte fetal, la preclampsia grave precoz, la restricción del crecimiento intrauterino, el desprendimiento precoz de placenta y los partos prematuros.<sup>1</sup>

Cuando esta entidad aparece de forma aislada, se denomina SAF primario; y cuando está asociada a otra enfermedad, como el lupus eritematoso sistémico (LES), entre otras, se denomina SAF secundario.<sup>1,2</sup>

El síndrome es causado por un trastorno autoinmune que conduce a la producción de autoanticuerpos dirigidos contra proteínas que unen fosfolípidos. Entre estos anticuerpos se encuentran las anticardiolipinas (ACL), que van dirigidas contra un componente de las membranas de la mitocondrias; el anticoagulante lúpico (AL), que provoca prolongación en las pruebas de coagulación dependientes de fosfolípidos y los anti-beta2 glicoproteína I (anti- $\beta$ 2-GPI), que son inmunoglobulinas que reconocen a esta proteína en presencia de fosfolípidos aniónicos.<sup>2</sup>

Otro grupo de autoanticuerpos son los anticuerpos antiprotrombina, cuya presencia se ha asociado a eventos trombóticos; pero debido a que los mecanismos protrombóticos son multifactoriales, la utilidad clínica de estos autoanticuerpos todavía está en desarrollo.<sup>3</sup>

En la actualidad se han detectado otros tipos de autoanticuerpos en pacientes con SAF, como son los antianexina V, antiproteína C, antiproteína S, antitrombomodulina, antiplaquetarios, antieritrocitarios y antinucleares, entre otros; los cuales no se utilizan en la práctica médica diaria ya que su papel patogénico aun se encuentra en investigación. Sin embargo, en los últimos años se han descrito estudios de anticuerpos antinucleares para diferenciar un SAF primario de un SAF secundario.<sup>4</sup>

En general, en los países en vías de desarrollo se desconoce la magnitud del problema ocasionado por los anticuerpos antifosfolípidos (aFL) en mujeres con pérdidas recurrentes de embarazo (PRE), debido a que para el diagnóstico de esta entidad se precisan pruebas que resultan costosas, requieren de personal calificado para su interpretación y por otra parte, no existe uniformidad en las técnicas de laboratorio utilizadas por diferentes instituciones para realizar el diagnóstico. Sin embargo, en Cuba contamos con las herramientas diagnósticas para la identificación de estos anticuerpos aFL, lo que constituye un pilar fundamental en el análisis diferencial de esta entidad obstétrica.

La complejidad y diversidad de los síntomas, al igual que la presencia de diversas alteraciones en los exámenes de laboratorio, hacen del SAF una entidad que en múltiples ocasiones es de difícil enfoque diagnóstico. La revisión de los procedimientos de laboratorio que se evalúan en el Instituto de Hematología e Inmunología (IHI) es importante para promover un adecuado diagnóstico y, de esta forma, asegurar una terapéutica que permita la conclusión exitosa del embarazo.

Por tal motivo, se realizó una actualización analítica para el manejo en el laboratorio, de pacientes posibles portadoras de SAF, evaluando los criterios clínicos y diagnósticos más actualizados, según la disponibilidad de reactivos en la institución.

## **CRITERIOS PARA EL DIAGNÓSTICO DEL SAF EN MUJERES CON PÉRDIDAS RECURRENTE DE EMBARAZO**

### **Consideraciones obstétricas**

La PRE se define como la pérdida de dos o más embarazos consecutivos antes de las 20 semanas de gestación; si bien algunos grupos señalan que pueden incluirse pérdidas posteriores a las 20 semanas.<sup>5</sup>

La oportunidad apropiada para iniciar los estudios de SAF es luego de dos PRE; sin embargo, no existe un acuerdo de protocolo de estudio y se sugieren otros criterios:

- Una o más PRE antes o después de las 10 semanas con fetos morfológicamente normales.
- Uno o más partos pretérmino alrededor de las 34 semanas, como consecuencia de preclampsia severa o insuficiencia placentaria.<sup>4</sup>

Las pacientes se deben estudiar y tratar en el contexto de un equipo interdisciplinario (obstetra, hematólogo, genetista).<sup>6</sup>

## Criterios diagnósticos

De acuerdo con el criterio de clasificación más reciente, un diagnóstico de SAF requiere la presencia de una manifestación clínica y un criterio de laboratorio.<sup>7</sup>

### *Criterios clínicos*

- Trombosis vascular: uno o más episodios clínicos de trombosis arterial, venosa o de pequeños vasos, en cualquier tejido u órgano. La trombosis debe confirmarse por imagen, estudio Doppler o histopatología, con la excepción de la trombosis venosa superficial.<sup>9</sup>
- Morbilidad en el embarazo:
- Una o más muertes inexplicables de un feto morfológicamente normal a las 10 semanas o más de gestación, con morfología normal documentada por ecografía o examen directo del feto.<sup>10,11</sup>
- Uno o más partos prematuros de un recién nacido morfológicamente normal, de 34 semanas de gestación o menos, a causa de una preclampsia o eclampsia grave o una insuficiencia placentaria grave.<sup>12,13</sup>
- res o más abortos espontáneos consecutivos inexplicables, antes de las 10 semanas de gestación, en los que se excluyan anomalías anatómicas u hormonales maternas y cromosomopatías maternas o paternas.<sup>13,14</sup>

### *Criterios de laboratorio*

- AL presente en plasma en dos o más ocasiones, separados por 12 semanas y detectados según el consenso internacional hemostasia y trombosis:<sup>15</sup>
  - Prolongación de los tiempos de coagulación dependiente de fosfolípidos, demostrado por coagulometría a través de una prueba de despistaje (tiempo de cefalina activada (TCA), tiempo de caolín, prueba del veneno de víbora de Russell diluido). No se corrige la prolongación de los tiempos de coagulación mezclándolo con plasma normal pobre en plaquetas.
  - Se corrige el alargamiento de los tiempos de coagulación con la prueba de despistaje que añade fosfolípidos.
  - Exclusión de otras coagulopatías (por ejemplo, inhibidor del factor VIII, IX o heparina).
  - El AL debe ser considerado si al menos una de las pruebas realizadas es positiva.
- Anticuerpos ACL IgG o IgM en suero o plasma, presentes en título medio o alto (más de 40 unidades de IgG fosfolípidos o IgM fosfolípidos, o mayor del percentil 99) en dos o más ocasiones, separados al menos 12 semanas, medidos por ELISA.
- Anticuerpo anti-β2-GPI tipo IgG, IgM, o ambos, en suero o plasma, presentes en título mayor del percentil 99, en más de dos ocasiones, con al menos 12 semanas de diferencia, medido por la técnica de ELISA estandarizada.

La coexistencia de factores de riesgo de trombosis no excluye el diagnóstico.

### *Diagnóstico diferencial*

- Enfermedades que se deben descartar si el paciente ha sufrido una trombosis arterial o venosa inexplicable;<sup>2</sup>

- Trombosis por causas hereditarias, entre ellas:
- Factor V Leiden (variante genética mutada que conduce a una resistencia a la inactivación de la proteína C activada).
- Deficiencia de proteína C.
- Deficiencia de proteína S.
- Deficiencia de antitrombina III.
- Trombosis de otras causas:
- Hiperhomocisteinemia.
- Síndrome nefrótico.
- Anticonceptivos orales que contienen estrógenos.
- Síndromes mieloproliferativos.
- Vasculitis sistémicas.

## DEFINICIÓN Y DETECCIÓN DE LOS ANTICUERPOS ANTIFOSFOLÍPIDOS (aFL) EN EL LABORATORIO

El término anticuerpos aFL agrupa a una familia de auto y aloanticuerpos de especificidad amplia, descubiertos, bien por la prolongación *in vitro* de los tiempos de coagulación dependientes de los fosfolípidos (entonces se les llamó AL), o bien por pruebas inmunológicas. Los fosfolípidos son los principales constituyentes de las membranas celulares. Se han descrito anticuerpos aFL dirigidos contra estos fosfolípidos o contra proteínas asociadas a ellos.<sup>16</sup>

La demostración de estos anticuerpos es obligatoria para el diagnóstico del SAF y es parte de los criterios diagnósticos del LES. En los criterios de clasificación antes mencionados se incluye la presencia persistente en plasma del paciente, del AL, de anticuerpos aCL y a $\beta$ 2GP1. Los tres ensayos detectan poblaciones de aFL con características que se solapan pero que no son idénticos. Los ensayos de aCL y a $\beta$ 2GP 1 se realizan en fase sólida, mientras que el AL mide la presencia de anticuerpos funcionales dirigidos especialmente contra proteínas que se unen a los fosfolípidos ( $\beta$ 2GP1, protrombina y otras).<sup>16,17</sup>

En el diagnóstico del SAF, las pruebas de laboratorio son de gran valor ya que la incidencia de los síntomas clínicos, trombosis, morbilidad, o ambas, en el embarazo es alta y con frecuencia determinada por otras causas.

### Determinación del AL

El AL tiene la propiedad de alargar los tiempos de coagulación dependientes de fosfolípidos y son anticoagulantes circulantes. Debido a la ausencia de normalización de las técnicas de hemostasia y a la diversidad de las cefalinas disponibles, el AL es quizás el diagnóstico más difícil en el SAF.<sup>16</sup>

El procesamiento de la muestra extraída es un paso determinante en la detección de este anticuerpo para lo que se requiere plasma citratado libre de plaquetas que se obtiene por doble centrifugación para eliminar las plaquetas residuales, ricas en fosfolípidos aniónicos, particularmente de membrana, capaces de neutralizar los AL de títulos bajos. Es por ello que el plasma citratado debe centrifugarse una primera vez a 3000 rpm durante 10 min, se decanta y se centrifuga por segunda vez a 3000 rpm, 10 min. El plasma libre de plaquetas se puede congelar y conservar a -20 °C durante varias semanas. Los fosfolípidos son aportados por el reactivo.<sup>17</sup>

### Pruebas coagulométricas

#### - Tiempo de cefalina activada (TCA)

Esta prueba es utilizada para la detección de déficit de factores de la vía endógena, detección de anticoagulante circulante o para el control del tratamiento con heparina. En el caso de la detección del AL, realizado a través de la prueba comercial PTT-LA, se mide el tiempo de recalcificación plasmática en presencia de cefalina y activador. La presencia de anticuerpos AL se traduce en un alargamiento de este tiempo de coagulación. La sensibilización del reactivo permite acentuar específicamente el alargamiento debido a los AL.<sup>18</sup>

#### - Tiempo de veneno de víbora Russell diluido (dRVVT)

Esta prueba de diagnóstico *in vitro* se basa en la capacidad del veneno de víbora de Russell para inducir trombosis. El veneno, activador del factor X, en presencia de calcio desencadena la coagulación y elimina la interacción de los factores situados en etapas anteriores. Por tanto, esta prueba es independiente de las anomalías de la fase de contacto y de las que afectan a los factores VIII y IX (déficit o inhibidores).

La prueba inicial se realiza en presencia de bajas concentraciones de fosfolípidos lo que, en presencia de AL, alarga el tiempo de coagulación. Un resultado anormal para el ensayo dRVVT inicial debe ser seguido por un dRVVT confirmatorio. En esta última prueba se adiciona un exceso de fosfolípidos que neutralizan los AL presentes en el plasma a analizar. Los tiempos de coagulación de ambos, en el ensayo inicial dRVVT y el confirmatorio, están normalizados y son utilizados para determinar una relación o cociente de tiempo sin exceso de fosfolípido y tiempo con exceso de fosfolípido. En general, un cociente mayor que 1,2 se considera un resultado positivo e implica que el paciente puede tener anticuerpos aFL. Esta prueba es muy sensible para la detección de AL, debido a que no está influenciada por deficiencias o inhibidores de factores de coagulación VIII, IX, XI o XII.<sup>19</sup>

Los resultados del AL deben interpretarse con precaución si la muestra se ha extraído próxima al evento tromboembólico. Un ensayo positivo debe ser repetido a las 12 semanas para realizar el diagnóstico de SAF.

### Detección de anticuerpos aFL por métodos inmunológicos

Los anticuerpos aFL tienen como dianas antigénicas los fosfolípidos, la asociación fosfolípidos-proteínas o solo las proteínas. Entre estas, las más conocidas son la  $\beta$ 2-GP1, principal cofactor de los anticuerpos ACL, la protrombina y la anexina V.<sup>20</sup>

En las pruebas inmunológicas, primero se estudian los anticuerpos ACL, que se fijan a la cardiolipina (fosfolípido de la membrana interna de las mitocondrias). Estos anticuerpos se analizan a través del método ELISA, ensayo que consiste en la detección de los anticuerpos IgG o IgM del suero diluido del paciente a través de su unión a cardiolipinas fijadas en una placa en presencia de suero bovino.<sup>21</sup>

Esta técnica detecta aquellos anticuerpos que se unen a la cardiolipina directamente y a aquellos que reconocen a la  $\beta$ 2-GP1 bovina unida a la cardiolipina. Se considera positiva para SAF la presencia de títulos moderados y altos por un período prolongado de más de 12 semanas. Este estudio se considera un ensayo con alta sensibilidad pero baja especificidad.<sup>22</sup>

Un nivel de ACL positivo bajo posee un significado clínico cuestionable (puede detectarse en pacientes con enfermedades infecciosas, inflamatorias y cancerígenas).<sup>23</sup>

Los anticuerpos anti- $\beta$ 2-GP1 se determinan también por la técnica de ELISA y los resultados son semicuantitativos, y permiten diferenciar títulos débilmente positivos, positivo moderado o fuertemente positivo. Este estudio detecta los anticuerpos dirigidos contra  $\beta$ 2-GP1 nativa.<sup>23, 24</sup>

## CONSIDERACIONES FINALES

Investigaciones recientes evidencian algunas consideraciones que enriquecen el diagnóstico de SAF.<sup>1,8,16,18,20</sup>

- La presencia de aFL en concentraciones medias o altas identifica a pacientes con un riesgo elevado de eventos clínicos asociados al SAF.
- Todos los resultados de los aFL deben interpretarse en el contexto clínico del paciente y en el perfil global de aFL (AL, aCL y a $\beta$ 2GP1).
- Conforme se incrementa el número de anticuerpos positivos (AL, ACL y a $\beta$ 2GP1) a niveles medio o alto, aumenta el riesgo de trombosis y morbilidad en el embarazo.
- La asociación de AL con niveles medio/alto de aCL y a $\beta$ 2GP1 es referida como la triple positividad. Se correlaciona mejor con trombosis y morbilidad en el embarazo que cualquier otro perfil de aFL.
- El riesgo de síntomas clínicos de SAF (incluyendo trombosis recurrente, pérdida fetal recurrente, trombocitopenia, o ambos) se eleva conforme se incrementan los niveles de ACL IgG. No obstante, cuando es el único anticuerpo positivo su asociación con trombosis disminuye.
- El factor reumatoide y los inmunocomplejos pueden producir resultados de ACL IgM y de anti- $\beta$ 2GP1 IgM falsos positivos.

En conclusión, el SAF es una enfermedad de difícil diagnóstico, tanto desde el punto de vista clínico como de laboratorio. De su conocimiento y caracterización dependerá su adecuado diagnóstico y manejo terapéutico para lograr el éxito del embarazo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Guimicheva B, Czuprynska J, Arya R. The prevention of pregnancy-related venous thromboembolism. *Br J Haematol*. 2015 Jan;168(2):163-74. doi:10.1111/bjh.13159.
2. Ruiz-Irastorza G, Khamashta MA. Antiphospholipid syndrome in pregnancy. *Rheum Dis Clin North Am*. 2007 May;33(2):287-97.
3. Bevers EM, Galli T, Barbui P. Lupus anticoagulant IgG are not direct phospholipids Orly, but to a complexo f lípido-bound human prothrombin. *Thromb Haemost*, 1991;66:629-632.
4. Bates SM, Greer IA, Pabinger I, Sofaer S, Hirsh J; American College of Chest Physicians. Venous thromboembolism, thrombophilia, antithrombotic therapy, and



pregnancy: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). *Chest*. 2008 Jun;133(6 Suppl):844S-886S. doi:10.1378/chest.08-0761.

5. Allison JL, Schust DJ. Recurrent first trimester pregnancy loss: revised definitions and novel causes. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2009 Dec;16(6):446-50. doi:10.1097/MED.0b013e3283327fc5.

6. Giannakopoulos B, Krilis SA. How I treat the antiphospholipid syndrome. *Blood*. 2009 Sep 3;114(10):2020-30. doi:10.1182/blood-2009-05-220756.

7. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, Derksen RH, DE Groot PG, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost*. 2006 Feb;4(2):295-306.

8. Bates SM, Greer IA, Middeldorp S, Veenstra DL, Prabulos AM, Vandvik PO. VTE, thrombophilia, antithrombotic therapy, and pregnancy: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest*. 2012;141(2 Suppl):e691S-736S.

9. Andreoli L, Fredi MI. Pregnancy implications for systemic lupus erythematosus and the antiphospholipid syndrome. 2012 May;38(2-3):J197-208.

10. Do Prado AD, Piovesan DM, Staub HL, Horta BL. Association of anticardiolipin antibodies with preeclampsia: a systematic review and meta-analysis. *Obstet Gynecol*. 2010;116(6):1433-43.

11. Ziakas PD, Pavlou M, Voulgarelis M. Heparin treatment in antiphospholipid syndrome with recurrent pregnancy loss: a systematic review and meta-analysis. *Obstet Gynecol*. 2010;115(6):1256-62.

12. Esplin MS: Management of antiphospholipid syndrome during pregnancy. *Clin Obstet Gynecol*. 2001 Mar;44(1):20-28.

13. Myones BL. Update on antiphospholipid syndrome in children. *Curr Rheumatol Rep*. 2011 Feb;13(1):86-9. doi:10.1007/s11926-010-0148-4.

14. Ueki H, Mizushina T, Laoharatchathanin T, Terashima R, Nishimura Y, Rieanrakwong D, et al. Loss of maternal annexin A5 increases the likelihood of placental platelet thrombosis and foetal loss. *Sci Rep*. 2012;2:827.

15. Lockshin, M.; Branch, A. et al: International consensus statement on an update of the classification criteria for definitive antiphospholipid syndrome. *J Thromb Haemost*. 2006;4:295-306.

16. Ortel TL. Antiphospholipid syndrome: laboratory testing and diagnostic strategies. *Am J Hematol*. 2012 May;87 Suppl 1:S75-81.

17. Oku K, Amengual O, Atsumi T. Pathophysiology of thrombosis and pregnancy morbidity in the antiphospholipid syndrome. *Eur J Clin Invest*. 2012 Oct;42(10):1126-35.



18. Greaves M, Cohen H, Machin SJ, Mackie I. Guidelines on the investigation and management of the antiphospholipid syndrome. *Br J Haematol.* 2000 Jun;109(4):704-15.
19. Meroni PL, Borghi MO, Raschi E, Tedesco F. Pathogenesis of antiphospholipid syndrome: understanding the antibodies. *Nature review Rheumatology.* 2011 Jun;7(6):330-9.
20. Tripodi A, de Groot PG, Pengo V. Antiphospholipid syndrome: laboratory detection, mechanisms of action and treatment. *J Intern Med.* 2011 Aug;270(2):110-22.
21. Gropp K, Weber N, Reuter M, et al. B2-glycoprotein 1, the major target in antiphospholipid syndrome, is a special human complement regulator. *Blood.* 2011 Sep 8;118(10):2774-83.
22. Núñez-Álvarez CA, Cabiedes J. Pathogenic mechanisms of the anti-phospholipid antibodies. *Reumatol Clín.* 2011 Jan- Feb;7(1):72-6.
23. Gray JM, Khamashta MA. Antiphospholipid syndrome: coming of age. *Reumatol Clin.* 2011;7(3):151-3.
24. Kaandorp SP, Goddijn M, van der Post JA, Hutten BA, Verhoeve HR, Hamulyák K, et al. Aspirin plus Heparin or Aspirin Alone in Women with Recurrent Miscarriage. *N Engl J Med.* 2010 Apr 29;362(17):1586-96.

Recibido: marzo 06, 2015.

Aceptado: junio 18, 2015.

*Lic. Loreta Rodríguez Pérez.* Instituto de Hematología e Inmunología. Apartado 8070, La Habana, CP 10800, CUBA. Tel (537) 643 8695, 8268.  
E-mail: rchematologia@infomed.sld.cu