


11204
3
24j



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA

FRECUENCIA DE ANTICUERPOS ANTICARDIOLIPINA EN UNA POBLACION DE MUJERES CON ABORTO HABITUAL


DR. SAMUEL KURI
MÉDICO GINECOLOGO
PROFESOR TITULAR


DR. HÉCTOR ALVARADO DUEÑAS
PROFESOR TITULAR

T E S I S
PARA OBTENER EL TITULO DE:
ESPECIALIZACION EN BIOLOGIA DE
LA REPRODUCCION HUMANA
QUE PRESENTA:
DR. RANFERI GAONA ARREOLA

Tutor: Dr. Héctor Hugo Bustos López



MEXICO, D. F.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ENERO 1992



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

INTRODUCCION	2
RESUMEN	4
ANTECEDENTES	6
MATERIAL Y METODOS	8
RESULTADOS	10
DISCUSION	11
CONCLUSIONES	13
BIBLIOGRAFIA	14

INTRODUCCION

El Aborto Habitual (AH) se define como la pérdida de 3 o más embarazos antes de la semana 20 de gestación que resultan en productos no viables.

Se estima que un 20% de las parejas que tienen 2 o mas abortos espontáneos no tienen una base etiológica demostrable. El AH se ha asociado a factores cromosómicos, anatómicos, metabólicos, infecciones e inmunológicos. Se ha observado que estas causas se encuentran en aproximadamente el 50% de los abortos (1).

Los factores inmunológicos hoy en día son tema de gran atención y se ha sugerido como nuevos caminos en relación a metodología diagnóstica de esta entidad.

La primera descripción de anticoagulante lúpico (AL) mas AH fue hecha por Hartman en 1952. Se ha observado que AL y anticardiolipina (ACL) son Inmunoglobulinas IgG e IgM a las que se le encontró por se inhibidores de la cascada de la coagulación y que se relacionan con episodios trombóticos y abortos repetidos (2,3).

En el Área obstétrica los anticuerpos antifosfolipido (AAFL) se han relacionado con perdidas fetales tempranas y tardías, muerte fetal en útero, preeclampsia de inicio temprano, sufrimiento fetal e infartos placentarios (4,5,6).

Los AAFL se ha postulado que se originan por daño inicial en la estructura lipídica "in vivo" ocasionando daño a la membrana de los fosfolípidos y formación de anticuerpos a neo-antígenos (7,8); otras teorías sugieren una actividad policlonal de células B, con la existencia de una semejanza antigénica, de efectos en la organización de los idiotipos y de la función de las células T, todo enmarcado en una predisposición genética (9).

De hecho la asociación de AAFL más relevante ha sido en pacientes con un fondo inmunológico como lupus eritematoso disseminado en un 23 a 54% y en artritis reumatoide en un 33% (10,11).

Los mecanismos fisiopatológicos propuestos para explicar el efecto de AAFL son inhibición de la liberación de prostaciclina del endotelio vascular, incremento de la agregación plaquetaria e inhibición de la actividad fibrinolítica y de antitrombina III (12,13); éstos cambios en conjunto explican la frecuencia de tromboosis observada en este padecimiento. Otros mecanismos alternos sugeridos es la unión de AAFL a los fosfolípidos de la membrana plaquetaria que condiciona activación y agregación de las plaquetas (14).

RESUMEN

Distintos trastornos autoinmunes se han relacionado con Aborto habitual (AH). La asociación entre anticuerpos anticardiolipina en mujeres con AH ha sido consistentemente reportada en la literatura internacional. El presente estudio es un reporte preliminar, que pretende determinar la frecuencia de anticuerpos anticardiolipina en mujeres con AH. Un método de ELISA se utilizó para cuantificar ACL. La muestra consistió en treinta sueros de mujeres con AH (dos o más abortos) (grupo casos), treinta sueros de mujeres con antecedente de embarazos a término y treinta sueros de diferentes donadores no profesionales del banco de sangre del INC que fueron utilizados como grupo control. A los sujetos con AH se les realizó una historia clínica completa, VDRL, anticoagulante lupico (AL), histerosalpingografía, cariotipo, cultivo cervicovaginal, progesterona seriada y prolactina séricas, pruebas de función tiroidea y glucosa sanguínea. Los resultados hasta el momento muestran una frecuencia de 10% (n=3) de ACL en mujeres con AH. Dos pacientes del grupo de con antecedente de embarazos a término mostraron valores por arriba de 2 SD. Dos pacientes del grupo de casos mostraron positividad para AL. Ninguna paciente del grupo control y de casos fue positiva para ACL o AL. El presente estudio muestra que en mujeres con AH de causa desconocida, estos trastornos autoinmunitarios tienen que ser considerados. La importancia de reconocer estas alteraciones, es indudablemente terapéutica, ya que distintos esquemas medicamentosos han mostrado disminuir la tasa de pérdidas fetales. Por otra parte, los resultados obtenidos hasta el momento obligan al incremento de la población muestreada, para

validar esta observacion preliminar.

ANTECEDENTES

Hoy en día hasta un 50% de los productos de la concepción se pierden antes de la semana 12 de la gestación (15). Cuando este fenómeno se presenta en forma repetida (dos o más pérdidas) (16) la entidad es conocida como Aborto habitual (AH). Este trastorno continúa siendo un problema importante de diagnóstico y tratamiento para el ginecoobstetra. Distintas etiologías se han reconocido en mujeres con AH. Destaca causas endocrinológicas (17), genéticas (18), infecciosas (19) y anatómicas (20). Sin embargo hasta un 50% de mujeres con AH no es posible establecer una causa etiológica (21). Este hecho ha motivado el surgimiento de nuevas metodologías diagnósticas. Al respecto, distintos cuadros de autoinmunidad han sido asociados a mujeres con AH (22). Destaca la asociación de anticuerpos anticardiolipina (ACL) y anticoagulante lúpico (AL) con pérdidas fetales repetidas, esta última asociación la hemos documentado previamente (23,24). Los anticuerpos anticardiolipina son inmunoglobulinas G o M que son dirigidos contra una fracción fosfolípida (Cardiolipina) de membranas celulares (25), ocasionando principalmente trastornos a nivel plaquetario (26) y endotelial (27). En relación a AH se ha encontrado trombosis intervellosas (28), vasculopatía de arterias espirales (29) y daño trofoblástico mediado por mecanismos inmunes. La frecuencia real de ACL en mujeres con AH es parcialmente conocida. Se ha observado una prevalencia del 2.2% en una población obstétrica de bajo riesgo (30), de 8-10 % en mujeres con AH (31,32) y de 54.2% en mujeres con LES (33).

La identificación de mujeres con AH y ACL es importante, ya que tiene implicaciones pronósticas y terapéuticas. Desde el punto de vista pronóstico se ha observado que mujeres con ACL positivo tienen un riesgo mayor de presentar pérdida fetal y trombosis venosa (34). Desde el punto de vista terapéutico, distintos reportes han mostrado que mujeres con AH y ACL, tratadas con una variedad de medicamentos, tienen una sensible disminución de pérdidas fetales (35,36,37). Por otra parte, la frecuencia de ACL en nuestro medio es desconocida .

El objetivo del presente estudio es determinar la frecuencia de ACL en mujeres con AH y compararlo con mujeres con antecedente de embarazos normales y a término.

MATERIAL Y METODOS

PACIENTES. Sesenta pacientes que acudían a la consulta externa del Instituto Nacional de Perinatología y treinta sueros de diferentes donadores no profesionales del banco de sangre del Instituto Nacional de Cardiología fueron seleccionados. El grupo I (casos, n=30) consistió en mujeres con AH. El AH fue definido operacionalmente como dos o más abortos consecutivos. El grupo II (control, n=30) consistió en mujeres con antecedente de embarazos normales a término. Las pacientes con abortos fueron excluidas. El grupo III (donadores) les fue aplicado un cuestionario de rutina y se descartó, Hb SAg, Ac VIH, VDRL y anticuerpos contra rubeola sp. Una hoja de registro clínico especialmente diseñada fue aplicada a cada participante. Una carta de consentimiento fue firmada por cada paciente. El protocolo fue aprobado por el comité científico del hospital. A las pacientes con AH les fue practicado los siguientes exámenes: cariotipo, histerosalpingografía, prueba de dilatadores, cultivo cervicovaginal, progesterona seriada y prolactina sericas, Triyodotironina, Tetrayodotironina, Hormona estimulante de Tiroides e Índice de Tirolina Libre, glucosa sanguínea y perfil TORCH. Aquellas pacientes con fase lútea deficiente fueron eliminadas.

ENSAYO DE ACL Y AL.

Los anticuerpos anticardiopina fueron determinados de acuerdo a lo descrito por Gharavi con modificaciones (42). Tiras de plástico Immunolon 2 removawell strips con cardiopina comercial (Dynatech) disuelta en etanol absoluto (Sigma chemical Co) fueron

sensibilizadas en un sistema de vacío (1500 ng/pozo). Los sitios no ocupados fueron bloqueados con amortiguador salino fosfato 10 mM, que contenía 10% de suero fetal bovino. Esta muestra fue lavada repetidamente, y se añadió suero humano diluido 1:100 en el mismo amortiguador. Posterior a un período de incubación y lavado, se añadió IgG caprina marcada con peroxidasa dirigida contra IgG humana (Pel-Freez). La reacción se revela al añadir ortofenilendiamina y peróxido de hidrógeno, midiéndose la intensidad del color en un fotómetro (micro ELISA Reader, Dynatech) a 490 nm de longitud de onda. Los resultados son expresados en densidad óptica.

El anticoagulante lúpico fue determinado usando el Tiempo de Tromboplastina Parcial Activado con caolín agregando suero normal adsorbido según lo propuesto por Exner (38,39).

Análisis estadístico

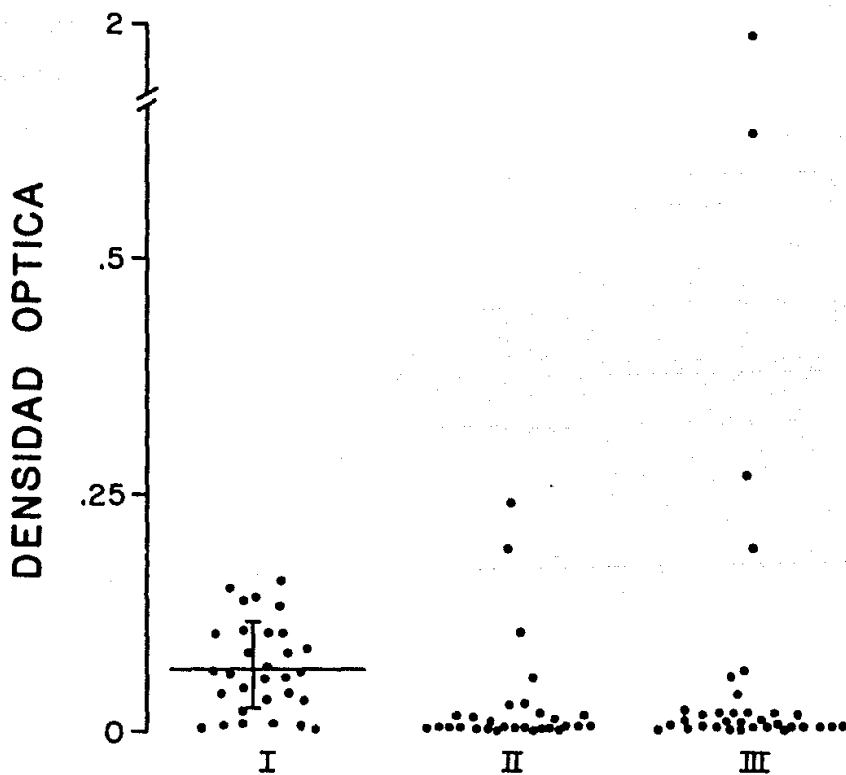
Estadística descriptiva fue aplicada a algunas variables. Una prueba de la probabilidad exacta de Fisher no paramétrica fue utilizada para comparar la frecuencia de dos grupos independientes.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

RESULTADOS

ACL fue detectado en 3 pacientes del grupo casos ($p < 0.05$, Fisher N.S.). En dos muestras del grupo control fueron positivas Grafica 1. Dentro de los antecedentes heredo-familiares de importancia el 40% ($n=12$) del grupo de casos tenían Diabetes Mellitus (DM), y 30% ($n=9$) para hipertensión arterial sistémica. (HAS). En el grupo control 13.3% ($n=4$) de pacientes tenían el antecedente DM familiar, y ningún control con el antecedente de HAS. El grupo de casos, presentó un promedio de 4.1 ± 1.67 embarazos y un promedio de 3.2 ± 1.42 abortos. El 36.6% ($n=11$) de las pacientes del grupo de casos, tuvieron además resultados obstétricos adversos en forma de partos pretérmino ($n=9$), óbito ($n=1$) y un producto anembrionario ($n=1$). En este grupo solo 4 pacientes tenían productos viables a término. El grupo control tuvo un promedio de 2.46 ± 1.21 embarazos. Ningún grupo mostro alteraciones en la glucosa sérica. En trece pacientes del grupo de casos, se documentó incompetencia istmico cervical. Dos pacientes del grupo de casos mostraron un tiempo de tromboplastina parcial activado con caolin y prueba de Exner positiva para AL. Ningun ensayo fue positivo en el grupo control.

FRECUENCIA DE ANTICUERPOS ANTICARDIOLIPINA EN MUJERES CON ABORTO HABITUAL



- I. CONTROLES SANOS
- II. EMBARAZOS SIN ABORTOS
- III. ABORTO HABITUAL

DISCUSION

El reporte presente confirma la asociación entre anticuerpos anticardiolipina y anticoagulante lúpico en mujeres con aborto habitual. En esta muestra se observa que un 10 y 6.6 % de mujeres con AH son positivos para ACL y AL respectivamente. Una frecuencia de 14.4 % de abortos habituales en mujeres con tiempo de tromboplastina parcial activado con caolin prolongado mas de 7 segundos y ninguna en el grupo control, ha sido documentada por nuestro grupo (24).

Los anticuerpos antifosfolípido han recibido poca atención, hasta hace pocos años, en que una asociación con una variedad de entidades ha sido documentada (40). Se observó que la prueba de VDRL (que contiene entre otras sustancias cardiolipina) era positiva en un pequeño número de pacientes con lupus eritematoso sistémico. Se observó además una asociación de este anticuerpo con otro- al anticoagulante lúpico- más relacionado con eventos trombóticos (28). Las pruebas de VDRL y las de anticoagulante lúpico tienen infortunadamente algunas limitaciones, por lo que ensayos más específicos como radioinmunoensayo y pruebas de ELISA se han desarrollado, lo que ha permitido una información clínica más detallada. La asociación entre ACL y pérdidas fetales repetidas en mujeres asintomáticas ha sido reportada en la literatura. En este estudio, ACL esta relacionado con aborto habitual aún en ausencia de evidencias clínicas o serológicas de enfermedades de tejido conectivo. Ninguna paciente reunió los criterios sugeridos de Tan para el diagnóstico de lupus eritematoso (41).

El mecanismo de acción de estos autoanticuerpos anticardiolipina es hipotético. Se ha sugerido se ligan al grupo fosfolípidos cargados negativamente, pero la porción glicérica del fosfolípido parece ser esencial. En relación con ginecología y obstetricia, la incidencia incrementada de pérdidas fetales, óbitos, retardo del crecimiento intrauterino se ha asociado a hipoperfusión placentaria secundaria a trombosis intervellosa (23,28). Esta hipótesis ha emergido secundaria a la observación de que los anticuerpos pueden afectar las membranas plaquetarias (26) ocasionando cambios en la función plaquetaria. Un segundo mecanismo propuesto, se refiere al efecto sobre membranas celulares endoteliales, ocasionando una liberación de prostaciclina reducida (27). El área más atractiva para el estudio de ACL es el embarazo, ya que un número de autores han reportado disminución de la tasa de pérdidas fetales al utilizar aspirina más prednisona (35), azatioprina con prednisona (36) y aspirina con dipiridamol (37).

El hallazgo de dos muestras positivas en el grupo control (6.6%), obliga por una parte a aumentar el número de sujetos muestreados y por otra es consistente con el reporte de la literatura mundial de una frecuencia de 5% en población sana. Hasta que futuros estudios determinen con precisión el papel del síndrome de anticardiolipina en relación con el área de Obstetricia, la interpretación de estos resultados tiene que hacerse en un contexto clínico.

CONCLUSIONES

La frecuencia de ACL en relación a AH en nuestro medio es desconocida. La estimación de un riesgo relativo para los individuos positivos para este autoanticuerpo, será de gran ayuda desde el punto de vista diagnóstico y terapéutico. La investigación clínica y básica del síndrome de Anticardiolipina es un área fértil de estudio en mujeres con aborto habitual, que seguramente contribuirá a nuevos esquemas de manejo. Un incremento del número de sujetos es necesario para confirmar la validez de esta observación.

BIBLIOGRAFIA.

1. PHILIP, W.H. HLA-Sharing, recurrent spontaneous abortion and the genetic hypothesis, *Genetics* 119:199-204, 1988.
2. SHAPIRO S. THIAGRAJAM P. Lupus Antecoagulant. *Prog Hemos Thromb* 6:263-279, 1980.
3. Harris EN. A reassessment of the antiphospholipid Syndrome. *J. Rheumatol* 16: 733-35, 1990.
4. Ware Branch et al. The association of antiphospholipid antibodies with severe preeclampsia, *Obs and Gyn* 73(4) 541-45, 1989.
5. Scott JR et al. Immunologic aspects of recurrent abortion and fetal death. *Obstet Gynecol* 70: 645-50, 1987.
6. Dorve BJ. Harris EN. Fetal loss in systemic lupus erythematosus with anticardiolipin antibodies. *J. Obstet Gynecol* 5:207-11, 1985.
7. Stossel TP. The relationship between lupus anticoagulants and antibodies to phospholipid. *JAMA* 259:550-4, 1988.
8. Rauch J. Tannenbaum et al. Human hybridoma lupus anticoagulants distinguish lamellar and hexagonal phase lipid systems. *J Biol Chem* 261:9672-7, 1986.
9. Mackworth-Young CG. Antiphospholipid antibodies. *Current Opinion. Immunol* 1:747-52, 1989.
10. Mackworth-Young CG. et al. Anticardiolipin antibodies in lyme disease. *Arthritis Rheum* 31:1052-6, 1988.
11. Sturfelt G. Nived O. et al. Anticardiolipin antibodies in patients with lupus erythematosus. *Arthritis Reum* 30: 382-8, 1987.

12. Carreras LO. Arterial Thrombosis intrauterine death and the lupus anticoagulant. Detection of immunoglobulin interfering with prostacyclin formation. *Lancet* 1:244-6, 1981.
13. Cosgriff TM. Low functional and high antigenic antitrombin III level in a patient with the lupus anticoagulant and recurrent thrombosis. *Arthritis Rheum* 24:94-6, 1981.
14. Harris EN et al. Trombocytopenia in Systemic lupus erythematosus and related autoimmune disorders. Association with anticardiolipin antibodies. *Br J. Haematol* 59:231-4, 1985.
15. EDMONDS, D.K., Lindsay K.S., Miller J.F., Williamson E. Early embryonic mortality in women. *Fertil Steril* 38,447-57, 1982.
16. GLASS R.H., Golbus M.S. Habitual Abortion. *Fertil Steril* 29(3),257-65, 1978.
17. THO S.P.T., Reindollar R.H. & McDonogh P.G. Recurrent abortion. *Obstet Gynecol Annu* 12, 259-81, 1983.
18. WARBURTON D., Kline J., Stein Z., Hutzler M., Chin A. & Hassold T. Does the Karyotype of a Spontaneous Abortion Predict the Karyotype of a Subsequent Abortion. Evidence form 273 women with two Karyotyped spontaneous abortions. *Am J Hum Genet.* 41,465-83, 1987.
19. DRISCOLL S.G., Kundsir R.C., Horne H.W. Jr., Scott J.N. Infection and fist trimester losses, possible role of Micoplasmas. *Fertil Steril.* 20,1017, 1969.
20. ROBBROY S.J. Diethylstilboestrol exposure in human offspring. In *Progress in obstetrics and Gynaecology*, Vol. 1 (studd J Ed.) Churchill Livingstone Edinburgh, pp 199-216. 1981.

21. HARGER J.H. *ethiology of recurrent pregnancy losses and outcome of subsequent pregnancies. *Obstet Gynecol.* 62 (5), 574. 1983.
22. GLEICHER N., El Roey A. The Reproductive Autoimmune Failure Syndrome. *Am J Obstet Gynecol.* 159 (1), 223-27, 1988.
23. BUSTOS H.H., Huber G.R., Villanueva C., Herrerias T., Castanon J., Di Castro P., Ayala A. Anticoagulante lupico asociado al embarazo. *Ferinatol Reprod Hum.* 4, 47-51. 1990.
24. BUSTOS H.H., Huber G.R., Batista H., Ayala A. Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada con caolin prolongado y riesgo reproductivo. *Gin y Obstet Mex*: (Enviado a comite editorial).
25. CHENG H.M.: Anticardiolipin antibodies and habitual abortion. *Am J Obstet Gynecol.* 158(2): 441. 1987.
26. HUGHES G.R.V. The Pross-White oration 1983. *Connective tissue disease and the skin.* *Clin Exp Dermatol*, 9:535-39, 1983.
27. CARRERAS L.O. Arterial Thrombosis, intrauterine death and lupus anticoagulant detection of immunoglobulin interferring with prostacyclin formation. *LANCET*, 1:224-46, 1981.
28. LUBBE W. Lupus Anticoagulant and pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*, 153:22-27, 1985.
29. LOCKSHIN M. Antibody to cardiolipin as a predictor of fetal distress or death in pregnant patients with systemic lupus erythematocsus. *N Engl J Med*, 313: 152-6, 1985.
30. LOCKWOOD C.J. The prevalence and biologic significance of lupus anticoagulant and anticardiolipin antibodies in a general obstetric population. *Am J Obstet Gynecol.* 161: 369-73, 1989.
31. BARBUI T. Antiphospholipid antibodies in early repeated abortions: a case control study. *Fertil Steril*, 50(4): 529-92.

1982.

32. UNANUEVA A.M. Anticardiolipin antibodies and coagulant in ninety-nine women with habitual abortion. Am J Obstet Gynecol 156: 114-19, 1987.
33. STURFELT G., Nived O. Rorberg R. Thorstensson, Brook J. Anticardiolipin antibodies in patients with Systemic Lupus Erythematosus. Arthritis Rheum, 30(4): 382-88, 1987.
34. HARRIS E.N. et al. Thrombosis, Recurrent fetal loss and Thrombocytopenia. Predictive value of the Anticardiolipin antibody Test. Arch Inter Med. 146:2153-56, 1986.
35. HARRIS E.N., Bozy M.L., Mackworth Young C.G., Gharavi A.E., Patel B.M., Louizou S. Hughes G.R.V. Anticardiolipin antibodies detection by RIA and association with thrombosis in Systemic Lupus Erythematosus. LANCET, 1211-14, Nov. 1983.
36. LUBBE W.F., Butler W. S., Palmer S.J., Liggins G.C. Fetal survival after Prednisone suppression of maternal Lupus-anticoagulant. LANCET, 1361-63, June 18, 1983.
37. VERMYLEN J., Blockmans D., Spitz B. Deckmyn H. Thrombosis and immune disorders. Clin Haematol. 15: 1-19, 1986.
38. EXNER T., Rickard K.A. & Kronenberg H. A sensitive test demonstrating lupus anticoagulant and its behavioural patterns. Br J Haematol. 40: 143-51, 1978.
39. MANNUCCI, P.M., Canciani M.T., Mari D., Meucci P. The varied sensitivity of partial thromboplastin and prothrombin time reagents in the demonstration of the lupus-like anticoagulant. Scand Haematol. 22:423-32, 1979.

40. HUGHES, G.R., Harris N.N., Gharavi A.E. The anticardiolipin Syndrome. J Rheum, 13(3):486-89, 1986.
41. TAN E.M., Cohen A.S., Fries J.F., Alfonse T.M., McShane D.J., Rothfield N.F., Schaller J.G., Talal N., Winchester R.J. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum. 25(11): 1271-77,1982.
42. GHARAVI et al. Annals of the Rheumat Diseases 1987. 46,1-6.