

Síndrome antifosfolípido: generalidades y diagnóstico

Antiphospholipid syndrome: clinical and laboratory diagnosis

Magally Escobar Martínez, cPhD¹

Resumen: El síndrome antifosfolípido ha sido un tema de investigación continua en diferentes áreas de la medicina. El diagnóstico clínico y de laboratorio se realiza teniendo en cuenta los consensos internacionales de Sapporo (1999) y Sydney (2006), los cuales dan las pautas para identificar y caracterizar el síndrome antifosfolípido. El objetivo primordial de este artículo, es describir los avances científicos en el estudio del síndrome antifosfolípido, los criterios actuales de clasificación, el papel de los anticuerpos anticardiolipina, anti β 2 glicoproteína I y el anticoagulante lúpico, así como los mecanismos patogénicos e inmunológicos en los que están involucrados estos anticuerpos. También se describen algunas de las manifestaciones clínicas relacionadas y los procedimientos diagnósticos utilizados actualmente para su identificación.

Palabras clave: síndrome antifosfolípido, anticuerpos antifosfolípidos, inhibidor de coagulación del lupus, anticuerpos anticardiolipina, beta 2 glicoproteína I.

Abstract: Antiphospholipid syndrome has been a topic of ongoing research in different areas of medicine. Clinical and laboratory diagnosis are performed taking into account international guidelines to identify and characterize antiphospholipid syndrome. The primary objective of this article is to describe scientific advances in the study of the antiphospholipid syndrome, current classification criteria, the role of anticardiolipin antibodies, anti- β 2 glycoprotein I and lupus anticoagulant, and to describe the pathogenic and immunological mechanisms in which these antibodies are involved. Furthermore, this article describes some of the associated clinical and diagnostic procedures currently used for antiphospholipid syndrome identification.

Key words: antiphospholipid syndrome; antibodies, antiphospholipid; lupus coagulation inhibitor; antibodies, anticardiolipin; beta 2-glycoprotein I.

¹ Bacterióloga y Laboratorista Clínica. MSc Inmunología. Candidata a Doctor en Inmunología. Docente Investigadora. Facultad de Medicina. Universidad Antonio Nariño. Bogotá, Colombia. Correspondencia: esmagally@gmail.com

Conflicto de intereses: la autora declara que no tiene conflicto de intereses.

Medicina & Laboratorio 2013; 19: 451-464

Módulo 5 (Inmunología), número 7. Editora Médica Colombiana S.A. 2013[©]

Recibido el 24 de julio de 2013; aceptado el 21 de noviembre de 2013

El síndrome de anticuerpos antifosfolípidos, síndrome de Hughes o más conocido como síndrome antifosfolípido, es un trastorno que se caracteriza por trombosis y/o complicaciones obstétricas; en conjunto con la persistencia por más de 12 semanas de altos títulos de anticuerpos antifosfolípidos en circulación, tales como los anticuerpos anticardiolipina, anticuerpos anti β 2 glicoproteína I (β 2GPI), o la presencia de anticoagulante lúpico [1-3]. De acuerdo con su origen, el síndrome antifosfolípido se clasifica en primario y secundario. El primario incluye complicaciones obstétricas y/o trombosis arterial o venosa no asociada a trastornos autoinmunes, y el secundario está vinculado a enfermedades autoinmunes, principalmente el lupus eritematoso sistémico [4].

El síndrome antifosfolípido ha sido un tema de gran investigación y controversia, debido a que es una importante causa de trombofilia en adultos jóvenes y tiene una estrecha relación con pérdidas gestacionales recurrentes y complicaciones obstétricas [5]; no obstante, el desconocimiento de la etiología de la enfermedad y de los mecanismos subyacentes han impedido elucidar completamente las manifestaciones clínicas y consecuencias del síndrome antifosfolípido. A continuación, se presenta una revisión de la fisiopatología, clasificación y diagnóstico del síndrome antifosfolípido.

Mecanismos fisiopatológicos

Para comprender la génesis trombótica y de alteraciones durante el embarazo del síndrome antifosfolípido, es importante tener presente algunos conceptos claves, entre ellos, qué es un fosfolípido, un anticuerpo antifosfolípido y un anticoagulante lúpico, entre otros conceptos.

Conceptos generales

■ Fosfolípidos y anticuerpos antifosfolípidos

Los fosfolípidos son moléculas con características anfipáticas que están constituidos por un esqueleto de glicerol, dos ácidos grasos y un enlace fosfodiéster que se une a compuestos nitrogenados como la colina, etanolamina o la serina. La mayor concentración de fosfolípidos está en la membrana de la célula, debido a su estructura que contiene una porción hidrofílica que se encuentra hacia el exterior y una hidrofóbica que se localiza en la parte interna de la bicapa lipídica, dando soporte estructural y funcional a la membrana celular (ver [figura 1](#)). Los fosfolípidos corresponden al 40% de la membrana celular y tienen un papel fundamental en los procesos de regulación metabólica para la síntesis de eicosanoides y en las cascadas de coagulación [6-8].

Los anticuerpos antifosfolípidos, aunque se asume por su nombre que reconocen específicamente fosfolípidos, están también dirigidos contra proteínas plasmáticas que tienen afinidad por los fosfolípidos, abarcando una amplia gama de antígenos identificados hasta el momento (ver [tabla 1](#)). Estos anticuerpos han sido detectados por ensayos de ELISA (del inglés *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*) y se ha dado especial relevancia a algunos de ellos, como los que están dirigidos contra las proteínas β 2GPI o contra la cardiolipina, que son de gran importancia en la patogénesis del síndrome antifosfolípido [3, 7, 9-11].

■ β 2 glicoproteína I

La β 2GPI o apolipoproteína H es una proteína plasmática altamente glicosilada de 50 kDa, capaz de unirse a fosfolípidos como la cardiolipina, el receptor de apolipoproteína E y fosfolípidos de membrana. Aunque no se conoce con exactitud su función, se ha descrito que tiene un papel importante como anticoagulante natural y hace parte del proceso de apoptosis [5, 12, 13]. Cuando la β 2GPI se une a los fosfolípidos, se induce un cambio conformacional en la proteína, lo que produce la expresión de un epítipo conformacional reconocido por los anticuerpos anti β 2GPI, convirtiéndose así en uno de los principales cofactores asociados con el síndrome antifosfolípido (ver figura 1) [14-17]. Otros hallazgos han evidenciado que la β 2GPI puede estar en forma de tiol libre en estado normal o bajo condiciones de estrés oxidativo en su forma oxidada, mientras la primera es más común en pacientes sin síndrome antifosfolípido, la segunda predomina en pacientes con el síndrome y que tienen anticuerpos anti β 2GPI [3].

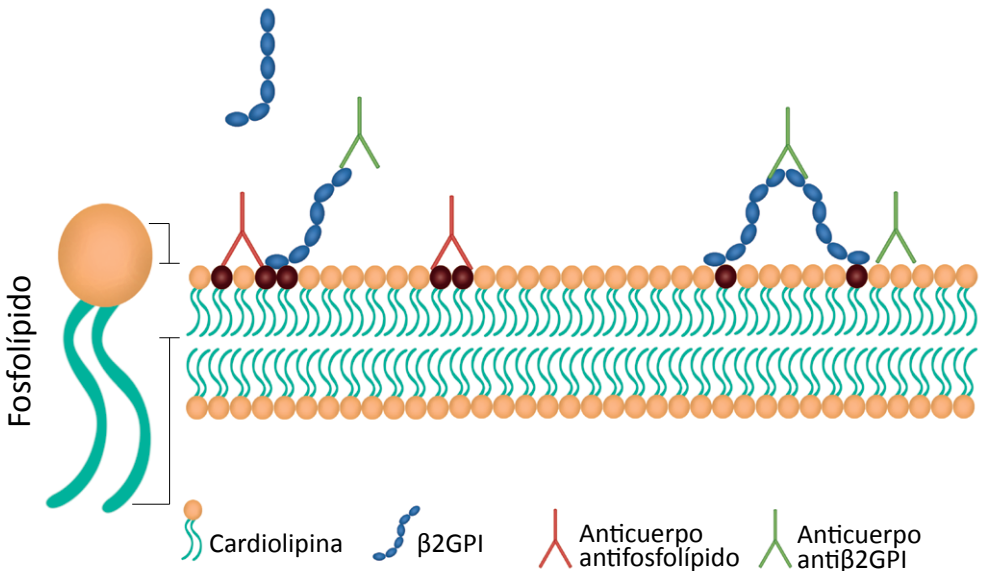


Figura 1. Fosfolípidos y anticuerpos antifosfolípidos.

■ Cardiolipina

La cardiolipina es un fosfolípido aniónico presente en la membrana bacteriana, en la membrana mitocondrial y en bajas cantidades como una proteína plasmática; es importante en los procesos de oxidación de la cadena respiratoria y tiene un rol fundamental en los procesos de apoptosis en la célula [13, 18]. Los anticuerpos anticardiolipina fueron los primeros anticuerpos antifosfolípidos descritos, identificados en las pruebas no treponémicas falsamente positivas en pacientes con lupus eritematoso sistémico, hallazgo que hizo parte esencial en la descripción del síndrome [19]. En el síndrome antifosfolípido se ha identificado que los complejos de anticuerpos anticardiolipina unidos a la β 2GPI se asocian fuertemente con la aparición de manifestaciones clínicas, a pesar que se pueden encontrar anticuerpos

anticardiolipina independientes de la β 2GPI relacionados a las manifestaciones clínicas de la enfermedad (ver figura 1) [17, 20].

■ Anticoagulante lúpico

Tabla 1. Antígenos que generan anticuerpos antifosfolípidos

| | |
|-------------------------------------|---|
| ▪ Cardiolipina | ▪ Precalicerina |
| ▪ Monolisocardiolipina | ▪ Quinínogeno de alto y bajo peso molecular |
| ▪ Fosfatidil serina | ▪ Proteína S |
| ▪ Fosfatidil etanolamina | ▪ Proteína C |
| ▪ Ácido liso(bis)fosfatídico | ▪ Proteína Z |
| ▪ Fosfatidil inositol | ▪ Factor tisular |
| ▪ β 2 glicoproteína I | ▪ Inhibidor de la vía del factor tisular |
| ▪ Glicoproteína IIb/IIa, Ib/IX y IV | ▪ Activador tisular del plasminógeno |
| ▪ Anexina II y V | ▪ Factor activador de plaquetas |
| ▪ Protrombina | ▪ Heparan sulfato |
| ▪ Trombomodulina | ▪ Lipoproteína de baja densidad oxidada |
| ▪ Trombina | ▪ Lipoproteína de alta densidad |
| ▪ Antitrombina III | ▪ Apolipoproteína A-I |
| ▪ Plasmina | ▪ CD40, CD40L y CD36 |
| ▪ α 2-antiplasmina | ▪ Receptor endotelial de proteína C |
| ▪ Factor XII y VII/VIIa | ▪ Vimentina |

Modificado de [7, 10]

El anticoagulante lúpico, por convención, se define como cualquier molécula capaz de prolongar tiempos de coagulación basados en fosfolípidos. El anticoagulante lúpico es considerado como un conjunto de anticuerpos antifosfolípidos de isotipo IgG o IgM, que bloquean fosfolípidos aniónicos e impiden la formación del complejo protrombinasa, evitando la formación de trombina y produciendo el alargamiento de los tiempos de coagulación *in vitro*, mientras que *in vivo* se asocia con una acción procoagulante [11, 21]. El anticoagulante lúpico fue descubierto por primera vez en el estudio de pacientes con lupus eritematoso sistémico y de allí toma su nombre; actualmente se usa en la identificación del síndrome antifosfolípido, entre otros desordenes. A pesar que hay una gran diversidad de anticuerpos antifosfolípidos que pueden estar presentes en plasma (ver tabla 1), el anticoagulante lúpico se relaciona principalmente

con la presencia de anticuerpos anti β 2GPI y de anticuerpos antiprotrombina, como componentes esenciales para la formación del complejo [7, 10]. Aunque hay algunas controversias acerca de las pruebas para evaluar el anticoagulante lúpico, actualmente se usa el tiempo parcial de tromboplastina activada, el tiempo del veneno de víbora de Russell y raramente el tiempo de protrombina [22]. Un ensayo para anticoagulante lúpico positivo, se considera un factor de riesgo para sufrir trombosis o abortos, incluso mayor que el riesgo que representa la positividad de anticuerpos anti β 2GP1 o anticuerpos anticardiolipina, por separado [3, 22]. No obstante, si el anticoagulante lúpico persiste positivo en el tiempo y el paciente no presenta trombosis o abortos recurrentes, su presencia no es suficiente para el diagnóstico de síndrome antifosfolípido, por lo que se debe considerar que su presencia se deba a otro desorden autoinmune.

Mecanismos de acción de los anticuerpos antifosfolípidos

Se ha descrito que el origen de los anticuerpos antifosfolípidos en el organismo está relacionado con los procesos celulares que se presentan en la muerte celular programada o apoptosis. La cardiolipina, junto a otros fosfolípidos aniónicos que se encuentran en la mitocondria, cambian su localización de la membrana mitocondrial hacia la superficie de la célula

como parte del proceso apoptótico [13]. Estos fosfolípidos, al ser expuestos en el exterior de la célula, pueden unir cofactores y ser reconocidos como antígenos extraños, provocando la activación del sistema inmune, con la consecuente síntesis de autoanticuerpos por parte de los linfocitos B [7]. Se ha encontrado que la β 2GPI es de gran importancia en la fisiopatología del síndrome antifosfolípido, donde los fosfolípidos aniónicos unidos a la β 2GPI pueden inducir la expresión de epítopes que estimulan la producción y la unión de autoanticuerpos, llevando a la liberación de proteínas como el factor de necrosis tumoral y el factor tisular que favorece procesos inflamatorios y alteraciones en la hemostasia [3, 7, 13, 23, 24].

A pesar de la amplia diversidad de las manifestaciones clínicas del síndrome antifosfolípido, los mecanismos que la producen parecen estar vinculados. Se ha descrito que los anticuerpos anti β 2GPI unidos a los complejos de fosfolípidos aniónicos - β 2GPI inducen la activación de células endoteliales, monocitos y plaquetas; que a su vez, aumentan la expresión de moléculas de adhesión intracelular y vascular, selectinas E, factor tisular, citoquinas proinflamatorias y tromboxanos [3, 7]. De forma general, se pueden describir estos eventos como un desequilibrio en los procesos que regulan la coagulación, el cual conlleva a eventos trombóticos en diferentes partes del cuerpo, que se pueden presentar por estados pro-coagulantes, alteraciones fibrinolíticas, aumento del factor tisular, agregación plaquetaria, entre otros (ver figura 2) [18]. Es importante destacar, que la unión de la β 2GPI a los anticuerpos antifosfolípidos es uno de los sucesos de mayor relevancia clínica en el síndrome antifosfolípido, pero a su vez, hay un grupo amplio de anticuerpos antifosfolípidos y diferentes mecanismos que requieren ser esclarecidos como parte importante de la patogénesis del síndrome antifosfolípido [25, 26].

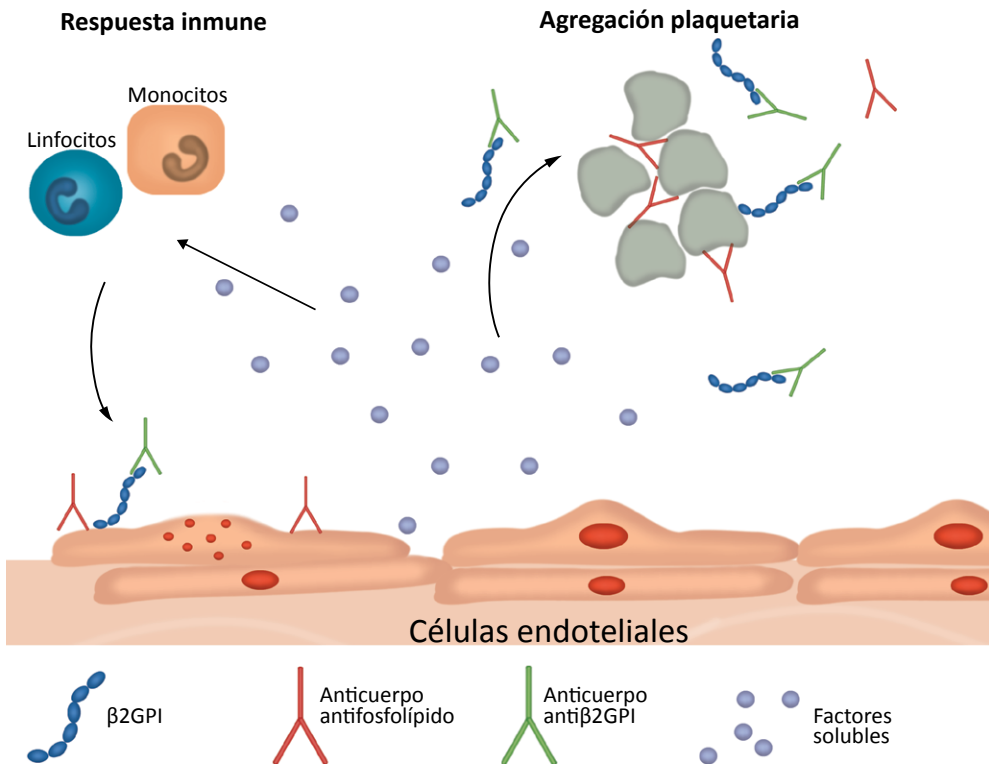


Figura 2. Mecanismos de acción de los anticuerpos antifosfolípidos.

Algunas de las anomalías fibrinolíticas se han relacionado con la presencia de los anticuerpos antifosfolípidos contra un grupo de proteínas denominadas anexinas, dentro de las cuales, las más estudiadas en el síndrome antifosfolípido es la anexina V y la anexina II [27]. Las anexinas son proteínas que presentan una alta afinidad por fosfolípidos de carga negativa de la membrana celular y participan en procesos biológicos importantes tales como endocitosis, exocitosis, señalización intracelular y activación de células endoteliales [27]. Se le atribuye una fuerte actividad anticoagulante, ya que puede desplazar los factores de coagulación de las superficies celulares y se han descrito múltiples funciones como la formación de canales de calcio y la inhibición en la producción de eicosanoides [28].

En algunos estudios, se ha descrito la participación de anticuerpos antifosfolípidos contra antígenos poco comunes en pacientes con síndrome antifosfolípido. El complejo fosfatidilserina-protrombina parece ser un blanco antigénico importante para la aparición de anticuerpos antifosfolípidos, ya que la fosfatidilserina es un fosfolípido de carga negativa y se puede encontrar unido a complejos formados por la protrombina y los factores de coagulación [29]. Otro antígeno importante es la fosfatidil etanolamina, uno de los mayores constituyentes de las membranas celulares, y que también se ha relacionado con las manifestaciones clínicas de pacientes con síndrome antifosfolípido [30]. A pesar del amplio conocimiento que se tiene actualmente del síndrome antifosfolípido, es necesario continuar con la búsqueda de la red de eventos celulares y moleculares en los cuales participan los anticuerpos antifosfolípidos, con el fin de dilucidar la participación de cada uno de ellos en los procesos patogénicos asociados al síndrome antifosfolípido y la posibilidad de encontrar terapias que permitan evitar su aparición.

Clasificación

La diferencia entre síndrome antifosfolípido primario y secundario surge a partir del trabajo de Alarcón-Segovia en 1988, donde se encontraron pacientes con anticuerpos anticardiolipina, anticoagulante lúpico o pruebas de VDRL falsamente positivas, describiéndolo como síndrome antifosfolípido primario por no presentar manifestaciones clínicas asociadas al lupus eritematoso sistémico [31]. A partir de este hallazgo, el síndrome antifosfolípido se clasificó como primario o secundario, estando el síndrome antifosfolípido primario caracterizado por aborto recurrente, trombocitopenia o trombosis arterial o venosa sin causa conocida y el secundario asociado con una enfermedad autoinmune multisistémica como el lupus eritematoso sistémico, la artritis reumatoide, entre otras [19, 26].

Los criterios diagnósticos utilizados para identificar el síndrome antifosfolípido se definieron en la ciudad japonesa de Sapporo, los cuales se publicaron en el año 1999 [32]. Aunque la clasificación de Sapporo se mantiene en cuanto a que existen dos criterios de clasificación del síndrome antifosfolípido, los clínicos y los de laboratorio; en la actualidad se usan estos criterios con algunas modificaciones establecidas en Sydney (Australia), en el marco del XI congreso internacional de anticuerpos antifosfolípidos [22]. Estos consensos concluyeron que el síndrome antifosfolípido debe cumplir al menos con un criterio clínico y uno de laboratorio, siendo los criterios clínicos utilizados para la identificación del síndrome antifosfolípido la trombosis vascular y/o la morbilidad obstétrica (muerte fetal, nacimientos prematuros, eclampsia, preeclampsia severa, insuficiencia placentaria y aborto recurrente) (ver [tabla 2](#)). Asimismo, se tienen en cuenta los criterios de laboratorio como la presencia de anticuerpos contra fosfolípidos de carga negativa o proteínas asociadas a fosfolípidos en dos o más ocasiones, con un periodo de más de 12 semanas de diferencia entre mediciones (ver [figura 3](#)). Actualmente se evalúa el anticoagulante lúpico, anticuerpos anticardiolipina y anticuerpos anti β 2GPI [22]. En la [tabla 2](#) se muestran los criterios

establecidos para el diagnóstico de síndrome antifosfolípido (criterios incluidos) y algunas manifestaciones clínicas o pruebas de laboratorio que pueden asociarse con síndrome antifosfolípido, pero no son considerados criterios de diagnóstico (criterios no incluidos) (ver tabla 2).

Tabla 2. Criterios diagnósticos para el síndrome antifosfolípido

| Criterios incluidos | Criterios no incluidos |
|--|--|
| <p>Trombosis vascular con uno o más episodios de trombosis arterial, venosa o de vasos pequeños (criterios validados como estudios por imágenes o histopatológicos, sin evidencias significativas de inflamación de la pared vascular).</p> <p>Morbilidad obstétrica caracteriza por:</p> <ul style="list-style-type: none"> Muerte fetal: muertes inexplicables de un feto morfológicamente normal (ecografía o examen directo) de más de 10 semanas de gestación. Nacimientos prematuros de un neonato morfológicamente normal de menos de 34 semanas de gestación debido a: <ul style="list-style-type: none"> Eclampsia Preeclampsia severa Insuficiencia placentaria Tres abortos recurrentes consecutivos inexplicables antes de la semana 10 de gestación. (Se debe excluir anomalías anatómicas u hormonales en la madre y causas cromosómicas maternas y paternas) | <ul style="list-style-type: none"> Trombocitopenia Enfermedad de válvula cardíaca Livedo reticularis Nefropatía Manifestaciones neurológicas Anticuerpos IgA anticardiolipina Anticuerpos IgA anti-β2GPI. Anticuerpos antifosfatidil serina Anticuerpos anti antifosfatidil etanolamina |
| <p>Dentro de los criterios de laboratorio están:</p> <ul style="list-style-type: none"> Presencia de anticuerpos anticardiolipina, anticuerpos antiβ2GPI o anticoagulante lúpico, persistente por más de dos veces en un intervalo de más o igual a 12 semanas | |

Tomado de [22, 33]

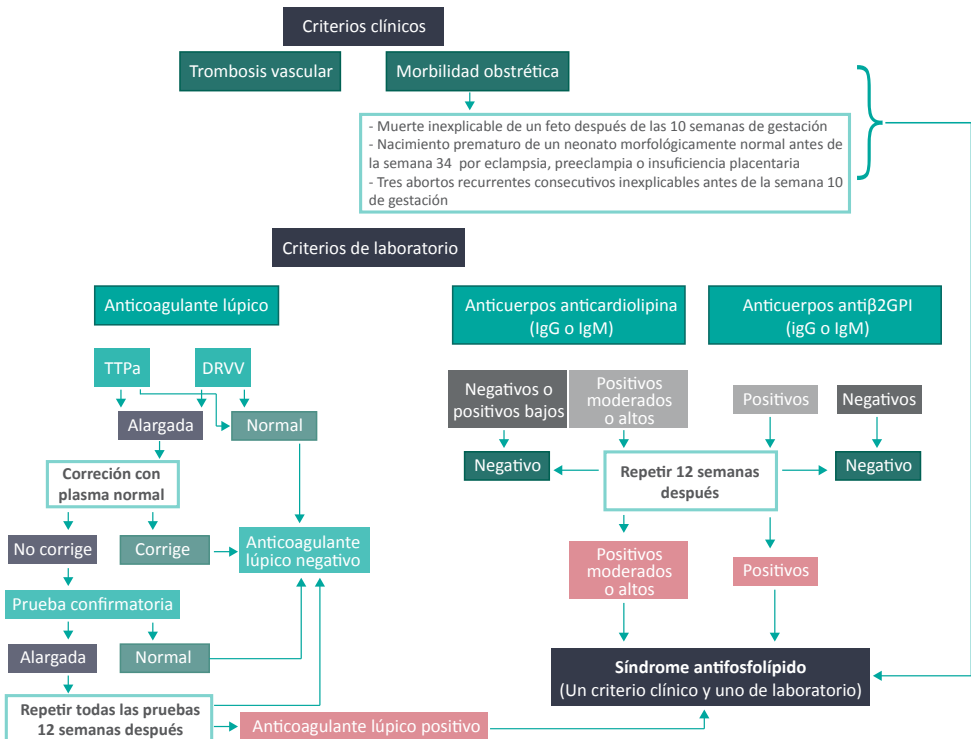


Figura 3. Algoritmo diagnóstico para el síndrome antifosfolípido

Síndrome antifosfolípido, morbilidad obstétrica y trombosis

El aborto es la complicación ginecológica más frecuente y se produce en el 15% de las mujeres en estado de embarazo. Puede tener múltiples causas, entre ellas, las causas anatómicas, infecciosas, genéticas, hormonales, inmunológicas y las asociadas con el síndrome antifosfolípido [34-36]. Frecuentemente, el lupus eritematoso sistémico se encuentra involucrado en los problemas reproductivos en la mujer y se relaciona con el incremento de los abortos recurrentes [26]. Diferentes hallazgos de laboratorio indican que los anticuerpos antifosfolípidos (anticoagulante lúpico, anticuerpos anticardiolipina y otros anticuerpos antifosfolípidos), los anticuerpos antinucleares y los anticuerpos antitiroideos se relacionan con los abortos habituales y pueden ser la única manifestación clínica presente en algunas mujeres [37, 38].

Se ha indicado que los anticuerpos antifosfolípidos pueden interactuar con el endotelio vascular en cualquier parte del cuerpo. Durante el embarazo, la neovascularización que se presenta en el endometrio cobra gran relevancia en el síndrome antifosfolípido, ocasionando daño endotelial y causando agregación plaquetaria, que produce trombosis e insuficiencia de la placenta, debido al incremento del tromboxano por las plaquetas y la activación de la proteína C, la cual es un anticoagulante natural importante en la homeostasis [26, 39]. El anticoagulante lúpico se ha reconocido como causante de aborto habitual, aunque se ha denominado anticoagulante, el anticoagulante lúpico causa trombosis vascular y en el embarazo puede producir infarto placentario. Se estima que del 25% al 50% de los pacientes con anticoagulante lúpico desarrollan trombosis, posiblemente debido a que produce adherencia plaquetaria, vasoconstricción, se asocia con daño de células endoteliales, reducción de prostaciclina e inhibición de la antitrombina III [40].

Los anticuerpos anticardiolipina, principalmente IgG, se han asociado fuertemente con aborto recurrente y también con retardo en el crecimiento intrauterino. Se han reportado pacientes con anticoagulante lúpico que no presentan anticuerpos anticardiolipina y otro grupo de pacientes que presentan una actividad del anticoagulante lúpico dependiente de la actividad de la cardiolipina, asociándose este último grupo con trombosis cerebral, hipertensión pulmonar y aborto recurrente. Asimismo, los anticuerpos anti β 2GPI se puede encontrar asociados con los anticuerpos anticardiolipina o en forma independiente, y pueden constituirse en un factor de riesgo importante para el desarrollo de trombosis y pérdidas fetales [17, 41, 42]. La muerte fetal en el síndrome antifosfolípido puede asociarse con retraso en el crecimiento intrauterino y oligohidramnios, los cuales pueden ser ocasionadas por insuficiencia placentaria o posiblemente por vasculopatía arterial [43].

La anexina V está localizada en la placenta, especialmente en las microvellosidades del sincitiotrofoblasto y el endotelio vascular. Se ha encontrado que en las placentas de pacientes con síndrome antifosfolípido hay una disminución de la anexina V, la cual normalmente recubre la superficie trofoblástica. Los anticuerpos antifosfolípidos destruyen la anexina V, lo que permite que los fosfolípidos de la superficie celular activen a los factores de coagulación presentes fuera de las células, favoreciendo la hipercoagulabilidad y por supuesto el desarrollo de trombosis placentaria [44-46]. Se ha relacionado el lupus eritematoso sistémico con el retraso en el crecimiento intrauterino y los nacimientos prematuros. Esto con base en un estudio en el cual los sueros de los pacientes con síndrome antifosfolípido y lupus eritematoso sistémico redujeron dramáticamente el crecimiento embrionario en cultivo [47].

Otras manifestaciones clínicas relacionadas

- **Manifestaciones dermatológicas:** en los pacientes con síndrome antifosfolípido, la característica más frecuente es la *Livedo Reticularis*, que se ha relacionado con anticuerpos anticardiolipina y con trombosis arterial y se caracteriza por la presencia de máculas purpúricas, nódulos en la piel o úlceras [48, 49].
- **Manifestaciones renales:** los anticuerpos antifosfolípidos se han asociado con lesiones renales e isquemia renal crónica. Se ha denominado nefropatía asociada al síndrome antifosfolípido, cuando se encuentran los anticuerpos antifosfolípidos con la detección histopatológica de microangiopatía trombótica o hiperplasia fibrosa de la íntima, oclusión fibrosa de arterias, entre otras. Las lesiones que se producen en riñón son iguales en los pacientes que presentan síndrome antifosfolípido y lupus eritematoso sistémico que los que no presentan lupus eritematoso sistémico, y se han relacionado con trombosis vascular y problemas en la gestación en los pacientes con lupus eritematoso sistémico [50-52].
- **Manifestaciones cardiacas:** independientemente del lupus eritematoso sistémico, los pacientes con síndrome antifosfolípido, pueden tener manifestaciones clínicas asociadas a lesiones valvulares, aunque se debe tener presente la hipertensión, la edad y la obesidad en el paciente. Estas lesiones valvulares pueden desarrollar embolia cardiaca que se han relacionado fuertemente con síndrome antifosfolípido y también se ha encontrado que la enfermedad arterial coronaria cumple con el criterio clínico de trombosis [53, 54].
- **Manifestaciones neurológicas:** el síndrome antifosfolípido se ha asociado con isquemia cerebral, demencia y disfunción cognitiva. Se sugiere que el 1% de los pacientes con lupus eritematoso sistémico pueden tener anticuerpos antifosfolípidos y mielopatía transversa [55, 56]. La trombosis cerebral es el hallazgo neurológico más común en el síndrome antifosfolípido, aunque también se ha asociado con otras manifestaciones clínicas como las convulsiones, cuadros psicóticos y alteraciones cognoscitivas [57]. La isquemia cerebral se presenta, según algunos estudios, en personas con edades menores a la población que normalmente presenta enfermedad cerebrovascular. Estudios como la de APASS (del inglés *Antiphospholipid Antibodies in Stroke Study Group*), han reportado la presencia de anticuerpos antifosfolípidos del 30% al 50 % en pacientes adultos jóvenes con accidente cerebrovascular [58-63].
- **Manifestaciones hematológicas:** en pacientes con síndrome antifosfolípido se puede encontrar trombocitopenia, pero es mucho más frecuente en pacientes con síndrome antifosfolípido y lupus eritematoso sistémico; de igual forma, se puede considerar un criterio clínico independiente no asociado al síndrome antifosfolípido. La trombocitopenia asociada al síndrome antifosfolípido se ha definido por la coexistencia de los criterios de laboratorio, con menos de 100.000 plaquetas/ μ L confirmado con otra prueba de 12 semanas de diferencia [64-66].

Pruebas de laboratorio para la detección de anticuerpos antifosfolípidos

Para la determinación del síndrome antifosfolípido, las pruebas diagnósticas pueden considerarse bajo dos aproximaciones: la primera es la búsqueda de anticuerpos antifosfolípidos por métodos inmunológicos como el ELISA, y la segunda es la identificación de las alteraciones dependientes de fosfolípidos asociadas al sistema de la coagulación, evaluando la participación del anticoagulante lúpico (ver [figura 3](#)). Harris, Gharavi y Hughes fueron los

pioneros en la estandarizaron de la prueba de ELISA para el diagnóstico de los anticuerpos antifosfolípidos, lo que ha llevado a que se efectúen ocho conferencias internacionales sobre el síndrome y cuatro talleres de estandarización de pruebas de laboratorio [2, 22, 32, 67]. Harris describió la prueba de ELISA para la investigación de los anticuerpos anticardiolipina de isotipo IgM, IgG e IgA, usando el fosfolípido cardiolipina como un antígeno que se adhiere a la fase sólida [57]. Las pruebas para la detección de anticuerpos anticardiolipina son sensibles del 80% al 90% de los individuos, pero tienen baja especificidad, ya que pueden ser falsamente positivos en presencia de algunas enfermedades virales, infecciosas y autoinmunes [68].

La presencia de proteínas de unión a fosfolípidos, como la β 2GPI y la dependencia de estas proteínas en la formación de anticuerpos antifosfolípidos, ha posibilitado el desarrollo de pruebas mucho más sensibles y específicas, que evitan los falsos positivos asociados al reconocimiento inespecífico de los anticuerpos anticardiolipina. Actualmente, existen pruebas de ELISA que usan el antígeno β 2GPI (QANTA LITE Beta-2 GPI IgG), generando mayor especificidad (82%), sensibilidad (74%) y una mayor utilidad clínica para el diagnóstico del síndrome antifosfolípido; en conjunto con la medición de anticuerpos anticardiolipina y el anticoagulante lúpico. El descubrimiento de nuevos anticuerpos antifosfolípidos y su relación con el síndrome antifosfolípido, genera el desarrollo de nuevas herramientas diagnósticas, que aunque no están incluidas en los consensos internacionales, dan cuenta de la utilidad que pueden tener estas pruebas a futuro. Harris, *et. al.* implementó el ELISA para antifosfolípidos mezclados (AphL - Elisa Kit, Louisville APL Diagnostics, Inc) que usa una mezcla de fosfolípidos con gran sensibilidad (90%) y especificidad (99,5%) y permitiría diferenciar los individuos normales de los pacientes positivos [68-70].

Uno de los aportes más relevantes, establecido en el consenso de Sydney, fue la delimitación de los parámetros que se deben considerar para identificar los anticuerpos anticardiolipina y anticuerpos anti β 2GPI como positivos. A pesar del uso de diferentes productos comerciales, se ha establecido que los anticuerpos anticardiolipina deben tener unos niveles de positivo moderado a positivo alto (>40 GPL (fosfolípidos IgG, del inglés IgG phospholipids) U/mL o MPL (fosfolípidos IgM, del inglés IgM phospholipids) U/mL) y para β 2GPI cuando los niveles de los anticuerpos estén por encima de 40 GPL o GPM U/mL, o que se encuentre por encima del percentil 99. Estos valores que se describen con mayor detalle en la [tabla 3](#) [22, 71].

Tabla 3. Valores de referencia para anticuerpos antifosfolípidos

| Anticuerpos anticardiolipina | |
|---|--|
| Resultados negativos | Resultados positivos bajos |
| IgG: Menos de 20 unidades GPL U/mL | IgG: Entre 20-39.9 unidades GPL |
| IgM: Menos de 20 unidades MPL U/mL | IgM: Entre 20-39.9 unidades MPL |
| Resultados positivos moderados | Resultados positivos altos |
| IgG: Entre 40-79.9 unidades GPL | IgG: Más de 80 unidades GPL |
| IgM: Entre 40-79.9 unidades MPL | IgM: Más de 80 unidades MPL |
| Anticuerpos antiβ2GPI | |
| Resultados negativos | Resultados positivos |
| IgG o IgM: Menos de 20 GPL o GPM U/mL o menor del percentil 99 | IgG o IgM: Más de 20 GPL o GPM U/mL o menor del percentil 99 |
| Inmunoglobulina (Ig), fosfolípidos IgG (GPL, del inglés IgG phospholipids), Fosfolípidos IgM (MPL, del inglés IgM phospholipids). 1 GPL o MPL equivale a 1 μ g de IgG o IgM | |

A partir 1990 se empezaron a utilizar las pruebas para identificar anticoagulante lúpico, el cual bloquea la protrombina y por lo tanto la producción de trombina, alargando el tiempo de coagulación. Las pruebas de anticoagulante lúpico son más específicas que los de anticuerpos antifosfolípidos, pero se recomienda realizar las pruebas de anticuerpos antifosfolípidos para confirmar el diagnóstico [72]. Para la búsqueda del anticoagulante lúpico, se deben realizar dos pruebas de screening o tamizaje para demostrar por diferentes métodos la prolongación de la coagulación dependiente de fosfolípidos al menos en una prueba (tiempo parcial de tromboplastina activada y la prueba del veneno de la víbora de Russell diluida). Posteriormente, se realiza la prueba de corrección, mezclando la muestra del paciente con plasma normal, la cual no debe corregir, para identificar que la prolongación de la coagulación no está asociado a factores de la coagulación. Si no hay corrección, se debe realizar la demostración de la dependencia del efecto anticoagulante por los fosfolípidos, en una prueba confirmatoria donde se evidencie el acortamiento del tiempo de coagulación con la adición de fosfolípidos de otra fuente (fosfolípidos en fase hexagonal, extracto de cerebro de conejo, entre otros) a las pruebas realizadas para confirmar la dependencia de los fosfolípidos en el proceso de coagulación [22, 72-74]. Es importante tener presente la exclusión de factores in-

hibidores específicos como los medicamentos anticoagulantes. La [tabla 4](#) muestra los valores de referencia para el reporte de anticoagulante lúpico calculando la relación del tiempo de coagulación de la prueba de screening sobre la prueba confirmatoria.

Tabla 4. Valores de referencia para anticoagulante lúpico

Relación Prueba de Screening/Prueba Confirmatoria (Relación PS/PC)

Anticoagulante Lúpico Débil Rel. PS/PC: 1.2 – 1.49

Anticoagulante Lúpico Moderado Rel. PS/PC: 1.5 – 2.0

Anticoagulante Lúpico Fuerte Rel. PS/PC: Mayor de 2.0

Conclusiones

Sin lugar a dudas, una de las manifestaciones clínicas del síndrome antifosfolípido, que mayor atención ha logrado tener, son las complicaciones obstétricas. Donde las pérdidas gestacionales recurrentes, las complicaciones durante el embarazo como la preeclampsia/eclampsia y las consecuencias irreversibles en los recién nacidos con retardo de crecimiento intrauterino, hacen necesario e indispensable la identificación oportuna del síndrome antifosfolípido en mujeres embarazadas. El uso de herramientas diagnósticas de forma preventiva, que brinden una alta especificidad y sensibilidad en las pacientes que no presentan manifestaciones clínicas, permitirá reducir las tasas de morbilidad y mortalidad materno-fetal. Es necesario estar atentos ante las manifestaciones clínicas para el uso oportuno y apropiado de las estrategias diagnósticas en el tamizaje de los pacientes con síndrome antifosfolípido, y así poder prevenir las consecuencias que puede traer el síndrome durante el embarazo.

Finalmente, el síndrome antifosfolípido es un trastorno sistémico que afecta diferentes órganos y que se puede evidenciar con una gran variedad de manifestaciones clínicas. Aunque falta ahondar sobre las causas que llevan a la producción de los diferentes anticuerpos antifosfolípidos y los mecanismos que los vinculan con las manifestaciones clínicas, es importante destacar que los avances en la identificación y el diagnóstico de los pacientes con síndrome antifosfolípido, han sentado las bases para la búsqueda de nuevos horizontes. Los consensos internacionales en los criterios de clasificación y el avance en las pruebas diagnósticas, permiten tener elementos para la identificación oportuna, la toma de decisiones clínicas y la búsqueda de terapias que permitan un tratamiento eficaz para los pacientes con síndrome antifosfolípido.

Bibliografía

1. **Ruiz-Irastorza G, Cuadrado MJ, Ruiz-Arruza I, Brey R, Crowther M, Derksen R, et al.** Evidence-based recommendations for the prevention and long-term management of thrombosis in antiphospholipid antibody-positive patients: report of a task force at the 13th International Congress on antiphospholipid antibodies. *Lupus* 2011; 20: 206-218.
2. **Keeling D, Mackie I, Moore GW, Greer IA, Greaves M.** Guidelines on the investigation and management of antiphospholipid syndrome. *Br J Haematol* 2012; 157: 47-58.
3. **Giannakopoulos B, Krilis SA.** The pathogenesis of the antiphospholipid syndrome. *N Engl J Med* 2013; 368: 1033-1044.
4. **Lockshin MD.** Update on antiphospholipid syndrome. *Bull NYU Hosp Jt Dis* 2008; 66: 195-197.
5. **Alonso Santor JE, Inglada Galiana L, Perez Paredes G.** Síndrome antifosfolípido: estado actual. *An Med Interna* 2007; 24: 242-248.
6. **Lockshin MD, Sammaritano LR.** Antiphospholipid antibodies and fetal loss. *N Engl J Med* 1992; 326: 951-952; author reply 953-954.
7. **Alessandri C, Conti F, Pendolino M, Mancini R, Valesini G.** New autoantigens in the antiphospholipid syndrome. *Autoimmun Rev* 2011; 10: 609-616.
8. **Aron AL, Gharavi AE, Shoenfeld Y.** Mechanisms of action of antiphospholipid antibodies in the antiphospholipid syndrome. *Int Arch Allergy Immunol* 1995; 106: 8-12.
9. **Salmon JE, de Groot PG.** Pathogenic role of antiphospholipid antibodies. *Lupus* 2008; 17: 405-411.
10. **Mackworth-Young CG.** Antiphospholipid syndrome: multiple mechanisms. *Clin Exp Immunol* 2004; 136: 393-401.
11. **Dostal-Johnson D, Rote NS, Branch DW.** IgG1 and IgG2 are the predominant subclasses of antiphospholipid antibody in women with the lupus anticoagulant. *Clin Immunol Immunopathol* 1990; 54: 309-319.
12. **Steinkasserer A, Barlow PN, Willis AC, Kertesz Z, Campbell ID, Sim RB, et al.** Activity, disulphide mapping and structural modelling of the fifth domain of human beta 2-glycoprotein I. *FEBS Lett* 1992; 313: 193-197.
13. **Cheng HM.** Apoptotic antigens, B2-glycoprotein I, and antiphospholipid autoantibodies. *Blood* 1996; 88: 4396.
14. **Hunt JE, Krilis SA.** Antiphospholipid antibodies, beta 2-glycoprotein I and thrombosis. *Lupus* 1993; 2: 285-287.
15. **Matsuura E, Igarashi M, Igarashi Y, Nagae H, Ichikawa K, Yasuda T, et al.** Molecular definition of human beta 2-glycoprotein I (beta 2-GPI) by cDNA cloning and inter-species differences of beta 2-GPI in alternation of anticardiolipin binding. *Int Immunol* 1991; 3: 1217-1221.
16. **Greaves M, Cohen H, Machin SJ, Mackie I.** Guidelines on the investigation and management of the antiphospholipid syndrome. *Br J Haematol* 2000; 109: 704-715.
17. **Pierangeli SS, Harris EN, Davis SA, DeLorenzo G.** Beta 2-glycoprotein 1 (beta 2GP1) enhances cardiolipin binding activity but is not the antigen for antiphospholipid antibodies. *Br J Haematol* 1992; 82: 565-570.
18. **Rand JH.** Molecular pathogenesis of the antiphospholipid syndrome. *Circ Res* 2002; 90: 29-37.
19. **Asherson RA, Hughes GR.** Primary antiphospholipid syndrome. *Am J Med* 1993; 94: 345-346.
20. **Cheng HM, Yap CG.** Natural beta 2-glycoprotein I-independent anticardiolipin autoantibodies are not age-related. *Stroke* 1996; 27: 1007-1008.
21. **Rote NS, Dostal-Johnson D, Branch DW.** Antiphospholipid antibodies and recurrent pregnancy loss: correlation between the activated partial thromboplastin time and antibodies against phosphatidylserine and cardiolipin. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 163: 575-584.
22. **Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, et al.** International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost* 2006; 4: 295-306.
23. **Emlen W, Niebur J, Kadera R.** Accelerated in vitro apoptosis of lymphocytes from patients with systemic lupus erythematosus. *J Immunol* 1994; 152: 3685-3692.
24. **Manfredi AA, Rovere P, Heltai S, Galati G, Nebbia G, Tincani A, et al.** Apoptotic cell clearance in systemic lupus erythematosus. II. Role of beta2-glycoprotein I. *Arthritis Rheum* 1998; 41: 215-223.
25. **Chen PP, Giles I.** Antibodies to serine proteases in the antiphospholipid syndrome. *Curr Rheumatol Rep* 2010; 12: 45-52.
26. **Merrill JT.** Antibodies and clinical features of the antiphospholipid syndrome as criteria for systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2004; 13: 869-876.
27. **Salle V, Maziere JC, Smail A, Cevallos R, Maziere C, Fuentes V, et al.** Anti-annexin II antibodies in systemic autoimmune diseases and antiphospholipid syndrome. *J Clin Immunol* 2008; 28: 291-297.
28. **Andree HA, Stuart MC, Hermens WT, Reutelingsperger CP, Hemker HC, Frederik PM, et al.** Clustering of lipid-bound annexin V may explain its anticoagulant effect. *J Biol Chem* 1992; 267: 17907-17912.
29. **Hoxha A, Ruffatti A, Tonello M, Bontadi A, Salvan E,**

- Banzato A, et al.** Antiphosphatidylserine/prothrombin antibodies in primary antiphospholipid syndrome. *Lupus* 2012; 21: 787-789.
30. **Sanmarco M, Boffa MC.** Antiphosphatidylethanolamine antibodies and the antiphospholipid syndrome. *Lupus* 2009; 18: 920-923.
 31. **Alarcon-Segovia D, Deleze M, Oria CV, Sanchez-Guerrero J, Gomez-Pacheco L, Cabiedes J, et al.** Antiphospholipid antibodies and the antiphospholipid syndrome in systemic lupus erythematosus. A prospective analysis of 500 consecutive patients. *Medicine (Baltimore)* 1989; 68: 353-365.
 32. **Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC, et al.** International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 1309-1311.
 33. **Lee RM, Branch DW, Silver RM.** Immunoglobulin A anti-beta2-glycoprotein antibodies in women who experience unexplained recurrent spontaneous abortion and unexplained fetal death. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 185: 748-753.
 34. **Plouffe L, Jr., White EW, Tho SP, Sweet CS, Layman LC, Whitman GF, et al.** Etiologic factors of recurrent abortion and subsequent reproductive performance of couples: have we made any progress in the past 10 years? *Am J Obstet Gynecol* 1992; 167: 313-320; discussion 320-311.
 35. **Stirrat GM.** Recurrent miscarriage. II: Clinical associations, causes, and management. *Lancet* 1990; 336: 728-733.
 36. **Tincani A, Rebaioli CB, Frassi M, Taglietti M, Gorla R, Cavazzana I, et al.** Pregnancy and autoimmunity: maternal treatment and maternal disease influence on pregnancy outcome. *Autoimmun Rev* 2005; 4: 423-428.
 37. **Kutteh WH, Lyda EC, Abraham SM, Wacholtz MC.** Association of anticardiolipin antibodies and pregnancy loss in women with systemic lupus erythematosus. *Fertil Steril* 1993; 60: 449-455.
 38. **Lubbe WF, Pattison N, Liggins GC.** Antiphospholipid antibodies and pregnancy. *N Engl J Med* 1985; 313: 1350-1351.
 39. **Mackworth-Young C.** Antiphospholipid antibodies: more than just a disease marker? *Immunol Today* 1990; 11: 60-65.
 40. **Diez-Ewald M.** Anticuerpos antifosfolípidos. Revisión. *Invest Clin* 1993; 34: 143-158.
 41. **Galli M, Luciani D, Bertolini G, Barbui T.** Anti-beta 2-glycoprotein I, antiprothrombin antibodies, and the risk of thrombosis in the antiphospholipid syndrome. *Blood* 2003; 102: 2717-2723.
 42. **Reber G, de Moerloose P.** Anti-beta2-glycoprotein I antibodies--when and how should they be measured? *Thromb Res* 2004; 114: 527-531.
 43. **Gharavi AE, Pierangeli SS, Levy RA, Harris EN.** Mechanisms of pregnancy loss in antiphospholipid syndrome. *Clin Obstet Gynecol* 2001; 44: 11-19.
 44. **Hanly JG, Smith SA, Anderson D.** Inhibition of annexin V binding to cardiolipin and thrombin generation in an unselected population with venous thrombosis. *J Rheumatol* 2003; 30: 1990-1993.
 45. **Rand JH, Wu XX, Andree HA, Lockwood CJ, Guller S, Scher J, et al.** Pregnancy loss in the antiphospholipid-antibody syndrome--a possible thrombogenic mechanism. *N Engl J Med* 1997; 337: 154-160.
 46. **Rand JH, Wu XX, Guller S, Scher J, Andree HA, Lockwood CJ.** Antiphospholipid immunoglobulin G antibodies reduce annexin-V levels on syncytiotrophoblast apical membranes and in culture media of placental villi. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 177: 918-923.
 47. **Ornoy A, Yacobi S, Matalon ST, Blank M, Blumenfeld Z, Miller RK, et al.** The effects of antiphospholipid antibodies obtained from women with SLE/APS and associated pregnancy loss on rat embryos and placental explants in culture. *Lupus* 2003; 12: 573-578.
 48. **Diogenes MJ, Diogenes PC, de Moraes Carneiro RM, Neto CC, Duarte FB, Holanda RR.** Cutaneous manifestations associated with antiphospholipid antibodies. *Int J Dermatol* 2004; 43: 632-637.
 49. **Gibson GE, Su WP, Pittelkow MR.** Antiphospholipid syndrome and the skin. *J Am Acad Dermatol* 1997; 36: 970-982.
 50. **Daugas E, Nochy D, Huong DL, Duhaut P, Beauflis H, Caudwell V, et al.** Antiphospholipid syndrome nephropathy in systemic lupus erythematosus. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 42-52.
 51. **Nochy D, Daugas E, Hill G, Grunfeld JP.** Antiphospholipid syndrome nephropathy. *J Nephrol* 2002; 15: 446-461.
 52. **Tektonidou MG, Sotsiou F, Nakopoulou L, Vlachoyiannopoulos PG, Moutsopoulos HM.** Antiphospholipid syndrome nephropathy in patients with systemic lupus erythematosus and antiphospholipid antibodies: prevalence, clinical associations, and long-term outcome. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 2569-2579.
 53. **Brey RL.** Antiphospholipid antibodies in young adults with stroke. *J Thromb Thrombolysis* 2005; 20: 105-112.
 54. **Cervera R.** Coronary and valvular syndromes and antiphospholipid antibodies. *Thromb Res* 2004; 114: 501-507.
 55. **Menon S, Jameson-Shortall E, Newman SP, Hall-Craggs MR, Chinn R, Isenberg DA.** A longitudinal study of anticardiolipin antibody levels and cognitive functioning in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 735-741.
 56. **Shrot S, Katzav A, Korczyn AD, Litvinju Y, Hershenon R, Pick CG, et al.** Behavioral and cognitive deficits occur only after prolonged exposure of mice to antiphospholipid antibodies. *Lupus* 2002; 11: 736-743.

57. **Chalem P.** Síndrome de anticuerpos antifosfolípidos: manifestaciones en el sistema nervioso central. Asociación Colombiana de Neurología. <http://www.acnweb.org/guia/g3cap6.pdf>. Consultado en julio de 2013.
58. **Brey RL.** Antiphospholipid antibodies and ischemic stroke. *Heart Dis Stroke* 1992; 1: 379-382.
59. **Brey RL, Coull BM.** Antiphospholipid antibodies: origin, specificity, and mechanism of action. *Stroke* 1992; 23: 115-18.
60. **Carhuapoma JR, Mitsias P, Levine SR.** Cerebral venous thrombosis and anticardiolipin antibodies. *Stroke* 1997; 28: 2363-2369.
61. **Coull BM, Levine SR, Brey RL.** The role of antiphospholipid antibodies in stroke. *Neurol Clin* 1992; 10: 125-143.
62. **Davis WD, Brey RL.** Antiphospholipid antibodies and complement activation in patients with cerebral ischemia. *Clin Exp Rheumatol* 1992; 10: 455-460.
63. **Levine SR, Brey RL, Joseph CL, Havstad S.** Risk of recurrent thromboembolic events in patients with focal cerebral ischemia and antiphospholipid antibodies. The Antiphospholipid Antibodies in Stroke Study Group. *Stroke* 1992; 23: 129-32.
64. **Diz-Kucukkaya R, Hacıhanefioglu A, Yenerel M, Turgut M, Keskin H, Nalcaci M, et al.** Antiphospholipid antibodies and antiphospholipid syndrome in patients presenting with immune thrombocytopenic purpura: a prospective cohort study. *Blood* 2001; 98: 1760-1764.
65. **Macchi L, Rispal P, Clofent-Sanchez G, Pellegrin JL, Nurden P, Leng B, et al.** Anti-platelet antibodies in patients with systemic lupus erythematosus and the primary antiphospholipid antibody syndrome: their relationship with the observed thrombocytopenia. *Br J Haematol* 1997; 98: 336-341.
66. **Arnout J.** The pathogenesis of the antiphospholipid syndrome: a hypothesis based on parallelisms with heparin-induced thrombocytopenia. *Thromb Haemost* 1996; 75: 536-541.
67. **Lakos G, Favaloro EJ, Harris EN, Meroni PL, Tincani A, Wong RC, et al.** International consensus guidelines on anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I testing: report from the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. *Arthritis Rheum* 2012; 64: 1-10.
68. **Bertolaccini ML, Khamashta MA.** Diagnosis of antiphospholipid syndrome. *Expert Rev Hematol* 2008; 1: 183-188.
69. **Harris EN, Pierangeli SS, Gharavi AE.** Diagnosis of the antiphospholipid syndrome: a proposal for use of laboratory tests. *Lupus* 1998; 7 Suppl 2: S144-148.
70. **Pierangeli SS, Stewart M, Silva LK, Harris EN.** An antiphospholipid wet workshop: 7th International Symposium on Antiphospholipid Antibodies. *J Rheumatol* 1998; 25: 156-160.
71. **Medina Y, Martínez JB, Matínez O, Rondón F, Restrepo JF, Iglesias A.** Lupus y síndrome antifosfolípido en el embarazo. *Acta Med Colomb* 2005; 30: 50-58.
72. **Pengo V, Tripodi A, Reber G, Rand JH, Ortel TL, Galli M, et al.** Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibody of the Scientific and Standardisation Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. *J Thromb Haemost* 2009; 7: 1737-1740.
73. **Derksen RH, de Groot PG.** Tests for lupus anticoagulant revisited. *Thromb Res* 2004; 114: 521-526.
74. **Hanly JG.** Antiphospholipid syndrome: an overview. *CMAJ* 2003; 168: 1675-1682.