

El Residente

## REVISIÓN-OPINIÓN

# Conceptos de hemostasia, trombofilia y síndrome antifosfolípido

Gerardo Orozco-López,<sup>\*,+</sup> Benjamín Rubio-Jurado,<sup>\*,\*\*</sup>  
 Arnulfo Hernán Nava-Zavala,<sup>\*,\*\*\*,\*\*\*\*</sup>

**RESUMEN.** La hemostasia es el proceso que mantiene la integridad del sistema vascular después de un daño vascular, éste se mantiene mediante la interacción de las plaquetas, factores de la coagulación y el sistema fibrinolítico. Cuando se alteran los mecanismos de regulación de la hemostasis, se pierde el equilibrio entre el sistema procoagulante y anticoagulante, ocasionando hemorragia o por el contrario, trombosis. La trombofilia se define como la predisposición a la formación de coágulos, puede ser primaria (genética) o secundaria (adquirida), de ésta, el síndrome antifosfolípido (SAF) es la causa más frecuente con aproximadamente 28% de los casos. Se caracteriza por manifestaciones clínicas asociadas a fenómenos trombóticos (venosa y arterial), morbilidad en el embarazo, pérdidas fetales recurrentes y presencia persistente de anticuerpos antifosfolípidos. Suele asociarse a enfermedades autoinmunes (lupus eritematoso sistémico), neoplasias, infecciones, uso de drogas, enfermedades hematológicas, etcétera. Para el diagnóstico se utilizan los criterios propuestos en Sidney, en los cuales se considera la presencia de anticuerpos antifosfolípidos, actualmente se utiliza la detección de anticuerpos anti $\beta$ 2-GPI, anticardiolipina y anticoagulante lúpico; no obstante, se han descubierto nuevos antígenos diana y nuevos métodos para detectar anticuerpos antifosfolípidos, los cuales podrían ser útiles para el diagnóstico y pronóstico de la enfermedad. Los principales antígenos contra los que van dirigidos los anticuerpos son la  $\beta$ -2 glucoproteína I, protrombina, protrombina/fosfatidilserina, vimentina/cardiolipina, anexina A5, anexina A2, proteína C, proteína S, lipoproteínas de baja densidad oxidadas (LDL), ácido lisobifosfatídico (LBPA), etc.

**Palabras clave:** Hemostasia, trombofilia, síndrome antifosfolípido, anticuerpos antifosfolípidos.

**ABSTRACT.** Hemostasis is the process that maintains the integrity of the vascular system after vascular injury, it is maintained by the interaction of platelets, coagulation factors and the fibrinolytic system. When the mechanisms of regulation of hemostasis is disturbed, the balance between procoagulant and anticoagulant system is lost, causing bleeding, or on the other hand, thrombosis. Thrombophilia is defined as the predisposition to blood clots, may be primary (genetic) or secondary (acquired) thereof antiphospholipid syndrome (APS) is the most common cause with approximately 28% of cases. It is characterized by clinical manifestations associated with thrombotic events (venous and arterial), pregnancy morbidity, recurrent fetal loss and persis-

\* Unidad de Investigación en Epidemiología Clínica, UMAE HE, CMNO, IMSS.

\*\* Servicio de Hematología, UMAE HE, CMNO, IMSS.

\*\*\* Hospital General de Occidente SSJ.

\*\*\*\* Universidad Autónoma de Guadalajara.

+ Programa de Servicio Social en Investigación.

Correspondencia:

Dr. Arnulfo Hernán Nava-Zavala

Av. Juan Palomar y Arias No. 658, Col. Providencia, CP. 44670, Guadalajara, Jal., México.

E-mail: navaza@yahoo.com.mx

## Conflicto de intereses:

Todos los autores declaran que no existe ningún conflicto de intereses con respecto a la publicación de este artículo.

Recibido: 10 de octubre de 2015. Aceptado con modificaciones: 11 de noviembre de 2015.

Este artículo puede ser consultado en versión completa en: [www.medigraphic.com/elresidente](http://www.medigraphic.com/elresidente)

*tent presence of antiphospholipid antibodies. It is often associated with autoimmune diseases (systemic lupus erythematosus), neoplasms, infections, drug use, blood diseases, etcetera. For diagnosing, the criteria proposed in Sydney are used, which consider the presence of antiphospholipid antibodies. The detection of antibodies antiβ2-GPI, cardiolipin and lupus anticoagulant are currently used, however, new target antigens have been discovered and new methods to detect antiphospholipid antibodies which may be useful for diagnosis and prognosis of the disease. The main antigens against which the antibodies are directed are b-2 glycoprotein I, prothrombin, prothrombin/phosphatidylserine, vimentin/cardiolipin, annexin A5, annexin A2, protein C, protein S, oxidized low density lipoprotein (LDL), lisobifosfatidic acid (LBPA), etcetera.*

**Key words:** Hemostasis, thrombophilia, antiphospholipid syndrome, antiphospholipid antibodies.

La hemostasia es el proceso que mantiene la integridad del sistema vascular después de un daño vascular. Es un sistema complejo pero minuciosamente controlado,<sup>1</sup> el cual es regulado por respuesta de la pared vascular (endotelio), las plaquetas, los factores de coagulación y el mecanismo fibrinolítico. La finalidad es limitar la pérdida de sangre, preservar la perfusión tisular y estimular los procesos de reparación local.<sup>2</sup>

Cuando un proceso patológico altera los mecanismos de regulación de la hemostasis, se pierde el equilibrio entre el sistema procoagulante y anticoagulante, lo que por un lado puede ocasionar hemorragia o por el contrario, si se forma trombina en gran cantidad, se pre-dispone al desarrollo de trombosis.<sup>1</sup> La etiología del estado procoagulante es generalmente multifactorial, con factores de riesgo que comprenden uno o más componentes de la tríada de Virchow: daño endotelial, estasis o turbulencia del flujo sanguíneo y estado de hipercoagulabilidad; el componente más dominante para producir trombosis es la lesión endotelial.<sup>3</sup>

La trombofilia puede definirse como la predisposición a la formación de coágulos, no es una enfermedad *per se*, esta condición puede ser primaria (genética) o secundaria (adquirida), la cual puede estar asociada a patologías (por ejemplo, cáncer), exposición a drogas (anticonceptivos orales) o a estados fisiológicos (el embarazo o postparto). Las causas primarias de hipercoagulabilidad primaria se sospechan en pacientes menores de 50 años de edad con episodio de trombosis sin presencia de factores secundarios asociados.<sup>4</sup>

Los factores genéticos que más se han visto asociados son mutaciones en el gen del factor V

(de Leiden), de la protrombina G20210A y de la enzima metiltetrahidrofolato reductasa. Menos frecuentes son las deficiencias de anticoagulantes naturales como la antitrombina III, proteína C y S. Las causas adquiridas más comunes son cáncer activo, quimioterapia, síndrome antifosfolípido, fibrilación auricular, infarto de miocardio, daño tisular (cirugía, fractura, quemadura), trastornos mieloproliferativos (poliglobulia, trombocitosis), estados hiperestrogénicos (embarazo/puerperio), válvulas cardíacas protésicas, trombocitopenia inducida por heparina, enfermedad drepanocítica. Algunas causas adquiridas son modificables: uso de anticonceptivos orales, obesidad, tabaquismo, inmovilización prolongada, deshidratación.<sup>4,5</sup>

La trombosis puede ocurrir tanto en arterias como en venas, los factores que propician cada una de éstas es distinto. El mecanismo que probablemente desencadena la trombosis venosa es la activación endotelial secundaria a estasis sanguínea, lo que genera hipoxia que a su vez provoca la liberación de factores procoagulantes (factor tisular, P-selectina, citosinas, micropartículas, factor de Von Willebrand, etcétera), en la mayoría de los casos, la pared vascular se encuentra íntegra. La adhesión plaquetaria contribuye poco en la formación del trombo y la fibrina resulta determinante. Se forma un trombo friable (*trombo rojo* debido a eritrocitos atrapados en la red de fibrina) que causa oclusión venosa, no obstante, su principal complicación es la embolización. La trombosis arterial usualmente es desencadenada por la ruptura de una placa ateromatosa, esto lleva a la exposición del colágeno subendotelial, factor tisular y vWF. Las plaquetas y la fibrina tienen un papel fundamental en la formación del trombo, el

cual está constituido también por eritrocitos y leucocitos (*trombo blanco*). Este tipo de trombo-sis ocasiona obstrucción arterial con isquemia e infarto tisular, ocurre principalmente en los infartos al miocardio.<sup>6,7</sup>

## FISIOLOGÍA DE LA COAGULACIÓN

La hemostasia se mantiene mediante la interacción entre las plaquetas, los factores de la coagulación y el sistema fibrinolítico, todos estos componentes contribuyen al equilibrio dinámico del flujo sanguíneo, en el cual la sangre se conserva en su estado líquido y se evita la hemorragia posterior al daño vascular.<sup>8</sup> En condiciones fisiológicas el endotelio produce tres tromborreguladores: óxido nítrico, prostaciclina 1, 2, 3 y la ectonucleotidasa CD394, los cuales proporcionan una defensa contra la formación de trombos. El colágeno en la matriz subendotelial y el factor tisular facilitan el mantenimiento de un sistema circulatorio cerrado. Cuando existe daño vascular el endotelio presenta propiedades procoagulantes.

La hemostasia primaria (plaquetaria) es desencadenada por la exposición de los componentes subendoteliales después de la lesión vascular y por la trombina. Inicialmente, el daño es reparado por interacciones entre componentes tisulares, proteínas plasmáticas y las plaquetas que conllevan a la formación del tapón plaquetario. La plaqueta sufre las siguientes reacciones: adhesión, cambios morfológicos, agregación, activación y secreción de gránulos. La adhesión plaquetaria ocurre por la interacción entre el factor de von Willebrand (vWF) y receptores específicos de la plaqueta (GpIb-V-IX), este factor actúa como puente de unión entre el colágeno subendotelial expuesto y la plaqueta. Los cambios morfológicos que presentan son el reacomodo de la membrana y la exposición de fosfolípidos cargados negativamente (sitio donde inicia la vía intrínseca de la coagulación). La agregación plaquetaria es facilitada por la expresión de integrinas (GpIIb-IIIa) en la superficie, las cuales se unen al fibrinógeno formando aglomerados plaquetarios. Una vez activada la

plaqueta secreta sus gránulos delta (cuerpos densos) (tromboxano A<sub>2</sub>, ADP, calcio, serotonina, adrenalina) y gránulos alfa (selectina P, fibrinógeno, fibronectina, factores V y VIII, factor plaquetario 4, factor de crecimiento derivado de plaqueta, factor de crecimiento transformante beta). La formación del tapón de plaquetas (blando) es temporal y se complementa con la activación del sistema de coagulación que conduce a la formación de un trombo estable por la generación de trombina y la red de fibrina.<sup>9</sup>

La cascada de la coagulación se describió desde los años 60, este modelo incluye dos vías por las cuales puede iniciarse la coagulación, la *intrínseca* y la *extrínseca*. Ambas vías comienzan por distinto mecanismo, después de iniciarse surge una serie de reacciones en las que un factor activado activa al siguiente hasta converger en una vía común activando al factor X. La vía *intrínseca* se inicia por la activación del factor XII (Hageman) junto con cininógeno de peso molecular elevado y precalicreína (factores de contacto) actúan en el factor XI (XIa), que después activa al factor IX (IXa), éste a su vez, junto al cofactor VIIIa, activará al factor X (vía común). La vía *extrínseca* inicia al lesionarse el endotelio, se expone el factor tisular (tromboplastina), el cual forma un complejo junto con el factor VIIa, este complejo activa al factor X. En las superficies fosfolipídicas el factor Xa junto con Ca<sup>++</sup> y factor Va (cofactor) activan al factor II (protrombina) generando trombina que posteriormente actúa en el factor I (fibrinógeno) y forma la fibrina.<sup>7,10</sup>

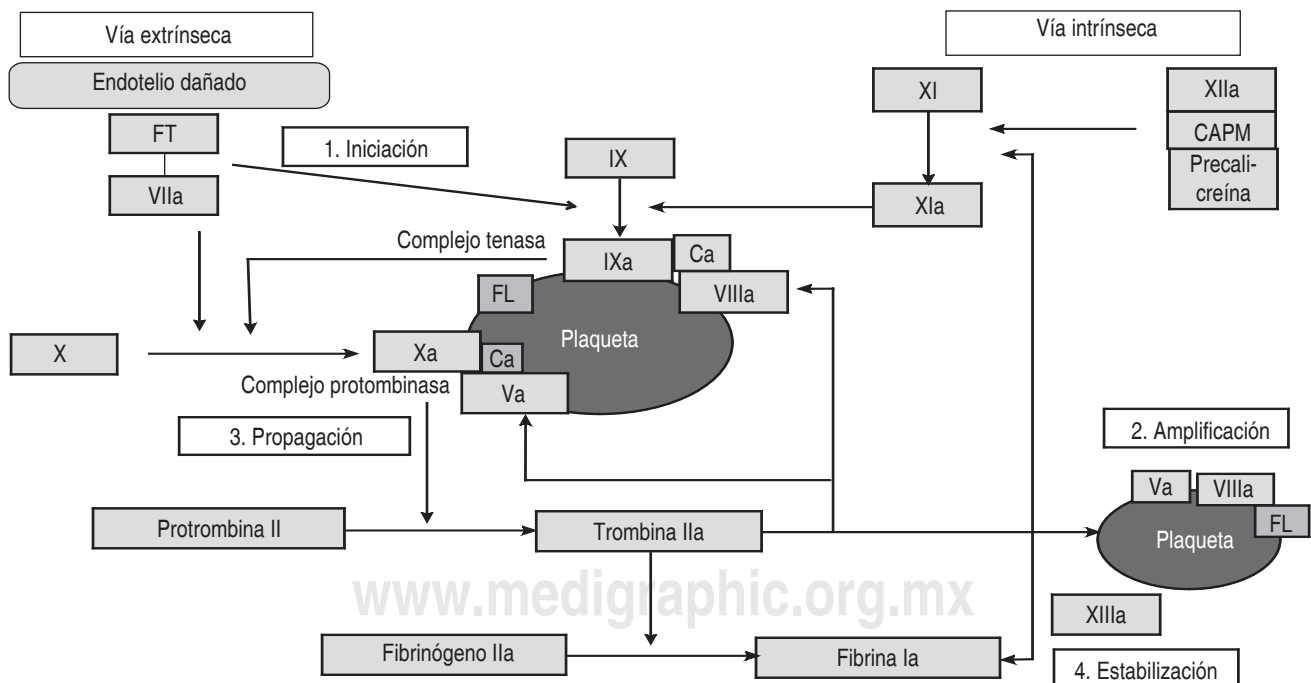
Actualmente se sabe que el modelo de la cascada de la coagulación es incapaz de explicar la coagulación *in vivo*, por lo que se ha propuesto el modelo celular de la coagulación (*Figura 1*). Este modelo consiste en las siguientes fases:

- **Iniciación:** una lesión vascular permite la exposición del factor tisular a través de las células endoteliales, al unirse en la membrana el factor VIIa se crea un complejo (vía extrínseca), lo cual genera activación del factor IXa y Xa con la consecuente producción de trombina en pequeñas cantidades.

- **Amplificación:** la trombina generada activa a las plaquetas, factor V, factor VIII y factor XI. La plaqueta expresa en su superficie fosfolípidos de carga negativa (fosfatidilserina), los cuales servirán para el ensamblaje y activación de más factores (FX). La fase de amplificación termina con el factor Va y factor VIIIa unido a las superficie de la plaqueta activada.
- **Propagación:** Los complejos tenasa (FVIIIa, FIXa, Ca++) y protrombinasa (FVa, FXa, Ca++) se forman en la membrana fosfolipídica de la plaqueta. El complejo tenasa activa al factor X, que luego se une con su cofactor (factor Va). El complejo protrombinasa activa al factor II produciendo una gran cantidad de trombina.
- **Estabilización:** la trombina también activa el factor XIII que estabiliza el coágulo de fibrina.<sup>10-12</sup>

La fibrinólisis es esencial para la dilución del coágulo y para la reparación del tejido dañado. La plasmina es la molécula encargada de degradar los polímeros de fibrina en fragmentos, éstos se denominan productos de degradación de fibrinógeno, el principal es el Dímero D. La plasmina es producida a partir de un precursor inactivo (plasminógeno) por acción de dos activadores: activador tipo tisular (t-PA) y activador tipo urocinasa (u-PA). El t-PA es secretado por las células endoteliales, su acción es débil en ausencia de fibrina, el u-PA se sintetiza en células epiteliales, monocitos y endotelio y activa plasminógeno en ausencia de fibrina. Los activadores están regulados por el inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1).

Existe también un sistema de anticoagulantes naturales que ayudan a mantener la hemostasia como la antitrombina, proteínas C y S y el inhibidor de la vía del factor tisular (TFPI).



Modificado de: Cir Ciruj. 2007; 75: 315,<sup>7</sup> Med Crit Terapia Int. 2004; XVIII(1):1723,<sup>10</sup> J Am Dent Assoc 1939. 2009; 140: 567-574,<sup>11</sup> Rev de Med. 2009; 53(1): 19-23.<sup>12</sup>

FL = Fosfolípidos; CAPM = Cininógeno de alto peso molecular; Ca = Calcio.

**Figura 1. Modelo clásico y celular de la coagulación.**

La antitrombina inhibe la trombina y los factores Xa y IXa. La trombina también se une a la trombomodulina (receptor endotelial) formando un complejo que activa a la proteína C, ésta junto con la proteína S como cofactor inhiben los factores V y VIII localizados en la superficie fosfolipídica. El TFPI producido por el endotelio se une al complejo FT-FVII inhibiendo la fase inicial de la coagulación. Un déficit de los componentes de este sistema propicia un estado procoagulante.<sup>12</sup>

## SÍNDROME ANTIFOSFOLÍPIDO

De las trombofilias adquiridas, el síndrome antifosfolípido (SAF) es el más frecuente con alrededor de 28% de los casos. Previamente se conocía como síndrome de Hughes debido a que fue el primero en describir la enfermedad en la década de 1980. Se caracteriza por manifestaciones clínicas asociadas a fenómenos trombóticos, morbilidad en el embarazo, pérdidas fetales recurrentes y presencia de anticuerpos antifosfolípidos (aFL), el cual va a menudo acompañado de trombocitopenia moderada.<sup>4</sup> Suele asociarse a otras patologías, principalmente lupus eritematoso sistémico (LES), otras enfermedades autoinmunes (artritis reumatoide, síndrome de Sjögren, vasculitis, enfermedad de Crohn), infecciosas (sífilis, Lyme, VIH, VHC, CMV, parvovirus B19, adenovirus, etcétera), neoplasias [sólidas (pulmón, colon, cérvix) o hematológicas (leucemias linfoides y mieloides, enfermedad de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, mieloma múltiple, etcétera)] y uso de drogas (hidralazina, procainamida, quinina, fenitoína, interferón) o puede presentarse de forma aislada, en este caso se le conoce como síndrome antifosfolípido primario. Cuando la presencia de aFL está asociada a infecciones o drogas éstos se encuentran temporalmente elevados y de manera excepcional presentarán clínica de la enfermedad.<sup>13</sup> Se ha observado en algunos estudios que existe una predisposición genética al desarrollo de la enfermedad, algunos de los HLA que están asociados son los HLA-DR4, -DR7, -DRw53 y -DQB1\_0302 para SAF prima-

rio y los DR2, DR3, DRw52 para SAF secundario a LES.<sup>14</sup>

Clínicamente afecta la circulación arterial y venosa; los dos sitios más afectados son las venas profundas de los miembros pélvicos (trombosis venosa profunda, 38.9%, tromboflebitis superficial, 11.7%), la circulación arterial cerebral (enfermedad vascular cerebral, 19.8%) y vasos pulmonares (embolia pulmonar, 14.1%); no obstante, cualquier órgano puede ser vulnerable; las complicaciones obstétricas asociadas se presentan como pérdida del producto [temprana (< 10 sdg), 35.4%, tardía (> 10 sdg), 16.9%] o partos pretérmino relacionados con preeclampsia (9.5%) o eclampsia (4.4%). En los casos graves, aunque poco comunes (1% de los casos), se presenta el síndrome antifosfolípido catastrófico, en el cual se producen múltiples coágulos en la microvasculatura ocasionando falla orgánica múltiple. Otras manifestaciones relacionadas, pero no consideradas para el diagnóstico, son alteraciones osteoarticulares (artralgias, 38.7% artritis, 27.1%), hematológicas (trombocitopenia, 29.6%, anemia hemolítica, 9.7%) cutáneas (livedo reticularis, 24.1%), neurológicas (migraña 20.2%, epilepsia 7%), cardíacas (disfunción valvular, 11.6%), nefropatía (2.7%), entre otras; los datos mencionados corresponden a un estudio de una población de 1,000 personas de diversos países de Europa.<sup>15,16</sup>

## DIAGNÓSTICO

EL SAF se describió por primera vez en la década de 1980; pero no fue hasta el año de 1999 en Sapporo, Japón cuando se establecieron los primeros criterios diagnósticos. El diagnóstico de la enfermedad ha presentado una gran evolución en los últimos años debido al descubrimiento de nuevos antígenos diana y al desarrollo de nuevos métodos para detectar anticuerpos aFL. En el XI Congreso Internacional de Anticuerpos Antifosfolípidos que se llevó a cabo en Sidney, Australia en 2006 se introdujeron los criterios actuales para el diagnóstico de SAF; no obstante, en la actualidad se continúa investigando para sugerir nuevos métodos

diagnósticos y probablemente en poco tiempo se propondrán cambios en los criterios actuales.<sup>17</sup>

Los criterios de Sydney (*Cuadro 1*) para el diagnóstico contemplan un criterio clínico y uno de laboratorio con la presencia persistente (más de 12 semanas) de uno o más de los anticuerpos antifosfolípidos, éstos se detectan por medio de los siguientes métodos: ensayo en «fase líquida» mediante pruebas de coagulación para anticoagulante lúpico (LA) realizadas de acuerdo con la guía de la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia (ISTH) y ensayos en «fase sólida» para la demostración directa de anticuerpos anti $\beta$ 2-glucoproteína I (anti $\beta$ 2-GPI) y anticardiolipina por técnica de ELISA principalmente, los anticuerpos aFL se reportan de manera habitual como unidades arbitrarias o unidades GPL o MPL, las cuales reflejan el nivel de inmunoglobulinas isotipo G o M, respectivamente.<sup>15</sup> Los pacientes con SAF pueden presentar una, dos o tres de estas pruebas positivas para detectar aFL de isotipo IgG o IgM. El mayor riesgo de trombosis se ha visto asociado a la presencia de LA, mientras que los anticuerpos aCL y anti $\beta$ 2-GPI en menor medida. Los pacientes

triple positivos (LA, aCL y anti $\beta$ 2-GPI) tienen riesgo aun mayor de desarrollar trombosis que los que son positivos a uno o dos anticuerpos.<sup>18</sup>

Otras pruebas que se han propuesto para el diagnóstico o pronóstico de la enfermedad son la detección de anticuerpos contra el dominio terminal de la  $\beta$ -2GPI (anti-dominio I), la protrombina sola o el complejo fosfatidilserina/protrombina (anti-PT y anti-PS/PT) y la resistencia del efecto anticoagulante de la anexina V; estas pruebas sólo se han postulado pero no son de uso clínico.<sup>19</sup> Las manifestaciones clínicas contempladas en los criterios diagnósticos son: trombosis de origen arterial, venoso o de la microvasculatura o complicaciones obstétricas debido a insuficiencia placentaria, preeclampsia, eclampsia, abortos repetitivos, pérdida fetal y partos prematuros.<sup>17</sup>

## AUTOANTICUERPOS ANTIFOSFOLÍPIDOS

Un autoanticuerpo es una inmunoglobulina dirigida contra una estructura propia, en la década de 1940 se descubrieron los primeros autoanticuerpos (factor reumatoide y anticuerpos

**Cuadro I.** Criterios diagnósticos de Sydney para síndrome antifosfolípido.

Presentar al menos uno de los criterios clínicos y uno de los criterios de laboratorio

### Criterios clínicos

1. Trombosis vascular  
Uno o más episodios de trombosis arterial, venosa o vénulas en cualquier órgano o tejido. La trombosis debe ser confirmada por imagen o histopatología. En la histopatología debe estar ausente la evidencia de vasculitis
2. Morbilidad relacionada con el embarazo
  - a. Una o más muertes fetales inexplicables después de diez semanas de gestación; el feto debe ser morfológicamente normal documentado por ultrasonido o examinación directa
  - b. Uno o más nacimientos prematuros morfológicamente normales antes de las 34 semanas de gestación por (I) eclampsia o preeclampsia severa o (II) insuficiencia placentaria
  - c. Tres o más abortos espontáneos consecutivamente y sin otra explicación antes de diez semanas de gestación; con anormalidades anatómicas y hormonales maternas excluidas y alteración cromosómica paterna y materna descartada

### Criterios de laboratorio

Deben estar presentes en dos o más ocasiones, por lo menos con 12 semanas de diferencia entre cada medición

1. Anticoagulante lúpico presente en plasma, detectado de acuerdo con la guía de ISTH
2. Anticuerpos anticardiolipina de isotipo IgG o IgM en suero o plasma (> 40 GPL o MPL, o > percentil 99), presentes en títulos medios o altos, medidos por ELISA
3. Anticuerpos anti- $\beta$  2 glucoproteína 1 de isotipo IgG o IgM en suero o plasma (> percentil 99), medido por ELISA

Modificado de: J Thromb Haemost JTH. 2006; 4(2): 295-306.<sup>17</sup>

antinucleares); no obstante, actualmente ya se conoce una gran cantidad, los cuales pueden estar dirigidos contra diferentes moléculas como ácidos nucleicos, lípidos, proteínas que pueden estar localizadas en el núcleo, citoplasma, superficie celular o en el medio extracelular.<sup>20</sup> El término «anticuerpos antifosfolípidos» en la actualidad se considera erróneo, debido a que éstos en realidad no van dirigidos exclusivamente hacia los fosfolípidos.<sup>21</sup> Los aFL son un grupo heterogéneo de autoanticuerpos dirigidos a diversos compuestos como fosfolípidos de carga negativa, proteínas plasmáticas, proteínas de membrana de células endoteliales o plaquetas, con los que pueden formar complejos de alta afinidad por las superficies de fosfolípidos aniónicos; los principales antígenos contra los que van dirigidos los anticuerpos son la  $\beta$ -2 glucoproteína I, protrombina, protrombina/fosfatidilserina, vimentina/cardioplipina, anexina A5, anexina A2, proteína C, proteína S, lipoproteínas de baja densidad oxidadas (LDL), ácido lisobifosfatídico (LBPA) y sulfatidas.<sup>22</sup> La prevalencia en la población general de los aFL es entre 1 y 5%; sin embargo, sólo una minoría desarrollará la enfermedad; la presencia de los anticuerpos se encuentra positiva con mayor frecuencia en el evento vascular cerebral de pacientes jóvenes (13%), infarto agudo del miocardio (11%), trombosis venosa profunda (9.5%) y morbilidad en el embarazo (6%).<sup>15</sup>

La  $\beta$ -2 glucoproteína o apolipoproteína H es el antígeno de mayor trascendencia en la enfermedad; en el año de 1990 diversos estudios demostraron que esta proteína es necesaria para la unión de los anticuerpos anticardioplipina a los fosfolípidos, funcionando ésta como «cofactor»; debido a su gran importancia en la enfermedad, la presencia de los anticuerpos anti- $\beta$ -2GPI se incluyó en los nuevos criterios diagnósticos de SAF en 2006. Normalmente, la  $\beta$ -2GPI está presente en el plasma, en una concentración de 200  $\mu$ g/mL con un peso molecular de 45 kDa aproximadamente; se sintetiza principalmente en los hepatocitos, aunque se ha observado que también en células endoteliales, monocitos, linfocitos, astrocitos fetales

y células de la placenta. Su papel fisiológico es como anticoagulante natural, inhibiendo el complejo protrombinasa, tenasa y la activación de los factores de coagulación XII y XI, otra función que se ha descubierto es la capacidad para unirse a las lipoproteínas de baja densidad oxidadas (oxLDL) inhibiendo su efecto inflamatorio; sin embargo, esta unión forma un complejo que puede ser inmunogénico, favoreciendo la producción de inmunoglobulinas, la presencia de anticuerpos dirigidos al complejo  $\beta$ -2GPI/oxLDL se relaciona con el desarrollo de trombosis arterial. A continuación se describe otro mecanismo por el cual se asocia a un estado procoagulante. La  $\beta$ -2GPI puede circular en el plasma como monómero en dos formas, cerrado (en forma circular) o abierto. Cuenta con cinco dominios homólogos (I-V) conformados por 60 aminoácidos cada uno, en la forma cerrada normalmente el dominio I (cargado negativamente) está interactuando con el dominio V (cargado positivamente), de este modo el epítipo inmunogénico (dominio I) se encuentra oculto; no obstante, cuando la  $\beta$ -2GPI se une a fosfolípidos de carga negativa (cardiolipina, fosfatidilserina, fosfatidilinositol) por medio del dominio V se producen cambios conformacionales de la proteína, tornándola inmunogénica, la forma circular se abre y expone el dominio I, el cual puede estimular el sistema inmunológico y posteriormente producir los anti $\beta$ -2-GPI. Cuando los anticuerpos se unen a la  $\beta$ -2GPI, se forman complejos que se dirigen a distintos receptores (receptores tipo Toll 1 y 2, anexina A2, glucoproteína 1 $\beta$ a, receptores LDL, entre otros) en células endoteliales, plaquetas, monocitos y trofoblasto, esta unión puede desencadenar señales intracelulares y una respuesta inflamatoria.<sup>21-23</sup>

Los anti $\beta$ -2-GPI son un grupo heterogéneo de anticuerpos que pueden ir dirigidos contra cada uno de los dominios de la proteína. Las pruebas que se utilizan actualmente en la práctica clínica para detectar la  $\beta$ -2GPI no identifican contra qué dominio va dirigido el anticuerpo. Estudios en los últimos años han revelado que los anticuerpos dirigidos específicamente contra el dominio

I (glicina 40 y arginina 43) se correlacionan más con trombosis venosa y patología obstétrica que los anticuerpos que van dirigidos contra epítopes en los dominios IV o V, los cuales se asocian más a otras patologías como lepra o dermatitis atópica. Los anticuerpos anti-DI se detectan en una gran proporción de pacientes con SAF con una sensibilidad de 85% y especificidad de 99%. Este tipo de anticuerpos aún no se utiliza en la práctica clínica; sin embargo, diversos estudios proponen que podrán ser útiles para el diagnóstico y pronóstico de la enfermedad.<sup>22</sup>

En los criterios diagnósticos se consideran los anti $\beta$ 2-GPI de isotipo IgM e IgG; sin embargo, en algunos estudios se ha observado la presencia de IgA anti $\beta$ 2-GPI con clínica SAF y ausencia de otros marcadores serológicos, por lo que algunos autores recomiendan la medición de este anticuerpo en pacientes que presentan datos de SAF con las pruebas diagnósticas de rutina negativas.<sup>22</sup>

Los anticuerpos contra fosfolípidos de carga negativa incluyen isotipos IgG e IgM que pueden estar dirigidos contra cardiolipina (CL), fosfatidilinositol (PI), fosfatidilserina (PS), ácido fosfatídico (PA), fosfatidiletanolamina (PE), ácido liso-bifosfatídico (LBPA) y sulfatidas. Se ha calculado el valor diagnóstico y pronóstico de estos anticuerpos y se ha concluido que los de mayor importancia además de la CL son los anticuerpos contra PS, PI, PA; sin embargo, evaluar estos anticuerpos no aumenta la probabilidad diagnóstica, por lo que su uso clínico no está justificado en la actualidad. En los estudios de investigación los anticuerpos contra PS y PE se han asociado a complicaciones obstétricas. La cardiolipina es un fosfolípido aniónico compuesto por dos grupos fosfato y cuatro cadenas de ácidos grasos. Al inicio se describió como un blanco antigénico presente en pacientes con sífilis, posteriormente se observó que no todos los pacientes con aCL tenían diagnóstico de sífilis, pero que algunos de éstos presentaban eventos trombóticos y abortos recurrentes. En 1952, los aCL se asociaron a pruebas de coagulación dependientes de fosfolípido prolongadas en pacientes, dos pacientes con LES posteriormente deno-

minaron a este efecto inhibitor: anticoagulante lúpico (AL). La CL es un componente esencial de la membrana mitocondrial, se piensa que la antigenicidad de la CL es ocasionada por su reubicación desde las mitocondrias hasta la superficie celular, esto ocurre durante la apoptosis, en ese momento existe un reacomodo de los lípidos de la membrana y la CL puede volverse blanco de los aFL junto con la participación de la  $\beta$ -2GPI. Los aCL pueden hacer reacción cruzada con otros antifosfolípidos aniónicos (PI y PS) y pueden ser de isotipo IgM, IgG o IgA. Mientras que la positividad de aCL es estrictamente dependiente de  $\beta$ -2GPI, la positividad del AL puede atribuirse a la presencia de anticuerpos contra  $\beta$ -2GPI, protrombina, entre otras.<sup>19</sup>

El anticoagulante lúpico (AL) es una prueba para detectar una familia heterogénea de anticuerpos dirigidos contra fosfolípidos aniónicos, esto depende de la presencia de proteínas plasmáticas unidas a los fosfolípidos, las que están más asociadas son la  $\beta$ -2GPI y protrombina, en menor frecuencia proteína S y anexina V. En esta prueba ocurre un fenómeno paradójico en el que en una o más pruebas de coagulación dependientes de fosfolípidos los tiempos de coagulación se prolongan *in vitro*, debido a la presencia de un inhibidor del proceso o un anticoagulante; sin embargo clínicamente, el AL provoca *in vivo* un estado de hipercoagulabilidad y riesgo de trombosis. El fenómeno se describió en los años 50, pero el término se acuñó en 1972 cuando se realizaron más estudios en pacientes con LES y en la prolongación del tiempo parcial de tromboplastina (TTPa). El término se considera confuso por dos razones, primera porque estos anticuerpos pueden encontrarse en pacientes sin LES y segunda porque la presencia del AL causa riesgo de trombosis. La prueba del AL debe realizarse de acuerdo con la Guía de la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia (ISTH); cuatro condiciones deben cumplirse para este diagnóstico de laboratorio, los primeros dos pasos son para demostrar que existe un inhibidor y los últimos dos para diferenciar el anticoagulante lúpico de un inhibidor de coagulación específico. Los cuatro pasos son:

- 1) La prolongación de los tiempos de coagulación de pruebas basados en fosfolípidos. Este paso se considera como de escrutinio. Para considerar positivo este paso se requieren dos pruebas de coagulación, valorando la vía extrínseca (factor tisular) o intrínseca (contacto). Las dos pruebas más utilizadas son la del tiempo de veneno de víbora de Russell diluido (TVVRd, vía extrínseca) y el tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPa, vía intrínseca).
- 2) La confirmación de un inhibidor. Situación que se demuestra mediante la mezcla de plasma del paciente con plasma normal, si el AL está presente, los tiempos de coagulación no se corrigen debido a que los anticuerpos se unen a los fosfolípidos utilizados para activar la coagulación; lo anterior descarta la deficiencia cuantitativa de algún factor de coagulación, la cual se corrige al añadir el plasma normal.
- 3) La confirmación de la dependencia de fosfolípidos en las pruebas de coagulación. Se realiza agregando un exceso de fosfolípidos a la prueba, ocasionando que la alta concentración de fosfolípidos exceda el número de anticuerpos, por lo que se corrige parcialmente el tiempo de coagulación.
- 4) La exclusión de un inhibidor específico de algún factor. Los falsos positivos pueden observarse en pacientes con alta concentración de inhibidor de factor VIII (autoanticuerpo que interfiere en la función del factor), para demostrar su ausencia se realizan ensayos de coagulación específicos para factores específicos (VIII, IX, XI), no obstante si la clínica del paciente no sugiere un inhibidor, no es necesario realizar las pruebas.<sup>19,24</sup>

## OTROS ANTICUERPOS

La protrombina (factor II) es una glucoproteína del plasma que es convertida a trombina por la presencia de tromboplastina y de iones calcio durante la coagulación. Existen dos métodos para identificar anticuerpos dirigidos a la protrombina, pueden detectarse directamen-

te mediante ELISA con placas recubiertas de protrombina (aPT) o utilizando como antígeno el complejo fosfatidilserina/protrombina (aPS/PT). La prevalencia de aPT varía ampliamente en pacientes con SAF dependiendo de la prueba utilizada. A pesar de la asociación que se ha visto de aPT y APS/PT en el SAF, parece que cada uno de éstos pertenece a un grupo diferente de anticuerpos. Se han realizado múltiples estudios desde 1988 sobre estos anticuerpos y la presencia de éstos predispone al desarrollo de trombosis. En los últimos estudios se reporta que la presencia de aPT no representa un mayor riesgo de trombosis; no obstante, recientemente se observó una asociación positiva de los aPS/PT al desarrollo de un estado procoagulante, pues han demostrado tener mayor sensibilidad y especificidad que la aCL convencional con correlación significativa con el AL, por lo que podrían considerarse un potencial candidato como herramienta de laboratorio para el diagnóstico de SAF.<sup>21,22,25</sup>

Las anexinas son una familia de proteínas de unión a fosfolípidos dependientes del calcio. La anexina A5 es una proteína anticoagulante potente con alta afinidad a fosfolípidos aniónicos (fosfatidilserina), se expresa en múltiples células, principalmente en el trofoblasto y endotelio. Su función fisiológica depende de su capacidad de unión a los fosfolípidos, por lo que la interrupción de esta unión impide su función anticoagulante, predisponiendo a trombosis; la  $\beta$ -2GPI dependiente de aFL es la principal molécula que puede interferir en la unión de la anexina A5. Recientemente se desarrolló una nueva prueba de coagulación que determina la resistencia de la función de la anexina A5. Los anticuerpos contra anexina 5 (aAnxA5) se han descrito en SAF y se asocian a trombosis placentaria y pérdida del producto en estudios con ratones; sin embargo, en humanos los resultados aún son controversiales, por lo que la medición de la resistencia de la función de aAnxA5 aún no se le considera útil para el diagnóstico. La anexina A2 es un cofactor para la generación de plasmina, también es un importante sitio de unión para la  $\beta$ -2GPI en las membranas celulares.

res del endotelio, monocitos y sincitiotrofoblastos. Los anticuerpos contra anexina 2 también se han encontrado en pacientes con SAF y se presume que intervienen en su patogenia activando células que secretan citocinas proinflamatorias.<sup>21,22</sup>

La vimentina es una proteína que forma los filamentos intermedios del citoesqueleto, se ha demostrado la expresión de formas de vimentina en la superficie de membrana de múltiples células, incluyendo neutrófilos, linfocitos T apoptóticos, macrófagos activados, plaquetas y células endoteliales; aún se desconoce el mecanismo por el cual la vimentina alcanza la superficie celular. Los anticuerpos contra vimentina fueron descritos primero en pacientes con LES, los cuales mostraron correlación con la presencia de aCL. Posteriormente se encontró que la vimentina interactúa con la cardiolipina en la superficie de células apoptóticas formando un complejo inmunogénico. Los anticuerpos contra este complejo activan plaquetas y leucocitos aumentando su expresión de factor tisular, P-selectina, fibrinógeno, etcétera. En los estudios se ha asociado la presencia de anti-vimentina/aCL en personas con SAF; sin embargo, su mayor utilidad se ha observado en la detección de anticuerpos contra este complejo en pacientes con SAF seronegativo a los anticuerpos comunes.<sup>21,22</sup>

Las proteínas C y S pertenecen al grupo conocido como anticoagulantes naturales, numerosos estudios han demostrado la presencia de anticuerpos anti-proteína S y/o anti-proteína C en pacientes con SAF; sin embargo, aún no se ha dilucidado su importancia clínica. Se considera que la presencia de estos anticuerpos confiere un mayor riesgo de presentar eventos trombóticos graves.<sup>22</sup>

### NUEVOS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO PARA DETECCIÓN DE ANTICUERPO AFL

En los últimos años se han desarrollado nuevos enfoques técnicos que utilizan diferentes metodologías para la detección de anticuerpos antifosfolípidos. El inmunoensayo automatiza-

do de quimioluminiscencia (CLIA) es útil como una alternativa de ELISA, la ventaja del CLIA es que es de menor complejidad y requiere menor tiempo para realizarlo en comparación con ELISA; los principales anticuerpos que detecta son los anti-CL/ $\beta$ 2-GPI y anti $\beta$ 2-GPI. Los ensayos multilíneales punteados (MLDA) se utilizan para tamizaje en pacientes con sospecha clínica de SAF debido a que pueden medir múltiples aFL simultáneamente. La cromatografía en capa fina (inmunotinción TLC) es una técnica no cuantitativa y sirve para la detección de diferentes antígenos que no pueden ser detectados por ELISA. Estos métodos aún no se utilizan normalmente en la práctica clínica, aunque estudios recientes han demostrado su capacidad para detectar aFL.<sup>22</sup>

### SÍNDROME ANTIFOSFOLÍPIDO SERONEGATIVO

Como previamente se ha comentado, para realizar el diagnóstico de SAF se requiere de al menos un criterio clínico y un criterio de laboratorio; no obstante, en la práctica clínica diaria es posible encontrar pacientes con manifestaciones clínicas sugestivas de SAF que persisten negativas a las pruebas de rutina (aCL, LA, anti $\beta$ 2-GPI) para esta enfermedad, para estas personas se ha propuesto el término de «SAF seronegativo (SAF-SN)». Se han sugerido diferentes explicaciones para estos casos como diagnóstico erróneo, pruebas previamente positivas que se vuelven negativas o bien, que las pruebas de rutina utilizadas actualmente son inadecuadas para detectar la existencia de anticuerpos dirigidos a «nuevos» antígenos. La trombosis venosa profunda, infarto al miocardio, evento vascular cerebral y la morbilidad obstétrica son complicaciones frecuentes en estos pacientes, por lo que es de gran importancia identificarlos para ofrecerles un adecuado tratamiento trombotrófico.

Recientemente se ha identificado el complejo vimentina/cardiolipina como el «nuevo» antígeno diana del SAF-SN. La presencia en suero de IgG anti-vimentina/cardiolipina detectado por

ELISA se encontró en aproximadamente 55% de los pacientes con SAF-SN. Se ha propuesto la inmunotinción TLC para detectar diferentes fosfolípidos antigénicos (CL, ácido lisobifosfatídico, fosfatidilientolamina) que no se detectan normalmente mediante ELISA.<sup>22</sup> En un estudio de 36 pacientes con clínica sugestiva de SAF y seronegativos a las pruebas se les realizó la prueba de inmunotinción TLC; la presencia de aFL mediante este método se detectó en 60% de SAF-SN.<sup>26</sup> En otro estudio de 24 pacientes con SAF-SN se utilizó la inmunotinción TLC y ELISA para anti-vimentina/CL, anti-annA5 y anti-protrombina; la inmunotinción TLC detectó aCL en 54.2% pacientes, por método de ELISA se encontró 45.8% de anticuerpos anti-vimentina/CL, 12.5% contra protrombina, 4.3% contra annA5; en total con estos métodos se reveló 79.2% de los anticuerpos, estos estudios resultan prometedores, pero se continúa investigando nuevos antígenos en estos pacientes.<sup>27</sup>

## PATOGENIA

El síndrome antifosfolípido, como ya se ha mencionado, es una enfermedad mediada por autoanticuerpos; no obstante, el mecanismo fisiopatológico del desarrollo de trombosis aún no se conoce por completo, pese a ello se han propuesto algunos mecanismos. El primero, los aFL provocan una alteración funcional de los factores procoagulantes y anticoagulantes en las membranas celulares, en el segundo por estimulación y activación de células ocasionando la sobreexpresión y secreción de moléculas procoagulantes, proinflamatorias y de adhesión. Entre los mecanismos de inhibición de anticoagulantes se encuentra la inhibición de la activación de la proteína C, de la actividad de la antitrombina, de la anexina A5 y disminución de la fibrinólisis; la disfunción de la proteína C es principalmente mediada por anti-β2GPI, la activación del complemento está elevada. Las células que se activan al ser estimuladas por los

aFL son: las células endoteliales aumentan su actividad procoagulante mediante expresión en la superficie de moléculas de adhesión (E-selectina) y factor tisular, producen menor cantidad de prostaciclina y predomina la de tromboxano A<sub>2</sub>, secretan citocinas proinflamatorias (TNF-alfa). Los monocitos sobreexpresan el factor tisular, las plaquetas se activan y aumentan su agregación, las células dendríticas expresan más receptores tipo toll 7 y 8; todos estos mecanismos producen un estado procoagulante.<sup>15</sup>

En años recientes se ha descrito que además de la trombosis característica de la enfermedad, es común encontrar lesiones vasculares, esto sucede específicamente en los pacientes que presentan complicaciones graves como nefropatía, infarto al miocardio, enfermedad vascular cerebral, isquemia mesentérica; el mecanismo por el cual ocurre se debe a la activación de la enzima mTORC (*mammalian target of rapamycin complex*), la cual estimula la hiperplasia y fibrosis de la capa íntima de la pared vascular mediado a través de la vía de fosfatidilinositol 3-cinasa-AKT que es activada por los anticuerpos aCL y anti β-2GPI.<sup>28</sup>

En cuanto a la morbilidad obstétrica, los mecanismos patogénicos que ocasionan la pérdida fetal, los abortos recurrentes, la preeclampsia severa y la insuficiencia placentaria son secundarios principalmente a trombosis de los vasos de la decidua, daño del tejido placentario, reducción de la actividad de la anexina A5 e inflamación aguda con activación del complemento, lo cual provoca secundariamente la inhibición de la diferenciación del sincitiotrofoblasto y apoptosis embrioplacentaria. Entre los aFL, el LA es el principal predictor de riesgo de pérdida fetal; no obstante, también los aCL y antiβ2-GPI se han visto asociados a resultados adversos. Otros factores externos que contribuyen a aumentar el riesgo de trombosis durante el embarazo son el tabaquismo, cirugía reciente, infecciones de cualquier tipo, traumas y antecedente de trombosis.<sup>29,30</sup>

## BIBLIOGRAFÍA

1. Furie B, Furie BC. Mechanisms of Thrombus Formation. *N Engl J Med*. 2008; 359(9): 938-949.
2. Troy GC. An overview of hemostasis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 1988;18(1): 5-20.
3. Goldenberg NA. Thrombophilia states and markers of coagulation activation in the prediction of pediatric venous thromboembolic outcomes: a comparative analysis with respect to adult evidence. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2008; 236-244.
4. Thomas RH. Hypercoagulability syndromes. *Arch Intern Med*. 2001; 161(20): 2433-2439.
5. Heit JA. Thrombophilia: common questions on laboratory assessment and management. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2007; 127-135.
6. Lipets EN, Ataullakhanov FI. Global assays of hemostasis in the diagnostics of hypercoagulation and evaluation of thrombosis risk. *Thromb J*. 2015; 13(1): 4.
7. Rubio JB, Salazar PM, Medrano MF, González OA, Nava A. Trombofilia, autoinmunidad y tromboprofilaxis perioperatoria. *Cir Cir*. 2007; 75: 313-321.
8. Schwartz RS, Borisssoff JI, Spronk HMH, ten Cate H. The hemostatic system as a modulator of atherosclerosis. *N Engl J Med*. 2011; 364(18): 1746-1760.
9. Dahlbäck B. Blood coagulation and its regulation by anticoagulant pathways: genetic pathogenesis of bleeding and thrombotic diseases. *J Intern Med*. 2005; 257(3): 209-223.
10. Carrillo ER, Salmerón NP, Carvajal RR, Contreras DV, Hernández AC. Rompiendo un paradigma: del modelo humoral al modelo celular de la coagulación. Su aplicación clínica en el enfermo grave. *Med Crítica Ter Intensiva*. 2004; XVIII(1): 17-23.
11. Romney G, Glick M. An updated concept of coagulation with clinical implications. *J Am Dent Assoc*. 2009; 140(5): 567-574.
12. Fernández JAP, Panizo E, Pegenaute C, Villamediana RL. Coagulación 2009: una visión moderna de la hemostasia. *Rev Med*. 2009; 53(1): 19-23.
13. Biggioggero M, Meroni PL. The geoeidemiology of the antiphospholipid antibody syndrome. *Autoimmun Rev*. 2010; 9(5): A299-304.
14. Domenico SG, Minisola G, Galeazzi M. HLA class II alleles and genetic predisposition to the antiphospholipid syndrome. *Autoimmun Rev*. 2003; 2(6): 387-394.
15. Gómez-Puerta JA, Cervera R. Diagnosis and classification of the antiphospholipid syndrome. *J Autoimmun*. 2014; 48-49: 20-25.
16. Cervera R, Boffa MC, Khamashta MA, Hughes GRV. The Euro-Phospholipid project: epidemiology of the antiphospholipid syndrome in Europe. *Lupus*. 2009; 18(10): 889-893.
17. 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 JTH*. 2006; 4(2): 295-306.
18. Favaloro EJ. Variability and diagnostic utility of antiphospholipid antibodies including lupus anticoagulants. *Int J Lab Hematol*. 2013; 35(3): 269-274.
19. Pericleous C, Ripoll VM, Giles I, Ioannou Y. Laboratory tests for the antiphospholipid syndrome. In: Eggleton P, Ward FJ, editors. *Systemic Lupus Erythematosus* [Internet]. New York, NY: Springer New York; 2014 [cited 2015 May 27]. p. 221-35. Available from: [http://link.springer.com/10.1007/978-1-4939-0326-9\\_17](http://link.springer.com/10.1007/978-1-4939-0326-9_17)
20. Suurmond J, Diamond B. Autoantibodies in systemic autoimmune diseases: specificity and pathogenicity. *J Clin Invest* [Internet]. 2015 May 4 [cited 2015 May 24]; Available from: <http://www.jci.org/articles/view/78084>
21. Alessandri C, Conti F, Pendolino M, Mancini R, Valesini G. New autoantigens in the antiphospholipid syndrome. *Autoimmun Rev*. 2011; 10(10): 609-616.
22. Misasi R, Capozzi A, Longo A, Recalchi S, Lococo E, Alessandri C et al. "New" antigenic targets and methodological approaches for refining laboratory diagnosis of antiphospholipid syndrome. *J Immunol Res*. 2015; 2015: 1-13.
23. Giannakopoulos B, Krilis SA. The pathogenesis of the antiphospholipid syndrome. *N Engl J Med*. 2013; 368(11): 1033-1044.
24. Marlar RA, Husain S. The enigmas of the lupus anticoagulant: mechanisms, diagnosis, and management. *Curr Rheumatol Rep*. 2008; 10(1): 74-80.
25. Sciascia S, Sanna G, Murru V, Roccatello D, Khamashta MA, Bertolaccini ML. Anti-prothrombin (aPT) and antiphosphatidylserine/prothrombin (aPS/PT) antibodies and the risk of thrombosis in the antiphospholipid syndrome. A systematic review. *Thromb Haemost*. 2014; 111(2): 354-364.
26. Conti F, Alessandri C, Sorice M, Capozzi A, Longo A, Garofalo T et al. Thin-layer chromatography immunostaining in detecting anti-phospholipid antibodies in seronegative anti-phospholipid syndrome: TLC immunostaining in SN-APS. *Clin Exp Immunol*. 2012; 167(3): 429-437.
27. Conti F, Capozzi A, Truglia S, Lococo E, Longo A, Misasi R et al. The Mosaic of "Seronegative" Antiphospholipid Syndrome. *J Immunol Res* [Internet]. 2014 [cited 2015 Jun 9];2014. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3987929/>
28. Hidalgo LG. Inhibition of the mTORC pathway in the antiphospholipid syndrome. *N Engl J Med*. 2014; 371(16): 1554.
29. Levy RA, dos Santos FC, de Jesús GR, de Jesús NR. Antiphospholipid Antibodies and Antiphospholipid Syndrome during Pregnancy: Diagnostic Concepts. *Front Immunol* [Internet]. 2015 May 7 [cited 2015 Jun 9];6. Available from: <http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fimmu.2015.00205/abstract>
30. Meroni PL, Borghi MO, Raschi E, Tedesco F. Pathogenesis of antiphospholipid syndrome: understanding the antibodies. *Nat Rev Rheumatol*. 2011; 7(6): 330-339.