

ORIGINALES

Monitorización inmunológica en mujeres con aborto recurrente

J. Carbone^a, E. Sarmiento^a, D. Micheloud^a, M. Orera^b y E. Fernández-Cruz^a

^aServicio de Inmunología. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. España.

^bUnidad de Genética. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. España.

ABSTRACT

We performed a retrospective cross-sectional study to ascertain the prevalence of immunological abnormalities in women with recurrent spontaneous abortions (RSA). The women had previously undergone karyotyping of the couple and ultrasonography to investigate anatomic uterine anomalies before immunological study. Routine immunologic monitoring for circulating antiphospholipid antibodies (aPL, n=333) [anticardiolipin antibodies (aCL), lupus anticoagulant (LA)], anti-beta-2 glycoprotein-I antibodies (n=139), antinuclear antibodies (n=333), antithyroid antibodies (n=180) and percentages of natural killer (NK) cells in peripheral blood (n=189) was carried out in 333 consecutive patients with two or more (range 2-12) RSA. aPL positivity (mean-high value aCL or LA) was 15.9%. The frequency of positive antinuclear antibody tests at a titer of 1:160 or higher was 6%. Elevated levels of CD56+/CD16+CD3⁺ lymphocytes (>18%) were observed in 11.1% of the patients studied. Anti-thyroid antibody positivity was found in 4% of women. Overall, 28.5% of women had at least one immunological abnormality. Women with RSA had significant autoimmune and alloimmune alterations involving functionally distinct autoantibodies and peripheral blood NK cells.

INTRODUCCIÓN

Para el estudio de mujeres con aborto espontáneo recurrente se recomienda la realización de estudios anatómicos, genéticos, de trombofilia e inmunológicos¹⁻². En el ámbito nacional, muy pocos estudios han establecido la prevalencia de alteraciones inmunológicas potencialmente asociadas a este problema. Fun-

damentalmente se ha descrito la prevalencia de anticuerpos antifosfolípidos, la más aceptada alteración inmunológica asociada al aborto recurrente³⁻⁴.

Otros tipos de alteraciones inmunológicas tienen menor evidencia de asociación con aborto recurrente y siguen planteando dudas sobre su utilidad para el estudio de las pacientes⁵⁻⁶.

El objetivo del presente trabajo es estudiar la prevalencia de alteraciones inmunológicas en un grupo seleccionado de mujeres con aborto recurrente. A diferencia de otros estudios, se analiza conjuntamente la prevalencia de las distintas alteraciones inmunológicas que han mostrado algún grado de evidencia de asociación con aborto recurrente.

MATERIAL Y MÉTODO

Pacientes

Se realizó un estudio retrospectivo, transversal, de prevalencia de alteraciones inmunológicas en mujeres con aborto recurrente. Se revisaron las historias clínicas de 333 mujeres con aborto recurrente atendidas consecutivamente en la unidad de inmunología clínica de nuestro hospital entre 1997 y 2006. En este trabajo se ha definido aborto recurrente como la presencia de 2 o más abortos consecutivos. Se incluyó a las pacientes que previamente a la realización del estudio inmunológico tenían hecho un estudio genético (cariotipo de la pareja) con resultado normal y en quienes no se habían detectado alteraciones anatómicas por ecografía. Las pacientes procedían de distintas consultas del hospital, como genética, obstetricia o infertilidad; el motivo de consulta fue la realización de un estudio inmunológico.

Estudio inmunológico

El protocolo del estudio inmunológico del aborto recurrente ha variado a lo largo de los años y se han incorporado secuencialmente nuevas determinaciones. A todas las pacientes se les hizo pruebas de anticuerpos anticardiolipina (ACA) de isotipos IgG e IgM, anticoa-

Javier Carbone ha tenido subvención económica de la Fundación Salud 2000, Ayuda Sero de Investigación 2005: Área de Infertilidad.

Acceptado para su publicación el 14 de mayo de 2007.

gulante lúpico y anticuerpos antinucleares. En 189 pacientes se investigó el porcentaje de células *natural killer* (NK) en sangre periférica. En 180 mujeres se estudió la presencia de anticuerpos antitiroideos (antitiroglobulina y antiperoxidasa tiroidea). En 139 mujeres se investigó la positividad de anticuerpos anti-beta-2-glucoproteína-I (anti- β -2-GP-I) de isotipos IgG e IgM. Otros parámetros del estudio inmunológico, como valores de inmunoglobulinas, factores del complemento o antígenos HLA de la pareja no se han analizado en este trabajo. Las características demográficas y clínicas de las pacientes en los distintos grupos según el estudio realizado fueron similares (datos no mostrados). Se describe la prevalencia de alteración inmunológica detectada en el primer estudio realizado a la paciente. En el momento del estudio inmunológico habían pasado al menos 3 meses desde el último aborto.

Los ACA se determinaron mediante técnica de enzimoimmunoanálisis (ELISA) dependiente de la proteína cofactor β -2-GP-I. En este trabajo se consideró valor moderado cualquier valor por encima del valor de la media + 3 desviaciones estándar (DE) obtenido en un grupo de 30 mujeres sanas (ACA IgG: > 20 unidades; ACA IgM: > 40 unidades). Los anticuerpos antinucleares se estudiaron mediante técnica de inmunofluorescencia indirecta. En este trabajo se considera significativa la positividad mayor o igual a una dilución (titulación) de 1:160. Los anticuerpos antitiroideos se estudiaron mediante la técnica de ELISA y se consideró valor positivo según el punto de corte establecido en el laboratorio. El porcentaje de células NK se estudió mediante técnica de citometría de flujo, utilizando los anticuerpos monoclonales anti-CD3, anti-CD16 y anti-CD56. En este trabajo se consideró un valor aumentado de células NK en sangre periférica a cualquier valor superior al 18% (punto de corte propuesto por Beer et al⁷). Los anticuerpos anti-beta-2-GP-I se estudiaron mediante técnica de ELISA y se consideró valor moderado cualquier valor por encima de la media + 3 DE obtenido en las pacientes con anticuerpos anticardiolipina negativos (anti-beta-2-GP-I IgG >10, anti-beta-2-GP-I IgM >15 unidades).

RESULTADOS

Las características demográficas y clínicas de las pacientes se presentan en la tabla I. La mayoría de las pacientes no tenía síntomas indicativos de enfermedad inmunológica en el momento del estudio.

Se detectó anticuerpos antifosfolípidos positivos en el 15,9% de las mujeres estudiadas. La distribución de los distintos anticuerpos antifosfolípidos testados se

TABLA I. Características demográficas y antecedentes clínicos de 333 mujeres con aborto recurrente

PARÁMETROS	FRECUENCIA
Edad media, años (intervalo)	34 (21-48)
Media de abortos, número (intervalo)	2,8 (2-12)
Mujeres con abortos < 10 semanas (%)	55,6
Mujeres con abortos > 10 semanas (%)	17,7
Mujeres con abortos < o > 10 semanas (%)	26,7
Clínica asociada (%)*	17

*Anemia, leucopenia, linfopenia, *rash* cutáneo, úlceras orales, artralgias, fotosensibilidad.

TABLA II. Distribución de anticuerpos antifosfolípidos (ACA, AL) en 333 mujeres con aborto recurrente

TIPOS DE AAF	PREVALENCIA, N (%)
ACA IgG	30 (9)
ACA IgM	5 (1,5)
AL	11 (3,3)
ACA IgG + AL	4 (1,2)
ACA IgG + ACA IgM	2 (0,6)
ACA IgG + ACA IgM + AL	1 (0,3)
Total	53 (15,9)

AAF = anticuerpos antifosfolípidos; AL: anticoagulante lúpico.

muestra en la tabla II. Seis (4,3%) de 139 pacientes tuvieron anticuerpos anti-beta-2-GP-I, 4 (2,9%) de las cuales no tenían ACA ni anticoagulante lúpico.

Veinte (6%) mujeres tuvieron anticuerpos antinucleares a título alto ($\geq 1/160$). Catorce de estas pacientes tenían anticuerpos antinucleares como única alteración inmunológica. Una prevalencia progresivamente mayor de anticuerpos antinucleares positivos se observó cuando se consideraron títulos bajos de estos autoanticuerpos (1/80 = 10%, 1/40 = 21%). Ocho (4%) pacientes tuvieron anticuerpos antitiroideos positivos, 4 aisladamente, 3 en asociación con anticuerpos antinucleares positivos. En 21 (11,1%) pacientes se detectaron porcentajes elevados de células NK en sangre periférica. Quince pacientes tenían elevación de células NK como única alteración.

En total, 95 (28,5%) pacientes mostraron al menos alguna alteración inmunológica de las estudiadas. De estas pacientes, 8 (8%) tenían más de un tipo distinto de alteración inmunológica. La prevalencia global de presencia de alguna alteración inmunológica fue similar cuando se estratificaron las pacientes según el antecedente de edad gestacional de los abortos (mujeres con abortos de menos o más de 10 semanas de gestación, prueba de la χ^2 de dos colas; $p = 0,34$), o según el número de abortos (mujeres con 2 frente a 3 o más abortos; $p = 1,00$). La prevalencia de alteración inmu-

nológica fue independiente de la presencia de sintomatología asociada (anemia, leucopenia, linfopenia, *rash* cutáneo, úlceras orales, artralgias, fotosensibilidad; $p = 0,22$).

DISCUSIÓN

En más de la cuarta parte de las pacientes estudiadas se detectaron alteraciones inmunológicas posiblemente asociadas con abortos. Como las pacientes se fueron incorporando a lo largo de un período largo no todas tuvieron el estudio inmunológico completo, por lo que se puede especular que el porcentaje de pacientes con alguna alteración inmunológica podría ser mayor. El estudio se hizo sobre la base de selección de pacientes con estudio de cariotipo de pareja y ecografía previo. Una prevalencia más real de alteración inmunológica debería establecerse en pacientes con un protocolo completo de estudio de aborto recurrente.

Este estudio ha permitido observar que, en la mayoría de los casos con alteración inmunológica, se detecta un solo tipo de anormalidad, lo que facilita la orientación terapéutica de los casos en que hay evidencia para ello.

La alteración inmunológica más frecuentemente observada fue la positividad de anticuerpos antifosfolípidos. Documentos de consenso asignan al estudio de estos anticuerpos un nivel A de recomendación basándose en la evidencia científica disponible por lo que se aceptan como pruebas que deben hacerse para el estudio de pacientes con aborto recurrente¹. En este trabajo se describe la prevalencia de ACA a títulos moderados-altos, que fue equivalente a la descrita en otras series⁵. La distribución de anticuerpos antifosfolípidos observada indica que es necesario estudiar los 2 isotipos de ACA, IgG e IgM, y el anticoagulante lúpico, ya que se pueden presentar independientemente unos de otros. También se confirma que un pequeño porcentaje de pacientes puede tener anticuerpos anti-beta-2-GP-I sin ACA ni anticoagulante lúpico, lo cual es de interés de cara al manejo de estas pacientes (recientemente se han incorporado estos anticuerpos como criterio de clasificación del síndrome antifosfolípido)¹⁴.

Las otras alteraciones inmunológicas estudiadas no están recogidas como evaluaciones necesarias en documentos de consenso (grado de recomendación C)¹⁻². Sin embargo, existen distintos grados de evidencia de asociación con aborto recurrente para cada una de estas alteraciones inmunológicas⁷⁻¹¹.

Algunos autores recomiendan la investigación de anticuerpos antinucleares mientras otros no^{5,8}. Una crítica que puede hacerse a los estudios previos de asociación de estos anticuerpos con aborto recurrente

es que se suele incluir títulos bajos o están realizados en series generalmente pequeñas⁹. Son necesarios estudios de casos y controles con un mayor número de pacientes en los que se investigue la asociación entre el título alto de anticuerpos antinucleares y la presencia de abortos.

Existe un metaanálisis que incluye series grandes de pacientes, en el que se asocia la positividad de anticuerpos antitiroideos con el riesgo de desarrollo de aborto recurrente¹⁰. En las pacientes de nuestro trabajo se observó una frecuencia más baja de estos anticuerpos que la observada en la literatura médica.

En relación con la investigación del porcentaje de células NK en sangre periférica, hay estudios que establecen asociación entre los valores elevados de estas células y el aborto recurrente⁷. Hay evidencia reciente sobre la eficacia terapéutica del uso de gammaglobulina por vía intravenosa para el tratamiento de mujeres con aborto recurrente con valores elevados de estas células¹¹.

El aborto recurrente es una afección frustrante, tanto para las mujeres que lo presentan como para el personal sanitario que las atiende. Existe evidencia de la eficacia de algunas intervenciones terapéuticas como el uso de ácido acetilsalicílico a dosis bajas y heparina en mujeres con aborto recurrente y anticuerpos antifosfolípidos positivos¹², o el posible beneficio mencionado de la gammaglobulina por vía intravenosa en mujeres con aborto recurrente asociado a valores altos de células NK¹³.

La prevalencia de alteración inmunológica observada en este trabajo debiera reforzar el interés por el desarrollo de investigación clínica en este campo, ya que aún son necesarios estudios prospectivos que demuestren la utilidad de la investigación de estos parámetros en las pacientes.

El estudio y la detección de alteraciones inmunológicas en pacientes con aborto recurrente tienen interés desde 2 perspectivas. Por un lado, la detección de posibles causas de aborto eventualmente tratables en una afección obstétrica que, por otro lado, tiene relativamente pocas causas tratables. Por otro lado, la identificación de un porcentaje de pacientes con aborto recurrente y alteración inmunológica que puede desarrollar, tiempo después, otro tipo de complicaciones no obstétricas. Ejemplos de esta posible evolución son el desarrollo de episodios trombóticos en mujeres con aborto recurrente con anticuerpos antifosfolípidos positivos (razón por la que se suele indicar profilaxis primaria prolongada antitrombótica después del parto en estas pacientes)¹⁴, el desarrollo de conectivopatía sistémica en mujeres con abortos y anticuerpos antinucleares positivos (un pequeño porcentaje de pacien-

tes desarrolla lupus eritematoso sistémico años después)¹⁵ o la posible asociación con síndromes poliglandulares autoinmunitarios en pacientes que tengan anticuerpos antitiroideos positivos.

El campo de investigación está abierto también para ampliar la frontera de las alteraciones inmunológicas que puedan existir en las pacientes en las que el estudio inmunológico convencional es negativo. Alteraciones de la inmunidad innata (sistema del complemento, receptores tipo *toll*), activación linfocitaria, células reguladoras, células dendríticas, nuevos autoanticuerpos o polimorfismos de distintos genes implicados en la respuesta inmunitaria esperan su validación en este campo.

AGRADECIMIENTOS

Los estudios de autoanticuerpos se realizaron en el laboratorio de autoinmunidad (Dra. Margarita Rodríguez-Mahou); el estudio de anticoagulante lúpico se realizó en el laboratorio de hemostasia (Dra. Ana Rodríguez-Huertas y Dra. Cristina Pascual); el estudio de subpoblaciones linfocitarias se realizó en el laboratorio de inmunidad celular (Dra. Juana Gil). Han atendido a pacientes en la Unidad de Inmunología Clínica distintos titulados superiores (Dr. José María Zabay, Dr. Javier Carbone, Dra. Silvia Sánchez-Ramón, Dr. Eduardo Fernández-Cruz), contratados post-MIR del Fondo de Investigación Sanitaria (Elizabeth Sarmiento y Desamparados Oliver) y residentes.

RESUMEN

Para evaluar la prevalencia de alteraciones inmunológicas en pacientes con aborto espontáneo recurrente realizamos un estudio retrospectivo transversal. Las mujeres estudiadas habían sido evaluadas previamente mediante cariotipo de pareja y ecografía para investigar alteración anatómica. La monitorización inmunológica de rutina incluyó anticuerpos antifosfolípidos (in = 333), anticuerpos anticardiolipina (ACA), anticoagulante lúpico], anticuerpos anti-beta-2 glucoproteína-I (n = 139) [anticuerpos antinucleares (n = 333), anticuerpos antitiroideos (n = 180) y evaluación del porcentaje de células *natural killer* (NK) en sangre periférica (n = 189) en 333 pacientes consecutivas con 2 o más (intervalo 2-12) abortos espontáneos recurrentes. Se detectaron anticuerpos antifosfolípidos (ACA a valor moderado-alto o anticoagulante lúpico) en un 15,9% de pacientes. Un 6% de las pacientes tuvo anticuerpos antinucleares a título 1:160 o mayor. Se observó un porcentaje elevado de linfocitos CD56+/CD16+CD3- (> 18%) en el 11,1% de las pa-

cientes. Se documentó positividad de anticuerpos antitiroideos en el 4% de las mujeres. Globalmente, un 28,5% de las mujeres tuvo al menos una alteración inmunológica de las estudiadas. En un estudio realizado en mujeres con aborto espontáneo recurrente se observaron alteraciones autoinmunitarias y aloinmunitarias que involucran distintos autoanticuerpos y células NK de sangre periférica.

BIBLIOGRAFÍA

1. American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG practice bulletin. Management of recurrent pregnancy loss. Int J Gynaecol Obstet. 2002;78:179-90.
2. Royal College of Obstetricians and Gynecologists. Guideline 17: the management of recurrent miscarriage. London: RCOG Press; 1998.
3. Balasch J, Creus M, Fabregues F, et al. Antiphospholipid antibodies and human reproductive failure. Hum Reprod. 1996;11:2310-5.
4. Carbone J, Orera M, Rodríguez-Mahou M, et al. Immunological abnormalities in primary APS evolving into SLE: 6 years follow-up in women with repeated pregnancy loss. Lupus. 1999;8:274-8.
5. Fausett MB, Branch DW. Autoimmunity and Pregnancy Loss. Semin Reprod Med. 2000;18:379-92.
6. Porter TF, Scott JR. Alloimmune causes of recurrent pregnancy loss. Semin Reprod Med. 2000;18:393-400.
7. Beer AE, Kwak JY, Ruiz JE. Immunophenotypic profiles of peripheral blood lymphocytes in women with recurrent pregnancy losses and in infertile women with multiple failed in vitro fertilization cycles. Am J Reprod Immunol. 1996;35:376-82.
8. Christiansen OB. Evidence-based investigations and treatments of recurrent pregnancy loss. Curr Opin Obstet Gynecol. 2006;18:304-12.
9. Harger JH, Rabin BS, Marchese SG. The prognostic value of antinuclear antibodies in women with recurrent pregnancy losses: a prospective controlled study. Obstet Gynecol. 1989;73:419-24.
10. Prummel MF, Wiersinga WM. Thyroid autoimmunity and miscarriage. Eur J Endocrinol. 2004;150:751-5.
11. Perricone R, Di Muzio G, Perricone C, et al. High Levels of Peripheral Blood NK Cells in Women Suffering from Recurrent Spontaneous Abortion are Reverted from High-Dose Intravenous Immunoglobulin. Am J Reprod Immunol. 2006;55:232-9.
12. Derksen RH, Khamashta MA, Branch DW. Management of the obstetric antiphospholipid syndrome. Arthritis Rheum. 2004;50:1028-39.
13. Clark DA, Coulam CB, Stricker RB. Is intravenous immunoglobulins (IVIG) efficacious in early pregnancy failure? A critical review and meta-analysis for patients who fail in vitro fertilization and embryo transfer (IVF). J Assist Reprod Genet. 2006;23:1-13.
14. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J Thromb Haemost. 2006;4:295-306.
15. Carbone J, Sarmiento E, Segovia P, Rodríguez-Mahou M, Rodríguez-Molina JJ, Fernández-Cruz E. Anticuerpos antifosfolípidos y evolución a conectivopatía: estudio de seguimiento de mujeres con abortos de repetición. Med Clin (Barc). 2002;119:681-5.