

Original

## Síndrome HELLP y factor V de Leiden

Maddalena Bozzo<sup>a</sup>, Giovanni Carpani<sup>b</sup>, Luigi Leo<sup>b</sup>, Simona Marcozzi<sup>a</sup>, Elisabetta Sacchi<sup>c</sup>,  
Gianaleandro Moroni<sup>b</sup>, Giorgio Pardi<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*Departamento de Obstetricia y Ginecología, Instituto de Ciencias Biomédicas San Pablo, Universidad de Milán, Milán, Italia*

<sup>b</sup>*Laboratorio de Hematología S.I.T., Instituto de Ciencias Biomédicas San Pablo, Milán, Italia*

<sup>c</sup>*Centro de Hemofilia y Trombosis Angelo Bianchi Bonomi, Hospital Mayor IRCCS, Universidad de Milán, Milán, Italia*

Aceptado: 21 abril 2000

---

### Resumen

Se ha descrito una asociación entre la trombofilia y las complicaciones obstétricas que concuerda con la hipótesis de que existe una perfusión placentaria insuficiente debido a deposición de fibrina como principal mecanismo patológico. El factor V de Leiden es una de las mutaciones trombofílicas más frecuentes. Recientemente se ha publicado una elevada prevalencia de esta mutación en un grupo de 21 mujeres alemanas con síndrome HELLP: hemólisis, elevación de las enzimas hepáticas, y reducción de las plaquetas. A este respecto, se ha estudiado la prevalencia del factor V de Leiden en 18 mujeres con síndrome HELLP que se investigaron consecutivamente en nuestro Departamento de Obstetricia y Ginecología, entre 1995 y 1999. Las mujeres se investigaron en el momento del diagnóstico o unos meses o años después del parto para determinar los parámetros de coagulación, proteína C (PC), proteína S (PS), antitrombina III, anticoagulante tipo Lupus, anticuerpos anti-cardiolipina (ACA), resistencia a proteína C activada (PCA) y detección de la mutación G1691A (factor V de Leiden). En todas las mujeres, los parámetros estudiados fueron normales. En ninguno de los casos investigados se encontró la mutación G1691A. El síndrome HELLP es una forma grave de preeclampsia, por lo que pensamos que la asociación que se ha encontrado entre el factor V de Leiden y el síndrome HELLP puede reflejar la asociación bien conocida con la preeclampsia. © 2001 Elsevier Science Ireland LTD. Reservados todos los derechos.

*Palabras clave:* Preeclampsia; Síndrome HELLP; Factor V de Leiden

---

### Introducción

El síndrome HELLP: hemólisis, elevación de las enzimas hepáticas y reducción de las plaquetas es una forma atípica y grave de preeclampsia/eclampsia; generalmente, se diagnostica antes del parto debido al comienzo agudo de signos de afectación hematológica y hepática. En un subgrupo particularmente peligroso de pacientes, esta enfermedad se desarrolla sólo durante el puerperio y es necesario el diagnóstico rápido, por lo que el médico debe estar siempre alerta respecto a este síndrome. Puede producir coagulación intravascular diseminada, compensada o descompensada [1], y origina un grado considerable de morta-

lidad materna e infantil. Su patogenia es todavía desconocida.

La preeclampsia es un trastorno sistémico que se caracteriza por hipertensión y proteinuria, en el cual la característica más conocida es la lesión vascular difusa con deposición de fibrina. La activación del sistema de coagulación se ha propuesto como un posible mecanismo de esta enfermedad [2].

La gestación en sí se considera como un estado de hipercoagulación, definiéndose la hipercoagulación como el riesgo de trombosis en circunstancias que no producirían trombosis en sujetos normales.

En 1993, en un estudio se encontró una respuesta anticoagulante escasa a la proteína C activada (PCA) asociada con

una tendencia hereditaria a la trombosis [3]. Esta respuesta defectuosa era muy prevalente en mujeres con antecedentes de complicaciones tromboembólicas durante la gestación [4]. Se demostró que había una mutación del factor de coagulación V, factor V de Leiden, asociada a la resistencia a la PCA [5]. Esta mutación, sin embargo, es responsable de la mayoría, pero de no todos los casos de resistencia a proteína C [6]. El factor V de Leiden se ha asociado con un número elevado de situaciones patológicas obstétricas, como pérdida fetal [7,8], preeclampsia [9] y síndrome HELLP [10].

Recientemente se observó una prevalencia elevada de factor V de Leiden en 21 mujeres alemanas que desarrollaron síndrome HELLP [11] y los autores concluyeron que las mujeres con síndrome HELLP tienen mayor incidencia de factor V de Leiden.

El objetivo de nuestro estudio fue investigar la presencia de PCA y factor V de Leiden en los casos de síndrome HELLP diagnosticados en nuestro Departamento de Obstetricia y Ginecología y comparar los datos sobre el síndrome HELLP con estudios anteriores sobre el factor V de Leiden y preeclampsia.

## Pacientes y métodos

### Pacientes

Veintitrés mujeres gestantes ingresadas en el Departamento de Obstetricia y Ginecología se diagnosticaron de síndrome HELLP entre 1995 y 1999.

En todos los casos, el diagnóstico de preeclampsia fue anterior al comienzo del síndrome HELLP. El diagnóstico de síndrome HELLP se hizo en presencia de los siguientes datos y su gravedad se puntuó de acuerdo con la clasificación de

Martin (12): (1) trombocitopenia < 50.000 por  $\mu$ l (clase 1), entre 50.000 y 100.000 (clase 2), entre 100.000 y 149.000 (clase 3); (2) marcadores bioquímicos de hemólisis: aumento de lactatodeshidrogenasa (LDH) y descenso de hemoglobina; (3) marcadores bioquímicos de la disfunción hepática: aumento de la alanintransferasa (ALT) y las aspartatotransferasa (AST) (Tabla 1).

La edad media de las pacientes fue  $30 \pm 7$  años (intervalo 24-39 años); la edad estacional media en el diagnóstico fue  $34 \pm 3$  semanas (intervalo 24-40 semanas); una mujer murió por hemorragia cerebral.

Estudiamos 18 de 23 casos: 12 de ellas fueron convocadas años a meses después del diagnóstico de síndrome HELLP: de éstas, 11 no eran gestantes y no tomaban anticonceptivos orales y una estaba en la semana 23 de gestación. Seis casos se estudiaron con muestras de sangre tomadas en el momento del diagnóstico.

De estas 18 mujeres, 16 eran italianas, una de Marruecos y una de Sri Lanka. Trece eran nulíparas: tres de ellas tenían una gestación gemelar y en dos pacientes se produjo una muerte fetal uterina; cuatro pacientes eran casos de una gestación anterior: una se sometió a cesárea por preeclampsia grave y tres mujeres tenían antecedentes de abortos en el primer trimestre. Ninguna de estas pacientes tuvo antecedentes de retraso del crecimiento intrauterino anterior (RCIU), feto muerto intraútero ni trombosis.

Dieciséis mujeres con síndrome HELLP parto se sometieron a cesárea; en dos casos se produjo el síndrome HELLP inmediatamente después del parto vaginal.

### Métodos

Se recogió sangre en una proporción de 1:10 con 0,106 mol/l de citrato trisódico; se preparó el plasma por centrifuga-

Tabla 1  
Datos de las pacientes en el momento del diagnóstico del síndrome HELLP

Paciente	Edad	Paridad	Semanas	Plaquetas (valor mínimo)	AST (valor máximo)	ALT (valor máximo)	LDH (valor máximo)	Clase
1	35	G3PO <sup>a</sup>	31,0	84000	490	558	2250	2
2	30	G1PO	37,0	53000	509	497	1426	2
3	27	G2PO (1CS)	35,2	51000	187	118	2090	2
4	27	G1PO	33,3	99000	140	151	1044	2
5	26	G1PO	27,0	30000	332	821	1894	1
6	30	G1PO	34,5	34000	265	264	2486	2
7	36	G1PO	32,2	29000	474	435	2883	1
8	35	G3PO (1CS)	40,1	50000	253	169	2907	1
9	29	G1PO	28,4	46000	510	372	5078	1
10	33	G1PO	24,0	12200	52	74	912	3
11	32	G1PO	39,0	15000	421	294	6370	1
12	28	G1PO	24,4	75000	92	105	976	2
13	32	G1PO	40,0	83000	250	174	2250	2
14	24	G1PO	34,4	45000	208	147	2235	1
15	27	G1PO	24,1	93000	143	167	1360	2
16	24	G1PO	36,1	44000	594	304	4357	1
17	36	G1PO	38,4	20000	784	692	4782	1
18	29	G3PO	38	43000	222	134	2608	1

Tabla 2  
Diagnóstico neonatal de 57 niños infectados. Resultados de las pruebas parasitológicas y serológicas en el parto, en función del momento de la infección materna<sup>a</sup>

	Pacientes con preeclampsia		Este estudio		Krauss	
	Factor V de Leiden +	Factor V de Leiden -	$\chi^2_c$	P	$\chi^2$	P
Todos los estudios	61	435	1,21	>0,25 N.S.	0,33	>0,51 n.s.
Dizon-Towson et al. (1996)	14	144	1,53	>0,1 n.s.	1,14	>0,25 n.s.
Grandone et al. (1997)	10	85	0,78	>0,25 n.s.	0,51	>0,25 n.s.
Ward et al. (1998)	13	111	0,81	>0,25 n.s.	0,57	>0,25 n.s.
Lindoff et al. (1977)	11	39	2,78	>0,05 n.s.	0,35	>0,5 n.s.
Nagy et al. (1998)	13	56	2,25	>0,1 n.s.	0,08	>0,75 n.s.

ción a 2000 x g durante 15 minutos y se almacenó a -70°C; se almacenaron también a -70°C los hematíes y la capa leucocitaria para el análisis genético. Determinamos los siguientes parámetros de la coagulación: tiempo de protrombina INR (TP), fracción de tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa), tiempo de coagulación con caolín (TCK) y fibrinógeno (FG). TP, TTPa y FG se determinaron de acuerdo con los métodos estándar, usando el analizador de coagulación automático 1600 (MLA, Ortho) y el TCK se determinó usando el coágulometro manual KC 10 (Amelung, Alemania). También investigamos los anticuerpos anti-cardiolipina (ACA) con un método inmunoenzimático (FIRST Cardiolipina Eurospital, Italia). La antitrombina III (AT-III) y la proteína C (PC) se determinaron con un método cromogénico (Hemoliance, Ortho, Alemania), la proteína S (PS), con un ensayo de coagulación (Acticlot, American Diagnostica, Estados Unidos) y la resistencia a PCA (RES-PCA), con un método de coagulación (Coatest APC, Chromogenix, Suecia).

Para detectar la mutación del factor V de Leiden usamos la amplificación de RCP (reacción en cadena de la polimerasa) específica de alelos (RCP-EA) y utilizamos los cebadores (primers) descritos previamente (13) con algunas modificaciones. Se llevaron a cabo las reacciones de RCP en 50 ng de ADN genómico, extraído por el método de "salting out" (14), 0,12  $\mu$ M de cada primer salvaje o mutado, 20  $\mu$ M de los cuatro desoxinucleótidos trifosfato, 50  $\mu$ M de tris-MgCl<sub>2</sub> pH 8,8, y 2,1 U Taq polimerasa en un volumen final de 30  $\mu$ l. La amplificación se hizo usando el ciclador térmico GeneAmp PCR System 9700 (Perkin Elmer).

#### Análisis estadísticos

La frecuencia del factor V de Leiden en nuestros casos se comparó con la frecuencia del factor V de Leiden publicada por Krauss en pacientes con síndrome HELLP [11] y en estudios referidos a la asociación de este defecto y la preeclampsia. Hemos revisado todas las publicaciones en lengua inglesa sobre este tema que fueron publicadas entre 1996 y 1998 realizando búsquedas computadorizadas (MEDLINE) y manuales. Se encontraron los siguientes estudios: (a) Dizon-Townson et al., Estados Unidos (1996) [9]; (b) Ward et al., Estados Unidos (1998) [15]; (c) Grandone et al., Italia (1997) [7]; (d) Lindoff et al., Suecia (1997) [16]; (e) Nagy et al., Hungría (1998) [17].

La diferencia entre frecuencias fue investigada por análisis de  $\chi^2$  con la corrección de Yates para la continuidad, considerando como nivel significativo de probabilidad  $p < 0,05$ .

#### Resultados

En las 18 mujeres, los parámetros de coagulación estudiados fueron normales. Sólo una mujer (caso número 3), con una gestación de 23 semanas cuando fue convocada, presentaba un nivel bajo de PS, de acuerdo con su estado; también tuvo una prolongación leve del TCK, corregida después de mezclar con plasma normal. En seis casos, los parámetros de coagulación se investigaron cuando estas pacientes se diagnosticaron de síndrome de HELLP; se encontró un descenso en la actividad de coagulación de PS en una de ellas, mientras que en otra no se determinó.

La RES-PCA, determinada con nuestro método estándar, lo que implica la dilución de muestras con plasma deficiente en factor V o sin diluir la muestra, fue normal en todas las mujeres.

En ninguno de los casos investigados se encontró la mutación G1691A (G1691A/-).

Esta frecuencia (0/18) no es significativamente diferente de la frecuencia publicada por Krauss (4/21):  $p > 0,1$ .

Tampoco se encontró ninguna diferencia entre nuestros datos y la frecuencia publicada en los estudios mencionados antes sobre la asociación entre el factor V de Leiden y la preeclampsia, considerando a ambos como un todo y considerando cada estudio por separado.

También se realizó el mismo análisis estadístico con la frecuencia publicada por Krauss et al. [11]. No se encontró ninguna diferencia significativa (Tabla 2).

#### Discusión

La mutación del factor V de Leiden es muy frecuente en la población normal [18] y exhibe un modelo dominante de herencia; por tanto, este defecto es un aspecto principal a considerar en sujetos y en situaciones caracterizadas por un aumento de la incidencia de episodios trombóticos. A este respecto, las mujeres gestantes con un defecto hereditario como el factor V de Leiden son el paradigma de sujeto con

aumento del riesgo de trombofilia en una situación considerada como estado de hipercoagulación.

Se han publicado varios estudios [4,19] que han demostrado que las mujeres gestantes con episodios trombóticos tienen una mayor frecuencia de efectos genéticos predisponentes a la trombosis.

La preeclampsia es una enfermedad sistémica que puede presentar muchas manifestaciones, entre ellas, el síndrome HELLP. Una vía fisiopatológica importante sugerida para la preeclampsia es una invasión trofoblástica incompleta de los vasos maternos, que origina una perfusión insuficiente de la placenta, con lesión endotelial; estos episodios pueden aumentar el riesgo de trombosis vascular, infartos y abrupción placentaria [20,23]. La circulación placentaria se caracteriza por presentar un flujo sanguíneo lento, que facilita la activación de los factores de coagulación y decelera su eliminación. El endotelio vascular es la zona donde la tromboomodulina, junto con la protrombina, activa a la proteína C que, con su cofactor PS, inactiva a los factores Va y VIIIa. La presencia de un factor V modificado, el factor V de Leiden, le hace menos susceptible a la acción del sistema anticoagulante constituido por tromboomodulina-trombina-PCA-PS. El freno de la ruptura del factor Va es probablemente la causa de una formación más persistente de trombina y deposición de fibrina, que se reconoce como una característica de las lesiones placentarias de la preeclampsia.

Por tanto, la asociación encontrada entre los defectos trombofílicos y las complicaciones obstétricas debidas a una circulación materno-fetal deficiente [21], y en particular, la del factor V de Leiden y preeclampsia [7,9,16,22], está de acuerdo con los mecanismos fisiopatológicos descritos anteriormente.

Aunque el factor V de Leiden se ha estudiado en pocas pacientes con síndrome HELLP (dos casos publicados por Brenner et al. [10], 21 casos publicados por Krauss et al. [11] y 18 en nuestro estudio), los análisis de los datos indican que la asociación descrita entre el factor V de Leiden y el síndrome HELLP pueden reflejar una correlación clara con la preeclampsia.

Debemos destacar que la prevalencia del factor V de Leiden en la preeclampsia varía entre las siguientes series: Dizon-Townson et al. (Estados Unidos), 8,8 [9]; Ward et al. (Estados Unidos), 10,4% (15); Grandone et al. (Italia), 10,5% [7]; Lindoff et al. (Suecia), 22% [16]; Nagy et al. (Hungría), 18,8% (17). Se observa una correlación entre la prevalencia del factor V de Leiden en mujeres preeclámpicas y en la población normal en la misma región geográfica.

Puesto de la prevalencia del factor V de Leiden es más baja en Italia que en Alemania, pensamos que esta distribución diferente puede explicar la aparente discrepancia entre nuestras 16 pacientes y las 21 pacientes estudiadas por Krauss.

Puesto que el síndrome HELLP es un síndrome poco frecuente, creemos que es necesario realizar un estudio multicéntrico para conseguir los datos necesarios para verificar nuestra hipótesis.

## Referencias

- [1] de Boer K, Buller HR, Ten Cate JW, Treffers PE. Coagulation studies in the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes and low platelets. *Br J Obstet Gynaecol* 1991;1998:42-7.
- [2] Davies JA, Prentice CRM. Coagulation changes in pregnancy-induced hypertension and growth retardation. In: Greer IA, Turpie AGG, Forbes CD, editors. *Haemostasis and thrombosis in obstetrics and gynaecology*. London: Chapman & Hall, 1992. p. 143-62.
- [3] Dahlback B, Carlsson M, Svensson PJ. Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterised by poor anticoagulant response to activated protein C: prediction of a cofactor to activated protein C. *Proc Natl Acad Sci* 1993;90:1004-8.
- [4] Hellgren M, Svensson PJ, Dahlback B. Resistance to activated protein C as a basis for venous thromboembolism associated with pregnancy and oral contraceptives. *Am J Obstet Gynecol* 1995;173:210-3.
- [5] Berlina RM, Koeleman BPC, Koster T, Rosenthal FR, Dirven RJ, de Ronde H, van der Velden PA, Reitsma PH. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature* 1994;369:64-7.
- [6] Williamson D, et al. Factor V Cambridge. A new mutation (Arg 306 Thr) associated with resistance to activated protein C. *Blood* 1998;91:1140.
- [7] Grandone E, Margaglione M, Colaizzo D, Cappucci G, Paladini D, Martinelli P, Montanaro S, Pavone G, Di Minno G. Factor V Leiden, C>T MTHFR polymorphism and genetic susceptibility to preeclampsia. *Thromb Haemost* 1997;77:1052-4.
- [8] Rai R, Regan L, Hadley E, Dave M, Cohen H. Second-trimester pregnancy loss is associated with activated protein C resistance. *Br J Haematol* 1996;92:489-90.
- [9] Dizon-Townson DS, Nelson LM, Easton K, Ward K. The factor V Leiden mutation may predispose women to severe pre-eclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175:902-5.
- [10] Brenner B, Lanir N, Thaler I. HELLP syndrome associated with factor V R506Q mutation. *Br J Haematol* 1996;92:999-1001.
- [11] Krauss T, Augustin HG, Osmers R, Meden H, Unterhalt M, Kuhn W. Activated protein C resistance and factor V Leiden in patients with haemolysis, elevated liver enzymes, low platelets syndrome. *Obstet Gynecol* 1998;92:457-60.
- [12] Martin Jr. JN, Files JC, Blake PG, Perry KG, Morrison JS, Norman PH. Post-partum plasma exchange for atypical preeclampsia-eclampsia as HELLP (haemolysis, elevated liver enzymes and low platelets) syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 172:1107-18.
- [13] Blsczyk R, Ritter M, Thiede C, Wehlnig J, Hintz G, Neubauer A, Riess H. Simple and rapid detection of factor V Leiden by allele-specific PCR amplification. *Thromb Haemost* 1996;75:757-9.
- [14] Miller SA, Dykes DD, Polasky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acid Res* 1988;16:1215-8.
- [15] Ward K, Nelson L, Knowlton S, Hastings S, Varner M. Factor V Leiden and the T235 variant of angiotensinogen as risk factors for pre-eclampsia: a prospective study. *J Soc Gynecol Invest* 1998;5(1):40A.
- [16] Lindoff C, Ingemarsson I, Martinsson G, Segelmark M, Thysell H, Astedt B. Pre-eclampsia is associated with a reduced response to activated protein C. *Am J Obstet Gynecol* 1997;176:457-60.
- [17] Nagy B, Toth T, Rigo Jr. J, Karadi I, Romics L, Papp Z. Detection of factor V Leiden mutation in several pre-eclamptic Hungarian women. *Clin Genet* 1998;53:478-81.
- [18] Halbmeyer WM, Haushofer A, Schon R, Fischer M. The prevalence of poor anticoagulant response to activated protein C (APC resistance) among patients suffering from stroke or venous thrombosis and among healthy subjects. *Blood Coagulation and Fibrinolysis* 1994;5:51-7.
- [19] Bokarewa M, Bremme K, Blomback M. Arg 506 Gen mutation in factor V and risk of thrombosis during pregnancy. *Br J Haematol* 1996;92:473-8.
- [20] Khong TY, De Wolf F, Robertson WB, Brosens I. Inadequate mater-

nal vascular response to placentation in pregnancies complicated by preeclampsia and by intrauterine growth restriction. *Br J Obstet Gynaecol* 1986;93:1049-59.

- [21] Kupferminc MJ, Eldor A, Steinman N, Many A, Bar-Am A, Jaffa A, Falt G, Lessing JB. Increased frequency of genetic thrombophilia in women with complications of pregnancy. *N Engl J Med* 1999;340: 9-13.

- [22] Dekker GA, de Vries JIP, Doelitzsch PM, Huijgens PC, von Blomberg BME, Jakobs C, van Geijn HR Underlying disorders associated with severe early-onset pre-eclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1995;173:1042-8.

- [23] Dekker GA, Sibai BM. Etiology and pathogenesis of preeclampsia: current concepts. *Am J Obstet Gynecol* 1998;179:1359-75.