

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS E BIOMEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIAS E
FISIOPATOLOGIA

THAÍS DA SILVA SANTOS

Síndrome do Anticorpo Antifosfolípídeo e Complicações na Gestação: uma
Revisão Sistemática

Maringá

2016

THAÍS DA SILVA SANTOS

Síndrome do Anticorpo Antifosfolípideo e Complicações na Gestação: uma
Revisão Sistemática

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências e Fisiopatologia do Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina, Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biociências e Fisiopatologia

Área de concentração: Biociências e Fisiopatologia Aplicadas à Farmácia

Orientador: Prof. Dr. Jorge Juarez Vieira Teixeira

Co-Orientador: Prof.^a Dr.^a Maria Valdrinez Campana Lonardoní

Maringá

2016

Dados Internacionais de Catalogação- na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá- PR., Brasil)

S237s Santos, Thais da Silva
Síndrome do Anticorpo Antifosfolípideo e complicações na gestação: uma Revisão Sistemática / Thais da Silva Santos. -- Maringá, 2016.
85 f. : il. col., figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Jorge Juarez Vieira Teixeira.
Co-orientadora: Prof.a Dr.a Maria Valdrinez Campana Lonardoni.
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina, Programa de Pós-Graduação em Biociências e Fisiopatologia, 2016

1. Gestação - Anticorpo Antifosfolípideo - Síndrome do Anticorpo Antifosfolípideo. 2. Aborto Habitual - Síndrome do Anticorpo Antifosfolípideo. 3. Complicações na Gravidez. 4. Doença Autoimune. I. Teixeira, Jorge Juarez Vieira, orient. II. Lonardoni, Maria Valdrinez Campana, co-orient. III. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências da Saúde. Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina. Programa de Pós-Graduação em Biociências e Fisiopatologia. IV. Título.

CDD 21.ed. 616.079

MN-003866

FOLHA DE APROVAÇÃO

THAÍS DA SILVA SANTOS

Síndrome do Anticorpo Antifosfolípideo e as Complicações na Gestação: uma Revisão Sistemática

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências e Fisiopatologia do Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina, Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biociências e Fisiopatologia pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

COMISSÃO JULGADORA

Prof. Dr. Jorge Juarez Vieira Teixeira
Universidade Estadual de Maringá (Presidente)

Prof. Dra. Ana Maria Sell
Universidade Estadual de Maringá

Prof. Dra. Juliana Curi Martinichen Herrero
Universidade Estadual de Maringá

Prof. Dra. Izabel Galhardo Demarchi
Universidade Estadual de Maringá

Prof. Dra. Tatiane França Perles de Mello
Universidade Estadual de Maringá

Aprovada em: 21 de dezembro de 2016.

Local de defesa: Sala 005, Bloco I-90, *campus* da Universidade Estadual de Maringá.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a minha família e a todos os meus professores que contribuíram na minha formação até nesse momento e futuramente.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a entidade superior que me proporcionou o sopro da vida, Deus. Agradeço a compreensão e o amor de meus pais, Ivo e Silvia, do meu irmão Thiago e demais familiares durante esse período.

Ao professor Dr. Jorge Juarez Vieira Teixeira pelas contribuições ao trabalho, pelo incentivo e por acreditarem na minha capacidade.

Notavelmente, meus amigos que sempre estiveram presentes em toda a trajetória de minha vida, agradeço a todos, especialmente a Adriely Maria, Marina, Vanessa, Fernanda, Gláucia, Jéssica e Rhuan Carlos.

Minhas companheiras de estudo também recebem meus mais sinceros agradecimentos, por todas as contribuições e comprometimento que proporcionaram a realização dessa dissertação, Hayalla Correa de Carvalho e Andressa Lorena Ieque.

As professoras Dra. Ana Maria Sell, Dra. Izabel Galhardo Demarchi, Dra. Maria Valdrinez Campana Lonardoní pelas contribuições ao trabalho, pelo incentivo e por acreditarem na minha pessoa.

A todos os docentes, discentes e funcionários do Programa de Pós-graduação em Biociências e Fisiopatologia.

EPÍGRAFE

Há um amplo fosso de aleatoriedade e incerteza
entre a criação de um grande romance – ou joia,
ou cookies com pedaços de chocolate – e a
presença de grandes pilhas desse romance – ou
joia, ou sacos de biscoitos – nas vitrines de
milhares de lojas. É por isso que as pessoas bem-
sucedidas em todas as áreas quase sempre fazem
parte de um certo conjunto – o conjunto das
pessoas que não desistem.

(LEONARD MLODINOW)

Síndrome do Anticorpo Antifosfolípideo e Complicações na Gestação: uma Revisão Sistemática

RESUMO

A síndrome do anticorpo antifosfolípideo (SAAF) é uma condição autoimune caracterizada pela produção de anticorpos antifosfolípeos (AFL) associada a trombose e morbidade na gravidez. Os mecanismos exatos pelos quais ocorrem as associações parecem ser heterogêneos e ainda não estão bem compreendidos. Os principais AFL encontrados na SAAF são os anticorpos anticardiolipina (ACA), anticoagulante Lúpico (AL) e anticorpos anti- β 2-glicoproteína I ($\alpha\beta$ 2GPI). Objetivo desta pesquisa foi identificar e analisar publicações nos últimos anos para melhor compreender o diagnóstico e sua contribuição para o monitoramento da SAAF em mulheres com aborto recorrente. Foi realizada uma revisão sistemática de acordo com o método PRISMA utilizando as bases de dados PubMed e Web of Knowledge, com artigos publicados entre 2010 e 2014. Dos 830 estudos identificados, nove foram selecionados. A maioria dos estudos relatou uma associação entre os AFL e o aborto recorrente. A positividade de AFL entre os estudos incluídos variou de 18% a 54,6%. Observou-se a falta de padronização dos valores de corte para os testes dos anticorpos antifosfolípeos. Anticorpos antifosfolípeos específicos como ACA, AL e antifosfatidilserina mostraram uma forte relação com aborto recorrente e a quantidade de repetições do aborto recorrente não parece ser influenciada pela presença dos AFL. Alguns anticorpos antifosfolípeos mostraram associação ao aborto recorrente. Contudo, a falta de padronização dos ensaios e também na sua interpretação prejudica o uso na monitorização das complicações obstétricas, como o aborto recorrente.

Palavras-chave: Anticorpo Antifosfolípideo. Síndrome do Anticorpo Antifosfolípide. Aborto Habitual. Complicações na Gravidez. Revisão Sistemática.

Antiphospholipid Syndrome and Complications in Pregnancy: A Systematic Review

ABSTRACT

The Antiphospholipid syndrome (APS) is an autoimmune condition characterized by the production of antiphospholipid antibodies (aPL) associated with thrombosis and morbidity in pregnancy. The exact mechanisms by which these associations occur appear to be heterogeneous and are not yet well understood. The main AFL found in the APS are the anticardiolipin (aCL), Lupus anticoagulant (LA) and antibodies anti- β 2-glycoprotein I (a β 2GPI). The aim was to identify and analyze publications in recent years to better understand the diagnosis and its contribution to the monitoring of APS in women with recurrent miscarriage. A systematic review was performed according to PRISMA statement using the PubMed and Web of Knowledge databases with articles published between 2010 and 2014. Of the 830 identified studies, nine were selected. Most of the studies reported an association between recurrent miscarriages. The positivity of aPL among the included studies ranged from 18% to 54.6%. It was observed that lack of standardization cutoff value in testing for antiphospholipid antibodies. Specific antiphospholipid antibodies such as aCL, LA and antiphosphatidylserine showed a strong relationship with recurrent miscarriage and the number of recurrent miscarriages does not appear to be influenced by the presence of aPL. Some antiphospholipid antibodies showed an association with recurrent abortion. However, the lack of standardization of trials and of the interpretation impairs its use in the monitoring of obstetric complications, such as recurrent abortion.

Keywords: Antiphospholipid antibody. Antiphospholipid syndrome. Habitual abortion. Pregnancy Complications. Systematic review.

Dissertação elaborada e formatada conforme a norma da publicação científica: *Human Immunology* (Capítulo II-Artigo).

Disponível em: <http://www.journals.elsevier.com/human-immunology/>

SUMÁRIO

1	CAPÍTULO I.....	11
1.1	Histórico	11
1.2	Síndrome do Anticorpo Antifosfolípido (SAAF)	12
1.2.1	Manifestações Clínicas.....	13
1.2.2	Anticorpos Antifosfolípídeos e as Complicações na Gestação	14
1.3	Fisiopatogenia da SAAF.....	16
1.3.1	Fisiopatogenia da SAAF e as Complicações na Gestação	19
1.4	Diagnóstico.....	20
1.4.1	Critério Clínico	21
1.4.2	Critério Laboratorial	22
1.5	Tratamento.....	25
1.5.1	O Tratamento na Gestação	26
1.6	Justificativa.....	28
1.7	Objetivos.....	29
1.7.1	Geral	29
1.7.2	Objetivos Específicos	29
1.8	Referências Bibliográficas.....	29
2	CAPÍTULO II.....	49
2.1	Antiphospholipid syndrome and recurrent miscarriage: a systematic review.....	50
3	CAPÍTULO III	84
3.1	Conclusão	84
3.2	Perspectivas Futuras	85

CAPÍTULO I

HISTÓRICO

A Síndrome do anticorpo antifosfolípídeo (SAAF) foi descrita originalmente por Hughes em 1983[1], porém para entender como essa síndrome foi caracterizada é preciso remeter ao começo do século XX. Em 1906, Wassermann e colaboradores foram os primeiros a identificarem os anticorpos antifosfolípídeos em indivíduos diagnosticados com sífilis [2]. O antígeno da reação só foi identificado por Pangborn em 1941, como sendo a cardiolipina, um fosfolípídeo mitocondrial [3] carregado negativamente [4], eliminado durante a lesão tecidual do processo infeccioso. O teste de Wassermann foi modificado várias vezes com a finalidade de melhorar a detecção de sífilis, sendo um marco para o seu rastreamento universal em 1938 nos Estados Unidos [5]. O teste modificado passou a ser chamada de *Veneral Disease Research Laboratory* (VDRL), uma combinação de cardiolipina com lecitina e colesterol, utilizada até hoje como teste de triagem para detecção da sífilis [6–9]. Quando testes mais específicos, como teste de imobilização do *Treponema pallidum* passaram a ser utilizados como testes confirmatórios para sífilis [8], e que testes positivos de VDRL sem qualquer indício clínico de sífilis [9–11] mostrou que nem todos os indivíduos VDRL positivo eram portadores de sífilis, sendo então o VDRL positivo considerado em outras doenças [12]. Assim, o termo “*biological false-positive serological test for syphilis*” (BFP-STs) passou a ser utilizado nesses casos. No ano de 1952, os pesquisadores Moore e Mohr [12] identificaram dois padrões para BFP-STs, o transitório e o crônico. Os testes falso-positivos transitório eram seguidos de infecções virais agudas e outras doenças, enquanto o crônico (persistência por mais de seis meses) foi relacionado a doenças autoimunes, como lúpus eritematoso sistêmico (LES), Síndrome de Sjögren, artrite reumatoide e tireoidite de Hashimoto [9,10,12,13].

Conley e Hartmann em 1952 [14] foram os primeiros pesquisadores a identificar anticoagulantes circulantes em dois pacientes com LES, que apresentavam distúrbios hemorrágicos por prolongamento do tempo de protrombina *in vitro*. Esses pacientes ainda apresentavam teste sorológico falso positivo para sífilis (Wassermann positivo/VDRL positivo ou BFP-STs). O termo Anticoagulante Lúpico (AL) foi nomeado por Feinstein e Rapaport em 1972 [15], em pacientes com LES, e já se sabia que a maioria dos pacientes positivos para AL, não tinham LES [16]. Muitos médicos que tratavam pacientes com LES, que apresentavam AL, começaram a suspeitar de certos grupos de mulheres que apresentavam manifestações clínicas bastante variadas (abortos espontâneos, trombose venosa profunda e

múltipla, e anormalidades neurológicas). Uma parte considerável dessas pacientes era negativa para anticorpo antinuclear [1,17] e VDRL falso positivo [1]. Laurell e Nilsson em 1957 [18] foram os primeiros investigadores a reconhecer que indivíduos com suspeita de LES com VDRL falso positivo apresentavam alta incidência de AL, estabelecendo assim, uma relação do AL com anticorpos antifosfolipídeos. Inicialmente, pensava-se que os testes de AL positivos estavam relacionados a sangramentos, já que prolonga ligeiramente o tempo de tromboplastina parcial *in vitro*, mas Bowie e colaboradores em 1963 [19] relataram, paradoxalmente, associação à trombose *in vivo*, [1,19–24] perda fetal e/ou abortos recorrentes. O mecanismo pelo qual o AL prolonga o tempo de coagulação *in vitro*, causando trombose *in vivo*, ainda é foco de grande discussão [5].

Uma forte percepção na comunidade científica se pronunciava de que a doença não se tratava de um subconjunto de LES, mas sim uma enfermidade única [25]. Hughes, em 1983, descreveu vários casos de trombose arterial e/ou venosa, com teste de Coombs direto positivo, trombocitopenia, livedo reticular e complicações obstétricas [1,26] relacionadas à AL [1], sendo a primeira descrição da SAAF. Por essa descrição, como homenagem, a doença também foi denominada de Síndrome de Hughes [27]. Em 1986, os anticorpos "anticardiolipina" passaram a ser referidos como "antifosfolipídeo". Inicialmente, cogitava-se denominar o distúrbio de "Síndrome da Anticardiolipina", mas com as evidências de que os anticorpos pertenciam a uma família maior de "anticorpos antifosfolipídeos" e para incorporar AL, o termo "Síndrome Antifosfolipídeo" foi introduzido [25].

SÍNDROME DO ANTICORPO ANTIFOSFOLIPÍDEO (SAAF)

A SAAF é uma condição autoimune caracterizada pela produção de anticorpos antifosfolipídeos (AFL) associada à trombose ou morbidade na gravidez [28]. Os AFL são autoanticorpos que têm como alvos fosfolipídios de membrana celular e/ou proteínas associadas a fosfolipídios, como a β -2-glicoproteína I (β 2-GPI) e a protrombina, entretanto, os mecanismos patogênicos subjacentes à síndrome não estão totalmente elucidados [9]. Os principais AFL encontrados na síndrome são anticorpos anticardiolipina (ACA), anticoagulante lúpico (AL) e anticorpos anti- β 2-glicoproteína I ($\alpha\beta$ 2GPI) e fazem parte do diagnóstico de SAAF, compondo os critérios internacionais de classificação [29,30]. Os critérios internacionais de classificação foram revisados em 2006, e, a partir daí, o diagnóstico da SAAF ocorre quando pelo menos um dos principais AFL citados for detectado em duas ou mais ocasiões no intervalo de 12 semanas entre as medições, associado a uma condição clínica, como trombose ou morbidade na gravidez.

Os dados epidemiológicos descritos para SAAF revelam que a prevalência de AFL na população em geral varia entre 1 e 5%, apesar de que poucos indivíduos apresentarão manifestações clínicas. A incidência estimada de SAAF é de cinco novos casos por 100.000 pessoas/ano e a prevalência é cerca de 40-50 casos por 100.000 pessoas [31]. Recentemente, estimativas da prevalência dos autoanticorpos de SAAF na população em geral, mostraram que AFL ocorre em aproximadamente 13% dos pacientes com acidente vascular cerebral, 11% dos infartos do miocárdio, 9,5% em pacientes com trombose venosa profunda e 6% dos pacientes com complicações na gestação [32]. A SAAF predomina no sexo feminino, principalmente em pacientes que também apresentam LES. Em relação à idade, indivíduos jovens e adultos comumente apresentam AFL, porém crianças e idosos também podem apresentar esses autoanticorpos [33].

MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

Os eventos trombóticos são as principais manifestações que acometem os pacientes de SAAF. Acredita-se que para a ocorrência desse fenômeno é necessário mais do que as alterações que AFL provocam na ativação celular/coagulação (primeiro evento) para o desencadeamento dos eventos trombóticos (segundo evento) [34,35]. Esses fatores adicionais para desencadear o segundo evento incluem: a idade, fatores de risco estabelecidos para a doença cardiovascular, trombofilias hereditárias, uso de contraceptivos orais, síndrome nefrótica, doença maligna, imobilização prolongada e cirurgias [30]. Além disso, há indícios de predisposição genética para SAAF em familiares de populações [36] associados ao antígeno leucocitário humano (HLA) e seus polimorfismos. O HLA DRw53, DR7 (principalmente em indivíduos de origem hispânica) e DR4 (predominância em caucasianos) [37], polimorfismo de antígenos β 2-GPI, genes que codificam glicoproteínas das plaquetas, vias de sinalização pró-inflamatórias, mediadores e defeitos genéticos do sistema imunológico também foram descritos em pacientes com SAAF [38].

A SAAF está associada ao aborto recorrente (AR) [28], definido pela Sociedade Americana de Medicina Reprodutiva como duas ou mais perdas espontâneas na gravidez [39], da qual 65% acontecem até a 12ª semana de gestação [40]. Em estudos de meta-análises com casais que apresentaram AR, a incidência da SAAF variou entre 15% e 20% em comparação aos aproximados 5% em mulheres não grávidas sem histórico obstétrico [41,42]. Devido à complexidade e heterogeneidade do AR, a etiologia permanece uma incógnita em cerca de 50% dos casais [43] e a pesquisa de SAAF tem diminuído essas indeterminações [44]. Muitas vezes é no propósito da elucidação do AR, ou durante monitoramento do período gestacional

que o diagnóstico da SAAF acontece, principalmente após as frustrações emocionais das consecutivas perdas gestacionais [40,44,45].

A SAAF não tratada pode contribuir com até 90% das perdas embrionárias ou fetais [46], sendo a perda fetal principalmente no segundo e terceiro trimestres da gestação. Na rotina clínica o tratamento de escolha nas pacientes com SAAF é o uso da heparina e ácido acetilsalicílico em baixa dose [47]. Entretanto, a terapêutica pode sofrer variações conforme necessidade de cada indivíduo. A identificação de outros fatores de risco adicionais deve ser considerada, assim como, a divulgação de informações aos pacientes sobre as morbidades durante e após a gestação, e o desfecho clínico após o tratamento adequado [48]. Estudos indicam que após o tratamento, as taxas de nascidos vivos entre as pacientes com SAAF aumentam consideravelmente [49,50].

A SAAF pode ser relatada sem doenças subjacentes (SAAF primária) ou associadas a outras doenças autoimunes, (SAAF secundária), principalmente com LES ou com doenças reumáticas, oncológicas, doenças hematológicas, neurológicas, infecções, e com o uso de alguns fármacos [51,52]. Nem sempre é possível distinguir SAAF primária ou secundária, pois as manifestações clínicas e laboratoriais são comuns [53]. Portanto, acredita-se que em vez de se usar o termo primário ou secundário, apenas documentar a coexistência de LES (ou outra doença) é mais vantajoso para os critérios de classificação estabelecidos [30].

Apesar da complexidade da SAAF e por serem responsáveis por uma elevada taxa de complicações obstétricas, de caráter potencialmente fatal para a mãe e o feto, alguns avanços foram alcançados na compreensão da patogênese da doença. No entanto, muitas lacunas em nosso conhecimento permanecem, especialmente em relação ao diagnóstico e tratamento da SAAF ainda permanecem por serem esclarecidas [54].

ANTICORPOS ANTIFOSFOLIPÍDEOS E AS COMPLICAÇÕES NA GESTAÇÃO

A maioria dos estudos constata a associação entre anticorpos antifosfolipídeos e as complicações na gestação [28,55–63]. Resultados discordantes podem ser explicados por diferenças em relação à etnia, tamanho da amostra e critérios de seleção [59]. Estudos apontam que o número de AR não influencia a presença de anticorpos antifosfolipídeos [55,64–66]. Van den Boogaard e colaboradores (2013) [65] analisaram se o fato do AR ser consecutivo modificava o risco para o desenvolvimento da SAAF, mas não encontraram essa relação. A partir desses dados, os autores desse estudo [65] sugeriram a atualização dos critérios de classificação para dois ou mais AR no primeiro trimestre, não necessariamente

consecutivos, contrapondo o indicado por vários critérios adotados anteriormente a sua publicação [30,67,68].

Embora a literatura indique uma boa relação de ACA com o AR [55,56,58,59,69], as pesquisas mostram alta variação interlaboratorial para valores desses anticorpos [70–72]. Há controvérsias em relação à associação das classes de anticorpos IgG e IgM de ACA com o aborto. Alguns estudos mostram correlação em ambas as classes [57,59], e outros não encontraram associação com a classe IgM [58,73]. Esta baixa relação de ACA IgM pode ocorrer devido a sua presença em outras doenças e que pode resultar em testes falsos-positivo, principalmente na presença de fator reumatoide ou crioglobulinas [30,69]. Apesar de todos os interferentes para pesquisa da classe IgM de ACA, esta ainda é recomendada para o diagnóstico da SAAF [68].

A associação de α 2GPI com o AR são controversos na literatura [69,73–81]. Enquanto alguns estudos indicam relação do α 2GPI na morbidade da gravidez [73,74,77–79,82] outros não encontraram significância [69,81,83] ou negam a relação. Isto pode ser devido à falta de padronização nos testes e diferenças nas metodologias aplicadas [75,76]. Alguns estudos citam relação de especificidade com a classe IgM [77], IgG [73,78] e IgA [82] do α 2GPI com o AR. Essas controvérsias na literatura em parte podem ser explicadas pela variabilidade interlaboratorial que ainda existe nas pesquisas com α 2GPI [76,84], apesar de sua reprodutibilidade ser considerada boa, melhor do que as encontradas nos ensaios de ACA [84] e com forte relação com a trombose [30,85,86].

A relação de anticoagulante lúpico com AR é validada na literatura [55,56,58]. Além disso, AL é o anticorpo que melhor se correlaciona com a morbidade na gravidez e com a trombose [69,87,88]. AL também tem reprodutibilidade interlaboratorial pobre em comparação a gama de ensaios disponíveis comercialmente [89,90].

Além dos anticorpos que fazem parte do critério laboratorial para classificação de SAAF, outros anticorpos são pesquisados e mostram associação significativa com o AR, como anticorpo antifosfatidilserina (AFS) [59,91–94]. Alguns estudos apontam que antifosfatidiletalona (AFE) está associada com as manifestações de SAAF tais como pré-eclâmpsia, parto prematuro [95], aborto recorrente [96–98], infertilidade [99], trombose, características neurológicas e lúcido reticularis [100]. Isto parece sugerir que AFE pode aumentar a detecção de AFL [99]. A Prevalência significativa de antifosfatidilinositol (AFI) foi descrita por alguns autores que o associaram a pacientes com dificuldade de sucesso na fertilização *in vitro*, AR e restrição de crescimento intrauterino [92–94]. Branch e colaboradores (2001) [93], que associaram o AFI com restrição de crescimento intrauterino,

também encontraram altos níveis séricos de antifosfatidilglicerol (AFG) associado à mesma patologia. Entretanto, o estudo observou modesto valor preditivo positivo entre esses testes, indicando sua baixa especificidade. O consenso internacional de 2006 revisou a pertinência laboratorial desses anticorpos para o diagnóstico de SAAF, e apesar de considerarem que não há dúvidas quanto à associação com a SAAF e sua frequência, a falta de especificidade desses anticorpos pode contribuir para a redução da especificidade do diagnóstico, justificando a não inclusão desses anticorpos nos critérios laboratoriais de diagnósticos da SAAF [30].

Proteínas plasmáticas como a antiprotrombina (APT) que possuem afinidade para aniônicos são frequentemente encontrados em pacientes com AFL [101,102]. As APT são anticorpos heterogêneos, detectados por método ELISA que pode ter como alvo antigênico anticorpos contra protrombina sozinha (APT) ou contra o complexo protrombina-fosfatidilserina (APT/AFS) [30,103]. Porém, estudos não tem relacionado APT com as manifestações obstétricas, como AR [59,103–106]. Outros estudos contradizem e apontam a relação de APT com as manifestações da SAAF [104,107], principalmente APT IgG na morbidade obstétrica [104,108], e IgM em eventos trombóticos [104]. Em relação ao complexo APT/AFS, não há também concordância entre os estudos, em que alguns não encontraram correlação com as complicações obstétricas [95,109,110] e outros sim [103–105,111]. Entretanto, ainda não há dados que permitam a recomendação da pesquisa de APT para pacientes com SAAF [104,112], embora esses testes possam ser benéficos nos casos em que os testes que fazem parte de critério laboratorial de SAAF forem negativos [109]. O consenso internacional de 2006 considera prematura a inclusão APT nos critérios de classificação da SAAF [30].

FISIOPATOGENIA DA SAAF

Devido à heterogeneidade das manifestações clínicas da SAAF, acredita-se que existam mais de um processo fisiopatológico [113]. Os mecanismos celulares e moleculares pelos quais a SAAF promove os efeitos trombóticos ainda não estão totalmente elucidados [113–115]. Reconhece-se as alterações na coagulação, as hipóteses sobre efeitos pró-coagulantes e/ou de inibição de efeitos anticoagulantes [114]. As diversas hipóteses dos mecanismos fisiopatogênicos estão fortemente relacionadas entre as proteínas de ligação e os anticorpos antifosfolípídeos [116]. Os AFL são um grupo heterógeno que se liga a diversos fosfolípídios aniônicos, como a cardiolipina, fosfatidilserina, fosfatidiletalona e fosfatidilinositol, mas principalmente a fosfolípídios ligados a proteínas e complexos fosfolípídios-proteínas [115]. Há evidências sobre a capacidade dos AFL em interferir em

vários níveis da regulação da hemostasia sanguínea [116], como na atividade das células endoteliais (inibição de liberação de prostaciclina e aumento do fator tecidual) [21,117], ativação de plaquetas [118], regulação fibrinolítica [119] e suas proteínas reguladoras (vias das proteínas C e S) [120].

As principais funções das plaquetas, quando ativadas na coagulação sanguínea, são de fornecer proteínas intrínsecas da coagulação e a exposição externa da membrana celular de fosfolípidios aniônicos (principalmente fosfatidilserina) para formação de superfície catalítica para fatores pró-coagulante [116,121]. Estudos evidenciam que na SAAF a atividade fisiopatogênica dos AFL provocam ativação e agregação plaquetária [116,118,122,123]. A ação dos AFL parece envolver a ativação e a indução da desgranulação das plaquetas ao se ligar a proteínas situadas em sua membrana celular. A principal proteína presente na membrana celular das plaquetas é a β 2-GPI, que está relacionada à ligação dos AFL como um cofator e os anticorpos podem ser ou não dependentes dela. Quando a β 2-GPI está ausente, a anticardiolipina não inibe a atividade do complexo protrombinase das plaquetas, induzindo ao estado pró-coagulante, resultando em trombose [121]. Outros estudos indicam que a ligação AFL com a β 2-GPI promove, a partir da ativação das plaquetas, a produção de tromboxano A₂, eicosanóide responsável por vasoconstrição e coagulação [124].

As células endoteliais (CE) têm um importante papel na hemostasia, ao equilibrar coagulação e a anticoagulação, por meio de mediadores, tais como moléculas semelhantes à heparina, trombomodulina, proteína C, prostaciclina e outras [121,125]. Evidências apontam que os AFL podem ser um estímulo que promove nas CE um fenótipo pró-coagulante [125]. Quando ocorre a ligação dos AFL com a membrana celular exposta das CE, ocorre competição na ativação da cascata de coagulação, ao diminuir superfície de contato para ligação dos fatores de coagulação, provocando efeito anticoagulante paradoxal (aumento no tempo de coagulação nos testes). Porém, o efeito pró-coagulante também ocorre dessa interação, por inibir a ativação de proteínas e mensageiros responsáveis indiretamente pela síntese de prostaciclina [121,126]. As prostaciclina são eicosanóides secretadas pelas células endoteliais [125], consideradas como antiagregante plaquetário natural. Com a redução dos níveis de prostaciclina, há contribuição para a agregação plaquetária, e consequentemente, favorecimento da trombose [121,126]. Observou-se que β 2-GPI poderia ser uma das principais proteínas relacionadas à ligação de AFL a superfícies de CE [127,128]. Estudos *in vitro* indicaram, após incubação com β 2GPI, ativação de CE ao estado pró-inflamatório e pró-coagulante [126–131]. Acredita-se que os AFL também aumentam a atividade pró-coagulantes das CE por meio da elevação da síntese endotelial do fator ativador

de plaquetas (PAF) e do aumento da ação da tromboplastina tecidual (fator tecidual), que por consequência potencializaria a via extrínseca da coagulação [117].

Assim como a β 2-GPI, outras proteínas de ligação a fosfolipídios podem ser cofatores, como protrombina, proteína C, proteína S e anexina V [132]. A serina protease, proteína C, que quando ativada utiliza a proteína S como cofator para degradar os fatores Va e VIIIa da cascata de coagulação, atuando, portanto, como anticoagulante [133]. No entanto, para que se torne ativa, pela trombina, é necessário trombomodulina, cofator presente nas CE [121,125]. Os AFL podem modificar vários componentes da via proteína C, como: inibição da trombina (via protrombinase) [134]; redução do complexo trombina-trombomodulina [134,135]; inibição da atividade e da montagem do complexo da proteína C ativada [134]; ligação dos AFL com os fatores Va e VIII, impedindo a degradação pela proteína C [134,136,137]; proteína C e a proteína S também podem ser alvos da ligação com os AFL [134,138]; pacientes com SAAF apresentam com frequência deficiência de proteína S [139,140]. Proteína C pode ainda afetar o sistema fibrinolítico, pois quando a proteína C é ativada reduz a ação do inibidor do ativador do plasminogênio (PAI), agindo indiretamente na fibrinólise [121,141,142].

A anexina V tem atividades anticoagulantes por interferir em fatores pró-coagulantes das membranas celulares [143]. O provável mecanismo de ação anticoagulante por parte da anexina V sugerido, é a formação de um escudo, cristalizando-se ao longo dos fosfolipídios aniônicos, inibindo a ação desses na coagulação [144,145]. Estudos evidenciam que os AFL podem desestruturar esse escudo e aumentar a trombina [146–148]. Outro mecanismo proposto para indução de trombose na circulação intrauterina é a ligação dos AFL à anexina V. A anexina V é expressa em grande quantidade na superfície das vilosidades do sinciotrofoblasto e tem um potente efeito anticoagulante, contribuindo para a integridade da placenta [53]. Neste sentido, tem sido demonstrado que a expressão de anexina V está diminuída em placentas de mulheres com SAAF e que os AFL podem reduzir a anexina V em culturas de células de trofoblasto [149,150].

A fibrinólise é o processo de degradação da fibrina, o produto final da cascata de coagulação. A fibrina é degradada pela ação da plasmina, enzima derivada do plasminogênio que é ativada por meio da ação do ativador de plasminogênio de tecido (tPA). Outro mediador e regulador importante da fibrinólise é o PAI [125]. Em relação à SAAF, a ação de tPA e PAI são conflitantes. Estudos indicam fibrinólise prejudicada por altos níveis de PAI [139] em pacientes com SAAF em comparação com o controle [151]. Uma pesquisa encontrou a presença de anticorpos para o tPA em portadores de SAAF, demonstrando que estes anticorpos

agiam no domínio catalítico da molécula, com sugestão para a queda das atividades de fibrinólise por ação contra o tPA [152]. Outro conversor de plasminogênio em plasmina, a calicreína, também pode prejudicar a fibrinólise quando tem suas atividades alteradas. A pré-calicreína tem se apresentado com baixa atividade em pacientes positivos para AL [153].

FISIOPATOGENIA DA SAAF E AS COMPLICAÇÕES NA GESTAÇÃO

Os mecanismos de atuação da SAAF *in vivo*, tanto na trombose como nas complicações gestacionais ainda permanecem obscuras, por mais que as possíveis vias tenham sido estabelecidas. Os AFL podem interferir na hemostasia sanguínea, ao modificar a regulação da cascata de coagulação estabelecendo um estado pró-coagulante ou interferindo na ação de fatores considerados anticoagulantes naturais, como a β 2-GPI [9,114,147,149,154].

Acredita-se que as complicações obstétricas da SAAF estão interligadas aos mecanismos de alteração da coagulação que ocasionam trombose placentária e/ou das artérias espiraladas endometriais [155,156]. Exames microscópios e macroscópicos demonstraram infarto em mais de 50% dos tecidos placentários avaliados e as artérias espiraladas mostravam necrose fibrinóide, aterosose aguda e trombose intraluminal [157]. Os AFL, como a anticardiolipina, parecem estar envolvidos também na inibição da secreção da gonadotrofina coriônica, o que afeta o desenvolvimento embrionário [158] e interfere na regulação da proteína placentária anticoagulante (PAP). A PAP é um anticoagulante natural, com afinidade por fosfolipídios aniônicos, sendo os AFL inibidor competitivo dela. Desse modo, títulos elevados de anticorpos anticardiolipina podem resultar em trombose placentária e o aborto [117,121]. A perda fetal pode resultar do déficit da circulação uteroplacentária, ocasionado pela redução no suprimento sanguíneo do feto, hipóxia severa e morte fetal [159].

Uma das manifestações clínicas da SAAF é a pré-eclâmpsia, e a fisiopatologia pode estar relacionada à associação dos AFL no metabolismo das prostaglandinas, e que resulta no aumento de tromboxano A₂, levando à vasoconstrição e por consequência aumento da pressão arterial [159,160]. Outra manifestação clínica frequente da SAAF é a restrição de crescimento intrauterino (RCIU), resultante da insuficiência placentária que reduz a oferta de nutrientes e ocasiona o uso de glicogênio hepático e, conseqüentemente, diminuição do fígado fetal e redução da circunferência abdominal. Outra consequência para o feto, decorrente obstrução trombótica placentária é a hipoxemia fetal, que pode prejudicar o desenvolvimento fetal, principalmente, em relação a danos neurológicos [159].

Algumas manifestações clínicas de SAAF não são suficientemente explicadas pelos mecanismos trombóticos [161,162]. A fisiopatologia de perda gestacional em pacientes com SAAF parece envolver insuficiência placentária com diminuição da decídua, infiltração de células inflamatórias e deficiência na invasão trofoblástica das artérias espiraladas [163–165]. Após essas observações foi pesquisada a hipótese de ação direta dos AFL no trofoblasto [38]. Em estado normal foi observado que o trofoblasto expressa β 2-GPI, não sendo necessária a exposição dos fosfolípidos interiores para a parte externa da membrana plasmática para que ocorra a ligação dos autoanticorpos [166].

Uma maior quantidade de β 2-GPI na placenta de mulheres com SAAF e AR quando comparada com placentas saudáveis foi observada. Como o trofoblasto expressam os potenciais alvos dos AFL, a ligação possivelmente contribui para insuficiências na formação e proliferação do sinciotrofoblasto, queda da produção de gonadotrofina coriônica humana e redução da capacidade invasiva do trofoblasto [38]. Estudos evidenciaram que a via do complemento pode mediar danos ao feto na SAAF. Estudo em ratos induzidos a desenvolverem SAAF, revelou que a ativação do complemento C3 foi necessária para a ocorrência da perda fetal e o complemento C5 foi mediador de lesão fetal [167–169]. Também em modelo animal, a inibição do sistema complemento pareceu ser benéfica para o acontecimento de uma gestação normal [170]. Não se pode deixar de ressaltar que é necessária cautela ao extrapolar os resultados dos modelos animais para os humanos. Mas, alterações inflamatórias nas placentas de pacientes com SAAF suportam essas conclusões iniciais [171,172].

DIAGNÓSTICO

Devido à diversidade do quadro clínico e laboratorial da SAAF foi elaborado um conjunto de critérios clínicos e laboratoriais que possibilitasse o diagnóstico, considerando a dificuldade para a sua definição [29,30,173,174]. O primeiro consenso de critérios de classificação estabelecido para SAAF foi publicado em 1999, e ficou conhecido como critério de Sapporo (Japão) [29], e com os avanços das pesquisas na área clínica e laboratorial de SAAF, foi revisado e publicado em 2006, o critério de Sydney (Austrália) [30]. Apesar da atualização, o diagnóstico ainda continua a ser um desafio [30,174].

O diagnóstico requer tanto os critérios clínicos como o laboratorial, e os indivíduos podem apresentar uma ou mais condições clínicas e laboratoriais que não estão definidas no critério do consenso. O diagnóstico não pode ficar privado a rigorosidade relativa dos critérios do consenso internacional, a experiência clínica é fundamental nesses casos [175].

Quadro 1- Critérios de classificação da Síndrome do Anticorpo Antifosfolípideo (SAAF).

<p>Critérios Clínicos</p> <p>1. Trombose Vascular</p> <p>Um ou mais episódios clínicos de trombose arterial, venosa ou de pequenos vasos ocorrendo em qualquer órgão ou tecido confirmado por exames de imagem ou histopatológicos.</p> <p>2. Morbidade Gestacional</p> <p>2.1 uma ou mais morte inexplicável de feto morfolologicamente normal com mais de 10 semanas de gestação; ou</p> <p>2.2 um ou mais nascimento prematuro de fetos morfolologicamente normais com 34 semanas ou menos em virtude de pré-eclâmpsia, eclâmpsia ou insuficiência placentária grave; ou</p> <p>2.3 três ou mais abortamentos espontâneos consecutivos antes da 10ª semana de gestação com exclusão de causas cromossômicas, anatômicas ou hormonais.</p>
<p>Critérios Laboratoriais</p> <p>1. Anticorpo anticoagulante Lúpico: presente no plasma em duas ou mais ocasiões com intervalo de 12 semanas, detectados de acordo com as recomendações da Sociedade Internacional de Trombose e Hemostasia.</p> <p>2. Anticorpo Anticardiolipina: presença no soro ou plasma do anticorpo IgG e/ou IgM, em títulos moderados ou elevados (> 40 GPL ou MPL unidades, ou percentil > 99% percentil), em duas ou mais ocasiões com intervalo de 12 semanas, dosadas por ELISA.</p> <p>3. Anti-β2- glicoproteína I: presença no soro ou plasma do anticorpo IgG e/ou IgM, (percentil > 99%) em duas ou mais ocasiões com intervalo de 12 semanas, dosadas por ELISA.</p>

Fonte: Adaptado de Miyakis e colaboradores, 2006 [30]

CRITÉRIO CLÍNICO

A SAAF é uma doença multissistêmica que afeta órgãos como os pulmões, coração, pele, cérebro, rins, olhos, glândulas suprarrenais e fígado, que estão associadas a diversos anticorpos. As principais manifestações clínicas são a trombose vascular (arterial e/ou venosa) e as complicações obstétricas, tais como aborto recorrente [174,176]. Desta maneira a variedade de sintomas clínicos transforma o diagnóstico em um desafio aos médicos [176]. Notavelmente, só a presença de AFL não resulta nas manifestações clínicas, já que esses

anticorpos podem estar presentes mesmo em indivíduos saudáveis, no entanto, em baixos índices [177].

A trombose vascular é definida pelos critérios clínicos de SAAF, como um ou mais episódios de trombose (arterial e/ou venosa) que ocorre em qualquer tecido ou órgão [30]. A revisão nos critérios em 2006 não alterou os critérios clínicos, porém considerou o ataque isquêmico transitório e acidente vascular cerebral isquêmico como reflexo da trombose vascular. Apesar da possibilidade de qualquer parte da circulação vascular poder ser afetada, a trombose das veias dos membros profundos com ou sem embolia pulmonar é a manifestação mais comum da SAAF [178], e cerca de 30 a 70% dos pacientes com SAAF apresenta tromboembolismo venoso [23,179].

As complicações na gestação que são consideradas como critérios clínicos de SAAF incluem: uma ou mais mortes fetais inexplicáveis (morfologicamente normais) com mais de 10 semanas de gestação; um ou mais nascimentos prematuros (morfologicamente normais) antes da 34ª semana de gestação devido a complicações como eclâmpsia, pré-eclâmpsia ou insuficiência placentária; ou três ou mais abortos espontâneos consecutivos inexplicáveis antes da 10ª semana de gestação [30].

Em raríssimos casos a SAAF pode apresentar rápida falência múltipla de órgãos, decorrente da trombose generalizada, a denominada Síndrome Antifosfolípide Catastrófica, uma entidade considerada separada e com alta morbidade e mortalidade [180–183]. O termo “catastrófico” descreve o ritmo acelerado em que ocorre a falha múltipla de órgãos, porém os casos relatados afetam menos de 1% dos pacientes com SAAF [33].

CRITÉRIO LABORATORIAL

O critério laboratorial é necessário para confirmação da SAAF, principalmente pela detecção dos AFL. Esses anticorpos são um grupo heterogêneo de autoanticorpos que atuam contra diversos antígenos, principalmente os fosfolípidios. A proteína β 2-GPI, protrombina, proteína C, proteína S, anexina V, trombomodulina e fator de XII são também potenciais alvos [184]. O critério laboratorial para o diagnóstico de SAAF considera apenas a pesquisa de ACA, $a\beta$ 2GPI (IgG e IgM) e AL. A pesquisa de $a\beta$ 2GPI foi incluída aos critérios na revisão de 2006, em Sydney. A pesquisa de outros AFL, como anticorpos antifosfatidilserina, antiprotrombina, complexo antifosfatidilserina-protrombina, antifosfatidiletalonamina, ACA IgA e $a\beta$ 2GPI IgA, também estão disponíveis, mas ainda não são recomendados por falta de evidências clínicas [30].

O número e tipo de testes positivos podem indicar diferentes perfis da doença [30], que podem ser determinantes ao considerar os riscos de manifestações da SAAF. Os perfis podem ser subdivididos em mais de um critério laboratorial positivo (qualquer combinação), e em AL, ACA e a β 2GPI positivos isoladamente. A diferença na caracterização de maior risco para manifestações da SAAF parece sofrer influência tanto em relação ao isotipo de imunoglobulina (Ig), principalmente IgG devido a cronicidade da doença, quanto o nível de títulos (moderados a altos) em relação a gravidade da doença [88,185,186]. A positividade dos três autoanticorpos (ACA, a β 2GPI e AL) indica alto risco para desenvolver complicações tromboembólicas [185,187–189]. Os pacientes com SAAF positivos apenas nos testes ACA, β 2-GPI, sem história de complicações tromboembólicas, são mais propensos a manifestações obstétricas [185]. A positividade única para AL é mais comum em pacientes assintomáticos no primeiro diagnóstico e como falso-positivo em idosos [190,191]. Estudo de caso-controle revelou que a cada aumento de 10 U no título de ACA, o risco de tromboembolismo foi 5-7% maior nos pacientes com SAAF, e maior presença de tipos diferentes de anticorpos no mesmo paciente eleva para 70% a probabilidade de ter eventos tromboembólicos [192]. Em pacientes assintomáticos não se recomenda a triagem de rotina para a síndrome, pois a proporção de falsos-positivo tem variação de 3 a 20%, o que pode acarretar a tratamentos desnecessários [193].

Para a pesquisa de ACA e a β 2GPI é utilizada a técnica ELISA e para AL utilizam-se testes de coagulação dependentes de fosfolipídios. A técnica ELISA para os anticorpos antifosfolipídeos é internacionalmente padronizada, e para os resultados serem considerados positivos devem apresentar títulos moderados a altos de ACA (>40 GPL ou MPL unidades), enquanto para a β 2GPI é considerado positivo quando o título é maior que o percentil 99 [30]. Para que a pesquisa de AL seja confiável é preciso que algumas etapas sejam realizadas, como: usar no mínimo dois testes de coagulação com princípios diferentes, os principais testes são o tempo parcial de atividade de tromboplastina (TTPA), e *kaolin clotting time* (KCT) ou *Russel viper venom time* (dRVVT); confirmar que a causa do prolongamento do tempo de coagulação é devido a presença de inibidores circulantes e não por deficiência de fatores de coagulação (refazer o teste adicionando 50% de plasma de um doador normal, e observar que não há correção); e da deficiência demonstrar que os anticorpos circulantes (inibidor) são dependentes de fosfolipídios (repetir o teste com excesso de fosfolipídio e observar a correção do tempo de coagulação) [194]. A pesquisa de ACA é a mais sensível e positiva em cerca de 80-90% das pacientes, enquanto a β 2GPI e AL são mais específicos.

Entretanto, a pesquisa dos três anticorpos é recomendada para um diagnóstico confiável de SAAF [30,195,196].

A perda de especificidade de ACA é devido a sua positividade na presença de outras doenças, como: sífilis, doenças virais e parasitárias e outras doenças autoimunes. Frente à necessidade de exclusão de anticorpos transitórios, o critério laboratorial estabelece que um novo teste deva ser realizado em um intervalo, de pelo menos 12 semanas, após os primeiros resultados positivos [30,70,197]. Esse intervalo entre os testes evita falsos-positivo para SAAF, contudo, um teste com um intervalo extenso entre a manifestação clínica pode comprometer o diagnóstico. Ao longo do tempo há uma boa estabilidade e reprodutibilidade dos testes [198], mas um a cada quatro casos ocorre variação da detecção dos AFL. Ainda não se sabe se o tratamento ou a dinâmica da doença contribui para essa variabilidade dos anticorpos [199–201]. O critério de Sydney (Austrália) revisado, desaconselha o diagnóstico com intervalo de mais de cinco anos entre o critério clínico e o laboratorial, independente de qual ocorreu primeiro [30].

Os testes laboratoriais para a classificação da SAAF possuem limitações referentes à reprodutibilidade, padronização e relevância clínica [186]. A padronização tem se mostrado um desafio, devido ao uso de diferentes kits comerciais e técnicas *in-house* que favorecem uma variedade de resultados, dificultando a comparação. Em relação à sensibilidade e especificidade, a preocupação é de que os testes sejam suficientemente sensíveis para um diagnóstico correto da SAAF e altamente específicos para evitar falsos-positivo, na tentativa de evitar tratamentos desnecessários [174]. Além disso, as solicitações desses testes não são tão comuns na prática da clínica médica e por isso muitas vezes há dificuldades na sua interpretação, necessitando de diálogo com outros profissionais para a garantia do diagnóstico correto [174,186].

Na década de 90, foi demonstrado que a pesquisa de alguns ACA apenas acontecia na presença de $\text{a}\beta\text{2GPI}$ [202,203]. Isto pode ser esclarecido pelo fato de $\text{a}\beta\text{2GPI}$ interagir fortemente com fosfolipídios aniônicos, como a cardiolipina [204]. A presença de ACA pode ocorrer tanto em doenças patogênicas, como a sífilis, quanto em doenças autoimunes, como LES e SAAF [205]. Os estudos demonstraram a presença ACA $\text{a}\beta\text{2GPI}$ -dependente em pacientes com LES e SAAF, mas não nos portadores de doenças infecciosas [202,203,205,206]. Os anticorpos de pacientes com doenças patogênicas reagem diretamente com a cardiolipina, independentemente de $\beta\text{2-GPI}$, sendo a ligação de ACA moderadamente inibida na presença desta glicoproteína [206]. O uso de ACA $\text{a}\beta\text{2GPI}$ -dependente pode ser importante no diagnóstico diferencial, mesmo que não faça parte da rotina de diagnóstico que

envolve ACA [205]. Desde 2006, o ensaio a β 2GPI passou a ser reconhecido como um teste laboratorial independente e suficiente para o diagnóstico de SAAF [30].

Assim como ACA, a pesquisa de a β 2GPI possui limitações metodológicas e de padronização [84,207], sofrendo também com possível interferência de crioglobulinas e fatores reumatóides na interpretação de a β 2GPI IgM. A partir de 2006, o anticorpo a β 2GPI passou a ser incluído no critério laboratorial de classificação para SAAF [30]. Isto porque evidências apontaram que 3-10% dos pacientes com SAAF, o a β 2GPI foi o único anticorpo positivo presente [79,86,208]. A pesquisa do anticorpo é uma importante ferramenta de diagnóstico quando outros anticorpos antifosfolípeos, principalmente ACA e AL são negativos e há suspeita de SAAF [30,79,85,207,208]. Entretanto, a padronização dos ensaios de a β 2GPI necessita de continuidade para o seu estabelecimento, a fim de melhorar a comparação entre os estudos [75,207].

TRATAMENTO

O tratamento da SAAF deve ser de caráter individual e diversos fatores devem ser levados em consideração, como a quantidade de anticorpos, a idade do paciente e a história de eventos trombóticos [60,209,210]. Indivíduos com menos de 50 anos com níveis moderados a altos de AFL tem risco relativos entre 7 a 8 vezes a mais para a presença de eventos trombóticos em comparação com a população normal. O tipo de anticoagulante deverá ser definido conforme o local da trombose, e a prevenção das manifestações clínicas podem ocorrer por longos períodos. A periodicidade do uso da medicação é importante, pois o uso descontinuado pode contribuir para o risco de repetição da trombose ou aborto, salvo raros casos, em que por mais de três meses os níveis de AFL se tornaram negativos [60,210].

O tratamento de pacientes assintomáticos é controverso, e geralmente, mesmo com exames laboratoriais positivos, não requer tratamento específico [209]. No entanto, o uso profilático de ácido acetilsalicílico em baixas doses, muitas vezes é usado mesmo não sendo consenso a sua recomendação, por falta de evidências [210]. Para trombocitopenia moderada geralmente não se realiza tratamento, porém em níveis mais baixos pode ser utilizados corticóides ou Imunoglobulina Humana Intravenosa [60,210]. Na SAAF catastrófica pode ser utilizada a terapia com glicocorticosteróides, plasmaférese com ou sem imunoglobulina humana intravenosa e heparina intravenosa [181,209].

O TRATAMENTO NA GESTAÇÃO

O tratamento da SAAF em gestantes visa à saúde materno-fetal, por meio da prevenção do aborto, da insuficiência placentária, do parto prematuro e da pré-eclâmpsia. Há também a necessidade do controle do risco de trombose gestacional [175,194]. No planejamento da gestação, o acompanhamento dos níveis AFL, incluindo a sua repetição, são necessários. Durante a gestação não é requisitado o mesmo protocolo da preconcepção, pois mesmo com a negatização dos testes durante a gravidez, o risco de complicações permanece. No caso de pacientes com hipertensão pulmonar, devido ao risco de morte materna, é aconselhado a não concepção e esta deve ser adiada em casos de hipertensão não controlada ou eventos trombóticos recentes [211]. Os tratamentos de prevenção do aborto se baseiam no uso de baixas doses de ácido acetilsalicílico, imunossuppressores (glicocorticosteróides), doses efetivas ou preventivas de heparina, e a imunoglobulina intravenosa [194]. O uso de um ou a combinação desses medicamentos são realizados conforme a necessidade de cada paciente, respeitando o critério de tratamento individualizado.

Sugestão de um esquema terapêutico para gestantes com SAAF, de acordo com as complicações apresentadas, são feitas para melhor benefício do tratamento. A classificação é dividida em três grupos: grupo 1- pacientes com SAAF sem eventos trombóticos prévios e com precoce aborto de recorrência (pré-embrionária ou embrionária); grupo 2- pacientes com SAAF sem previa de eventos trombóticos e com um ou mais mortes fetal anterior (>10 semanas de gestação) ou parto prematuro anterior (< 34 semanas de gestação) devido pré-eclâmpsia grave ou insuficiência placentária; grupo 3- pacientes com SAAF com previa de eventos trombóticos, apesar de qualquer história anterior de gestação [212]. O quadro 2 representa esse esquema terapêutico para os grupos.

O tratamento de escolha para gestantes com SAAF é a combinação de heparina (não fracionada ou heparina de baixo peso molecular) com baixas doses do Ácido acetilsalicílico (BDA). O uso de BDA normalmente é recomendado na preconcepção, devido os possíveis benefícios na implantação embrionária e o uso de heparina inicia-se após a ultrassonografia, com a constatação do embrião viável (primeiro trimestre) [213].

Cohn e colaboradores (2010) [214] ao avaliarem o uso combinado ou não de BDA com heparina de baixo peso molecular (HBPM) nas pacientes com AFL, concluíram que a chance de nascimento para as gestantes que utilizaram a combinação de BDA e HBPM foi maior se comparado as gestantes que fizeram o uso de BDA somente (IC95% 1,3-5,8; OR 2,7). Outros estudos corroboraram os achados de Cohn e colaboradores (2010) [215–217] e

outros não encontraram significância estatística [49,218,219] nos benefícios do uso combinado dos medicamentos. Mas, as taxas de nascimentos, entre todos esses estudos, variaram de 42% a 86% [49,214–219] revelando os benefícios do tratamento. Notavelmente, há heterogeneidade nos resultados em pacientes que usaram apenas aspirina. Dois estudos

Quadro 2- Esquemas sugeridos para o tratamento da síndrome do anticorpo antifosfolípideo na gestação

Esquema	
SAAF sem trombose anterior e precoce aborto recorrente (pré-embrionário ou embrionária)	Uma dose baixa de aspirina por si só ou em conjunto com heparina não fraccionada (5000-7500 IU por via subcutânea a cada 12h) ou HBPM (doses profiláticas habituais)
SAAF sem trombose anterior e morte fetal (> 10 semanas de gestação) ou parto prematuro anterior (<34 semanas de gestação), devido à pré-eclâmpsia grave ou insuficiência placentária	<p>Baixas doses de aspirina com:</p> <ul style="list-style-type: none"> • A heparina não fraccionada (7500-10.000 UI via subcutânea cada 12h no primeiro trimestre; 10.000 U por via subcutânea, a cada 12h nos segundo e terceiro trimestre, ou a cada 8-12h ajustada para manter o meio-intervalo de TPPA * 1-5 vezes a média do controle); ou • HBPM (doses profiláticas habituais)
SAAF com trombose	<p>Baixas doses de aspirina com:</p> <ul style="list-style-type: none"> • A heparina não fraccionada (por via subcutânea a cada 8-12 h ajustada para manter o TPPA * o meio-intervalo ou concentração de heparina (atividade anti-Xa)* na gama terapêutica); ou • HBPM (dose terapêutica habitual: a enoxaparina 1 mg/kg por via subcutânea, ou dalteparina 100 U/kg por via subcutânea a cada 12h; ou a enoxaparina 1-5 mg/kg/dia via subcutânea, ou dalteparina 200 U/kg/dia via subcutânea) †

SAAF: síndrome do anticorpo antifosfolípideo. TPPA = tempo de tromboplastina parcial ativada. HBPM = heparina de baixo peso molecular. *As mulheres sem Anticoagulante Lúpico com TPPA normal pode ser monitorado com TPPA. Mulheres com Anticoagulante Lúpico deve ter monitoramento com anti-fator Xa. † necessidade de ajustes de dose ao longo de gravidez permanece controversia (Bates 2008); Alguns especialistas argumentam que, na ausência de uma melhor evidência, é prudente monitorar as concentrações de anti-fator Xa e HBPM a cada 4-6h após a injeção com ajuste da dose para manter a concentração terapêutica do anti-fator Xa (0,6- 1,0 U/ml, se em esquema de duas vezes por dia é utilizado, ligeiramente mais elevado se o esquema escolhido é de uma vez por dia).

Adaptado de Ruiz-Irastorza e colaboradores, 2010 [212]

observaram diferenças na comparação do uso da heparina não fracionada (HNF) com HBPM quando combinados com a aspirina [220,221]. Diversos relatos de estudos observacionais apresentaram taxas de sucesso de gravidez de 79-100% com o uso exclusivo de BDA [213,222–224]. Os resultados de meta-análise [225] mostraram que o uso de BDA contribuiu para desfechos melhores das manifestações clínicas obstétricas nas pacientes com SAAF em relação à população obstétrica normal. As controvérsias entre os estudos existem, porém, a revisão sistemática da *Cochrane* de 2005 teve como conclusão que o melhor tratamento entre as pacientes com SAAF é o uso combinado de HBPM e BDA [226]. No entanto, as diretrizes de especialistas recomendam tanto o uso combinado de BDA com HBPM ou BDA com HNF [227]. O uso de apenas BDA em determinados casos não pode ser descartado [212].

JUSTIFICATIVA

A etiologia do aborto recorrente muitas vezes não é esclarecida devida sua complexidade e heterogeneidade e a pesquisa da Síndrome do Anticorpo Antifosfolípídeo tem diminuído essas indeterminações. Geralmente é no propósito da elucidação do aborto recorrente que o diagnóstico da Síndrome do Anticorpo Antifosfolípídeo acontece, principalmente após as frustrações emocionais das consecutivas perdas gestacionais. Portanto, identificar e tratar a Síndrome do Anticorpo Antifosfolípídeo contribui para melhores resultados na gestação tanto em relação à qualidade de vida materna quanto a infantil.

Notavelmente, alguns desafios referentes à padronização dos critérios laboratoriais para o diagnóstico da Síndrome do Anticorpo Antifosfolípídeo ainda persistem, como a grande variedade de kits comerciais disponíveis no mercado e de técnicas *in-house*, que favorecem uma variedade de resultados, dificultando a comparação, e assim comprometem avanços na compreensão da síndrome.

Diante da grande produção de pesquisas relacionando anticorpos antifosfolípídeos e as morbidades na gestação, o desenvolvimento de uma revisão sistemática foi conveniente para investigar a relação da pesquisa dos anticorpos antifosfolípídeos no diagnóstico da Síndrome do Anticorpo Antifosfolípídeo para monitorização de complicações obstétricas, como o aborto recorrente.

OBJETIVOS

GERAL

O objetivo do estudo foi compreender melhor a Síndrome do Anticorpo Antifosfolípideo e o aborto recorrente a partir de um estudo de revisão sistemática da literatura.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar os principais anticorpos antifosfolípeos pesquisados na Síndrome do Anticorpo Antifosfolípideo;
- Identificar os principais métodos utilizados na pesquisa dos principais anticorpos antifosfolípeos e seus os pontos de corte/ razão positivos;
- Identificar a frequência anticorpos antifosfolípeos pesquisados;
- Identificar a relação de anticorpo antifosfolípeos específicos e o aborto recorrente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] G.R. Hughes, Thrombosis, abortion, cerebral disease, and the lupus anticoagulant., Br. Med. J. (Clin. Res. Ed). 287 (1983) 1088.
- [2] A. Wassermann, A. Neisser, C. Bruck, Eine serodiagnostische reaktion bei syphilis, DMW-Deutsche Medizinische Wochenschrift. 32 (1906) 745–746.
- [3] M.C. Pangborn, A New Serologically Active Phospholipid from Beef Heart, Exp. Biol. Med. 48 (1941) 484–486.
- [4] H. Gorki, V. Malinovski, R.D.L. Stanbridge, The antiphospholipid syndrome and heart valve surgery, Eur. J. Cardio-Thoracic Surg. 33 (2008) 168–181.
- [5] J.A. McIntyre, D.R. Wagenknecht, W.P. Faulk, Antiphospholipid antibodies: discovery, definitions, detection and disease, Prog. Lipid Res. 42 (2003) 176–237.
- [6] A.R. Castro, W.E. Morrill, W.A. Shaw, D.C. Gale, M.M. Park, L.A. Peregrino-Ferreira, M.L. Bazzo, V. Pope, Use of synthetic cardiolipin and lecithin in the antigen used by the venereal disease research laboratory test for serodiagnosis of syphilis, Clin. Diagn. Lab. Immunol. 7 (2000) 658–661.
- [7] R.D. Catterall, Biological false positive reactions and systemic disease, in: Ninth Symp. Adv. Med., Pitman Medical, London, (1973) 97–111.
- [8] R.A. Nelson, M.M. Mayer, Immobilization of Treponema pallidum in vitro by antibody produced in syphilitic infection, J. Exp. Med. 89 (1949) 369–393.

- [9] J.G. Hanly, Antiphospholipid syndrome: an overview, *Can. Med. Assoc. J.* 168 (2003) 1675–1682.
- [10] J.R. Haserick, R. Long, Systemic lupus erythematosus preceded by false-positive serologic tests for syphilis: presentation of five cases, *Ann. Intern. Med.* 37 (1952) 559–565.
- [11] C.M. Celli, A.E. Gharavi, Origin and pathogenesis of antiphospholipid antibodies, *Brazilian J. Med. Biol. Res.* 31 (1998) 723–732.
- [12] J.E. Moore, C.F. Mohr, Biologically false positive serologic tests for syphilis: type, incidence, and cause, *J. Am. Med. Assoc.* 150 (1952) 467–473.
- [13] E.M. Tan, A.S. Cohen, J.F. Fries, A.T. Masi, D.J. Mcshane, N.F. Rothfield, J.G. Schaller, N. Talal, R.J. Winchester, The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus, *Arthritis Rheum.* 25 (1982) 1271–1277.
- [14] C.L. Conley, A hemorrhagic disorder caused by circulating anticoagulant in patients with disseminated lupus erythematosus, *J Clin Invest.* 31 (1952) 621–622.
- [15] D.I. Feinstein, S.I. Rapaport, Acquired inhibitors of blood coagulation., *Prog. Hemost. Thromb.* 1 (1971) 75–95.
- [16] B. Jude, J. Goudemand, I. Dolle, C. Caron, A. Watel, C. Tiry, A. Cosson, Lupus anticoagulant: a clinical and laboratory study of 100 cases, *Clin. Lab. Haematol.* 10 (1988) 41–51.
- [17] C.B. Colaco, K.B. Elkon, A.E. Gharavi, G.R. V Hughes, The Lupus Anticoagulant-clinical and Laboratory Associations, In: *Annals of the Rheumatic Diseases*, London, (1983) 228.
- [18] A.B. Laurell, I.M. Nilsson, Hypergam-maglobulinemia, circulating Anticoagulant, and Biologic False Positive Wassermann Reaction. A Study in Two Cases., *J. Lab. Clin. Med.* 49 (1957) 694–707.
- [19] E.J.W. Bowie, J.H. Thompson, C.A. Pascuzzi, C.A. Owen, Thrombosis in systemic lupus erythematosus despite circulating anticoagulants, *J. Lab. Clin. Med.* 62 (1963) 416–430.
- [20] B.G. Firkin, M.A. Howard, N. Radford, Possible relationship between lupus inhibitor and recurrent abortion in young women, *Lancet.* 316 (1980) 366.
- [21] L. Carreras, S. Machin, R. Deman, G. Defreyn, J. Vermylen, B. Spitz, A. Van Assche, Arterial thrombosis, intrauterine death and “lupus” anticoagulant: detection of immunoglobulin interfering with prostacyclin formation, *Lancet.* 317 (1981) 244–246.
- [22] A. Manoharan, L. Gibson, B. Rush, B.J. Feery, Recurrent venous thrombosis with a

- “lupus” coagulation inhibitor in the absence of systemic lupus, *Aust. N. Z. J. Med.* 7 (1977) 422–426.
- [23] J.R. Mueh, K.D. Herbst, S.I. Rapaport, Thrombosis in patients with the lupus anticoagulant, *Ann. Intern. Med.* 92 (1980) 156–159.
- [24] M.L. Boey, C.B. Colaco, A.E. Gharavi, K.B. Elkon, S. Loizou, G.R. Hughes, Thrombosis in systemic lupus erythematosus: striking association with the presence of circulating lupus anticoagulant., *Br Med J* 287 (1983) 1021–1023.
- [25] E.N. Harris, History of the Antiphospholipid Syndrome, *Rev. Colomb. Reumatol.* 16 (2009) 326–329.
- [26] M.D. Lockshin, T. Qamar, R.A. Levy, Anticardiolipin and related antibodies: thrombosis and fetal death, *Pregnancy, Autoimmun. Connect. Disord.* (1990) 185–211.
- [27] A.E. Gharavi, W.A. Wilson, The syndrome of thrombosis, thrombocytopenia, and recurrent spontaneous abortions associated with antiphospholipid antibodies: Hughes syndrome, *Lupus.* 5 (1996) 343–344.
- [28] W.H. Kutteh, C.D. Hinote, Antiphospholipid antibody syndrome, *Obstet. Gynecol. Clin. North Am.* 41 (2014) 113–132.
- [29] W.A. Wilson, A.E. Gharavi, T. Koike, M.D. Lockshin, D.W. Branch, J. Piette, R. Brey, R. Derksen, E.N. Harris, G.R. V Hughes, D. a Triplett, M. a Khamashta, International Consensus Statement on Preliminary Classification Criteria for Definite Antiphospholipid Syndrome, *Arthritis Rheum.* 42 (1999) 1309–1311.
- [30] S. Miyakis, M.D. Lockshin, T. Atsumi, D.W. Branch, R.L. Brey, R. Cervera, R. Derksen, P.G. De Groot, T. Koike, P.L. Meroni, International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS), *J. Thromb. Haemost.* 4 (2006) 295–306.
- [31] T. Mehrani, M. Petri, Epidemiology of the antiphospholipid syndrome, *Handb. Syst. Autoimmune Dis.* 10 (2009) 13–34.
- [32] L. Andreoli, C.B. Chighizola, A. Banzato, G.J. Pons-Estel, G.R. Jesus, D. Erkan, Estimated frequency of antiphospholipid antibodies in patients with pregnancy morbidity, stroke, myocardial infarction, and deep vein thrombosis: a critical review of the literature, *Arthritis Care Res.* 65 (2013) 1869–1873.
- [33] R. Cervera, J. Piette, J. Font, M.A. Khamashta, Y. Shoenfeld, M.T. Camps, S. Jacobsen, G. Lakos, A. Tincani, I. Kontopoulou-Griva, Antiphospholipid syndrome: clinical and immunologic manifestations and patterns of disease expression in a cohort of 1,000 patients, *Arthritis Rheum.* 46 (2002) 1019–1027.

- [34] M. Kaul, D. Erkan, L. Sammaritano, M.D. Lockshin, Assessment of the 2006 revised antiphospholipid syndrome classification criteria, *Ann. Rheum. Dis.* 66 (2007) 927–930.
- [35] J.A. Girón-González, E.G. del Río, C. Rodríguez, J. Rodríguez-Martorell, A. Serrano, Antiphospholipid syndrome and asymptomatic carriers of antiphospholipid antibody: prospective analysis of 404 individuals., *J. Rheumatol.* 31 (2004) 1560–1567.
- [36] J. Castro-Marrero, E. Balada, M. Vilardell-Tarrés, J. Ordi-Ros, Genetic risk factors of thrombosis in the antiphospholipid syndrome, *Br. J. Haematol.* 147 (2009) 289–296.
- [37] G.D. Sebastiani, M. Galeazzi, G. Morozzi, R. Marcolonao, The immunogenetics of the antiphospholipid syndrome, anticardiolipin antibodies, and lupus anticoagulant, in: *Semin. Arthritis Rheum.* Elsevier. (1996) 414–420.
- [38] P.L. Meroni, Pathogenesis of the antiphospholipid syndrome: an additional example of the mosaic of autoimmunity, *J. Autoimmun.* 30 (2008) 99–103.
- [39] Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss: A committee opinion, *Fertil. Steril.* 99 (2013) 63.
- [40] Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia, *Manual de Orientação Assistência ao Abortamento, Parto e Puerpério*, São Paulo. Brasil. (2010).
- [41] W.H. Kutteh, N.S. Rote, R. Silver, Antiphospholipid antibodies and reproduction: the antiphospholipid antibody syndrome, *Am. J. Reprod. Immunol.* 41 (1999) 133–152.
- [42] D. Schust, J. Hill, *Recurrent pregnancy loss.*, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia (2002).
- [43] Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, What is recurrent pregnancy loss (RPL)?, *Fact Sheet*, 205 (2016) 1–2.
- [44] J. Cecatti, E.M. Tintori, D.A. Yela, M.L.S. Queiroz, Anticorpos anticardiolipina entre gestantes com óbito fetal, *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.* 2 (2000) 101–106.
- [45] Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas Estratégicas, *Gestação de Alto Risco Manual Técnico*, (2010) 302.
- [46] R.S. Rai, L. Regan, K. Clifford, W. Pickering, M. Dave, I. Mackie, T. McNally, H. Cohen, Immunology: Antiphospholipid antibodies and β 2-glycoprotein-I in 500 women with recurrent miscarriage: results of a comprehensive screening approach, *Hum. Reprod.* 10 (1995) 2001–2005.
- [47] F. Cunningham, K. Leveno, S. Bloom, J. Hauth, D. Rouse, *Connective-Tissue Disorders.*, in: McGraw-Hill (Ed.), *Williams Obstet.*, USA, (2010).

- [48] G. Ruiz-Irastorza, M.A. Khamashta, The treatment of antiphospholipid syndrome: a harmonic contrast, *Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.* 21 (2007) 1079–1092.
- [49] C.A. Laskin, K.A. Spitzer, C.A. Clark, M.R. Crowther, J.S. Ginsberg, G.A. Hawker, J.C. Kingdom, J. Barrett, M. Gent, Low molecular weight heparin and aspirin for recurrent pregnancy loss: Results from the randomized, controlled HepASA trial, *J. Rheumatol.* 36 (2009) 279–287.
- [50] E.A. Figueiró-Filho, Eficácia de intervenção com enoxaparina baseada em sistema de pontuação nos desfechos perinatais de gestantes com trombofilias, *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.* 79080 (2012) 190.
- [51] G.T. Nahass, Antiphospholipid antibodies and the antiphospholipid antibody syndrome, *J. Am. Acad. Dermatol.* 36 (1997) 149–171.
- [52] M. Gattorno, A. Buoncompagni, A.C. Molinari, G.C. Barbano, G. Morreale, F. Stalla, P. Picco, P.G. Mori, V. Pistoia, Antiphospholipid antibodies in paediatric systemic lupus erythematosus, juvenile chronic arthritis and overlap syndromes: SLE patients with both lupus anticoagulant and high-titre anticardiolipin antibodies are at risk for clinical manifestations related, *Rheumatology.* 34 (1995) 873–881.
- [53] A. Tincani, L. Andreoli, C. Chighizola, P.L. Meroni, A. Tincani, L. Andreoli, C. Chighizola, P.L. Meroni, The interplay between the antiphospholipid syndrome and systemic lupus erythematosus, *Autoimmunity.* 42 (2009) 257–259.
- [54] C.S. de O. Ourique, Patogenia e Abordagem Terapêutica do Síndrome Antifosfolipídico na Gravidez, *Inst. Ciênc. Biomed. Abel Salazar*, <https://repositorioaberto.up.pt/bitstream/10216/52818/2/TeseMestradoCarolinaOurique.pdf>, (accessed 26.11.16).
- [55] H. Motak-pochrzęst, A. Malinowski, The occurrence of immunological disturbances in patients with recurrent miscarriage (RM) of unknown etiology, *Neuroendocrinol. Lett.* 34 (2013) 701–707.
- [56] D. Lončar, Anticardiolipin antibodies in pathogenesis of infertility, *Vojnosanit. Pregl.* 67 (2010) 216–219.
- [57] L. Chen, S. Quan, X.H. Ou, L. Kong, Decreased endometrial vascularity in patients with antiphospholipid antibodies-associated recurrent miscarriage during midluteal phase, *Fertil. Steril.* 98 (2012) 1495–1502.e1.
- [58] K. Roye-Green, J. Frederick, G. Wharfe, E. Choo- Kang, V. Dacosta, H. Fletcher, M. Smikle, Antiphospholipid and other autoantibodies in a cohort of habitual aborters and healthy multiparous women in Jamaica, *Hum. Antibodies.* 20 (2011) 1–5.

- [59] M.S. Sater, R.R. Finan, F.M. Abu-Hijleh, T.M. Abu-Hijleh, W.Y. Almawi, Antiphosphatidylserine, anti-cardiolipin, anti- β 2 glycoprotein i and anti-prothrombin antibodies in recurrent miscarriage at 8-12 gestational weeks, *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 163 (2012) 170–174.
- [60] M. Petri, Pathogenesis and Treatment of the Antiphospholipid Antibody Syndrome, *Med. Clin. North Am.* 81 (1997) 151–177.
- [61] S. Welsch, D.W. Branch, Antiphospholipid syndrome in pregnancy. Obstetric concerns and treatment., *Rheum. Dis. Clin. North Am.* 23 (1997) 71–84.
- [62] T.F. Porter, J.R. Scott, Evidence-based care of recurrent miscarriage, *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* 19 (2005) 85–101.
- [63] C. Galarza-Maldonado, M.R. Kourilovitch, O.M. Pérez-Fernández, M. Gaybor, C. Cordero, S. Cabrera, N.F. Soroka, Obstetric antiphospholipid syndrome, *Autoimmun. Rev.* 11 (2012) 288–295.
- [64] I. Subrt, Z. Ulcova-Gallova, M. Cerna, M. Hejnalova, J. Slovanova, K. Bibkova, Z. Micanova, Recurrent Pregnancy Loss, Plasminogen Activator Inhibitor-1 (-675) 4G/5G Polymorphism and Antiphospholipid Antibodies in Czech Women, *Am. J. Reprod. Immunol.* 70 (2013) 54–58.
- [65] E. Van Den Boogaard, D.M. Cohn, J.C. Korevaar, F. Dawood, R. Vissenberg, S. Middeldorp, M. Goddijn, R.G. Farquharson, Number and sequence of preceding miscarriages and maternal age for the prediction of antiphospholipid syndrome in women with recurrent miscarriage, *Fertil. Steril.* 99 (2013) 188–192.
- [66] C.R. Jaslow, J.L. Carney, W.H. Kutteh, Diagnostic factors identified in 1020 women with two versus three or more recurrent pregnancy losses, *Fertil. Steril.* 93 (2010) 1234–1243
- [67] Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, Evaluation and treatment of recurrent pregnancy loss: a committee opinion, *Fertil. Steril.* 98 (2012) 1103–1111.
- [68] The American College of Obstetricians and Gynecologists, Practice Bulletin No. 132: Antiphospholipid syndrome, *Obstet. Gynecol.* 120 (2012) 1514–21.
- [69] L. Opatrny, M. David, S.R. Kahn, I. Shrier, E. Rey, Association between antiphospholipid antibodies and recurrent fetal loss in women without autoimmune disease: a metaanalysis., *J. Rheumatol.* 33 (2006) 2214–2221.
- [70] D.A. Triplett, Antiphospholipid antibodies., *Arch. Pathol. Lab. Med.* 126 (2002) 1424–1429.

- [71] A. Tincani, F. Allegri, M. Sanmarco, M. Cinquini, M. Taglietti, G. Balestrieri, T. Koike, K. Ichikawa, P. Meroni, M.C. Boffa, Anticardiolipin antibody assay: A methodological analysis for a better consensus in routine determinations: A cooperative project of the European Antiphospholipid Forum, *Thromb. Haemost.* 86 (2001) 575–583.
- [72] E.J. Favaloro, R. Silvestrini, Assessing the usefulness of anticardiolipin antibody assays: A cautious approach is suggested by high variation and limited consensus in multilaboratory testing, *Am. J. Clin. Pathol.* 118 (2002) 548–557.
- [73] J. Alijotas-Reig, R. Ferrer-Oliveras, M.J. Rodrigo-Anoro, I. Farran-Codina, L. Cabero-Roura, M. Vilardell-Tarres, Anti- β 2-glycoprotein-I and anti-phosphatidylserine antibodies in women with spontaneous pregnancy loss, *Fertil. Steril.* 93 (2010) 2330–2336.
- [74] C. Stern, L. Chamley, L. Hale, M. Kloss, A. Speirs, H.W.G. Baker, Antibodies to B2 glycoprotein I are associated with in vitro fertilization implantation failure as well as recurrent miscarriage: Results of a prevalence study, *Fertil. Steril.* 70 (1998) 938–944.
- [75] M. Galli, D. Luciani, G. Bertolini, T. Barbui, Anti- β 2-glycoprotein I, antiprothrombin antibodies, and the risk of thrombosis in the antiphospholipid syndrome, *Blood.* 102 (2003) 2717–2723.
- [76] G. Reber, A. Tincani, M. Sanmarco, P. De Moerloose, M.C. Boffa, Proposals for the measurement of anti- β 2-glycoprotein I antibodies. Standardization Group of the European Forum on Antiphospholipid Antibodies, *J. Thromb. Haemost.* 2 (2004) 1860–1862.
- [77] R.R. Forastiero, M.E. Martinuzzo, G.S. Cerrato, L.C. Kordich, L.O. Carreras, Relationship of anti beta2-glycoprotein I and anti prothrombin antibodies to thrombosis and pregnancy loss in patients with antiphospholipid antibodies., *Thromb. Haemost.* 78 (1997) 1008–1014.
- [78] J.C. Gris, I. Quere, M. Sanmarco, B. Boutiere, E. Mercier, J. Amiral, A.M. Hubert, S. Ripart-Neveu, M. Hoffet, M.L. Tailland, O. Rousseau, F. Monpeyroux, M. Dauzat, J. Sampol, J.P. Daures, J. Berlan, P. Mares, Antiphospholipid and antiprotein syndromes in non-thrombotic, non-autoimmune women with unexplained recurrent primary early foetal loss. The Nimes Obstetricians and Haematologists Study--NOHA., *Thromb. Haemost.* 84 (2000) 228–236.
- [79] D. Faden, A. Tincani, P. Tanzi, L. Spatola, A. Lojaco, M. Tarantini, G. Balestrieri, Anti-beta2-glycoprotein I antibodies in a general obstetric population: preliminary

- results on the prevalence and correlation with pregnancy outcome. Anti- β 2 glycoprotein I antibodies are associated with some obstetrical complications, mainly preeclampsia, *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 73 (1997) 37–42.
- [80] E.Y. Lee, C.-K. Lee, T.H. Lee, S.M. Chung, S.H. Kim, Y.S. Cho, B. Yoo, H.-B. Moon, Does the anti- β 2-glycoprotein I antibody provide additional information in patients with thrombosis?, *Thromb. Res.* 111 (2003) 29–32.
- [81] R.M. Lee, W. Emlen, J.R. Scott, D.W. Branch, R.M. Silver, Anti- β 2-glycoprotein I antibodies in women with recurrent spontaneous abortion, unexplained fetal death, and antiphospholipid syndrome, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 181 (1999) 642–648.
- [82] R.M. Lee, D.W. Branch, R.M. Silver, Immunoglobulin A anti- β 2-glycoprotein antibodies in women who experience unexplained recurrent spontaneous abortion and unexplained fetal death, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 185 (2001) 748–753.
- [83] R.M. Lee, M.A. Brown, D.W. Branch, K. Ward, R.M. Silver, Anticardiolipin and Anti- β 2-Glycoprotein-I Antibodies in Preeclampsia, *Obstet. Gynecol.* 102 (2003) 294–300.
- [84] G. Reber, I. Schousboe, A. Tincani, M. Sanmarco, T. Kveder, P. de Moerloose, M.-C. Boffa, J. Arvieux, Inter-laboratory Variability of Anti- β 2-glycoprotein I Measurement A Collaborative Study in the Frame of the European Forum on Antiphospholipid Antibodies Standardization Group, *Thromb. Haemost.* 88 (2002) 66–73.
- [85] G. Obermoser, W. Bitterlich, F. Kunz, N.T. Sepp, Clinical significance of anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I antibodies., *Int. Arch. Allergy Immunol.* 135 (2004) 148–153.
- [86] M.J. Nash, R.S. Camilleri, S. Kunka, I.J. Mackie, S.J. Machin, H. Cohen, The anticardiolipin assay is required for sensitive screening for antiphospholipid antibodies, *J. Thromb. Haemost.* 2 (2004) 1077–1081.
- [87] M. Galli, D. Luciani, G. Bertolini, T. Barbui, Lupus anticoagulants are stronger risk factors for thrombosis than anticardiolipin antibodies in the antiphospholipid syndrome: A systematic review of the literature, *Blood.* 101 (2003) 1827–1832.
- [88] M. Galli, T. Barbui, Antiphospholipid antibodies and pregnancy, *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* 16 (2003) 211–225.
- [89] I. Jennings, M. Greaves, I.J. Mackie, S. Kitchen, T.A.L. Woods, E.F. Preston, UK NEQAS, Lupus anticoagulant testing: improvements in performance in a UK NEQAS proficiency testing exercise after dissemination of national guidelines on laboratory methods, *Br. J. Haematol.* 119 (2002) 364–369.

- [90] J. Arnout, P. Meijer, J. Vermeylen, Lupus anticoagulant testing in Europe: An analysis of results from the first European Concerted Action on Thrombophilia (ECAT) survey using plasmas spiked with monoclonal antibodies against human β 2-glycoprotein I, *Thromb. Haemost.* 81 (1999) 929–934.
- [91] H. Yamada, T. Atsumi, E.H. Kato, S. Shimada, M. Morikawa, H. Minakami, Prevalence of diverse antiphospholipid antibodies in women with recurrent spontaneous abortion, *Fertil. Steril.* 80 (2003) 1276–1278.
- [92] Z. Ulcova-Gallova, V. Krauz, P. Novakova, L. Milichovska, Z. Micanova, K. Bibkova, R. Sucha, J. Turek, M. Balvin, Z. Rokyta, Anti-phospholipid antibodies against phosphatidylinositol, and phosphatidylserine are more significant in reproductive failure than antibodies against cardiolipin only, *Am. J. Reprod. Immunol.* 54 (2005) 112–117.
- [93] D.W. Branch, T.F. Porter, L. Rittenhouse, S. Caritis, B. Sibai, B. Hogg, M.D. Lindheimer, M. Klebanoff, C. MacPherson, J.P. VanDorsten, M. Landon, R. Paul, M. Miodovnik, P. Meis, G. Thurnau, Antiphospholipid antibodies in women at risk for preeclampsia, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 184 (2001) 825–834.
- [94] I. Subrt, Z. Ulcova-Gallova, K. Bibkova, Z. Micanova, M. Hejnalova, M. Cerna, L. Hradecky, Z. Novotny, Recurrent pregnancy loss and frequency of eight antiphospholipid antibodies and genetic thrombophilic factors in Czech women, *Am. J. Reprod. Immunol.* 59 (2008) 193–200.
- [95] H. Yamada, T. Atsumi, G. Kobashi, C. Ota, E.H. Kato, N. Tsuruga, K. Ohta, S. Yasuda, T. Koike, H. Minakami, Antiphospholipid antibodies increase the risk of pregnancy-induced hypertension and adverse pregnancy outcomes, *J. Reprod. Immunol.* 79 (2009) 188–195.
- [96] T. Sugi, H. Matsubayashi, A. Inomo, L. Dan, T. Makino, Antiphosphatidylethanolamine antibodies in recurrent early pregnancy loss and mid-to-late pregnancy loss, *J. Obstet. Gynaecol. Res.* 30 (2004) 326–332.
- [97] T. Sugi, J. Katsunuma, S. ichiro Izumi, J.A. McIntyre, T. Makino, Prevalence and heterogeneity of antiphosphatidylethanolamine antibodies in patients with recurrent early pregnancy losses, *Fertil. Steril.* 71 (1999) 1060–1065.
- [98] J.-C. Gris, T. V Perneger, I. Quéré, E. Mercier, P. Fabbro-Peray, G. Lavigne-Lissalde, M. Hoffet, H. Déchaud, J.-C. Boyer, S. Ripart-Neveu, Antiphospholipid/antiprotein antibodies, hemostasis-related autoantibodies, and plasma homocysteine as risk factors for a first early pregnancy loss: a matched case-control study, *Blood.* 102 (2003) 3504–

- 3513.
- [99] M. Sanmarco, M.-C. Boffa, Antiphosphatidylethanolamine antibodies and the antiphospholipid syndrome., *Lupus*. 18 (2009) 920–3.
- [100] M. Karmochkine, M. Berard, J.C. Piette, P. Cacoub, M.F. Aillaud, J.R. Harlet, P. Godeau, M.C. Boffa, Antiphosphatidylethanolamine antibodies in systemic lupus erythematosus, *Lupus*. 2 (1993) 157–160.
- [101] M. Galli, T. Barbui, Antiprothrombin antibodies: detection and clinical significance in the antiphospholipid syndrome, *Blood*. 93 (1999) 2149–2157.
- [102] M. Galli, T. Barbui, Review: Prothrombin as cofactor for antiphospholipids, *Lupus*. 7 (1998) S37–S40.
- [103] T. Atsumi, M. Ieko, M.L. Bertolaccini, K. Ichikawa, A. Tsutsumi, E. Matsuura, T. Koike, Association of autoantibodies against the phosphatidylserine–prothrombin complex with manifestations of the antiphospholipid syndrome and with the presence of lupus anticoagulant, *Arthritis Rheum*. 43 (2000) 1982–1993.
- [104] a Hoxha, a Ruffatti, M. Tonello, a Bontadi, E. Salvan, a Banzato, V. Pengo, L. Punzi, Antiphosphatidylserine/prothrombin antibodies in primary antiphospholipid syndrome., *Lupus*. 21 (2012) 787–9.
- [105] J. Nojima, Y. Iwatani, E. Suehisa, H. Kuratsune, Y. Kanakura, The presence of antiphosphatidylserine/prothrombin antibodies as risk factor for both arterial and venous thrombosis in patients with systemic lupus erythematosus, *Haematologica*. 91 (2006) 699–702.
- [106] M.L. Bertolaccini, T. Atsumi, T. Koike, G.R. Hughes, M.A. Khamashta, Antiprothrombin antibodies detected in two different assay systems, *Preval. Clin. Significance Syst. Lupus Erythematosus. ThrombHaemost*. 93 (2005) 289–297.
- [107] Y. Sherer, S. Tartakover-Matalon, M. Blank, E. Matsuura, Y. Shoenfeld, Multiple Autoantibodies Associated with Autoimmune Reproductive Failure, *J. Assist. Reprod. Genet*. 20 (2003) 53–57.
- [108] L. V Rao, A.D. Hoang, S.I. Rapaport, Mechanism and effects of the binding of lupus anticoagulant IgG and prothrombin to surface phospholipid, *Blood*. 88 (1996) 4173–4182.
- [109] M.L. Bertolaccini, M.A. Khamashta, Laboratory diagnosis and management challenges in the antiphospholipid syndrome, *Lupus*. 15 (2006) 172–178.
- [110] A A. Tsutsumi, T. Atsumi, K. Ichikawa, H. Yamada, E.M.I. Hirayama Kato, S. Fujimoto, T. Koike, Anti-Phosphatidylserine/Prothrombin Antibodies are not

- Frequently Found in Patients with Unexplained Recurrent Miscarriages, *Am. J. Reprod. Immunol.* 46 (2001) 242–244.
- [111] A. Hoxha, A. Ruffatti, M. Pittoni, A. Bontadi, M. Tonello, E. Salvan, M. Plebani, L. Punzi, The clinical significance of autoantibodies directed against prothrombin in primary antiphospholipid syndrome, *Clin. Chim. Acta.* 413 (2012) 911–913.
- [112] M. Galli, Should we Include Anti-prothrombin Antibodies in the Screening for the Antiphospholipid Syndrome?, *J. Autoimmun.* 15 (2000) 101–105.
- [113] G. Espinosa, R. Cervera, J. Font, J. Reverter, Y. Shoenfeld, Mechanisms of thrombosis in the antiphospholipid syndrome, *Inmunología.* 22 (2003) 53–62.
- [114] J.S. Levine, D.W. Branch, J. Rauch, The antiphospholipid syndrome, *N. Engl. J. Med.* 346 (2002) 752–763.
- [115] D. Rigante, S. Gaspari, G. Bersani, A. Stabile, Anti-phospholipid syndrome: clinical spectrum and therapeutical/prophylactic strategies in the pediatric population., *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 12 (2008) 47–53.
- [116] C.G. Mackworth-Young, Antiphospholipid syndrome: multiple mechanisms., *Clin. Exp. Immunol.* 136 (2004) 393–401.
- [117] P.L. Meroni, N. Del Papa, M.O. Borghi, Antiphospholipid and antiendothelial antibodies, *Int. Arch. Allergy Immunol.* 111 (1996) 320–325.
- [118] J. Reverter, D. Tàssies, J. Font, M.A. Khamashta, K. Ichikawa, R. Cervera, G. Escolar, G.R. V Hughes, M. Ingelmo, A. Ordinas, Effects of human monoclonal anticardiolipin antibodies on platelet function and on tissue factor expression on monocytes, *Arthritis Rheum.* 41 (1998) 1420–1427.
- [119] D.M. Keeling, S.J. Campbell, I.J. Mackie, S.J. Machin, D.A. Isenberg, The fibrinolytic response to venous occlusion and the natural anticoagulants in patients with antiphospholipid antibodies both with and without systemic lupus erythematosus, *Br. J. Haematol.* 77 (1991) 354–359.
- [120] G.J. Ruiz-Argüelles, A. Ruíz-Argüelles, D. Alarcon-Segovia, C. Drenkard, A. Villa, J. Cabiedes, M. Presno-Bernal, M. Deleze, R. Ortiz-Lopez, J. Vazquez-Prado, Natural anticoagulants in systemic lupus erythematosus. Deficiency of protein S bound to C4bp associates with recent history of venous thromboses, antiphospholipid antibodies, and the antiphospholipid syndrome., *J. Rheumatol.* 18 (1991) 552–558.
- [121] A.L. Aron, A.E. Gharavi, Y. Shoenfeld, Mechanisms of action of antiphospholipid antibodies in the antiphospholipid syndrome, *Int. Arch. Allergy Immunol.* 106 (1995) 8–12.

- [122] W. Shi, B.H. Chong, C.N. Chesterman, Beta 2-glycoprotein I is a requirement for anticardiolipin antibodies binding to activated platelets: differences with lupus anticoagulants, *Blood*. 81 (1993) 1255–1262.
- [123] J.E. Joseph, P. Harrison, I.J. Mackie, D.A. Isenberg, S.J. Machin, Increased circulating platelet–leucocyte complexes and platelet activation in patients with antiphospholipid syndrome, systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis, *Br. J. Haematol.* 115 (2001) 451–459.
- [124] D.L. Robbins, S. Leung, D.J. Miller-Blair, V. Ziboh, Effect of anticardiolipin/beta2-glycoprotein I complexes on production of thromboxane A2 by platelets from patients with the antiphospholipid syndrome., *J. Rheumatol.* 25 (1998) 51–56.
- [125] C.G. Mackworth-Young, F. Andreotti, I. Harmer, S. Loizou, B.E. Pottinger, J.D. Pearson, G.J. Davies, A. Maseri, M.J. Walport, Endothelium-derived haemostatic factors and the antiphospholipid syndrome, *Rheumatology*. 34 (1995) 201–206.
- [126] P.L. Meroni, E. Raschi, M. Camera, C. Testoni, F. Nicoletti, A. Tincani, M.A. Khamashta, G. Balestrieri, E. Tremoli, D.C. Hess, Endothelial activation by aPL: a potential pathogenetic mechanism for the clinical manifestations of the syndrome, *J. Autoimmun.* 15 (2000) 237–240.
- [127] R. Simantov, J.M. LaSala, S.K. Lo, A.E. Gharavi, L.R. Sammaritano, J.E. Salmon, R.L. Silverstein, Activation of cultured vascular endothelial cells by antiphospholipid antibodies., *J. Clin. Invest.* 96 (1995) 2211.
- [128] N. Del Papa, L. Guidali, L. Spatola, P. Bonara, M.O. Borghi, A. Tincani, G. Balestrieri, P.L. Meroni, Relationship between anti-phospholipid and anti-endothelial cell antibodies III: beta 2 glycoprotein I mediates the antibody binding to endothelial membranes and induces the expression of adhesion molecules., *Clin. Exp. Rheumatol.* 13 (1994) 179–185.
- [129] O. Amengual, T. Atsumi, M.A. Khamashta, G.R. V Hughes, The role of the tissue factor pathway in the hypercoagulable state in patients with the antiphospholipid syndrome, *Thromb. Haemost.* 79 (1998) 276–281.
- [130] A.E. Gharavi, S.S. Pierangeli, M. Colden-Stanfield, X.W. Liu, R.G. Espinola, E.N. Harris, GDKV-induced antiphospholipid antibodies enhance thrombosis and activate endothelial cells in vivo and in vitro, *J. Immunol.* 163 (1999) 2922–2927.
- [131] J. George, M. Blank, Y. Levy, P. Meroni, M. Damianovich, A. Tincani, Y. Shoenfeld, Differential Effects of Anti- β 2-Glycoprotein I Antibodies on Endothelial Cells and on the Manifestations of Experimental Antiphospholipid Syndrome, *Circulation*. 97

- (1998) 900–906.
- [132] R.A.S. Roubey, Immunology of the antiphospholipid antibody syndrome, *Arthritis Rheum.* 39 (1996) 1444–1454.
- [133] S.L. Gonias, S. V Pizzo, The biochemistry of haemostasis, *Clin. Lab. Haematol.* 8 (1986) 281–306.
- [134] P.G. De Groot, D.A. Horbach, R. Derksen, Protein C and other cofactors involved in the binding of antiphospholipid antibodies: relation to the pathogenesis of thrombosis, *Lupus.* 5 (1996) 488–493.
- [135] P.C. Comp, L.E. DeBault, N.L. Esmon, C.T. Esmon, Human thrombomodulin is inhibited by IgG from two patients with non-specific anticoagulants, *Blood.* 62 (1983) 299a.
- [136] J.D. Oosting, R.H. Derksen, I.W. Bobbink, T.M. Hackeng, B.N. Bouma, P. de Groot, Antiphospholipid antibodies directed against a combination of phospholipids with prothrombin, protein C, or protein S: an explanation for their pathogenic mechanism?[see comments], *Blood.* 81 (1993) 2618–2625.
- [137] E. Marciniak, E.H. Romond, Impaired catalytic function of activated protein C: a new in vitro manifestation of lupus anticoagulant, *Blood.* 74 (1989) 2426–2432.
- [138] T. Atsumi, M.A. Khamashta, O. Amengual, S. Donohoe, I. Mackie, K. Ichikawa, T. Koike, G.R. V Hughes, Binding of anticardiolipin antibodies on the protein C via b2-glycoprotein I (b2-GPI): A possible mechanism in the inhibitory effect of antiphospholipid antibodies on the protein C system, *Clin. Exp. Immunol.* 112 (1998) 325–333.
- [139] P.R. Ames, C. Tommasino, L. Iannaccone, M. Brillante, R. Cimino, V. Brancaccio, Coagulation activation and fibrinolytic imbalance in subjects with idiopathic antiphospholipid antibodies--a crucial role for acquired free protein S deficiency., *Thromb. Haemost.* 76 (1996) 190–194.
- [140] M.A. Crowther, M. Johnston, J. Weitz, J.S. Ginsberg, Free protein S deficiency may be found in patients with antiphospholipid antibodies who do not have systemic lupus erythematosus., *Thromb. Haemost.* 76 (1996) 689–691.
- [141] Y. Sakata, S. Curriden, D. Lawrence, J.H. Griffin, D.J. Loskutoff, Activated protein C stimulates the fibrinolytic activity of cultured endothelial cells and decreases antiactivator activity, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 82 (1985) 1121–1125.
- [142] V.W. Van Hinsbergh, R.M. Bertina, A. Van Wijngaarden, N.H. Van Tilburg, J.J. Emeis, F. Haverkate, Activated protein C decreases plasminogen activator-inhibitor

- activity in endothelial cell-conditioned medium, *Blood*. 65 (1985) 444–451.
- [143] H.A. Andree, M.C. Stuart, W.T. Hermens, C.P. Reutelingsperger, H.C. Hemker, P.M. Frederik, G.M. Willems, Clustering of lipid-bound annexin V may explain its anticoagulant effect., *J. Biol. Chem.* 267 (1992) 17907–17912.
- [144] J. Matsuda, N. Saitoh, K. Gohchi, M. Gotoh, Anti-annexin V antibody in systemic lupus erythematosus patients with lupus anticoagulant and/or anticardiolipin antibody, *Am. J. Hematol.* 47 (1994) 56–58.
- [145] D. Voges, R. Berendes, A. Burger, P. Demange, W. Baumeister, R. Huber, Three-dimensional structure of membrane-bound annexin V: a correlative electron microscopy-X-ray crystallography study, *J. Mol. Biol.* 238 (1994) 199–213.
- [146] J.H. Rand, The antiphospholipid syndrome, *Annu. Rev. Med.* 54 (2003) 409–424.
- [147] J.H. Rand, X.-X. Wu, H.A.M. Andree, J.B.A. Ross, E. Rusinova, M.G. Gascon-Lema, C. Calandri, P.C. Harpel, Antiphospholipid antibodies accelerate plasma coagulation by inhibiting annexin-V binding to phospholipids: a “lupus procoagulant” phenomenon, *Blood*. 92 (1998) 1652–1660.
- [148] J.H. Rand, X.-X. Wu, P. Giesen, A possible solution to the paradox of the “lupus anticoagulant”: antiphospholipid antibodies accelerate thrombin generation by inhibiting annexin-V, *Thromb. Haemost.* 82 (1999) 1376–1377.
- [149] J.H. Rand, X.-X. Wu, H.A.M. Andree, C.J. Lockwood, S. Guller, J. Scher, P.C. Harpel, Pregnancy loss in the antiphospholipid-antibody syndrome—a possible thrombogenic mechanism, *N. Engl. J. Med.* 337 (1997) 154–160.
- [150] J.H. Rand, X.X. Wu, A.S. Quinn, D.J. Taatjes, The annexin A5-mediated pathogenic mechanism in the antiphospholipid syndrome: role in pregnancy losses and thrombosis, *Lupus*. 19 (2010) 460–469.
- [151] F. Violi, D. Ferro, G. Valesini, C. Quintarelli, M. Saliola, M.A. Grandilli, F. Balsano, Tissue plasminogen activator inhibitor in patients with systemic lupus erythematosus and thrombosis., *BMj*. 300 (1990) 1099–1102.
- [152] M. Cugno, M. Cabibbe, M. Galli, P.L. Meroni, S. Caccia, R. Russo, B. Bottasso, P.M. Mannucci, Antibodies to tissue-type plasminogen activator (tPA) in patients with antiphospholipid syndrome: evidence of interaction between the antibodies and the catalytic domain of tPA in 2 patients, *Blood*. 103 (2004) 2121–2126.
- [153] M.J. Sanfelippo, C.J. Drayna, Prekallikrein inhibition associated with the lupus anticoagulant: a mechanism of thrombosis, *Am. J. Clin. Pathol.* 77 (1982) 275–279.
- [154] D.A. Kandiah, S.A. Krilis, Beta2-glycoprotein I, *Lupus*. 3 (1994) 207–212.

- [155] D.W. Branch, Thoughts on the mechanism of pregnancy loss associated with the antiphospholipid syndrome, *Lupus*. 3 (1994) 275–280.
- [156] M. Greaves, Antiphospholipid antibodies and thrombosis, *Lancet*. 353 (1999) 1348–1353.
- [157] D. Vinatier, P. Dufour, M. Cosson, J.L. Houpeau, Antiphospholipid syndrome and recurrent miscarriages, *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 96 (2001) 37–50.
- [158] N. Di Simone, P.L. Meroni, N. Del Papa, E. Raschi, D. Caliandro, S. De Carolis, M.A. Khamashta, T. Atsumi, G.R. V Hughes, G. Balestrieri, Antiphospholipid antibodies affect trophoblast gonadotropin secretion and invasiveness by binding directly and through adhered β 2-glycoprotein I, *Arthritis Rheum.* 43 (2000) 140.
- [159] R. Creasy, R. Resnik, *Maternal-Fetal Medicine*, 4th ed., Saunders. Philadelphia. (1999).
- [160] M. Montenegro, M. Franco, *Patologia: Processos Gerais*, 4th ed., Atheneu, São Paulo, 2003.
- [161] N.J. Sebire, M. Backos, S. El Gaddal, R.D. Goldin, L. Regan, Placental pathology, antiphospholipid antibodies, and pregnancy outcome in recurrent miscarriage patients, *Obstet. Gynecol.* 101 (2003) 258–263.
- [162] G. Espinosa, R. Cervera, Antiphospholipid syndrome, *Arthritis Res. Ther.* 10 (2008) 1.
- [163] N.J. Sebire, H. Fox, M. Backos, R. Rai, C. Paterson, L. Regan, Defective endovascular trophoblast invasion in primary antiphospholipid antibody syndrome-associated early pregnancy failure, *Hum. Reprod.* 17 (2002) 1067–1071.
- [164] P. Bose, M. Kadyrov, R. Goldin, S. Hahn, M. Backos, L. Regan, B. Huppertz, Aberrations of early trophoblast differentiation predispose to pregnancy failure: lessons from the anti-phospholipid syndrome, *Placenta*. 27 (2006) 869–875.
- [165] J.T. Van Horn, C. Craven, K. Ward, D.W. Branch, R.M. Silver, Histologic features of placentas and abortion specimens from women with antiphospholipid and antiphospholipid-like syndromes, *Placenta*. 25 (2004) 642–648.
- [166] V.M. Abrahams, Mechanisms of antiphospholipid antibody-associated pregnancy complications, *Thromb. Res.* 124 (2009) 521–525.
- [167] S.S. Pierangeli, G. Girardi, M. Vega-Ostertag, X. Liu, R.G. Espinola, J. Salmon, Requirement of activation of complement C3 and C5 for antiphospholipid antibody-mediated thrombophilia, *Arthritis Rheum.* 52 (2005) 2120–2124.
- [168] V.M. Holers, G. Girardi, L. Mo, J.M. Guthridge, H. Molina, S.S. Pierangeli, R. Espinola, L.E. Xiaowei, D. Mao, C.G. Vialpando, Complement C3 activation is

- required for antiphospholipid antibody-induced fetal loss, *J. Exp. Med.* 195 (2002) 211–220.
- [169] G. Girardi, J. Berman, P. Redecha, L. Spruce, J.M. Thurman, D. Kraus, T.J. Hollmann, P. Casali, M.C. Carroll, R.A. Wetsel, Complement C5a receptors and neutrophils mediate fetal injury in the antiphospholipid syndrome, *J. Clin. Invest.* 112 (2003) 1644–1654.
- [170] C. Xu, D. Mao, V.M. Holers, B. Palanca, A.M. Cheng, H. Molina, A critical role for murine complement regulator *crry* in fetomaternal tolerance, *Science*. 287 (2000) 498–501.
- [171] H.J. Out, C.D. Kooijman, H.W. Bruinse, R.H.W.M. Derksen, Histopathological findings in placentae from patients with intra-uterine fetal death and anti-phospholipid antibodies, *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 41 (1991) 179–186.
- [172] M.S. Magid, C. Kaplan, L.R. Sammaritano, M. Peterson, M.L. Druzin, M.D. Lockshin, Placental pathology in systemic lupus erythematosus: a prospective study, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 179 (1998) 226–234.
- [173] P. Louzada Jr, S.M. Simon, J.C. Voltarelli, E.A. Donadi, Síndrome do anticorpo antifosfolípide, *Medicina (Ribeirão Preto)* 31 (1998) 305–315.
- [174] L.M.S. Duse, L.G. Freitas, D.R.A. Rios, S.C. Armond, M.S. Marcolino, Antiphospholipid syndrome: a clinical and laboratorial challenge, *Rev. Assoc. Med. Bras.* 60 (2014) 181–186.
- [175] D.W. Branch, M.A. Khamashta, Antiphospholipid syndrome: obstetric diagnosis, management, and controversies, *Obstet. Gynecol.* 101 (2003) 1333–1344.
- [176] G. Hughes, Hughes syndrome, *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 32 (2007) 3–11.
- [177] P.G. de Groot, Mechanisms of anti-phospholipid antibody formation and action, *Thromb. Res.* 127 (2011) S40–S42.
- [178] B. Robertson, M. Greaves, Antiphospholipid syndrome: an evolving story, *Blood Rev.* 20 (2006) 201–212.
- [179] D.A. Gastineau, F.J. Kazmier, W.L. Nichols, E.J. Bowie, Lupus anticoagulant: an analysis of the clinical and laboratory features of 219 cases, *Am. J. Hematol.* 19 (1985) 265–275.
- [180] W. Lim, Antiphospholipid antibody syndrome, *ASH Educ. Progr. B.* (2009) 233–239.
- [181] R.A. Asherson, R. Cervera, J.-C. Piette, J. Font, J.T. Lie, A. Burcoglu, K. Lim, F.J. Muñoz-Rodríguez, R.A. Levy, F. Boué, Catastrophic antiphospholipid syndrome. Clinical and laboratory features of 50 patients., *Medicine (Baltimore)*. 77 (1998) 195–

- 207.
- [182] E.F. Borba, E. Bonfá, R.A. Asherson, Catastrophic antiphospholipid syndrome (Asherson's Syndrome) revealed, *Rev. Bras. Reumatol.* 45 (2005) 374–381.
- [183] R.A. Asherson, R. Cervera, P.G. De Groot, D. Erkan, M.C. Boffa, J.C. Piette, M.A. Khamashta, Y. Shoenfeld, C.A.S.R.P. Group, Catastrophic antiphospholipid syndrome: international consensus statement on classification criteria and treatment guidelines, *Lupus*. 12 (2003) 530–534.
- [184] R.T. Urbanus, R.H.M.W. Derksen, P.G. de Groot, Current insight into diagnostics and pathophysiology of the antiphospholipid syndrome, *Blood Rev.* 22 (2008) 93–105.
- [185] V. Pengo, A. Ruffatti, C. Legnani, P. Gresele, D. Barcellona, N. Erba, S. Testa, F. Marongiu, E. Bison, G. Denas, Clinical course of high-risk patients diagnosed with antiphospholipid syndrome, *J. Thromb. Haemost.* 8 (2010) 237–242.
- [186] V. Pengo, A. Tripodi, G. Reber, J.H. Rand, T.L. Ortel, M. Galli, P.G. De Groot, Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection, *J. Thromb. Haemost.* 7 (2009) 1737–1740.
- [187] V. Pengo, A. Biasiolo, C. Pegoraro, U. Cucchini, F. Noventa, S. Iliceto, Antibody profiles for the diagnosis of antiphospholipid syndrome, *Thromb. Haemost.* 93 (2005) 1147–1152.
- [188] A. Ruffatti, M. Tonello, T. Del Ross, A. Cavazzana, C. Grava, F. Noventa, F. Tona, S. Iliceto, V. Pengo, Antibody profile and clinical course in primary antiphospholipid syndrome with pregnancy morbidity, *Thromb. Haemost.* 96 (2006) 337–342.
- [189] J. Swadźba, T. Iwaniec, A. Szczeklik, J. Musiał, Revised classification criteria for antiphospholipid syndrome and the thrombotic risk in patients with autoimmune diseases, *J. Thromb. Haemost.* 5 (2007) 1883–1889.
- [190] V. Pengo, A. Biasiolo, P. Gresele, F. Marongiu, N. Erba, F. Veschi, A. Ghirarduzzi, E. De Candia, B. Montaruli, S. Testa, Survey of lupus anticoagulant diagnosis by central evaluation of positive plasma samples, *J. Thromb. Haemost.* 5 (2007) 925–930.
- [191] V. Pengo, A. Biasiolo, P. Gresele, F. Marongiu, N. Erba, F. Veschi, A. Ghirarduzzi, E. De Candia, B. Montaruli, S. Testa, on behalf of participating centers of Italian Federation of Thrombosis Centers (FCSA). Survey on lupus anticoagulant diagnosis by central evaluation of positive plasma samples, *J Thromb Haemost.* 5 (2007) 925–930.
- [192] C. Neville, J. Rauch, J. Kassis, E.R. Chang, L. Joseph, M. Le Comte, P.R. Fortin, Thromboembolic risk in patients with high titre anticardiolipin and multiple antiphospholipid antibodies, *Thromb. Haemost.* 90 (2003) 108.

- [193] J.H. Rand, L.R. Wolgast, Dos and don'ts in diagnosing antiphospholipid syndrome, *ASH Educ. Progr. B.* (2012) 455–459.
- [194] E.A. Figueiró-filho, M.M. Vasconcelos, R.O. Souza, T.F. Silva, T.L. Maia, Síndrome do anticorpo antifosfolípido e gravidez, *Femina.* 35 (2007) 47–54.
- [195] F.C. Prado, J. Ramos and J.R. Valle, *Terapêutica, Atualização, 22ª Edição*, (2005).
- [196] R.C.W. Wong, E.J. Favaloro, A consensus approach to the formulation of guidelines for laboratory testing and reporting of antiphospholipid antibody assays, in: *Semin. Thromb. Hemost.* (2008) 361–372.
- [197] C. Male, D. Foulon, H. Hoogendoorn, P. Vegh, E. Silverman, M. David, L. Mitchell, Predictive value of persistent versus transient antiphospholipid antibody subtypes for the risk of thrombotic events in pediatric patients with systemic lupus erythematosus, *Blood.* 106 (2005) 4152–4158.
- [198] W. Derksen, D. Erkan, V. Kaplan, L. Sammaritano, S.S. Pierangeli, M.D. Lockshin, Real world experience with antiphospholipid antibodies (aPL): How stable are aPL over time?, in: *Thromb. Res.*, England, (2004) 635.
- [199] J. Topping, S. Quenby, R. Farquharson, R. Malia, M. Greaves, Marked variation in antiphospholipid antibodies during pregnancy: relationships to pregnancy outcome, *Hum. Reprod.* 14 (1999) 224–228.
- [200] M. Salazar-Páramo, L.J. Jara, A. Ramos, L. Barile, G. Machado, I. García-De La Torre, Longitudinal study of antinuclear and anticardiolipin antibodies in pregnant women with systemic lupus erythematosus and antiphospholipid syndrome, *Rheumatol. Int.* 22 (2002) 142–147.
- [201] M.T. McClain, M.R. Arbuckle, L.D. Heinlen, G.J. Dennis, J. Roebuck, M. V Rubertone, J.B. Harley, J.A. James, The prevalence, onset, and clinical significance of antiphospholipid antibodies prior to diagnosis of systemic lupus erythematosus, *Arthritis Rheum.* 50 (2004) 1226–1232.
- [202] H.P. McNeil, R.J. Simpson, C.N. Chesterman, S.A. Krilis, Anti-phospholipid antibodies are directed against a complex antigen that includes a lipid-binding inhibitor of coagulation: beta 2-glycoprotein I (apolipoprotein H)., *Proc. Natl. Acad. Sci.* 87 (1990) 4120–4124.
- [203] M. Galli, T. Barbui, P. Comfurius, C. Maassen, H.C. Hemker, R.F.A. Zwaal, E.M. Bevers, M.H. De Baets, P.J.C. van Breda-Vriesman, Anticardiolipin antibodies (ACA) directed not to cardiolipin but to a plasma protein cofactor, *Lancet.* 335 (1990) 1544–1547.

- [204] H. Wurm, β 2-Glycoprotein-I (apolipoprotein H) interactions with phospholipid vesicles, *Int. J. Biochem.* 16 (1984) 511–515.
- [205] R.A. Levy, E. de Meis, S. Pierangeli, An adapted ELISA method for differentiating pathogenic from nonpathogenic aPL by a beta 2 glycoprotein I dependency anticardiolipin assay, *Thromb. Res.* 114 (2004) 573–577.
- [206] J.E. Hunt, H.P. McNeil, G.J. Morgan, R.M. Cramer, S.A. Krilis, A phospholipid- β 2-glycoprotein I complex is an antigen for anticardiolipin antibodies occurring in autoimmune disease but not with infection, *Lupus.* 1 (1992) 75–81.
- [207] G. Reber, P. de Moerloose, Anti- β 2-glycoprotein I antibodies—When and how should they be measured?, *Thromb. Res.* 114 (2004) 527–531.
- [208] F. Ebeling, T. Pettersson, L. Muukkonen, E. Vahtera, V. Rasi, Beta-2-glycoprotein I antibodies in patients with thrombosis, *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 63 (2003) 111–118.
- [209] J. Ordi-Ros, P. Perez-Peman, J. Monasterio, Clinical and therapeutic aspects associated to phospholipid binding antibodies (lupus anticoagulant and anticardiolipin antibodies), *Pathophysiol. Haemost. Thromb.* 24 (1994) 165–174.
- [210] R.L. Bick, W.F. Baker, O antifosfolípido e as síndromes trombóticas, *Clin Med Am Norte.* 3 (1994) 685–702.
- [211] G. Ruiz-Irastorza, M.A. Khamashta, Lupus and pregnancy: ten questions and some answers, *Lupus.* 17 (2008) 416.
- [212] G. Ruiz-Irastorza, M. Crowther, W. Branch, M.A. Khamashta, Antiphospholipid syndrome, *Lancet.* 376 (2010) 1498–1509.
- [213] F. Carmona, M. Azulay, M. Creus, F. Fábregues, B. Puerto, J. Balasch, J. Font, R. Cervera, Risk factors associated with fetal losses in treated antiphospholipid syndrome pregnancies: a multivariate analysis, *Am. J. Reprod. Immunol.* 46 (2001) 274–279.
- [214] D.M. Cohn, M. Goddijn, S. Middeldorp, J.C. Korevaar, F. Dawood, R.G. Farquharson, Recurrent miscarriage and antiphospholipid antibodies: Prognosis of subsequent pregnancy, *J. Thromb. Haemost.* 8 (2010) 2208–2213.
- [215] D.L. Yetman, W.H. Kutteh, Antiphospholipid antibody panels and recurrent pregnancy loss: prevalence of anticardiolipin antibodies compared with other antiphospholipid antibodies, *Fertil. Steril.* 66 (1996) 540–546.
- [216] R. Rai, H. Cohen, M. Dave, L. Regan, Randomised controlled trial of aspirin and aspirin plus heparin in pregnant women with recurrent miscarriage associated with phospholipid antibodies (or antiphospholipid antibodies), *BMJ.* 314 (1997) 253–257.
- [217] S. Alalaf, Bemiparin versus low dose aspirin for management of recurrent early

- pregnancy losses due to antiphospholipid antibody syndrome, *Arch. Gynecol. Obstet.* 285 (2012) 641–647.
- [218] R.G. Farquharson, S. Quenby, M. Greaves, Antiphospholipid syndrome in pregnancy: a randomized, controlled trial of treatment, *Obstet. Gynecol.* 100 (2002) 408–413.
- [219] S.P. Kaandorp, M. Goddijn, J. a M. van der Post, B. a Hutten, H.R. Verhoeve, K. Hamulyák, B.W. Mol, N. Folkeringa, M. Nahuis, D.N.M. Papatsonis, H.R. Büller, F. van der Veen, S. Middeldorp, Aspirin plus heparin or aspirin alone in women with recurrent miscarriage., *N. Engl. J. Med.* 362 (2010) 1586–1596.
- [220] L.S. Noble, W.H. Kutteh, N. Lashey, R.D. Franklin, J. Herrada, Antiphospholipid antibodies associated with recurrent pregnancy loss: prospective, multicenter, controlled pilot study comparing treatment with low-molecular-weight heparin versus unfractionated heparin, *Fertil. Steril.* 83 (2005) 684–690.
- [221] M.D. Stephenson, P.J. Ballem, P. Tsang, S. Purkiss, S. Ensworth, E. Houlihan, M.H.H. Ensom, Treatment of antiphospholipid antibody syndrome (APS) in pregnancy: a randomized pilot trial comparing low molecular weight heparin to unfractionated heparin, *J. Obstet. Gynaecol. Canada.* 26 (2004) 729–734.
- [222] K.A. Granger, R.G. Farquharson, Review: Obstetric outcome in antiphospholipid syndrome, *Lupus.* 6 (1997) 509–513.
- [223] D.L. Huong, B. Wechsler, O. Bletry, D. Vauthier-Brouzes, G. Lefebvre, J.-C. Piette, A study of 75 pregnancies in patients with antiphospholipid syndrome., *J. Rheumatol.* 28 (2001) 2025–2030.
- [224] F.J. Muñoz-Rodríguez, J. Font, R. Cervera, J.C. Reverter, D. Tàssies, G. Espinosa, A. López-Soto, F. Carmona, J. Balasch, A. Ordinas, Clinical study and follow-up of 100 patients with the antiphospholipid syndrome, in: *Semin. Arthritis Rheum.*, Elsevier, 1999: pp. 182–190.
- [225] L.M. Askie, L. Duley, D.J. Henderson-Smart, L.A. Stewart, Antiplatelet agents for prevention of pre-eclampsia: a meta-analysis of individual patient data, *Lancet.* 369 (2007) 1791–1798.
- [226] M. Empson, M. Lassere, J. Craig, J. Scott, Prevention of recurrent miscarriage for women with antiphospholipid antibody or lupus anticoagulant., *Cochrane Database Syst. Rev.* (2005) CD002859.
- [227] S.M. Bates, I.A. Greer, I. Pabinger, S. Sofaer, J. Hirsh, Venous thromboembolism, thrombophilia, antithrombotic therapy, and pregnancy: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines, *Chest J.* 133 (2008) 844S–886S.

CAPÍTULO II

**Artigo: “ANTIPHOSPHOLIPID SYNDROME AND RECURRENT MISCARRIAGE:
A SYSTEMATIC REVIEW”**

ANTIPHOSPHOLIPID SYNDROME AND RECURRENT MISCARRIAGE: A SYSTEMATIC REVIEW

Thaís da Silva Santos¹; Andressa Lorena Ieque²; Hayalla Corrêa de Carvalho¹; Ana Maria Sell⁶; Maria Valdrinez Campana Lonardoni⁵; Izabel Galhardo Demarchi⁴; Quirino Alves de Lima Neto⁷; Jorge Juarez Vieira Teixeira³.

¹ Postgraduate Program in Biosciences and Physiopathology, State University Maringa, 5790 Colombo Avenue, - 87020-900 - Maringa, Brazil.

² Postgraduate Program in Health Sciences, State University Maringa, 5790 Colombo Avenue, - 87020-900 - Maringa, Brazil.

³ Postgraduate Program in Biosciences and Physiopathology, Department of Clinical Analyses and Biomedicine, State University Maringa, 5790 Colombo Avenue, - 87020-900 - Maringa, Brazil.

⁴ Postgraduate Program in Health Sciences, Department of Clinical Analyses and Biomedicine, State University Maringa, 5790 Colombo Avenue, - 87020-900 - Maringa, Brazil.

⁵ Department of Clinical Analyses and Biomedicine, State University Maringa, 5790 Colombo Avenue, - 87020-900 - Maringa, Brazil.

⁶ Department of Basic Health Sciences, State University of Maringa, 5790 Colombo Avenue, - 87020-900 - Maringa, Brazil.

⁷ Department of Cell Biology and Genetics, Center of Biological Sciences, State University Maringa, 5790 Colombo Avenue, - 87020-900 - Maringa, Brazil

* Corresponding author: Jorge Juarez V. Teixeira, PhD, Department of Clinical Analysis and Biomedicine, State University of Maringá, Ave Colombo, 5790, Maringá, Paraná CEP 87020-900, Brazil; Email: jjvteixeira@uem.br

Abstract

Antiphospholipid syndrome (APS) is an autoimmune condition that is associated with thrombosis and morbidity in pregnancy. The exact mechanisms by which these associations occur appear to be heterogeneous and are not yet well understood. The aim of this study was to identify and analyze publications in recent years to better understand the diagnosis and its contribution to monitoring APS among women with recurrent miscarriage (RM). This systematic review was conducted using the PubMed and Web of Knowledge databases, with articles published between 2010 and 2014, according to the PRISMA statement. Of the 830 identified studies, nine were selected. Most of the studies reported an association between recurrent miscarriage and specific antiphospholipid antibodies anticardiolipin antibodies (aCL), lupus anticoagulant (LA) and antiphosphatidylserine (aPS) which showed a strong relationship with RM. The positivity of aPL among the included studies ranged from 18% to 54.6%. Found that the lack of standardization cutoff value in testing for antiphospholipid antibodies. Strong relationship of aCL, LA and aPS with RM was observed, these may be useful in monitoring complications during pregnancy. However, standardization in execution and interpretation of the tests are necessary for benefit of patients.

Keywords: Antiphospholipid antibody; Antiphospholipid syndrome; Habitual abortion; Pregnancy Complications;

Abbreviations: APS, antiphospholipid syndrome; aPL, antiphospholipid antibodies, aCLs, anticardiolipin antibodies; LA, lupus anticoagulant; a β 2GPI: anti- β 2-glycoprotein I antibodies; RM, recurrent miscarriage; ELISAs, enzyme-linked immunosorbent assays; aPE, antiphosphatidylethanolamine; aPS, antiphosphatidylserine; aPI, antiphosphatidylinositol; aPG, antiphosphatidylglycerol; PAI-1, plasminogen activator inhibitor-1; LMWH, low-molecular-weight heparin; β 2-GPI, β 2-glycoprotein I; aPT, anti-prothrombin.

1. Introduction

Antiphospholipid syndrome (APS) is an autoimmune condition that is characterized by the production of antiphospholipid antibodies (aPL), associated with thrombosis and morbidity in pregnancy [1]. The major aPL that are found in APS are anticardiolipin antibodies (aCL), lupus anticoagulant (LA), and anti- β 2-glycoprotein I antibodies (a β 2GPI) [1,2]. The international Sapporo criteria (1999), revised in 2006, emphasizes the diagnosis of APS when at least one of the major aPL is detected on two or more occasions in a 12-week interval between measurements and associated with a clinical condition, such as thrombosis or morbidity in pregnancy. Morbidity in pregnancy includes unexplained stillbirths at ≥ 10 weeks of gestation, preterm delivery due to eclampsia, preeclampsia, or placental insufficiency, and three or more consecutive miscarriages [2].

The APS is associated with recurrent miscarriage (RM) [1], defined by the American Society for Reproductive Medicine as two or more spontaneous pregnancy losses [3], of which 65% occur until the 12th week of pregnancy [4]. The incidence of aPL in RM patients is between 15% and 20% [1]. Given the complexity and heterogeneity of RM, the etiology remains unknown in about 50% of couples [5]. Research on APS has decreased such indeterminate cases [6].

APS without treatment can contribute to 90% of embryonic or fetal loss [7], particularly in the second and third trimesters of pregnancy. The clinical treatment of choice among patients with APS is the use of heparin and low-dose aspirin [8]. However, therapy should be tailored to the needs of the patient. The identification of additional risk factors should be considered, as well as the dissemination of information to patients about morbidity during and after pregnancy and the positive outcome after appropriate treatment [9].

Despite the complexity of APS and its being responsible for a high rate of obstetric complications and potentially fatal outcomes for the mother and fetus, some advances have been made in our understanding of the pathogenesis of the disease. However, many gaps in our knowledge remain, especially regarding diagnosis and treatment [10]. Given the large production of research that has related aPL to RM, we performed a systematic review to identify and analyze recent publications on the syndrome to better understand the diagnosis and its contribution to monitoring APS among women with a history of obstetric complications.

2. Materials and methods

2.1. Search strategy

The research was conducted in accordance with the PRISMA statement [11] (Supplementary file 1) to search for articles that were published from January 2010 to December 2014. The first stage of the research included a definition of search descriptors by three researchers (ALI, HCC, TSS) and an expert (JJVT). The next step was a summary of research in the PubMed and Web of Knowledge databases. We used PubMed MeSH terms and Web of Knowledge topics (TS). The descriptors remained the same for both databases and were divided into two blocks: Block 1: “Antiphospholipid Syndrome” OR “Antibodies, Antiphospholipid”; Block 2: “Abortion, Habitual”- major term (to ensure greater search accuracy). Afterward, both blocks were combined to retrieve the greatest number of abstracts (Supplementary file 2).

2.2. Study selection

According to previously defined strategies, the research was performed using our own filters of the databases: summary available, human, English, and publication period (January 1, 2010, to December 31, 2014). All of the abstracts that approached the topic of interest were selected by three researchers (ALI, HCC, TSS) by consensus. For the selection of articles, we included studies that used different definitions for RM (2 or more abortions; 3 or more abortions) [5,12] to preserve the sensitivity of selection, since both the period and place in which the study design was developed can contribute to different definitions of terms. We did not restrict the selection of studies only to articles that investigated aPL and/or clinical characteristics that are defined by the international consensus as classification criteria for APS [2,13]. Due to literature description that other aPL and clinical manifestations are strongly associated with APS, and the international consensus recognizes these associations [2]. We excluded other probable causes for abortion, such as cytogenetic, anatomical, hormonal, and metabolic abnormalities and infections. The articles were retrieved in full-text PDF format and reanalyzed by the same three researchers to ensure higher accuracy of selection. The articles were organized and structured into three blocks of items and randomly assigned to the other judges (AMS, IGD, MVCL and QALN) for independent review. After reading and analyzing the articles in the block, each judge exchanged his block with another judge for validation. Doubts that were encountered in the sample selection were resolved by consensus among the judges. The exclusion criteria were reviews, letters, editorials, news, commentaries, guidelines, and duplicate publications. Studies that included populations with other diseases related with from RM or that did not study the relationship between RM and aPL were also excluded (Supplementary file 3,4).

2.3. *Quality assessment*

Steps which involved selection of items and researchers were performed randomly. To improve and increase the sensitivity of the systematic review, the researchers also conducted additional searches of the original articles' reference lists. The goal was to identify additional references that were not found in the initial stages of the search.

2.4. *Data extraction*

The data was organized in tables containing the most important variables, including the prevalence of aPL in patients with RM, the type and number of patients with aPL for each study, and the positive cutoff values. These features were analyzed according to the following topics: type of study, study period, population, age (mean \pm standard deviation), inclusion and exclusion criteria, author biases, study limitations, and outcomes. Three researchers (ALI, HCC, TSS) extracted the data, and then four reviewers (AMS, IGD, MVCL and QALN) independently validated the data that were extracted. To reduce possible bias of information was used the standardized instrument. Various consensus meetings were convened to agree on the final structure of the tables and define the most relevant results of the search.

3. Results

The search strategy yielded a total of 830 articles identified. Of these, 75 were excluded, so the final sample contained nine articles (Fig. 1). Most of the studies that were included in the systematic review were conducted in Europe (n=5) [14–18], followed by Asia (n=3) [19–21], and Central America (n=1) [22]. The majority of the studies had case-control designs [14,15,18–20,22], one of these studies had a prospective observational design [19] and another had a retrospective design [20]. The others were cohort studies [16,17,21], including retrospective [16] and prospective designs [21] (Table 1).

The studies were conducted from 1987 to 2012. The age ranged from 20 to 45 years old, being this the most prevalent age range, corresponding to fertile age. All of the authors used inclusion criteria to select their samples, with the common intention to include only patients without a definite cause of RM. All of the studies employed statistical analyses. Most of the studies showed association between RM and aPL. The total number of RM cases among nine selected studies ranged from 50 to 312(average of 152 per study) and the control ranged from 49 to 1407(average of 327 per study). The variation in RM cases was 18% to

76% in relation to the population studied and variation of RM cases in patients with aPL and/or APS was 12% to 69% (Table 1).

It is recommended to calculate cutoff value for ELISA tests and this calculation was performed in some of the studies that were included in this review [16,17,20–22]. The positivity cutoff value for aCL IgM ranged from 6 to 40 MPL-U/ml and for aCL IgG ranged from 9.29 to 40 GPL-U/ml. Van den Boogaard et al. (2013) and Cohn et al. (2010) used lower cutoffs than those that are recommended for the diagnosis of APS [2,13]. Other authors also used low cutoff values [14,18,20,22] Regarding the LA ratio, a variation of ≥ 1.10 to ≥ 1.30 is observed (Table 2).

The aPL are investigated from enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) and for LA uses coagulation tests. Only one of the studies used quantitative sandwich enzyme immunoassay [20], the others did not report the type of ELISA [14,15,17–19,22]. Related to LA research some of the studies used simplified dilute Russell's viper venom time [16,17,19,21] with a neutralization process using frozen and thawed platelets [16,17] and others Kaolin cephalin clotting time [17,18] and the time of activated partial thromboplastin time [18,21,22] were used. It is recommended to use more than one method to detect LA, which has been done by some studies [17,18,21]. Motak-Pochrzęst et al. (2013) reported the use of confirmatory tests for LA, but the tests were not specified (Table 3). The laboratory criteria of APS establish the repetition of laboratory tests for confirmation of the diagnosis. Four studies stated repetition [14,16,17,19], other did not report [15,18,20,22] and only one stated did not perform repetition [21] (Table 3).

The main aPL included aCLs [14–20,22], a β 2GPI [15,18,20–22], and LA [14,16–19,21,22]. The positivity of aPL among the included studies ranged from 18% to 54.6% (Table 4). The studies that detected aCLs and LA found these antibodies in the analyzed samples, ranging from 1.8% to 36.5% and 2% to 88.1%, respectively (Table 4). Some of the studies differentiated between immunoglobulin M (IgM) and IgG anticardiolipin antibodies [14,16–20,22] and a β 2GPI [20,22]. The studies that detected IgG and IgM antibodies to aCL [19,20,22] found these antibodies in the analyzed samples, ranging from 4% to 36.5% and 1.8% to 26%, respectively. Only one article did not attempt to identify aCLs [21], and two studies did not attempt to identify LA [15,20] (Table 4).

Some of the articles investigated other aPL besides aCLs, LA, and a β 2GPI [15, 20, 21]. Two studies investigated antiphosphatidylethanolamine (aPE) [15,21] and antiphosphatidylserine (aPS) [15,20]. One study investigated antiphosphatidylinositol (aPI),

antiphosphatidylglycerol (aPG), and phosphatidic acid, but the statistical data related to these antibodies were not reported [15] (Table 4).

Three studies investigated association of number of abortions among patients with aPL [14–16], but not found differences in frequency of aPL [14], genetic polymorphism of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) [15], and patients with APS in relation the controls [16].

4. Discussion

Most of the studies that were included in the review that specifically analyzed aPL found a relationship between aPL and RM [14,18–20,22], but other studies did not find significance in their analyses [16,21]. These findings are consistent with other studies and further strengthen the involvement of antibodies in RM [1,23,24]. However, one study of Israeli women [25] did not find an association between aPL and RM. The discrepancy may be explained by differences between studies with regard to ethnicity, sample size, and selection criteria [20].

Some authors sought to relate the number of RM with the presence of aPL [14–16], but no differences were found between groups of patients with APS compared to controls or unexplained RM, which is consistent with Jaslow et al. (2010). Van den Boogaard et al. (2013) explored whether consecutive RM or non-consecutive RM influence the risk of APS, but they did not find a positive association. Based on these data, Van den Boogaard et al. (2013) suggested updating the classification criteria previously used [2,26,27].

Subrt et al. (2013) compared the frequency of PAI-1 with aPL in patients with RM and found that the homozygote genotype of PAI-1 (-675) 4G/4G correlated with an increased risk of RM, independent of the frequency of aPL. The literature shows that a genetic polymorphism of PAI-1 is associated with hypofibrinolysis and thrombotic complications [28–30] and consequently obstetric complications [31], such as RM [32–34]. A meta-analysis study confirmed the relationship PAI-1 with RM when more recent studies were included, especially among African and Asian patients [35]. Studies that were published after those that were included in our study found a correlation between PAI-1 and APS [36,37]. In addition, there is evidence of familial genetic predisposition to APS in population studies The Human Leukocyte Antigen (DRw53, DR7 and DR4) [38], polymorphism of β 2-GPI antigens, polymorphism of genes encoding platelet glycoproteins, mediators and genetic defects of the immune system have also been described in patients with APS [39].

Chen et al. (2012) observed a reduction of endometrial vascularization in patients who were aPL-positive and had a history of RM. Reductions in the rates of endometrial and subendometrial vascularization also have been described in patients with unexplained RM [40,41]. Studies indicate that trophoblasts are a target of aPL [42,43]. These autoantibodies have been suggested to be involved in embryo implantation failure and abortions [44,45]. Endometrial vascularization is a determining factor for the maintenance of pregnancy [46]. The effects of inhibiting endometrial angiogenesis by aPL in an *in vivo* and *in vitro* have been described [47]. D'Ippolito et al. (2012) observed a restorative action on endometrial angiogenesis after the use of low-molecular-weight heparin (LMWH), which is a major drug that is used to treat APS. Chen et al. (2012) did not find abnormalities in the pulsatility index, the calculation used for measurements of systolic and diastolic velocities in the uterine, umbilical, or fetal circulations. Unlike other authors who reported a high pulsatility index in patients with APS [48,49] and unexplained RM [49]. However, Nakatsuka et al (2003) also found a high pulsatility index in groups with RM who did not have APS, indicating the possible independence of the pulsatility index compared with the causes of RM.

We observed a large variation in the results of the laboratory tests (Table 4). A possible explanation may be the high variety of commercial kits that are available, which may lead to a lack of interlaboratory reproducibility and influence the reported prevalence. To avoid large interlaboratory variation is recommended the calculation of cutoff point from population controls of studies [2,50]. This likely influenced the reported frequency of aCLs and other studied antibodies.

The correlation of LA and aCL antibodies in the same patient ranges between 50% to 75% [51]. Because of this variation, the patient is positive for aPL and negative for another antibody, and the laboratory diagnosis of APS should consider using a large variety of tests [52]. The sensitivity and specificity of the tests also were different. Lupus anticoagulant and a β 2GPI are more specific to APS, whereas aCL is more sensitive [2,52–55]. The specificity of aCL can change, depending on the Ig class, and is highest in titers of IgG [52]. Regarding the diagnosis of APS, one study demonstrated sensitivity of 18.7% and specificity of 92.8% in LA tests. In aCL assays, IgM reported sensitivity of 92% and specificity of 1.2% and the IgG showed sensitivity of 40% and specificity of 82.5% [55]. Possibly, the differences between the classes of immunoglobulins are due to the fact that the IgM is related to infections or diseases in the acute phase while the IgG to chronic diseases.

4.1. Association between anticardiolipin antibodies and recurrent miscarriage

The studies that analyzed the association between aCLs and RM found significant associations [14,18,20,22], which is consistent with the literature [56]. Some studies found a high interlaboratory variation for this antibody [57,58]. Ulcova-Gallova et al. (2005) argued that the high proportion of aCL positivity may be related to cross-reactions because of the nature of their epitopes. Correlations were found between the IgG and IgM classes of aCLs and RM [18,20], but Roye-Green et al. (2011) did not find a significant association for the IgM class, similar to another study [59]. Anticardiolipin antibody IgM can occur in other diseases and result in false positives in the presence of rheumatoid factors or cryoglobulins [2,56]. Despite all interference, IgM research is still recommended [27].

The presence of aCLs can occur in pathogenic diseases, such as syphilis, or autoimmune diseases, such as systemic lupus erythematosus (SLE) and APS [60]. In 2002, the International Society of Thrombosis and Homeostasis recommended replacing the aCL test by tests of a β 2GPI and LA [61]. However, based on the amount of evidence at that time, the international consensus of 2006 continued with the recommendation to test for aCLs as a criterion for the diagnosis of APS [2].

4.2. Association between a β 2GPI and recurrent miscarriage

Only one article found an association between a β 2GPI and RM [18]. The other studies included in this did not observe this association [20,22]. The literature is controversial with regard to the relationship between this antibody and RM [56,59,62–67]. Some studies indicated a relationship between a β 2GPI and morbidity in pregnancy [59,63–66], but other studies did not find such a relationship [56,67] or even refuted this relationship because of a lack of standardization in the tests and different methodologies [62]. Some studies cited specific relationships between a β 2GPI IgM [63], IgG [59,64], IgA [66] and RM. These controversies in the literature can be explained by interlaboratory variability that still exists in the study of a β 2GPI. However, its interlaboratory reproducibility is considered good, and better than the reproducibility of aCL assays [68].

Similar to aCLs, a β 2GPI research also has methodological limitations and issues with standardization [68]. It also suffers from possible interference from cryoglobulins and rheumatoid factors in the interpretation of a β 2GPI IgM. Since 2006, a β 2GPI has been included in the laboratory classification criteria for APS [2]. Some studies reported that patients with APS were positive only for a β 2GPI [65,69]. The determination of antibodies provides an important diagnostic tool when other aPL, particularly aCLs and LA, are negative

and APS is suspected [2,53,65,69]. Roye-Green et al. (2011) [22] suggested aCL screening in habitual aborter and a β 2GPI antibodies tests to identify patients with higher risk. However, the standardization of a β 2GPI tests needs to be improved to allow comparisons between studies to RM.

4.3. Association between lupus anticoagulant and recurrent miscarriage

Articles that evaluated LA and RM, two articles found a direct relationship between LA and RM [14,18]. Despite the low number of articles that compared this antibody with RM, LA appears to be correlated with morbidity in pregnancy and thrombosis [56,70]. However, the interlaboratory reproducibility of LA tests is also poor when considering the number of assays that are available commercially [71]. The sensitivity and specificity of LA tests are principally affected because of the choice of reactants and variation between laboratories [27]. As described Jennings et al. (2002) laboratories often use various combinations of reagents and methods for detecting LA. This was not different articles included in this review [14,16–19,21,22]. There are no accepted recommendations concerning the choice of LA tests. Because there is no fully sensitive test, the international consensus of 2006 recommended the use of two or more tests before considering the absence of LA [2]. Three articles in the present systematic review adhered to this recommendation [17,18,21].

4.4. Other antiphospholipid antibodies and recurrent miscarriage

In addition to classic studies with well-defined antibodies, other authors investigated different aPL in an attempt to diagnose APS [15,20,21]. A significant association was found between the IgG class of aPS and RM [20]. Subrt et al. (2013) found a high prevalence of non-common antibodies (aPI and aPS), but without statistical results. Antiphosphatidylethanolamine was investigated by Obayashi et al. (2010) and Subrt et al. (2013), but no correlation was found. Sater et al. (2012) found an independent association between aPS IgG and RM. Other studies confirmed this association [72–74]. Studies in mice indicated that the presence of aPS causes obstetric morbidities because they act against trophoblasts [42,43], one study immunized mice with aPS IgG and detected clinical signs of APS, including an increased rate of fetal resorption [75].

Some studies indicated that aPE is associated with such APS events as pre-eclampsia, preterm delivery [76], RM [77,78], infertility [79], thrombosis, neurological features, and livedo reticularis [80]. This suggests that aPE can increase the detection of aPL [79]. Branch et al. (2001) detected aPS, aPI, aPG, and aPE during pregnancy and found a relationship

between these antibodies and preeclampsia and intrauterine growth restriction. The modest positive predictive value should low specificity and not have prognostic value in studying these aPL in the evaluation of these morbidities during pregnancy [74]. Although the recommendations of international consensus of 2006 consider these aPL (aPS, aPI, aPG, and aPE) to present high sensitivity, their specificity is low for the diagnosis, which justifies the exclusion of these antibodies in the laboratory criteria of APS [2].

4.5. *Anti-prothrombin and recurrent miscarriage*

Sater et al. (2012) found higher titers of aPT IgM associated with RM, but without significant association between aPT and RM. Bertolaccini et al. (2005) found that the prevalence of aPT was higher among patients with morbidity during pregnancy compared with pregnancy with no complications. Although the studies did not observe association, other studies indicate a association between aPT and manifestations of APS [81,82], between aPT IgG and morbidity in pregnancy [82,83], and between aPT IgM and thrombotic events [82]. The laboratory diagnosis of aPT does not yet have good standardized tests, using *in-house* ELISA which may be a reason for the discrepancies when comparing interlaboratory tests [62,84]. Thus, the tests show low sensitivity mainly for IgM, but the specificity features best results [84]. There are still no data that allow recommendations regarding the detection of aPT in patients with APS [82,84], although such tests can be beneficial when laboratory diagnostic tests for APS are negative [85]. The international consensus considered that the inclusion of aPT in the classification criteria for APS is premature [2].

4.6. *Limitations*

Nonetheless, our review revealed methodological problems and biases that occur in research on this issue. One methodological problem that was found in some of the articles was that they did not report or did not apply the strategy of repeating the diagnostic tests after 6 weeks for the detection of aPL [15,18,20–22], which is recommended by the Sapporo criteria [13], or after 12 weeks (revised in 2006) [2]. The repeated examinations are based on expert opinions and help to ensure that the antibodies detected are relevant to the diagnosis of APS [2], since that the transient presence of aCL, LA, and α 2GPI is reported [86]. Anticardiolipin antibodies are a clear example of the necessity to repeat the tests because this antibody is often found in infections and therefore often transient [87]. Another methodological problem that we can highlight refers did not adherence by some studies to the recommendation of the

use of two or more tests before considering the absence of LA. This recommendation is made because there is no fully sensitive test for LA [2].

The present systematic review has some limitations, such as the use of only two databases, notwithstanding the considerable number of articles that are included in these two databases. Other limitations are the inclusion of only English-language articles and relatively short 5-year publication timeframe. However, our goal was to find only recent publications.

To improve diagnosis and understanding of the pathophysiology of APS we suggest the development of further research in relation the genetic polymorphisms of patients with APS obstetrical, on the influence aPL in relation to the amount of RM, studies involving other aPL that are not included In laboratory criteria or studies of antibodies considered controversial, such as a β 2GPI. Establishing and disseminating criteria regarding the sensitivity and specificity of tests would also be important in relation to interlaboratory standardization. We expect that our findings may guide possible solutions to problems concerning the diagnostic of APS through review and actualization of the criteria and recommendation of APS related to RM.

5. Conclusion

We found recurrent miscarriage is related to the specificity of antiphospholipid antibodies, with stronger relationships to anticardiolipin antibodies, lupus anticoagulant and antiphosphatidylserine, while anti- β 2-glycoprotein I antibodies, antiphosphatidylethanolamine and anti-prothrombin appear did not present correlations. The number of recurrent miscarriage does not appear to be influenced by the presence of antiphospholipid antibodies. The lack of standardization between antiphospholipid antibodies tests, not the application of the strategy of repeated of test for diagnostic and not use two tests for confirming the lupus anticoagulant are factors which may hinder determination diagnostic of antiphospholipid syndrome.

Conflict of Interest

The authors declare no conflicts of interest.

Supplementary

Supplementary data associated with this article can be found in PDF file.

Reference

- [1] W.H. Kutteh, C.D. Hinote, Antiphospholipid antibody syndrome, *Obstet. Gynecol. Clin. North Am.* 41 (2014) 113–132.
- [2] S. Miyakis, M.D. Lockshin, T. Atsumi, D.W. Branch, R.L. Brey, R. Cervera, R. Derksen, P.G. De Groot, T. Koike, P.L. Meroni, International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS), *J. Thromb. Haemost.* 4 (2006) 295–306.
- [3] Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss: A committee opinion, *Fertil. Steril.* 99 (2013) 63.
- [4] Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia, *Manual de Orientação Assistência ao Abortamento, Parto e Puerpério*, São Paulo. Brasil. (2010).
- [5] Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, What is recurrent pregnancy loss (RPL)?, *Fact Sheet*, 205 (2016) 1–2.
- [6] J. Cecatti, E.M. Tintori, D.A. Yela, M.L.S. Queiroz, Anticorpos anticardiolipina entre gestantes com óbito fetal, *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.* 2 (2000) 101–106.
- [7] R.S. Rai, K. Clifford, H. Cohen, L. Regan, High prospective fetal loss rate in untreated pregnancies of women with recurrent miscarriage and antiphospholipid antibodies, *Hum. Reprod.* 10 (1995) 3301–3304.
- [8] F. Cunningham, K. Leveno, S. Bloom, J. Hauth, D. Rouse, *Connective-Tissue Disorders.*, in: McGraw-Hill (Ed.), *Williams Obstet.* USA. (2010).
- [9] G. Ruiz-Irastorza, M.A. Khamashta, The treatment of antiphospholipid syndrome: a harmonic contrast, *Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.* 21 (2007) 1079–1092.
- [10] C.S. de O. Ourique, *Patogenia e Abordagem Terapêutica do Síndrome Antifosfolipídico na Gravidez*, *Inst. Ciênc. Biomed. Abel Salazar*, <https://repositorioaberto.up.pt/bitstream/10216/52818/2/TeseMestradoCarolinaOurique.pdf>, (accessed 26.11.16).
- [11] L. Shamseer, D. Moher, M. Clarke, D. Gherzi, A. Liberati, M. Petticrew, P. Shekelle, L.A. Stewart, Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015: elaboration and explanation., *BMJ.* 349 (2015) g7647.
- [12] G.M. Stirrat, Recurrent miscarriage I: definition and epidemiology, *Lancet.* 336 (1990) 673–675.
- [13] W.A. Wilson, A.E. Gharavi, T. Koike, M.D. Lockshin, D.W. Branch, J. Piette, R. Brey, R. Derksen, E.N. Harris, G.R. V Hughes, D. a Triplett, M. a Khamashta, International

- Consensus Statement on Preliminary Classification Criteria for Definite Antiphospholipid Syndrome, *Arthritis Rheum.* 42 (1999) 1309–1311.
- [14] H. Motak-pochrzęst, A. Malinowski, The occurrence of immunological disturbances in patients with recurrent miscarriage (RM) of unknown etiology, *Neuroendocrinol. Lett.* 34 (2013) 701–707.
- [15] I. Subrt, Z. Ulcova-Gallova, M. Cerna, M. Hejnalova, J. Slovanova, K. Bibkova, Z. Micanova, Recurrent Pregnancy Loss, Plasminogen Activator Inhibitor-1 (-675) 4G/5G Polymorphism and Antiphospholipid Antibodies in Czech Women, *Am. J. Reprod. Immunol.* 70 (2013) 54–58.
- [16] E. Van Den Boogaard, D.M. Cohn, J.C. Korevaar, F. Dawood, R. Vissenberg, S. Middeldorp, M. Goddijn, R.G. Farquharson, Number and sequence of preceding miscarriages and maternal age for the prediction of antiphospholipid syndrome in women with recurrent miscarriage, *Fertil. Steril.* 99 (2013) 188–192.
- [17] D.M. Cohn, M. Goddijn, S. Middeldorp, J.C. Korevaar, F. Dawood, R.G. Farquharson, Recurrent miscarriage and antiphospholipid antibodies: Prognosis of subsequent pregnancy, *J. Thromb. Haemost.* 8 (2010) 2208–2213.
- [18] D. Lončar, Anticardiolipin antibodies in pathogenesis of infertility, *Vojnosanit. Pregl.* 67 (2010) 216–219.
- [19] L. Chen, S. Quan, X.H. Ou, L. Kong, Decreased endometrial vascularity in patients with antiphospholipid antibodies-associated recurrent miscarriage during midluteal phase, *Fertil. Steril.* 98 (2012) 1495–1502.e1.
- [20] M.S. Sater, R.R. Finan, F.M. Abu-Hijleh, T.M. Abu-Hijleh, W.Y. Almawi, Anti-phosphatidylserine, anti-cardiolipin, anti- β 2 glycoprotein i and anti-prothrombin antibodies in recurrent miscarriage at 8-12 gestational weeks, *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 163 (2012) 170–174.
- [21] S. Obayashi, Y. Ozaki, T. Sugi, T. Kitaori, K. Katano, S. Suzuki, M. Sugiura-Ogasawara, Antiphosphatidylethanolamine antibodies might not be an independent risk factor for further miscarriage in patients suffering recurrent pregnancy loss, *J. Reprod. Immunol.* 85 (2010) 186–192.
- [22] K. Roye-Green, J. Frederick, G. Wharfe, E. Choo- Kang, V. Dacosta, H. Fletcher, M. Smikle, Antiphospholipid and other autoantibodies in a cohort of habitual aborters and healthy multiparous women in Jamaica, *Hum. Antibodies.* 20 (2011) 1–5.
- [23] T.F. Porter, J.R. Scott, Evidence-based care of recurrent miscarriage, *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* 19 (2005) 85–101.

- [24] C. Galarza-Maldonado, M.R. Kourilovitch, O.M. Pérez-Fernández, M. Gaybor, C. Cordero, S. Cabrera, N.F. Soroka, Obstetric antiphospholipid syndrome, *Autoimmun. Rev.* 11 (2012) 288–295.
- [25] I. Marai, H. Carp, S. Shai, R. Shabo, G. Fishman, Y. Shoenfeld, Autoantibody panel screening in recurrent miscarriages, *Am. J. Reprod. Immunol.* 51 (2004) 235–240.
- [26] Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, Evaluation and treatment of recurrent pregnancy loss: a committee opinion, *Fertil. Steril.* 98 (2012) 1103–1111.
- [27] The American College of Obstetricians and Gynecologists, Practice Bulletin No. 132: Antiphospholipid syndrome., *Obstet. Gynecol.* 120 (2012) 1514–21.
- [28] J.C. Gris, S. Ripart-Neveu, C. Maugard, M.L. Tailland, S. Brun, C. Courtieu, C. Biron, M. Hoffet, B. Hedon, P. Mares, Respective evaluation of the prevalence of haemostasis abnormalities in unexplained primary early recurrent miscarriages. The Nimes Obstetricians and Haematologists (NOHA) Study., *Thromb. Haemost.* 77 (1997) 1096–1103.
- [29] J. Wang, C. Wang, N. Chen, C. Shu, Xiaojiang Guo, Y. He, Y. Zhou, Association between the plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism and risk of venous thromboembolism: A meta-analysis, *Thromb. Res.* 134 (2014) 1241–1248.
- [30] D.A. Lane, P.J. Grant, Role of hemostatic gene polymorphisms in venous and arterial thrombotic disease, *Blood.* 95 (2000) 1517–1532.
- [31] C.J. Glueck, M.J. Kupferminc, R.N. Fontaine, P. Wang, B.B. Weksler, A. Eldor, Genetic hypofibrinolysis in complicated pregnancies, *Obstet. Gynecol.* 97 (2001) 44–48.
- [32] Y.J. Jeon, Y.R. Kim, B.E. Lee, Y.S. Choi, J.H. Kim, J.E. Shin, H. Rah, S.H. Cha, W.S. Lee, N.K. Kim, Genetic association of five plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) polymorphisms and idiopathic recurrent pregnancy loss in Korean women, *Thromb Haemost.* 110 (2013) 742–750.
- [33] I.R. Elmahgoub, R.A. Afify, A.A.A. Aal, W.S. El-Sherbiny, Prevalence of coagulation factor XIII and plasminogen activator inhibitor-1 gene polymorphisms among Egyptian women suffering from unexplained primary recurrent miscarriage, *J. Reprod. Immunol.* 103 (2014) 18–22.
- [34] K. Magdoud, V.G. Herbepin, R. Touraine, W.Y. Almawi, T. Mahjoub, Plasminogen activator inhibitor 1 4G/5G and– 844G/A variants in idiopathic recurrent pregnancy loss, *Am. J. Reprod. Immunol.* 70 (2013) 246–252.

- [35] H. Chen, S. Nie, M. Lu, Association between Plasminogen Activator Inhibitor-1 Gene Polymorphisms and Recurrent Pregnancy Loss: A Systematic Review and Meta-Analysis, *Am. J. Reprod. Immunol.* 73 (2015) 292–300.
- [36] R.B. Aisina, L.I. Mukhametova, E. V Ostriakova, N. V Seredavkina, L.I. Patrushev, N.L. Patrusheva, T.M. Reshetniak, D.A. Gulin, K.B. Gershovich, E.L. Nasonov, S.D. Varfolomeev, Polymorphism of the plasminogen activator inhibitor type 1 gene, plasminogen level and thrombosis in patients with antiphospholipid syndrome., *Biomed. Khim.* 60 (2014) 72–93.
- [37] N.K. Singh, A. Gupta, D.R. Behera, D. Dash, Elevated plasminogen activator inhibitor type-1 (PAI-1) as contributing factor in pathogenesis of hypercoagulable state in antiphospholipid syndrome, *Rheumatol. Int.* 33 (2013) 2331–2336.
- [38] G.D. Sebastiani, M. Galeazzi, G. Morozzi, R. Marcolonao, The immunogenetics of the antiphospholipid syndrome, anticardiolipin antibodies, and lupus anticoagulant, in: *Semin. Arthritis Rheum.* Elsevier. (1996) 414–420.
- [39] P.L. Meroni, Pathogenesis of the antiphospholipid syndrome: an additional example of the mosaic of autoimmunity, *J. Autoimmun.* 30 (2008) 99–103.
- [40] M. Abdel-Razik, S. El-Berry, A. Mostafa, The effects of nitric oxide donors on uterine artery and sub-endometrial blood flow in patients with unexplained recurrent abortion, *J. Reprod. Infertil.* 15 (2014) 142.
- [41] L. Chen, S. Quan, H. Li, C. Chen, F. Xing, Y. Yu, A comparison of endometrial and subendometrial vascularity assessed by three-dimensional ultrasonography and power Doppler angiography between healthy fertile women and women with unexplained primary recurrent miscarriage, *Fertil. Steril.* 95 (2011) 1127–1129.
- [42] N.S. Rote, E. Vogt, T. Lyden, A.K. Ng, Monoclonal antiphosphatidylserine antibody induces intrauterine growth retardation in pregnant mice, *Placenta.* 15 (1994) A63.
- [43] H. Katsuragawa, H. Kanzaki, T. Inoue, T. Hirano, T. Mori, N.S. Rote, Monoclonal antibody against phosphatidylserine inhibits in vitro human trophoblastic hormone production and invasion., *Biol. Reprod.* 56 (1997) 50–58.
- [44] J.A. McIntyre, Antiphospholipid antibodies in implantation failures, *Am. J. Reprod. Immunol.* 49 (2003) 221–229.
- [45] J. Kwak-Kim, M.S.L. Agcaoili, L. Aleta, A. Liao, K. Ota, S. Dambaeva, K. Beaman, J.W. Kim, A. Gilman-Sachs, Management of women with recurrent pregnancy losses and antiphospholipid antibody syndrome, *Am. J. Reprod. Immunol.* 69 (2013) 596–607.

- [46] Y. Abdallah, O. Najj, S. Saso, A. Pexsters, C. Stalder, S. Sur, N. Raine-Fenning, D. Timmerman, J.J. Brosens, T. Bourne, Ultrasound assessment of the peri-implantation uterus: a review, *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 39 (2012) 612–619.
- [47] N. Di Simone, F. Di Nicuolo, S. D’Ippolito, R. Castellani, C. Tersigni, A. Caruso, P. Meroni, R. Marana, Antiphospholipid antibodies affect human endometrial angiogenesis, *Biol. Reprod.* 83 (2010) 212–219.
- [48] M. Nakatsuka, T. Habara, S. Noguchi, H. Konishi, T. Kudo, Impaired uterine arterial blood flow in pregnant women with recurrent pregnancy loss, *J. Ultrasound Med.* 22 (2003) 27–31.
- [49] N. Lazzarin, E. Vaquero, C. Exacoustos, E. Romanini, A. Amadio, D. Arduini, Midluteal phase Doppler assessment of uterine artery blood flow in nonpregnant women having a history of recurrent spontaneous abortions: correlation to different etiologies, *Fertil. Steril.* 87 (2007) 1383–1387.
- [50] A. Tincani, F. Allegri, G. Balestrieri, G. Reber, M. Sanmarco, P. Meroni, M.C. Boffa, Minimal requirements for antiphospholipid antibodies ELISAs proposed by the European Forum on antiphospholipid antibodies, *Thromb. Res.* 114 (2004) 553–558.
- [51] G.T. Nahass, Antiphospholipid antibodies and the antiphospholipid antibody syndrome, *J. Am. Acad. Dermatol.* 36 (1997) 149–171.
- [52] J.S. Levine, D.W. Branch, J. Rauch, The antiphospholipid syndrome, *N. Engl. J. Med.* 346 (2002) 752–763.
- [53] G. Obermoser, W. Bitterlich, F. Kunz, N.T. Sepp, Clinical significance of anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I antibodies., *Int. Arch. Allergy Immunol.* 135 (2004) 148–153.
- [54] G. Reber, A. Tincani, M. Sanmarco, P. De Moerloose, M.C. Boffa, Proposals for the measurement of anti- β 2-glycoprotein I antibodies. Standardization Group of the European Forum on Antiphospholipid Antibodies, *J. Thromb. Haemost.* 2 (2004) 1860–1862.
- [55] P.G. Perches, D.P. Domingues, A.L. Gomes, A.M. Ribeiro, F.M.T. Pereira, I.E. Rassi, A.W.S. de Souza, A. Tincani, F. Allegria, G. Balestrieri, G. Reber, M. Sanmarco, P. Meroni, M.-C. Boffa, Avaliação da pesquisa de anticorpos antifosfolípidios para o diagnóstico da síndrome antifosfolípide, *Rev. Bras. Reumatol.* 114 (2009) 553–558.
- [56] L. Opatrny, M. David, S.R. Kahn, I. Shrier, E. Rey, Association between antiphospholipid antibodies and recurrent fetal loss in women without autoimmune disease: a metaanalysis., *J. Rheumatol.* 33 (2006) 2214–2221.

- [57] A. Tincani, F. Allegri, M. Sanmarco, M. Cinquini, M. Taglietti, G. Balestrieri, T. Koike, K. Ichikawa, P. Meroni, M.C. Boffa, Anticardiolipin antibody assay: A methodological analysis for a better consensus in routine determinations: A cooperative project of the European Antiphospholipid Forum, *Thromb. Haemost.* 86 (2001) 575–583.
- [58] E.J. Favaloro, R. Silvestrini, Assessing the usefulness of anticardiolipin antibody assays: A cautious approach is suggested by high variation and limited consensus in multilaboratory testing, *Am. J. Clin. Pathol.* 118 (2002) 548–557.
- [59] J. Alijotas-Reig, R. Ferrer-Oliveras, M.J. Rodrigo-Anoro, I. Farran-Codina, L. Cabero-Roura, M. Vilardell-Tarres, Anti- β 2-glycoprotein-I and anti-phosphatidylserine antibodies in women with spontaneous pregnancy loss, *Fertil. Steril.* 93 (2010) 2330–2336.
- [60] R.A. Levy, E. de Meis, S. Pierangeli, An adapted ELISA method for differentiating pathogenic from nonpathogenic aPL by a beta 2 glycoprotein I dependency anticardiolipin assay, *Thromb. Res.* 114 (2004) 573–577.
- [61] Scientific and Standardization Committee, Lupus AntiCoagulant/Phospholipid-dependent Antibodies, *Annu. Report. Bost. Int. Soc. Thromb. Haemost.* (2002).
- [62] M. Galli, D. Luciani, G. Bertolini, T. Barbui, Anti- β 2-glycoprotein I, antiprothrombin antibodies, and the risk of thrombosis in the antiphospholipid syndrome, *Blood.* 102 (2003) 2717–2723.
- [63] R.R. Forastiero, M.E. Martinuzzo, G.S. Cerrato, L.C. Kordich, L.O. Carreras, Relationship of anti beta2-glycoprotein I and anti prothrombin antibodies to thrombosis and pregnancy loss in patients with antiphospholipid antibodies., *Thromb. Haemost.* 78 (1997) 1008–1014.
- [64] J.C. Gris, I. Quere, M. Sanmarco, B. Boutiere, E. Mercier, J. Amiral, A.M. Hubert, S. Ripart-Neveu, M. Hoffet, M.L. Tailland, O. Rousseau, F. Monpeyroux, M. Dauzat, J. Sampol, J.P. Daures, J. Berlan, P. Mares, Antiphospholipid and antiprotein syndromes in non-thrombotic, non-autoimmune women with unexplained recurrent primary early foetal loss. The Nimes Obstetricians and Haematologists Study--NOHA., *Thromb. Haemost.* 84 (2000) 228–236.
- [65] D. Faden, A. Tincani, P. Tanzi, L. Spatola, A. Lojacono, M. Tarantini, G. Balestrieri, Anti-beta 2 glycoprotein I antibodies in a general obstetric population: preliminary results on the prevalence and correlation with pregnancy outcome. Anti- β 2 glycoprotein I antibodies are associated with some obstetrical complications, mainly

- preeclampsia, *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 73 (1997) 37–42.
- [66] R.M. Lee, D.W. Branch, R.M. Silver, Immunoglobulin A anti- β 2-glycoprotein antibodies in women who experience unexplained recurrent spontaneous abortion and unexplained fetal death, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 185 (2001) 748–753.
- [67] R.M. Lee, W. Emlen, J.R. Scott, D.W. Branch, R.M. Silver, Anti- β 2-glycoprotein I antibodies in women with recurrent spontaneous abortion, unexplained fetal death, and antiphospholipid syndrome, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 181 (1999) 642–648.
- [68] G. Reber, I. Schousboe, A. Tincani, M. Sanmarco, T. Kveder, P. de Moerloose, M.-C. Boffa, J. Arvieux, Inter-laboratory Variability of Anti- β 2-glycoprotein I Measurement A Collaborative Study in the Frame of the European Forum on Antiphospholipid Antibodies Standardization Group, *Thromb. Haemost.* 88 (2002) 66–73.
- [69] F. Ebeling, T. Pettersson, L. Muukkonen, E. Vahtera, V. Rasi, Beta-2-glycoprotein I antibodies in patients with thrombosis, *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 63 (2003) 111–118.
- [70] M. Galli, D. Luciani, G. Bertolini, T. Barbui, Lupus anticoagulants are stronger risk factors for thrombosis than anticardiolipin antibodies in the antiphospholipid syndrome: A systematic review of the literature, *Blood.* 101 (2003) 1827–1832.
- [71] I. Jennings, M. Greaves, I.J. Mackie, S. Kitchen, T.A.L. Woods, E.F. Preston, UK NEQAS, Lupus anticoagulant testing: improvements in performance in a UK NEQAS proficiency testing exercise after dissemination of national guidelines on laboratory methods, *Br. J. Haematol.* 119 (2002) 364–369.
- [72] Z. Ulcova-Gallova, V. Krauz, P. Novakova, L. Milichovska, Z. Micanova, K. Bibkova, R. Sucha, J. Turek, M. Balvin, Z. Rokyta, Anti-phospholipid antibodies against phosphatidylinositol, and phosphatidylserine are more significant in reproductive failure than antibodies against cardiolipin only, *Am. J. Reprod. Immunol.* 54 (2005) 112–117.
- [73] H. Yamada, T. Atsumi, E.H. Kato, S. Shimada, M. Morikawa, H. Minakami, Prevalence of diverse antiphospholipid antibodies in women with recurrent spontaneous abortion, *Fertil. Steril.* 80 (2003) 1276–1278.
- [74] D.W. Branch, T.F. Porter, L. Rittenhouse, S. Caritis, B. Sibai, B. Hogg, M.D. Lindheimer, M. Klebanoff, C. MacPherson, J.P. VanDorsten, M. Landon, R. Paul, M. Miodovnik, P. Meis, G. Thurnau, Antiphospholipid antibodies in women at risk for preeclampsia, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 184 (2001) 825–834.
- [75] O. Yodfat, M. Blank, I. Krause, Y. Shoenfeld, The Pathogenic Role of Anti-phosphatidylserine Antibodies: Active Immunization with the Antibodies Leads to the

- Induction of Antiphospholipid Syndrome, *Clin. Immunol. Immunopathol.* 78 (1996) 14–20.
- [76] H. Yamada, T. Atsumi, G. Kobashi, C. Ota, E.H. Kato, N. Tsuruga, K. Ohta, S. Yasuda, T. Koike, H. Minakami, Antiphospholipid antibodies increase the risk of pregnancy-induced hypertension and adverse pregnancy outcomes, *J. Reprod. Immunol.* 79 (2009) 188–195.
- [77] T. Sugi, H. Matsubayashi, A. Inomo, L. Dan, T. Makino, Antiphosphatidylethanolamine antibodies in recurrent early pregnancy loss and mid-to-late pregnancy loss, *J. Obstet. Gynaecol. Res.* 30 (2004) 326–332.
- [78] J.-C. Gris, T. V Perneger, I. Quéré, E. Mercier, P. Fabbro-Peray, G. Lavigne-Lissalde, M. Hoffet, H. Déchaud, J.-C. Boyer, S. Ripart-Neveu, Antiphospholipid/antiprotein antibodies, hemostasis-related autoantibodies, and plasma homocysteine as risk factors for a first early pregnancy loss: a matched case-control study, *Blood.* 102 (2003) 3504–3513.
- [79] M. Sanmarco, Clinical significance of antiphosphatidylethanolamine antibodies in the so-called “seronegative antiphospholipid syndrome,” *Autoimmun. Rev.* 9 (2009) 90–92.
- [80] M. Karmochkine, M. Berard, J.C. Piette, P. Cacoub, M.F. Aillaud, J.R. Harlet, P. Godeau, M.C. Boffa, Antiphosphatidylethanolamine antibodies in systemic lupus erythematosus, *Lupus.* 2 (1993) 157–160.
- [81] Y. Sherer, S. Tartakover-Matalon, M. Blank, E. Matsuura, Y. Shoenfeld, Multiple Autoantibodies Associated with Autoimmune Reproductive Failure, *J. Assist. Reprod. Genet.* 20 (2003) 53–57.
- [82] A. Hoxha, A. Ruffatti, M. Pittoni, A. Bontadi, M. Tonello, E. Salvan, M. Plebani, L. Punzi, The clinical significance of autoantibodies directed against prothrombin in primary antiphospholipid syndrome, *Clin. Chim. Acta.* 413 (2012) 911–913.
- [83] L. V Rao, A.D. Hoang, S.I. Rapaport, Mechanism and effects of the binding of lupus anticoagulant IgG and prothrombin to surface phospholipid, *Blood.* 88 (1996) 4173–4182.
- [84] M. Galli, Should we Include Anti-prothrombin Antibodies in the Screening for the Antiphospholipid Syndrome?, *J. Autoimmun.* 15 (2000) 101–105.
- [85] M.L. Bertolaccini, T. Atsumi, T. Koike, G.R. Hughes, M.A. Khamashta, Antiprothrombin antibodies detected in two different assay systems, *Preval. Clin. Significance Syst. Lupus Erythematosus. Thromb. Haemost.* 93 (2005) 289–297.

- [86] C. Male, D. Foulon, H. Hoogendoorn, P. Vegh, E. Silverman, M. David, L. Mitchell, Predictive value of persistent versus transient antiphospholipid antibody subtypes for the risk of thrombotic events in pediatric patients with systemic lupus erythematosus, *Blood*. 106 (2005) 4152–4158.
- [87] J.R. Santamaria, D. Badziak, M.F. de Barros, F.L. Mandelli, L.C. Cavalin, M.S. Sato, Antiphospholipid syndrome, *An. Bras. Dermatol.* 80 (2005) 225–239.

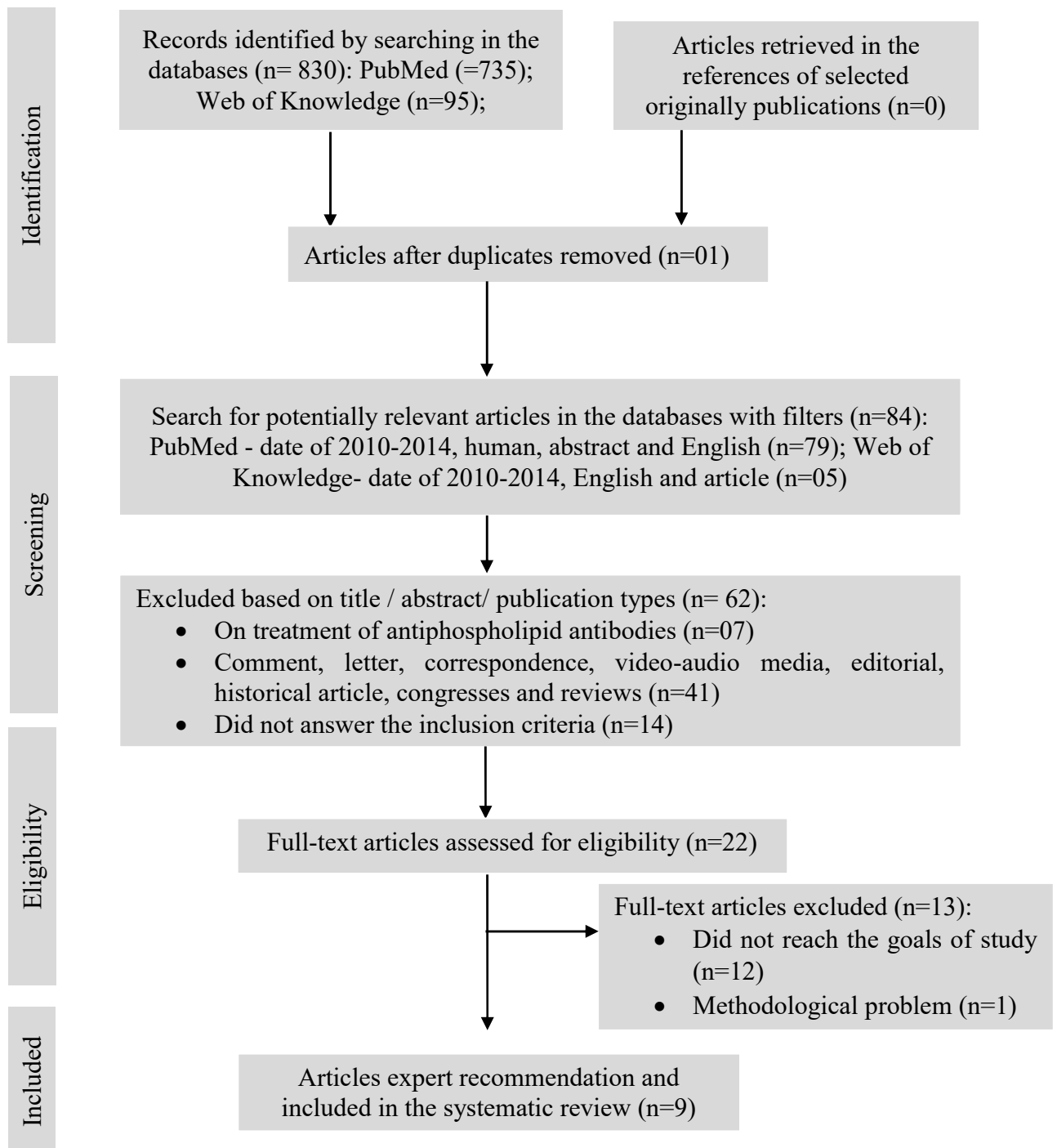


Figure 1: Flow diagram of articles included to systematic review - PRISMA statement (Shamseer et al., 2015)

Table 1- Characteristics of included studies in systematic review.

Search	Design	Period	Patient/ Population	% cases RM/ Population	% cases aPLAs or APS/ Population	MD; SD (range)	IC	E C	A B	A A B	Outcome (RM)
Motak-Pochrzęst et al. (2013) POL	CC	2009- 2012	155 RM (46 aPL); 50 C	76%/205	22%/205	Pa: 31 (22 - 45) C: 29	Y	Y	N	N	The heterogeneity of immunological risk factors (alloimmune factors and autoantibodies) in patients with RM indicated that autoimmune conditions correlate with alloimmunologic disturbances.
Subrt et al. (2013) CZE	CC	2004- 2006	157 RM (84 aPL); 74 C	68%/231	36%/231	Pa: 32 ± 4.3 (23- 44) C: 33 (27-42)	Y	Y	N	Y	aPL positivity and PAI-1 (-675) 4G/4G are truly independent risk factors in multifactorial model of RM.
Van den Boogaard et al. (2013) UK	CS-R	1988- 2006	312 RM+APS; 1407 UNRM	18%/1719	18%/1719	Pa: 32.6 ± 5.8	Y	Y	Y	N	Study showed that patients with RM and APS did not differ for clinical obstetric parameters compared with patients with UNRM. Neither the number of miscarriages and the sequence of pregnancies nor maternal age differed with the presence of APS with UNRM.
Chen et al. (2012) CHN	CC-OP	2007- 2010	109 aPLs+RM; 49 C	69%/158	69%/158	Pa: 29.4 (20 – 38) C: 29.1 (22- 35)	Y	Y	Y	Y	aPL-RM patients demonstrated significantly decreased endometrial and subendometrial vascularity as assessed by 3D-PDA during natural midluteal phase, but endometrial MVD fails to correlate with the acquired vascularity parameters.
Sater et al. (2012) BHR	CC-R	02/2010- 10/2010	277 RM; 288 C	49%/565	-	Pa: 31.6 ± 5.4 C: 31.7 ± 4.5	Y	Y	Y	Y	Elevated aCL IgM and IgG, and anti-PS IgG antibodies are positively associated with RM.
Roye-Green et al. (2011) JAM	CC	NR	50 RM (23 aPL); 135 C	27%/185	12%/185	Pa: 32 (21 - 40) C: 36 (20-42)	Y	Y	N	Y	aPL are the only autoantibodies which showed association with RM in Jamaica.

Cohn et al. (2010) UK	CS	1987- 2006	176 aPL+RM; 517 UNRM	25%/693	25%/693	Pa: 32 ± 5.6	Y	Y	Y	Y	The overall prognosis of a successful pregnancy in women with RM and aPL treated with heparin and aspirin is good.
Obayashi et al. (2010) JPN	CS-P	1999- 2007	71 aPL+ APS (RM)/ 367 UNRM	19%/367	19%/367	Pa: 31.9 ± 4.3	Y	Y	Y	Y	It was not obtained any evidence that aPE predicts further miscarriage in patients with RM.
Lončar (2010) SRB	CC	2004- 2008	60 RM; 60 C	50%/120	-	Pa: 29.09 ± 3.2 C: 27.1 ± 2.95	Y	Y	Y	N	In PW with RM compared to healthy PW a slightly positive correlation of LA with aCL of both IgM and IgG antibodies, as well as a positive correlation of aCL with a β 2GPI IgG exist.

3D-PDA: three-dimensional ultrasonography and power Doppler angiography; AB: Author's bias; AAB: Another author' bias; a β 2GPI: β 2-glycoprotein I antibodies; aCL: anticardiolipin antibodies; aPL: antiphospholipid antibodies; aPE: antiphosphatidylethanolamine antibodies; APS: antiphospholipid syndrome; anti-PS: phosphatidylserine antibodies; BHR: Bahrain; C: control; CC: case-control study; CS: cohort study; CHN: People's Republic of China; CZE: Czech Republic; EC: Exclusion criteria; IC: Inclusion criteria; JAM: Jamaica; JPN: Japan; LA: lupus anticoagulant; MD: Median age in years; MVD: endometrial microvessel density; N: no; NR: not reported; O: observational; P: prospective; Pa: patients; PAI-1: Plasminogen Activator Inhibitor-1; POL: Poland; PW: pregnant women; R: retrospective; RM: recurrent miscarriage; SA: spontaneous abortions; SD: standard deviation; SRB: Serbia; UNRM: unexplained recurrent miscarriage; UK: United Kingdom, Y: yes.

Table 2- Cutoff positive value, ratio positive value LA and unit used in tests of aCL, aβGPI, aPE, aPS and aPT.

Reference	Ratio LA	CPV							Unit		
		aCL IgG	aCL IgM	aβGPI	aPS IgG	aPT IgM	aPE IgG	aPE IgM	aCL	aβGPI	aPS/aPT/aPE
Motak-Pochrzęst et al. (2013)	≥1.20	> 12	> 6	NS	NS	NS	NS	NS	GPL /MPL	NS	NS
Subrt et al. (2013)	NS	NR	NR	NR	NR	NS	NR	NR	NR	NR	NR
Van den Boogaard et al. (2013)	≥1.10	≥ 11	≥ 6	NS	NS	NS	NS	NS	U/mL	NS	NS
Chen et al. (2012)	≥1.20	> 40	> 40	NS	NS	NS	NS	NS	GPL/MPL	NS	NS
Sater et al. (2012)	NS	≥ 9.29	≥ 9.94	≥ 16.86 IgM; ≥ 7.60 IgG	≥10.87	>13.7	NS	NS	GPL/MPL	AU	AU
Roye-Green et al. (2011)	NR	> 10	> 10	D > 20	NS	NS	NS	NS	GPL/MPL	SGU/SM U	NS
Cohn et al. (2010)	≥1.10	> 11	> 6	NS	NS	NS	NS	NS	GPU/MPU	NS	NS
Obayashi et al. (2010)	> 1.3*	NS	NS	D ≥ 1.9 ; I ≥ 6.3	NS	NS	P+ >0.32; P- >0.45	P+ >0.44; P- >1.0	NS	U/mL	NR
Lončar (2010)	≥1.3	> 20	> 13	NR	NS	NS	NS	NS	U/mL	NR	NS

* dilute Russell's viper venom time; aβ2GPI: anti-β2-glycoprotein I antibodies; aCL: anticardiolipin antibodies; aPE: anti-phosphatidylethanolamine antibodies; aPS: anti-phosphatidylserine antibodies; aPT: anti-prothrombin antibodies; AU: unit arbitrary; CPV: Cutoff positive value; D: dependent; GPL: IgG phospholipid; GPU: IgG phospholipid units; I: independent; IgM: immunoglobulin M; IgG: immunoglobulin G; LA: Lupus anticoagulant; MPL: IgM phospholipid; MPU: IgM phospholipid units; NS: Not searched; NR: Not related; P+: Plasma protein-dependent; P-: Plasma protein-independent; SGU: IgG phospholipid units; SMU: IgM phospholipid units; U: unit.

Table 3- Comparison between tests described for aCL, a β 2GPI and LA.

Reference	Test used for LA	aCL and a β 2GPI (aPL) assay type	Kit-commercial used (companies)	Repeat in 6 weeks or 12 weeks the tests
Motak-Pochrzęst et al. (2013)	NR	ELISA	LA: Instrumentation Laboratory; aPL: Pharmacia Deutschland GmbH	Y
Subrt et al. (2013)	NS	ELISA	NR	NR
Van den Boogaard et al. (2013)	dRVVT	NR	NR	Y
Chen et al. (2012)	dRVVT	ELISA	aPL: Aesku Diagnostics; dRVVT: Dade Behring	Y
Sater et al. (2012)	NS	Quantitative sandwich ELISA	aPL: REAADS kits-Corgenix	NR
Roye-Green et al. (2011)	aPTT	ELISA	aCL- APL Diagnostics Inc.; a β 2GPI- Inova Diagnostics Inc., aPTT: Sigma Diagnostics	NR
Cohn et al. (2010)	dRVVT and KCCT	ELISA	NR	Y
Obayashi et al. (2010)	aPTT and dRVVT	NR	aPTT: Automated aPTT, Organon Teknica; dRVVT: Gradipore Ltd.	N
Lončar (2010)	KCCT and aPTT	ELISA	a β 2GPI- Aniara Corporation; aCL- Institute for the Application of Nuclear Energy – INEP; aPTT: Instrumentation Laboratory	NR

a β 2GPI: anti- β 2-glycoprotein I antibodies; aCL: anticardiolipin antibodies; aPL: antiphospholipid antibodies; aPTT: activated partial thromboplastin time; dRVVT: dilute Russell's viper venom time; ELISA: Enzyme-linked immunosorbent assay; KCCT: Kaolin Cephalin Clotting Time; LA: Lupus anticoagulant; N: no; NR: Not related; NS: Not searched; Y: yes.

Table 4- Percentage of patients with aPL total, aCL, aβGPI, LA, aPE, aPS and aPT.

Reference	aPL total	aCL IgG	aCL IgM	aCL IgG/ IgM	aβGPI	LA	aPE IgM	aPE IgG	aPS IgM	aPS IgG	aPT IgM
Motak-Pochrzęst et al. (2013)	NR	NR	NR	16.1%	NS	13.5%	NS	NS	NS	NS	NS
Subrt et al. (2013)	52.2% (3-8)× 54.6% (2)	NR	NR	S	S	NS	S	S	S	S	NS
Van den Boogaard et al. (2013)	18.0%	S	S	NR	NS	S	NS	NS	NS	NS	NS
Chen et al. (2012)	NR	11.0%	1.8%	1.8%	NS	88.1%	NS	NS	NS	NS	NS
Sater et al. (2012)	NR	36.5%	10.1%	NR	S	NS	NS	NS	S	30%	12%
Roye-Green et al. (2011)	NR	4.0%*	26.0%*	0%	14.0% ‡**	2.0%	NS	NS	NS	NS	NS
Cohn et al. (2010)	25.0%	S	S	NR	NS	S	NS	NS	NS	NS	NS
Obayashi et al. (2010)	NR	NS	NS	NS	2.5% **	2.7% + 13.6%***	P+: 6.3%; P-: 1.6%	P+: 10.1%; P-: 3.8%	NS	NS	NS
Lončar (2010)	NR	S	S	NR	S	S	NS	NS	NS	NS	NS

* amount of recurrent miscarriages; † Sum IgG (n:6%), IgM (n:2%), IgG and IgM (n:6%); *Sum médium/high positive IgG (2%) IgM (16%) and low positive IgG (2%) IgM (10%); **Anti-β2GPI- aCL dependent antibodies; *** Sum of confirmatory methods for Lupus anticoagulant: dilute Russell's viper venom time (2.7%) and dilute activated partial thromboplastin time (13.6%); aβ2GPI: anti-β2-glycoprotein I antibodies; aCL: anticardiolipin antibodies; aPE: anti-phosphatidylethanolamine antibodies; aPL: antiphospholipid antibodies; aPS: anti-phosphatidylserine antibodies; aPT: anti-prothrombin antibodies; IgG: immunoglobulin G; IgM: immunoglobulin M; LA: Lupus anticoagulant; NR: Not related; NS: Not searched; P+: Plasma protein-dependent; P-: Plasma protein-independent; S: Searched.

SUPPLEMENTARY FILE 1: CHECKLIST PRISMA

+Section/topic	#	Checklist item	Reported on page #
TITLE			
Title	1	Identify the report as a systematic review, meta-analysis, or both.	1
ABSTRACT			
Structured summary	2	Provide a structured summary including, as applicable: background; objectives; data sources; study eligibility criteria, participants, and interventions; study appraisal and synthesis methods; results; limitations; conclusions and implications of key findings; systematic review registration number.	1
INTRODUCTION			
Rationale	3	Describe the rationale for the review in the context of what is already known.	1,2
Objectives	4	Provide an explicit statement of questions being addressed with reference to participants, interventions, comparisons, outcomes, and study design (PICOS).	N/A
METHODS			
Protocol and registration	5	Indicate if a review protocol exists, if and where it can be accessed (e.g., Web address), and, if available, provide registration information including registration number.	No registration of protocol
Eligibility criteria	6	Specify study characteristics (e.g., PICOS, length of follow-up) and report characteristics (e.g., years considered, language, publication status) used as criteria for eligibility, giving rationale.	N/A
Information sources	7	Describe all information sources (e.g., databases with dates of coverage, contact with study authors to identify additional studies) in the search and date last searched.	2
Search	8	Present full electronic search strategy for at least one database, including any limits used, such that it could be repeated.	2
Study selection	9	State the process for selecting studies (i.e., screening, eligibility, included in systematic review, and, if applicable, included in the meta-analysis).	2

Data collection process	10	Describe method of data extraction from reports (e.g., piloted forms, independently, in duplicate) and any processes for obtaining and confirming data from investigators.	2
Data items	11	List and define all variables for which data were sought (e.g., PICOS, funding sources) and any assumptions and simplifications made.	N/A
Risk of bias in individual studies	12	Describe methods used for assessing risk of bias of individual studies (including specification of whether this was done at the study or outcome level), and how this information is to be used in any data synthesis.	2
Summary measures	13	State the principal summary measures (e.g., risk ratio, difference in means).	N/A
Synthesis of results	14	Describe the methods of handling data and combining results of studies, if done, including measures of consistency (e.g., I^2) for each meta-analysis.	N/A
Risk of bias across studies	15	Specify any assessment of risk of bias that may affect the cumulative evidence (e.g., publication bias, selective reporting within studies).	N/A
Additional analyses	16	Describe methods of additional analyses (e.g., sensitivity or subgroup analyses, meta-regression), if done, indicating which were pre-specified.	N/A
RESULTS			
Study selection	17	Give numbers of studies screened, assessed for eligibility, and included in the review, with reasons for exclusions at each stage, ideally with a flow diagram.	3
Study characteristics	18	For each study, present characteristics for which data were extracted (e.g., study size, PICOS, follow-up period) and provide the citations.	4,5
Risk of bias within studies	19	Present data on risk of bias of each study and, if available, any outcome level assessment (see item 12).	Table 1
Results of individual studies	20	For all outcomes considered (benefits or harms), present, for each study: (a) simple summary data for each intervention group (b) effect estimates and confidence intervals, ideally with a forest plot.	N/A
Synthesis of results	21	Present results of each meta-analysis done, including confidence intervals and measures of consistency.	N/A
Risk of bias across studies	22	Present results of any assessment of risk of bias across studies (see Item 15).	N/A

Additional analysis	23	Give results of additional analyses, if done (e.g., sensitivity or subgroup analyses, meta-regression [see Item 16]).	N/A
DISCUSSION			
Summary of evidence	24	Summarize the main findings including the strength of evidence for each main outcome; consider their relevance to key groups (e.g., healthcare providers, users, and policy makers).	4-11
Limitations	25	Discuss limitations at study and outcome level (e.g., risk of bias), and at review-level (e.g., incomplete retrieval of identified research, reporting bias).	11
Conclusions	26	Provide a general interpretation of the results in the context of other evidence, and implications for future research.	12
FUNDING			
Funding	27	Describe sources of funding for the systematic review and other support (e.g., supply of data); role of funders for the systematic review.	No funding

From: Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, The PRISMA Group (2009). Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. *PLoS Med* 6(7): e1000097. doi:10.1371/journal.pmed1000097
For more information, visit: www.prisma-statement.org.

SUPPLEMENTARY FILE 2: SEARCH TERMS

PubMed Database MeSH terms definition	Web of science Database Strategy TS (topic)
Stage I - General MeSH terms	Stage I- Search the General terms as Ts (topic) strategy
#Antiphospholipid Syndrome; #Cardiolipins; #Autoantibodies; #Autoimmunity; #Female; #Antibodies, Antiphospholipid; #Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; #Abortion, Habitual;	Antiphospholipid Syndrome; Cardiolipins; Autoantibodies; Autoimmunity; Female; Antibodies, Antiphospholipid; Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Abortion, Habitual;
Stage II- Organization of MeSH Boolean terms	Stage II- Organization of Ts (topic)
Group I – "Antiphospholipid Syndrome"[MeSH] OR "Antibodies, Antiphospholipid"[MeSH] Group II - "Abortion, Habitual"[MeSH]	Group I - Ts= (Antiphospholipid Syndrome) OR (Antibodies, Antiphospholipid) Group II - Ts=(Abortion, Habitual)
Stage III - MeSH terms finals	Stage III- Ts (topic)
MeSH Number terms defined by consensus Group I: 2 Group II: 1 Five Mesh terms were excluded (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, Female, Cardiolipins, Autoantibodies, Autoimmunity)	Number terms defined by consensus Group I: 2 Group II: 1 Five terms were excluded (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, Female, Cardiolipins, Autoantibodies, Autoimmunity)

SUPPLEMENTARY FILE 3 - INCLUDED STUDIES FOR THE REVIEW

- [1] H. Motak-pochrzęst, A. Malinowski, The occurrence of immunological disturbances in patients with recurrent miscarriage (RM) of unknown etiology, *Neuroendocrinol. Lett.* 34 (2013) 701–707.
- [2] I. Subrt, Z. Ulcova-Gallova, M. Cerna, M. Hejnalova, J. Slovanova, K. Bibkova, Z. Micanova, Recurrent Pregnancy Loss, Plasminogen Activator Inhibitor-1 (-675) 4G/5G Polymorphism and Antiphospholipid Antibodies in Czech Women, *Am. J. Reprod. Immunol.* 70 (2013) 54–58.
- [3] E. Van Den Boogaard, D.M. Cohn, J.C. Korevaar, F. Dawood, R. Vissenberg, S. Middeldorp, M. Goddijn, R.G. Farquharson, Number and sequence of preceding miscarriages and maternal age for the prediction of antiphospholipid syndrome in women with recurrent miscarriage, *Fertil. Steril.* 99 (2013) 188–192.
- [4] D.M. Cohn, M. Goddijn, S. Middeldorp, J.C. Korevaar, F. Dawood, R.G. Farquharson, Recurrent miscarriage and antiphospholipid antibodies: prognosis of subsequent pregnancy, *J. Thromb. Haemost.* 8 (2010) 2208–2213.
- [5] D. Lončar, Anticardiolipin antibodies in pathogenesis of infertility, *Vojnosanit. Pregl.* 67 (2010) 216–219.
- [6] L. Chen, S. Quan, X.H. Ou, L. Kong, Decreased endometrial vascularity in patients with antiphospholipid antibodies-associated recurrent miscarriage during midluteal phase, *Fertil. Steril.* 98 (2012) 1495–1502.e1.
- [7] M.S. Sater, R.R. Finan, F.M. Abu-Hijleh, T.M. Abu-Hijleh, W.Y. Almawi, Anti-phosphatidylserine, anti-cardiolipin, anti- β_2 glycoprotein i and anti-prothrombin antibodies in recurrent miscarriage at 8-12 gestational weeks, *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 163 (2012) 170–174.
- [8] S. Obayashi, Y. Ozaki, T. Sugi, T. Kitaori, K. Katano, S. Suzuki, M. Sugiura-Ogasawara, Antiphosphatidylethanolamine antibodies might not be an independent risk factor for further miscarriage in patients suffering recurrent pregnancy loss, *J. Reprod. Immunol.* 85 (2010) 186–192.
- [9] K. Roye-Green, J. Frederick, G. Wharfe, E. Choo- Kang, V. Dacosta, H. Fletcher, M. Smikle, Antiphospholipid and other autoantibodies in a cohort of habitual aborters and healthy multiparous women in Jamaica, *Hum. Antibodies.* 20 (2011) 1–5.

SUPPLEMENTARY FILE 4 - POTENTIAL STUDIES EXCLUDED

POTENTIAL STUDIES EXCLUDED			
NO	First Author	Year of study	Reason for Exclusion
1	Proietta, M et al	2014	Letter
2	de Jong, PG et al	2014	Review
3	Jayakody Arachchillage, D et al	2014	Historical article
4	Davenport, WB et al	2014	Review
5	Kutteh, WH et al	2014	Review
6	Brezina, PR et al	2013	Review
7	Lazzarin, N et al	2014	Not searched aPLs antibodies
8	Connors, JM et al	2014	Comment
9	de Jesús, GR et al	2014	Review
10	Ota, K et al	2014	Others diseases
11	Patil, R et al	2013	Not searched aPLs antibodies
12	Ota, K et al	2014	Not reached goals
13	Bouvier, S et al	2014	Comparative study
14	Shahine, LK et al	2014	Review
15	Christiansen, OB et al	2014	Guideline
16	Bennett, SA et al	2014	Others disease
17	Martínez-Zamora, MÁ et al	2013	Review
18	Sugi, T et al	2013	Review
19	de Jong, PG et al	2013	Review
20	Bloor, M et al	2013	Review
21	Rogenhofer, N et al	2013	Review
22	Kwak-Kim, J et al	2013	Review
23	Gris, JC et al	2013	Review
24	Basiri, Z et al	2013	Others disease
25	Rand, JH et al	2012	Review
26	Mariee, NG et al	2012	Not reached goals
27	Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine	2012	Video-audio media
28	McNamee, K et al	2012	Review
29	Martínez-Zamora, MÁ et al	2012	Review
30	Ulcova-Gallova, Z et al	2012	<i>in vitro</i> fertilization
31	Check, JH et al	2012	Review
32	Mekinian, A et al	2012	Treatment
33	Tersigni, C et al	2012	Review
34	Coulam, CB et al	2012	Review
35	Desjardins, MK et al	2012	Not reached goals
36	Ernest, JM et al	2011	Review
37	Mitić, G et al	2011	Treatment
38	Galarza-Maldonado, C et al	2012	Review
39	Martinez-Zamora, MA et al	2012	Not reached goals
40	Alalaf, S et al	2012	Treatment
41	Iwasawa, Y et al	2012	Mechanism

42	Alessandri, C et al	2011	Review
43	Allen, KL et al	2011	Mechanism
44	Adelowo, OO et al	2010	Not reached goals
45	Hoppe, B et al	2011	Review
46	Branch W, Obstetric Task Force.	2011	Congress
47	Jyotsna LP, et al	2011	Not reached goals and Others diseases
48	Giasuddin AS, et al	2010	Others diseases
49	Alijotas-Reig, J et al	2011	Not reached goals
50	Fouda, UM et al	2011	Treatment
51	Yee, DZ et al	2010	Not reached goals
52	Kolyada, A et al	2010	Mechanism
53	Bansal, AS et al	2011	Review
54	Fouda, UM et al	2010	Treatment
55	Cervera, R et al	2010	Editorial
56	Pericleous, C et al	2010	Review
57	Honig, A et al	2010	Others diseases
58	Fawad, S et al	2010	Treatment
59	Ziakas, PD et al	2010	Review and meta-analysis
60	Di Simone, N et al	2010	Not reached goals
61	Ruffatti, A et al	2010	Not reached goals
62	Martínez-Zamora, MA et al	2010	Mechanism
63	Rand, JH et al	2010	Review
64	Levy, RA et al	2010	Review
65	Meroni, PL et al	2010	Review
66	Espinosa, G et al	2010	Review
67	Kano, T et al	2010	Treatment
68	Alijotas-Reig, J et al	2010	Review
69	Mak, A et al	2010	Review and meta-analysis
70	Sauer, R et al	2010	Not reached goals
71	Girardi, G et al	2010	Review
72	Cervera, R et al	2010	Review
73	Gloria-Bottini, F et al	2010	Correspondence
74	Branch, DW et al	2010	Review
75	Jaslow CR et al	2010	Not reached goals and Others diseases

CAPÍTULO III

CONCLUSÃO

Os estudos incluídos na revisão sistemática permitiram concluir que o aborto recorrente pode ocorrer de acordo com a especificidade do anticorpo antifosfolípídeo. Anticorpos anticardiolipina, anticoagulante lúpico e antifosfatidilserina possuem uma maior relação com aborto recorrente, enquanto anticorpos anti- β 2-glicoproteína I, antifosfatidiletalona e antiprotrombina não apresentaram correlação. A quantidade de repetições do aborto recorrente não parece ser influenciada pela presença do anticorpo antifosfolípídeo. Contudo, a falta de padronização dos ensaios e na interpretação prejudica seu uso na monitorização das complicações obstétricas, como o aborto recorrente. Sugere-se uma padronização entre os ensaios na pesquisa dos anticorpos antifosfolípeos estabelecido pelo comitê internacional para garantir o correto diagnóstico da Síndrome do Anticorpo Antifosfolípídeo. Os critérios internacionais da Síndrome do Anticorpo Antifosfolípídeo, especificamente relacionados ao aborto recorrente, devem ser revisados e atualizados.

PERSPECTIVAS FUTURAS

- Desenvolver mais pesquisas envolvendo outros anticorpos antifosfolipídeo que não estão incluídos nos critérios laboratoriais do diagnóstico da Síndrome do Anticorpo Antifosfolipídeo, ou mesmo a pesquisa de anticorpos considerados controversos em relação ao aborto recorrente;
- Desenvolver estudos sobre a quantidade de repetições de aborto recorrente, e a importância de ser ou não consecutivas, também precisam ser realizadas, pois podem contribuir para atualizações e melhoria dos critérios clínicos para o diagnóstico da Síndrome do Anticorpo Antifosfolipídeo.
- Melhorar a padronização laboratorial é indispensável para o desenvolvimento dos dados epidemiológicos sobre a Síndrome do Anticorpo Antifosfolipídeo, na medida em que a falta dela não permite o conhecimento dos indicadores, como a prevalência.
- Estabelecer e disseminar critérios quanto à sensibilidade e especificidade dos testes laboratoriais, principalmente para os *in-house*, para se estabelecer os melhores métodos diagnósticos para manter a uniformidade e padronização interlaboratorial;
- Desenvolver de novas pesquisas em relação aos polimorfismos genéticos de pacientes com Síndrome do Anticorpo Antifosfolipídeo obstétrica;
- Desenvolver novas pesquisas que esclareçam a fisiopatogenia do aborto recorrente e sua relação com anticorpos antifosfolipídeos deve ser conduzido para se propor medidas de controle e monitoramento de gestantes com anticorpos antifosfolipídeos e para novos alvos terapêuticos;
- Compreender o papel dos anticorpos antifosfolipídeos em outras complicações obstétricas;