

Índice

Lista de Siglas.....	2
Lista de Tabelas.....	3
Lista de Imagens.....	4
Introdução.....	5
Material e Métodos.....	7
Epidemiologia.....	8
Critérios de Diagnóstico da SAF.....	10
Anticorpos Antifosfolipidicos.....	16
Aspectos Fisiopatológicos da SAF.....	24
Complicações Obstétricas da SAF: Possíveis Mecanismos Patogénicos.....	30
Aspectos Clínicos da SAF na Gravidez.....	37
Tratamento e Monitorização.....	45
Conclusão.....	55
Referências Bibliográficas.....	57

Lista de Siglas

aA5 – anticorpo anti-anexina V

aB2GP1 – anti-beta2-glicoproteína 1

ABD – Aspirina em baixa dose

aCL – anti-Cardiolipina

aFL – anticorpos Antifosfolipídicos

aFS – anticorpo anti-fosfatidilserina

AIT – Acidente isquémico transitório

AL – Anticoagulante Lúpico

apoER2 – receptor apolipoproteína E2

aPT – anticorpo anti-protrombina

ATIII – anti-trombina III

atPA – anticorpo anti-ativador do plasminogénio tecidual

AVC – Acidente vascular cerebral

B2GP1 – beta2-glicoproteína 1

FL - Fosfolídeos

FS – Fosfatidilserina

FT – factor tecidual

HBPM – heparina de baixo peso molecular

HELLP – hemólise, elevação das enzimas hepáticas, trombocitopenia

HNF – heparina não-fraccionada

hPL - lactogénio placentário humano

HTA – hipertensão arterial

ICAM-1 – molécula de adesão intercelular 1

IL – interleucina

LES – Lupus Eritematoso Sistemico

LRP – low density lipoprotein receptor relater protein

PAI-1 – Inibidor da activação da plasmina 1

PAR2 - receptor tipo 2 activado por proteases

PCA – proteína C activada

RCIU – restrição de crescimento intra-uterino

SAF – Síndrome Antifosfolipídica

TBXA2 – tromboxano A2

TBXB2 –tromboxano B2

TCK- tempo de coagulação da kaolina

TE – Tromboembolismo

TEV – Tromboembolismo venoso

TLR2 – receptor toll-like 2

TLR4 – receptor toll-like 4

TM – trombomodulina

TNF – α – Factor de necrose tumoral alfa

TP – tempo de protrombina

tPA – tempo de protrombina activada

tTPA – tempo de tromboplastina parcial activada

TT-tempo de textarina

TVVRD – teste do veneno de víbora de Russel diluído

β hCG – subunidade beta da gonadotrofina coriónica humana

Lista de Tabelas

Tabela 1: Critérios de Classificação revistos da SAF

Tabela 2: Indicações para a pesquisa de Anticorpos Antifosfolipídeos

Tabela 3: Frequência das Complicações Obstétricas da SAF

Tabela 4: Tratamento e monitorização das grávidas com aAF positivos

Lista de Figuras:

Figura 1: Modelo conformacional da $\beta 2$ GPI e sua ligação a FL membranares.

Figura 2: Mecanismos fisiopatológicos de trombose na SAF.

Figura 3: Representação esquemática da formação do complexo $\beta 2$ GP1- $\alpha \beta 2$ GP1 e ligação a FL de membrana.

Figura 4: Reacções hemostáticas e activação celular como mecanismos fisiopatológicos da SAF.

Figura 5: Activação do sistema complemento pelos aAF com recrutamento e activação de células e mediadores inflamatórios que levam a dano tecidular na placenta e consequentes complicações obstétricas.

Figura 6: Complicações obstétricas da SAF. *complicações que apesar de estarem relacionadas com a síndrome não constituem critério diagnóstico clínico.

Figura 7: Terapêutica da SAF obstétrica. *A prescrição de heparina nas grávidas com aFL positivos mas sem manifestações de SAF obstétrica deve ser feita com base na presença de factores de risco para trombose, tal como indicado no texto. ** A estratificação do risco para terapêutica profiláctica pós parto nas mulheres sem história de TEV é realizada com base nos factores acima descritos.

Introdução

A síndrome antifosfolipídica (SAF), doença autoimune adquirida, é caracterizada clinicamente pela ocorrência de fenómenos trombóticos e/ou morbidade obstétrica, que se fazem acompanhar laboratorialmente por autoanticorpos circulantes heterogénios, os anticorpos antifosfolipídicos (aFL) (Nishiguchi et al. 2005).

A descrição clínica desta síndrome foi feita pela primeira vez na década de 1980 por Graham Hughes e por tal designada síndrome de Hughes (Edwards et al. 2008, Hughes 2011). Nos últimos 25 anos o conhecimento da síndrome tem vindo a aumentar exponencialmente. Os critérios de classificação da SAF foram inicialmente propostos por Harris em 1987 e definidos preliminarmente em 1998 (critérios de Sapporo). Recentemente, em 2006, os critérios de classificação de Sapporo foram actualizados incluindo os anticorpos a β 2GPI como terceiro critério laboratorial (Miyakis et al. 2006).

Reconhece-se actualmente que a SAF é importante causa de morbidade materno-fetal, sendo no entanto sub-diagnosticada. Segundo os critérios diagnósticos, a morbidade associada a gravidez é caracterizada por abortos precoces de repetição, morte fetal após as 10 semanas e pré-eclampsia grave ou insuficiência placentária que condicionam parto pré-termo. Outras manifestações como descolamento da placenta, trombocitopenia, RCIU, síndrome HELLP estão associadas à SAF apesar de não constituírem critério diagnóstico (Seror et al. 2010).

Os mecanismos fisiopatológicos da SAF parecem dever-se à activação desregulada de células endoteliais, plaquetas e monócitos pelo complexo anti- β 2GPI/ β 2GPI, alteração da fibrinólise, activação da cascata de coagulação e complemento, mecanismos estes implícitos na predisposição trombótica da SAF (Vlachoyiannlopoulos e Routsias. 2010).

Os mecanismos específicos que levam às complicações obstétricas na SAF continuam a ser alvo de investigação, nomeadamente mecanismos trombóticos, anomalias do desenvolvimento placentário e fenómenos inflamatórios locais (Urbanus et al. 2008).

O objectivo deste trabalho é, através de uma revisão da literatura, avaliar as implicações materno-fetais da SAF através dos potenciais mecanismos fisiopatológicos, das complicações clínicas encontradas, bem como a conduta terapêutica mais consensualmente adoptada na prevenção e tratamento das complicações obstétricas.

Material e Métodos

Foi realizada uma pesquisa sistemática inicialmente conduzida para identificar possíveis artigos elegíveis do motor de busca PUBMED/MEDLINE, entre os anos de 2004 e 2011, utilizando as seguintes palavras-passe: “antiphospholipid”, “obstetric”, “pregnancy”, “antibodies”, “syndrome”, “treatment”, “pathogenic”, “ β 2-glicoprotein I”, “recurrent miscarriage”. Posteriormente foram escolhidos 95 artigos, científicos e de revisão, editados em revistas de circulação internacional com reconhecido factor de impacto.

Epidemiologia

As doenças autoimunes afectam na generalidade mais a mulher do que o homem, com raios que vão de 2:1 na esclerose múltipla, 3:1 na artrite reumatóide ou 10:1 no lúpus eritematoso sistémico. A SAF não constitui excepção, estando descritos raios de 12:1 a 5:1 (Borchers et al. 2010, Cervera et al. 2009).

No que respeita à idade de aparecimento da síndrome, verifica-se que ocorre essencialmente no período fértil das mulheres, entre os 15 e os 50 anos, o que parece reflectir uma influência hormonal na sua patogénese (Cervera et al. 2009).

Afecta cerca de 1 em cada 700 mulheres e a incidência da doença tem vindo a aumentar, o que se parece estar relacionado essencialmente com as maiores taxas de detecção da doença, pensando-se actualmente que poderá ser mais prevalente do que inicialmente se pensava (Lakasing et al. 2005).

A SAF é vulgarmente classificada como primária, quando ocorre isoladamente (53%), ou secundária, quando acompanha outra patologia auto-imune, habitualmente LES (42%) (Cervera et al. 2009, Ruiz-Irastorza et al. 2010).

As manifestações clínicas mais comuns da SAF, segundo um estudo realizado pelo *Euro-phospholipid project* numa população de 1000 doentes com SAF, são: trombose venosa profunda (38,9%), artralguas (38,7%), abortos precoces de repetição (35,4%), trombocitopenia (29,6%), artrite (27,1%), livedo reticularis (24,1%) e AVC (19,8%) (Cervera e Hughes 2009).

As complicações obstétricas associadas a esta síndrome são várias, assumindo diferentes frequências, que diferem de estudo para estudo (Galarza-Maldonado et al. 2010). As complicações mais frequentemente associadas a SAF são os abortos de repetição, seguindo-se a morte fetal após as dez semanas de gestação e a pré-eclampsia severa/ insuficiência placentária que condicionam parto pré-termo (Cervera e Hughes 2009, Galarza-Maldonado et

al. 2010). O descolamento da placenta, síndrome HELLP, e RCIU, constituem manifestações menos frequentes desta síndrome (Galarza-Maldonado et al. 2010).

Critérios de Diagnóstico da SAF

Em 1999 foram publicados os critérios de classificação internacional para a SAF (critérios de Sapporo). Estes mesmos critérios foram revistos em 2006 – critérios de classificação de Sydney para a SAF. A revisão foi baseada em novas evidências clínicas, laboratoriais e experimentais, sendo estes os critérios adoptados na actualidade. (Miyakis et al. 2006). Apesar de permitirem uma optimização diagnóstica através do aumento da especificidade, limitação da inclusão dos doentes e abordagem baseada na estratificação do risco (Kaul et al. 2007), algumas questões permanecem ainda alvo de estudo e discussão (Devreese e Hoylaerts 2010).

A Tabela 1 apresenta os critérios de Sapporo revistos para diagnóstico de SAF - critérios de classificação de Sydney. A recente revisão mantém a subdivisão entre critérios clínicos e laboratoriais, sendo necessário pelo menos um critério clínico e um critério laboratorial para efectuar o diagnóstico (Miyakis et al. 2006, Kaul et al. 2007).

Critérios clínicos da SAF:

A **trombose vascular**, critério clínico para SAF, pode afectar vasos arteriais, venosos e pequenos vasos, em qualquer tecido ou órgão. Deve ser correctamente confirmada por técnicas de imagem (estudo eco-doppler) ou histopatologia (neste caso a trombose deve estar presente sem evidência significativa de inflamação na parede do vaso) (Miyakis et al. 2006, Devreese e Hoylaerts 2010).

A trombose das veias profundas do membro inferior, com ou sem tromboembolismo pulmonar, é a manifestação trombótica mais comum da SAF. A trombose venosa superficial não é incluída no critério diagnóstico. Quanto à trombose arterial, esta manifesta-se geralmente por AVC isquémico, sendo que outras manifestações como enfarte do miocárdio, gangrena periférica e formação de trombos oclusivos em qualquer local da circulação arterial

também podem constituir manifestação da síndrome (Miyakis et al. 2006, Devreese e Hoylaerts 2010).

Tabela 1 Critérios de classificação da SAF (adaptado Miyakis et al, 2006)

Critérios clínicos*:

Trombose vascular ¶:

Um ou mais episódios clínicos de trombose arterial, venosa, ou trombose de pequenos vasos £, em qualquer órgão ou tecido. A trombose deve ser confirmada por critérios objectivos validados (achados inequívocos em estudos de imagem apropriados ou histopatologia).

Morbilidade na gravidez

- Uma ou mais mortes inexplicadas de um feto morfologicamente normal às 10, ou depois das 10 semanas de gestação, com morfologia fetal normal documentada por ecografia ou por exame directo do feto, ou

- Um ou mais partos prematuros de neonato morfologicamente normal antes das 34 semanas de gestação, devido a: (i) pré-eclampsia grave, (ii) insuficiência placentária reconhecida ¶, ou

- Três ou mais abortos espontâneos consecutivos inexplicados, antes das 10 semanas de gestação com anormalidades anatómicas ou hormonais maternas excluídas, e ainda com a exclusão de causas cromossômicas paternas ou maternas.

Critérios laboratoriais:**

Anticoagulante lúpico (AL) presente no plasma, em uma ou mais ocasiões, com pelo menos 12 semanas de intervalo, detectado de acordo com as guidelines da Sociedade Internacional de Trombose e Hemostase (Subcomite científico em LAs/anticorpos fosfolipideos-dependentes).

Anticorpo anti-cardiolipina (aCL) de isótipo IgG e/ou IgM no soro ou plasma, presente em título médio ou alto (> percentil 99) em duas ou mais ocasiões, com pelo menos 12 semanas de intervalo, medido por teste ELISA padronizado.

Anticorpos anti-beta2 glicoproteína de isotipo IgG ou IgM no soro ou plasma (em título > percentil 99), presente em duas ou mais ocasiões, com pelo menos 12 semanas de intervalo, medido por teste ELISA standartizado, de acordo com protocolo recomendado.

O diagnóstico de SAF é efectuado na presença de pelo menos um critério clínico e um critério laboratorial.

* A classificação da SAF não deve ser aplicada se menos de 12 semanas ou mais de 5 anos separarem a positividade dos testes para aAF e as manifestações clínicas. ¶ Factores co-existent ou factores adquiridos para trombose não devem ser motivo para excluir doentes com SAF de ensaios clínicos, no entanto devemos considerar dois subgrupos de doentes com SAF, estes devem ser reconhecidos de acordo com a presença e a ausência de factores de risco adicionais para trombose. A presença de factores de risco inclui: idade (>55 anos em homens e >65 anos em mulheres), presença de qualquer factor de risco estabelecido para doença cardiovascular (hipertensão, diabetes mellitus, LDL elevada, HDL baixo, tabagismo, historia familiar de doença cardiovascular prematura, IMC>30kg/m², microalbuminuria, TFG< 60 mL/min) trombofilias hereditárias, contraceptivos orais, síndrome nefrótico, malignidade, imobilização e cirurgia. £ Trombose venosa superficial não é incluída nos critérios clínicos. ¶ Critérios para insuficiência placentar incluem: teste de vigilância fetal anormal (ex: teste não-stress não-reactivo sugerindo hipoxémia fetal); oligohidrâmnios; peso pós-natal inferior ao percentil 10 para a idade gestacional; análise de fluoxometria Doppler anormal sugestiva de hipoxémia fetal.

As alterações efectuadas aquando da revisão dos critérios com respeito à trombose vascular foram: AIT's e AVC's são considerados reflexo de trombose vascular, doença cardiovascular precoce e condições que conferem risco aumentado de trombose devem ser consideradas e os doentes com SAF devem ser estratificados de acordo com a presença ou ausência de causas que contribuem para trombose (hereditárias ou adquiridas) (Miyakis et al. 2006). A aplicação desta estratificação deve-se à escassez de sensibilidade e especificidade dos critérios de Sapporo quando aplicados doentes com factores de risco clássicos para doença cardiovascular associada a trombose, já que na presença de aFL podem constituir factores de confundimento da síndrome.

Os factores de risco que mais frequentemente contribuem para a ocorrência de trombose no doente com SAF são o tabagismo, seguido de contracepção oral e terapêutica de substituição hormonal (Kaul et al. 2007).

O segundo critério clínico para o diagnóstico de SAF corresponde à **morbilidade obstétrica**, que agrupa um conjunto de alterações consideradas diagnósticas (tabela 1). As alterações patológicas associadas à SAF na gravidez são heterogéneas e os seus mecanismos subjacentes provavelmente distintos (Pasquali et al. 2008). Consideram-se critérios: i) morte fetal inexplicada às 10 ou mais semanas de gestação com morfologia fetal normal; ii) um ou mais partos prematuros antes das 34 semanas devidos a pré-eclampsia grave ou a insuficiência placentária; iii) três ou mais abortos espontâneos consecutivos antes da décima semana de gestação (Miyakis et al. 2006).

A evidência clínica permite identificar a morte fetal inexplicada às 10 ou mais semanas como o critério mais específico nas complicações obstétricas, e os abortos precoces recorrentes como critério mais sensível. Os partos prematuros associados a pré-eclampsia/insuficiência placentar constituem critério com pouca sensibilidade e especificidade. A inclusão de partos

prematturos apenas antes das 34 semanas permitiu aumentar a sensibilidade deste critério (Miyakis et al. 2006, Kaul et al. 2007).

Critérios laboratoriais da SAF:

Dado o facto da clínica que caracteriza a SAF poder estar associada a uma multiplicidade de causas, o diagnóstico depende dos testes laboratoriais, sendo a presença de aFL condição essencial ao diagnóstico (Devreese e Hoyalaerts 2007).

Os critérios laboratoriais da classificação de Sapporo foram modificados substancialmente aquando da revisão, e incluem: i) presença de ALs no plasma, detectados de acordo com as normas da Sociedade Internacional de Trombose e Hemostase (Pengo et al. 2009), ii) detecção de aCL, isótipo IgG ou IgM, presente em médio ou alto título medido por método ELISA standartizado; iii) detecção de a β 2GP1, isótipo IgG ou IgM, medido por método ELISA estandardizado, de acordo com os protocolos recomendados (Miyakis et al. 2006).

A revisão dos critérios de Sapporo introduziu a obrigatoriedade de os resultados terem de ser positivos em 2 ou mais ocasiões, com pelo menos 12 semanas de intervalo (Miyakis et al. 2006, Devreese e Hoyalaerts 2007). Da mesma forma, a revisão dos critérios limitou a um período máximo de 5 anos o intervalo entre os eventos clínicos e os testes laboratoriais positivos, para considerar o diagnóstico da doença (Pasquali et al. 2008).

A alteração mais relevante nos critérios de classificação da doença foi a introdução de a β 2GP1 IgG e IgM (Miyakis et al. 2006), apesar de ainda existirem várias questões em aberto em relação ao papel deste autoanticorpo, a sua associação com fenómenos trombóticos e alguns aspectos da morbidade obstétrica está claramente estabelecida (Devreese e Hoyalaerts 2007).

Outra das alterações realizada aquando da revisão foi a subclassificação baseada na presença de apenas um tipo de aFL ou mais do que um tipo de aFL (Miyakis et al. 2006). Esta

subclassificação relaciona-se com a constatação de que o risco de fenómenos trombóticos e morbidade obstétrica é maior em doentes com vários tipos de aFL, do que em doentes com apenas um tipo (Robertson e Greaves 2006, Ruffati et al. 2007). Também se reconhece que quanto mais elevados os títulos de aFL maior é a morbidade associada á síndrome (Lefèvre et al. 2011).

Manifestações associadas à SAF não incluídas nos critérios diagnósticos:

As manifestações clínicas não incluídas nos critérios de classificação mas contempladas como associadas á doença são: doença valvular cardíaca, livedo reticular, nefropatia, trombocitopenia, manifestações neurológicas (disfunção cognitiva, coreia, cefaleias, enxaqueca, esclerose múltipla, mielopatia transversa e epilepsia) e ainda manifestações dermatológicas (ulcerações, lesões de pseudo-vasculite, gangrena digital, flebite superficial, hemorragias subungueais e anetoderma) (Miyakis et al. 2006, Kaul et al. 2006). Os critérios laboratoriais com as mesmas características são: aCL IgA, a β 2GP1 IgA, aFS, aPT, anticorpos antifosfatidiletilenoamina e anticorpos contra o complexo fosfatidilserina-protrombina. Apesar de ser reconhecida a associação destas características com a SAF, a sua adopção como critérios independentes para definir a doença levaria a uma redução da especificidade diagnóstica (Miyakis et al. 2006).

Indicações para estudo laboratorial da SAF:

Além dos critérios diagnósticos clínicos da SAF, que constituem indicação axiomática para realização de pesquisa laboratorial de aAF, existem outras situações que não estando incluídas nos critérios de diagnóstico têm importante associação com a SAF e que são também indicação formal para a pesquisa de aAF. Nestas indicações encontramos a restrição de crescimento intra-uterina (RCIU) severa, chorea gravidarum, AVC inexplicado, LES e trombocitopenia autoimune, entre outras (tabela 2) (Clark et al. 2007).

Tabela 2. Indicações para estudo laboratorial da SAF (adaptado de Clark et al, 2007)

Abortos recorrentes espontâneos (3 ou mais abortos espontâneos, consecutivos, com o mesmo pai biológico)

Morte fetal inexplicada após as 10 semanas de gestação

Pré-eclampsia grave

Trombose venosa inexplicada

Trombose arterial inexplicada

AVC inexplicado

AIT ou amaurosis fugax inexplicadas

Lupus Eritematoso Sistémico ou outra doença do tecido conjuntivo

Trombocitopenia auto-imune

Anemia hemolítica auto-imune

Livedo reticularis

Chorea gravidarum

Teste serológico falso positivo para a sífilis

RCIU inexplicada

Aumento inexplicado do tempo de coagulação

Anticorpos Antifosfolipídicos

Os aFL consistem num grupo extenso e heterogéneo de imunoglobulinas, IgG, IgM, IgA ou na combinação destes isótipos e constituem a base fisiopatológica da SAF. Com os avanços recentes, em termos investigacionais, uma verdadeira eclosão de auto-anticorpos tem vindo a aumentar este complexo grupo (Shoenfeld et al. 2008).

Os aFL clássicos - AL e aCL, continuam a constituir os principais marcadores serológicos da síndrome. Acreditava-se inicialmente que estes autoanticorpos se ligavam directamente e apenas aos fosfolípídeos aniónicos de membrana. Actualmente reconhece-se que os aFL também actuam pelo reconhecimento de fosfolípídeos neutros e catiónicos e ainda proteínas plasmáticas ligantes a fosfolípídeos que medeiam indirectamente a ligação dos anticorpos aos FL de membrana (Borchers et al. 2010). O termo “antifosfolipídico” induz assim em erro, já que não são apenas os fosfolípídeos a serem reconhecidos mas também proteínas plasmáticas com as quais determinados fosfolípídeos formam complexos (Nishiguchi et al. 2005).

Estas proteínas plasmáticas, também denominadas de co-factores, são diversas. Reconhece-se que a mais importante é a β 2GP1, uma proteína de ligação da cardiolipina, e maior alvo antigénico do aCL e de grande parte do AL (Borchers et al. 2010). Outras proteínas implicadas têm vindo a ser reconhecidas ao longo dos últimos anos: protrombina, plasminogénio, Proteína C, Proteína S, Anexina V, entre outros (Nishiguchi et al. 2005). Apesar de diversas e heterogéneas, estas proteínas têm em comum o facto de habitualmente estarem implicadas no controlo da coagulação e conterem domínios estruturais capazes de se ligarem a fosfolípidos da membrana (cardiolipina, fosfatidil serina, fosfatidil enositol, fosfatidil etanolamina) (Pasquali et al. 2008).

À data, os antígenos identificados constituem um extenso grupo de fosfolípídeos e complexos proteínas-fosfolípídeos associadas a autoanticorpos que diferem individualmente entre os doentes, o que leva a dificuldades na definição de risco relativo de um determinado auto-

anticorpo e também a alguma dificuldade na clarificação da patogénese da SAF (Nishiguchi et al. 2005, Borchers et al. 2010, Schoenfeld et al. 2008).

Vários estudos apontam para a importância do estudo de aFL não-clássicos, tendo em conta a diversidade de anticorpos associados com a síndrome e a dificuldade em fazer o diagnóstico nos doentes com características clínicas de SAF na ausência dos anticorpos mencionados anteriormente – “SAF seronegativa” (Velayuthaprsbhu e Archunan 2005, Bu et al. 2007, Van Os et al. 2010). A análise serológica de outros aAF como critério diagnóstico da SAF não foi, no entanto, validada (Pasquali et al. 2008, Tebo et al. 2008).

Os critérios laboratoriais para o diagnóstico da SAF actualmente restringem-se a a β 2GP1, IgG e IgM, aCL IgG e IgM e AL (Pasquali et al. 2008).

Anticorpos Anticoagulantes Lúpicos

Os aAL traduzem uma medida funcional da capacidade dos aFL inibirem tanto a via intrínseca quanto a via comum da coagulação *in vitro* através da interferência com os estádios da coagulação dependentes dos fosfolípidos (Pengo et al. 2009). O nome anticoagulante mantém-se por motivos históricos, de forma paradoxal, já que o efeito do aAL *in vivo* é pró-coagulante, ocasionando eventos trombóticos (Schoenfeld et al. 2008).

Em situações fisiológicas, durante a via da cascata da coagulação (a partir do factor Xa, Va e do co-factor cálcio), forma-se o complexo activador da trombina, cuja função é activar o fibrinogénio para libertar monómeros de fibrina. Quando se encontram presentes aFL, estes unem-se à parte fosfolipídica do complexo activador da trombina prolongando o tempo de protrombina activado (tPA) e o tempo dos complexos parcialmente activados da trombina, que se depositam na circulação arterial e venosa levando a fenómenos trombóticos (Schoenfeld et al. 2008, Miyakis et al. 2006).

O fenómeno AL é assim causado por imunoglobulinas que interferem com testes de coagulação dependentes de fosfolipídeos. São exemplos destes testes o TP, aPTT, TT, TCK e TVVRD. Testes de coagulação não dependentes de fosfolipídeos, como o Tempo de Ecarina, em que a pró-trombina é directamente convertida em trombina por um veneno de víbora, não se encontram prolongados na presença de aFL (Urbanos e de Groot 2011).

Os aAL são detectados através de testes funcionais, de acordo com as recomendações do Comité científico e de standardização da Sociedade Internacional de Trombose e Hemostase (Pengo et al. 2009). Como têm uma natureza heterogénia, é necessário realizar mais do que um teste de coagulação para confirmar a sua presença – teste de screening, teste de mistura, teste de confirmação - de acordo com os critérios de classificação (Pengo et al. 2009, Miyakis et al. 2006).

Anticorpos Anticardiolipina

A cardiolipina consiste num fosfolipídeo aniónico de membrana, presente sobretudo na superfície interna das membranas plasmáticas. Foi identificado inicialmente como o alvo dos anticorpos responsáveis pelo fenómeno AL. Este dado levou a que a cardiolipina fosse utilizada para reagir com o soro do doente em ensaio ELISA (em fase sólida e imobilizada).

Posteriormente concluiu-se que os anticorpos responsáveis pela reacção positiva contra a cardiolipina não se ligavam apenas a este fosfolipídeo, mas também a outros fosfolipídeos da membrana e proteínas ligantes a fosfolipídeos de membrana como a β 2GP1, Protrombina e Proteína C (Schoenfeld et al. 2008, Pasquali et al. 2008).

Reconhece-se actualmente que os aCL se ligam à cardiolipina numa reacção preferencialmente dependente da β 2GP1 (Pasquali et al. 2008).

Este autoanticorpo é muito sensível no diagnóstico da SAF, sendo no entanto pouco específico e podendo positivar em infecções como a sífilis, febre Q, malária, hepatite A, Mononucleose infecciosa, HIV e ainda em situações induzidas por drogas. Nestas situações,

no entanto, a positividade do aCL não se faz acompanhar de fenómeno AL, e pensa-se que seja transitória, apesar de não existirem estudos comparativos que avaliem os níveis de aCL durante a fase aguda e a fase de remissão de uma infecção (Urbanos et al. 2011).

Tendo em conta a baixa especificidade, os valores de aCL usados como critério serológico para a SAF devem ser moderados a elevados, detectados pelo menos em duas determinações com um intervalo mínimo de 12 semanas (Miyakis et al. 2006).

Actualmente reconhece-se que os altos níveis deste autoanticorpo, na forma de IgG, são o mais forte preditor de novos fenómenos trombóticos em doentes com SAF e trombose prévia, constituindo um importante factor de risco para a reincidência de trombose (Turiel et al. 2005).

Anti Beta-2-glicoproteína 1 (a β 2GPI)

A β 2GPI é o maior alvo antigénico dos auto-anticorpos associados à SAF (Ruffati et al. 2006). É uma glicoproteína plasmática de cadeia única com 50kD, membro da família de proteínas de controlo do complemento (Schoenfeld et al. 2008). É constituída por cinco domínios distintos, sendo o domínio V uma região de carga positiva (domínio rico em lisina), que lhe permite estabelecer interacções electrostáticas com moléculas aniónicas como é o caso dos fosfolipídeos aniónicos de membrana (Drijkoningen et al. 2007). Liga-se também, através deste domínio, a outras proteínas do plasma como os factores de coagulação dependentes da vitamina K (Nishiguchi et al. 2005), receptor GPIb das plaquetas e Anexina A2 (Kolyada et al. 2010) (figura 1).

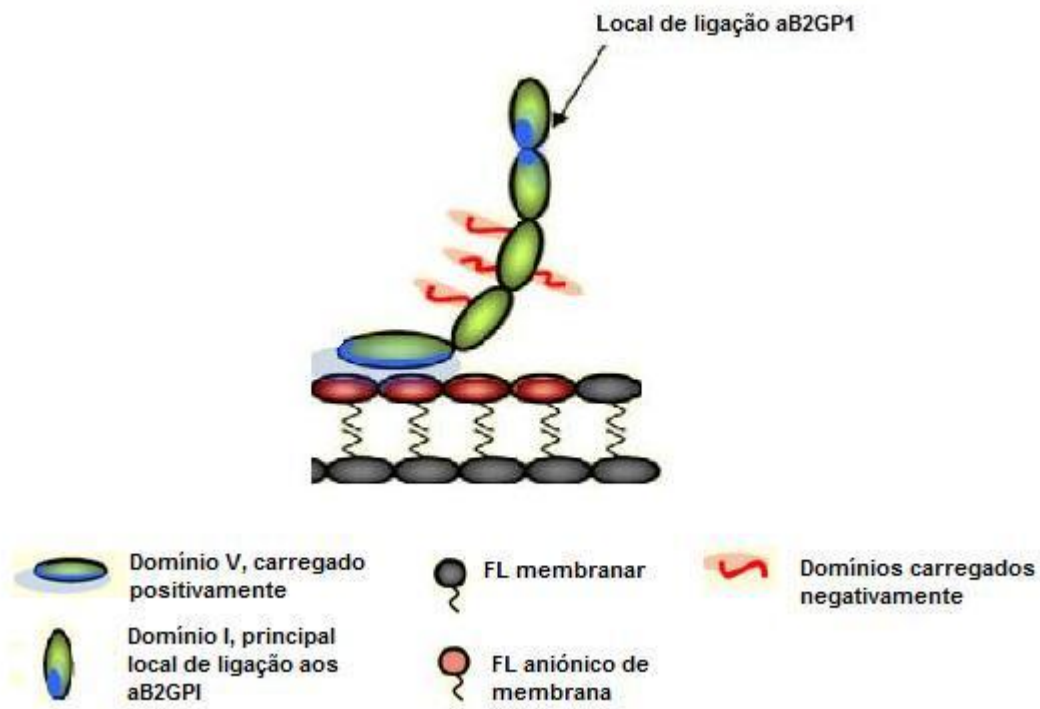


Figura 1 – Modelo conformacional da β 2GPI e sua ligação a FL membranares. Adaptado de Laat e de Groot.2011.

Esta proteína está presente em altas concentrações no plasma (cerca de 170 μ g/ml ou 4UM) e é sintetizada sobretudo pelo fígado, sendo que o mRNA da proteína também foi encontrado em células endoteliais, astrócitos, neurónios, citotrofoblasto extraviloso e sinciotrofoblasto da placenta (Lin et al. 2006). Inicialmente pensava-se que parte da β 2GPI circulante estaria associada a lipoproteínas, como tal, a β 2GPI também é conhecida pelo pseudónimo Apolipoproteína H. No entanto, estudos recentes indicam que esta associação não existe, pelo que a designação se encontra ultrapassada (Agar et al. 2009).

As funções biológicas desta proteína não são totalmente conhecidas, acreditando-se no entanto que dispõe de actividade anti-coagulante. Estudos recentes *in vitro* demonstram que esta proteína se liga ao factor de coagulação XI e inibe a sua activação a factor XIa pela trombina. Liga-se também ao factor de coagulação XIIa impedindo a sua activação a factor XI, mesmo com concentrações de β 2GPI inferiores à do plasma (Nishiguchi et al. 2005).

Verifica-se que as funções da proteína ainda não estão na sua totalidade desvendadas, e alguns estudos experimentais demonstram que a sua ausência não se correlaciona com qualquer alteração patológica (Atsumi et al. 2005).

Os a β 2GPI constituem um grupo heterogénio de imunoglobulinas, direccionados aos diferentes domínios da proteína e foram propostos como importantes factores no desenvolvimento de eventos trombóticos na SAF (Nishiguchi et al. 2005).

Os anticorpos direccionados ao domínio I são os mais comuns e mais relacionados com as manifestações clínicas observadas nesta síndrome (Ioannou et al. 2009). Não se pode no entanto esquecer que além dos anticorpos contra o domínio I, outras sub-populações patológicas de auto-anticorpos se podem encontrar presentes nos doentes com SAF (Urbanus et al. 2008).

Aquando da ligação auto-anticorpo – proteína β 2GP1, há formação de um complexo que se pode ligar activamente a fosfolipídeos de diferentes tipos de células – células endoteliais, monócitos e plaquetas, os quais tem um importante papel na homeostase. Os potenciais locais de ligação do complexo às células são: Anexina A2, LRP, megalina, receptor toll-like 2, VLDL, entre outros (Atsumi et al. 2005). Estudos *in vivo* com modelos animais para SAF demonstram que todos estes receptores parecem estar envolvidos nas complicações trombóticas induzidas pelos a β 2GP1 (Urbanus et al. 2008).

A afinidade da β 2GP1 para os FL da membrana é potenciada pela interacção com os a β 2GP1, aumentando-a até 100 vezes (Nishiguchi et al. 2005). Este complexo inibe também a função da PCA (anticoagulante natural) aumentando a sua actividade pró-coagulante. Leva ainda á diminuição da actividade anticoagulante da Anexina V e a uma intensificação da agregação plaquetar (Salomo et al. 2009).

A sua inclusão nos critérios diagnósticos laboratoriais da SAF permitiu aumentar em 20% o diagnóstico da síndrome (Drijkoningen et al. 2007). Anticorpos a β 2GPI com o isótipo IgG

têm uma maior correlação com as manifestações de SAF do que os restantes anticorpos identificados (Kolyada et al. 2010).

Outros auto-anticorpos

Além dos auto-anticorpos referidos anteriormente, e que constituem critério de classificação da SAF, um número crescente de outros auto-anticorpos tem vindo a ser reconhecido (Galli et al. 2008, Koike et al. 2007) no entanto a relevância clínica da maioria destes aAF continua por definir (Nishiguchi et al. 2005).

Alguns destes auto-anticorpos têm sido alvo de estudo mais amplo, evidenciando um papel importante na ocorrência de manifestações trombóticas na SAF:

Os aPT, ao associarem-se à protrombina, interferem com a inativação da trombina pela antitrombina e inibem a PCA aumentando o risco de trombose (Schoenfeld et al. 2008). Comportam-se como anticorpos não neutralizantes, já que a protrombina complexada com os anticorpos pode manter-se como substracto para a trombina. Importa ainda referir que há reactividade cruzada entre estes autoanticorpos e anticorpos antiplasminogénio (Koike et al. 2007).

Os anticorpos aFS apresentam também uma importância crescente (Velayuthaprabhu e Archunan 2005). A fosfatidilserina é um fosfolípídeo membranar com estrutura semelhante à cardiolipina que se localiza nas membranas celulares de plaquetas e células endoteliais, apresentando papel relevante na homeostase, correspondendo ao fosfolípídeo de ligação da protrombina (Nishiguchi et al. 2005). A presença de aFS correlaciona-se com trombose, trombocitopenia, anemia hemolítica e apresenta grande paralelismo de acção com os aCL .

Outros anticorpos como antifosfatidiletanolamina, antifosfatidilglicerol, anticorpos antinucleares, anticorpos contra o factor XII, anticorpos contra a proteína S, Antianexina 2, anti-plasminogénio, entre outros, são alvos de investigação no contexto da SAF (Galli et al. 2008).

Na generalidade é aceite que os aAL e aCL, e mais recentemente a β 2GP1, têm boa correlação com o diagnóstico de SAF e que os testes de rotina para outros aFL são dispendiosos e não melhoram necessariamente o diagnóstico. Além disso não há padronização para esses testes diagnósticos (Schoenfeld et al. 2008).

Aspectos patofisiológicos da Síndrome Antifosfolípida

A SAF é reconhecida actualmente como a causa mais comum de trombofilia adquirida, no entanto os mecanismos subjacentes a esta perturbação não são totalmente conhecidos (Urbanus et al. 2008). Várias hipóteses, desde a activação desregulada de células endoteliais, plaquetas e monócitos pelo complexo anti- β 2GPI/ β 2GPI, alteração da fibrinólise, activação da cascata de coagulação e complemento, têm sido propostos para explicar a predisposição trombótica na SAF (Vlachoyiannopoulos e Routsias 2010) (figura2).

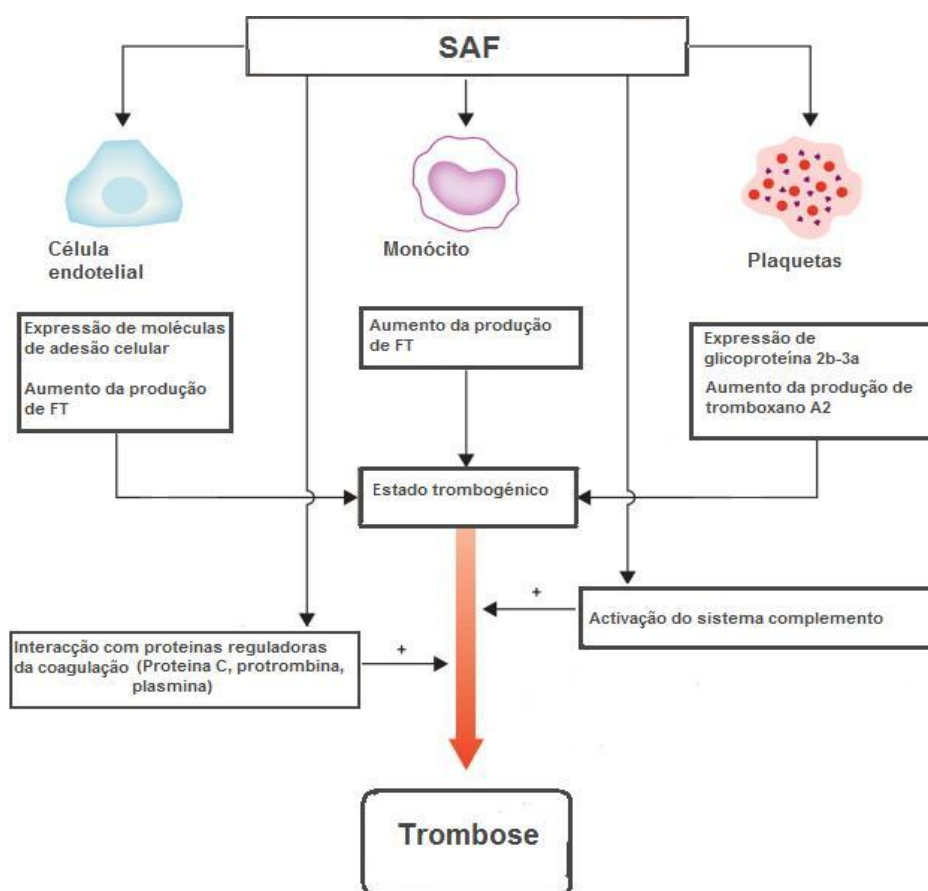


Figura 2 - Mecanismos fisiopatológicos de trombose na SAF. Adaptado de Ruiz-Irastorza et al. 2010.

Activação celular na SAF

O complexo anticorpo anti- β 2GPI/ β 2GPI tem a capacidade de se ligar a diferentes tipos de células, entre as quais células endoteliais, monócitos e plaquetas, todas estas com um

importante papel na homeostase (Groot et al. 2005). Esta activação celular permite, entre outras respostas, que células endoteliais e monócitos sejam capazes de expressar FT, o activador patogénico da coagulação, e que as plaquetas estejam mais propensas à agregação (Urbanus et al. 2008) (figura 2).

A β 2GPI não apresenta isoladamente afinidade suficiente para interagir com as superfícies celulares, necessitando da ligação ao $\alpha\beta$ 2GP1 para que se estabeleçam interacções com as células. A ligação ao anticorpo permite a dimerização da proteína, essencial para a interacção com as diferentes células (figura 3).

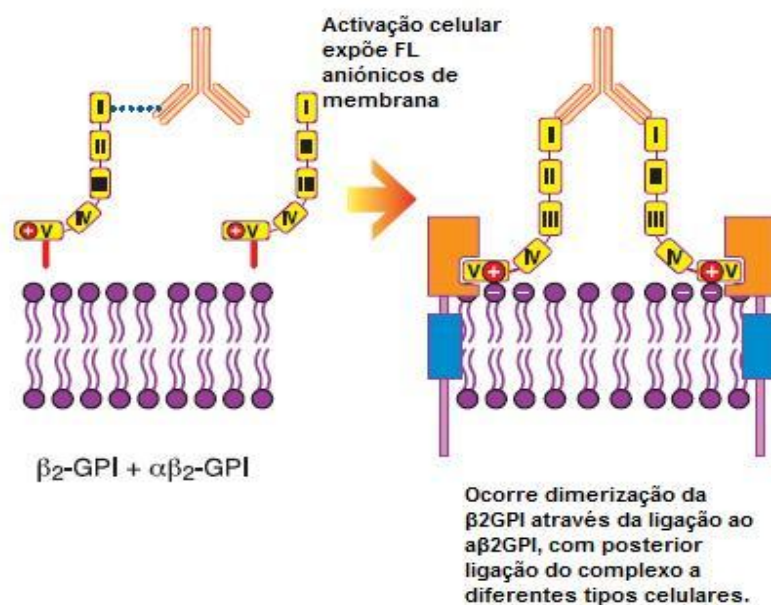


Figura 3- Representação esquemática da formação do complexo β 2GP1- $\alpha\beta$ 2GP1 e ligação a FL de membrana. Adaptado de Giannakopoulos et al. 2007.

Varias moléculas receptoras do complexo $\alpha\beta$ 2GP1/ β 2GP1 têm vindo a ser identificadas, entre as quais Anexina A2, Receptor 2 da Apolipoproteína E, Megalina, TLR2, TLR4, VLDL, entre outros (Urbanus et al. 2008).

A **activação de células endoteliais** na SAF pelo complexo $\alpha\beta$ 2GP1/ β 2GP1 é mediada por receptores celulares como o TLR4 e TLR2 (Zhang e McCrae 2005, Alard et al. 2010),

moléculas transdutoras de sinal, componentes do sistema imune inato, e ainda a Anexina A2 que, não transmitindo sinais através da membrana celular, foi identificada como importante local de ligação do complexo nas células endoteliais e responsável por uma reacção cruzada que estimula vias de sinalização intracelular (Zhang e McCrae 2005) (figura 4).

A ligação do complexo a estes receptores celulares permite, de um modo geral, a activação de genes responsáveis pelo aumento da produção de moléculas de adesão como a E-selectina, molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1) e molécula de adesão de células vasculares 1 (VCAM-1) (Yasuda et al. 2005). Leva também a um aumento da secreção de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias como a IL1, IL6 e IL8, e FT (Nishiguchi et al. 2005, Soltész et al. 2008) e a aumento da produção de prostaciclina com aumento da produção de TBXA2 pelas plaquetas (Giannakopoulos et al. 2005).

A activação das células endoteliais na SAF conduz assim a um fenótipo endotelial pró-inflamatório e pró-trombótico (Urbanus et al. 2008).

A presença de um número elevado de micropartículas endoteliais circulantes em doentes com SAF, apoia a disfunção endotelial como possível mecanismo subjacente á doença (Giannakopoulos et al. 2007, Pericleous et al. 2009).

Um aumento da **activação plaquetária** foi demonstrado nos doentes com SAF (Nishiguchi et al. 2005). Evidências recentes sugerem que ocorre ligação da β 2GPI dimerizada à superfície celular das plaquetas através de sulfato de heparina ou outros locais de ligação de proteínas (Groot e Derksen 2005). Esta ligação permite a posterior interacção da β 2GPI com o receptor apolipoproteína-E 2' (apoER2'), único membro da família de receptores LDL presente nas plaquetas. A ligação da proteína dimerizada ao apoER2' resulta na fosforilação de P38 MAP Cinase (P38 MAPK) levando a indução da síntese de TXBA2 (Alard et al. 2010, Yasuda et al. 2005). Além deste último receptor, a β 2GPI, após ligação ao anticorpo, pode também ligar-se ao receptor GPIIb, local de ligação do factor de Von Willebrand às plaquetas. Esta ligação permite a activação da via fosfoinositidina-3-cinase/Akt e também a fosforilação de P38

MAPK, levando à produção de TXB2 (Shi et al. 2006). Mais recentemente foi identificado um outro receptor, factor plaquetar 4 (FP4), ao qual se liga directamente a β 2GPI, ocorrendo posteriormente a ligação do α 2GPI, com subsequente aumento da produção de TXBA2 e maior agregação plaquetar (Sikara et al. 2010, Vlachoyiannopoulos e Routsias 2010).

A activação de **células monocíticas** na SAF tem sido também alvo de discussão (Giannakopoulos et al. 2007, Groot e Derksen 2005, Urbanus et al. 2008, Vlachoyiannopoulos e Routsias 2010, Lopez-Pedrerera et al. 2008). Os monócitos podem contribuir para a coagulação, mesmo em situações fisiológicas, podendo ser activados na SAF pelo complexo α 2GPI/ β 2GPI e expressar FT e várias citocinas pró-inflamatórias (Giannakopoulos et al. 2007, Lopez-Pedrerera et al. 2008).

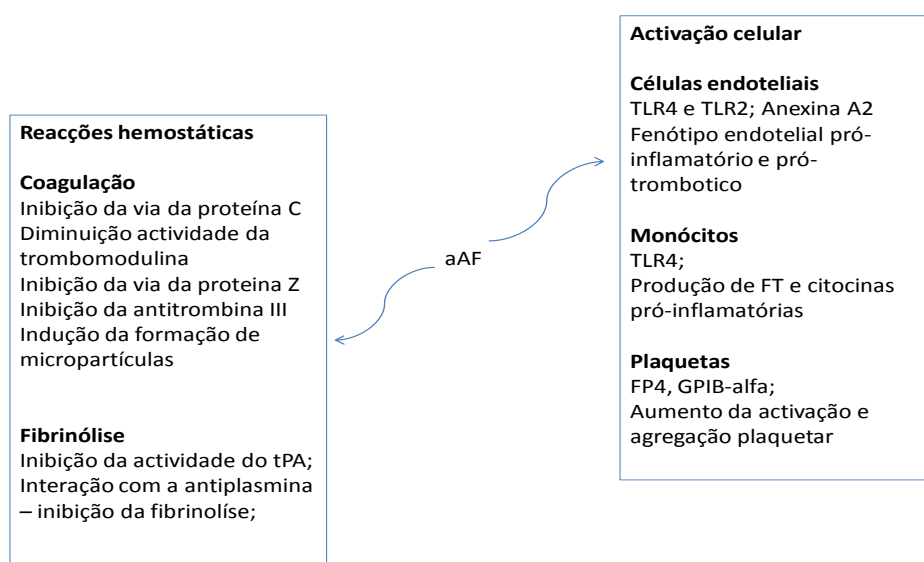


Figura 4 – Reacções hemostáticas e activação celular como mecanismos fisiopatológicos da SAF.

Inibição da via da proteína C

A PCA tem um importante papel anticoagulante, através da ligação e inactivação dos factores pró-coagulantes Va, VIIIa e constitui um potencial alvo para os aFL (Urbanus et al. 2008) (figura 4). Foi demonstrado *in vitro* que anticorpos α 2GPI na presença de β 2GPI têm capacidade de inibir a actividade anticoagulante da PCA, promovendo assim a ocorrência de

fenómenos trombóticos (Safa et al. 2005). Dois mecanismos são apontados para esta acção: o complexo pode competir com a PCA pela ligação a fosfolípidos membranares, ou levar a que ocorra alteração da interacção do complexo PCA, levando de ambas as formas a perda da sua actividade (Urbanus et al. 2008, Safa et al. 2005).

Um outro alvo é a TM, tendo sido demonstrada a inibição, pelos aFL, da sua capacidade para activar a proteína C (Krone et al. 2010).

O complexo a β 2GPI/ β 2GPI tem capacidade de inibir outras vias anticoagulantes incluindo a via de inibição do factor X activado pela proteína Z (Giannakopoulos et al. 2007).

Redução da actividade fibrinolítica

Verifica-se que a hipofibrinólise pode estar implicada na tendência protrombótica da SAF (figura 4) (Patterson et al. 2006, Yasuda et al. 2005) (figura 4).

Investigação recente demonstrou a presença de anticorpos anti-tPA na SAF. Estes ligam-se ao domínio catalítico da molécula, resultando na alteração da fibrinólise. A presença de anticorpos anti-plasmina também foi descrita em alguns doentes, condicionando o bloqueio da fibrinólise mediada pela plasmina (Groot e Derksen 2005, Krone et al. 2010).

Um outro mecanismo potencial para a alteração da fibrinólise relaciona-se com os níveis elevados de lipoproteína A no plasma de doentes com SAF. Esta proteína com estrutura homóloga do plasminogénio compete pela ligação à fibrina, interferindo com a degradação da fibrina mediada pela plasmina. Tem ainda a capacidade de aumentar a produção de PAI-1 expresso pelas células endoteliais (Krone et al. 2010, Yasuda et al. 2005).

A β 2GPI também pode interagir com componentes do sistema activador do plasminogénio e afectar a actividade fibrinolítica. Verifica-se que os anticorpos a β 2GPI, na presença da proteína têm a capacidade de reduzir a actividade fibrinolítica intrínseca, mesmo existindo elevadas quantidades de factor de coagulação XII activo. O complexo a β 2GPI/ β 2GPI afecta ainda a actividade fibrinolítica extrínseca ligando-se ao plasminogénio e bloqueando a formação de plasmina pela tPA (Krone et al. 2010, Yasuda et al. 2005).

A anexina A2, referida anteriormente como receptor endotelial para a β 2GPI que medeia a activação de células endoteliais pelo $\alpha\beta$ 2GPI, tem também capacidade para estimular a fibrinólise através da ligação à tPA com activação do plasminogénio. Foram detectados anticorpos para além do $\alpha\beta$ 2GPI que reagem directamente com a Anexina A2 e se correlacionam com a história de trombose em doentes com SAF (aA2). Estes anticorpos inibem a capacidade da anexina A2 potenciar a activação do plasminogénio através da tPA (Cesarman-Maus et al. 2006).

Interferência com proteínas ligantes de fosfolipídeos – Trombina e Protrombina

A PT é um antigénio major na SAF, sendo reconhecida por anticorpos $\alpha\beta$ 2GPI e anticorpos α PT. A ligação α PT/PT aumenta a ligação da protrombina a vesículas aniónicas de fosfolipídeos e promove a formação de trombina, interfere com a inactivação de trombina pela ATIII e inibe a proteína C activada (Koike et al. 2007).

O anticorpo anti-trombina, apesar de menos comum na SAF, leva a efeito pró-coagulante ao impedir a degradação da trombina pela ATIII (Nishiguchi et al. 2005).

Importa ainda referir o anticorpo anti-heparina que confere um estado pró-trombótico ao impedir a formação de complexos entre a trombina e a ATIII (Koike et al. 2007).

Foi também demonstrado recentemente que a β 2GPI dimerizada se pode ligar directamente à trombina, sendo que esta interacção pode interferir com o sistema de coagulação, no entanto mais investigação é necessária neste campo (Rahgozar et al. 2007).

Complicações obstétricas da SAF: Possíveis mecanismos patogénicos

Diferentes mecanismos patogénicos têm sido implicados nas manifestações obstétricas da SAF. Mecanismos trombóticos, anomalias do desenvolvimento placentário e fenómenos inflamatórios locais são os mais amplamente descritos, embora ainda alvo de investigação (Pericleous et al. 2009, D'Ippolito et al. 2007, Meroni et al. 2008).

O papel patogénico dos aFL na gravidez foi demonstrado em vários modelos experimentais nos quais foi verificado que a transferência passiva destes anticorpos para cobaias leva a fenómenos de morbidade obstétrica já referidos (Pericleous et al. 2009).

Mecanismos Trombóticos

A hipótese tradicional proposta inicialmente indica que os aFL podem induzir trombose na circulação útero-placentária, particularmente nas artérias espiraladas da decídua. Esta hipótese foi sugerida tendo como base a evidência clínica da existência de um estado pró-coagulante na SAF e a análise histopatológica de placentas de doentes com aFL (D'Ippolito et al. 2007, Di Simone et al. 2006). Nesta análise reconheceu-se a presença de vasculopatia decidual, caracterizada pelo anormal desenvolvimento das artérias espiraladas da decídua – estreitamento das artérias, espessamento da íntima, aterosose aguda e necrose fibrinóide (Nishiguchi et al. 2005). Adicionalmente verifica-se a existência de trombose e enfarte generalizado da placenta tanto em abortos ocorridos no primeiro como no segundo trimestre de gravidez (Meroni et al. 2008). Estas alterações histológicas não são no entanto específicas, e não estão presentes na totalidade das mulheres com SAF e morbidade obstétrica, o que indica que outros mecanismos além dos trombóticos são relevantes para as complicações obstétricas observadas. A validar este facto verifica-se que os mecanismos trombóticos não podem justificar todas as alterações histopatológicas observadas na análise de placentas de doentes com SAF (D'Ippolito et al. 2007).

Ainda no que concerne aos mecanismos trombóticos, é importante referir o envolvimento recentemente descrito da Anexina V (Zammiti et al. 2006). Esta proteína plasmática anticoagulante liga-se a FL aniónicos de membrana prevenindo a activação da cascata de coagulação através da inibição da ligação do factor X activado e pró-trombina às superfícies celulares trombogénicas. Verifica-se que as doentes com aFL têm uma distribuição significativamente baixa de anexina V nas superfícies vilosas da placenta (Meroni et al. 2008), observando-se ainda que os níveis do aA5 são muito mais elevados em doentes com abortos de repetição do que em mulheres sem morbidade obstétrica prévia (Zammiti et al. 2006, Bizzaro et al. 2005). Estudos in vitro demonstram que estes auto-anticorpos podem romper a ligação da anexina V a FL membranares do trofoblasto favorecendo a activação da cascata de coagulação e sendo responsáveis, pelo menos em parte, pelo estado trombofílico observado na superfície trofoblástica (Nishiguchi et al. 2005).

Anomalias do desenvolvimento placentário

Dados recentes sugerem que mais do que os mecanismos trombóticos, a inibição da invasão, proliferação e fusão trofoblástica, mediadas directamente por aFL, podem representar o mecanismo chave para a morbidade obstétrica verificada (Di Simone et al. 2007, D'Ippolito et al. 2007).

Foi demonstrado que os aFL, em particular anticorpos dependentes da β 2GP1, tem capacidade de ligação ao trofoblasto humano (Zammiti et al. 2006) podendo induzir directamente lesão celular, apoptose, inibição da proliferação e diferenciação, diminuição da produção de BHCG e HPL e perturbação do processo de invasão trofoblástica (D'Ippolito et al. 2007, Meroni et al. 2008).

A expressão pelo trofoblasto de FL aniónicos, especialmente FS, pode oferecer um substrato para a β 2GP1 circulante, um dos mais importantes alvos antigénicos dos aFL. Em condições fisiológicas os FL aniónicos do trofoblasto estão localizados na face interna da membrana plasmática. É possível que, durante a gravidez, no processo de fusão cito-sincício com

formação do sinciciotrofoblasto, ocorra exposição dos FL aniônicos na face externa da membrana, havendo assim substrato para a ligação da β 2GP1. Estes dados são confirmados pela demonstração da presença da proteína nas membranas celulares do trofoblasto. Posteriormente, na presença de aFL, estes encontram na β 2GP1 um local de ligação as células trofoblásticas, explicando-se desta forma o tropismo placentário dos aFL (Di Simone et al. 2007, D'Ippolito et al. 2007, Meroni et al. 2008, Weiler 2008, Di Simone et al. 2006). A confirmar este facto verifica-se que quando introduzidos passivamente aFL em modelos animais experimentais ocorre rapidamente um decréscimo dos níveis destes anticorpos no plasma, o que pode relacionar-se com a sua ligação às estruturas placentárias. Este tropismo placentário permite justificar os potenciais efeitos patogénicos dos aFL na placenta e por outro lado explicar que os aFL IgG maternos não causem com frequência fenómenos trombóticos no feto ou no recém-nascido (Meroni et al. 2008, Di Simone et al. 2006).

Estudos em modelos experimentais, análise de culturas de amostras placentárias e análise de placentas referentes a abortos associados a SAF permitem definir que alterações na implantação, diferenciação e invasão trofoblásticas são os mecanismos chave na génese das complicações observadas (Hahn e Holzgreve 2006).

A normal **invasão** do trofoblasto é um processo dinâmico, dependente de interações complexas entre o trofoblasto e os tecidos da decídua, sendo necessária a diferenciação do trofoblasto num fenótipo invasivo para que este fenómeno ocorra. Esta diferenciação depende da correcta expressão de moléculas sinalizadoras e moléculas de adesão celular na superfície das células trofoblásticas. O fenótipo invasivo do trofoblasto permite um correcto processo de invasão extravascular intersticial e invasão endovascular do trofoblasto com conversão dos ramos das artérias uterinas em vasos uteroplacentários de baixa resistência, essencial para o normal curso da gravidez (D'Ippolito et al. 2007).

Os aFL afectam a normal invasão trofoblástica mediando uma anormal expressão de moléculas de adesão na superfície celular (integrinas alfa1 e alfa 5 e caderinas E e VE), o que

altera o normal fenótipo invasivo das células trofoblásticas (Periclous et al. 2009, Meroni et al. 2008, Hahn e Holzgreve 2006).

A alteração deste processo relaciona-se com complicações obstétricas tardias como RCIU e pré-eclâmpsia, mas também se pode relacionar com alterações precoces, sobretudo abortos de repetição antes das 10 semanas de gestação (D'Ippolito et al. 2007, Hahn e Holzgreve 2006).

Quanto à normal **implantação e diferenciação** trofoblástica, está documentado que os aFL podem comprometer estes processos de diversas formas; podem interagir com o endotélio dos vasos maternos impedindo a correcta interacção endotélio-trofoblasto através de modificação das moléculas de superfície celular ou através de dano endotelial directo; podem ligar-se ao trofoblasto endovascular mediando alterações na sua formação ou levando a sua dissolução; podem ainda através da ligação a componentes da superfície celular do trofoblasto inibir a função de outras moléculas de superfície ou causar dano directo no trofoblasto (D'Ippolito et al. 2007).

A anormal implantação do trofoblasto resulta na alteração do fluxo sanguíneo útero-placentário e associa-se a desenvolvimento de pré-eclâmpsia, RCIU e descolamento da placenta (D'Ippolito et al. 2007, Hahn e Holzgreve 2006).

Quanto à indução de **apoptose** trofoblástica pelos aAF, acredita-se que esta possa ser induzida por alguns anticorpos, nomeadamente pelo aA5 (Zammiti et al. 2006, Bizzaro et al. 2005), tendo este facto sido confirmado em estudo experimental com culturas de explante placentário. Fica no entanto por definir se mais alguma subpopulação de aAF leva a estes efeitos, e qual a real importância deste fenómeno nas implicações da síndrome (Meroni et al. 2008, Hahn e Holzgreve 2006, Bizzaro et al. 2005).

A produção de **proteínas específicas do trofoblasto** está, como referido anteriormente, parcialmente diminuída na SAF. Verifica-se essencialmente um decréscimo nos níveis de β hCG mas também de hPL, que varia entre 40 a 50% (Di Simone et al. 2007, D'Ippolito et al. 2007, Meroni et al. 2008, Hahn e Holzgreve 2006).

Verifica-se ainda que os aFL podem estar relacionados com a diminuição da **angiogénese das células endometriais**, o que sugere que o efeito dos auto-anticorpos na placentação não ocorra apenas a nível da face fetal da placenta mas também a nível da face materna. Este achado sugere que no comprometimento da placentação coexistem vários mecanismos patogénicos associados aos aFL (Di Simone et al. 2010).

Fenómenos inflamatórios locais

Com a finalidade de proteger o feto de uma resposta imune materna, várias alterações ocorrem fisiologicamente no sistema imune da mulher durante a gravidez, com o perfil de citocinas a ser alterado para respostas Th2 e ambiente anti-inflamatório (Meroni et al. 2008). Ao mesmo tempo a gravidez normal está associada a um aumento da activação do complemento, verificando-se um aumento das fracções C3a, C4a e C5a no plasma materno. Esta activação do sistema complemento pode compensar o decréscimo da imunidade adquirida que se observa na gravidez normal, permitindo proteger grávida e feto de microrganismos e outros potenciais antigénios (Richani et al. 2005, Salmon e Girardi 2007). A activação do sistema complemento actua promovendo a quimiotaxia das células inflamatórias e gerando fragmentos proteolíticos que levam a um aumento da fagocitose por neutrófilos e monócitos (Salmon e Girardi 2007).

Apesar de existir um balanço delicado entre mediadores anti-inflamatórios e pró-inflamatórios na gravidez normal, é universalmente aceite que fenómenos inflamatórios agudos se associam a efeitos deletérios (Meroni et al. 2008).

Evidências emergentes relacionam a morbilidade obstétrica na SAF com a activação da via do complemento pelos aAF (Meroni et al. 2008, Hahn e Holzgreve 2006, Salmon e Girardi 2008, Richani e Mazor 2005, Berman et al. 2005, Weiler 2008). Acredita-se que os aFL ligados a FL do trofoblasto e decídua activam o complemento pela via clássica originando potentes anafilotoxinas (C3a e C5a) e mediadores inflamatórios com conseqüente recrutamento de células inflamatórias que levam a inflamação local com dano placentar, causando o espectro

de complicações obstétricas referidas, desde RCIU a perda fetal (figura 5) (Salmon e Girardi 2008). Modelos animais experimentais de SAF induzido por transferência passiva de aFL humanos permitem verificar esta associação: a inibição da activação do complemento em cobaias injectadas previamente com aFL humanos previne a perda fetal e RCIU e a deficiência genética de componente C3 materno ou a administração de IgG –Crry, inibidor da fracção C3, previne a perda fetal (Salmon e Girardi 2008, Weiler 2008, Salmon e Girardi 2007).

Foi verificado que o componente C5 do complemento, mais particularmente o seu produto de clivagem C5a, é um mediador-chave do dano fetal, e que anticorpos que bloqueiam o receptor C5-C5a previnem as complicações obstétricas observadas (Salmon e Girardi 2008, Salmon e Girardi 2007) (figura 5).

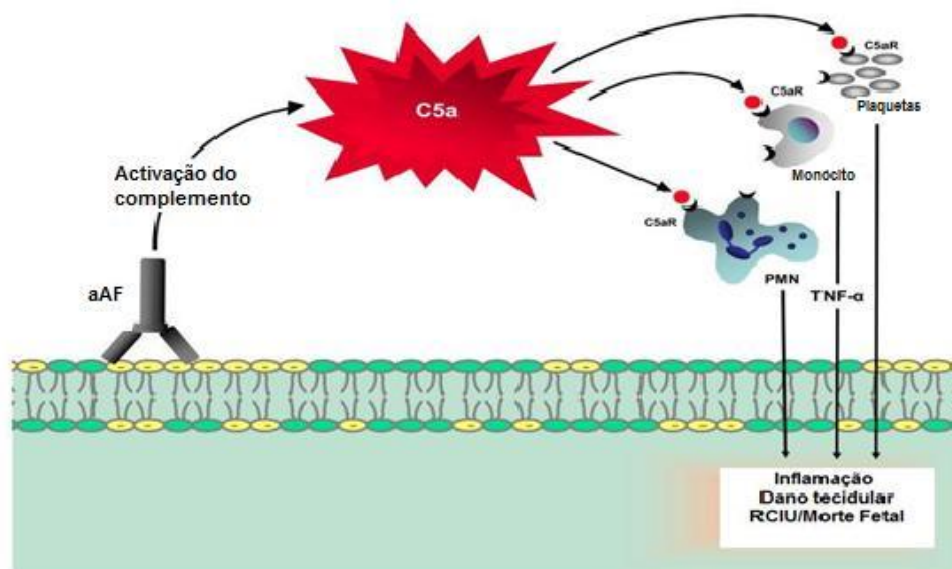


Figura 5 - Activação do sistema complemento pelos aAF com recrutamento e activação de células e mediadores inflamatórios que levam a dano tecidular na placenta e consequentes complicações obstétricas. Adaptado de Salmon e Girardi, 2008.

O mediador inflamatório TNF- α assume um papel relevante neste mecanismo. Verifica-se que os aFL que têm como alvo a decídua levam a um rápido aumento deste mediador inflamatório, tanto na decídua como a nível sistémico, ocorrendo esta activação após aumento dos níveis de fracção complemento C5a (Hahn e Holzgreve 2006, Salmon e Girardi 2008). Reconhece-se que o TNF- α induz apoptose do citotrofoblasto, o que sugere que o seu aumento pode ter efeitos deletérios no desenvolvimento e função da placenta, somando-se a este fenómeno o facto de este mediador recrutar células endoteliais e leucócitos e aumentar a activação do complemento, amplificando o ambiente pró-inflamatório observado (Berman et al. 2005, Weiler 2008).

Recentemente tem vindo a ser descrita a importância do FT, libertado pelos neutrófilos maternos sob estímulo da fracção do complemento C5a na morbilidade obstétrica da SAF. O FT tem duas funções que se relacionam com a patogénese da SAF, por um lado actuando directamente na génese de trombina contribuindo para a coagulação, por outro lado funciona como sinalizador celular através da ligação TF/PAR2, na iniciação do fenómeno de coagulação aquando de estímulos inflamatórios (Girardi e Mackman 2008). Verifica-se, ainda em relação ao FT, que a supressão farmacológica ou genética da sua produção pelos neutrófilos maternos é suficiente para prevenir a produção de espécies reactivas de oxigénio e para reduzir as situações de morte fetal, o que revela a importância deste factor na patofisiologia obstétrica da SAF (Weiler 2008). A sua identificação como importante mediador pró-inflamatório na morbilidade obstétrica induzida pelos aFL constitui um novo alvo terapêutico para prevenir estas complicações no futuro (Girardi e Mackman 2008).

Aspectos clínicos da SAF na gravidez

As complicações obstétricas nas mulheres com SAF são frequentes e constituem critério diagnóstico clínico da síndrome. Como referido anteriormente, os critérios diagnósticos da SAF incluem abortos precoces de repetição antes das 10 semanas de gestação, morte fetal inexplicada com 10 ou mais semanas de gestação e morfologia fetal normal, partos prematuros de recém-nascidos normais devido a pré-eclampsia grave ou insuficiência placentária (Pengo et al. 2009). A associação da SAF com outros problemas obstétricos como RCIU, síndrome HELLP, infertilidade, trombocitopenia, descolamento da placenta e síndrome pós-parto cardiopulmonar é considerada, não sendo no entanto critério diagnóstico da síndrome (Garcia et al. 2007, Cervera et al. 2009) (Figura 6).

As complicações referidas podem surgir isoladamente ou associadas a fenómenos trombóticos maternos (Pengo et al. 2009).

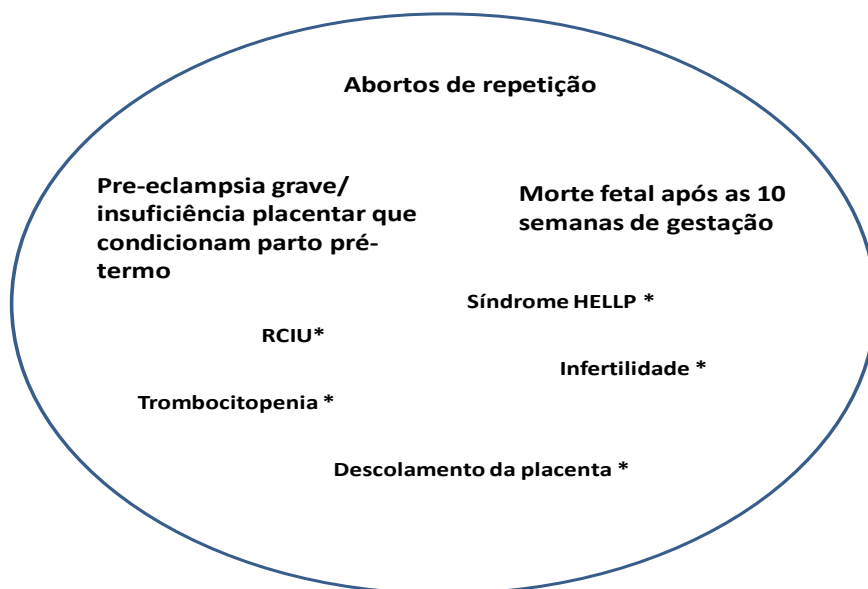


Figura 6 - Complicações obstétricas da SAF. *complicações que apesar de estarem relacionadas com a síndrome não constituem critério diagnóstico clínico.

Os **abortos de repetição** são definidos pela ocorrência de pelo menos três abortos espontâneos consecutivos que ocorrem no primeiro trimestre da gravidez, com o mesmo pai biológico, e constituem uma forma de infertilidade secundária (Duckitt e Qureshi 2011). Ocorrem aproximadamente em 1% a 4% das mulheres em geral, dependendo da população em estudo, e podem estar associados a diversas causas: genéticas, anomalias uterinas, infecções, doenças auto-imunes, distúrbios endócrinos, entre outros, sendo que cerca de metade não têm causa identificada (Garcia et al. 2007, Duckitt e Qureshi 2011, Abou-Nassar et al. 2011, Cervera e Balash 2008).

Na sua associação à SAF verifica-se que os abortos recorrentes precoces (até as 10 semanas de gestação) são a manifestação obstétrica mais comum, com maior sensibilidade, e que mais leva ao diagnóstico da síndrome (Borchers et al. 2010), no entanto a sua especificidade é baixa, devido à dificuldade de muitas vezes excluir outras causas (Seror et al. 2010). A frequência de associação apresenta grande variabilidade nos vários estudos, desde menos de 2% até mais de 50% em algumas populações asiáticas, segundo o *Obstetric Task Force* (Branch 2010). Esta variabilidade deve-se a numerosos factores, tais como: definição de gravidez utilizada – química/através de imagem - o que faz variar *ab início* os resultados dos estudos; o número de gestações necessárias para se fazer o diagnóstico de aborto de repetição, havendo resultados remetidos a apenas 2 perdas fetais; a presença ou ausência de outras comorbilidades associadas á SAF (Branch 2010).

Um estudo multicêntrico com 1000 doentes realizado pelo *Euro-Phospholipid Project Group*, indica nas grávidas com SAF, uma percentagem de 17,1% de abortos de repetição até às 10 semanas (Cervera e Hughes 2009). Num outro estudo realizado na Índia com uma amostra de 42 grávidas diagnosticadas com SAF, Dadwal V et al indicam uma associação de 9,5% de abortos precoces (Dadwal et al. 2011) (tabela 3).

Assim, a frequência desta associação não é ainda bem determinada. Factores como os referidos anteriormente são certamente causais nas divergências de valores encontrados nos

vários estudos. Fica por esclarecer se estas divergências se devem também a outros factores como factores genéticos e ambientais variáveis entre populações de estudo (Abou-Nassar et al. 2011).

A **morte fetal** a partir da 10^a semana de gestação deve ser considerada como critério clínico da SAF quando não há anomalias fetais morfológicas documentadas por ecografia ou exame directo do feto (Pengo et al. 2009). As causas associadas a morte fetal são variadas, desde anomalias genéticas, infecções, doenças maternas como diabetes, trombofilias hereditárias, SAF entre outras. A frequência desta complicação na SAF é menor do que os abortos de repetição (Silver et al. 2007), sendo a associação indicada em frequências inferiores a 10% (tabela 4). Apesar de ser um dos critérios diagnósticos da síndrome, a evidência actual ainda é contorversa no que diz respeito à relação entre a SAF e morte fetal. Mais estudos, multicêntricos, com base na população, devem ser realizados para melhor caracterizar a magnitude desta associação (Branch 2011).

A **pré-eclampsia (PE) grave** e a **insuficiência placentária (IP)** são consideradas critério diagnóstico para a SAF, condicionando parto pré-termo (Miyakis et al. 2006). Nodler J et al, numa análise transversal realizada numa população de 141 286 grávidas indicam frequência de 11,4% e 6,8% respectivamente para pré-eclampsia e insuficiência placentária em doentes com aAF diagnósticos positivos (Nodler et al. 2009).

A PE afecta cerca de 4 a 8% de todas as gestações, variando com a população em estudo, e corresponde a uma importante causa de morbilidade e mortalidade obstétrica. É caracterizada pelo aumento da pressão arterial e proteinúria que se desenvolvem após as 20 semanas de gestação. Apesar de ainda não se conhecer por completo sua etiologia reconhece-se que a PE é uma síndrome de disfunção endotelial materna, e que está associada a deficiente placentação com alteração da implantação e invasão trofoblástica (Campos et al. 2006, Clark et al. 2007).

A PE é habitualmente estratificada em formas moderada a grave, sendo que é a forma grave que mais se associa à SAF. A relação da PE grave com a síndrome é reconhecida e as grávidas previamente diagnosticadas com SAF têm risco significativo de desenvolver esta complicação, verificando-se que a frequência de aFL positivos poderá estar aumentada nas mulheres com início precoce de pré-eclampsia severa (Seror et al. 2010, Clark et al. 2007).

Visto existirem importantes semelhanças na patofisiologia da pré-eclampsia e da SAF, esta associação não é surpreendente. Além das semelhanças fisiopatológicas, as alterações histopatológicas das duas situações são sobreponíveis, com vasculopatia arterial, enfartes do parênquima e aterosclerose dos vasos da decídua em ambas as situações, sendo que não existem especificidades da histologia placentar que permitam distinguir placentas obtidas de gravidez complicada com SAF ou com pré-eclampsia (Campos et al. 2006, Bramham et al. 2010). Recentemente foram apontadas diferenças no mRNA placentário e na expressão de uma proteína transportadora, ABCA1, presente apenas na SAF (Albrecht et al. 2007). As semelhanças entre a histopatologia e fisiopatologia das duas situações permite não só fundamentar a sua relação, mas também sugere que o melhor conhecimento da SAF pode levar a melhor compreensão acerca da patogenia da pré-eclâmpsia e vice-versa (Clark et al. 2007, Albrecht et al. 2007).

A **insuficiência placentária** (IP), também é considerada critério clínico para a SAF, condicionando parto pré-termo. A insuficiência placentar é definida nos critérios de classificação da SAF pela existência de pelo menos uma das seguintes alterações: anomalias do ritmo cardíaco fetal durante o trabalho de parto sugerindo uma hipóxia fetal; teste de vigilância fetal anormal (ex: teste de vitalidade fetal –cardiotocografia computadorizada- é não reactivo sugerindo hipoxia fetal); oligohidrâmnios com índice de líquido amniótico menor ou inferior a 5 cm; peso à nascença inferior ao percentil 10 para a idade gestacional; análise de fluoximetria Doppler anormal sugestiva de hipoxémia fetal, como por exemplo ausência de fluxo telediastólico na artéria umbilical (Seror et al. 2010, Branch 2011).

Existe actualmente alguma controvérsia quanto à manutenção da PE e IP como critério clínico. Não existindo dúvidas acerca da associação entre a SAF e estas complicações, a sua magnitude ainda não está bem definida. São complicações obstétricas frequentes e multifactoriais que se podem relacionar muitas vezes com etiologias subjacentes que não a SAF. Esta associação clínica carece, apesar de ser critério diagnóstico, de mais alguma investigação, nomeadamente estudos clínico multicêntricos que possam definir mais especificamente o seu impacto (Branch 2011).

A **RCIU** tem vindo a ser relacionada com a SAF, verificando-se num estudo realizado nos EUA numa população obstétrica, uma relação de 5,1% entre o diagnóstico de SAF e a presença de RCIU (Chakravarty et al. 2006). Um outro estudo, realizado pelo *Euro-Phospholipid Project Group* indica uma relação de 13,7% (Cervera e Hughes 2009). Esta complicação é uma sequela clínica da insuficiência uteroplacentária e distúrbios hipertensivos da gravidez, nomeadamente pré-eclampsia, por sua vez relacionada com a SAF (Clark et al. 2007).

A **Síndrome HELLP** corresponde à ocorrência em simultâneo de hemólise, aumento das enzimas hepáticas e trombocitopenia. Esta síndrome ocorre em cerca de 0,05% da população geral, e em 10 a 12% das gestações complicadas com pré-eclampsia (Thuong et al. 2005). A SAF parece constituir factor de risco para desenvolver esta síndrome, talvez em parte na medida em que aumenta a incidência de pré-eclampsia grave e precoce.

A síndrome HELLP nas doentes com SAF apresenta-se de forma mais severa e precoce do que quando não existe associação de ambas as síndromes sendo indicação para pesquisa de aFL síndrome HELLP que condiciona parto pré-termo abaixo das 34 semanas de gestação. Apesar disto, a incidência da associação é difícil de estimar com base na literatura existente (Thuong et al. 2005, Wada et al. 2009).

A associação da SAF com **trombocitopenia** moderada ou severa na gravidez tem sido mencionada apesar de não constituir critério clínico da síndrome. Define-se por uma

contagem plaquetar inferior a $150 \times 10^9 / l$ e ocorre em aproximadamente em 10% de todas as mulheres grávidas. Pode ter várias causas, sendo a mais comum a trombocitopenia gestacional, seguindo-se a pré-eclampsia e síndrome HELLP. Causas mais raras como a púrpura trombocitopénica imune, síndrome hemolítico urémico, coagulação intravascular disseminada e SAF não devem ser negligenciadas (Parnas et al. 2006). A associação entre a trombocitopenia e a SAF não é clara. Pensa-se poder dever-se a uma reacção entre os aAF dirigidos às glicoproteínas plaquetares (Pasquali et al. 2008, Miyakis et al. 2006).

Para se poder considerar a relação entre as duas condições, tal como enunciado nos critérios de classificação da síndrome, além da baixa contagem de plaquetas confirmada duas vezes com intervalo de 12 semanas, necessitamos de excluir outras causas de trombocitopenia conhecidas (Miyakis et al. 2006).

A trombocitopenia confere maior morbidade á gravidez, aumentando o risco de diabetes gestacional, anemia materna, RCIU, descolamento da placenta, hidrâmnios, entre outros (Parnas et al. 2006). O maior problema em termos destas situações é terapêutico, visto que associado ao risco trombótico da SAF encontramos um risco hemorrágico aumentado. O uso de terapêutica anticoagulante nestas situações é muitas vezes incontornável, havendo necessidade de associar terapêutica imunossupressora e esplenectomia para tratar a trombocitopenia induzida pelos aFL (Pasquali et al. 2008).

A SAF foi também relacionada com a **infertilidade primária**. Visto que os aFL afectam a implantação, invasão e diferenciação placentares, é admissível que estes possam afectar estes processos em magnitude suficiente para que as pacientes se possam apresentar com infertilidade. No entanto actualmente não existe evidência suficiente que indique uma associação significativa entre a síndrome e esta complicação, pelo que não é recomendada a pesquisa de rotina de aFL na infertilidade (Carp e Schoenfeld 2007).

O **descolamento da placenta** tem vindo a ser referido por alguns autores como associado à SAF (Garcia et al. 2007). Foi descrito em algumas doentes com diagnóstico da síndrome

(Ruffati et al. 2004) e pode estar fisiopatologicamente associado às alterações na placentação e ao dano endotelial das artérias espiraladas verificados na SAF, com ruptura das mesmas e hemorragia retroplacentária (Ruffati et al. 2004). São poucos os estudos a fazer relevância desta associação constituindo aparentemente uma manifestação menos comum da doença (Garcia et al. 2007).

A tabela 3 indica de forma sumária as frequências das diversas complicações obtidas em diferentes estudos.

Tabela 3 – Frequência da incidência de morbidade obstétrica e SAF (Nodler et al, 2009; Chakravarty et al, 2006; Cervera e Hughes, 2009; Dadhwal et al, 2011)

Morbilidade obstétrica				
Abortos de repetição		17,1%		9,5%
Morte fetal (>10 sem)		6,7%		4,7%
Pré-eclampsia severa	11,3%		13%	30,9%
Insuficiência placentária	6,82			
RCIU		13,7%	5,1%	21,4%
Descolamento da placenta				7,1%
Referência	(60)	(63)	(62)	(68)

Resta referir, ainda em relação aos aspectos clínicos da SAF na gravidez, que embora pareça que nas doentes com SAF o risco de fenómenos trombóticos não é aumentado pela ocorrência de abortos de repetição, o contrário não se verifica. Há maior risco de complicações obstétricas, sobretudo pré-eclampsia e parto pré-termo nas mulheres com história de doença vascular associada á SAF (Borchers et al. 2010).

É necessário, no âmbito das complicações obstétricas da SAF, rever algumas questões acerca dos critérios diagnósticos obstétricos. Como referido anteriormente, a consistência da

associação de algumas complicações não está bem estabelecida variando a sua frequência substancialmente de estudo para estudo (tabela 3), o que consiste num factor limitativo na atribuição inequívoca do papel dos aFL às várias complicações obstétricas observadas (Abou-Nassar et al. 2011).

Tratamento e Monitorização

A SAF é uma causa tratável de trombose vascular e morbidade obstétrica. A terapêutica desta síndrome assenta no recurso a dois grupos principais de fármacos: i) anticoagulantes/antiagregantes plaquetares (heparina, aspirina, antagonistas da vitamina K), ii) terapêutica imunossupressora (prednisolona, imunoglobulinas intravenosas) (Nishiguchi et al. 2005, Edwards et al. 2008).

A indicação terapêutica na SAF difere consoante as manifestações são de trombose arterial, venosa ou complicações obstétricas, tanto na indicação para os fármacos usados no tratamento inicial e de longo termo como na própria duração do tratamento (Giannakopoulos e Krilis 2009).

O tratamento da SAF, quando não associada a morbidade obstétrica, tem como principal objectivo evitar os episódios de tromboembolismo recorrente que caracterizam esta síndrome. As recomendações terapêuticas variam consoante o doente tem história de tromboembolismo arterial ou venoso e dividem-se em tratamento inicial e tratamento de longo-termo (Lim. 2009). Nos doentes com história de TEV, em termos gerais, o tratamento é realizado numa fase inicial com HNF/HBPM durante 4 a 5 dias, tal como num TEV não associado à SAF, associando-se varfarina que se mantém como tratamento de longo-prazo. No caso de o doente ter história de tromboembolismo arterial o tratamento difere com a manifestação em causa. Caso haja história de tromboembolismo arterial periférico, enfarte do miocárdio associado a aAF ou AVC/AIT cardioembólico o fármaco de escolha deverá ser a varfarina (ou outro inibidor da vitamina K), no entanto quando a manifestação é AVC/AIT isquémico não cardiogénico, a utilização de ABD ou clopidogrel isoladamente é recomendada pelas orientações actuais. O tratamento deve manter-se por tempo indefinido no doente com história de tromboembolismo venoso e arterial, dado o alto risco de recorrência de fenómenos

tromboembólicos relacionados com a SAF e a inexistência de estudos que avaliem o tempo óptimo de duração da terapêutica (Lim.2009; Giannakopoulos et al, 2009).

Na grávida com SAF, as indicações terapêuticas variam segundo a presença ou ausência de episódio trombótico previamente à gravidez, sendo possível considerar dois grandes grupos terapêuticos: grávidas com aAF positivos e história de trombose e grávidas com aAF positivos sem história de trombose prévia. Dentro do segundo grupo enunciado é importante considerar o passado obstétrico da grávida, consoante têm ou não história de morbidade obstétrica prévia (Nishiguchi et al. 2005, Giannakopoulos e Krilis 2009) (tabela 4).

Tabela 4 – Tratamento e monitorização das grávidas com aAF positivos (adaptado de Nishiguchi et al, 2005; Giannakopoulos et al, 2009):

Tratamento

Grávida com TE prévio

Dose ajustada de HBPM ou HNF associada a ABD durante a gravidez, sendo recomendada a continuação de terapêutica anti-coagulante oral de longo termo no período pós-parto.

Grávida com complicações obstétricas prévias na ausência de TE anteriormente

Mini-dose de Heparina, HBPM profilático, e ou ABD é recomendado, já que se considera que estas doentes têm risco aumentado para desenvolverem trombose venosa e complicações obstétricas.

Grávida com TE e complicações obstétricas prévias

Monitorização, mini-dose de HNF, HBPM profilática e/ou ABD é recomendada.

Doses recomendadas

HBPM:

Dose profilática: deltaparina (5000 unidades) ou enoxaparina (40 mg) ou nadroparina (2850 unidades) SC todas as 24 h, ou qualquer dose diária ajustada para atingir um valor anti-Xa de 0,2-0,6 unidades/ml.

Dose ajustada: dose ajustada ao peso, com dose completa de deltaparina (200 unidades/kg SC em 1 ou 2 injeccoes) ou enoxaparina (1mg/kg SC todas as 12 h ou 1,5mg/kg SC todas as 24 h) ou nadroparina (171 unidades/ml SC em 1 ou 2 injeccoes).

HNF:

Mini-dose: 5000 unidades SC todas as 12 horas

Dose moderada: dose ajustada para atingir um nível de anti-Xa entre 1.0-1.3 unidades/ml SC todas as 12 horas.

Dose ajustada: dose ajustada para atingir um intervalo tPPA dentro de níveis terapêuticos, SC todas as 12 horas.

ABD:

75 a 100 mg/diário.

É importante salientar que todas as mulheres com história de trombose ou abortos de repetição e morte fetal após as 10 semanas devem realizar testes de detecção de aFL (Lakasing e Williamson 2005), e que por vezes estes não atingem níveis significativos fora da gravidez. A gestação pode no entanto funcionar como factor de rastilho para o aumento dos níveis de aFL, devendo estas mulheres ser testadas de novo durante a gravidez (Honig et al. 2010).

Tratamento da SAF obstétrica sem história de trombose

Tratamento da grávida com aAF persistentemente positivos, sem história de trombose ou complicações obstétricas

As grávidas nesta situação são consideradas de baixo risco, não têm indicação para testar aFL durante a gravidez e a realização de terapêutica medicamentosa parece ser discutível (Giannakopoulos e Krilis 2009, Lim et al. 2006, Derksen et al. 2004). Há autores que defendem que estas grávidas não devem receber qualquer terapêutica medicamentosa (Giannakopoulos e Krilis 2009, Erkan et al. 2008), outros parecem reconhecer que estas mulheres beneficiam de terapêutica profiláctica, pelo potencial risco de desenvolverem trombose venosa e perda fetal, comparativamente às mulheres com aFL negativos (Nishiguchi et al. 2005). Nesta situação o tratamento profiláctico pode ser realizado apenas com BDA (Royal College of Obstetricians and Gynaecologists 2004, Hughes 2011) a qual, em casos seleccionados de risco trombótico aumentado, tais como – idade materna >35 anos, técnicas de reprodução assistida, tripla positividade de aAF, altos títulos de IgG aCL, se pode associar HBPM em dose profiláctica/HNF mini-dose (tabela 5) (Nishiguchi et al. 2005, Erkan et al. 2008).

Convém lembrar a inexistência de estudos controlados que demonstrem categoricamente que a tromboprofilaxia melhora o prognóstico da gravidez destas doentes (Erkan et al. 2008,

Derksen et al. 2004). Na ausência de consenso actual cabe ao clínico decidir a melhor conduta terapêutica.

Tratamento da Grávida com aFL positivos e história de morbidade obstétrica e sem história de trombose:

Estas grávidas têm risco considerável de desenvolverem trombose venosa e morbidade obstétrica de novo (Giannakopoulos e Krilis 2009). Desta forma, o tratamento recomendado é mais pragmático utilizando HBPM em dose profiláctica/ HNF em mini-dose + ABD (tabela 5/ imagem 6) (Derksen et al. 2004, Bramham et al. 2010). Quando existe morbidade obstétrica que não satisfaça os critérios diagnósticos clínicos da síndrome, na presença de aAF, o tratamento deverá ser idêntico ao da SAF obstétrica clássica (Erkan et al. 2008).

O tratamento, nestas situações, deve iniciar-se com ABD antes da concepção ou na altura de confirmação da gravidez, sendo a heparina introduzida na altura de confirmação da gravidez ou quando a actividade cardíaca fetal se verifica, de forma a evitar a administração desnecessária de fármacos (Nishiguchi et al. 2005, Giannakopoulos e Krilis 2009, Lim et al. 2006, Derksen et al. 2004).

O tratamento deve ser mantido pelo menos até às 34 semanas de gestação, sendo actualmente aceite que é ideal a sua manutenção até ao parto, por um lado porque está documentado que os níveis de aFL podem subir durante a gravidez, por outro lado verifica-se que a continuação do tratamento pode ser vantajosa na prevenção de complicações tardias, como a pré-eclâmpsia e parto pré-termo (Honig et al. 2010).

Quanto ao tratamento no **pós-parto**, não existe na actualidade consenso quanto às suas indicações, agentes usados e tempo de tratamento (Branch 2011). Verifica-se que existe maior risco de fenómenos trombóticos no pós-parto de mulheres com SAF obstétrico (Empson et al. 2005), no entanto há pouco estudos a asseverar esta associação (Branch 2011).

As estratégias terapêuticas são variadas, tendo em conta por um lado a medicação efectuada na gravidez e estratificação do risco trombótico pós-parto (Giannakopoulos e Krilis 2009). A este propósito reconhece-se actualmente que existem factores que aumentam a probabilidade de ocorrência de fenómenos trombóticos: múltiplos aAF positivos, altos títulos de IgG aCL, diagnóstico de LES, parto por cesariana versus parto vaginal, cesariana de emergência versus electiva, gravidez gemelar e presença de factores de risco adicionais como idade > 35 anos, obesidade, trombofilia hereditária, imobilização prolongada, tabagismo (Nishiguchi et al. 2005, Lefèvre et al. 2011)(imagem 7).

O tratamento profiláctico deve ser iniciado logo que possível após o parto e sempre 4 horas depois da inserção ou remoção de cateter epidural caso tenha sido feita analgesia regional (Royal College of Obstetricians and Gynaecologists 2004).

Estão descritas diferentes formas de abordagem terapêutica (imagem 7); nas doentes que realizaram tratamento com HBPM/HNF durante a gestação pode estar recomendada a anticoagulação oral com varfarina durante 6 semanas, ou a manutenção pós-parto de heparina (HBPM dose profiláctica/ HNF em mini-dose) durante 6 semanas ou apenas durante 3-5 dias, dependendo do risco trombótico (Branch 2011, Erkan et al. 2008, Royal College of Obstetricians and Gynaecologists 2004). Naquelas que realizaram apenas ABD pode estar recomendada a sua manutenção por um período igual ou superior a 6-8 semanas (Branch 2011). A decisão terapêutica destes doentes no pós-parto é sobretudo clínica e individual pela não formalização de linhas de orientação consensuais.

A longo termo é unânime a não utilização de anticoagulação nestas doentes, não sendo a varfarina recomendada para além do pós-parto. A utilização de ABD a longo termo é controversa, havendo dúvidas quanto á sua efectividade na prevenção da trombose e quanto à sua utilidade nestas doentes (Branch 2011).

Tratamento da SAF obstétrica com história trombose (não associada a factores passageiros)

As grávidas com aFL positivos e história de trombose constituem o grupo de maior risco obstétrico pela probabilidade acrescida de desenvolver morbidade obstétrica e fenómenos trombóticos durante a gravidez (Giannakopoulos e Krilis 2009, Bramham et al. 2010).

Nestas situações devemos em primeiro lugar averiguar se a doente está a realizar terapêutica com varfarina já que existe forte evidência de que este anticoagulante seja teratogénico no período entre as 6 e as 12 semanas de gestação levando a embriopatia da varfarina em cerca de 2 a 4% dos casos, caracterizada por hipoplasia nasal, surdez, defeitos oculares e baixo peso ao nascimento (Nishiguchi et al. 2005, Lakasing e Williamson 2005). Está também relacionada com alterações do neurodesenvolvimento na criança, microcefalia, atrofia do nervo óptico quando administrado no 2º e 3º trimestres da gravidez (Nishiguchi et al. 2005). No caso da doente estar a fazer tratamento com varfarina esta deve ser substituída por heparina antes da concepção ou no momento da confirmação da gravidez, obrigatoriamente sempre antes das 6 semanas de gestação (Giannakopoulos e Krilis 2009, Royal College of Obstetricians and Gynaecologists 2004) (figura 7).

O tratamento durante a gestação é realizado nestes casos com HBPM/ HNF, associado a ABD (tabela 4). A dose do fármaco, ao contrário das situações em que não se verifica trombose prévia à gravidez, deve ser ajustada. O ajuste da dose é feito com base no peso da doente, de forma a manter os níveis de anti-factor Xa ou o tTPPA num nível considerado terapêutico (tabela 4).

Nestas grávidas a associação da terapêutica anticoagulante com meias elásticas de compressão é essencial. A terapêutica deve ser mantida durante toda a gestação e a administração de heparina e ABD deve ser cessada 24 horas antes da indução electiva do parto (Nishiguchi et al. 2005, Giannakopoulos e Krilis 2009).

Quando ocorrem fenómenos tromboembólicos durante o curso da gravidez, é recomendada alteração da terapêutica para varfarina, desde que após as 12 semanas de gestação (Bramham et al. 2010).

No **pós-parto** é recomendado retomar terapêutica com anticoagulante oral de longo termo e manutenção de tratamento com heparina (HBPM dose profiláctica/HNF mini-dose/moderada) durante alguns dias para se realizar uma ponte terapêutica, até o INR > 2, devendo posteriormente ser mantido entre 2-3. A utilização de meias elásticas de compressão e a mobilização precoce é recomendada (Nishiguchi et al. 2005, Giannakopoulos e Krilis 2009).

Medidas a longo termo a ser consideradas nestas grávidas são a suplementação com cálcio, alterações no estilo de vida, como terminar hábitos tabágicos e manter IMC normal. No que diz respeito aos contraceptivos orais combinados, pelo seu risco trombótico são usualmente desaconselhados nas mulheres com SAF, no entanto alguns estudos defendem que este risco é inferior às possíveis vantagens destes fármacos desde que as doentes estejam em tratamento anti-coagulante completo (Branch 2011, Erkan et al. 2008).

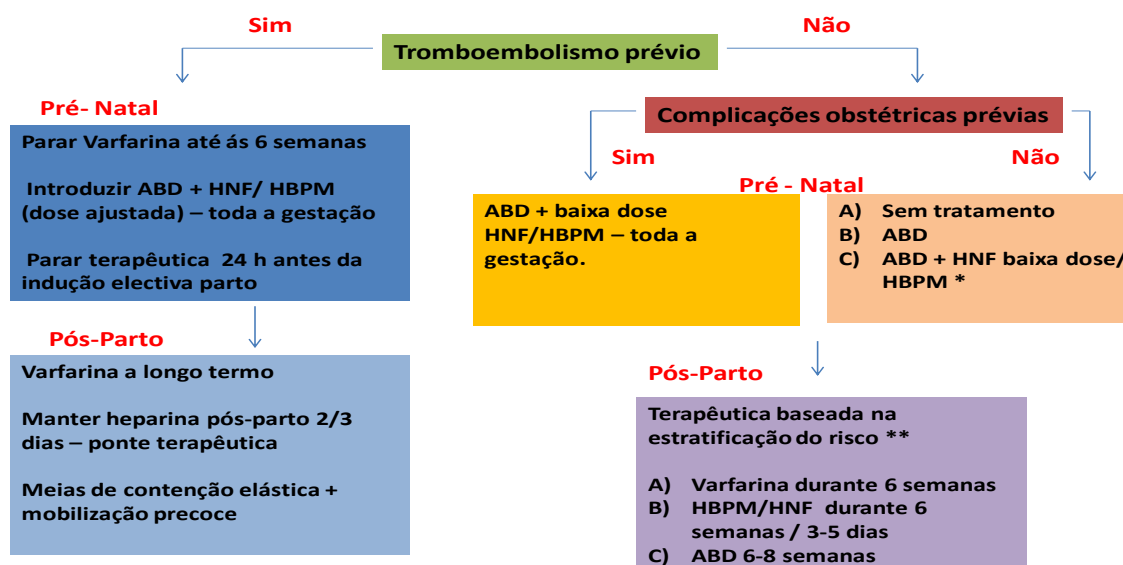


Figura 7 - Terapêutica da SAF obstétrica. *A prescrição de heparina nas grávidas com aFL positivos mas sem manifestações de SAF obstétrica deve ser feita com base na presença de

factores de risco para trombose, tal como indicado no texto. ** A estratificação do risco para terapêutica profiláctica pós parto nas mulheres sem história de TEV é realizada com base nos factores acima descritos.

Quanto aos fármacos referidos anteriormente, a heparina tem a capacidade de proteger as células trofoblásticas dos aFL ao estimular a inactivação da β 2GP1 pela plasmina, levando a menor ligação dos aFL, daí a importância de se iniciar o tratamento com heparina numa fase embrionária precoce (Nishiguchi et al. 2005, Mak et al. 2010). O AAS ao inibir a ciclooxigenase necessária para a formação de tromboxano A2, diminui o seu efeito pró-coagulante e vasoconstritor. De forma isolada a sua administração não teve bons resultados (Garcia et al. 2007, Mak et al. 2010).

Verifica-se que a associação de heparina com ABD permite diminuir em larga percentagem os abortos associados a SAF, em comparação com a aspirina isoladamente, pelo que é habitualmente praticada a sua associação (Empson et al. 2005, Lim 2009, Mak et al. 2010). Aparentemente verifica-se que não há vantagens em usar HNF em alta dose, em comparação com a baixa dose (Empson et al. 2005). Quanto à utilização de HBPM, verifica-se que a sua associação com ABD é equivalente à utilização de HNF+ABD na prevenção dos abortos de repetição na SAF (Giannakopoulos e Krilis 2009), pelo que a sua eficácia é equiparável (Giannakopoulos e Krilis 2009, Royal College of Obstetricians and Gynaecologists 2004, Derksen et al. 2004).

À luz do conhecimento actual, na escolha de tratamento com HBPM + ABD ou HNF + ABD, verifica-se que são factores importantes a poderar: i) o risco de trombocitopenia induzida pela heparina – na população geral verifica-se aumenta o risco quando usada HNF em comparação com HBPM (Giannakopoulos e Krilis 2009, Greer e Pierce 2005); ii) as doses terapêuticas de HNF comparadas com HBPM foram associadas a um aumento do risco de osteopenia nas grávidas (Erkan et al. 2008, Lakasing e Williamson 2005), havendo no entanto estudos que

contestam esta associação (Giannakopoulos e Krilis 2009). Além destes dados verifica-se que a HBPM apresenta outras vantagens, como facto de se relacionar a menor risco de hemorragia, farmacocinética estável e previsível com tempo de meia-vida mais longo, biodisponibilidade quase completa através de injeção subcutânea, não havendo necessidade de monitorização (Garcia et al. 2007, Greer e Pierce 2005, Mak et al. 2010, Hughes 2011). Vários membros do conselho consultivo do 12º congresso de aAF referem usar na sua prática clínica HBPM em detrimento da HNF (Erkan et al. 2008), o que também é partilhado pelo *Royal College of Obstetrician and Gynecologie* (Royal College of Obstetricians and Gynaecologists 2004) .

Em relação aos corticoesteróides, actualmente a utilização de prednisolona + ABD caiu em desuso visto estar provado que a heparina não só é mais eficaz como se associa a menor taxa de complicações materno-fetais como HTA e parto pré-termo (Nishiguchi et al. 2005, Mak et al. 2010, Derksen et al. 2004).

A terapêutica com imunoglobulina intravenosa em alta dose é actualmente usada como terapêutica de segunda linha em casos refractários ao tratamento de primeira linha. A plasmaférese também é usada como terapia de salvação em mulheres com SAF catastrófico ou refractário a terapêutica (Nishiguchi et al. 2005, Hughes 2011).

Monitorização clínica

As grávidas com aAF, independentemente de terem ou não episódios de trombose prévia devem ser acompanhadas no período pré-concepcional, de forma a serem alertadas para as possíveis complicações induzidas pelos anticorpos, informadas acerca da monitorização obstétrica necessária e iniciarem terapêutica ainda nessa fase se indicado pelo clínico, como referido previamente. Deve nesta fase investigar-se a existem outras patologias como LES, HTA, trombocitopenia hereditária, anemia hemolítica ou patologia renal, que requeiram cuidados especializados (Garcia et al. 2007, Branch 2011).

Estas grávidas devem ser observadas em consultas pré-natais durante toda a gravidez, e embora não estejam definidos protocolos de calendarização de seguimento obstétrico, um estudo recomenda uma consulta de controlo cada 15 a 21 dias até à 20ª semana, e a cada 7 a 15 dias a partir da 28ª semana de gestação. Estudos ecográficos seriados a cada 4 semanas a partir da 18ª/20ª semana para vigiar o crescimento fetal, e realização provas semanais de registo basal desde a 28ª semana de gestação são recomendados (Garcia et al. 2007).

A ecografia com fluxometria doppler das artérias uterinas deve ser realizada na 23ª semana de gestação, segundo dados recentes que demonstram a importância deste exame pelo seu valor preditivo no despiste de complicações vasculo-placentárias nas grávidas com SAF (Seror et al. 2010, Lasaking e Williamson 2005).

Quando sob terapêutica com heparina, a trombocitopenia induzida por este fármaco deve ser monitorizada e investigada, através de contagens plaquetares durante as 2 semanas que seguem a sua introdução. Não é necessário solicitar provas de coagulação repetidamente, no entanto o controlo mensal pode ser requerido (Garcia et al. 2007, Giannakopoulos e Krilis 2009).

Conclusão

A associação da SAF a fenómenos de morbidade obstétrica é amplamente descrita na literatura actual. No entanto e apesar do progresso inegável no estudo epidemiológico, clínico e laboratorial da síndrome, algumas questões ficam por esclarecer.

A fisiopatologia da SAF ainda não é integralmente conhecida e mecanismos associados à morbidade obstétrica permanecem em contínua investigação, destacando-se, do ponto de vista investigacional, os mecanismos trombóticos, anomalias do desenvolvimento placentário e fenómenos inflamatórios locais.

Do ponto de vista clínico, verifica-se que a frequência das várias complicações obstétricas associadas à síndrome é extremamente variável nos diversos estudos, no entanto, aquelas mais unanimemente mencionadas e que constituem critério clínico diagnóstico da síndrome são os abortos de repetição, morte fetal após as dez semanas de gestação e parto pré-termo antes das 34 semanas devido a pré-eclâmpsia grave ou insuficiência placentar. Outras complicações não tão consensualmente aceites tal como descolamento da placenta, síndrome HELLP e trombocitopenia, carecem de mais investigação clínica e laboratorial, sendo indispensável no futuro a realização de estudos multicêntricos e uniformes quanto aos critérios de inclusão/exclusão das doentes, critérios de classificação da SAF, definição das manifestações obstétricas e maior uniformidade de ensaios laboratoriais.

A inexistência de protocolos terapêuticos internacionalmente reconhecidos para a SAF obstétrica leva a que as opções de tratamento não sejam consensuais, havendo necessidade também de uniformização e padronização das condutas terapêuticas.

Assim, esta é uma patologia muito complexa, ainda mal compreendida, e que afectando sobretudo mulheres em idade fértil pode ter implicações graves, pelo que é um campo que necessita, indubitavelmente, de investigação aprofundada nas suas várias vertentes. A compreensão dos mecanismos fisiopatológicos da síndrome e a sua tradução clínica e

epidemiológica é um processo em contínuo desenvolvimento no actual panorama médico-científico.

O recente advento de equipas multidisciplinares dedicadas ao estudo desta patologia, tal como a *Obstetric Task Force for AFS* assinala a necessidade de consensualização no diagnóstico e terapêutica da SAF obstétrica e prediz progresso, tão importante nesta área.

Referências

- Abou-Nassar et al. The association between antiphospholipid antibodies and placenta mediated complications: A systematic review and meta-analysis. *Thromb Research* 2011; 128:77-85.
- Agar C et al. Beta2-glycoprotein I is incorrectly named apolipoproteina H. *J Throm haemost* 2009; 7: 235-236.
- Alard JN, Gaillard F et al. TLR2 is one of the endothelial receptors for beta2-glycoprotein I. *The Journal of Immunology*, 2010; 185,3: 1550.1557.
- Albrecht C, et al. placental ABCA1 expression is reduced in primary antiphospholipid syndrome compared to pre-eclampsia and controls. *Placenta* 2007; 28(7):701-8
- Atsumi T, Amengual O, Yasuda S, Matsuura E, Koike T. Research around beta 2-glycoprotein I: a major target for antiphospholipid antibodies. *J Autoimmunity* 2005; 38: 377-381.
- Berman J, Girardi G, Salmon JE. TNF-alpha is a critical effector and a target for therapy in antiphospholipid antibody-induced pregnancy loss. *J Immunol* 2005;174:485-490
- Bizzaro N, et al. Prevalence and clinical correlation of anti-phospholipid-binding protein antibodies in anticardiolipin-negative patients with systemic lupus erythematosus and women with unexplained recurrent miscarriages. *Arch Pathol Lab Med*. 2005;129(1):61-8
- Borchers A, Naguwa S, Keen C, Gershwin M. The implications of autoimmunity and pregnancy. *Journal of Autoimmunity*, 2010; 34: 287-299.
- Bramham K et al. Pregnancy outcome on different clinical phenotypes of antiphospholipid syndrome. *Lupus* 2010; 19:58-64.
- Branch W on behalf of the Obstetric Task Force. Report of the obstetric APS task Force: 13th international congress on antiphospholipid antibodies, 13th April 2010; *Lupus* 2011; 20:158-164.

- Bu C, Zhang C, Li Z, Gao L, et al. Autoantibodies to plasminogen activator in women with recurrent pregnancy loss. *Clinical and experimental Immunology*, 2007; 149:31-39.
- Campos B, Hnat M et al. Determination of non-bilayer phospholipid arrangements and their antibodies in placentae and sera of patients with hypertensive disorders of pregnancy. *Placenta* 2006; 27:215-224.
- Carp HJA, Schoenfeld Y. Antiphospholipid antibodies and Infertility. *Clinic Rev Allerg Immunol* 2007; 32:159-161.
- Cervera R, Balash J. Bidirectional effects on autoimmunity and reproduction. *Human Reproduction Update* 2008; 14(4):359-366.
- Cervera R, et al. The Euro-phospholipid project: epidemiology of the antiphospholipid syndrome in Europe. *Lupus* 2009;18: 889-893.
- Cervera R, Hughes GRV et al on behalf of the Euro-Phospholipid project Group. Morbidity and mortality in the antiphospholipid syndrome during 5-year period: a multicentre prospective study of 1000 patients. *Ann Rheum Dis* 2009; 68:1428-1434.
- Cesarman-Maus G, Ríos-Luna NP, Deora AB, et al. Autoantibodies against the fibrinolytic receptor annexin 2, in antiphospholipid syndrome. *Blood* 2006;107:4375–4382.
- Chakravarty EF, Nelson L, Krishnan E. Obstetric hospitalizations in the United States for women with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatism* 2006; 54(3):899-907.
- Clark E, Silver R, Branch W. Do antiphospholipid antibodies cause preeclampsia and HELLP syndrome? *Curr Rheum Rep* 2007; 9:219-225.
- D'Ippolito S, Di Simone N, Di Nicuolo F, Castellani R, Caruso A. Antiphospholipid antibodies: effects on trophoblast and endothelial cells. *Am J Reprod Immunol* 2007; 58:150-158.

- Dadhwal V et al. The obstetric outcome following treatment in a cohort of patients with antiphospholipid antibody syndrome in a tertiary care center. *J Postgrad Med.* 2011; 57(1):16-9.
- Derksen R et al. Management of the obstetric antiphospholipid syndrome. *Arthritis & Rheumatism* 2004; 50 (4): 1028-1039.
- Devreese K, Hoylaerts M. Challenges in the diagnosis of the antiphospholipid syndrome. *Clinical Chemistry* 2010; 56:6 930-940.
- Di Simone N et al. Antiphospholipid antibodies affect human endometrial angiogenesis. *Biology of reproduction* 2010; 83: 212-219.
- Di Simone N, Luigi M, Marco D, et al. Pregnancies complicated with antiphospholipid syndrome: the pathogenic mechanism of antiphospholipid antibodies. *Ann NY Acad Sci,* 2007; 1108:505-514.
- Di Simone N, Meroni PL, Asta MD, Di Nicuolo F, Alessio M, Caruso A. Pathogenic role of anti-B2-glycoprotein I antibodies on human placenta: functional effects related to implantation and roles of heparin. *Hum Rep Update* 2006; 13:189-196.
- Drijkoningen J, et al. Clinical manifestations of the anti-phospholipid syndrome as defined by the updates Sapporo classification. *Ann Rheum Dis.* 2007; 66(10):1407-8.
- Duckitt K, Qureshi A. Recurrent miscarriage. *Clinical Evid (online)* 2011. pii: 1409
- Edwards CJ, Hughes G. Hughes syndrome (the antiphospholipid syndrome): 25 years old. *Mod Rheumatol* (2008) 18: 119-124.
- Empson M, et al. Prevention of recurrent miscarriage for women with antiphospholipid antibody or lupus anticoagulant. *Cochrane Database Syst Rev* 2005; (2):CD002859
- Erkan D et al. Management of the controversial aspects of the antiphospholipid syndrome pregnancies: a guide for clinicians and researchers. *Rheumatology* 2008; 47:iii23-iii27.
- Galarza-Maldonado C. et al. Obstetric antiphospholipid syndrome. *Autoimmun Rev.* 2011. Publicação online.

- Galli M, Reber G, de Moerloose P, de Groot PG. Invitation to a debate on a the serological criteria that define the antiphospholipid syndrome. *J Thromb Haemost* 2008; 6:399-401.
- Garcia C, Zapata F, Marín I, Ayala A. Antiphospholipid syndrome and human reproduction. *Ginecol Obstet Mex* 2007; 75:277-85.
- Giannakopoulos B, Krilis S.A. How I treat the antiphospholipid syndrome. *Blood* 2009; 114: 2020-2030.
- Giannakopoulos B, Passam F, Rahgozar S, Krilis S. Current concepts on the pathogenesis of the antiphospholipid syndrome. *Blood*, 2007; 109: 422-430.
- Girardi G, Mackman N. Tissue factor in antiphospholipid antibody-induced pregnancy loss: a pro-inflammatory molecule. *Lupus*. 2008;17(10):931-6.
- Greer I, Pierce C.N. Low molecular-weight heparins for thromboprophylaxis and treatment of venous thromboembolism in pregnancy: a systematic review of safety and efficacy. *Blood* 2005; 106:401-407.
- Groot PG, Derksen R. Pathophysiology of the antiphospholipid syndrome. *J Thromb Haemost* 2005; 3: 1854-1860.
- Hahn S, Holzgreve W. Disturbances in placental immunology: ready for therapeutic interventions?. *Springer Semin Immun* 2006; 27: 477-493.
- Honig A et al. Pregnancy-triggered antiphospholipid syndrome in a patient with multiple late miscarriages. *Human Rep* 2010; 25(11):2753-2754.
- Hughes G. Hughes syndrome (the antiphospholipid syndrome): a disease of our time. *Inflammopharmacol* 2011; 19:69-73.
- Ioannou Y, Romay-Penabad Z, Pericleous , Giles I, Papalardo E, et al. (2009) In vivo inhibition of antiphospholipid antibody-induced pathogenicity utilizing the antigenic target peptide domain I of beta2-glycoprotein I: proof of concept. *J Thromb Haemost* 7:833-842.

- Kaul M, Erkan D, Sammaritano L, Lockshin M. Assessment of the 2006 revised antiphospholipid syndrome classification criteria, *Ann Rheum Dis* 2007; 66:927-930.
- Koike T, Atsumi T. "Resurrection of Thrombin" in the pathophysiology of the antiphospholipid syndrome. *Arthritis & Rheumatism* 2007; 56(2): 392-394.
- Koike T, Bohgaki M, Amengual O, Atsumi T. Antiphospholipid antibodies: Lessons from the bench. *J Autoimmunity* 2007; 28:160-4.
- Kolyada A, Lee C, De Biasio A, Beglova N. A novel dimeric inhibitor targeting beta2GPI in beta2GPI/antibody complexes implicated in antiphospholipid syndrome. *PLoS ONE*, 2010; 5(12): e15345.
- Krone K, Allen K, McCrae K. Impaired Fibrinolysis in the Antiphospholipid Syndrome. *Curr Rheumatol Rep.* 2010;12(1):53-7.
- Laat de B, Groot de P. Autoantibodies directed against domain I of beta2-glycoprotein I. *Curr Rheumatol rep* 2011; 13:70-76.
- Lakasing L, Williamson C. Obstetric complications due to autoantibodies. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2005; 19 (1): 149-175.
- Lefèvre G et al. Thrombotic events during long-term follow-up of obstetric antiphospholipid syndrome patients. *Lupus* 2011; 20:861-865.
- Lim W et al. Management of antiphospholipid antibody syndrome. *JAMA* 2006; 295 (9):1050-1056.
- Lim W. Antiphospholipid antibody syndrome. *Hematology Am Soc Hematol* 2009; 233-239.
- Lin F, Murphy R, White B, Kelly J, Feighery C, et al. Circulating levels of beta2-glycoprotein I in thrombotic disorders and in inflammation. *Lupus*, 2006, 15:87-93.
- Lopez-Pedraza C, Khamashta M et al. Proteomic analysis in monocytes of antiphospholipid syndrome patients. *Arthritis & Rheumatism* 2008; 58 (9): 2335-2844.

- Mak A et al. Combination of heparin and aspirin is superior to aspirin alone in enhancing live births in patients with recurrent pregnancy loss and positive anti-phospholipid antibodies: a meta-analysis of randomized controlled trials and meta-regression. *Rheumatology* 2010; 49:281-288.
- Meroni PL, Gerosa M, Raschi E, Scurati S, Grossi C, Borghi MO. Updating on the pathogenic mechanisms of the antiphospholipid antibodies – associated pregnancy loss. *Clin Rev Allerg Immunol* 2008; 34:332-337.
- Miyakis S, Lockshin M, Atsumi T, Branch D, Brey R, Cervera R, Derksen R, de Groot P, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost* 2006; 4:295-306.
- Nishiguchi T, Kobayashi T. Antiphospholipid Syndrome: Characteristics and Obstetrical Management. *Current Drug Targets*, 2005; 6, 593-605.
- Nodler J, Mulla ZD et al. Elevated antiphospholipid antibody titers and adverse pregnancy outcomes: analysis of a population-based hospital dataset. *BMC Pregnancy and Childbirth* 2009; 9:11.
- Parnas M, Yerushalmi R et al. Moderate to severe thrombocytopenia during pregnancy. *Eur J. Obst & Gyn and Rep Bio* 2006; 128:163-168.
- Pasquali J, Poindron V, Korganow A, Martin T. The antiphospholipid syndrome. *Best Practice and Research Clinical Rheumatology*, 2008; 22: 831-845.
- Patterson AM, Ford I, Graham A, Booth NA, Greaves M. The influence of anti-endothelial/antiphospholipid antibodies on fibrin formation and lysis on endothelial cells. *Br J Haematol*. 2006; 133:323-330.
- Pengo V, Tripodi A, Reber G, Rand JH, Ortel TL, Galli M, et al. Update of the guidelines for Lupus anticoagulant detection. Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibody of the scientific and standardisation Committee of the

- International Society on Thrombosis and Haemostasis. *J Throm Haemost* 2009;7:1737-40.
- Pericleous C, Giles I, Rahman A. Are endothelial microparticles potential markers of vascular dysfunction in the antiphospholipid syndrome? *Lupus*. 2009 Jul; 18:671-5.
 - Rahgozar S, Yang Q, Giannakoupolos B, Yan X, Miyakis S, Krilis SA. Beta2-glycoprotein I binds thrombin via exosite I and exosite II: anti-B2-glycoprotein I on thrombin-mediated factor XIa generation. *Arthritis Rheum* 2007; 56:605-613.
 - Richani K, Mazor M et al. Normal pregnancy is characterized by systemic activation of the complement system. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2005; 174:239-245.
 - Robertson B, Greaves M. Antiphospholipid syndrome: an evolving story. *Blood Rev*, 2006; 20:201-12.
 - Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Thromboprophylaxis during pregnancy, labour and after vaginal delivery. Guideline No.37, 2004.
 - Ruffati A, Tonello M, Del Ross T, et al. Antibody profile and clinical course in primary antiphospholipid syndrome with pregnancy morbidity. *Thrombosis and Haemostasis*, 2006; 96: 337-341.
 - Ruffati A. et al. Could placental abruption be an antiphospholipid antibody related disorder? *Clin Exp Rheumatol*. 2004 May; 22(3):380-1.
 - Ruiz-Irastorza G et al. Antiphospholipid syndrome. *Lancet*. 2010; 376(9751):1498-1509
 - Safa O, Esmon CT, Esmon NL. Inhibition of APC anticoagulant activity on oxidized phospholipid by anti-beta2-glycoprotein I monoclonal antibodies. *Blood*. 2005; 106:1629-1635.
 - Salmon J, Girardi G. Antiphospholipid syndrome revisited: a disorder initiated by inflammation. *Trans Am Clin Climatol Assoc*. 2007;118:99-114.
 - Salmon JE, Girardi G. Antiphospholipid antibodies and pregnancy loss: a disorder of inflammation. *J Reprod Immunol*. 2008; 77(1): 51-56.

- Salomo I et al. Antiphospholipid syndrome: a comprehensive review of a complex and multisystemic disease. *Clin Exp Rheumatol* 2009; 27:668-677.
- Seror J, Verspyck E, Borg JY, Berkane N, Marpeau L. Predictive value of uterine artery velocity waveforms in monitoring of pregnancies with high obstetrical risk antiphospholipid syndrome: the Rouen experience. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 2010; 38:447-454.
- Shi T, Giannakopoulos B, Yan X, et al. Anti-beta2-glycoprotein I antibodies in complex with beta2-glycoprotein I can activate platelets in a dysregulated manner via glycoprotein Ib-IX-V. *Arthritis Rheum.* 2006; 54:2558-2567.
- Shoenfeld Y, Twig G, Katz U, Sherer Y. Autoantibody explosion in antiphospholipid syndrome. *Journal of autoimmunity*, 2008; 30, 74-83.
- Sikara M, Routsias JG, Vlachoyiannopoulos PG et al. B2 Glycoprotein I (B2GP1) binds platelet factor 4 (PF4): implications for the pathogenesis of antiphospholipid syndrome. *Blood* 2010; 115: 713-723.
- Silver RM, Stoll B et al. Work-up of a stillbirth: a review of the evidence. *Am J Obstet Gynecol* 2007; 196(5): 443-444.
- Soltesz P, Der H, Veres K, Laczik R, Sipka S, Szegedi G, Szodoray P. Immunological features of primary anti-phospholipid syndrome in connection with endothelial dysfunction. *Rheumatology (Oxford)*. 2008 Nov;47(11):1628-34.
- Tebo A, et al. Clinical relevance of multiple antibody specificity testing in anti-phospholipid syndrome and recurrent pregnancy loss. *Clinical and Experimental Immunology*, 2008; 154: 332-338.
- Thuong D, Piette JC et al. The HELLP syndrome in the antiphospholipid syndrome: retrospective study of 16 cases in 15 women. *Ann Rheum Dis* 2005; 64:273-278.
- Turiel M, et al. Thrombotic risk factors in primary antiphospholipid syndrome: a 5-year prospective study. *Stroke*. 2005; 36(7):1490-4

- Urbanus R, de Groot P. Antiphospholipid antibodies – We are not quite there yet. *Blood Reviews*, 2011; 25: 97-106.
- Urbanus R, Derksen R, Groot P. Current insight into diagnostics and pathophysiology of the antiphospholipid syndrome. *Blood Reviews*, 2008; 22: 93-105
- Van Os, de Groot et al. Antiphospholipid syndrome: current insights into laboratory diagnosis and pathophysiology. *Haemostaseologie*, 2010. 30:139-143.
- Velayuthaprabhu S, Archunan G. Evaluation of anticardiolipin antibodies and antiphosphatidylserine antibodies in women with recurrent abortion. *Indian J Med Sci* 2005; 59:347-352.
- Vlachoyiannopoulos PG, Routsias JG. A novel mechanism of thrombosis in antiphospholipid antibody syndrome. *J Autoimmun.* 2010 Nov;35(3):248-55
- Wada Y, Sakamaki Y et al. HELLP Syndrome, Multiple Liver Infarctions, and Intrauterine Fetal Death in a Patient with Systemic Lupus Erythematosus and Antiphospholipid Syndrome. *Intern Med.* 2009; 48(17):1555-1558.
- Weiler H. Tracing the molecular pathogenesis of antiphospholipid syndrome. *J. Clin. Invest* 2008; 118:3276-3278.
- Yasuda S et al. Pathogenesis of antiphospholipid antibodies: impairment of fibrinolysis and monocyte activation via the p38 mitogen-activated protein kinase pathway. *Immunobiology* 2005; 210(10):775-80
- Zammiti W et al. A case-control study on the association of idiopathic recurrent pregnancy loss with autoantibodies against beta2-glycoprotein I and annexin V. *Reproduction.* 2006 Apr;131(4):817-22
- Zhang J, McCrae KR. Annexin A2 mediates endothelial cell activation by antiphospholipid/anti-beta2 glycoprotein I antibodies. *Blood* 200; 105:1964-1969