

VANESSA MARCON DE OLIVEIRA

**PRESENÇA DE MARCADORES SÉRICOS PARA TROMBOFILIAS
HEREDITÁRIAS E ADQUIRIDAS E SUA ASSOCIAÇÃO EM
GESTANTES COM HISTÓRICO DE COMPLICAÇÕES OBSTÉTRICAS
E LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO**

CAMPO GRANDE, MS
2014

VANESSA MARCON DE OLIVEIRA

**PRESENÇA DE MARCADORES SÉRICOS PARA TROMBOFILIAS
HEREDITÁRIAS E ADQUIRIDAS E SUA ASSOCIAÇÃO EM
GESTANTES COM HISTÓRICO DE COMPLICAÇÕES OBSTÉTRICAS
E LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO**

Tese apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Saúde e
Desenvolvimento na Região
Centro-Oeste da Universidade
Federal de Mato Grosso do Sul,
para obtenção do título de doutor.

Orientador: Prof. Dr. Ernesto
Antônio Figueiró-Filho

CAMPO GRANDE, MS
2014

FOLHA DE APROVAÇÃO

VANESSA MARCON DE OLIVEIRA

**PRESENÇA DE MARCADORES SÉRICOS PARA TROMBOFILIAS
HEREDITÁRIAS E ADQUIRIDAS E SUA ASSOCIAÇÃO EM
GESTANTES COM HISTÓRICO DE COMPLICAÇÕES OBSTÉTRICAS
E LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de doutor.

Resultado _____

Campo Grande (MS), _____ de _____ de _____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Ernesto Antonio Figueiró-Filho
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS

Prof. Dr. Geraldo Duarte
Universidade de São Paulo – USP

Profª Drª Helaine Maria Betesti Pires Mayer Milanez
Universidade Estadual de Campinas – Unicamp

Profª Drª Maria de Fátima Cepa Matos
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS

Profª Drª Renata Trentin Perdomo
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS

Dedico este trabalho...

Ao meu amado esposo, Windson, por estar sempre ao meu lado,
me apoiando e me dando forças....

Aos meus pais, Milton e Marlene,
pelo amor, pelos valores, pela dedicação e pelos sacrifícios realizados
para que eu conseguisse chegar até aqui...

Aos meus irmãos, Walessa Mylena e Guilherme Henrique,
pela eterna cumplicidade...

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelas inúmeras bênçãos recebidas, pela capacidade de realizar este trabalho e por sempre iluminar meu caminho.

Ao amigo e orientador, Prof Dr. Ernesto Antônio Figueiró-Filho, pela confiança em mim depositada sem nem mesmo me conhecer, pela disposição em doar seu conhecimento e sua experiência e por dividir comigo todas as dificuldades e preocupações na realização deste trabalho.

À todas as gestantes que participaram deste estudo.

Aos funcionários do Ambulatório de Gestação de Alto Risco do HU/UFMS, pela gentileza e receptividade.

Aos residentes do setor de Ginecologia e Obstetrícia pela paciência em separar os casos elegíveis a participarem deste trabalho.

Às minhas amigas, Érica e Cristiane, pela amizade, paciência e apoio nos momentos de dificuldades.

À coordenação e a todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da UFMS que possibilitaram a realização de um grande sonho e a concretização de um grande projeto.

***Nenhuma atividade no bem é insignificante...
As mais altas árvores são oriundas de minúsculas sementes.
O sucesso quase sempre se forma com uma parte de ideal e
noventa e nove partes de suor na ação que o realiza.
(André Luiz – Chico Xavier)***

RESUMO

Oliveira VM. Presença de marcadores séricos para trombofilias hereditárias e adquiridas e sua associação em gestantes com histórico de complicações obstétricas e lúpus eritematoso sistêmico. Campo Grande; 2014. [Tese – Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul].

Associações entre trombofilias e graves complicações obstétricas são apresentadas na literatura. Em virtude dessas graves complicações, o interesse nas associações entre trombofilias e complicações obstétricas vem aumentando consideravelmente nos últimos anos. Deste modo o presente trabalho teve por objetivo verificar a associação entre a presença de marcadores para trombofilias (hereditárias e adquiridas) e a ocorrência de abortamentos de repetição e/ou perdas fetais, pré-eclâmpsia grave em gestação anterior e lúpus eritematoso sistêmico (LES) em gestantes. O estudo foi realizado no período de maio de 2007 a maio de 2013, envolvendo gestantes submetidas ao protocolo de atendimento para trombofilias na gestação no Ambulatório de Ginecologia e Obstetrícia do Núcleo Hospital Universitário da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (NHU/FAMED-UFMS). Rastreou-se a presença de marcadores séricos para trombofilias hereditárias (dosagem de proteínas C e S, antitrombina, homocisteína plasmática e pesquisa de mutação no Fator V Leiden) e trombofilias adquiridas (anticorpo anticardiolipina, anticoagulante lúpico e anti- β_2 -glicoproteína I). As gestantes foram alocadas de acordo com os critérios de exclusão e inclusão para cada grupo, sendo: Gestantes com histórico de abortamentos de repetição e/ou perdas fetais (Grupo AB); Gestantes com histórico de pré-eclâmpsia grave em gestação anterior (Grupo PE); Gestantes portadoras de lúpus eritematoso sistêmico (LES) (Grupo LES); Gestantes sem histórico de complicações obstétricas (Grupo CO). Foram incluídas 294 pacientes no estudo, distribuídas entre os grupos na seguinte proporção: Grupo AB com 50,3% (148/294); Grupo PE 28,6% (84/294), Grupo LES 10,2% (30/294) e Grupo CO 10,9% (32/294). A presença de marcadores para trombofilias adquiridas e/ou hereditárias foi encontrada em 65,5% (191/294) do total de pacientes estudadas. Quando separados por grupos, os marcadores foram detectados em 77,0% (114/148) das pacientes do Grupo AB, em 64,3% (54/84) das pacientes do Grupo PE, em 66,7% (20/30) das pacientes portadoras de LES e em 9,4% (3/32) das pacientes do grupo comparação. Verificou-se associação significativa entre o histórico de abortamentos recorrentes e/ou perdas fetais, ($p < 0,001$ RR= 1,81 IC95%=1,43 – 2,27), pré-eclâmpsia grave em gestação anterior ($p < 0,001$ RR= 1,86 IC95%=1,44 – 2,41), presença de LES ($p < 0,0001$ RR= 3,39 IC95%=1,94 – 5,52) e a presença de marcadores para trombofilias hereditárias e/ou adquiridas. Os dados obtidos neste trabalho sugerem investigação de rotina para marcadores de trombofilias hereditárias e anticorpos antifosfolípides em pacientes com histórico de abortamentos de repetição, perdas fetais e pré-eclâmpsia grave em gestações anteriores. A identificação destes marcadores, em gestantes, pode ser clinicamente útil para determinar quais pacientes possuem maiores riscos de complicações obstétricas.

Palavras-Chave: trombofilia; aborto habitual; morte fetal; pré-eclâmpsia; lúpus eritematoso sistêmico;

ABSTRACT

Oliveira VM. Presence of serum markers for inherited and acquired thrombophilias and their association in pregnant women with a history of obstetric complications and systemic lupus erythematosus. Campo Grande; 2014. [Tese – Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul].

Associations between thrombophilia and severe obstetric complications are presented in the literature. A result of such of these serious complications, interest in associations between thrombophilia and obstetric complications has increased considerably in recent years. Therefore, the present study aimed to investigate the association between the presence of markers for thrombophilia (inherited and acquired) and the occurrence of recurrent miscarriages and/or fetal loss, severe preeclampsia in a previous pregnancy and systemic lupus erythematosus (SLE) in pregnant women. The study was conducted from May 2007 to May 2013, involving pregnant women who care protocol for thrombophilia in pregnancy at the Clinic of Gynecology and Obstetrics, Núcleo Hospital Universitário, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (NHU/FAMED-UFMS). Traced to the presence of serum markers of hereditary thrombophilia (measure protein C and S, antithrombin, plasma homocysteine and research for mutation in factor V Leiden) and acquired thrombophilia (anticardiolipin antibodies, lupus anticoagulant and anti- β 2-glycoprotein I). The women were allocated according to the inclusion and exclusion criteria for each group are: pregnant women with a history of recurrent miscarriages and/or fetal loss (Group AB); pregnant women with a history of severe preeclampsia in a previous pregnancy (Group PE) ; pregnant women with systemic lupus erythematosus (SLE) (Group SLE); pregnant women with no history of obstetric complications (Group CO). Were included in the study 294 patients, distributed between the groups in the following proportion: Group AB 50.3% (148/294), Group PE 28.6% (84/294), Group SLE 10.2% (30/294) and Group CO 10.9% (32/ 294). The presence of markers for thrombophilia acquired and/or inherited was found in 65.5 % (191/294) of the patients studied. When separated by groups, the markers were detected in 77.0 % (114/148) of patients in Group AB in 64.3% (54/84) of patients in Group PE in 66.7% (20/30) of patients with SLE and in 9.4% (3/32) of patients in the comparison group. There was a significant association between history of recurrent miscarriages and/or fetal loss ($p < 0,001$ RR= 1,81 IC95%=1,43 – 2,27), severe pre-eclampsia in a previous pregnancy ($p < 0,001$ RR= 1,86 IC95%=1,44 – 2,41), presence of SLE ($p < 0,0001$ RR= 3,39 IC95%=1,94 – 5,52) and the presence of markers of hereditary thrombophilia and/or acquired. Data obtained in this study suggest routine investigation to markers of hereditary thrombophilia and antiphospholipid antibodies in patients with a history of recurrent miscarriages, fetal loss and severe pre-eclampsia in previous pregnancies. The identification of these markers in pregnant women may can be clinically useful for determining which patients have higher risk of obstetric complications.

Keyword: thrombophilia; abortion, habitual; fetal death ; preeclampsia; lupus erythematosus, systemic;

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 – Mecanismo patogênico das perdas fetais associados aos anticorpos antifosfolípides.	19
Figura 5.1 – Presença de marcadores para trombofilias entre as pacientes dos grupos de estudo.	36
Figura 5.2 – Distribuição de marcadores para trombofilias adquiridas, trombofilias hereditárias e ambas as trombofilias entre as pacientes dos grupos de estudo.	37
Figura 5.3 – Distribuição dos marcadores para trombofilias adquiridas entre as gestantes estudadas.	39
Figura 5.4 – Distribuição dos marcadores para trombofilias adquiridas entre as gestantes com histórico de abortamentos recorrentes e perdas fetais.	40
Figura 5.5 – Distribuição dos marcadores para trombofilias adquiridas entre as gestantes com pré-eclâmpsia grave em gestação anterior.	40
Figura 5.6 – Distribuição dos marcadores para trombofilias adquiridas entre as gestantes portadoras de lúpus eritematoso sistêmico.	41
Figura 5.7 – Distribuição dos marcadores para trombofilias hereditárias entre as gestantes estudadas.	42
Figura 5.8 – Distribuição dos marcadores para trombofilias hereditárias entre as gestantes com histórico de abortamentos recorrentes e perdas fetais.	43
Figura 5.9 – Distribuição dos marcadores para trombofilias hereditárias entre as gestantes com histórico de pré-eclâmpsia grave em gestação anterior	43
Figura 5.10 – Distribuição dos marcadores para trombofilias hereditárias entre as gestantes portadoras de lúpus eritematoso sistêmico.	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 5.1 - Distribuição numérica das gestantes segundo raça/cor, número de gestações, número de abortos espontâneos, número de perdas fetais e número de óbitos perinatais das pacientes segundo seus grupos de estudo.	34
Tabela 5.2 – Distribuição da quantidade de marcadores para trombofilias adquiridas e/ou hereditárias por paciente entre os grupos.	38
Tabela 5.4 – Associação entre a presença de anticorpos anticardiolipina e história pregressa de abortamentos e perdas fetais pré-eclâmpsia grave em gestação anterior e em pacientes portadoras de LES.	45
Tabela 5.5 – Associação entre a presença de marcadores para trombofilias hereditárias e história pregressa de abortamentos e perdas fetais pré-eclâmpsia grave em gestação anterior e em pacientes portadoras de LES.....	46

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

aCL – anticorpo anticardiolipina;
AL – anticoagulante lúpico;
Anti- β_2 GPI – anti- β_2 glicoproteína I;
AT – antitrombina;
DPP – descolamento prematuro de placenta;
FAMED – Faculdade de Medicina;
FV Leiden – fator V Leiden;
IgG – imunoglobulina do tipo G;
IgM – imunoglobulina do tipo M;
IMC – índice de massa corpórea;
LES – lúpus eritematoso sistêmico;
mmHg – milímetros de mercúrio;
MTHFR – metileno tetrahydrofolato redutase;
NHU – Núcleo Hospital Universitário;
OR – *odds ratio*
PAP – proteína placentária anticoagulante;
PC – proteína C;
PS – proteína S;
RCF – restrição de crescimento fetal;
RPCa – resistência à proteína C ativada;
RR – risco relativo;
SAAF – síndrome do anticorpo antifosfolípide;
SUS – Sistema Único de Saúde;
UFMS – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul;
TCLE – termo de consentimento livre e esclarecido;
TEV – tromboembolismo venoso;
TP – tempo de protrombina;
TTPa – tempo de tromboplastina parcial ativada;

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 Pré-eclâmpsia e trombofilias	16
2.2 Abortamento de repetição, perdas fetais e trombofilias	17
2.3 Lúpus eritematoso sistêmico (LES) e trombofilias	21
3 OBJETIVOS.....	22
3.1 Objetivo geral	22
3.2 Objetivos específicos.....	22
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	24
4.1 Método.....	24
4.2 Seleção da amostra	24
4.3 Coleta de dados.....	26
4.4 Critérios de inclusão e exclusão	26
4.4.1 Critérios de exclusão	26
4.4.2 Critérios de inclusão	27
4.4.2.1 Gestantes com histórico de abortamentos de repetição e/ou perdas fetais (GRUPO AB);	27
4.4.2.2 Gestantes com histórico de pré-eclâmpsia grave em gestação anterior (GRUPO PE);	27
4.4.2.3 Gestantes portadoras de lúpus eritematoso sistêmico (GRUPO LES);	28
4.4.2.4 Gestantes sem histórico de complicações obstétricas (GRUPO CO);.....	28
4.5 Variáveis de estudo.....	29
4.5.1 Apresentação das variáveis.....	29
4.5.2 Definição das variáveis e conceitos.....	29
4.6 Análise e processamento de dados	32
4.7 Aspectos éticos	32
5 RESULTADOS	33
6 DISCUSSÃO	47
7 CONCLUSÃO.....	58
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61

ANEXO A	81
APÊNDICE A	82
APÊNDICE B.....	84
APÊNDICE C	86
APÊNDICE D – Distribuição da associação de marcadores para trombofilias encontrados na mesma paciente entre as gestantes dos grupos de estudo.....	88
APÊNDICE E - ARTIGO 1.....	90
APÊNDICE F – ARTIGO 2	97
APÊNDICE G – ARTIGO 3	104

1 INTRODUÇÃO

Trombofilias são distúrbios hemostáticos com tendência à maior ocorrência de processos tromboembólicos, classificadas em hereditárias e adquiridas. Afeta aproximadamente 15% da população caucasiana predisposta a processos trombóticos (MACNAMEE et al., 2012; MARTINEZ-ZAMORA et al., 2012; PIERANGELI et al., 2011; FIGUEIRÓ-FILHO; OLIVEIRA, 2007). Dentre as trombofilias hereditárias, citam-se as deficiências de fatores anticoagulantes, incluindo antitrombina (AT), proteína C (PC) e proteína S (PS), anormalidades dos fatores pró-coagulantes, as mutações genéticas do Fator V (FV Leiden) e gene G20210A da protombina, além da mutação do gene C677T, variante termolábil da enzima metilenotetra-hidrofolato redutase (MTHFR), de acordo com vários autores (MCNAMEE et al., 2012; PIERANGELI et al., 2011; SEP et al., 2010; PABINGER, 2009; DUSSE et al., 2007). As trombofilias adquiridas ocorrem em consequência da presença de anticorpos antifosfolípides, principalmente os anticorpos anticardiolipina (aCL), o anticoagulante lúpico (AL) e o anticorpo anti- β 2-glicoproteína I (anti- β 2GPI), segundo vasta literatura (MCNAMEE et al., 2012; PIERANGELI et al., 2011; SEP et al., 2010; KUPFERMINC et al., 2000). A hiperhomocisteinemia e a resistência à proteína C ativada (RPCa) são trombofilias derivadas da combinação de fatores hereditários e adquiridos (PIERANGELI et al., 2010; KUPFERMINC et al., 2000).

Durante a gestação normal, ocorrem mudanças e adaptações no sistema de coagulação e fibrinólise, ocorrendo aumento acentuado na maioria dos fatores de coagulação (II, VII, VIII, IX, X e XII, além do fibrinogênio e fator von Willebrand), e simultânea redução nas concentrações de proteínas anticoagulantes e da fibrinólise (RAMBALDI et al., 2013; PIERANGELI et al., 2011; BENEDETTO et al., 2010; SPAANDERMAN et al., 2000). Essas adaptações e modificações fisiológicas são importantes para minimizar o risco de perdas

sanguíneas no momento do parto, entretanto eleva a frequência de fenômenos tromboembólicos, principalmente quando associadas a fatores genéticos (FIGUEIRÓ-FILHO; OLIVEIRA, 2007).

As deficiências de proteínas anticoagulantes são identificadas na gravidez quando os exames realizados durante o pré-natal demonstram níveis inferiores aos valores de referência, como a diminuição da PS, cujos valores são reduzidos para 40–60% a partir do primeiro trimestre, com redução ainda mais abrupta nos três meses pós-parto (RAMBALDI et al., 2013; PIERANGELI et al., 2011; FOGERTY; CONNORS, 2009).

A homocisteinemia é reconhecida como fator de risco independente para doenças arteriocoronarianas, doenças vasculares periféricas, trombose venosa profunda e perdas fetais (MICLE et al., 2012; NELEN et al., 2000a; RIDKER et al., 1997). Ela é causada predominantemente por deficiência dietética de alguns cofatores necessários para o metabolismo da homocisteína (ácido fólico, vitamina B6 ou vitamina B12) (BERGEN et al., 2012; MICLE et al., 2012; NELEN et al., 2000a; NELEN et al., 2000b), sendo associada à pré-eclâmpsia e risco elevado para doenças cardiovasculares (SILVER et al., 2010).

Em meta-análise, publicada em 2010 (DO PRADO et al., 2010) o *odds ratio* (OR) foi calculado para cada tipo de trombofilia, e os resultados revelam que, exceto homozigose para mutação do MTHFR, todas as trombofilias foram significativamente associadas ao aumento da ocorrência de tromboembolismo venoso (TEV) na gestação. Naquela revisão as trombofilias hereditárias foram elencadas como fator de risco para ocorrência de eventos adversos na gestação - aborto precoce e tardio, pré-eclâmpsia, descolamento prematuro da placenta (DPP) e RCF (SAID et al., 2012; BATINELLI; BAUER, 2011).

Associações entre trombofilias e diversas complicações obstétricas são descritas, entre elas, o tromboembolismo venoso durante a gravidez e fatores relacionados à disfunção placentária, a exemplo de pré-eclâmpsia, abortamentos de repetição e óbitos fetais (ABOU-

NASSAR et al., 2011; DODD et al., 2010; DULEY et al., 2007). Além dessas, podem ainda ocorrer restrição de crescimento fetal (RCF) e parto pré-termo (DULEY et al., 2007; WALKER; FERGUSON; ALLEN, 2003). Em virtude dessas graves complicações, o interesse na associação entre trombofilias e complicações obstétricas vem aumentando consideravelmente nos últimos anos (HOSSAIN et al., 2013; MONARI et al., 2012; KOSAR et al., 2011; PABINGER, 2009).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Pré-eclâmpsia e trombofilias

A pré-eclâmpsia é doença multifatorial caracterizada pela presença de hipertensão arterial e proteinúria, com desenvolvimento a partir da 20ª semana de gestação (DUSSE et al., 2007). Acomete 2-7% de toda população obstétrica sendo importante causa de morbidade e mortalidade materna e perinatal. Os fatores de risco associados com a pré-eclâmpsia incluem primiparidade, grande multiparidade, gemelaridade, história familiar ou pessoal de pré-eclâmpsia, alto índice de massa corpórea (IMC), tabagismo, hipertensão crônica, diabetes e trombofilias (MUJAWAR; PATIL; DAVER, 2011; PABINGER, 2009; FACCHINETTI et al., 2009; KHAN et al., 2006)

Os primeiros relatos sobre maior incidência de fatores de risco de trombose em mulheres com histórico de pré-eclâmpsia e/ou síndrome HELLP (hemólise, elevação das enzimas hepáticas e diminuição de plaquetas) foram publicados em 1996, e desde então a associação entre trombofilias com a pré-eclâmpsia é sugerida (PABINGER, 2009; DIZON-TOWNSON, 1997; BRENNER; LANIR; THALER, 1996).

Em estudo realizado com mais de 172 mulheres, (FACCHINETTI et al., 2009) verificou-se que as mulheres risco maior que 2,5 vezes de desenvolver novo episódio de pré-eclâmpsia do que aquelas cujas gestações anteriores foram normais. Em 2005, Mello et al., verificaram que a pré-eclâmpsia está associada a piores resultados maternos e perinatais em gestantes portadoras de trombofilias quando comparados àquele observados em gestantes não portadoras.

De acordo com revisão sistemática publicada em 2005, a presença de anticorpos antifosfolípidos e pré-eclâmpsia em gestação anterior é fator de risco independente para a

ocorrência de novo episódio de pré-eclâmpsia (DUCKITT; HARRINGTON, 2005). Resultados adversos obstétricos, incluindo pré-eclâmpsia grave, estão associados à presença de anticorpos antifosfolípidos, conhecida como a Síndrome do Anticorpo Antifosfolípide (SAAF), sendo esta a forma mais comum de trombofilia adquirida. Existem, entretanto, poucas informações a respeito de fatores de risco associados à recorrência de pré-eclâmpsia em gestantes portadoras de trombofilias hereditárias. Em estudo retrospectivo (VAN RIJN et al., 2006), verificou-se que a presença de trombofilias hereditárias não esteve associada à ocorrência de novo episódio de pré-eclâmpsia. Resultado diferente, no entanto, foi encontrado por Facchinetti et al., (2009) quando comparou as duas trombofilias mais comuns (mutação no fator V e fator II). Em estudo realizado entre gestantes brasileiras, não foi encontrado aumento no risco de pré-eclâmpsia quando comparado à presença de do Fator V Leiden, Fator II e mutação na enzima MTHFR (DUSSE et al., 2007).

A relação entre a pré-eclâmpsia e a presença de mutações que predispõem à trombofilias pode ser influenciada pela frequência destas na população estudada, fato ressaltado por Prasmusinto et al., (2004) evidenciando a importância da origem étnica, visto que observaram relação entre fator V Leiden e pré-eclâmpsia em gestantes croatas e germânicas, porém não se verificou a mesma relação em gestantes da Indonésia

2.2 Abortamento de repetição, perdas fetais e trombofilias

De acordo com a Sociedade Europeia de Reprodução Humana e Embriologia (JAUNIAUX et al., 2006), abortamentos de repetição é definido como três ou mais perdas gestacionais antes de 20 semanas de gestação, entretanto, outros centros consideram duas ou mais perdas gestacionais. (JASLOW; CARNEY; KUTTEH, 2010; AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE, 2008).

Existem divergências entre autores quanto aos fatores responsáveis pela ocorrência de abortos de repetição e perdas fetais, não sendo possível elucidar mais da metade dos casos. Entre as causas propostas encontram-se as anormalidades anatômicas, fatores endócrinos, infecções, fatores imunológicos (incluindo os fatores associados à SAAF) e fatores genéticos (incluindo os fatores trombóticos e trombofilias) (FORD; SCHUST, 2009; PABINGER, 2009; MATTAR; CAMANO; DAHER, 2003; BARINI et al., 2000). Abortamentos recorrentes acometem aproximadamente 12 a 15% das gestações clinicamente diagnosticadas e afetam 2% da população em idade reprodutiva. Estudos indicam que o risco de novo episódio de abortamento localiza-se em torno de 24 a 29,6% em mulheres com histórico de um abortamento anterior, 30 a 36,4% após três casos, e 40 a 50% após quatro episódios de abortamento (DE SANTIS et al, 2006; BRANCH; KHAMASHTA, 2003; MARTINELLI et al., 2002; GREAVES, 1999).

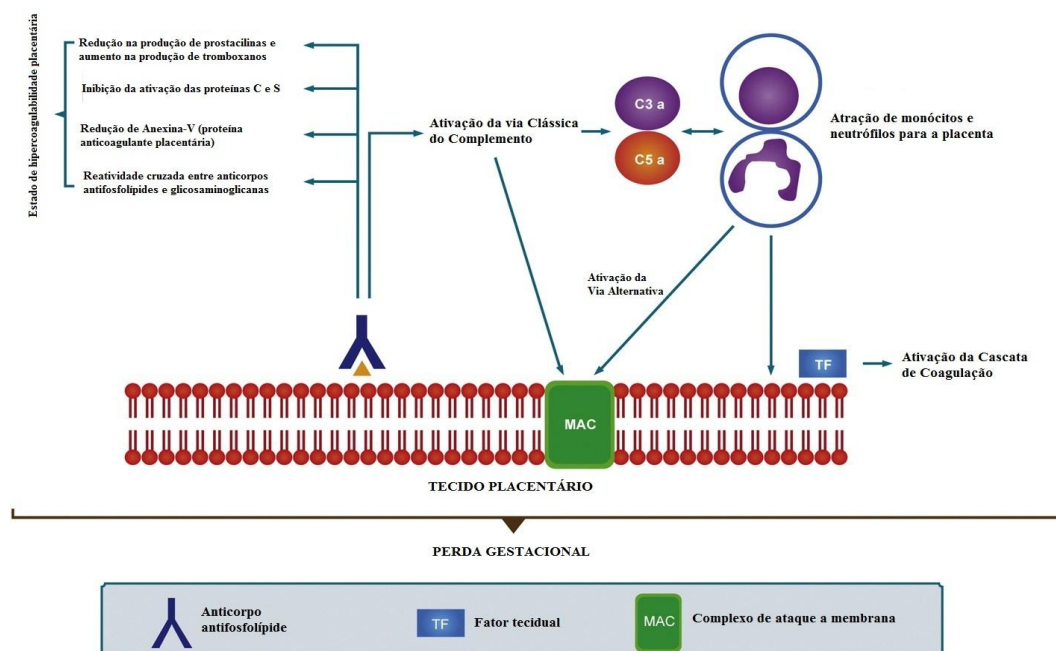
A associação entre abortamentos de repetição e a presença de anticorpos antifosfolípidos está relacionada à inibição da secreção de gonadotrofina coriônica, afetando o desenvolvimento embrionário (LOUZADA JR; VOLTARELLI; DONADI, 1998). Interfere, ainda, com a proteína placentária anticoagulante (PAP) – um anticoagulante natural, que se liga com alta afinidade aos fosfolípides aniônicos. O anticorpo antifosfolípide inibe competitivamente a PAP e deste modo, altos títulos de anticorpo anticardiolipina podem levar à trombose placentária e à perda fetal (SCHUST; HILL, 2005; LOUZADA JR; VOLTARELLI; DONADI, 1998).

Os mecanismos para a perda gestacional na SAAF são heterogêneos, complexos e não totalmente explicados. A positividade dos anticorpos antifosfolípidos está associada à RCF e sofrimento fetal, aceitando que ambos são responsáveis por nascimentos prematuros e mortes fetais. Essas complicações são causadas por insuficiência uteroplacentária, subsequente à infarto e trombose vascular das artérias espiraladas. Os alvos principais são as plaquetas,

células endoteliais, proteínas anticoagulantes e fibrinolíticas (GALARZA-MALDONADO et al., 2012).

A presença de anticorpos antifosfolípides induz a redução da produção de prostaciclina e aumento da produção de tromboxanos (aumentando a agregação placentária), inibem a ativação das proteínas C e S, pode levar a reatividade cruzada com glicosaminoglicanas e redução de Anexina-V (proteína anticoagulante placentária – PAP). Há, deste modo, a presença de estado de hipercoagulabilidade placentária. Os anticorpos antifosfolípides podem ativar a via clássica do complemento, ativando as frações C3 e C5. Estes, por sua vez, atraem monócitos e neutrófilos para a placenta. As células inflamatórias promovem a ativação da via alternativa do complemento. Ocorre a formação de complexos de ataque a membrana (MAC) resultando na expressão do fator tecidual (TF), induzindo a ativação da cascata de coagulação. Estes mecanismos levam a danos no tecido placentário, trombose e consequente perda gestacional (GALARZA-MALDONADO et al., 2012). O mecanismo patogênico das perdas fetais está descrita na figura 2.1

Figura 2.1 – Mecanismo patogênico das perdas fetais associados aos anticorpos antifosfolípides.



Adaptado de GALARZA-MALDONADO et al., 2012

Existe forte associação entre a presença de trombofilias derivadas de mutações no FV Leiden e gene da protrombina com a ocorrência de perdas fetais (MCNAMEE; DAWOOD; FARQUHARSON, 2012).

Em 2006, Robertson et al., em meta-análise, verificaram a associação entre trombofilia e perdas gestacionais precoce e tardia separadamente. Na avaliação da perda gestacional precoce, foi significativa a presença de mutações homozigótica e heterozigótica no FV Leiden, mutação heterozigótica do gene da protrombina, presença de anticoagulante lúpico, anticorpo anticardiolipina, RPCa e hiperhomocisteinemia. A presença de ambas as mutações no FV Leiden (homozigoto e heterozigoto) levou a maior risco de perdas no segundo trimestre de gestação, enquanto a mutação homozigótica do gene da protrombina aumentou o risco de perdas gestacionais durante o primeiro trimestre. Em relação a perdas gestacionais tardias foi verificado que houve aumento do risco para gestantes que possuíam mutação heterozigótica no FV Leiden e gene da protrombina, deficiência de proteína S e presença de anticorpos anticardiolipina.

Dentre as trombofilias, a presença das deficiências das proteínas C e S e antitrombina contribuiu com maior frequência em pacientes que apresentavam história de abortamentos recorrentes e perdas fetais, havendo associação significativa entre a presença de fatores trombogênicos e a má história obstétrica deste grupo (FIGUEIRÓ-FILHO; OLIVEIRA, 2007). A deficiência de proteína S em pacientes com abortamentos recorrentes, consistiu em descrições de casos isolados de gestantes com abortamento espontâneo e associação com a presença de trombofilias (MARTINELLI et al., 2002). Em 2009, Ford; Schust, apontaram que existe maior risco de aborto espontâneo quando há deficiência das proteínas C ou S

2.3 Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) e trombofilias

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença crônica, autoimune induzida por múltiplos fatores e caracteriza-se pela produção de auto-anticorpos, os quais levam a danos em múltiplos órgãos e alterações nos padrões imunológicos (WEI et al., 2011). O LES é uma doença grave, com significativa mortalidade e morbidade. Cerca de 90% dos pacientes acometidos são mulheres em idade fértil (DHAR; SOKOL, 2006). Portanto, a epidemiologia do lúpus apresenta uma interação com a gravidez (RUIZ-IRASTORZA; KHAMASHTA, 2011).

Alterações comuns durante a gestação, como a cefaleia, presença de edema, alterações no *clearence* de creatinina e uréia, presença de eritema facial e melasma, dispnéia e plaquetopenia leve, às vezes podem ser confundidas com a atividade lúpica, sendo importante compreender as mudanças que ocorrem durante a gestação e a fisiopatologia da doença (AMADATSU; ANDRADE; ZUGAIB, 2009; DHAR et al., 2006).

As trombofilias estão relacionadas principalmente à presença de anticorpos antifosfolípidos, presentes em um terço dos pacientes com LES (atualmente um dos critérios diagnóstico de acordo com o Colégio Americano de Reumatologia), e sua presença está associada a piores resultados gestacionais (GAYED; GORDON, 2007).

A literatura não apresenta trabalhos com dados em gestantes lúpicas portadoras de trombofilias hereditárias, apenas dados sobre a prevalência de trombofilias adquiridas (anticorpos antifosfolípidos) e seu impacto sobre a gestação neste grupo de pacientes. Há necessidade de estudos mais detalhados sobre este assunto, sendo necessária a realização de trabalhos cujo foco seja o impacto das trombofilias hereditárias em gestantes portadoras de LES.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

- a. Verificar a associação entre a presença de marcadores para trombofilias (hereditárias e adquiridas) e a ocorrência de abortamentos de repetição e/ou perdas fetais, pré-eclâmpsia grave em gestação anterior e LES em gestantes.

3.2 Objetivos Específicos

- b. Verificar a frequência de aCL IgM e IgG em gestantes com histórico de abortamentos de repetição e/ou perdas fetais, pré-eclâmpsia grave em gestação anterior, LES e sem histórico de complicações obstétricas;
- c. Verificar a frequência de AL em gestantes com histórico de abortamentos de repetição e/ou perdas fetais, pré-eclâmpsia grave em gestação anterior, LES, sem histórico de complicações obstétricas;
- d. Verificar a frequência de Anti- β 2-GPI em gestantes com histórico de abortamentos de repetição e/ou perdas fetais, pré-eclâmpsia grave em gestação anterior, LES e sem histórico de complicações obstétricas;
- e. Verificar a frequência de PC em gestantes com histórico de abortamentos de repetição e/ou perdas fetais, pré-eclâmpsia grave em gestação anterior, LES e sem histórico de complicações obstétricas;

- f. Verificar a frequência de PS em gestantes com histórico de abortamentos de repetição e/ou perdas fetais, pré-eclâmpsia grave em gestação anterior, LES e sem histórico de complicações obstétricas;
- g. Verificar a frequência de AT em gestantes com histórico de abortamentos de repetição e/ou perdas fetais, pré-eclâmpsia grave em gestação anterior, LES e sem histórico de complicações obstétricas;
- h. Verificar a frequência de hiperhomocisteinemia em gestantes com histórico de abortamentos de repetição e/ou perdas fetais, pré-eclâmpsia grave em gestação anterior, LES e sem histórico de complicações obstétricas;
- i. Verificar a frequência FV Leiden em gestantes com histórico de abortamentos de repetição e/ou perdas fetais, pré-eclâmpsia grave em gestação anterior, LES e sem histórico de complicações obstétricas;
- j. Verificar a frequência de combinações de marcadores para trombofilias em gestantes com histórico de abortamentos de repetição e/ou perdas fetais, pré-eclâmpsia grave em gestação anterior, LES e sem histórico de complicações obstétricas;

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Método

Realizou-se estudo observacional transversal prospectivo comparativo.

4.2 Seleção da Amostra

O estudo foi realizado no período de maio de 2007 a maio de 2013, envolvendo gestantes submetidas ao protocolo de atendimento para trombofilia na gestação do Ambulatório de Ginecologia e Obstetrícia – Serviço de Gestação de Alto Risco e gestantes atendidas no Ambulatório de Ginecologia e Obstetrícia – Serviço de Gestação de Baixo Risco, do Núcleo Hospital Universitário (NHU) da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (FAMED-UFMS).

Os grupos foram separados de acordo com os critérios de exclusão e inclusão para cada grupo, sendo então as gestantes incluídas nos seguintes grupos:

- Gestantes com histórico de abortamentos de repetição e/ou perdas fetais (Grupo AB);
- Gestantes com histórico de pré-eclâmpsia grave em gestação anterior (Grupo PE);
- Gestantes portadoras de lúpus eritematoso sistêmico (Grupo LES);
- Gestantes sem histórico de complicações obstétricas (Grupo CO);

O protocolo de atendimento para trombofilias na gestação é composto por exames para rastreamento de marcadores para trombofilias hereditárias e anticorpos antifosfolípides, durante o pré-natal, juntamente com os exames que compõem o protocolo de pré-natal da FAMED-UFMS, efetivado na primeira consulta da paciente. Os exames foram realizados em laboratório custeado pelo Sistema Único de Saúde (SUS), e não foram repetidos após o puerpério, exceto nas gestantes do Grupo CO, cujos exames foram realizados após o parto.

Consideraram-se os valores de referência do laboratório onde foram realizados os exames. Os exames solicitados para rastreamento de trombofilias hereditárias e presença de anticorpos antifosfolípides foram os seguintes:

Anticorpos antifosfolípidos:

- Anticorpo anticardiolipina IgM e IgG (aCL);
- Anticoagulante lúpico (AL);
- Anticorpo anti β 2-glicoproteína I (anti β 2GPI);

Trombofilias hereditárias;

- Proteína C (PC);
- Proteína S (PS);
- Antitrombina (AT);
- Dosagem de homocisteína plasmática;
- Pesquisa de mutação do fator V Leiden;

A pesquisa de anticorpos anticardiolipina IgM e IgG foi processada pelo método de enzimoimunoensaio (ELISA), seguindo o método internacional de padronização (MIYAKIS et al., 2006). Considerou-se os resultados reagentes para IgM e IgG valores superiores à 11 UMPL e 11 UGPL.

A presença do anticoagulante lúpico foi conduzida em três etapas, onde a primeira foi realizado o teste de triagem com as técnicas de TTPa (tempo de tromboplastina parcial ativada) ou dRWT (tempo do veneno de víbora Russel diluído). Quando se obteve valores superiores à 1,26 e/ou 1,14 para os testes de TTPa ou dRWT respectivamente realizou-se a 2ª etapa, onde se procedeu o teste de TTPa utilizando uma mistura de 50% de plasma do paciente e 50% de plasma normal. Não havendo correção, realizou-se a 3ª etapa, que consiste na realização do teste dRWT confirmatório, cujo resultado positivo para anticoagulante lúpico é superior a 1,21 (TRIPLETT et al., 1993).

A pesquisa de anticorpos anti- β 2-GPI, foi realizada por ELISA, considerou-se reagente valores superiores a 15 U/ml (MIYAKIS et al., 2006).

A pesquisa de deficiência de proteína C, por meio de detecção por substrato cromógeno sintético automatizado, foi realizada de acordo com o Comitê Britânico de Investigação em Hematologia (JACKSON et al., 2008; HAEMOSTASIS AND THROMBOSIS TASK FORCE, BRITISH COMMITTEE FOR STANDARDS IN HAEMATOLOGY, 2001). O resultado alterado é o encontro de proteína C sérica inferior a 65% do padrão internacional.

Realizou-se pesquisa de deficiência de proteína S, por meio de detecção por substrato cromógeno sintético automatizado, de acordo com o Comitê Britânico de Investigação em Hematologia (JACKSON et al., 2008; HAEMOSTASIS AND THROMBOSIS TASK

FORCE, BRITISH COMMITTEE FOR STANDARDS IN HAEMATOLOGY, 2001). O resultado alterado é o encontro de proteína S sérica inferior a 30% do padrão internacional.

A pesquisa de deficiência de antitrombina, por meio da detecção por substrato cromógeno sintético automatizado, esteve de acordo com o Comitê Britânico de Investigação em Hematologia. (JACKSON et al., 2008; HAEMOSTASIS AND THROMBOSIS TASK FORCE, BRITISH COMMITTEE FOR STANDARDS IN HAEMATOLOGY, 2001). O resultado alterado é o encontro de antitrombina sérica inferior a 60% do padrão internacional.

Para a dosagem de homocisteína plasmática utilizou-se a técnica de quimioluminescência - imunoensaio competitivo (STAUFFENBERG et al., 2004), cujo valor de referência é de 4 a 12 μ mol/l, sendo considerada a presença de hiper-homocisteinemia resultados superiores à 12 μ mol/l.

Realizou-se pesquisa de fator V de Leiden por meio da detecção da mutação Q506 do gene do Fator V, utilizando a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), segundo a enzima de restrição MnlI, de acordo com o Comitê Britânico de Investigação em Hematologia (JACKSON et al., 2008; HAEMOSTASIS AND THROMBOSIS TASK FORCE, BRITISH COMMITTEE FOR STANDARDS IN HAEMATOLOGY, 2001). O resultado alterado é a presença do fator V de Leiden (heterozigoto ou homozigoto).

4.3 Coleta de dados

O protocolo de estudo (Apêndice A) foi preenchido de forma individual para cada paciente, complementado posteriormente com os dados relativos aos exames laboratoriais. As fichas das pacientes foram identificadas pelas iniciais destas e pelo número de prontuário do NHU/FAMED-UFMS.

4.4 Critérios de inclusão e exclusão

4.4.1 Critérios de exclusão

- Idade inferior a 18 anos;
- Ser de origem indígena;
- Perda de seguimento;
- Extravio de dados do prontuário;
- Aplicação irregular do protocolo assistencial;
- Não assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE);

4.4.2 Crêterios de inclusão

4.4.2.1 Gestantes com histórico de abortamentos de repeti o e/ou perdas fetais (Grupo AB);

- Ter sido submetida ao protocolo de atendimento para trombofilia na gesta o;
- Ter realizado o pré-natal no Serviço de Ginecologia e Obstetrícia – Serviço de Gesta o de Alto Risco do NHU;
- Possuir histórico de abortamentos recorrentes e/ou perdas fetais;
- Ter assinado o TCLE;

4.4.2.2 Gestantes com histórico de pr -eclâmpsia grave em gesta o anterior (Grupo PE);

- Ter sido submetida ao protocolo de atendimento para trombofilia na gesta o;

- Ter realizado o pré-natal no Serviço de Ginecologia e Obstetrícia – Serviço de Gestação de Alto Risco do NHU;
- Possuir histórico de pré-eclâmpsia grave, eclâmpsia e/ou Síndrome HELLP em gestação anterior;
- Ter assinado o TCLE;

4.4.2.3 Gestantes portadoras de lúpus eritematoso sistêmico (Grupo LES);

- Ter sido submetida ao protocolo de atendimento para trombofilia na gestação;
- Ter realizado o pré-natal no Serviço de Ginecologia e Obstetrícia – Serviço de Gestação de Alto Risco do NHU;
- Possuir diagnóstico de LES, anterior a gestação;
- Ter assinado o TCLE;

4.4.2.4 Gestantes sem histórico de complicações obstétricas (Grupo CO);

- Ter realizado o pré-natal no Serviço de Ginecologia e Obstetrícia – Serviço de Gestação de Baixo Risco do NHU;
- Serem hígidas, sem nenhuma doença diagnosticada;
- Ser primíparas, cujo parto foi realizado a termo, com idade gestacional superior a 37 semanas;

- Ser múltípara, nas gestações anteriores e atual não possuir nenhum antecedente de má história obstétrica, cujos partos foram realizados a termo, com idade gestacional superior a 37 semanas;
- Ter realizado os exames para rastreamento de trombofilias hereditárias e presença de anticorpos antifosfolípidos, com resultados negativos;
- Ter assinado o TCLE;

4.5 Variáveis de estudo

4.5.1 Apresentação das variáveis

- Variável dependente: ocorrência de abortos de repetição e/ou perdas fetais, presença de pré-eclâmpsia/eclâmpsia ou Síndrome HELLP em gestação anterior e presença de LES;
- Variáveis independentes: presença de aCL, presença de AL e presença de anti β 2-GPI, deficiência de PC, deficiência de PS, deficiência de AT, hiperhomocisteinemia, fator V Leiden;
- Variáveis de controle: idade, raça/cor, número de gestações, número de abortos espontâneos, número de perdas fetais e número de óbitos perinatais;

4.5.2 Definição das variáveis e conceitos

- aCL: imunoglobulina que reage contra cardiolipina, um fosfolípide carregado negativamente. Sua presença será definida como identificação do anticorpo IgM ou IgG. Categorias: positivo ou negativo;

- AL: imunoglobulina que interfere com um ou mais testes de coagulação fosfolípide dependentes, como o tempo de tromboplastina parcial ativado (TTPa) e o tempo de protrombina (TP). Categorias: reagente ou não reagente;
- Anti- β_2 -GPI: imunoglobulina que reage contra a β_2 -glicoproteína I, um fosfolípide aniônico. Categorias: positivo ou negativo;
- PC: glicoproteína sintetizada no fígado, dependente de vitamina K, sendo considerada um anticoagulante natural. Categorias: normal ou deficiente;
- PS: glicoproteína plasmática dependente de vitamina K e sintetizada no fígado, células endoteliais, megacariócitos e células de Leydig, considerada um anticoagulante natural e cofator da PC. Categorias: normal ou deficiente;
- AT: glicoproteína plasmática com função anticoagulante. Categorias: normal ou deficiente;
- Hiperhomocisteïnemia: presença de dosagens elevadas no plasma do aminoácido essencial homocisteína. Categorias: presente ou ausente;
- FV Leiden: mutação no gene G1691A do fator V, base molecular para o fenótipo da resistência a proteína C ativada. Categorias: homozigoto normal (wt/wt), heterozigoto (wr/wt), homozigoto afetado (wr/wr);
- Abortamentos recorrentes: ocorrência de dois ou mais abortamentos clinicamente reconhecidos antes da 20ª semana de gestação. Porém, a investigação clínica deve ser iniciada após dois abortamentos espontâneos consecutivos, principalmente, quanto já havia sido identificado batimentos cardíacos fetais antes de qualquer abortamento. Categorias: presente ou ausente;
- Perdas fetais: toda perda superior a 20 semanas de gestação ou fetos com peso superior a 500g. Categorias: presente ou ausente.

- Pré-eclâmpisa grave: presença de duas ou mais aferições de pressão arterial superiores a 160X100mmHg, registradas nos prontuários médicos ou nos cartões de pré-natal das mulheres e a confirmação com proteinúria $\geq 1\text{g/L}$. Categorias: ausente ou presente;

- Síndrome HELLP: presença de hemólise, elevação de enzimas hepática e diminuição de plaquetas.

- LES: doença crônica, autoimune induzida por múltiplos fatores e caracterizada pela produção de auto-anticorpos, cujo diagnóstico definitivo é realizado quando ao menos quatro dos 11 critérios definidos pelo Colégio Americano de Reumatologia para o LES estão presentes.

- Raça/cor: definida pela própria paciente no momento da coleta de dados. Categorias: branca ou não branca;

- Idade: em anos completos;

- Número de gestações: número de gestações referidas pela paciente até a data de admissão no estudo, independente da forma de término;

- Número de abortos espontâneos: número de vezes em que ocorreu a eliminação via vaginal de feto com peso inferior a 500 gramas e/ou idade gestacional inferior a 20 semanas.

- Número de perdas fetais: número de filhos nascidos sem sinais de vitalidade com idade gestacional superior a 20 semanas;

- Número de óbitos perinatais: número de filhos nascidos vivos que foram a óbitos até o sétimo dia de vida.

4.6 Análise e processamento de dados

As informações coletadas foram inseridas em um banco de dados criado no software Microsoft Office Excel versão 2003.

A associação entre o resultado para os marcadores de trombofilias e os grupos de estudo (GRUPO AB, GRUPO PE e GRUPO LES) e grupo de controle (GRUPO CO) foi medida pelo risco relativo (RR). Teste de qui-quadrado com correção de Yates e exato de Fisher foram utilizados para testar a associação entre a presença de marcadores para trombofilias e o antecedente de abortamento recorrente e perdas fetais, pré-eclâmpsia grave em gestação anterior e ocorrência de LES em gestantes. Em toda a análise estatística, consideraram-se significantes os resultados onde os valores de p foram inferiores a 0,05.

4.7 Aspectos éticos

O presente estudo e seu TCLE foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul sob o número de protocolo 884, aprovado na data de 17 de maio de 2007 (Anexo A). Todas as gestantes foram convidadas e informadas sobre os objetivos e metodologias do estudo, e admitidas após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) - Apêndice B.

5 RESULTADOS

Durante o período de estudo foram incluídas 294 pacientes, sendo distribuídas entre os grupos na seguinte proporção: Grupo AB com 50,3% (148/294); Grupo PE 28,6% (84/294), Grupo LES 10,2% (30/294) e Grupo CO 10,9% (32/294).

A média de idade das gestantes estudadas foi de $30,1 \pm 5,7$ anos (18 a 46 anos). A distribuição da média de idade das gestantes entre os grupos foi: para o grupo AB $30,7 \pm 5,7$ anos (18 a 46 anos), para o grupo PE $29,8 \pm 6,0$ anos (18 a 45 anos), para as pacientes pertencentes ao grupo LES $28,1 \pm 5,7$ anos (18 a 39 anos) e para as gestantes alocadas no Grupo CO $29,5 \pm 4,0$ anos (22 a 39 anos). Não houve diferença significativa entre as idades das pacientes.

A distribuição por raça/cor, número de gestações, número de abortos espontâneo, número de perdas fetais e número de óbitos perinatais está apresentada na Tabela 5.1.

A maioria das gestantes estudadas era de raça/cor branca, totalizando 67,3% (198/294). Quanto à distribuição da raça/cor entre os grupos observou-se que entre as pacientes do grupo AB 74,3% (110/148) eram brancas, o grupo PE totalizou 60,7% (51/84) de pacientes brancas, as gestantes não brancas alocadas no grupo LES totalizaram 53,3% (16/30), e no grupo CO 71,9% (23/32) eram de raça branca. Não houve diferença na distribuição da raça/cor dos grupos estudados (Tabela 5.1).

O número médio de gestações das pacientes participantes da pesquisa foi de $3,0 \pm 1,4$ gestações (1 a 8 gestações). O número médio de gestações das pacientes entre os grupos distribuiu-se da seguinte maneira: grupo AB $3,6 \pm 1,3$ gestações (2 a 8 gestações), grupo PE $3,0 \pm 1,2$ gestações (2 a 7 gestações), grupo LES $1,8 \pm 1,0$ gestações (1 a 4 gestações) e grupo CO $1,5 \pm 0,7$ gestações (1 a 3 gestações).

Em relação ao número de gestações 60,5% (178/294) das gestantes possuíam três ou mais gestações. Das pacientes do grupo AB, 39,9% (59/148) tinham três gestações, e 43,9% (65/148) das gestantes possuíam quatro ou mais gestações. Entre as pacientes do grupo PE 47,6% (40/84) eram secundigesta. O grupo LES apresentou 50,0% (15/30) das pacientes primigestas, enquanto no grupo CO o valor foi de 65,6% (21/32).

Das gestantes estudadas 47,6% (140/294) apresentavam aborto espontâneo, 24,8% (73/294) possuíam histórico de perda fetal e 9,5% (28/294) apresentavam óbitos perinatais. Aborto de repetição esteve presente em 50,6% (75/148) das pacientes pertencentes ao grupo AB, em relação a perdas fetais, 34,4% (51/148) das gestantes deste grupo possuíam perdas

fetais e os óbitos perinatais estiveram presentes em 11,5% (17/148). No grupo PE, 28,6% (24/84) das gestantes apresentaram aborto espontâneo, sendo que 19/24 (79,2%) tiveram apenas um episódio de abortamento, perdas fetais foram observadas em 23,8% (20/84) das pacientes e o óbito perinatal em 11,9% (10/84). Os casos de abortamento espontâneo foram de 20,0% (6/30) nas gestantes alocadas no grupo LES, os casos de perdas fetais e óbitos perinatais totalizaram 6,7% (2/30) e 3,3% (1/30) respectivamente.

Tabela 5.1 - Distribuição numérica das gestantes segundo raça/cor, número de gestações, número de abortos espontâneos, número de perdas fetais e número de óbitos perinatais das pacientes segundo seus grupos de estudo.

	Grupo AB		Grupo PE		Grupo LES		Grupo CO		Total	
	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n
<i>Raça/cor</i>										
Branca	74,3	110	60,7	51	46,7	14	71,9	23	67,3	198
Não branca	25,7	38	39,3	33	53,3	16	28,1	9+	32,7	96
<i>Gestações</i>										
1	0,0	0	0,0	0	50,0	15	65,5	21	12,2	36
2	16,2	24	47,6	40	30,0	9	21,9	7	27,2	80
3	39,9	59	26,2	22	10,0	3	12,5	4	29,9	88
4 ou mais	43,9	65	26,2	22	10,0	3	0,0	0	30,6	90
<i>Abortos</i>										
Nenhum	26,4	39	71,4	60	80,0	24	100,0	32	52,7	155
1	23,0	34	22,6	19	10,0	3	0,0	0	19,1	56
2	31,0	46	2,4	2	6,7	2	0,0	0	16,0	50
3 ou mais	19,6	29	3,6	3	3,3	1	0,0	0	11,2	33
<i>Perdas fetais</i>										
Nenhum	65,5	97	76,2	64	93,3	28	100,0	32	75,1	221

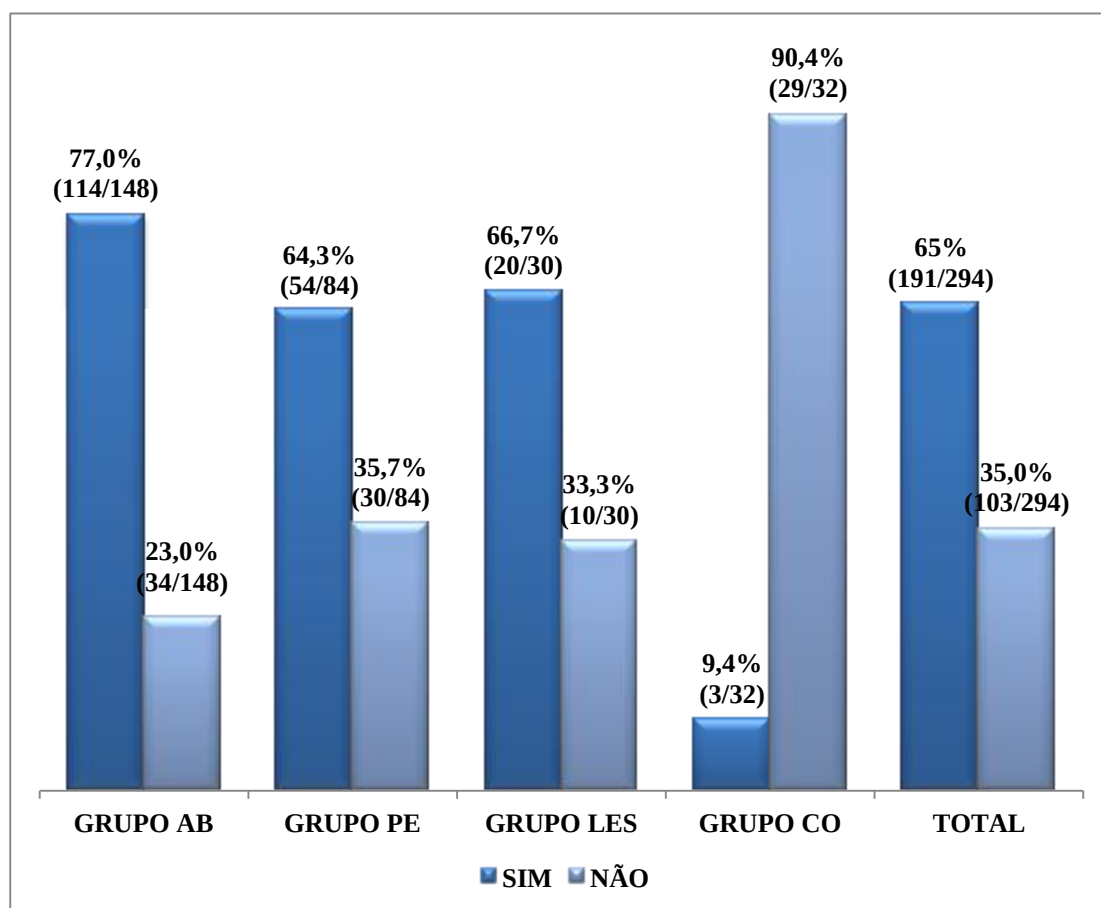
Continua Tabela 5.1 - Distribuição numérica das gestantes segundo raça/cor, número de gestações, número de abortos espontâneos, número de perdas fetais e número de óbitos perinatais das pacientes segundo seus grupos de estudo.

1	29,0	43	22,6	19	6,7	2	0,0	0	21,8	64
2	4,1	6	1,2	1	0,0	0	0,0	0	2,4	7
3 ou mais	1,4	2	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,7	2
<i>Óbitos</i>										
<i>perinatais</i>										
Nenhum	88,5	131	88,1	74	96,7	29	100,0	32	90,5	266
1	9,5	14	11,9	10	3,3	1	0,0	0	8,5	25
2	2,0	3	0,0	0	0,0	0	0,0	0	1,0	3
3 ou mais	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0
Total	100,0	148	100,0	84	100,0	30	100,0	32	100,0	294

Legenda: Grupo AB – Grupo de pacientes com histórico de abortamentos de repetição e/ou perdas fetais; Grupo PE – Grupo de pacientes com histórico de pré-eclâmsia/eclampsia ou síndrome HELLP em gestação anterior; Grupo LES- Grupo de pacientes portadoras de lúpus eritematoso sistêmico; Grupo CO – Grupo de pacientes sem intercorrências em gestações anteriores e/ou na gestação atual.

A presença de marcadores para trombofilias adquiridas e/ou hereditárias foi encontrada em 65,0% (191/294) do total de pacientes estudadas. Quando separadas por grupos, os marcadores para trombofilias adquiridas e/ou hereditárias foram detectados em 77,0% (114/148) das pacientes do Grupo AB, em 64,3% (54/84) das pacientes do Grupo PE, em 66,7% (20/30) das pacientes portadoras de LES e em 9,4% (3/32) das pacientes do grupo comparação, conforme apresentado na Figura 5.1. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos, exceto no grupo de gestantes do Grupo CO.

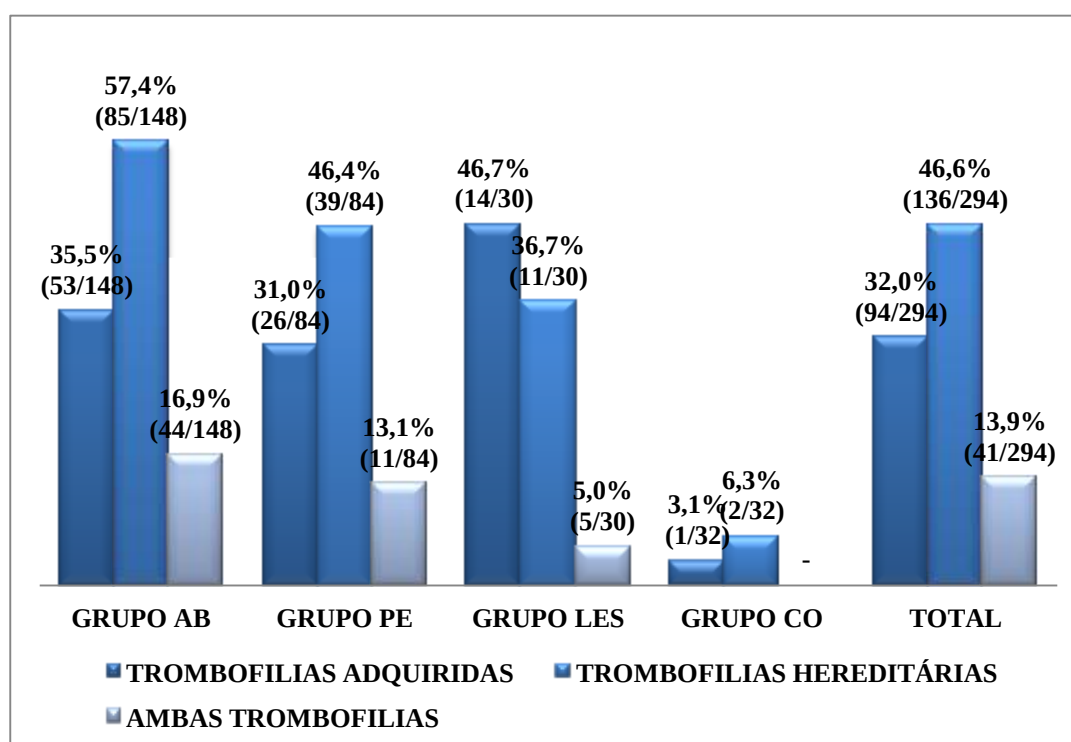
Figura 5.1 – Presença de marcadores para trombofilias entre as pacientes dos grupos de estudo.



Legenda: Grupo AB – Grupo de pacientes com histórico de abortamentos de repetição e/ou perdas fetais; Grupo PE – Grupo de pacientes com histórico de pré-eclâmsia/eclâmpsia ou síndrome HELLP em gestação anterior; Grupo LES- Grupo de pacientes portadoras de lúpus eritematoso sistêmico; Grupo CO – Grupo de pacientes sem intercorrências em gestações anteriores e/ou na gestação atual.

De modo geral, os marcadores para trombofilia hereditária foram os mais frequentes, presentes em 46,6% (136/294) das pacientes estudadas. Porém, entre os grupos, os marcadores para trombofilias hereditárias possuiu maior frequência apenas nas pacientes alocadas nos grupos AB e PE com 57,4% (85/148) e 46,4% (39/84), respectivamente. Marcadores para trombofilias adquiridas foram mais frequentes no grupo cujas pacientes são portadoras de LES, com 46,7% (14/30) dos casos. A presença de ambos os marcadores para trombofilias (adquirida e hereditária) na mesma paciente foi encontrada em 13,9% (41/294) de todas as pacientes estudadas, e a distribuição entre os grupos foi: Grupo AB 16,9% (25/148), Grupo PE 13,1% (11/84) e Grupo LES 5,0% (5/30). A distribuição por grupo dos marcadores para trombofilias adquiridas e hereditárias está descrita na Figura 5.2.

Figura 5.2 – Distribuição de marcadores para trombofilias adquiridas, trombofilias hereditárias e ambas as trombofilias entre as pacientes dos grupos de estudo.



Legenda: Grupo AB – Grupo de pacientes com histórico de abortamentos de repetição e/ou perdas fetais; Grupo PE – Grupo de pacientes com histórico de pré-eclâmsia/eclampsia ou síndrome HELLP em gestação anterior; Grupo LES- Grupo de pacientes portadoras de lúpus eritematoso sistêmico; Grupo CO – Grupo de pacientes sem intercorrências em gestações anteriores e/ou na gestação atual.

Observou-se que 24,1% (71/294) do total de pacientes pesquisadas possuíam dois ou mais marcadores para trombofilias. Entre os grupos a distribuição foi da seguinte maneira: no grupo AB 30,4% (45/148), no grupo PE 20,2% (17/84) e no grupo LES 30,0% (9/30). Não se observou pacientes com a presença de dois ou mais marcadores para trombofilias no grupo CO.

A quantidade de marcadores para trombofilias identificado por paciente entre os grupos está apresentada na Tabela 5.2.

Tabela 5.2 – Distribuição da quantidade de marcadores para trombofilias adquiridas e/ou hereditárias por paciente entre os grupos.

Número de marcadores para trombofilia por paciente.	Grupo AB		Grupo PE		Grupo LES		Grupo CO		Total	
	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n
Nenhum	23,0	34	35,7	30	33,3	10	90,6	29	35,0	103
1	46,6	69	44,0	37	36,7	11	9,4	3	40,8	120
2	22,3	33	15,5	13	26,7	8	0,0	0	18,4	54
3	6,8	10	4,8	4	3,3	1	0,0	0	5,1	15
4 ou mais	1,4	2	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,7	2
Total	100,0	184	100,0	84	100,0	30	100,0	32	100,0	294

Legenda: Grupo AB – Grupo de pacientes com histórico de abortamentos de repetição e/ou perdas fetais; Grupo PE – Grupo de pacientes com histórico de pré-eclâmsia/eclâmsia ou síndrome HELLP em gestação anterior; Grupo LES- Grupo de pacientes portadoras de lúpus eritematoso sistêmico; Grupo CO – Grupo de pacientes sem intercorrências em gestações anteriores e/ou na gestação atual.

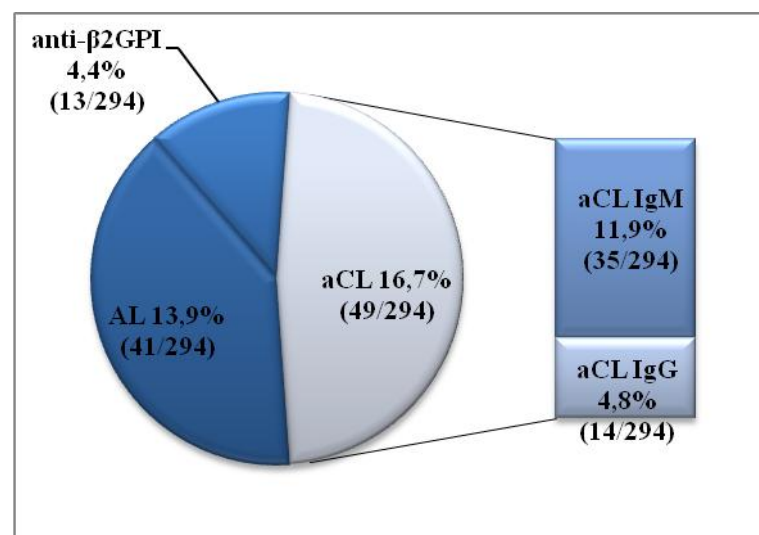
Entre os marcadores para trombofilias adquiridas o anticorpo anticardiolipina foi identificado em 16,7% (49/294) das pacientes participantes da pesquisa, onde 11,9% (35/294) possuíam anticorpo do tipo IgM e 4,8% (14/294) do tipo IgG (Figura 5.3). A distribuição destes anticorpos entre os grupos foi a seguinte: 21,6% (32/184) para o grupo AB, com 16,2% (24/184) para anticorpos do tipo IgM e 5,4% (8/184) para anticorpos do tipo IgG (Figura 5.4); grupo PE com 13,1% (11/84), sendo 9,5% (8/84) anticorpos do tipo IgM e 3,6% (3/84) anticorpos do tipo IgG (Figura 5.5); 16,7% (5/30) para o grupo LES, onde 6,7% (2/30) eram

do tipo IgM e 10,0% (3/30) eram do tipo IgG (Figura 5.6); e no grupo CO 3,1% (1/32) possuía anticorpos do tipo IgM.

O anticoagulante lúpico foi o marcador para trombofilia adquirida mais frequente no total de pacientes estudadas, presente em 13,9% (41/294) dos casos (Figura 5.3). Sua distribuição entre os grupos foi de: 12,8% (19/148) em pacientes do grupo AB (Figura 5.4), 19,0% (16/84) em pacientes pertencente ao grupo PE (Figura 5.5), e 20,0% (6/30) nas pacientes portadoras de LES (Figura 5.6). Não foi encontrada presença de anticoagulante lúpico em pacientes do grupo CO.

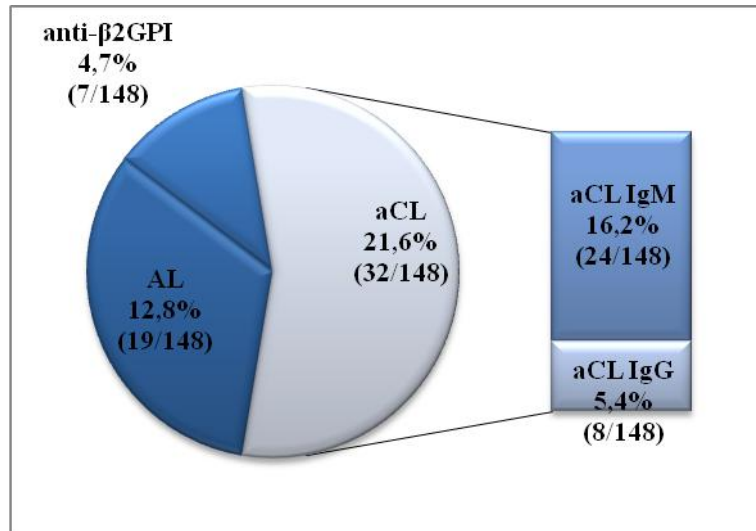
A presença de anticorpos anti- β_2 GPI foi identificada em 4,7% (7/148) das gestantes portadoras de trombofilias pertencentes ao grupo AB (Figura 5.4), em 2,4% (2/84) das pacientes alocadas no grupo PE (Figura 5.5) e em 13,3% (4/30) nas gestantes portadoras de LES (Figura 5.6). Não foi observada a presença deste marcador em gestantes do grupo de comparação. O anticorpo anti- β_2 GPI, esteve presente em 4,4% (13/294) do total de gestantes estudadas (Figura 5.3).

Figura 5.3 – Distribuição dos marcadores para trombofilias adquiridas entre as gestantes estudadas.



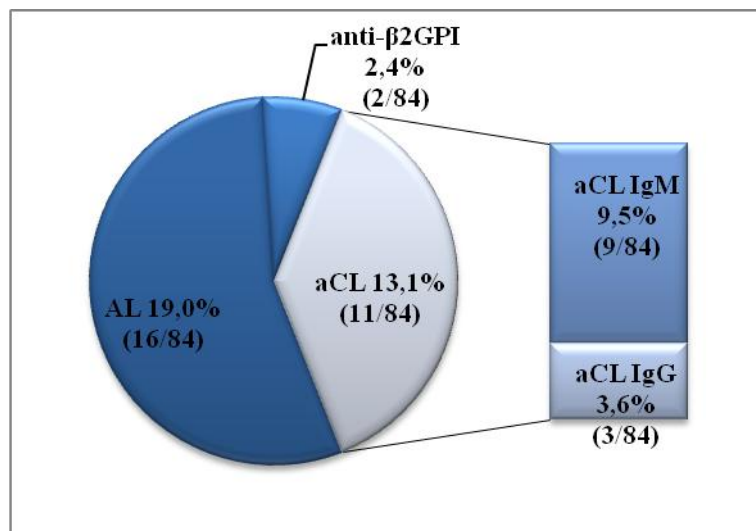
Legenda: aCL- anticorpo antifosfolípide; AL – anticoagulante lúpico; anti- β_2 GPI – anti β_2 glicoproteína I;

Figura 5.4 – Distribuição dos marcadores para trombofilias adquiridas entre as gestantes com histórico de abortamentos recorrentes e perdas fetais.



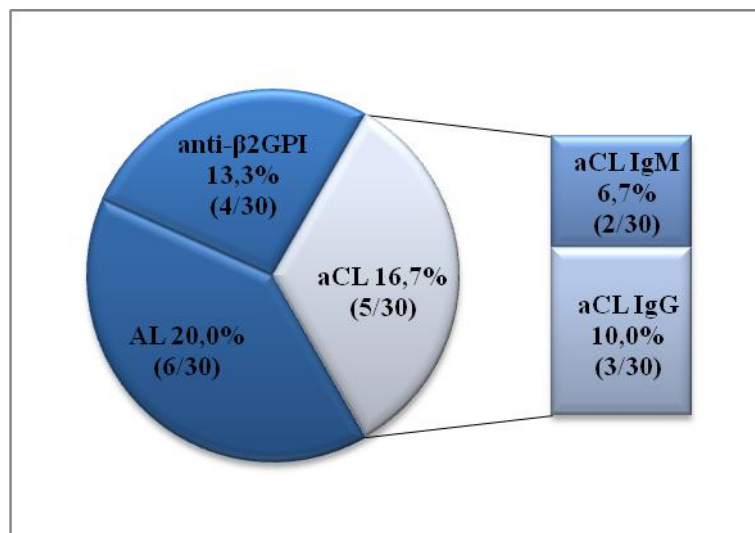
Legenda: aCL- anticorpo antifosfolípide; AL – anticoagulante lúpico;
anti-β2GPI – anti β2 glicoproteína I;

Figura 5.5 – Distribuição dos marcadores para trombofilias adquiridas entre as gestantes com pré-eclâmpsia grave em gestação anterior.



Legenda: aCL- anticorpo antifosfolípide; AL – anticoagulante lúpico;
anti-β2GPI – anti β2 glicoproteína I;

Figura 5.6 – Distribuição dos marcadores para trombofilias adquiridas entre as gestantes portadoras de lúpus eritematoso sistêmico.



Legenda: aCL- anticorpo antifosfolípide; AL – anticoagulante lúpico; anti-β2GPI – anti β2 glicoproteína I;

Em relação aos marcadores para trombofilias hereditárias, a presença de deficiência de PC durante a gestação foi identificada em 3,0% (09/294) do total de pacientes com marcadores para trombofilias (Figura 5.7). Esta deficiência esteve distribuída entre os grupos da seguinte forma: 4,0% (6/148) das gestantes com histórico de abortamentos de repetição e/ou perdas fetais (Figura 5.8); 3,6% (3/84) das gestantes com histórico de pré-eclâmpsia grave/eclampsia e/ou síndrome HELLP na gestação anterior (Figura 5.9). Não foi observada a presença de deficiência de PC em gestantes portadoras de LES e nem naquelas alocadas no grupo comparação

A presença de deficiência de PS durante a gestação foi o marcador para trombofilia hereditária com maior frequência, presente em 24,8% (73/294) do total de pacientes (Figura 5.7). A distribuição conforme o grupo de estudo foi a seguinte: para o grupo AB 29,7% (44/148) – Figura 5.8; para o grupo PE 26,2% (22/84) – Figura 5.9; para o grupo LES 20,0% (6/30)- Figura 5.10 e para o grupo CO 3,1% (1/32).

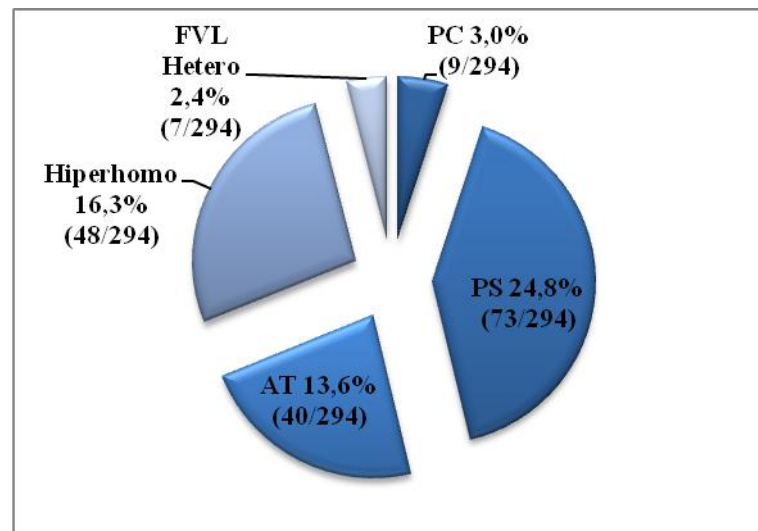
As pacientes com histórico de abortamentos recorrentes e/ou perdas fetais apresentaram frequência de 16,2% (24/148) para presença de deficiência de AT durante a gestação (Figura 5.8). O grupo PE apresentou frequência de 10,7% (9/84) para este marcador (Figura 5.9), enquanto no grupo LES a frequência foi de 20,0% (6/30) – Figura 5.10. As

pacientes do grupo comparação apresentaram 3,1% (1/32) de frequência, e a frequência total entre as pacientes de todos os grupos foi de 13,6% (40/294) - Figuras 5.7.

A hiperhomocisteinemia durante a gestação foi observada em 16,3% (48/294) do total de pacientes estudadas (Figura 5.7) e a distribuição de sua frequência entre os grupos foi: 22,3% (33/148) no grupo AB (Figura 5.8); 14,3% (12/84) no grupo PE (Figura 5.9) e 10,0% (3/30) no grupo LES (Figura 5.10). Não houve presença de hiperhomocisteinemia em gestantes do grupo CO.

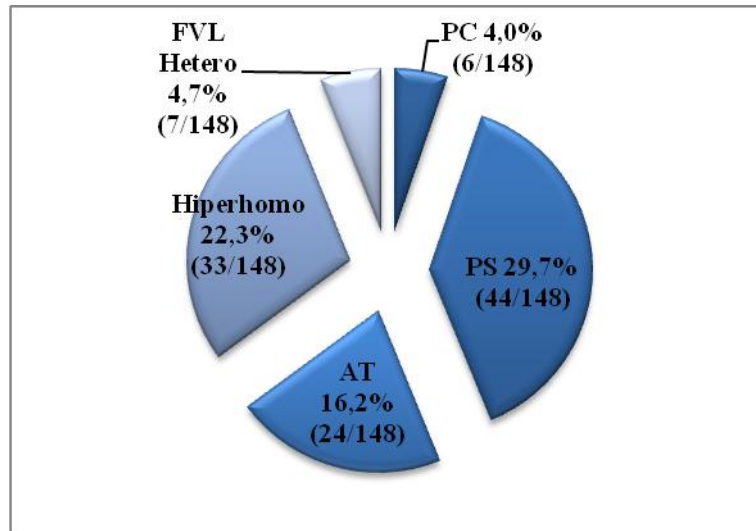
A mutação do gene do FV Leiden foi observada apenas em pacientes com histórico de abortamento recorrentes e/ou perdas fetais, com frequência de 4,7% (7/148), onde todos os casos a mutação era do tipo heterozigoto (Figuras 5.8).

Figura 5.7 – Distribuição dos marcadores para trombofilias hereditárias entre as gestantes estudadas.



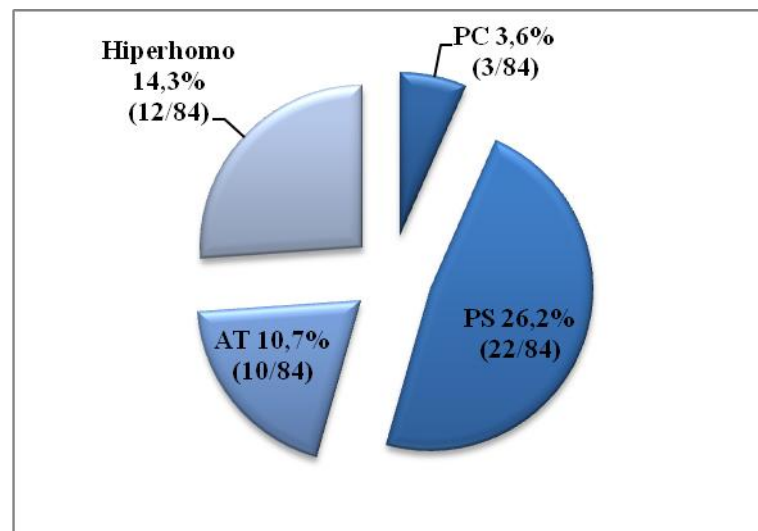
Legenda: PC – deficiência de proteína C; PS – deficiência de proteína S; AT – deficiência de AT; Hiperhomo – hiperhomocisteinemia; FV Leiden Hetero – fator V Leiden heterozigoto;

Figura 5.8 – Distribuição dos marcadores para trombofilias hereditárias entre as gestantes com histórico de abortamentos recorrentes e perdas fetais.



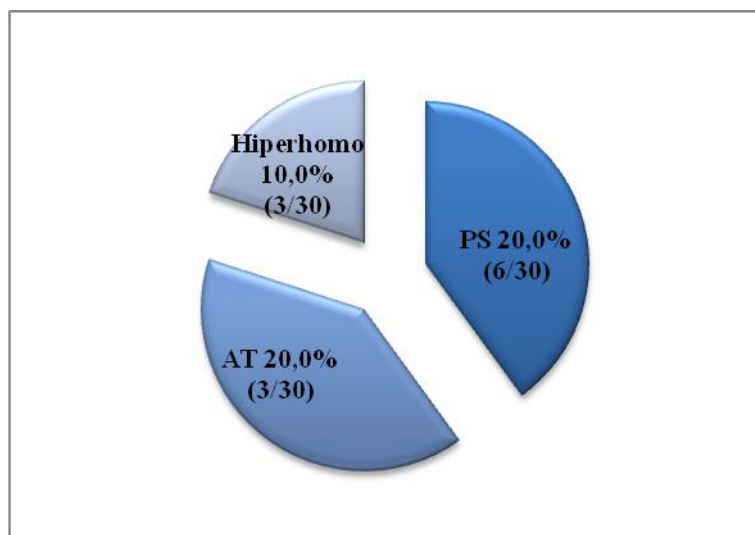
Legenda: PC – deficiência de proteína C; PS – deficiência de proteína S; AT – deficiência de AT; Hiperhomo – hiperhomocisteinemia; FV Leiden Hetero – fator V Leiden heterozigoto;

Figura 5.9 – Distribuição dos marcadores para trombofilias hereditárias entre as gestantes com histórico de pré-eclâmpsia grave em gestação anterior



Legenda: PC – deficiência de proteína C; PS – deficiência de proteína S; AT – deficiência de AT; Hiperhomo – hiperhomocisteinemia;

Figura 5.10 – Distribuição dos marcadores para trombofilias hereditárias entre as gestantes portadoras de lúpus eritematoso sistêmico.



Legenda: PS – deficiência de proteína S; AT – deficiência de AT;
Hiperhomo – hiperhomocisteinemia;

A presença de dois ou mais marcadores para trombofilias na mesma paciente foi identificado em 24,1% (71/294) das pacientes estudadas, encontrando a associação de deficiência de PS com deficiência de AT com maior frequência, em 11 pacientes (3,7%). Em relação aos grupos, a presença de dois ou mais marcadores na mesma paciente foi encontrada em 30,4% (45/148) nas gestantes do grupo AB, com a maior frequência da associação de deficiência de PS com deficiência de AT - 4,7% (7/148) ocorrendo neste grupo de pacientes. Para as pacientes do grupo PE a presença de dois ou mais marcadores na mesma paciente, foi de 20,2% (17/84), cuja associação mais frequente foi aCL IgM com deficiência de AT, AL com deficiência de PS, AL com hiperhomocisteinemia e deficiência de PS com deficiência de AT, apresentando dois casos cada associação. As pacientes portadoras de LES com presença de dois ou mais marcadores totalizaram 30,0% (9/30), com maior frequência da associação entre AL com deficiência de AT e deficiência de PS com deficiência de AT, apresentando dois casos cada.

A distribuição das associações dos marcadores encontrados na mesma paciente, entre os grupos, está apresentada no Apêndice D.

Verificou-se associação significativa ($p < 0,05$) entre a ocorrência de abortamentos recorrentes e perdas fetais (Grupo AB), pré-eclâmpsia grave em gestação anterior (Grupo PE) e nas gestantes portadoras de LES (Grupo LES) com a presença de marcadores para trombofilias, conforme observado na tabela 5.3.

Tabela 5.3 – Associação entre a presença de marcadores para trombofilias e história pregressa de abortamentos e perdas fetais, pré-eclâmpsia grave em gestação anterior e em pacientes portadoras de LES.

Marcadores para trombofilias hereditárias e/ou adquiridas	Grupo AB*		Grupo PE*		Grupo LES*	
	n	%	n	%	n	%
<i>Presente</i>	114	77,0	54	64,3	20	66,7
<i>Ausente</i>	34	23,0	30	35,7	10	33,3
<i>Total</i>	148	100,0	84	100,0	30	100,0
<i>p</i>	<0,001		<0,001		<0,001	
<i>RR</i>	1,81(1,43 – 2,27)		1,86 (1,44 – 2,41)		3,39 (1,94 – 5,52)	

Legenda: * teste qui-quadrado; Grupo AB – Grupo de pacientes com histórico de abortamentos de repetição e/ou perdas fetais; Grupo PE – Grupo de pacientes com histórico de pré-eclâmpsia/eclampsia ou síndrome HELLP em gestação anterior; Grupo LES- Grupo de pacientes portadoras de lúpus eritematoso sistêmico; RR – risco relativo

Houve associação significativa entre a ocorrência de abortamentos recorrentes e perdas fetais (Grupo AB), pré-eclâmpsia grave em gestação anterior (Grupo PE) e nas gestantes portadoras de LES (Grupo LES) e a presença de anticorpos antifosfolípidos (Tabela 5.4).

Tabela 5.4 – Associação entre a presença de anticorpos anticardiolipina e história pregressa de abortamentos e perdas fetais pré-eclâmpsia grave em gestação anterior e em pacientes portadoras de LES.

Marcadores para trombofilias adquiridas	Grupo AB*		Grupo PE*		Grupo LES*	
	n	%	n	%	n	%
<i>Presente</i>	53	35,8	26	31,0	14	46,7
<i>Ausente</i>	95	64,2	58	69,0	16	53,3
<i>Total</i>	148	100,0	84	100,0	30	100,0
<i>p</i>	0,0005		0,003		0,0001	
<i>RR</i>	1,3 (1,17 - 1,45)		1,48 (1,25 - 1,75)		2,74 (1,80 – 4,17)	

Legenda: * teste qui-quadrado; Grupo AB – Grupo de pacientes com histórico de abortamentos de repetição e/ou perdas fetais; Grupo PE – Grupo de pacientes com histórico de pré-eclâmsia/eclampsia ou síndrome HELLP em gestação anterior; Grupo LES- Grupo de pacientes portadoras de lúpus eritematoso sistêmico; RR – risco relativo

Verificou-se associação significativa entre a ocorrência de abortamentos recorrentes e perdas fetais (Grupo AB), pré-eclâmsia grave em gestação anterior (Grupo PE) e nas gestantes portadoras de LES (Grupo LES) e a presença de trombofilias hereditárias (Tabela 5.5).

Tabela 5.5 – Associação entre a presença de marcadores para trombofilias hereditárias e história pregressa de abortamentos e perdas fetais pré-eclâmsia grave em gestação anterior e em pacientes portadoras de LES.

Marcadores para trombofilias hereditárias	Grupo AB*		Grupo PE*		Grupo LES*	
	n	%	n	%	n	%
<i>Presente</i>	84	56,8	39	46,4	11	36,7
<i>Ausente</i>	64	43,2	45	53,6	19	63,3
<i>Total</i>	148	100,0	84	100,0	30	100,0
<i>p</i>	0,001		0,0001		0,008	
<i>RR</i>	1,43 (1,24 - 1,65)		1,59 (1,30 - 1,93)		2,18 (1,43 - 3,33)	

Legenda: * teste qui-quadrado; Grupo AB – Grupo de pacientes com histórico de abortamentos de repetição e/ou perdas fetais; Grupo PE – Grupo de pacientes com histórico de pré-eclâmsia/eclampsia ou síndrome HELLP em gestação anterior; Grupo LES- Grupo de pacientes portadoras de lúpus eritematoso sistêmico; RR – risco relativo

6 DISCUSSÃO

Os estudos realizados em gestantes com histórico de pré-eclâmpsia, RCF e DPP possuem dados conflitantes, principalmente devido às diferenças de características populacionais e definições clínicas (ABOU-NASSAR et al., 2011; DO PRADO et al., 2010; KUPFERMINC et al., 2000). Além disso, a prevalência dos fatores trombofílicos em gestantes portadoras de LES, não é encontrada na literatura. Entretanto, há evidências da associação de trombofilias adquiridas e aumento dos riscos de abortamentos recorrentes e óbito fetal (ABOU-NASSAR et al., 2011; RUIZ-IRASRORZA; KHAMASHTA, 2007; ROBERTSON et al., 2006; EMPSON et al., 2005; MTIRAOUUI et al., 2005) e está definida a relação existente entre a presença de anticorpos antifosfolípidos em pacientes portadores de LES (MECACCI et al., 2009; DANOWSKI et al., 2009; FAGUNDES et al., 2005).

Em meta-análise, Robertson et al. (2006) avaliaram a correlação existente entre o aborto/perdas fetais e presença de trombofilias, os resultados revelaram a existência de uma ligação estatisticamente significativa entre trombofilias hereditárias, presença de anticorpos antifosfolípidos e a ocorrência de abortos/perdas fetais. Fato este, também observado por outros autores (HOSSAIN et al., 2012; MONARI et al., 2012; KARAKANTZA et al., 2008; VORA et al., 2008; CARDONA et al., 2008; MEZZESIMI et al., 2007; COSTA et al., 2005), vindo ao encontro dos dados obtidos na presente pesquisa. Outros autores, no entanto, não observam associação entre a presença de trombofilias e má história obstétrica (SAID et al., 2012; SOTIRIADIS et al., 2007; DE SANTIS et al., 2006; KRABBENDAM et al., 2005). Ressalta-se que nenhuma das pesquisas citadas realizou simultaneamente rastreamento para trombofilias hereditárias e adquiridas, o que faz da presente pesquisa um diferencial na literatura.

Quando analisado o grupo de gestantes com pré-eclâmpsia grave em gestação anterior, o presente estudo identificou risco relativo de 1,48 (IC 95% 1,25<RR<1,75) das gestantes serem portadoras de anticorpos antifosfolípidos e 1,59 (IC 95% 1,30<RR<1,93) de possuírem marcadores séricos para trombofilias hereditárias. Considerando a presença de marcadores séricos para trombofilias hereditárias e/ou presença de anticorpos antifosfolípidos o risco relativo se eleva para 1,86 (IC 95% 1,44<RR<2,41). Estes dados não diferem do observado em revisão sistemática, onde o risco relativo dos trabalhos incluídos na revisão foram todos elevados (KUPFERMINC et al., 2000). Em 2011, Abou-Nassar et al., em revisão sistemática,

também observaram que há associação entre anticorpos antifosfolípides e ocorrência de pré-eclâmpsia. Outros estudos, entretanto, não encontraram associação entre pré-eclâmpsia e a presença de trombofilias (MONARI et al., 2012; PABINGER, 2009). A ocorrência de miscigenação racial na população estudada, fato que ocorre com frequência no Brasil, poderia explicar esta discordância de outros autores, pois nos países onde pesquisas semelhantes foram conduzidas, essa miscigenação não existe (MONARI et al., 2012; PABINGER, 2009).

Os anticorpos antifosfolípide são identificados como causadores de perdas gestacionais, partos pré-termo, insuficiência placentária e pré-eclâmpsia (RUIZ-IRASTORZA et al., 2010). Este grupo de anticorpos está presente de 1 a 5% dos indivíduos saudáveis (PIERANGELI et al., 2011) e os valores na população obstétrica em geral variam de 1 a 9% (ABOU-NASSAR et al., 2011). A presença destes anticorpos foi identificada em 52,7% das gestantes do grupo AB. O valor encontrado pelo presente estudo está acima do resultado obtido na literatura que variou de 5,8 a 45% (HOSSAIN et al., 2013, KOSAR et al., 2011; VORA et al., 2008; COSTA et al., 2005; MTIRAOUUI et al., 2005).

A frequência de aCL IgM e IgG foi encontrada em 21,6% das pacientes, resultado este inferior aos apresentados por Vora et al., (2008), para quem a frequência destes mesmos anticorpos foi verificada em 27,9% das gestantes estudadas. Entretanto, Costa et al., (2005), demonstrou resultado semelhante ao apresentado neste trabalho, onde a frequência de foi de 23%. Porém quando se comparam os isotipos IgM e IgG observamos uma inversão na frequência deste, pois o mais prevalente anticorpo anticardiolipina encontrado na presente casuística foi o isotipo IgM, presente em 16,2% das pacientes. Por sua vez, o isotipo IgG foi encontrado em 5,4% das gestante, enquanto nos resultado obtidos por Costa et al., (2005), verificou-se maior frequência do isotipo IgG (18%) e o isotipo IgM foi encontrado em 6% da amostra. Para Hossain et al., (2013) os valores encontrados foram menores que os observados na presente pesquisa, onde a frequência de aCL IgM e IgG foi de 1,9% no grupo de pacientes com perdas gestacionais frequentes. A variação da frequência destes anticorpos pode ser explicada, entre outras razões, ao fator racial, visto que há uma grande miscigenação em nosso país e as características raciais variam de acordo com os locais onde os diversos estudos foram realizados.

A frequência de AL no presente estudo foi de 12,8%, valor este parecido com o observado na literatura, onde as taxas variam de 5 a 11% (HOSSAIN et al., 2013; VORA et al., 2008; COSTA et al., 2005). Deve-se destacar que a grande variação na metodologia dos estudos pode dificultar a conclusão quanto à verdadeira frequência do AL em gestantes com ocorrência de abortamentos de repetição, perdas fetais e outras complicações obstétricas. Em

recente pesquisa o AL foi o anticorpo antifosfolípide mais frequente em gestantes com histórico de óbito fetal, indicando que as portadoras deste anticorpo possuem risco quatro vezes maior de óbito fetal que as não portadoras. Os autores da pesquisa em questão atribuem este alto risco a associação dos AL a outros anticorpos antifosfolípides. (HOSSAIN et al., 2013).

A frequência de anticorpos anti- β_2 GPI encontrada por Mezzesimi et al., (2007) e Vora et al., (2008) em seus estudos foram de 36,6% e 12,2% respectivamente, valor este muito superior ao observado na presente pesquisa, onde encontramos 4,7% em pacientes com abortamentos recorrentes e perdas fetais. No entanto este resultados está em acordo com pesquisa conduzida por Hossain et al., (2013), cujos autores encontraram frequência de 4,8% de anticorpos anti- β_2 GPI em gestantes com histórico de óbitos fetais.

Em 2008, Alijotas-Reig et al., inferiram que os ensaios laboratoriais onde são identificadas a presença sérica de anticorpos anti- β_2 GPI são mais sensíveis para a detecção da SAAF comparativamente aos ensaios utilizando a identificação isolada de anticorpos anticardiolipina. No presente estudo a presença de anticorpos anti- β_2 GPI em gestantes do grupo com abortamentos de repetição e perdas fetais mostrou que a presença deste anticorpo pode identificar pacientes adicionais que são negativas para a presença de anticorpos anticardiolipina, visto que o referido anticorpo foi positivo em gestantes negativas para a presença de aCL. Em estudo, Mezzesimi et al., (2007), verificaram que 49% das gestantes que evoluíram para perdas fetais possuíam níveis séricos do anticorpo anti- β_2 GPI, concluindo deste modo que a presença deste anticorpo está associada ao aumento do risco para abortamentos..

Resultados mostram que os anticorpos antifosfolípides são detectados em 11 a 29% das gestantes com pré-eclâmpsia (RUIZ-IRASTORZA et al., 2010). Para estes autores, no grupo pré-eclâmpsia a presença destes anticorpos foi encontrada em 31,0% das pacientes, cujo valor é similar ao apresentado pela literatura. Estudo de coorte indica que mulheres portadoras de anticorpos antifosfolípides possuem de 10 a 50% risco de desenvolverem pré-eclâmpsia e destas, 10% possivelmente terão parto pré-termo (CLARK; SILVER; BRANCH, 2007). A presença de anticorpos anticardiolipina IgG foi encontrada, em 5,4% das gestantes do Grupo PE, resultado de acordo com às taxas descritas, que variam de 1,8 a 7,0%. Em 2009, Facchinetti et al., encontraram frequência de 10,0% e 3,3% de aCL e LA, respectivamente, em gestante com histórico de pré-eclâmpsia grave, quando comparamos com os resultados de nossa pesquisa observamos que ambos os anticorpos estão aumentados, sendo o aCL com frequência de 13,1% e o AL 19,0%. A frequência de anti- β_2 GPI foi identificada em 6,3% das

gestantes com pré-eclâmpsia grave ou Síndrome HELLP no estudo conduzido por Lee et al., (2003). Estes valores são maiores que os verificados em nossa pesquisa. O risco relativo elevado de pacientes portadoras de anticorpos antifosfolípide desenvolverem pré-eclâmpsia durante a gestação está bem estabelecido em gestantes com identificação de anticorpos anticardiolipina e em portadoras de anticoagulante lúpico (ABOU-NASSAR et al., 2011; PABINGER, 2009; FACCHINETTI et al., 2009; LEE et al., 2003; KUPFERMINC et al., 2000).

A prevalência de anticorpos antifosfolípides entre os pacientes com LES é de aproximadamente 40%, variando entre 12% a 44%, para aCL, 15% a 34%, para AL e 10% a 19% para anti- β_2 GPI (MECACCI et al., 2009; BIGGIOGGERO; MERONI, 2009). Estes dados vêm ao encontro da presente pesquisa, onde 46,7% das pacientes possuíam marcadores para anticorpos antifosfolípides. O aCL foi encontrado em 16,7% das pacientes, o AL em 20,0% e o anti- β_2 GPI em 13,3%, estando os valores para estes marcadores dentro da margem de variação apresentado pela literatura.

A literatura evidencia que eventos trombóticos ocorrem mais frequentemente em pacientes portadores de LES com anticorpos antifosfolípides positivos em comparação à pacientes portadores destes anticorpos, porém sem LES ou outra doença autoimune (LASKIN; CLARK; SPITZER, 2005). Estudo realizado em 2009 mostrou maior frequência de trombose e perdas gestacionais em pacientes com LES associado à presença de marcadores para trombofilias adquiridas que em pacientes com SAAF primária (DANOWSKI et al., 2009).

Com o diagnóstico da presença de marcadores de anticorpos antifosfolípides verificou-se aumento de 3,1 vezes nas perdas gestacionais, principalmente após 20 semanas de gestação ($p = 0,004$), sendo fator de risco independente para perdas adicionais na gravidez em estudo de coorte com 166 gestantes no *Hopkins Lupus Center* (CLOWSE et al., 2006).

Atividade lúpica materna e a presença de anticorpos antifosfolípide concomitantes foram associadas às principais causas de complicações obstétricas (CLOWSE et al., 2006; CLOWSE et al., 2005), estimando-se que cerca de 20% das gestações em mulheres com LES, tenham como desfecho perda fetal (YAN YUEN et al., 2008). A taxa de nascimento pré-termo (parto anterior a 37 semanas de gestação) é maior neste grupo de pacientes. A incidência, parece variar entre 23 e 28% (YAN YUEN et al., 2008). O nascimento pré-termo é geralmente espontâneo, principalmente devido a rotura prematura de membranas, mas há também uma importante parcela de casos em que o parto é induzido para proteger a saúde da mãe e/ou do feto (ANDREOLI et al., 2012).

A presente casuística mostrou que a trombofilias hereditárias estavam presentes em 56,8% das pacientes do grupo AB, com associação significativa entre a presença de trombofilias hereditárias e a ocorrência de abortamentos recorrentes e/ou perdas fetais. A frequência encontrada em nossa pesquisa está acima do observado em estudos recentes onde foram encontradas frequência de 28,8% e 32,7% (HOSSAIN ET LA., 2013; MONARI ET AL., 2012). Vários estudos mostram que a presença de trombofilias hereditária, está incluída como fator de risco para resultados adversos durante a gestação (HOSSAIN ET LA., 2012; MONARI ET AL., 2012; ROBERTSON ET AL., 2006; KUJOVICH, 2004).

O papel desempenhando pelas trombofilias hereditárias permanece controverso. A presença de trombofilias hereditárias em gestantes com pré-eclâmpsia varia de 40 a 72% (KUJOVICH, 2004). Na presente casuística, observou frequência de 31,0% em gestantes com histórico de pré-eclâmpsia grave/eclâmpsia. Este resultado é inferior ao apresentado por Mello et al., (2005), para quem a frequência de trombofilias hereditárias foi de 52,5% e similar ao apresentado por Kujovich (2003) e por Facchinetti et al., (2009), onde este encontro frequência de 34,9%. Apesar da diferença nas frequências encontradas entre a presente pesquisa e os dados apresentados por Faccinetti et a., (2009) e Mello et al., (2005), os trabalhos apresentaram associação significativa entre a presença de trombofilias e ocorrência de pré-eclâmpsia. Entretanto, o trabalho de Dusse et al., (2007), estudando gestantes brasileiras, não chegou aos mesmos resultados. Ressalta-se que este estudo investigou apenas mutações genéticas, excluindo as deficiências dos anticoagulantes naturais.

A literatura não traz dados a respeito das trombofilias hereditárias em gestantes portadoras de LES. Observou-se na presente pesquisa a frequência de 36,7% destes marcadores em gestantes portadoras de LES, resultado abaixo do observado por Brouwer et al., (2004), cuja frequência de marcadores para trombofilias hereditárias em pacientes lúpicos não gestantes foi de 50,7%. Entretanto vários autores (AFELTRA et al., 2005; BROUWER et al., 2004; TORRESAN et al., 2000), não encontraram a presença destes marcadores em pacientes não gestantes portadores de LES, sugerindo que não foram associados ao risco trombótico aumentado, resultado semelhante é apresentado por Vayá et al., (2008), porém este observou a presença de trombofilias hereditárias em 9,3% dos pacientes não gestantes.

A prevalência de deficiência de PC é de 6%, 5% a 8% para deficiência de PS e de 0% a 2% para deficiência de AT em mulheres com perdas gestacionais. Em gestantes sem complicações obstétricas os valores são menores variando de 0% a 2,5% para deficiência de PC, 0% a 0,2% para deficiência de PS e 0% a 1,4% para deficiência de AT (KUJOVICH, 2004). Por sua vez, Hossain et al., (2013) encontraram nas gestantes com abortamentos

recorrentes frequência de 5,8% para deficiência de PC e deficiências de PS e AT, com frequência de 1,9% cada. Para Kosar et al., (2011) as frequências foram de 6,0%, 37,3% e 3,0% para deficiências de PC, PS e AT nas gestantes com perdas fetais. Aceita-se a possibilidade das pacientes que possuem deficiência dessas proteína desenvolverem abortos de repetição e perdas fetais devido á ocorrência de trombose no leito de implantação placentária. Está hipótese pode ter sido corroborada pelo presente estudo, considerando o achado de 29,7% para a presença de deficiência de PS, 16,2% para deficiência de AT e 4,0% de frequência para deficiência de PC, nas gestantes do grupo AB.

No estudo conduzido por Demir; Dilek (2010), concluíram que as gestantes com pré-eclâmpsia possuem maiores casos de deficiências dos anticoagulantes naturais quando comparados a gestantes normais. Este resultado pode ser evidenciado na presente pesquisa, visto que foram encontrados 3,6% de gestantes com deficiência de PC no grupo PE e nenhum caso no grupo de gestantes normais. Para deficiência de PS foi encontrada frequência de 26,2% em gestantes com histórico de pré-eclâmpsia grave/eclâmpsia em gestação anterior e 3,1% de frequência no grupo CO. Por sua vez, a frequência da deficiência de AT foi de 10,7% para o grupo PE e de 3,1% para o grupo CO. Porém, há estudos cuja frequência de deficiências dos anticoagulantes naturais em discussão é inferior ao apresentado nesta pesquisa (MONARI et al., 2012; FACCHINETTI et al., 2009; MELLO et al., 2005).

A frequência de deficiências de PS e AT em gestantes portadoras de LES foi de 20,0% para cada marcador e não foram observados casos de deficiência de PC neste grupo de pacientes. A literatura não traz dados específicos sobre a frequência de trombofilias hereditárias em gestantes lúpicas. Os dados existentes são referentes à portadores de LES não gestantes além de serem controversos. Em 2008, Vayá et al., encontrou baixa frequência dos anticoagulantes naturais (apenas um caso), e Brouwer et al., (2004) observou frequência de 32,6%, 2,1% e 3,4% para deficiências de PS, PC e AT, respectivamente.

Não se pode afirmar que as pacientes que apresentaram deficiência de PC são portadoras de deficiência herdada, já que a gravidez é um estado de hipercoagulabilidade no qual ocorre aumento de fatores da coagulação e diminuição simultânea dos anticoagulantes naturais e das proteínas de fibrinólise (CUNNINGHAM et al., 2005). Estas modificações são importantes para minimizar o risco de perdas sanguíneas, aumentando assim, a ocorrência de fenômenos tromboembólicos. Todavia, considerando que não foram realizadas dosagens subsequentes dos anticoagulantes naturais, sugere-se que estas deficiências possam ser transitórias (HOJO et al; 2008; ADACHI, 2005; PAIDAS et al., 2005; LOCKWOOD, 2002).

Destaca-se que a população estudada apresenta algumas características que a tornam diferente das populações analisadas por outros autores. A miscigenação racial poderia induzir características genéticas não encontradas em populações analisadas na literatura quanto à presença de trombofilias (HOSSAIN et al., 2013; KOSAR et al., 2011; MONARI et al., 2012; FACCHINETTI et al., 2009; VAYÁ et al., 2008; MELLO et al., 2005; BROWER et al., 2004).

A literatura consagra como fator de risco para doenças vasculares periféricas e arterial coronariana a presença de hiperhomocisteinemia. (GRAHAM et al., 1997; MAYER et al., 1996). Porém, Lijfering et al., (2008) afirmam que “a hiperhomocisteinemia não é um fator de risco para trombose venosa ou arterial”. Alguns autores associam a presença desta trombofilia à ocorrência de complicações na gestação, tais como DPP, infartos placentários, morte fetal, pré-eclâmpsia grave e RCF grave (BATES et al., 2012; BERGEN et al., 2012; MUJAWAR; PATIL; DAVER, 2011; ROBERTSON et al., 2006; DOYLE; MONGA, 2004; LOCKWOOD, 2002). Em meta-análise, Nelen et al., (2000a) se contrapõe a associação de hiperhomocisteinemia com a ocorrência de abortos recorrentes.

No presente estudo a presença de hiperhomocisteinemia foi encontrada em 22,3% das pacientes com abortamentos de repetição e perdas fetais, resultado similar aos valores descritos por Kujovich et al., (2004), cuja presença de hiperhomocisteinemia variam de 17 a 27% em pacientes com histórico de perdas gestacionais. Para Sikora et al., (2007), a hiperhomocisteinemia ocorreu em 26,7% das gestantes estudadas, as quais apresentaram níveis reduzidos de folato plasmático.

A literatura traz resultados controversos a respeito da frequência de hiperhomocisteinemia em pacientes com pré-eclâmpsia, visto que Mujawar; Patil; Daver, (2011) observaram que 54,0% das pacientes com pré-eclâmpsia possuíam a referida trombofilia. Para Sep et al., (2010) e Wen et al., (2008) aproximadamente 21,0% das gestantes com pré-eclâmpsia apresentaram níveis elevados de homocisteína plasmática. Na presente pesquisa o grupo de pacientes com histórico de pré-eclâmpsia grave/eclâmpsia em gestação anterior apresentou frequência de 14,3%, resultado semelhante ao apresentado por Mello et al., (2005), que observaram a frequência da referida trombofilia em 12,1%. Estudos sugerem que pacientes cujos níveis de homocisteína plasmática estejam elevados e cujo os níveis de ácido fólico estão diminuídos possuem maior risco para ocorrência de pré-eclâmpsia (MUJAWAR; PATIL; DAVER, 2011; WEN et al., 2008).

No presente estudo, a presença de hiperhomocisteinemia foi verificada em apenas 10,0% das gestantes do grupo LES, resultado abaixo do apresentado pela literatura em

pacientes lúpidas não gestantes, que está em torno de 37%, verificaram também que este marcador está relacionado ao comprometimento renal (BOUCELMA et al., 2011; BARCAT et al., 2003). As concentrações elevadas deste aminoácido são comuns no LES, sendo preditivos para trombose tardia, acidente vascular cerebral e hipertensão arterial (DANOWSKI et al., 2009).

A presença de mutação no gene da enzima MTHFR não foi mensurada, devido aos escassos recursos para a presente pesquisa e o alto custo deste teste para o SUS, onde o mesmo deveria ser realizado. Assim optou-se por não pesquisa-lo.

Deve-se salientar que todas as pacientes participantes do presente estudo, recebiam suplementação de ácido fólico antes da realização da dosagem de homocisteína plasmática, fato este que pode ter colaborado para a redução do número de pacientes com hiperhomocisteinemia, visto que os níveis de homocisteína plasmática diminuem cerca de 50% durante a gravidez. A suplementação de ácido fólico é rotineiramente realizada para evitar defeitos do tubo neural. (FOGERTY et al., 2009).

A literatura mostra divergências quanto à importância do FV Leiden na ocorrência de complicações obstétricas. Alguns estudos mostram que a presença dessa mutação está relacionada à ocorrência de complicações obstétricas (BATES et al., 2012; VILLANI et al., 2012; KARAKANTZA et al., 2008; TOTH et al., 2008; ROBERTSON et al., 2006;). Entretanto, outros não são tão claros quanto à associação entre o FV Leiden e complicações obstétricas (MONARI et al., 2012; PASQUIER et al., 2009; ALTINTAS et al., 2007; DUSSE et al., 2007).

Em 2009, Pasquier et al., afirmaram que não há qualquer relação entre a presença de FV Leiden materno e paterno e a ocorrência de perdas gestacionais inexplicadas, pois não houve diferença significativa entre a presença de FV Leiden e a ocorrência de perdas gestacionais. Entretanto, Toth et al., (2008), indicaram que a presença de FV Leiden em mulheres com histórico de abortamentos de repetição pode influenciar no resultado gestacional. Em contrapartida, a mutação genética no fator V do parceiro não parece ser fator de risco para abortos de repetição.

Os valores para frequência de FV Leiden encontrados pela presente pesquisa estão abaixo do apresentado por outros estudos, visto que foi encontrado presença de FV Leiden na forma heterozigota em 4,7% das pacientes com abortamentos recorrentes e perdas fetais, e nenhum caso de FV Leiden homozigoto. Em estudo realizado entre gestantes paquistanesas com histórico de abortamentos recorrentes, Hossain et al., (2013) encontraram frequência de 19,2% para FV Leiden. Em gestantes italianas cujas gestações cursaram com óbito fetal, no

estudo conduzido por Monari et al., (2012), a frequência de FV Leiden observada foi de 5,4%. Em 2008, Karakantza et al., estudando trombofilias hereditárias em gestantes gregas, observaram que 7,3% (7/96) das gestantes que apresentaram complicações obstétricas durante a gestação atual, o FV Leiden na forma heterozigota foi detectado e 7,3% (8/110) das gestantes que possuíam histórico de complicações gestacionais também possuíam essa mutação. Este autor não observou nenhum caso de FV Leiden na forma homozigota entre as gestantes estudadas. A presença do FV Leiden foi observada em 20,5% de gestantes com abortos de repetição, onde 18,2% eram heterozigotos e 2,3% homozigotos. Dentre estas gestantes 12,8% possuíam com apenas um aborto espontâneo e mais de uma gestação bem sucedida (GLUECK et al., 2010).

A prevalência de FV Leiden em gestantes com pré-eclâmpsia grave é de 8 a 26% (KUJOVICH et al., 2004). A literatura mostra que o risco para a ocorrência de pré-eclâmpsia grave em pacientes portadoras de FV Leiden é 5,7 vezes maior que em gestantes sem a trombofilia e a frequência observada é de 16,7% (MELLO et al., 2005). Para Facchinetti et al., (2009), das gestantes com recorrência de pré-eclâmpsia, 11,1% possuíam FV Leiden. Na presente pesquisa não se observou nenhum caso de FV Leiden, tanto heterozigoto como homozigoto, resultado semelhante ao apresentado por Dusse et al., (2007) que estudou gestantes brasileiras com histórico de pré-eclâmpsia.

Na presente pesquisa não se observou presença de mutação no FV Leiden em nenhuma paciente portadora de LES. Entretanto, Kaiser et al., (2012) e Kaiser et al., (2009), observaram que pacientes não gestantes com LES portadores de FV Leiden possui, risco de trombose aumentado em mais de 2 vezes, quando comparado àqueles sem trombofilia.

A presença de dois ou mais marcadores séricos para trombofilias foi fato relevante encontrado na presente pesquisa. Resultados semelhantes começam a ser verificados (HOSSAIN et al., 2013; HELGADOTTIR et al., 2012; KOSAR et al., 2011; FACCHINETTI et al., 2009; MELLO et al., 2005), porém, a frequência de combinação dos marcadores para trombofilias em gestantes com abortamentos recorrentes é descrita na literatura entre 8% e 25% e em gestantes normais em 1% e 5% (KUJOVICH, 2004)

Em 2011, Kosar et al., observaram que 47,3% (44/93) das pacientes estudadas possuíram positividade para dois ou mais marcadores séricos. Este resultado é superior ao observado na presente pesquisa, que verificou a presença de dois ou mais marcadores séricos para trombofilias em 30,4% (45/148) das pacientes com histórico de abortamentos recorrentes. No estudo conduzido por Hossain et al., (2013) a frequência de combinação entre trombofilias foi inferior, com 3,8% (2/52) casos. Para Helgadottir et al., (2012) existe

associação entre trombofilias, porém sua pesquisa foi realizada apenas com marcadores para trombofilia adquirida, o resultado encontrado por estes autores foi presença de 6,7% (7/105) casos de combinação.

O marcador para trombofilia com combinação mais frequente em nosso estudo foi deficiência de proteína S, com 22 combinações (11,9%). Em outros estudos se observa que este marcador para trombofilia é o que possui maior número de combinações (HOSSAIN et al., 2013; KOSAR et al., 2011). A literatura mostra, ainda, que as trombofilias derivadas de mutações genéticas possuem alta frequência de combinações com outros marcadores. Em estudo com 93 pacientes a mutação na enzima MTHFR apresentou 27 casos de combinações, o FV Leiden combinou-se com outros marcadores em 17 casos e a mutação no gene 20210A da protrombina esteve em duas combinações (HOSSAIN et al., 2013).

Em 2012, Helgadottir et al., não verificaram diferenças no número de combinações entre os marcadores de anticorpos antifosfolípides, visto que AL, anti- β_2 GPI e aCL, apresentaram respectivamente cinco, quatro e cinco combinações, em estudo que arrolou 105 pacientes com perdas fetais. Este resultado é contraditório na presente pesquisa, visto que foi observado 23, 10 e duas combinações para os marcadores, aCL, AL e anti- β_2 GPI, respectivamente, no grupo AB; este resultado superior pode ser justificado por nosso estudo ter rastreado marcadores para trombofilias hereditárias e adquiridas.

A literatura conclui que abortos e perdas fetais são mais comumente observadas em pacientes que possuem combinações de trombofilias (HELGADOTTIR et al., 2012; HOSSAIN et al., 2013; KUJOVICH, 2004).

A presença de combinação de marcadores para trombofilias em gestantes com histórico de pré-eclâmpsia foi de 20,2% (17/84), resultado superior ao encontrado na literatura, visto que Facchin et al., (2009) observaram frequência de 6,6% (12/182) e Mello et al., (2005) obtiveram frequência de 14,5% (59/406) nas gestantes com pré-eclâmpsia grave e 4,0% (16/402) nas gestantes com pré-eclâmpsia leve.

Em 2005, Mello et al., concluíram que gestantes com combinação de marcadores para trombofilias possuem risco 17 vezes maior para ocorrência de pré-eclâmpsia grave.

No presente estudo não foram observadas combinações de marcadores para trombofilias em pacientes pertencentes ao grupo CO, porém verifica-se frequência de 1,6% (13/808) em pacientes com gestação única sem intercorrências (MELLO et al., 2005).

A elevada frequência de marcadores para trombofilias e a presença de combinações destes podem ser resultados da ocorrência de mudanças no genótipo da população aliada ao

avanço tecnológico, com melhora da sensibilidade e especificidade das técnicas laboratoriais utilizadas.

A realização de estudos para aprofundar o tema e obter resultados mais consistentes para orientar obstetras na prática clínica em relação às trombofilias na gestação se faz necessária. Os dados obtidos neste trabalho sugerem investigação de rotina para marcadores de trombofilias hereditárias e anticorpos antifosfolípides em pacientes com histórico de abortamentos de repetição, perdas fetais e pré-eclâmpsia grave em gestações anteriores. A identificação destes marcadores, em gestantes, pode ser clinicamente útil para determinar quais pacientes possuem maiores riscos de complicações obstétricas. Sugere-se que sejam realizados novos estudos cuja abordagem esteja focada no impacto das trombofilias hereditárias em gestantes portadoras de LES, incluindo testes para os demais marcadores genéticos em sua rotina laboratorial.

7 CONCLUSÃO

Verificou-se associação estatisticamente significativa entre a presença de marcadores para trombofilias (hereditárias e adquiridas) e histórico de abortamentos de repetição e/ou perdas fetais, pré-eclâmpsia grave em gestação anterior e presença de lúpus eritematoso sistêmico (LES) em gestantes;

A frequência de aCL IgM e IgG em gestantes foi a seguinte:

- Gestantes com abortamentos recorrentes e/ou perdas fetais – 21,6% (IgM – 16,2%; IgG – 5,4%);
- Gestantes com histórico de pré-eclâmpsia grave em gestação anterior – 13,1% (IgM – 9,5%; IgG – 3,6%);
- Gestantes portadoras e LES – 16,7% (IgM – 6,7%; IgG – 10,0%);
- Gestantes sem histórico de complicações obstétricas – 3,1% (IgM – 3,1%; IgG – 0,0%);

A frequência de AL em gestantes foi a seguinte:

- Gestantes com abortamentos recorrentes e/ou perdas fetais – 12,8%;
- Gestantes com histórico de pré-eclâmpsia grave em gestação anterior – 19,0%;
- Gestantes portadoras e LES – 20,0%;
- Gestantes sem histórico de complicações obstétricas – 0,0%;

A frequência de Anti- β_2 GPI em gestantes foi a seguinte:

- Gestantes com abortamentos recorrentes e/ou perdas fetais – 4,7%;
- Gestantes com histórico de pré-eclâmpsia grave em gestação anterior – 2,4%;
- Gestantes portadoras e LES – 13,3%;
- Gestantes sem histórico de complicações obstétricas – 0,0%;

A frequência de deficiência de PC em gestantes foi a seguinte:

- Gestantes com abortamentos recorrentes e/ou perdas fetais – 4,0%;
- Gestantes com histórico de pré-eclâmpsia grave em gestação anterior – 3,6%;
- Gestantes portadoras e LES – 0,0%;
- Gestantes sem histórico de complicações obstétricas – 0,0%;

A frequência de deficiência de PS em gestantes foi a seguinte:

- Gestantes com abortamentos recorrentes e/ou perdas fetais – 29,7%;
- Gestantes com histórico de pré-eclâmpsia grave em gestação anterior – 26,2%;
- Gestantes portadoras e LES – 20,0%;
- Gestantes sem histórico de complicações obstétricas – 3,1%;

A frequência de deficiência de AT em gestantes foi a seguinte:

- Gestantes com abortamentos recorrentes e/ou perdas fetais – 16,2%;
- Gestantes com histórico de pré-eclâmpsia grave em gestação anterior – 10,7%;
- Gestantes portadoras e LES – 20,0%;
- Gestantes sem histórico de complicações obstétricas – 3,1%;

A frequência de hiperhomocisteinemia em gestantes foi a seguinte:

- Gestantes com abortamentos recorrentes e/ou perdas fetais – 22,3%;
- Gestantes com histórico de pré-eclâmpsia grave em gestação anterior – 14,3%;
- Gestantes portadoras e LES – 10,0%;
- Gestantes sem histórico de complicações obstétricas – 0,0%;

A frequência de FVL em gestantes foi a seguinte:

- Gestantes com abortamentos recorrentes e/ou perdas fetais – 4,7% (todos heterozigotos);
- Gestantes com histórico de pré-eclâmpsia grave em gestação anterior – 0,0%;
- Gestantes portadoras e LES – 0,0%;
- Gestantes sem histórico de complicações obstétricas – 0,0%;

A frequência de combinações de marcadores para trombofilias em gestantes foi a seguinte:

- Gestantes com abortamentos recorrentes e/ou perdas fetais – 25,7%;
- Gestantes com histórico de pré-eclâmpsia grave em gestação anterior – 20,2%;
- Gestantes portadoras de LES – 25,0%;
- Gestantes sem histórico de complicações obstétricas – 0,0%;

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS¹

Abou-Nassar K, Carrier M, Ramsay T, Rodger MA. The association between antiphospholipid antibodies and placenta mediated complications: a systematic review and meta-analysis. *Thromb Res.* 2011;128(1):77-85.

Adachi T. Protein S and congenital protein S deficiency: the most frequent congenital thrombophilia in Japanese. *Curr Drug Targets.* 2005;6(5):585-92.

Afeltra A, Vadacca M, Conti L, Galluzzo S, Mitterhofer AP, Ferri GM, et al. Thrombosis in systemic lupus erythematosus: congenital and acquired risk factors. *Arthritis Rheum.* 2005;53(3):452-9.

Alijotas-Reig J, Casellas-Caro M, Ferrer-Oliveras R, Llorba-Olive E, Hermosilla E, Vilardell-Tarres M, et al. Are anti-beta-glycoprotein-I antibodies markers for recurrent pregnancy loss in lupus anticoagulant/anticardiolipin seronegative women? *Am J Reprod Immunol.* 2008;60(3):229-37.

¹ Zárate P. organizador; Andrade SMO, Aydos RD. Colaboradores. Diretrizes para elaboração de tese e dissertações. Campo Grande: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro Oeste.

Altintas A, Pasa S, Akdeniz N, Cil T, Yurt M, Ayyildiz O, et al. Factor V Leiden and G20210A prothrombin mutations in patients with recurrent pregnancy loss: data from the southeast of Turkey. *Ann Hematol.* 2007;86(10):727-31.

Amadatsu CT, Andrade JQ, Zugaib M. Atividade lúpica durante a gestação. *Femina.* 2009;37(2):115-9.

Andreoli L, Fredi M, Nalli C, Reggia R, Lojacono A, Motta M, et al. Pregnancy implications for systemic lupus erythematosus and the antiphospholipid syndrome. *J Autoimmun.* 2012;38(2-3):J197-208..

American Society for Reproductive Medicine. Patient's fact sheet: recurrent pregnancy loss. Birmingham, Alabama: American Society for Reproductive Medicine; 2008.

Barcat D, Guerin V, Ryman A, Constans J, Vernhes JP, Vergnes C, et al. Thrombophilia and thrombosis in systemic lupus erythematosus: a case-control study. *Ann Rheum Dis.* 2003;62(10):1016-7.

Barini R, Couto E, Mota M, Santos C, Leiber S, Batista S. Recurrent spontaneous abortion. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2000;22(4):217-23.

Bates SM, Greer IA, Middeldorp S, Veenstra DL, Prabulos AM, Vandvik PO. VTE, thrombophilia, antithrombotic therapy, and pregnancy: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest*. 2012;141(2 Suppl):e691S-736S.

Battinelli EM, Bauer KA. Thrombophilias in pregnancy. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2011;25(2):323-33,viii.

Benedetto C, Marozio L, Tavella AM, Salton L, Grivon S, Di Giampaolo F. Coagulation disorders in pregnancy: acquired and inherited thrombophilias. *Ann N Y Acad Sci*. 2010;1205:106-17.

Bergen NE, Jaddoe VW, Timmermans S, Hofman A, Lindemans J, Russcher H, et al. Homocysteine and folate concentrations in early pregnancy and the risk of adverse pregnancy outcomes: the Generation R Study. *BJOG*. 2012;119(6):739-51.

Biggioggero M, Meroni PL. The geoepidemiology of the antiphospholipid antibody syndrome. *Autoimmun Rev*. 2010;9(5):A299-304.

Boucelma M, Haddoum F, Chaudet H, Kaplanski G, Mazouni-Brahimi N, Rezig-Ladjouze A, et al. Cardiovascular risk and lupus disease. *Int Angiol.* 2011;30(1):18-24.

Branch DW, Khamashta MA. Antiphospholipid syndrome: obstetric diagnosis, management, and controversies. *Obstet Gynecol.* 2003;101(6):1333-44.

Brenner B, Lanir N, Thaler I. HELLP syndrome associated with factor V R506Q mutation. *Br J Haematol.* 1996;92(4):999-1001.

Brouwer JL, Bijl M, Veeger NJ, Kluin-Nelemans HC, van der Meer J. The contribution of inherited and acquired thrombophilic defects, alone or combined with antiphospholipid antibodies, to venous and arterial thromboembolism in patients with systemic lupus erythematosus. *Blood.* 2004;104(1):143-8.

Cardona H, Cardona-Maya W, Gomez JG, Castaneda S, Gomez JM, Bedoya G, et al. Relación entre los polimorfismos de la metilen-tetrahidrofolato-reductasa y los niveles de homocisteína en mujeres con pérdida gestacional recurrente: perspectiva desde la nutrigenética. *Nutr Hosp.* 2008;23(3):277-82.

Clark EA, Silver RM, Branch DW. Do antiphospholipid antibodies cause preeclampsia and HELLP syndrome? *Curr Rheumatol Rep.* 2007;9(3):219-25.

Clowse ME, Magder LS, Witter F, Petri M. Early risk factors for pregnancy loss in lupus. *Obstet Gynecol.* 2006;107(2 Pt 1):293-9.

Clowse ME, Magder LS, Witter F, Petri M. The impact of increased lupus activity on obstetric outcomes. *Arthritis Rheum.* 2005;52(2):514-21.

Costa O, Brandão C, Silva M, Pimentel K, Santiago M. Anticorpos antifosfolípidos em mulheres com antecedentes de perdas gestacionais: estudo caso-controle. *Rev Bras Reumatol.* 2005;45(3):119-23.

Cunningham FG, Leveno KJ, Bloom SL, Hauth JC, Gilstrap LC 3rd, Wenstrom KD, editores. *Williams obstetrics*. 22^a edition. New York: McGraw Hill; 2005.

Danowski A, de Azevedo MN, de Souza Papi JA, Petri M. Determinants of risk for venous and arterial thrombosis in primary antiphospholipid syndrome and in antiphospholipid syndrome with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 2009;36(6):1195-9.

De Santis M, Cavaliere AF, Straface G, Di Gianantonio E, Caruso A. Inherited and acquired thrombophilia: pregnancy outcome and treatment. *Reprod Toxicol*. 2006;22(2):227-33.

Demir C, Dilek I. Natural coagulation inhibitors and active protein c resistance in preeclampsia. *Clinics (Sao Paulo)*. 2010;65(11):1119-22.

Dhar JP, Sokol RJ. Lupus and pregnancy: complex yet manageable. *Clin Med Res*. 2006;4(4):310-21.

Dizon-Townson DS, Kinney S, Branch DW, Ward K. The factor V Leiden mutation is not a common cause of recurrent miscarriage. *J Reprod Immunol*. 1997;34(3):217-23.

do Prado AD, Piovesan DM, Staub HL, Horta BL. Association of anticardiolipin antibodies with preeclampsia: a systematic review and meta-analysis. *Obstet Gynecol*. 2010;116(6):1433-43.

Dodd JM, McLeod A, Windrim RC, Kingdom J. Antithrombotic therapy for improving maternal or infant health outcomes in women considered at risk of placental dysfunction. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013;24(7):CD006780.

Doyle NM, Monga M. Thromboembolic disease in pregnancy. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2004;31(2):319-44, vi.

Duley L, Henderson-Smart DJ, Meher S, King JF. Antiplatelet agents for preventing pre-eclampsia and its complications. *Cochrane Database Syst Rev.* 2007(2):CD004659.

Duckitt K, Harrington D. Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review of controlled studies. *BMJ.* 2005;330(7491):565.

Dusse LM, Carvalho MG, Braganca WF, Paiva SG, Godoi LC, Guimaraes DA, et al. Inherited thrombophilias and pre-eclampsia in Brazilian women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2007;134(1):20-3.

Empson M, Lasserre M, Craig J, Scott J. Prevention of recurrent miscarriage for women with antiphospholipid antibody or lupus anticoagulant. *Cochrane Database Syst Rev.* 2005(2):CD002859.

Facchinetti F ML, Frusca T, Grandone E, Venturini P, Tiscia GL, Zatti S, Benedetto C. Maternal Thrombophilia and risk of recurrence of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2009; 200(1):46.e1-5.

Fagundes I, Borges RK, Schiavo N, Neumann J, Muhelen CA, Staub HL. Síndrome Antifosfolípídica e Morbidade Gestacional. *Scientia Medica*. 2005;15:179-88.

Figueiró-Filho EA, Oliveira VM. Associação entre abortamentos recorrentes, perdas fetais, pré-eclâmpsia grave e trombofilias hereditárias e anticorpos antifosfolípides em mulheres do Brasil Central. *Rev Bras de Ginecol Obst*. 2007;29(11):561-7.

Fogerty AE, Connors JM. Management of inherited thrombophilia in pregnancy. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2009;16(6):464-9.

Ford HB, Schust DJ. Recurrent Pregnancy Loss: Etiology, Diagnosis, and Therapy. *Rev Obstet Gynecol*. 2009;2(2):76-83.

Galarza-Maldonado C, Kourilovitch MR, Perez-Fernandez OM, Gaybor M, Cordero C, Cabrera S, et al. Obstetric antiphospholipid syndrome. *Autoimmun Rev*. 2012;11(4):288-95.

Gayed M, Gordon C. Pregnancy and rheumatic diseases. *Rheumatology*. 2007;46(11):1634-40.

Graham IM, Daly LE, Refsum HM, Robinson K, Brattstrom LE, Ueland PM, et al. Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. The European Concerted Action Project. JAMA. 1997;277(22):1775-81.

Glueck CJ, Pranikoff J, Khan N, Riaz K, Chavan K, Raj P, et al. High factor XI, recurrent pregnancy loss, enoxaparin. Fertil Steril. 2010;94(7):2828-31.

Greaves M. Antiphospholipid antibodies and thrombosis. Lancet. 1999;353(9161):1348-53.

Schust DJ HJ. Abortamento recorrente. In: Berek JS e, editor. Tratado de ginecologia. 13a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005. p. 996-1023.

Haemostasis and Thrombosis Task Force, British Committee for Standards in Haematology. Investigation and management of heritable thrombophilia. Br J Haematol. 2001;114(3):512-28.

Helgadottir LB, Skjeldestad FE, Jacobsen AF, Sandset PM, Jacobsen EM. The association of antiphospholipid antibodies with intrauterine fetal death: a case-control study. Thromb Res. 2012;130(1):32-7.

Hojo S, Tsukimori K, Kinukawa N, Hattori S, Kang D, Hamasaki N, et al. Decreased maternal protein S activity is associated with fetal growth restriction. *Thromb Res*. 2008;123(1):55-9.

Hossain N, Shamsi T, Khan N, Naz A. Thrombophilia investigation in Pakistani women with recurrent pregnancy loss. *J Obstet Gynaecol Res*. 2013;39(1):121-5.

Jackson BR, Holmes K, Phansalkar A, Rodgers GM. Testing for hereditary thrombophilia: a retrospective analysis of testing referred to a national laboratory. *BMC Clin Pathol* 2008;8:3.

Jaslow CR, Carney JL, Kutteh WH. Diagnostic factors identified in 1020 women with two versus three or more recurrent pregnancy losses. *Fertil Steril*. 2010;93(4):1234-43.

Jauniaux E, Farquharson RG, Christiansen OB, Exalto N. Evidence-based guidelines for the investigation and medical treatment of recurrent miscarriage. *Hum Reprod*. 2006;21(9):2216-22.

Kaiser R, Barton JL, Chang M, Catanese JJ, Li Y, Begovich AB, et al. Factor V Leiden and thrombosis in patients with systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. *Genes Immun*. 2009;10(5):495-502.

Kaiser R, Li Y, Chang M, Catanese J, Begovich AB, Brown EE, et al. Genetic risk factors for thrombosis in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol*. 2012;39(8):1603-10.

Karakantza M, Androutsopoulos G, Mougou A, Sakellaropoulos G, Kourounis G, Decavalas G. Inheritance and perinatal consequences of inherited thrombophilia in Greece. *Int J Gynaecol Obstet*. 2008;100(2):124-9.

Khan KS, Wojdyla D, Say L, Gulmezoglu AM, Van Look PF. WHO analysis of causes of maternal death: a systematic review. *Lancet*. 2006;367(9516):1066-74.

Kosar A, Kasapoglu B, Kalyoncu S, Turan H, Balcik OS, Gumus EI. Treatment of adverse perinatal outcome in inherited thrombophilias: a clinical study. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2011;22(1):14-8

Krabbendam I, Franx A, Bots ML, Fijnheer R, Bruinse HW. Thrombophilias and recurrent pregnancy loss: a critical appraisal of the literature. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2005;118(2):143-53.

Kujovich JL. Thrombophilia and pregnancy complications. *Am J Obstet Gynecol*. 2004;191(2):412-24.

Kupferminc MJ, Fait G, Many A, Gordon D, Eldor A, Lessing JB. Severe preeclampsia and high frequency of genetic thrombophilic mutations. *Obstet Gynecol.* 2000;96(1):45-9.

Laskin CA, Clark CA, Spitzer KA. Antiphospholipid syndrome in systemic lupus erythematosus: is the whole greater than the sum of its parts? *Rheum Dis Clin North Am.* 2005;31(2):255-72, vi.

Lee RM, Brown MA, Branch DW, Ward K, Silver RM. Anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein-I antibodies in preeclampsia. *Obstet Gynecol.* 2003;102(2):294-300.

Lijfering WM, Coppens M, Veeger NJ, Middeldorp S, Hamulyak K, Prins MH, et al. Hyperhomocysteinemia is not a risk factor for venous and arterial thrombosis, and is associated with elevated factor VIII levels. *Thromb Res.* 2008;123(2):244-50.

Lockwood CJ. Inherited thrombophilias in pregnant patients: detection and treatment paradigm. *Obstet Gynecol.* 2002;99(2):333-41.

Louzada-Jr PSS, Voltarelli JC, Donadi EA. Síndrome do Anticorpo Antifosfolípide. *Medicina, Ribeirão Preto.* 1998;31:305-15.

Martinelli I, De Stefano V, Taioli E, Paciaroni K, Rossi E, Mannucci PM. Inherited thrombophilia and first venous thromboembolism during pregnancy and puerperium. *Thromb Haemost.* 2002;87(5):791-5.

Martinez-Zamora MA, Cervera R, Balasch J. Recurrent miscarriage, antiphospholipid antibodies and the risk of thromboembolic disease. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2012;43(3):265-74.

Mattar R, Camano L, Daher S. Aborto espontâneo de repetição e atopia. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2003;25(5):331-5.

Mayer EL, Jacobsen DW, Robinson K. Homocysteine and coronary atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol.* 1996;27(3):517-27.

McNamee K, Dawood F, Farquharson RG. Thrombophilia and early pregnancy loss. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2012;26(1):91-102.

Mecacci F, Bianchi B, Pieralli A, Mangani B, Moretti A, Cioni R, et al. Pregnancy outcome in systemic lupus erythematosus complicated by anti-phospholipid antibodies. *Rheumatology (Oxford).* 2009;48(3):246-9.

Mello G, Parretti E, Marozio L, Pizzi C, Lojacono A, Frusca T, et al. Thrombophilia is significantly associated with severe preeclampsia: results of a large-scale, case-controlled study. *Hypertension*. 2005;46(6):1270-4.

Mezzesimi A, Florio P, Reis FM, D'Aniello G, Sabatini L, Razzi S, et al. The detection of anti-beta2-glycoprotein I antibodies is associated with increased risk of pregnancy loss in women with threatened abortion in the first trimester. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2007;133(2):164-8.

Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch W, Brey RL, Cervera R, et al. International consensus statement of an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemaost*, 2006;4(2):295-306.

Micle O, Muresan M, Antal L, Bodog F, Bodog A. The influence of homocysteine and oxidative stress on pregnancy outcome. *J Med Life*. 2012;5(1):68-73.

Monari F, Alberico S, Avagliano L, Cetin I, Cozzolino S, Gargano G, et al. Relation between maternal thrombophilia and stillbirth according to causes/associated conditions of death. *Early Hum Dev*. 2012;88(4):251-4.

Mtiraoui N, Borgi L, Hizem S, Nsiri B, Finan RR, Gris JC, et al. Prevalence of antiphospholipid antibodies, factor V G1691A (Leiden) and prothrombin G20210A mutations in early and late recurrent pregnancy loss. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2005;119(2):164-70.

Mujawar SA, Patil VW, Daver RG. Study of serum homocysteine, folic Acid and vitamin b(12) in patients with preeclampsia. *Indian J Clin Biochem.* 2011;26(3):257-60.

Nelen WL, Blom HJ, Steegers EA, den Heijer M, Eskes TK. Hyperhomocysteinemia and recurrent early pregnancy loss: a meta-analysis. 2000a;74(6):1196-9.

Nelen WL, Blom HJ, Steegers EA, den Heijer M, Thomas CM, Eskes TK. Homocysteine and folate levels as risk factors for recurrent early pregnancy loss. *Obstet Gynecol.* 2000b;95(4):519-24.

Pabinger I. Thrombophilia and its impact on pregnancy. *Thromb Res.* 2009;123 Suppl 3:S16-21.

Paidas MJ, Ku DH, Lee MJ, Manish S, Thurston A, Lockwood CJ, et al. Protein Z, protein S levels are lower in patients with thrombophilia and subsequent pregnancy complications. *J Thromb Haemost.* 2005;3(3):497-501.

Pasquier E, Bohec C, Mottier D, Jaffuel S, Mercier B, Ferec C, et al. Inherited thrombophilias and unexplained pregnancy loss: an incident case-control study. *J Thromb Haemost*. 2009;7(2):306-11.

Pierangeli SS, Leader B, Barilaro G, Willis R, Branch DW. Acquired and inherited thrombophilia disorders in pregnancy. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 2011;38(2):271-95, x.

Prasmusinto D, Skrablin S, Fimmers R, van der Ven K. Ethnic differences in the association of factor V Leiden mutation and the C677T methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism with preeclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2004;112(2):162-9.

Rambaldi MP, Mecacci F, Guaschino S, Paidas MJ. Inherited and Acquired Thrombophilias. *Reprod Sci*. 2014;21(2):167-82.

Ridker PM, Hennekens CH, Selhub J, Miletich JP, Malinow MR, Stampfer MJ. Interrelation of hyperhomocyst(e)inemia, factor V Leiden, and risk of future venous thromboembolism. *Circulation*. 1997;95(7):1777-82.

Robertson L, Wu O, Langhorne P, Twaddle S, Clark P, Lowe GD, et al. Thrombophilia in pregnancy: a systematic review. *Br J Haematol*. 2006;132(2):171-96.

Ruiz-Irastorza G, Crowther M, Branch W, Khamashta MA. Antiphospholipid syndrome. *Lancet*. 2010;376(9751):1498-509.

Ruiz-Irastorza G, Khamashta MA. Antiphospholipid syndrome in pregnancy. *Rheum Dis Clin North Am*. 2007;33(2):287-97, vi.

Ruiz-Irastorza G, Khamashta MA. Lupus and pregnancy: integrating clues from the bench and bedside. *Eur J Clin Invest*. 2011;41(6):672-8.

Said JM, Higgins JR, Moses EK, Walker SP, Monagle PT, Brennecke SP. Inherited thrombophilias and adverse pregnancy outcomes: a case-control study in an Australian population. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2011;91(2):250-5.

Sep S, Verbeek J, Koek G, Smits L, Spaanderman M, Peeters L. Clinical differences between early-onset HELLP syndrome and early-onset preeclampsia during pregnancy and at least 6 months postpartum. *Am J Obstet Gynecol*. 2010;202(3):271 e1-5.

Sikora J, Magnucki J, Zietek J, Kobielska L, Partyka R, Kokocinska D, et al. Homocysteine, folic acid and vitamin B12 concentration in patients with recurrent miscarriages. *Neuro Endocrinol Lett*. 2007;28(4):507-12.

Silver RM, Zhao Y, Spong CY, Sibai B, Wendel G, Jr., Wenstrom K, et al. Prothrombin gene G20210A mutation and obstetric complications. *Obstet Gynecol.* 2010;115(1):14-20.

Sotiriadis A, Vartholomatos G, Pavlou M, Kolaitis N, Dova L, Stefos T, et al. Combined thrombophilic mutations in women with unexplained recurrent miscarriage. *Am J Reprod Immunol.* 2007;57(2):133-41.

Spaanderman ME, Ekhart TH, van Eyck J, Cheriex EC, de Leeuw PW, Peeters LL. Latent hemodynamic abnormalities in symptom-free women with a history of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2000;182(1 Pt 1):101-7.

Stauffenberg MT, Lange RA, Hillis D, Cogarroa J, Hsu RM, Devaraj S, et al. Hyperhomocysteinemia measured by immunoassay. *Arch Pathol Lab Med.* 2004;128(11):1263-6.

Torresan M, Machado TF, Siqueira LH, Ozelo MC, Arruda VR, Annichino-Bizzacchi JM. The impact of the search for thrombophilia risk factors among antiphospholipid syndrome patients with thrombosis. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2000;11(7):679-82.

Toth B, Vocke F, Rogenhofer N, Friese K, Thaler CJ, Lohse P. Paternal thrombophilic gene mutations are not associated with recurrent miscarriage. *Am J Reprod Immunol.* 2008;60(4):325-32.

Triplett DA, Stocker KF, Unger GA, Barna LK. The Taxarin/Ecarin ratio: A confirmatory test for lupus anticoagulants. *Thromb Haemost* 1993;70(6):925-31.

van Rijn BB, Hoeks LB, Bots ML, Franx A, Bruinse HW. Outcomes of subsequent pregnancy after first pregnancy with early-onset preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2006;195(3):723-8.

Vaya A, Santaolaria M, Mico L, Calvo J, Oropesa R, Villa P, et al. Thrombotic events in systemic lupus erythematosus. Its association with acquired and inherited thrombophilic defects. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2008;40(2):79-87.

Villani M, Tiscia GL, Margaglione M, Colaizzo D, Fischetti L, Vergura P, et al. Risk of obstetric and thromboembolic complications in family members of women with previous adverse obstetric outcomes carrying common inherited thrombophilias. *J Thromb Haemost.* 2012;10(2):223-8.

Vora S, Shetty S, Salvi V, Satoskar P, Ghosh K. A comprehensive screening analysis of antiphospholipid antibodies in Indian women with fetal loss. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2008;137(2):136-40.

Walker MC, Ferguson SE, Allen VM. Heparin for pregnant women with acquired or inherited thrombophilias. *Cochrane Database Syst Rev.* 2003(2):CD003580.

Wei Q, Ouyang Y, Zeng W, Duan L, Ge J, Liao H. Pregnancy complicating systemic lupus erythematosus: a series of 86 cases. *Arch Gynecol Obstet.* 2011;284(5):1067-71.

Wen SW, Chen XK, Rodger M, White RR, Yang Q, Smith GN, et al. Folic acid supplementation in early second trimester and the risk of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2008;198(1):45.e1-7.

Yan Yuen S, Krizova A, Ouimet JM, Pope JE. Pregnancy Outcome in Systemic Lupus Erythematosus (SLE) is Improving: Results from a Case Control Study and Literature Review. *Open Rheumatol J.* 2008;2:89-98.

ANEXO A



Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Comitê de Ética em Pesquisa /CEP/UFMS



Carta de Aprovação

A minha assinatura neste documento, atesta que o protocolo nº 884 do Pesquisador Ernesto Antônio Figueiró Filho intitulado "Associação entre abortamentos recorrentes, pré-eclâmpsia e perdas fetais com a presença de trombofilias e anticorpos antifosfolípidios em gestantes", e o seu Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, foram revisados por este comitê e aprovados em reunião ordinária no dia 17 de maio de 2007, encontrando-se de acordo com as resoluções normativas do Ministério da Saúde.

Prof. Odair Pimentel Martins

Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da UFMS

Campo Grande, 18 de maio de 2007.

Comitê de Ética da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
<http://www.propp.ufms.br/bioetica/cep/>
bioetica@propp.ufms.br
fone 0XX67 345-7187

APÊNDICE A

PROTOCOLO DE ESTUDO

Projeto: Associação entre abortamentos recorrentes, pré-eclâmpsia e perdas fetais com a presença de trombofilias e anticorpos antifosfolípides em gestantes

Grupo de Estudo: _____

Dados de Identificação Pessoal:

Nº Prontuário HU: _____

Iniciais: _____ Idade: _____ DataNasc: ____/____/____

Raça: _____ Escolaridade: _____ Estado Civil: _____

Profissão atual _____ Naturalidade _____ Procedência _____

História da Gestação Atual

Gesta ____ Para ____ Aborto ____ DUM ____/____/____ PDP ____/____/____;

Intercorrências clínicas, obstétricas e fetais associadas (outras infecções, TPP, Anemia, Amniorrexe prematura, Pré-eclâmpsia, Diabetes gestacional, Candidíase vaginal, LES):

Evolução de gestações anteriores:

Antecedentes pessoais patológicos:

Uso de Medicamentos:

Exames:

Pesquisa de anticorpos antifosfolípide:

ANTI-CARDIOLIPINA IgM

Metodologia: _____

Valores de referencia: _____ Resultado: _____

ANTI-CARDIOLIPINA Ig

Metodologia: _____

Valores de referencia: _____ Resultado: _____

ANTICOAGULANTE LUPICO:

Metodologia: _____

Valores de referencia: _____ Resultado: _____

ANTI-B2-GLICOPROTEÍNA I (B2 GP I) IgG:

Metodologia: _____

Valores de referencia: _____ Resultado: _____

Níveis séricos de Proteína C:

Metodologia: _____

Valores de referencia: _____ Resultado: _____

Níveis séricos de Proteína S:

Metodologia: _____

Valores de referencia: _____ Resultado: _____

Dosagem de Antitrombina:

Metodologia: _____

Valores de referencia: _____ Resultado: _____

Dosagem de Homocisteína plasmática:

Metodologia: _____

Valores de referencia: _____ Resultado: _____

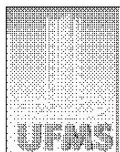
Pesquisa de mutação do gene do fator V

Metodologia: _____

Valores de referencia: _____ Resultado: _____

Data: ____ / ____ / ____

APÊNDICE B

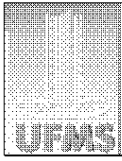


UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA DOUTOR HÉLIO MANDETA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO – GRUPO DE ESTUDO

Projeto: Associação entre abortamentos recorrentes, pré-eclâmpsia e perdas fetais com a presença de trombofilias e anticorpos antifosfolípides em gestantes

A Sra. está sendo convidada para participar, como voluntária, em uma pesquisa, realizada pelo departamento de ginecologia e obstetrícia da faculdade de medicina da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, juntamente com a pró-reitoria de pesquisa e pós-graduação, sob orientação do Professor Doutor Ernesto A. Figueiró-Filho. O referido trabalho realizado de acordo com as normas para iniciação científica fixadas pelo CNPq/UFMS, tendo o objetivo estudar os casos de gestantes portadoras de Lúpus Eritematoso Sistêmico ou com abortamentos recorrentes, pré-eclâmpsia e óbitos fetais e sua associação à presença de Anticorpo Antifosfolípides e Trombofilias entre as gestantes do Ambulatório de Gestação de Alto Risco. A presença de anticorpos antifosfolípides e trombofilias está relacionada a trombooses venosas ou arteriais, dentre as complicações obstétricas estão: perdas fetais recorrentes, morte fetal inexplicada no segundo e terceiro trimestre, pré-eclâmpsia, restrição do crescimento intra-uterino e insuficiência placentária. Com este estudo saberemos a taxa de mulheres que apresentam os anticorpos antifosfolípides e risco para trombofilias, assim pode-se estabelecer medidas para evitar complicações obstétricas. A Sra está sendo convidada a participar por ser portadora de Lúpus Eritematoso Sistêmico ou ter história de abortamentos recorrentes ou perdas fetais em gestações anteriores e/ou ter desenvolvido pré-eclâmpsia durante a atual gestação. Em pacientes portadoras de Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) pode ocorrer complicações obstétricas devido a presença destes anticorpos que são encontrados normalmente em pacientes que possuem esta doença, e se encontra exacerbado durante a gestação, e de fatores que predispõe trombofilias. As pacientes que possuem história de abortamento recorrente e perdas fetais onde os casos não foram elucidados, podem possuir a presença de anticorpos antifosfolípides e ou fatores para trombofilias, que pode ser a causa para a ocorrência de abortos ou óbitos fetais, podendo quando diagnosticado a presença destes anticorpos e de fatores para trombofilia evitar novos casos. A ocorrência de pré-eclâmpsia é caracterizada pelo desenvolvimento de hipertensão arterial, proteinúria (presença de proteínas na urina) e edema a partir da 20^o semana de gestação, onde a ocorrência deste evento esta relacionada a danos vasculares devido a presença de fatores que pré dispõem trombofilias. As pacientes portadoras de fatores para trombofilia possuem risco de complicações durante a gestação oito vezes maior que pacientes não portadoras de fatores para trombofilia. A Sra será solicitada a realizar alguns exames específicos para detectar a presença de Anticorpos Antifosfolípides e Trombofilias, onde serão coletados aproximadamente 20 ml de sangue de uma veia do braço direito ou esquerdo, podendo ou não sentir dor no local da picada da agulha. A Sra deverá estar em jejum de no mínimo 8 horas e a coleta será realizada no Laboratório de Análises clínicas (LAC) do Hospital Universitário em data previamente marcada. Será realizado um exame para a verificação de um dos fatores para a ocorrência de trombose, onde será feito uma pesquisa genética específica para a detecção deste fator. Esta pesquisa é necessária pois não existe nenhum outro método para a identificação desta deficiência (a pesquisa genética é exclusivamente para a detecção da um dos fatores para o risco de trombofilia). A Sra está sendo convidada



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA DOUTOR HÉLIO MANDETA

a responder algumas perguntas e autorizar a utilização dos resultados dos seus exames. Não há nenhum risco para a Sra ou para o bebê, neste estudo. Sua participação é voluntária e caso não concorde não precisará responder as perguntas. Se concordar em participar no estudo, manteremos sigilo absoluto de sua identidade, interessando apenas as informações recebidas. Se você concordar em participar do estudo, seu nome e identidade serão mantidos em sigilo. O benefício que a Sra. obterá com este projeto são: poderá ser diagnosticado um dos fatores para complicações durante a gravidez, onde a Sra. receberá o atendimento médico necessário para que evitar qualquer problema durante a gestação. A qualquer momento a Sra poderá deixar de participar do estudo ou solicitar que seus dados sejam retirados, bastando apenas entrar em contato com Dr Ernesto pelo fone (67)3345-3138 às sextas-feiras das 13h às 17h.

Prof. Dr. Ernesto Antônio Figueiró Filho Fone: (67)3345-3138
Comitê de Ética em Pesquisa com seres Humanos – CEP - 33457187

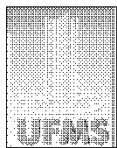
CONSENTIMENTO DE PARTICIPAÇÃO

Eu, _____, portadora do RG nº _____ e CPF nº _____ abaixo assinado, concordo em participar do estudo: **Associação entre Abortamentos Recorrentes, Perdas Fetais e Pré-Eclampsia com a Presença de Anticorpos Antifosfolípide e Trombofilias**. Declaro ainda que fui devidamente informada e esclarecida _____ pelo _____ pesquisador _____ sobre os objetivos da pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido o direito de, a qualquer momento, retirar meu consentimento de participação, sem que tal medida me penalize ou interrompa os meus direitos de acompanhamento, assistência e tratamento no Sistema Único de Saúde.

Firmo o presente em duas vias de igual teor,

_____, ____/____/____, _____
Local, Data e Assinatura

APÊNDICE C

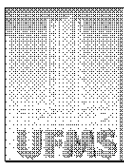


UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA DOUTOR HÉLIO MANDETA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO – GRUPO CONTROLE

Projeto: Associação entre abortamentos recorrentes, pré-eclâmpsia e perdas fetais com a presença de trombofilias e anticorpos antifosfolípides em gestantes

A Sra. está sendo convidada para participar, como voluntária, em uma pesquisa, realizada pelo departamento de ginecologia e obstetrícia da faculdade de medicina da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, juntamente com a pró-reitoria de pesquisa e pós-graduação, sob orientação do Professor Doutor Ernesto A. Figueiró-Filho. O referido trabalho realizado de acordo com as normas para iniciação científica fixadas pelo CNPq/UFMS, tendo o objetivo estudar os casos de gestantes portadoras de Lúpus Eritematoso Sistêmico ou com abortamentos recorrentes, pré-eclâmpsia e óbitos fetais e sua associação à presença de Anticorpo Antifosfolípides e Trombofilias entre as gestantes do Ambulatório de Gestação de Alto Risco. O Lúpus Eritematoso Sistêmico é uma doença auto-imune, sistêmica e inflamatória com a produção de anticorpos contra o próprio organismo. Os anticorpos antifosfolípides são anticorpos que reagem contra as células do próprio organismo. Trombofilia é um termo que inclui situações associadas com o aumento da coagulação sangüínea. A presença de anticorpos antifosfolípides e trombofilias está relacionada a trombooses de veias ou arterias e complicações obstétricas como perdas fetais recorrentes, morte fetal inexplicada no segundo e terceiro trimestres de gestação, pré-eclâmpsia. A trombose é a formação de coágulo sangüíneo nas veias. A ocorrência de pré-eclâmpsia é caracterizada pelo desenvolvimento do aumento da pressão arterial, presença de proteínas na urina e edema a partir da 20^o semana de gestação. Com este estudo saberemos a taxa de mulheres que apresentam os anticorpos antifosfolípides e risco para trombofilias, assim pode-se estabelecer medidas para evitar complicações obstétricas. A Sra. está sendo convidada por ser gestante de baixo risco e não possuir nenhuma patologia associada, e o resultado dos seus exames serão utilizados para comparar com os resultados dos exames das gestante de alto risco, para podermos estabelecer uma relação entre as gestantes normais e as que possuem Lúpus Eritematoso Sistêmico ou com abortamentos recorrentes, pré-eclâmpsia e óbitos fetais. *Repito: A Sra. não se encaixa no grupo de estudo, pois não é portadora de Lúpus Eritematoso Sistêmico, não possui história de abortamentos recorrentes e ou perda fetal em gestações anteriores e nem desenvolveu pré-eclâmpsia na gestação atual, sendo portanto considerada NORMAL.* A Sra será solicitada a realizar alguns exames específicos para detectar a presença de Anticorpos Antifosfolípides e Trombofilias, onde serão coletados aproximadamente 20 ml de sangue de uma veia do braço direito ou esquerdo, podendo ou não sentir dor no local da picada da agulha. A Sra deverá estar em jejum de no mínimo 8 horas e a coleta será realizada no Laboratório de Análises clínicas (LAC) do Hospital Universitário em data previamente marcada. Será realizado um exame para a verificação de um dos fatores para a ocorrência de trombose, onde será feito uma pesquisa genética específica para a detecção deste fator. Esta pesquisa é necessária pois não existe nenhum outro método para a identificação desta deficiência (a pesquisa genética é exclusivamente para a detecção da um dos fatores para o risco de trombofilia). O sangue coletado será utilizado única e exclusivamente para as dosagens deste projeto. Caso seja encontrado qualquer alteração nos exames realizados para este estudo, a Sra será comunicada e receberá toda orientação e acompanhamento



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA DOUTOR HÉLIO MANDETA

necessário, poderá optar por intervenção médica caso haja risco para Sra e/ou para o bebê. Não há nenhum risco para a Sra ou para o bebê, neste estudo. A Sra receberá as orientações necessárias e caso não concorde não precisará responder as perguntas. Se concordar em participar no estudo, manteremos sigilo absoluto de sua identidade, interessando apenas as informações recebidas. Você responderá a algumas perguntas e usaremos as informações anotadas no seu prontuário médico. Também poderemos solicitar os exames que você realizou durante o pré-natal. Se você concordar em participar do estudo, seu nome e identidade serão mantidos em sigilo. O benefício obtido pela Sra. com este estudo será na colaboração para identificarmos os fatores que levam a ocorrência de problemas durante a gestação em pacientes que possuem gestação de alto risco. A qualquer momento a Sra poderá deixar de participar do estudo ou solicitar que seus dados sejam retirados, bastando apenas entrar em contato com Dr Ernesto pelo fone (67)3345-3138 às sextas-feiras das 13h às 17h. Não ocorrendo perda de nenhum benefício ao qual a Sra tenha direito, nem deixando de ter o atendimento pelo Sistema Único de Saúde (SUS).

Este termo esta sendo redigido em duas vias, onde uma via ficará com a paciente e outra com o pesquisador

Prof. Dr. Ernesto Antônio Figueiró Filho Fone: (67)3345-3138

Comitê de Ética em Pesquisa com seres Humanos – CEP - 33457187

CONSENTIMENTO DE PARTICIPAÇÃO

Eu, _____, portadora do RG nº _____ e CPF nº _____ abaixo assinado, concordo em participar do estudo: **Associação entre Abortamentos Recorrentes, Perdas Fetais e Pré-Eclampsia com a Presença de Anticorpos Antifosfolípide e Trombofilias**. Declaro ainda que fui devidamente informada e esclarecida _____ pelo _____ pesquisador _____ sobre os objetivos da pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido o direito de, a qualquer momento, retirar meu consentimento de participação, sem que tal medida me penalize ou interrompa os meus direitos de acompanhamento, assistência e tratamento no Sistema Único de Saúde.

_____, ____/____/____, _____
Local, Data e Assinatura

APÊNDICE D – Distribuição da associação de marcadores para trombofilias encontrados na mesma paciente entre as gestantes dos grupos de estudo.

Associação de marcadores encontrados na mesma paciente		Grupo AB		Grupo PE		Grupo LES		Grupo CO		Total	
		%	n	%	n	%	n	%	n	%	n
aCL IgM +	aCL IgG	0,7	1/148	0,0	0/84	0,0	0/30	0,0	0/32	0,3	1/294
	aCL IgG + Deficiência AT	0,0	0/148	1,2	1/84	0,0	0/30	0,0	0/32	0,3	1/294
	aCL IgG + AL + Hiperhomo	0,7	1/148	0,0	0/84	0,0	0/30	0,0	0/32	0,3	1/294
	AL + Hiperhomo	0,0	0/148	1,2	1/84	0,0	0/30	0,0	0/32	0,3	1/294
	AL + Anti-β ₂ GPI	0,7	1/148	0,0	0/84	0,0	0/30	0,0	0/32	0,3	1/294
	Deficiência PS	0,7	1/148	0,0	0/84	0,0	0/30	0,0	0/32	0,3	1/294
	Deficiência de PS + Deficiência AT	1,4	2/148	0,0	0/84	0,0	0/30	0,0	0/32	0,7	2/294
	Deficiência de PS + FV Leiden	0,7	1/148	0,0	0/84	0,0	0/30	0,0	0/32	0,3	1/294
	Deficiência AT	2,0	3/148	2,4	2/84	3,3	1/30	0,0	0/32	2,0	6/294
	Hiperhomo	2,0	3/148	0,0	0/84	0,0	0/30	0,0	0/32	1,0	3/294
	Hiper + FV Leiden	1,4	2/148	0,0	0/84	0,0	0/30	0,0	0/32	0,7	2/294
	FV Leiden	0,7	1/148	0,0	0/84	0,0	0/30	0,0	0/32	0,3	1/294
aCL IgG +	AL	0,7	1/148	0,0	0/84	0,0	0/30	0,0	0/32	0,3	1/294
	Anti-β ₂ GPI	0,0	0/148	0,0	0/84	3,3	1/30	0,0	0/32	0,3	1/294
	Deficiência PS	1,4	2/148	1,2	1/84	0,0	0/30	0,0	0/32	1,0	3/294
	Deficiência PS + Hiperhomoc	0,7	1/148	0,0	0/84	3,3	1/30	0,0	0/32	0,7	2/294
	Hiperhomo	0,7	1/148	0,0	0/84	0,0	0/30	0,0	0/32	0,3	1/294
	Deficiência de PC +										
AL +	Deficiência PS + Hiperhomo	0,7	1/148	0,0	0/84	0,0	0/30	0,0	0/32	0,3	1/294
	Deficiência PS	0,0	0/148	2,4	2/84	0,0	0/30	0,0	0/32	0,7	2/294
	Deficiência AT	0,7	1/148	1,2	1/84	6,6	2/30	0,0	0/32	1,4	4/294

Continua - Distribuição da associação de marcadores para trombofilias encontrados na mesma paciente entre as gestantes dos grupos de estudo.

AL +	Deficiência AT + Hiperhomo	0,7	1/148	1,2	1/84	0,0	0/30	0,0	0/32	0,7	2/294
	Hiperhomo	2,7	4/148	2,4	2/84	0,0	0/30	0,0	0/32	2,0	6/294
Anti- β_2 GPI +	Deficiência AT	0,7	1/148	0,0	0/84	0,0	0/30	0,0	0/32	0,3	1/294
	Hiperhomo	0,0	0/148	1,2	1/84	3,3	1/30	0,0	0/32	0,7	2/294
Deficiência de PC +	Deficiência PS	0,7	1/148	1,2	1/84	0,0	0/30	0,0	0/32	0,7	2/294
	Deficiência PS + Deficiência AT	0,7	1/148	0,0	0/84	0,0	0/30	0,0	0/32	0,3	1/294
	Deficiência PS + Hiperhomo	0,0	0/148	1,2	1/84	0,0	0/30	0,0	0/32	0,3	1/294
	Deficiência AT	0,0	0/148	1,2	1/84	0,0	0/30	0,0	0/32	0,3	1/294
Deficiência de PS +	Deficiência AT	4,7	7/148	2,4	2/84	6,6	2/30	0,0	0/32	3,7	11/294
	Deficiência AT + Hiperhomo	0,7	1/148	0,0	0/84	0,0	0/30	0,0	0/32	0,3	1/294
	Hiperhomo	2,7	4/148	0,0	0/84	3,3	1/30	0,0	0/32	1,7	5/294
	FV Leiden	0,7	1/148	0,0	0/84	0,0	0/30	0,0	0/32	0,3	1/294
Hiperhomo cisteinemia +	FV Leiden	0,7	1/148	0,0	0/84	0,0	0/30	0,0	0/32	0,3	1/294
Total		30,4	45/148	20,2	17/84	30,0	9/30	0,0	0/32	24,1	71/294

APÊNDICE E - ARTIGO 1

ERNESTO ANTONIO FIGUEIRÓ-FILHO¹
VANESSA MARCON DE OLIVEIRA²

Associação entre abortamentos recorrentes, perdas fetais, pré-eclâmpsia grave e trombofilias hereditárias e anticorpos antifosfolípidos em mulheres do Brasil Central

Association of recurrent abortion, fetal loss and severe pre-eclampsia with hereditary thrombophilias and antiphospholipid antibodies in pregnant women of central Brazil

Artigos originais

Palavras-chaves

Trombofilia/genética
Anticorpos antifosfolípidos
Pré-eclâmpsia
Gravidez de alto risco
Aborto habitual
Complicações hematológicas na gravidez

Keywords

Thrombophilia/genetics
Antibodies, antiphospholipid
Pre-eclampsia
Pregnancy, high-risk
Abortion, habitual
Pregnancy complications, hematologic

Resumo

OBJETIVO: verificar a associação entre abortamentos, perdas fetais recorrentes e pré-eclâmpsia grave e a presença de trombofilias hereditárias e anticorpos antifosfolípidos em gestantes. **MÉTODOS:** estudo observacional transversal de 48 gestantes com histórico de abortamentos recorrentes, perdas fetais (Grupo AB), além de pré-eclâmpsia grave (Grupo PE), atendidas no Ambulatório de Gravidez de Alto Risco da Faculdade de Medicina (Famed) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) no período de novembro de 2006 a julho de 2007. Rastreouse a presença de anticorpos antifosfolípidos (anticardiolipina IgM e IgG, anticoagulante lúpico e anti β_2 -glicoproteína I) e trombofilias hereditárias (deficiências de proteínas C e S, antitrombina, hiperhomocisteinemia e mutação do fator V Leiden) nas gestantes de ambos os grupos. Os exames foram realizados durante o pré-natal. Os dados paramétricos (idade e paridade) foram analisados por meio do teste t de Student e os não paramétricos (presença/ausência de trombofilias hereditárias e anticorpos antifosfolípidos, presença/ausência de pré-eclâmpsia grave, perdas fetais e abortamentos de repetição) em tabelas 2X2 utilizando o teste exato de Fisher, considerando significativo $p < 0,05$. **RESULTADOS:** das 48 gestantes, 31 (65%) foram incluídas no Grupo AB e 17 (35%) no Grupo PE. Não houve diferença entre a idade materna e o número de gestações entre os grupos. Houve associação significativa entre abortos e perdas fetais recorrentes e a presença de trombofilias maternas ($p < 0,05$). Não se verificou associação significativa do Grupo AB com a presença de anticorpos antifosfolípidos. Também não houve associação significativa entre presença de trombofilias hereditárias e anticorpos antifosfolípidos e a ocorrência de pré-eclâmpsia grave em gestação anterior. **CONCLUSÕES:** os dados obtidos sugerem investigação da rotina para trombofilias em pacientes com história de abortamentos recorrentes e perdas fetais em gestações anteriores.

Abstract

PURPOSE: to verify the association of abortion, recurrent fetal loss, miscarriage and severe pre-eclampsia with the presence of hereditary thrombophilias and antiphospholipid antibodies in pregnant women. **METHODS:** observational and transverse study of 48 pregnant women with past medical record of miscarriage, repeated abortion and fetal loss story (AB Group) and severe pre-eclampsia (PE Group), attended to in the High Risk Pregnancy Ambulatory of the Faculdade de Medicina (Famed) from the Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) from November 2006 to July 2007. The pregnant women of both groups were screened for the presence of antiphospholipid antibodies (anticardiolipin IgG and IgM, lupic anticoagulant and anti β_2 -glycoprotein I) and hereditary thrombophilias (protein C and S deficiency, antithrombin deficiency, hyperhomocysteinemia and factor V Leiden mutation). The laboratorial screening was performed during the pregnancy. The parametric data (maternal age and parity) were analyzed with Student's t test. The nonparametric data (presence/absence of hereditary thrombophilias and antiphospholipid antibodies, presence/absence of pre-eclampsia, fetal loss, miscarriage and repeated abortion) were analyzed with Fisher's exact test in contingency tables. It was considered significant the association with p value < 0.05 . **RESULTS:** out of the 48 pregnant women, 31 (65%) were included in AB Group and 17 (35%) in PE Group. There was no significant difference between maternal age and parity within the groups. There was significant statistical association between recurrent fetal loss, recurrent abortions and previous miscarriages and maternal hereditary thrombophilias ($p < 0.05$). There was no statistical association between the AB Group and the presence of antiphospholipid antibodies. Neither there were associations of the PE Group with maternal hereditary thrombophilias and the presence of antiphospholipid antibodies. **CONCLUSIONS:** the data obtained suggest routine laboratorial investigation for hereditary thrombophilias in pregnant women with previous obstetrical story of recurrent fetal loss, repeated abortion and miscarriage.

Correspondência:

Ernesto Antonio Figueiró-Filho
Rua Nogueira Coutinho, 175, Cidade Jardim
CEP 79032-024 – Campo Grande/MS
Fone: (51) 3042-5005/3042-5025/84049961
E-mail: antfigueiro@uol.com.br

Recebido

27/08/2007

Aceito com modificações

28/11/2007

¹ Doutor, Professor do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina (FAMED) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS – Campo Grande (MS), Brasil.

² Pós-graduada do Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento da Região Centro-Oeste da Faculdade de Medicina (FAMED) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS – Campo Grande (MS), Brasil.

Introdução

O sucesso da gravidez depende do estabelecimento e da manutenção eficientes do sistema vascular útero-placentário. Durante a gestação, a unidade útero-placentária inicia e modula interação entre o endotélio vascular materno, as células imunocompetentes presentes localmente e os determinantes antigênicos presentes na superfície do trofoblasto, regulando o processo de adesão, ativação e migração celular, via modificações na rede de citocinas locais¹. A circulação placentária é assegurada por modificações nas artérias espiraladas e pela hipercoagulabilidade gestacional. Deste modo, tem-se a elevação dos fatores pró-coagulantes e redução dos fatores anticoagulantes e da fibrinólise, induzindo estado de hipercoagulabilidade secundária².

A síndrome do anticorpo antifosfolípido (SAAF) caracteriza-se pela ocorrência de trombose arterial ou venosa, abortos recorrentes e trombocitopenia, associados à evidência laboratorial de anticorpos antifosfolípidos. Os anticorpos antifosfolípidos incluem imunoglobulinas (IgG e IgM) auto-ímmunes, que reconhecem e ligam-se a complexos de proteínas plasmáticas, associadas a fosfolípidos de membrana, em testes laboratoriais *in vitro*³. As duas principais proteínas plasmáticas que funcionam como alvos antigênicos nos complexos reconhecidos pelos anticorpos antifosfolípidos são a β_2 -glicoproteína I e a protrombina (fator II da coagulação). Outras proteínas que podem se ligar a fosfolípidos e formar o complexo alvo dos anticorpos antifosfolípidos incluem: apolipoproteína H, proteína C, proteína S, anexina V, fator X, cininogênio de alto peso molecular, fator XI e o componente protéico do heparan-sulfato^{4,5}. As complicações obstétricas, associadas à SAAF, incluem abortos recorrentes, ocorrência precoce de pré-eclâmpsia e restrição de crescimento intra-uterino (RCIU)⁶⁻⁸.

Trombofilias são desordens hemostáticas nas quais há tendência ao aumento da frequência de processos tromboembólicos, sendo classificadas em hereditárias e adquiridas^{2,9}. Atingem cerca de 15% da população caucasiana predisposta a processos trombóticos⁹. A maioria dos casos de trombofilias cursa de modo assintomático. Pacientes portadores que apresentem situações de hipercoagulabilidade secundária, a exemplo da gravidez, poderão receber estímulos que resultarão na formação de trombos. Assim, a presença de trombofilias aumenta o estado de hipercoagulabilidade da gestação, causando trombose no leito de vascularização placentária, levando a complicações obstétricas².

São incluídas entre as trombofilias hereditárias as deficiências de antitrombina (antigamente denominada antitrombina III), proteína C e proteína S, mutações genéticas do fator V Leiden, gene G20210A da protombina e o gene C677T variante termolábil da enzima metilenotetrahidrofolato redutase^{10,11}. As trombofilias adquiridas mais comuns são devidas aos anticorpos antifosfolípidos, que incluem o anticoagulante lúpico e os anticorpos anticardiolipina^{10,11}. A resistência à proteína C ativada e a hiper-homocisteinemia são trombofilias derivadas da combinação de fatores hereditários e adquiridos¹².

Existem divergências quanto aos fatores que conduzem à ocorrência de abortos de repetição, não sendo possível elucidar mais da metade dos casos^{8,13}. Entre as causas propostas, encontram-se alterações cromossômicas (aneuploidias envolvendo os cromossomos 13, 16, 18, 21, 22, x e y)^{8,14}, anomalias uterinas (septos, sinéquias etc.)^{8,14,15}, distúrbios endócrinos (hipertireoidismo, *diabete mellitus* descompensado, infecções, síndrome de ovários policísticos)^{8,14,15} e os estados pró-trombóticos (trombofilias auto-ímmunes e de origem genética)¹⁴.

Devido ao grande número de complicações obstétricas, muitas vezes sem comprovação diagnóstica apropriada, objetivou-se, com o presente estudo, verificar a associação entre abortamentos recorrentes, perdas fetais e pré-eclâmpsia grave em gestações anteriores e a presença de trombofilias hereditárias (deficiência de antitrombina, proteína C e proteína S, mutação no fator V e hiper-homocisteinemia) e trombofilias adquiridas (SAAF) em pacientes grávidas.

Métodos

Desenvolvemos um estudo observacional transversal no qual foram incluídas 48 gestantes atendidas no Ambulatório de Gestação de Alto Risco da Faculdade de Medicina (FAMED) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) no período de novembro de 2006 a julho de 2007. Elas foram separadas em dois grupos de estudo, de acordo com os critérios de inclusão para cada um. Os grupos foram nomeados resumidamente de Grupo AB (perdas fetais e abortamento de repetição) e Grupo PE (pré-eclâmpsia grave).

No Grupo AB, foram incluídas gestantes com histórico de abortamentos recorrentes, perdas fetais e/ou mau prognóstico fetal em gestações anteriores. Consideraram-se como mau prognóstico fetal a presença de RCIU, o nascimento pré-termo anterior a 36 semanas completas e/ou a admissão do nascituro em Unidade de Terapia Intensiva (UTI) neonatal por período superior a sete dias. Definuiu-se como

abortamento de repetição a ocorrência de dois ou mais abortamentos clinicamente reconhecidos antes da 20ª semana de gestação^{8,13}. Foi considerado como óbito fetal toda perda fetal após a 20ª semana de gestação ou perda fetal com peso superior a 500 g^{8,13}.

No Grupo PE estavam as gestantes com histórico gestacional prévio de pré-eclâmpsia grave, considerada observando anotações de prontuário ou cartão da gestante de duas ou mais aferições de pressão arterial maior que 160x100 mmHg e proteinúria de 24 horas maior ou igual a 300 mg¹⁶.

Não foram incluídas em quaisquer dos grupos gestantes com histórico concomitante de pré-eclâmpsia grave com óbito fetal em gestação anterior.

Nas pacientes dos Grupos AB e PE, rastreou-se a presença de anticorpos antifosfolípidos com a dosagem de anticardiolipina IgM e IgG, anticoagulante lúpico e anti- β_2 -glicoproteína I. A presença de trombofilias hereditárias foi identificada pelas dosagens de proteína C e S da coagulação, antitrombina, homocisteína e pesquisa de mutação Q506 do fator V (fator V Leiden). As dosagens descritas foram realizadas apenas durante o pré-natal, não sendo repetidas no período puerperal.

As pacientes aceitaram participar do estudo e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). O estudo e seu TCLE foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da UFMS.

A pesquisa de anticorpos anticardiolipina IgM e IgG foi processada pelo método de ensaio imunoenzimático (ELISA), seguindo a metodologia sugerida internacionalmente de padronização¹⁷. Consideraram-se os resultados reagentes para IgM e IgG os valores superiores a 11 U MPL. A presença do anticoagulante lúpico foi investigada em três etapas: na primeira, foi realizado o teste de triagem com as técnicas de tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa) e tempo do veneno de víbora Russel diluído (dRVWT). Quando se obtinham valores superiores a 1,26 e/ou 1,14 para os testes de TTPa e dRVWT, respectivamente, realizou-se a segunda etapa, na qual se procedeu ao teste de TTPa utilizando uma mistura de 50% de plasma do paciente e 50% de plasma normal. Não havendo correção, procedeu-se à terceira etapa, que consiste na realização do teste dRVWT confirmatório, cujo resultado positivo para anticoagulante lúpico é superior a 1,21¹⁸.

A pesquisa de anticorpos anti- β_2 -glicoproteína I foi realizada por ELISA, na qual se consideraram reagentes os valores superiores a 15 U/mL¹⁹. Para dosagem de proteína C, foi realizado o método cromogênico¹⁹, cujo valor de referência é de 70 a 140% de atividade. Valores inferiores a 40% de atividade são considerados como deficiência de proteína C.

A dosagem de proteína S foi conduzida pelo método ELISA¹⁹, com valores de referência entre 55 e 160% de atividade, considerando como deficiência de proteína S valores inferiores a 55%. Para dosagem de antitrombina, o método escolhido foi o cromogênico¹⁹, cujo valor de referência se encontra entre 76 e 122%, sendo considerados deficiência de antitrombina valores inferiores a 76%. Para a dosagem de homocisteína, realizou-se cromatografia líquida de alta pressão (HPLC), com eluição isocrática e detecção fluorimétrica²⁰, cujo valor de referência é de 4 a 12 μ mol/L, sendo considerada a presença de hiper-homocisteinemia quando os resultados foram superiores a 12 μ mol/L.

A pesquisa de mutação no gene Q506 do fator V (fator V Leiden) foi conduzida por reação de polimerase em cadeia (PCR), previamente descrita²¹ com suas modificações²², sendo considerada positiva a presença de mutação (homozigoto ou heterozigoto).

Consideraram-se portadoras de trombofilias todas as gestantes que apresentaram resultados compatíveis com deficiência de proteína C, deficiência de proteína S, deficiência de antitrombina, hiper-homocisteinemia e a presença de mutação no fator V Leiden (heterozigoto ou homozigoto afetado). Consideraram-se portadoras de anticorpos antifosfolípidos todas as pacientes que obtiveram resultados reagentes para anticardiolipina IgM/IgG, anticoagulante lúpico e/ou anti- β_2 -glicoproteína I.

As variáveis paramétricas (idade e paridade) foram expressas pela média $\pm$ um desvio padrão (dp) e comparadas com o teste *t* de Student. As variáveis não paramétricas (presença/ausência de trombofilias hereditárias e anticorpos antifosfolípidos, presença/ausência de pré-eclâmpsia grave, perdas fetais e abortamentos de repetição) foram avaliadas em tabelas de contingência de dupla entrada, utilizando o teste exato de Fisher para as associações. Considerou-se significativo o valor de $p < 0,05$ em quaisquer testes estatísticos utilizados.

Resultados

Das 48 gestantes incluídas, 31 (65%) estavam no Grupo AB e 17 (35%) foram incluídas no Grupo PE. No Grupo AB, a média de idade das gestantes foi de $29,3 \pm 1,1$ anos, com número médio de gestações de $3,2 \pm 0,3$ e número médio de perdas de $1,2 \pm 0,3$. No Grupo PE, a média de idade das pacientes foi de $29,3 \pm 1,3$ anos, com número médio de gestações de $2,5 \pm 0,3$. Não houve diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) entre a idade materna e o número médio de gestações entre os grupos.

Tabela 1 - Associação entre a presença de trombofilias e história progressiva de abortamentos recorrentes, perdas fetais e pré-eclâmpsia grave em gestação anterior.

Trombofilias	Grupo AB* - Abortamentos recorrentes e/ou perdas fetais em gestações anteriores			Grupo PE** - Pré-eclâmpsia grave em gestação anterior		
	Sim	Não	Total	Sim	Não	Total
Presente	13 (27%)	2 (4%)	15 (31%)	2 (4%)	13 (27%)	15 (31%)
Ausente	18 (38%)	15 (31%)	33 (69%)	15 (31%)	18 (38%)	33 (69%)
Total	31 (65%)	17 (35%)	48 (100%)	17 (35%)	31 (65%)	48 (100%)

*Teste exato de Fisher. $p < 0,05$; RR=1,58; IC95%=1,09-2,29; **Teste exato de Fisher. $p > 0,05$; RR=1,40; IC95%=0,95-2,07.

Tabela 2 - Associação entre a presença de anticorpos antifosfolípidos e história progressiva de abortamentos recorrentes, perdas fetais e pré-eclâmpsia grave em gestação anterior.

Anticorpo antifosfolípido	Grupo AB* - Abortamentos recorrentes e/ou perdas fetais em gestações anteriores			Grupo PE** - Pré-eclâmpsia grave em gestação anterior		
	Sim	Não	Total	Sim	Não	Total
Presente	6 (13%)	1 (2%)	7 (15%)	1 (2%)	6 (13%)	7 (15%)
Ausente	25 (52%)	16 (33%)	41 (85%)	16 (33%)	25 (52%)	41 (85%)
Total	31 (65%)	17 (35%)	48 (100%)	17 (35%)	31 (65%)	48 (100%)

*Teste exato de Fisher. $p > 0,05$; RR=1,40; IC95%=0,95-2,07; **Teste exato de Fisher. $p > 0,05$; RR=1,40; IC95%=0,95-2,07.

Tabela 3 - Prevalência de trombofilias nos grupos de estudo.

Trombofilia	Grupo AB Abortamentos recorrentes e/ou perdas fetais em gestações anteriores (n/total do grupo)	Grupo PE Pré-eclâmpsia grave em gestação anterior (n/total do grupo)
Deficiência de proteína S	32% (9/31)	6% (1/17)
Deficiência de antitrombina III	16% (5/31)	-
Deficiência de proteína C	13% (4/31)	6% (1/17)
Hiper-homocisteinemia	3% (1/31)	6% (1/17)
Mutação do fator V Leiden	3% (1/31)	-

Tabela 4 - Casos de deficiência de antitrombina em pacientes do grupo de estudo AB (abortamentos recorrentes e/ou perdas fetais em gestações anteriores).

Paciente	Idade	Gesta	Para	Aborto	História em gestação anterior
1	24	2	1	0	RCIU, oligoâmnio e parto pré-termo anterior a 36 semanas completas
2	25	4	0	3	Abortamentos no primeiro trimestre de gestação
3	26	4	0	3	Abortamentos no primeiro trimestre de gestação
4	35	6	0	5	Abortamentos no primeiro trimestre de gestação
5	39	4	3	0	Gestações com parto pré-termo anterior a 36 semanas completas

RCIU=restrição do crescimento intra-útero.

A pesquisa de trombofilias hereditárias nas gestantes do Grupo AB observou resultado positivo em 27% da amostra. Nas pacientes do Grupo PE, a presença de trombofilias foi identificada em 4% da amostra, conforme descrito na Tabela 1.

A pesquisa de anticorpos antifosfolípidos em gestantes com histórico de abortamentos recorrentes e perdas fetais demonstrou resultado positivo em seis gestantes (13%), enquanto nas gestantes com história de pré-eclâmpsia grave em gestação anterior a presença destes anticorpos foi detectada em apenas uma gestante (2%), conforme apresentado na Tabela 2.

Nas gestantes do Grupo AB, as trombofilias mais prevalentes foram as deficiências de proteína S (32%), antitrombina (16%) e proteína C (13%). Nas gestantes do grupo com histórico de pré-eclâmpsia grave, encontraram-se prevalências semelhantes (6%) para as deficiências de proteína C, proteína S e hiper-homocisteinemia, conforme dados expostos na Tabela 3.

Houve associação significativa ($p < 0,05$) entre a presença de trombofilias e a ocorrência de abortamentos recorrentes e perdas fetais (Grupo AB), conforme demonstra a Tabela 1. Não houve associação significativa deste grupo com a identificação de anticorpos antifosfolípidos (Tabela 2).

Também não houve associação entre a presença de trombofilias e a identificação de anticorpos antifosfolípidos em gestantes do Grupo PE (Tabelas 1 e 2).

Discussão

Abortamentos recorrentes acometem aproximadamente 12 a 15% das gestações clinicamente diagnosticadas e afeta 2% da população em idade reprodutiva^{13,23}. Estudos indicam que o risco de novo episódio de abortamento localiza-se em torno de 24 a 29,6% em mulheres com histórico de um abortamento anterior – 30 a 36,4% após três casos e 40 a 50% após quatro episódios de abortamento^{8,15,24,25}.

Na presente casuística, a presença de anticorpos antifosfolípidos foi encontrada em 13% das pacientes com história de abortamentos recorrentes e perdas fetais, resultado este inferior ao verificado na literatura^{26,27}. No grupo de pacientes com história de pré-eclâmpsia grave em gestação anterior, encontrou-se 2% de prevalência de anticorpos antifosfolípidos, não sendo diferente das taxas descritas, as quais variam de 1,8 a 7%^{18,28,29}.

Ensaios laboratoriais identificando a presença sérica de β_2 -glicoproteína I são mais sensíveis para a detecção dos anticorpos antifosfolípidos comparativamente àqueles utilizando a identificação isolada de anticorpos anticardiolipina³⁰. Em mulheres apresentando histórico de abortamentos recorrentes, demonstrou-se que a identificação adicional de anti- β_2 -glicoproteína I não seleciona número maior de pacientes, anteriormente apresentando sorologia negativa para o anticorpo anticardiolipina. Deste modo, infere-se que a presença do marcador anti- β_2 -glicoproteína I apresenta associação com a síndrome antifosfolípide, mas não com perdas fetais recorrentes³¹.

O presente estudo demonstrou que, dentre as trombofilias, a presença das deficiências das proteínas C e S e antitrombina foi mais freqüente no grupo de pacientes que apresentavam história de abortamentos recorrentes e perdas fetais, havendo associação significativa entre a presença de fatores trombogênicos e a má história obstétrica deste grupo.

Existem diversos estudos envolvendo a deficiência de proteína S em pacientes com abortamentos recorrentes, consistindo em descrições de casos isolados de gestantes com abortamento espontâneo e associação com a presença de trombofilias^{9,21,27}. Presume-se maior risco de aborto espontâneo quando há deficiência das proteínas C ou S³². As deficiências de proteínas C e S são identificadas na gravidez quando os exames realizados durante o pré-natal demonstram níveis dessas proteínas abaixo dos valores de referência.

Durante a gravidez, há aumento nos níveis de certos fatores de coagulação e simultânea redução nas concentrações de proteínas anticoagulantes e fibrinólise^{14,26}. Estas modificações fisiológicas são importantes para minimizar o risco de perda sanguínea, aumentando a ocorrência de fenômenos tromboembólicos, principalmente quando estão associadas a fatores genéticos ou circunstanciais³³.

Em estudo recente, realizado com 602 pacientes, a prevalência da deficiência de proteína C atingiu 4,7% dos pacientes jovens com trombose venosa recorrente, e a deficiência de proteína S ocorreu em 3,7% de pacientes com trombose venosa³⁴. Aceita-se a possibilidade de as pacientes que possuem deficiência dessas proteínas desenvolverem abortamentos recorrentes devido à ocorrência

de trombozes no leito de implantação placentária. Esta hipótese pode ser aventada pelo presente estudo, considerando o achado de 32% de exames positivos para deficiência de proteína S e 13% de positividade para a presença de deficiência de proteína C nas gestantes com abortamentos recorrentes e perdas fetais (Grupo AB).

Também foi observada, nas gestantes do Grupo AB, prevalência de 16% de deficiência de antitrombina, valor mais elevado quando se compara a prevalência desta trombofilia com casuísticas de pacientes com fenômenos trombóticos, gestantes ou não, nas quais as taxas de deficiência de antitrombina variam de 2 a 3%³⁴. Observando detalhadamente os casos de deficiência de antitrombina da presente casuística, notam-se, além do histórico anterior de abortamentos de repetição, situações sugerindo insuficiência placentária, com gênese de RCIU e nascimentos pré-termo (Tabela 4).

Em gestantes com história de tromboembolismo venoso, descreveu-se em estudo semelhante maior prevalência de deficiência de antitrombina (12%), comparativamente à presença de mutação do fator V Leiden (8%)³⁵. Contraditoriamente, foi verificada prevalência três vezes menor da deficiência de antitrombina, quando comparada à presença da mutação do fator V Leiden, em grávidas com histórico de tromboembolismo³⁶.

A homocisteína é reconhecida como fator de risco independente para doenças arterio-coronarianas, doenças vasculares periféricas e trombose venosa profunda. A hiper-homocisteinemia é causada predominantemente por deficiência dietética de alguns co-fatores necessários para o metabolismo da homocisteína (ácido fólico, vitamina B6 ou vitamina B12). Pode ser também resultado de deficiência genética, na qual a mutação da enzima metiltetraidrofolato-redutase na posição 677C-T é identificada, dando lugar a enzima termolábil. Esta mutação possui uma prevalência relatada de 12% para genótipo homozigoto afetado. A pré-eclâmpsia está associada com a incidência de hiper-homocisteinemia e com o risco elevado de ocorrência de doenças cardiovasculares³⁷. Nas gestantes do Grupo PE, identificou-se hiper-homocisteinemia em 6% da amostra (Tabela 3).

No presente estudo, a positividade de hiper-homocisteinemia em pacientes com história de abortamentos recorrentes, perdas fetais e/ou mau prognóstico fetal foi de 3%. Este valor pode ser considerado baixo, considerando dados na literatura nos quais a incidência de hiper-homocisteinemia em metodologia semelhante foi de 27%³⁸. Entretanto, a presença de hiper-homocisteinemia passa a ter relevância no grupo de pacientes com histórico de abortamentos recorrentes e perdas fetais quando outros fatores trombofílicos são identificáveis neste grupo.

O principal agente de tratamento da hiper-homocisteinemia é o ácido fólico, com ou sem a adição de vitaminas B₁₂ e B₆³⁹. Verificou-se haver redução de 25% nos valores séricos de homocisteína quando administrado ácido fólico na dosagem de 5 mg/dia. A adição de 0,5 mg/dia de vitamina B₁₂ produziu redução adicional de 7%, enquanto a adição de 16,5 mg/dia de vitamina B₆ não foi significativa para modificar os níveis de homocisteína⁴⁰.

A prevalência da mutação do fator V de Leiden é extremamente variável em várias populações, sendo descrita prevalência aumentada até sete vezes em indivíduos caucásicos⁴¹. Estudos indicam associação entre a presença da mutação do fator V de Leiden e a ocorrência de abortamentos recorrentes^{29,41,42}. Contudo, outros autores não demonstraram tal associação^{43,44}, confirmando os achados do presente estudo, no qual encontrou-se prevalência de 3% para a mutação descrita.

A presença da mutação do fator V Leiden e sua associação com pré-eclâmpsia grave é extensamente discutida na literatura^{2,11,16}, entretanto, na presente amostra, não foi observada a presença de nenhum caso positivo de mutação do fator V Leiden no grupo de pacientes com história de pré-eclâmpsia grave em gestação anterior.

Em estudo nacional avaliando a prevalência de fatores trombofílicos em 144 mulheres com infertilidade,

identificou-se frequência de 2% de anticorpos anti-cardiolipina, 4% de deficiência de proteína C, 6% de deficiência de proteína S, 5% de deficiência de antitrombina e 3% de mutação do fator V de Leiden⁴⁵. Comparando os resultados com os obtidos na presente casuística, observa-se que a prevalência encontrada de anticorpos antifosfolípidos e trombofilias é maior em pacientes com má história obstétrica do que em mulheres inférteis.

Concluímos que a identificação de pacientes portadores de trombofilias é importante para a prevenção de acidentes tromboembólicos. O presente estudo sugere que mulheres portadoras de trombofilias (deficiência de proteína S, C e antitrombina, hiper-homocisteinemia e mutação do fator V Leiden) durante a gestação apresentam associação positiva com maior prevalência de complicações obstétricas e perinatais, como abortamentos recorrentes e perdas fetais.

Os dados obtidos neste trabalho sugerem investigação de rotina para trombofilias em pacientes com história de abortamentos recorrentes e perdas fetais em gestações anteriores, considerando a possibilidade de tratamento com heparina de baixo peso molecular durante a gravidez atual, evitando, assim, os efeitos deletérios da associação entre gravidez e trombofilias.

Referências

- Pereira AC, Jesus NR, Lage LV, Levy RA. Imunidade na gestação normal e na paciente com lúpus eritematoso sistêmico (LES). *Rev Bras Reumatol*. 2005;45(3):134-40.
- Krabbandam I, Franx A, Bots ML, Fijnheer R, Bruinse HW. Thrombophilias and recurrent pregnancy loss: a critical appraisal of the literature. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2005;118(2):143-53.
- Branch DW, Khamashta MA. Antiphospholipid syndrome: obstetric diagnosis, management, and controversies. *Obstet Gynecol*. 2003;101(6):1333-44.
- Greaves M. Antiphospholipid antibodies and thrombosis. *Lancet*. 1999;353(9161):1348-53.
- Pierangeli SS, Gharavi AE, Harris EN. Experimental thrombosis and antiphospholipid antibodies: new insights. *J Autoimmun*. 2000;15(2):241-7.
- Rai R, Cohen H, Dave M, Regan L. Randomised controlled trial of aspirin and aspirin plus heparin in pregnant women with recurrent miscarriage associated with phospholipid antibodies (or antiphospholipid antibodies). *BMJ*. 1997;314(7076):253-7.
- Rai R. Obstetric management of antiphospholipid syndrome. *J Autoimmun*. 2000;15(2):203-7.
- Schust DJ, Hill JA. Abortamento recorrente. In: Berak JS, editor. *Tratado de ginecologia*. 13a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005. p. 996-1023.
- Martinelli I, De Stefano V, Taioli E, Paciaroni K, Rossi E, Mannucci PM. Inherited thrombophilia and first venous thromboembolism during pregnancy and puerperium. *Thromb Haemost*. 2002;87(5):791-5.
- De Santis M, Cavaliere AF, Straface G, Di Gianantonio E, Caruso A. Inherited and acquired thrombophilia: pregnancy outcome and treatment. *Reprod Toxicol*. 2006;22(2):227-33.
- Robertson L, Wu O, Langhorne P, Twaddle S, Clark P, Lowe GD, et al. Thrombophilia in pregnancy: a systematic review. *Br J Haematol*. 2006;132(2):171-96.
- Haemostasis and Thrombosis Task Force British Committee for Standards in Haematology. Investigation and management of heritable thrombophilia. *Br J Haematol*. 2001;114(3):512-28.
- Medeiros SF. Abortamento habitual. In: Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia. *Tratado de ginecologia*. Rio de Janeiro: Revinter; 2001. p. 565-76.
- Balasch J. Antiphospholipid antibodies: a major advance in the management of recurrent abortion. *Autoimmun Rev*. 2004;3(3):228-33.
- Mattar R, Camano L, Daher S. Aborto espontâneo de repetição e atopia. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2003;25(5):331-5.
- Kupferminc MJ, Fait G, Many A, Gordon D, Eldor A, Lessing JB. Severe preeclampsia and high frequency of genetic thrombophilic mutations. *Obstet Gynecol*. 2000;96(1):45-9.

17. Harris EN. Special report. The Second International Anti-cardiolipin Standardization Workshop/the Kingston Anti-Phospholipid Antibody Study (KAPS) group. *Am J Clin Pathol.* 1990;94(4):476-84.
18. Triplett DA, Stocker KF, Unger GA, Barna LK. The Textarin/Ecarin ratio: a confirmatory test for lupus anticoagulants. *Thromb Haemost.* 1993;70(6):925-31.
19. The British Committee for Standards in Haematology. Guidelines on the investigation and management of thrombophilia. *J Clin Pathol.* 1990;43(9):703-9.
20. Ubbink JB, Hayward Vermaak WJ, Bissbort S. Rapid high-performance liquid chromatographic assay for total homocysteine levels in human serum. *J Chromatogr.* 1991;565(1-2):441-6.
21. Koelman BP, Reitsma PH, Allaart CF, Bertina RM. Activated protein C resistance as an additional risk factor for thrombosis in protein C deficient families. *Blood.* 1994;84(4):1031-5.
22. Grandone E, Margaglione M, Colaizzo D, d'Addeda M, Cappucci G, Vecchione G, et al. Factor V Leiden is associated with repeated and recurrent fetal losses. *Thromb Haemost.* 1997;77(5):822-4.
23. Schieve LA, Tatham L, Peterson HB, Toner J, Jeng G. Spontaneous abortion among pregnancies conceived using assisted reproductive technology in the United States. *Obstet Gynecol.* 2003;101(5 Pt 1):959-67.
24. Barini R, Couto E, Malta MMM, Santos CTM, Leiber SR, Batista SC. Fatores associados ao aborto espontâneo recorrente. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2000;22(4):217-23.
25. Couto E, Barini R, Zaccaria R, Annichino-Bizzacchi JM, Passini Junior R, Pereira BG, et al. Association of anticardiolipin antibody and C677T in methylenetetrahydrofolate reductase mutation in woman with recurrent spontaneous abortions: a new path to thrombophilia? *São Paulo Med J.* 2005;123(1):15-20.
26. Vora S, Shetty S, Salvi V, Satoskar P, Ghosh K. A comprehensive screening analysis of antiphospholipid antibodies in Indian women with fetal loss. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2007 Jul 16. [Epub ahead of print]
27. Costa OLN, Brandão C, Silva MMR, Pimental KS, Santiago MB. Anticorpos antifosfolípidos em mulheres com antecedentes de perdas gestacionais: estudo caso-controle. *Rev Bras Reumatol.* 2005;45(3):119-23.
28. Lockshin MD. Antiphospholipid antibody syndrome. *Rheum Dis Clin North Am.* 1994;20(1):45-59.
29. Dreyfus M, Haddad G, Kurtmahorsky R, Lehmann M, Viville B, Langer B, et al. Antiphospholipid antibodies and preeclampsia: a case-control study. *Obstet Gynecol.* 2001;97(1):29-34.
30. Yamamoto T, Yoshimura S, Geshi Y, Sasamori Y, Okinaga S, Kobayashi T, et al. Measurement of antiphospholipid antibody by Elisa using purified beta 2-glycoprotein I in preeclampsia. *Clin Exp Immunol.* 1993;94(1):196-200.
31. Lee RM, Emlen W, Scott JR, Branch DW, Silver RM. Anti-beta 2-glycoprotein I antibodies in women with recurrent spontaneous abortion, unexplained fetal death, and antiphospholipid syndrome. *Am J Obstet Gynecol.* 1999;181(3):642-8.
32. Preston FE, Rosendaal FR, Walker ID, Briet E, Berntorp E, Conard J, et al. Increased fetal loss in women with heritable thrombophilia. *Obstet Gynecol Surv.* 1997;52(3):155-6.
33. Hellgren M, Svensson PJ, Dahlbäck B. Resistance to activated protein C as a basis for venous thromboembolism associated with pregnancy and oral contraceptives. *Am J Obstet Gynecol.* 1995;173(1):210-3.
34. De Stefano V, Simione P, Rossi E, Tormone D, Za T, Pagnan A, et al. The risk of recurrent venous thromboembolism in patients with inherited deficiency of natural anticoagulants antithrombin, protein C and protein S. *Haematologica.* 2006;91(5):695-8.
35. McCall MD, Ramsay JE, Tait RC, Walker ID, McCall F, Conkie JA, et al. Risk factors for pregnancy associated venous thromboembolism. *Thromb Haemost.* 1997;78(4):1183-8.
36. Meglic L, Stegnar M, Milanec T, Bozic M, Peterlin B, Paternel P, et al. Factor V Leiden, prothrombin 20210G a methylenetetrahydrofolate reductase 677C T and plasminogen activator inhibitor 4G/5G polymorphism in women with pregnancy-related venous thromboembolism. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2003;111(2):157-63.
37. Powers RW, Minich LA, Lykins DL, Nass RB, Cromblakholma WR, Roberts JM. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, folate, and susceptibility to preeclampsia. *J Soc Gynecol Investig.* 1999;6(2):74-9.
38. Nelen WL, Blom HJ, Steegers EA, den Heijer M, Thomas CM, Eskes TK. Homocysteine and folate levels as risk factors for recurrent early pregnancy loss. *Obstet Gynecol.* 2000;95(4):519-24.
39. van den Berg M, Boers GH. Homocystinuria: what about mild hyperhomocysteinemia? *Postgrad Med J.* 1996;72(851):513-8.
40. Homocysteine Lowering Trialists' Collaboration. Lowering blood homocysteine with folic acid based supplements: meta-analysis of randomised trials. *BMJ.* 1998;316(7135):894-8.
41. Murphy RP, Donoghue C, Nallen RJ, D'Mello M, Regan C, Whitehead AS, et al. Prospective evaluation of the risk conferred by factor V Leiden and thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms in pregnancy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000;20(1):266-70.
42. Younis JS, Ohel G, Brenner B, Haddad S, Lanir N, Ben-Ami M. The effect of thromboprophylaxis on pregnancy outcome in patients with recurrent pregnancy loss associated with factor V Leiden mutation. *BJOG.* 2000;107(3):415-9.
43. Dizon-Townson DS, Kinney S, Branch DW, Ward K. The factor V Leiden mutation is not a common cause of recurrent miscarriage. *J Reprod Immunol.* 1997;34(3):217-23.
44. Dulicek P, Chrobák L, Kalousek I, Pasavová I, Pecka M, Stránský P. Is factor V Leiden a risk factor for fetal loss? *Acta Medica (Hradec Kralove).* 1999;42(3):93-6.
45. Soligo AGS, Barini R, Carvalho ECC, Annichino-Bizzacchi J. Prevalência dos fatores trombofílicos em mulheres com infertilidade. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2007;29(5):235-40.

APÊNDICE F – ARTIGO 2

ERNESTO ANTONIO FIGUEIRÓ-FILHO¹ VANESSA MARCON DE OLIVEIRA² LILIAN REZENDE COELHO³ LU BREDÁ³	Marcadores séricos de trombofilias hereditárias e anticorpos antifosfolípides em gestantes com antecedentes de pré-eclâmpsia grave <i>Serum markers of inherited thrombophilia and antiphospholipid antibodies in pregnant women with previous history of severe pre-eclampsia</i>
Artigo Original	
Palavras-chave Trombofilia/genética Síndrome antifosfolípida Pré-eclâmpsia Marcadores biológicos Fatores de risco Keywords Thrombophilia/genetics Antiphospholipid syndrome Preeclampsia Biological markers Risk factors	Resumo OBJETIVO: Verificar a frequência e a associação de marcadores séricos para trombofilias hereditárias e adquiridas em gestantes com histórico de pré-eclâmpsia grave em gestação anterior. MÉTODOS: Estudo tipo caso-controle composto por 81 gestantes com histórico de pré-eclâmpsia grave em gestação anterior (grupo de estudo) e 32 gestantes sem antecedente de pré-eclâmpsia grave em gestação anterior (grupo controle). Foi rastreada a presença de anticorpos antifosfolípides e trombofilias hereditárias em ambos os grupos. Foi utilizado o teste χ^2 com correção de Yates para verificar as associações e calcular os riscos relativos. RESULTADOS: Verificou-se a presença de trombofilias em 60,0% das pacientes com histórico de pré-eclâmpsia e em 6,0% das pacientes do grupo controle. Encontrou-se significativa associação entre pré-eclâmpsia grave em gestação anterior e presença de marcadores para trombofilias hereditárias/anticorpos antifosfolípides ($p<0,05$). Identificou-se risco relativo para desenvolvimento de pré-eclâmpsia grave de 1,57 (1,34<RR<1,84) para gestantes com presença de anticorpos antifosfolípides, 1,53 (1,26<RR<1,86) em mulheres com marcadores de trombofilias hereditárias e de 1,86 (1,45<RR<2,38), considerando a presença de trombofilias hereditárias e/ou presença de anticorpos antifosfolípides. CONCLUSÃO: Mulheres com marcadores séricos para trombofilias hereditárias ou adquiridas demonstraram risco relativo elevado para o desenvolvimento de pré-eclâmpsia grave. Abstract PURPOSE: To determine the frequency and the association of serum markers for inherited and acquired thrombophilias in pregnant women with a history of severe pre-eclampsia in previous pregnancies. METHODS: Case-control study consisting of 81 pregnant women with a history of severe pre-eclampsia in previous pregnancies (study group) and 32 women with no history of severe pre-eclampsia in previous pregnancies (control group). The presence of inherited thrombophilia and antiphospholipid antibodies was screened in both groups. We used the chi-square test with Yates correction to assess associations and calculate the relative risks. RESULTS: The presence of thrombophilia was detected in 60.0% of patients with a previous history of pre-eclampsia and in 6.0% of the control patients. A significant association was found between pre-eclampsia in a previous pregnancy and the presence of markers for hereditary thrombophilia/antiphospholipid antibodies ($p<0.05$). The relative risk to develop pre-eclampsia was found to be 1.57 (1.34<RR<1.84) for pregnant women with antiphospholipid antibodies, 1.53 (1.26<RR<1.86) for women with hereditary thrombophilia markers and 1.86 (1.45<RR<2.38) considering the presence of hereditary thrombophilia and/or antiphospholipid antibodies. CONCLUSION: Women with serum markers for inherited or acquired thrombophilia showed a high relative risk to develop pre-eclampsia.
Correspondência: Ernesto Antonio Figueiró-Filho Núcleo do Hospital Universitário – Divisão de Apoio Acadêmico e Científico – NHU-DIAC Rua Senador Filinto Müller 355 – Cidade Universitária – Vila Ipiranga CEP: 79080-190 Campo Grande (MS), Brasil Recebido 23/08/2011 Aceito com modificações 05/12/2011	Hospital Universitário da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul – UFMS – Campo Grande (MS), Brasil. ¹ Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS – Campo Grande (MS), Brasil. ² Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento da Região Centro-Oeste da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS – Campo Grande (MS), Brasil. ³ Curso Acadêmico de Medicina; Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS – Campo Grande (MS), Brasil. Conflito de interesses: não há.

Introdução

Pré-eclâmpsia é desordem multissistêmica exclusiva do período gestacional caracterizada pela hipertensão arterial e proteinúria, com desenvolvimento a partir da 20ª semana de gestação¹⁻³. Acomete 2–10% de todas as gestações, sendo importante causa de morbidade e mortalidade materna e perinatal⁴⁻⁵. A doença afeta todos os órgãos, em especial, fígado, rins e cérebro⁶. Os fatores de risco associados incluem primiparidade, gestação múltipla, história familiar ou pessoal de pré-eclâmpsia, alto índice de massa corpórea (IMC), tabagismo, hipertensão crônica, diabetes e trombofilias^{4,7,8}.

Atualmente, são descritas associações entre trombofilias e diversas complicações obstétricas, entre elas, tromboembolismo venoso durante a gestação e fatores relacionados à disfunção placentária, a exemplo de pré-eclâmpsia, abortamentos de repetição e óbitos fetais^{6,9,10}. Além dessas, podem ainda ocorrer restrição de crescimento fetal (RCF) e partos pré-termo^{6,11}. Os primeiros relatos sobre maior incidência de fatores de risco de trombose em mulheres com histórico de pré-eclâmpsia e/ou síndrome HELLP (hemólise, elevação das enzimas hepáticas e baixa contagem de plaquetas) foram publicados em 1996, e, desde então, a associação entre trombofilias com pré-eclâmpsia é sugerida^{7,12,13}.

Trombofilias são desordens hemostáticas com tendência à elevação de processos tromboembólicos, classificadas em hereditárias e adquiridas. Afeta, aproximadamente, 15% da população caucasiana predisposta a processos trombóticos^{14,15}. Dentre as trombofilias hereditárias, citam-se as deficiências de fatores anticoagulantes, incluindo anti-trombina, proteína C e proteína S, anormalidades dos fatores pró-coagulantes, as mutações genéticas do Fator V Leiden e gene G20210A da protombina, além da mutação do gene C677T, variante termolábil da enzima metilenotetra-hidrofolato redutase (MTHFR)^{7,12,15,16}. As trombofilias adquiridas ocorrem em consequência da presença de anticorpos antifosfolípidos, principalmente os anticorpos anticardiolipina, o anticoagulante lúpico e anticorpo anti- β_2 -glicoproteína I (β_2 GPI)^{12,15,17}. A hiper-homocisteinemia e a resistência à proteína C ativada são trombofilias derivadas da combinação de fatores hereditários e adquiridos^{15,17}.

Durante a gestação normal, é sabido que ocorrem mudanças no sistema de coagulação e fibrinólise, onde há aumento acentuado na maioria dos fatores de coagulação: II, VII, VIII, IX, X e XII, além do fibrinogênio e fator Von Willebrand, e simultânea redução nas concentrações de proteínas anticoagulantes e fibrinólise^{15,18,19}. Essas modificações fisiológicas são importantes para minimizar o risco de perdas sanguíneas no momento do parto, elevando a ocorrência de fenômenos tromboembólicos,

principalmente quando associadas a fatores genéticos¹⁴. As deficiências de proteínas anticoagulantes são identificadas na gravidez quando os exames realizados durante o pré-natal demonstram níveis inferiores aos valores de referência, como a diminuição da proteína S, cujos valores são reduzidos para 40–60% a partir do primeiro trimestre, sendo esta redução ainda mais abrupta nos três meses pós-parto^{15,20}.

A homocisteína é reconhecida como fator de risco independente para doenças arteriocoronarianas, doenças vasculares periféricas, trombose venosa profunda e perdas fetais^{21,22}. A hiper-homocisteinemia é causada predominantemente por deficiência dietética de alguns cofatores necessários para o metabolismo da homocisteína (ácido fólico, vitamina B6 ou vitamina B12)^{22,23}, sendo associada à pré-eclâmpsia e risco elevado para doenças cardiovasculares²⁴.

Em meta-análise, o *odds ratio* (OR) foi calculado para cada tipo de trombofilia, e os resultados revelam que, exceto homozigose para mutação do MTHFR, todas as trombofilias foram significativamente associadas ao aumento da ocorrência de tromboembolismo venoso (TEV) na gestação²⁵. As trombofilias hereditárias foram elencadas como fator de risco para ocorrência de eventos adversos na gestação [aborto precoce e tardio, pré-eclâmpsia, descolamento prematuro da placenta (DPP) e retardo do crescimento fetal (RCF)], em especial a deficiência de proteína S²⁵.

O objetivo do presente estudo foi verificar a frequência e a associação de marcadores séricos para trombofilias hereditárias e adquiridas (anticorpos antifosfolípidos) em gestantes com histórico de pré-eclâmpsia grave em gestação anterior em comparação a gestantes normais, sem histórico de pré-eclâmpsia anterior e outras comorbidades.

Métodos

Estudo prospectivo, tipo caso-controle, não pareado, com desenho orientado pelos critérios STROBE de estudos clínicos²⁶, realizado com 113 gestantes atendidas no Hospital Universitário da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – HU-FAMED-UFMS, selecionadas no período de agosto de 2007 a julho de 2010, alocadas em dois grupos, de acordo com os seguintes critérios de inclusão:

O grupo de estudo (GE) incluiu gestantes com histórico de pré-eclâmpsia grave em gestação(ões) anterior(es), com critério diagnóstico de duas ou mais aferições de pressão arterial superiores a 160x100 mmHg, registradas nos prontuários médicos ou nos cartões de pré-natal e proteinúria maciça de 1 g/L. Todas as gestantes, a partir da 20ª semana de gestação, receberam suplementação com ácido fólico 5 mg/dia, conforme orientação do Ministério

da Saúde²⁷. Nas gestantes do grupo de estudo, as dosagens foram realizadas na primeira consulta de pré-natal da gestação atual, anteriores a 20ª semana de gestação, não sendo repetidas no período puerperal. Nas gestantes do grupo controle, as amostras foram colhidas no pós-parto imediato (até seis horas pós-parto), desde que cumpridos os critérios de inclusão.

Além desses critérios, para serem incluídas nesse grupo, as gestantes deveriam possuir pelo menos uma das seguintes ocorrências, associadas à pré-eclâmpsia grave, comprovadas nos prontuários médicos ou anotadas nos cartões de pré-natal: internação em decorrência da pré-eclâmpsia com idade gestacional inferior a 32 semanas, iminência de eclâmpsia, eclâmpsia, síndrome HELLP, alterações sistêmicas comprovadas com exames laboratoriais (hemoconcentração, hipoalbuminemia, função hepática ou provas da coagulação alteradas e níveis elevados de ácido úrico maior e igual a 6 mg/dL)^{2,28}, nascimento pré-termo inferior a 34 semanas, admissão de recém-nato em UTI neonatal, perda fetal, restrição de crescimento fetal, oligodramnia e alterações dopplervelocimétricas materno-fetais (elevação dos índices de resistência e pulsatilidade das artérias uterinas e umbilical)²⁹. Pacientes com hipertensão prévia à gestação, portadoras de lúpus eritematoso sistêmico e sabidamente portadoras de marcadores para trombofilias hereditárias e/ou adquiridas (com rastreamento laboratorial prévio), foram excluídas desse grupo.

O grupo controle (GC) foi constituído por gestantes sem doença conhecida com, pelo menos, uma gestação anterior com nascimento a termo, que apresentassem gestação de baixo risco [gestação atual e anterior(es)], sem histórico de abortos. Pacientes com história de marcadores séricos de anticorpos antifosfolípidos e trombofilias hereditárias foram excluídas desse grupo.

A seleção das pacientes foi realizada de forma aleatória, prospectivamente, conforme a ordem de entrada dos casos, nos Ambulatórios de Gestação de Alto Risco GE e baixo risco GC, durante o período do estudo, cumpridos os critérios de inclusão, até se atingir o número mínimo de gestantes para o GE.

O cálculo da amostragem aleatória simples mínima de gestantes com histórico prévio de pré-eclâmpsia grave a serem incluídas no GE levou em consideração a população total de atendimentos no Ambulatório de Gestação de Alto Risco da FAMED-UFMS (1.000 gestantes/ano), a prevalência de trombofilias em gestantes com pré-eclâmpsia de, aproximadamente, 20%^{10,18,19}, a prevalência de trombofilias na população geral de, aproximadamente, 5%^{10,30}, poder de teste de 80%, com erro amostral de 5% e avaliação bicaudal. Com esses parâmetros, o número mínimo de gestantes para o GE seria de 75 pacientes. Para o GC, considerando os mesmos parâmetros e prevalência

de pré-eclâmpsia grave de 2%^{15,8}, a amostragem mínima seria de trinta pacientes.

Foi considerada como hipótese de nulidade (H0) não haver associação entre histórico de pré-eclâmpsia grave em gestação anterior e a presença de marcadores séricos de trombofilias hereditárias e/ou adquiridas.

Nas pacientes dos dois grupos, rastreou-se a presença de anticorpos antifosfolípidos com a dosagem de anticardiolipina IgM e IgG, anticoagulante lúpico e anticorpo anti- β_2 glicoproteína I (anti- β_2 GPI). A presença de trombofilias hereditárias foi identificada por meio das dosagens de proteína C e S da coagulação, antitrombina, homocisteína e pesquisa de mutação Q506 do fator V (fator V Leiden).

A pesquisa de anticorpos anticardiolipina IgM e IgG foi processada pelo método de enzimoimunoensaio (ELISA), seguindo a metodologia sugerida internacional de padronização. Considerou-se os resultados reagentes para IgM e IgG valores superiores a 40 UMPL e 40 UGPL³¹.

A presença do anticoagulante lúpico foi conduzida em três etapas. Na primeira foi realizado o teste de triagem com as técnicas de tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa) e tempo do veneno de víbora Russel diluído (dRWT). Quando se obteve valores superiores a 1,26 e/ou 1,14 para os testes de TTPa e dRWT, respectivamente, realizou-se a segunda etapa, onde se procedeu o teste de TTPa, utilizando uma mistura de 50% de plasma do paciente e 50% de plasma normal. Não havendo correção, procedeu-se a terceira etapa, que consistiu na realização do teste dRWT confirmatório, cujo resultado positivo para anticoagulante lúpico é superior a 1,21³⁰.

A pesquisa de anticorpos anti- β_2 GPI foi realizada por ELISA, onde considerou-se reagente valores superiores a 15 U/mL¹⁷.

Realizou-se dosagem de proteína C pelo método cromogênico^{30,32}, cujo valor de referência é de 70–140% de atividade. Valores inferiores a 70% de atividade são considerados como deficiência de proteína C³².

A dosagem de proteína S foi conduzida pelo método ELISA³³, com valores de referência entre 30–100% de atividade, considerando como deficiência de proteína S valores inferiores a 30%³².

Para dosagem de antitrombina, o método escolhido foi o cromogênico^{15,33}, cujo valor de referência se encontra entre 80–120%, sendo considerada deficiência de antitrombina valores inferiores a 80%³².

Para a dosagem de homocisteína, realizou-se cromatografia líquida de alta pressão (HPLC), com eluição isocrática de detecção fluorimétrica³⁴, cujo valor de referência é de 4–12 μ mol/L, sendo considerada a presença de hiper-homocisteinemia resultados superiores a 12 μ mol/L³⁴.

A pesquisa de mutação no gene Q506 do fator V (mutação Fator V Leiden) foi conduzida por reação de polimerase em cadeia (PCR), sendo considerado positivo a presença de mutação (homozigoto ou heterozigoto)^{21,52}.

Foram consideradas portadoras de marcadores séricos para trombofilias hereditárias todas as gestantes que apresentaram resultados compatíveis com deficiência de proteína C, deficiência de proteína S, deficiência de antitrombina, hiper-homocisteinemia e a presença de mutação no Fator V Leiden (heterozigoto ou homozigoto afetado)⁵². Foram consideradas portadoras de marcadores séricos para trombofilias adquiridas todas as pacientes que obtiveram resultados reagentes para anticardiolipina IgM/IgG, anticoagulante lúpico e/ou anti- β_2 GPI, segundo a metodologia exposta^{31,55}.

As variáveis paramétricas (idade e paridade) foram expressas com média $\pm$ um desvio padrão e comparadas com o teste *t* de Student. As variáveis não paramétricas (presença/ausência de trombofilias hereditárias e anticorpos antifosfolípidos) foram avaliadas em tabelas de contingência de dupla entrada, utilizando o teste χ^2 com correção de Yates, considerando-se significativas as associações cujo valor de $p < 0,05$ para rejeição da hipótese de nulidade. Riscos relativos foram calculados após as associações estudadas, com intervalo de confiança (IC) a 95%²⁶.

As pacientes aceitaram participar do estudo e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). O estudo e seu TCLE foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS, protocolo 884, de 18 de maio de 2007.

Resultados

Das 113 gestantes estudadas, 81 (72%) foram incluídas no GE e 32 (28%) foram incluídas no GC. No GE, a

média de idade das gestantes foi de $29,7 \pm 5,4$ anos, com número médio de gestações de $3,0 \pm 1,2$. No GC, a média de idade das pacientes foi de $28,2 \pm 5,2$ anos, com número médio de gestações $2,19 \pm 0,4$. Não houve diferença entre a idade materna e paridade entre os grupos.

A pesquisa de trombofilias hereditárias e/ou presença de anticorpos antifosfolípidos em gestantes do GE demonstrou resultado positivo em 60,0% (49/81) da amostra. Nas pacientes do GC, a presença de trombofilias e/ou anticorpos antifosfolípidos foi identificada em 6,0% (2/32) da amostra. (Tabela 1).

A pesquisa da presença de anticorpos antifosfolípidos em gestantes com histórico de pré-eclâmpsia grave em gestação anterior demonstrou resultado positivo em 25 gestantes (31%), enquanto nas gestantes do GC a presença desses anticorpos não foi detectada (Tabela 1).

Houve associação ($p < 0,05$) entre a presença de marcadores séricos para trombofilias hereditárias e/ou presença de anticorpos antifosfolípidos com a ocorrência de pré-eclâmpsia grave em gestação anterior (Tabela 1). O risco relativo para desenvolvimento de pré-eclâmpsia grave encontrado em gestantes com identificação de anticorpos antifosfolípidos foi de 1,57 (1,34 < RR < 1,84). Nas gestantes com marcadores séricos para trombofilias hereditárias o risco relativo encontrado foi de 1,53 (1,26 < RR < 1,86). Considerando a presença de marcadores séricos para trombofilias hereditárias e/ou presença de anticorpos antifosfolípidos, o risco relativo para desenvolvimento de pré-eclâmpsia grave se eleva para 1,86 (1,45 < RR < 2,38).

Trombofilias hereditárias de forma isolada foram descritas em 21,0% das gestantes do grupo pré-eclâmpsia (17/81) e em 6,2% (2/32) das gestantes do GC (Tabela 2). Nas gestantes do GE, as trombofilias hereditárias mais encontradas de forma isolada foram: deficiência de proteína S (11,1%), deficiência de antitrombina (2,5%) e hiper-homocisteinemia (7,4%). No rastreamento da presença de anticorpos antifosfolípidos, a presença de anticoagulante

Tabela 1. Associação entre marcadores séricos de trombofilias hereditárias e/ou marcadores séricos de anticorpos antifosfolípidos em gestantes com e sem histórico de pré-eclâmpsia grave em gestação anterior

	Marcadores séricos de Anticorpos Antifosfolípidos/Trombofilias Hereditárias*			Marcadores séricos de Anticorpos Antifosfolípidos**			Marcadores séricos de Trombofilias Hereditárias***		
	Presentes n (%)	Ausentes n (%)	Total n (%)	Presentes n (%)	Ausentes n (%)	Total n (%)	Presentes n (%)	Ausentes n (%)	Total n (%)
Grupo Estudo (Histórico de PE grave em Gestações anteriores)	49 (60)	32 (40)	81 (100)	25 (31)	56 (69)	81 (100)	33 (41)	48 (59)	81 (100)
Grupo Controle (Gestantes Normais, sem histórico de Pré-Eclâmpsia grave em Gestações anteriores)	2 (6)	30 (94)	32 (100)	0 (0)	32 (100)	32 (100)	2 (6)	30 (94)	32 (100)
Total	51 (45)	62 (55)	113 (100)	25 (22)	88 (78)	113 (100)	35 (31)	78 (69)	113 (100)

Teste χ^2 com correção de Yates; * $p < 0,01$; RR (IC95%): 1,86 (1,45–2,38); ** $p < 0,01$; RR (IC95%): 1,57 (1,34–1,84); *** $p < 0,01$; RR (IC95%): 1,53 (1,26–1,86).

Tabela 2. Frequência de trombofilias hereditárias e presença de anticorpos antifosfolípidos identificadas de forma isolada e em conjunto em gestantes com e sem histórico de pré-eclâmpsia grave em gestação anterior

Trombofilias hereditárias e/ou presença de anticorpos antifosfolípidos	Grupo PE ¹ (n/total do grupo)	Grupo Controle ² (n/total do grupo)
Anticorpos antifosfolípidos isolados	19,7% (16/81)	
Anticorpo anticardiolipina IgM	1,2% (1/81)	
Anticorpo anticardiolipina IgG	1,2% (1/81)	
Anticoagulante lúpico	16,1% (13/81)	
Anticorpo anti- β_2 GPI	1,2% (1/81)	
Trombofilias hereditárias isoladas	21,0% (17/81)	6,2% (2/32)
Deficiência de proteína C	0% (0/81)	
Deficiência de proteína S	11,1% (9/81)	3,1% (1/32)
Deficiência de antitrombina	2,5% (2/81)	3,1% (1/32)
Hiper-homocisteinemia	7,4% (6/81)	
Mutação no fator V (Leiden)	0% (0/81)	
Trombofilias hereditárias e/ou presença de anticorpos antifosfolípidos identificadas em conjunto	19,7% (16/81)	
Anticorpo anti- β_2 GPI + Hiper-homocisteinemia	1,2% (1/81)	
Anticoagulante lúpico + Hiper-homocisteinemia	1,2% (1/81)	
Anticoagulante lúpico + Deficiência de proteína S	2,5% (2/81)	
Anticoagulante lúpico + Deficiência de antitrombina	1,2% (1/81)	
Deficiência de proteína S + Deficiência de antitrombina	3,7% (3/81)	
Deficiência de proteína C + Deficiência de proteína S	2,5% (2/81)	
Anticardiolipina IgM + Deficiência de antitrombina	1,2% (1/81)	
Anticardiolipina IgM + Hiper-homocisteinemia	1,2% (1/81)	
Anticardiolipina IgG + Deficiência de proteína S	1,2% (1/81)	
Deficiência de proteína C + Deficiência de antitrombina	1,2% (1/81)	
Anticardiolipina IgG + Deficiência de proteína S	1,2% (1/81)	
Deficiência de proteína C + Deficiência de Antitrombina + Hiper-homocisteinemia	1,2% (1/81)	

{0/32}; ¹Grupo PE: gestantes com pré-eclâmpsia grave em gestações anteriores; ²Grupo Controle: pacientes com gestação a termo, sem intercorrências em gestação atual e anteriores.

lúpico foi demonstrada em 16,1% da amostra desse grupo (13/81) (Tabela 2). Encontrou-se resultado positivo de duas ou mais trombofilias hereditárias e/ou presença de anticorpos antifosfolípidos em conjunto em 19,7% (16/81) das pacientes do GE (Tabela 2).

Discussão

O presente estudo encontrou risco relativo elevado para o desenvolvimento de pré-eclâmpsia em gestantes portadoras de trombofilias hereditárias e/ou com a presença

de anticorpos antifosfolípidos. Outros estudos, entretanto, não encontraram associação entre pré-eclâmpsia e a presença de anticorpos antifosfolípidos^{7,55}.

A ocorrência de miscigenação racial na população estudada, fato que ocorre com frequência no Brasil, poderia explicar essa não concordância com outros autores, considerando que nos países onde pesquisas semelhantes foram conduzidas, essa miscigenação não ocorre^{7,55}.

Neste estudo, encontrou-se a presença de anticorpos anticardiolipina IgG em 1,2% das gestantes do grupo de estudo, resultado inferior às taxas descritas, que variam de 1,8–7,0%²⁹. O risco relativo (RR) elevado de pacientes portadoras de anticorpos antifosfolípidos que desenvolveram pré-eclâmpsia durante a gestação está bem estabelecido em gestantes com identificação de anticorpos anticardiolipina e em portadoras de anticoagulante lúpico^{7,10,17,55,56}.

Em estudo multicêntrico considerando 5.337 gestantes, foram identificadas 113 mulheres que desenvolveram pré-eclâmpsia e selecionadas 443 gestantes para o GC. Os resultados sugerem não haver associação entre trombofilias e maior risco para desenvolvimento de pré-eclâmpsia grave⁴. Esses resultados foram semelhantes à pesquisa conduzida com 180 mulheres com pré-eclâmpsia e 360 gestantes controle, onde ambos os grupos apresentaram proporção semelhante de gestantes com presença de anticorpos anticardiolipina e/ou anticoagulante lúpico⁵⁵. Outro alvo antigênico nos complexos reconhecidos pelos anticorpos antifosfolípidos, a β_2 -glicoproteína I, é descrito em 3,9% das pacientes com casos severos de pré-eclâmpsia e eclâmpsia durante a gestação⁵⁶. Na presente casuística, encontrou-se 1,2% de casos positivos para anti- β_2 GPI entre as gestantes do GE.

Recentes meta-análises demonstram haver associação entre anticorpos antifosfolípidos e disfunção placentária, incluindo o desenvolvimento de pré-eclâmpsia. Por um lado, todavia, apesar de essas associações serem descritas, não existem recomendações para o rastreio desses anticorpos na prática clínica^{10,45}. Por outro, casuística clínica também atual demonstra que gestantes com histórico prévio de insuficiência placentária, caracterizadas pelo desenvolvimento de pré-eclâmpsia grave, se beneficiam com uso de terapia antitrombótica profilática com AAS e enoxaparina sódica³⁷. Esses dados extraídos de estudos com evidência científica relevante, demonstram conclusões díspares, o que reforça a importância de investigações nessa linha de pesquisa, a exemplo da presente casuística.

A presença da mutação do Fator V Leiden e sua associação com pré-eclâmpsia grave é discutida na literatura^{7,17}, entretanto, não foi observada a presença de caso positivo para a mutação do Fator V Leiden no GE. Em pesquisa conduzida no Brasil, nenhuma das 113 pacientes estudadas, sendo 83 pacientes normais e 30 pacientes com pré-eclâmpsia, apresentaram mutação no fator V¹⁶, fato concordante com

o presente estudo. Todavia, pesquisa realizada com 97 gestantes com histórico de complicações obstétricas após a 23ª semana de gestação, demonstrou que a mutação do Fator V Leiden foi a trombofilia mais frequente, presente em 41% (16/39) das gestantes de forma isolada e em 80% dos casos associados a outras trombofilias³⁸.

Nessa amostra, 7,4% (6/81) dos casos de hiperhomocisteinemia foram encontrados dentre as pacientes com história de pré-eclâmpsia grave em gestação anterior, índice inferior aos valores descritos em outras pesquisas, os quais variam de 12,1–27%^{22,23}.

Em estudo para estimar a associação entre trombofilias hereditárias e resultados adversos na gestação, foram avaliadas 1.707 mulheres, as quais não apresentavam história prévia de complicações durante a gravidez ou história pessoal/familiar de tromboembolismo venoso. Os resultados demonstraram que a mutação do gene da protrombina confere risco elevado para o desenvolvimento de complicações na gravidez. A maioria das mulheres assintomáticas com trombofilia hereditária polimórfica apresentou resultado obstétrico satisfatório³⁹.

No estudo em questão, foram encontradas 11,1% de deficiência de proteína S (9/81), 2,5% de deficiência de antitrombina (2/81) e nenhum caso de deficiência de proteína C. Casuísticas com metodologias semelhantes são concordantes, sendo descrita incidência de 14% de deficiência de proteína S⁴⁰ e nenhum caso de deficiência de proteína C¹⁸ em pacientes com pré-eclâmpsia em gestação anterior.

Para avaliar como as variáveis clínicas e laboratoriais diferem entre início precoce de síndrome HELLP, 75 gestantes com pré-eclâmpsia com desenvolvimento de HELLP foram comparadas com 40 pacientes em início precoce de pré-eclâmpsia sem síndrome HELLP. Os autores concluíram que mulheres com síndrome HELLP tiveram menos sinais de anormalidades em relação à síndrome metabólica e à prevalência quatro vezes menor de trombofilias quando comparadas às mulheres com pré-eclâmpsia sem síndrome HELLP¹².

Em meta-análise recente, onde foram incluídos 28 estudos, foram descritas as chances de associação da pré-eclâmpsia grave e outras complicações durante a gestação, associadas aos anticorpos antifosfolípidos. Em dez estudos caso-controle, foram identificadas associação entre anticoagulante lúpico e ocorrência de pré-eclâmpsia. A presença de associação entre pré-eclâmpsia e anticorpos anticardiolipina IgM ou IgG, esteve presente em dezenove estudos tipo caso-controle e não foram observados dados suficientes entre a presença de anticorpo anti-β2-GPI e ocorrência de pré-eclâmpsia¹⁰.

Revisão sistemática versando sobre desenvolvimento de pré-eclâmpsia grave na gestação associada às trombofilias hereditárias e anticorpos antifosfolípidos, incluiu 25 meta-análises com 11.183 gestantes. Os riscos relativos encontrados para o desenvolvimento de pré-eclâmpsia grave na presença de anticorpos antifosfolípidos e/ou trombofilias hereditárias foram todos elevados¹⁷.

Os dados observados não diferem dos encontrados neste estudo, que identificou risco relativo de 1,57 (IC95% 1,34<RR<1,84) para gestantes com presença de anticorpos antifosfolípidos e 1,53 (IC95% 1,26<RR<1,86 em mulheres com marcadores séricos para trombofilias hereditárias. Considerando a presença de marcadores séricos para trombofilias hereditárias e/ou presença de anticorpos antifosfolípidos, o risco relativo de desenvolvimento de pré-eclâmpsia se eleva para 1,86 (IC95% 1,45<RR<2,38).

Apesar do pouco tempo de estudo e amostra limitada, mulheres com marcadores séricos reagentes para trombofilias hereditárias e/ou adquiridas apresentam risco relativo elevado para desenvolver pré-eclâmpsia grave. A realização de estudos para aprofundar o tema e obter resultados mais consistentes para orientar obstetras na prática clínica em relação às trombofilias na gestação se faz necessária. Os dados obtidos neste trabalho sugerem investigação de rotina para trombofilias hereditárias e pesquisa de anticorpos antifosfolípidos em pacientes com história de pré-eclâmpsia grave em gestações anteriores.

Referências

1. Ismail SK, Higgins JR. Hemostasis in pre-eclampsia. *Semin Thromb Hemost*. 2011;37(2):111-7.
2. Steegers EA, von Dadelszen P, Duvekot JJ, Pijnenborg R. Pre-eclampsia. *Lancet*. 2010;376(9741):631-44.
3. World Health Organization. WHO recommendations for prevention and treatment of pre-eclampsia and eclampsia. Geneva: WHO; 2011.
4. Kahn SR, Platt R, McNamara H, Rozen R, Chen MF, Genest JJ Jr, et al. Inherited thrombophilia and preeclampsia within a multicenter cohort: the Montreal Preeclampsia Study. *Am J Obstet Gynecol*. 2009;200(2):151.e1-9.
5. Cantwell R, Clutton-Brock T, Cooper G, Dawson A, Drife J, Garrod D, et al. Saving Mothers' Lives: reviewing maternal deaths to make motherhood safer: 2006-2008. The Eighth Report of the Confidential Enquiries into Maternal Deaths in the United Kingdom. *BJOG*. 2011;118(Suppl 1):1-203.
6. Duley L, Henderson-Smith DJ, Meher S, King JF. Antiplatelet agents for preventing pre-eclampsia and its complications. *Cochrane Database Syst Rev*. 2007;(2):CD004659.
7. Pabinger I. Thrombophilia and its impact on pregnancy. *Thromb Res*. 2009;123(Suppl 3):S16-21.

8. Akolekar R, Syngelaki A, Sarquis R, Zvanca M, Nicolaides KH. Prediction of early, intermediate and late pre-eclampsia from maternal factors, biophysical and biochemical markers at 11-13 weeks. *Prenat Diagn.* 2011;31(1):66-74.
9. Dodd JM, McLeod A, Windrim RC, Kingdom J. Antithrombotic therapy for improving maternal or infant health outcomes in women considered at risk of placental dysfunction. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010;(6):CD006780.
10. Abou-Nassar K, Carrier M, Ramsay T, Rodger MA. The association between antiphospholipid antibodies and placenta mediated complications: a systematic review and meta-analysis. *Thromb Res.* 2011;128(1):77-85.
11. Walker MC, Ferguson SE, Allen VM. Heparin for pregnant women with acquired or inherited thrombophilias. *Cochrane Database Syst Rev.* 2003;(2):CD003580.
12. Sep S, Verbeek J, Koek G, Smits L, Spaanderman M, Peeters L. Clinical differences between early-onset HELLP syndrome and early-onset preeclampsia during pregnancy and at least 6 months postpartum. *Am J Obstet Gynecol.* 2010;202(3):271.e1-5.
13. Furuhashi M, Oda H, Imai N. HELLP syndrome after the improvement of coagulation and fibrinolysis parameters in severe pre-eclampsia. *Int J Gynaecol Obstet.* 1996;52(3):279-80.
14. Figueiró-Filho EA, Oliveira VM. Associação entre abortamentos recorrentes, perdas fetais, pré-eclâmpsia grave e trombofilias hereditárias e anticorpos antifosfolípidos em mulheres do Brasil Central. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2007;29(11):561-7.
15. Pierangeli SS, Leader B, Barilero G, Willis R, Branch DW. Acquired and inherited thrombophilia disorders in pregnancy. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2011;38(2):271-95, x.
16. Duse LM, Carvalho MG, Bragança WF, Paiva SG, Godoi LC, Guimarães DA, et al. Inherited thrombophilias and pre-eclampsia in Brazilian women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2007;134(1):20-3.
17. Kupferminc MJ, Fatt G, Many A, Gordon D, Eldor A, Lessing JB. Severe preeclampsia and high frequency of genetic thrombophilic mutations. *Obstet Gynecol.* 2000;96(1):45-9.
18. Spaanderman ME, Ekhart TH, van Eyck J, Chertex EC, de Leeuw PW, Peeters LL. Latent hemodynamic abnormalities in symptom-free women with a history of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2000;182(1 Pt 1):101-7.
19. Benedetto C, Marozio L, Tavella AM, Salton L, Grivon S, Di Giampaolo F. Coagulation disorders in pregnancy: acquired and inherited thrombophilias. *Ann N Y Acad Sci.* 2010;1205:106-17.
20. Fogerty AE, Connors JM. Management of inherited thrombophilia in pregnancy. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2009;16(6):464-9.
21. Ridker PM, Hennekens CH, Selhub J, Miletich JP, Malinow MR, Stampfer MJ. Interrelation of hyperhomocyst(e)inemia, factor V Leiden, and risk of future venous thromboembolism. *Circulation.* 1997;95(7):1777-82.
22. Nelen WL, Blom HJ, Steegers EA, den Heijer M, Eskes TK. Hyperhomocysteinemia and recurrent early pregnancy loss: a meta-analysis. *Fertil Steril.* 2000;74(6):1196-9.
23. Nelen WL, Blom HJ, Steegers EA, den Heijer M, Thomas CM, Eskes TK. Homocysteine and folate levels as risk factors for recurrent early pregnancy loss. *Obstet Gynecol.* 2000;95(4):519-24.
24. Silver RM, Zhao Y, Spong CY, Sibai B, Wendel G Jr, Wenstrom K, et al. Prothrombin gene G20210A mutation and obstetric complications. *Obstet Gynecol.* 2010;115(1):14-20.
25. Do Prado AD, Piovesan DM, Staub HL, Horta BL. Association of anticardiolipin antibodies with preeclampsia: a systematic review and meta-analysis. *Obstet Gynecol.* 2010;116(6):1433-43.
26. Von Elm E, Altman DG, Egger M, Pocock SJ, Gøtzsche PC, Vandenbroucke JP, et al. The Strengthening of Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *Rev Esp Salud Publica.* 2008;82(3):251-9.
27. Brasil. Ministério da Saúde. Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. Área Técnica de Saúde da Mulher. Pré-natal e puerpério: atenção qualificada e humanizada – Manual Técnico. Brasília (DF): Ministério da Saúde; 2005.
28. Sibai B, Dekker G, Kupferminc M. Pre-eclampsia. *Lancet.* 2005;365(9461):785-99.
29. Plasencia W, Matiz N, Poon L, Yu C, Nicolaides KH. Uterine artery Doppler at 11 + 0 to 13 + 6 weeks and 21 + 0 to 24 + 6 weeks in the prediction of pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008;32(2):138-46.
30. Triplett DA, Stocker KF, Unger GA, Barna LK. The Textarin/Ecartin ratio: a confirmatory test for lupus anticoagulants. *Thromb Haemost.* 1993;70(6):925-31.
31. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost.* 2006;4(2):295-306.
32. Abbassi-Ghanavati M, Greer IG, Cunningham FG. Pregnancy and laboratory studies: a reference table for clinicians. *Obstet Gynecol.* 2009;114(6):1326-31.
33. Bates SM, Greer IA, Pabinger I, Sofer S, Hirsh J. American College of Chest Physicians. Venous thromboembolism, thrombophilia, antithrombotic therapy, and pregnancy: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). *Chest.* 2008;133(6 Suppl):844S-886S.
34. Ubbink JB, Hayward Vermaak WJ, Bissbort S. Rapid high-performance liquid chromatographic assay for total homocysteine levels in human serum. *J Chromatogr.* 1991;565(1-2):441-6.
35. Dreyfus M, Hedelin G, Kutnahorsky R, Lehmann M, Viville B, Langer B, et al. Antiphospholipid antibodies and preeclampsia: a case-control study. *Obstet Gynecol.* 2001;97(1):29-34.
36. Faden D, Tincani A, Tanzi P, Spatola L, Lojcono A, Tarantini M, et al. Anti-beta 2 glycoprotein I antibodies in a general obstetric population: preliminary results on the prevalence and correlation with pregnancy outcome. Anti-beta2 glycoprotein I antibodies are associated with some obstetrical complications, mainly preeclampsia-eclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1997;73(1):37-42.
37. Gris JC, Chaleur C, Molinari N, Marès P, Fabbro-Peray P, Quere I, et al. Addition of enoxaparin to aspirin for the secondary prevention of placental vascular complications in women with severe pre-eclampsia. The pilot randomised controlled NOHPE trial. *Thromb Haemost.* 2011;106(6):1053-61.
38. Salim R, Czarnowicki T, Nachum Z, Shalev E. The impact of close surveillance on pregnancy outcome among women with a prior history of antepartum complications attributed to thrombosis: a cohort study. *Reprod Biol Endocrinol.* 2008;6:55.
39. Said JM, Higgins JR, Moses EK, Walker SP, Borg AJ, Monagle PT, et al. Inherited thrombophilia polymorphisms and pregnancy outcomes in nulliparous women. *Obstet Gynecol.* 2010;115(1):5-13.
40. Yalinkaya A, Erdemoglu M, Akdeniz N, Kale A, Kale E. The relationship between thrombophilic mutations and preeclampsia: a prospective case-control study. *Ann Saudi Med.* 2006;26(2):105-9.

APÊNDICE G – ARTIGO 3

Elsevier Editorial System(tm) for Brazilian Journal of Rheumatology
Manuscript Draft

Manuscript Number:

Title: Serum markers thrombophilia in pregnant women with Systemic Lupus Erythematosus

Article Type: Original

Keywords: Lupus Erythematosus, Systemic; Thrombophilia; Antibodies, antiphospholipid; Complications, Hematologic Pregnancy

Corresponding Author: Dr. Vanessa Marcon de Oliveira,

Corresponding Author's Institution: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

First Author: Vanessa Marcon de Oliveira

Order of Authors: Vanessa Marcon de Oliveira; Ernesto A Figueiró-Filho; Cristiane M Ferreira

Abstract: Objectives: To determine the frequency of serum markers for hereditary and acquired thrombophilia and their association with pregnancy in women with Systemic Lupus Erythematosus (SLE). Methods: A case-control study was conducted among 25 pregnant women with SLE (study group) and 32 pregnant women without known disease and with at least one previous pregnancy (control group). The presence of antiphospholipid antibodies and hereditary thrombophilia were examined in both groups. We used the X2 Test with Yates correction or Fisher's Exact Test to verify the associations and calculate the relative risk. Results: Thrombophilia was present in 72.0% of pregnant women with SLE and in 6.0% of patients in the control group. A significant association was found between the presence of SLE and serum markers for hereditary thrombophilia / antiphospholipid antibodies ($p < 0.05$). The relative risks for antiphospholipid antibodies were 13.20 ($1.81 < RR < 96.46$) in pregnant women with SLE, 7.26 ($1.77 < RR < 29.86$) for the presence of serum markers of hereditary thrombophilia and 7.92 ($2.62 < RR < 23.94$) for the presence of hereditary thrombophilia and/or antiphospholipid antibodies. Conclusion: Pregnant women with lupus have a higher relative risk of having serum markers for hereditary thrombophilia and/or antiphospholipid antibodies.

Suggested Reviewers: Angela Tincani
tincani@bresciareumatologia.it

random choice

Pier L Meroni
pierluigi.meroni@unimi.it

Autor Agreement



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



Caro Editor,

Os autores, abaixo assinados, declaram que este manuscrito é original, não foi publicado antes e não se encontra submetido para qualquer outra publicação.

Gostaríamos de pedir a atenção do Editor para a presente publicação de nós autores, referente a aspectos do presente manuscrito submetido. Confirmamos que o manuscrito foi lido e aprovado por todos os autores signatários e que não há nenhum outro autor a fazer parte senão os listados. Confirmamos também que a ordem dos autores listada no manuscrito foi aprovada por todos.

Entendemos que o Autor para Correspondência será o único contato para o processo editorial. Ele será o único responsável pela comunicação com os demais autores acerca do progresso da submissão, da revisão do manuscrito e de sua aprovação final.

Vanessa Mardon de Oliveira
Vanessa Mardon de Oliveira

Ernesto Antonio Figueiró-Filho
Ernesto Antonio Figueiró-Filho

Cristiane Munaretto Ferreira
Cristiane Munaretto Ferreira

*Title Page (including Author Identifiers)

Serum markers thrombophilia in pregnant women with Systemic Lupus
Erythematosus

SLE and thrombophilia in pregnant

Vanessa Marcon de Oliveira²; Ernesto Antonio Figueiró-Filho¹; Cristiane Munaretto
Ferreira²

1- Department of Gynecology and Obstetrics, School of Medicine–Federal University
of Mato Grosso do Sul (FAMED–UFMS), Campo Grande, Brazil

2- Post-Graduation Program in Health and Development of Midwestern Region,
FAMED–UFMS, Campo Grande, Brazil

Corresponding Author:

Vanessa Marcon de Oliveira

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Faculdade de Medicina (FAMED)

Caixa Postal 549 – Cidade Universitária – Vila Ipiranga

ZIP: 79070-900 - Campo Grande - MS, Brasil

Email: vanamarcon@hotmail.com

Phone: (55)(67)9262-8606

SLE and thrombophilia in pregnant

Abstract:

Objectives: To determine the frequency of serum markers for hereditary and acquired thrombophilia and their association with pregnancy in women with Systemic Lupus Erythematosus (SLE). **Methods:** A case-control study was conducted among 25 pregnant women with SLE (study group) and 32 pregnant women without known disease and with at least one previous pregnancy (control group). The presence of antiphospholipid antibodies and hereditary thrombophilia were examined in both groups. We used the χ^2 Test with Yates correction or Fisher's Exact Test to verify the associations and calculate the relative risk. **Results:** Thrombophilia was present in 72.0% of pregnant women with SLE and in 6.0% of patients in the control group. A significant association was found between the presence of SLE and serum markers for hereditary thrombophilia / antiphospholipid antibodies ($p < 0.05$). The relative risks for antiphospholipid antibodies were 13.20 (1.81 <RR <96.46) in pregnant women with SLE, 7.26 (1.77 <RR <29.86) for the presence of serum markers of hereditary thrombophilia and 7.92 (2.62 <RR <23.94) for the presence of hereditary thrombophilia and/or antiphospholipid antibodies. **Conclusion:** Pregnant women with lupus have a higher relative risk of having serum markers for hereditary thrombophilia and/or antiphospholipid antibodies.

Keywords: Lupus Erythematosus, Systemic ; Thrombophilia; Antibodies, antiphospholipid; Complications, Hematologic Pregnancy.

Serum markers thrombophilia in pregnant women with Systemic Lupus Erythematosus

SLE and thrombophilia in pregnant

Introduction

Systemic lupus erythematosus (SLE) is a chronic autoimmune disease induced by multiple factors, characterized by the production of autoantibodies, which lead to the damage of multiple organs and changes in immunological patterns¹. It is a serious disease with significant mortality and morbidity, and approximately 90% of affected patients are women of childbearing age².

The disease has a variety of signs and symptoms that are often unspecific, thereby making its diagnosis difficult. The diagnosis of SLE is made when at least four of the 11 criteria defined by the American College of Rheumatology for SLE are present³.

As the manifestations of a normal pregnancy may sometimes be confused with lupus activity, it is important to understand the changes that occur during pregnancy². During normal pregnancy, changes occur in clotting factors, which result in protein S deficiency, increased fibrinogen levels, and changes in factor II and factor VII. These changes increase the risk of thromboembolism by five-fold⁴. Thrombocytopenia is usually mild and does not cause bleeding problems⁴.

The thrombophilias are mainly related to the presence of antiphospholipid antibodies that are present in one-third of patients with SLE (currently a diagnostic criteria according to the American College of Rheumatology), and their presence is associated with poor pregnancy outcomes⁵. These antibodies promote arterial and venous thrombosis, thrombocytopenia and pregnancy loss^{6,7}. In despite of these information, previous reports

regarding hereditary thrombophilia serum markers are addressed in nonpregnant women with SLE⁸⁻¹⁰.

Preeclampsia and eclampsia can emulate SLE as both present with edema, thrombocytopenia, hyperuricemia, anemia, hypertension, proteinuria, hematuria and renal failure. Additionally, it may present with convulsions in eclampsia².

Large numbers of complications can occur in pregnant women with SLE. Possible adverse events include reactivation of the disease, thrombosis and miscarriage in women with antiphospholipid antibodies, neonatal lupus, hypertension, pulmonary hypertension and toxicity of the drugs used to treat SLE¹¹. The high disease activity during pregnancy results in an increased frequency of preterm births and a decreased likelihood of livebirth, with almost 25% of pregnancies resulting in fetal death¹². It is recommended that the immunosuppressive drugs needed to control SLE continue to be administered, particularly if the patient has major organ involvement, such as lupus nephritis¹². Corticosteroids are relatively safe for use during pregnancy, therefore it may contribute in increasing maternal hypertension and gestational diabetes. Prednisone is the choice drug option in cases of active SLE disease upon the maternal organism, even though it does not cross the placental barrier. By the other hand, dexamethasone should enter fetal circulation, so that it becomes the best choice in treatment of congenital heart block².

The objective of the present study was to determine the frequency of serum markers for hereditary and acquired thrombophilia and antiphospholipid antibodies and to examine their association with pregnancy in women with SLE.

Methodology

We carried out a prospective, observational, cross-sectional controlled study in pregnant women from the Service of Gynecology and Obstetrics at The Hospital University

1 School of Medicine, Federal University of Mato Grosso do Sul (UFMS-FAMED) from June
2 2007 to June 2012. These were two distinct groups of patients, who were classified according
3 to the following criteria:
4
5

6 Control Group (CG) - consisted of pregnant women without known disease who had at
7 least one previous pregnancy, whose previous pregnancies were all low-risk and resulted in
8 term deliveries and who had no history of miscarriage. Patients with a prior history of serum
9 markers of hereditary thrombophilias and antiphospholipid antibodies were excluded from
10 this group.
11

12 Study Group (SG) – consisted of pregnant women with a diagnosis of Systemic Lupus
13 Erythematosus (SLE) prior to pregnancy based on clinical and laboratory criteria³ and the
14 patients also might not have been diagnosed with hereditary thrombophilia or
15 antiphospholipid antibodies prior to the current pregnancy.
16

17 Pregnant women whose SLE was in the active phase, who were less than 18 years of
18 age and those whose diagnosis of SLE was made in the current pregnancy were excluded
19 from the study.
20

21 The selection of patients was conducted prospectively and at random according to the
22 order in which cases meeting the inclusion criteria of the outpatient high-risk pregnancy (SG)
23 group and the low-risk (CG) group presented during the study period.
24

25 The calculation of the simple random sampling minimum number of pregnant women
26 with a prior history of SLE to be included in GE took the following factors into account: the
27 total population of primary care patients at the Clinic of High-Risk Pregnancy FAMED-
28 UFMS (1000 pregnant patients/year); the prevalence of antiphospholipid antibodies in this
29 group of patients, whose values are well established in the literature and are approximately
30 40%¹³, the prevalence of thrombophilia in the general population, which is approximately
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

5%¹⁴, and test power of 85% and a sampling error of 5% using a two-tailed test. With these parameters, the minimum number of pregnant women required in both groups was 24.

All patients were screened for the presence of antiphospholipid antibodies by serum IgM and IgG anticardiolipin, lupus anticoagulant and anti- β 2 glycoprotein I (anti- β 2GPI). In despite of the literature recommendation of repeating the dosage within 12 weeks interval, it was not performed due to specific characteristics of our routine service¹².

Pregnant women in whose blood sample the antiphospholipid antibodies were identified, were considered as antiphospholipid serum markers carriers, hence they were not classified as Antiphospholipid Antibody Syndrome (APS) disease carriers. The presence of hereditary thrombophilia was identified through the measurement of protein C and S coagulation, antithrombin, homocysteine and research Q506 mutation of factor V (factor V Leiden). Among pregnant women in the study group, the measurements were performed at the first prenatal consultation of the study pregnancy, this visit was prior to 20 weeks gestation. Among pregnant women in the control group who met the inclusion criteria, samples were collected in the immediate postpartum period (up to six hours postpartum) to avoid sample loose. The screening for acquired/inherited thrombophilia is routinely performed at the Clinic of High-Risk Pregnancy at our institution. The serum levels of factor VIII, prothrombin G20210A mutation, and enzyme methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR C677T) polymorphism are not screened as routine in our service.

The anticardiolipin antibodies IgM and IgG were processed using enzyme immunoassay (ELISA) following the methodology proposed in international standardization¹⁵. The results were considered reactive for IgM and IgG when they had values higher than 11 UMPL and 11 UGPL, respectively.

The presence of lupus anticoagulant was conducted in three stages, and the first test was performed with the screening techniques aPTT (activated partial thromboplastin time)

and dRWT (time of the dilute Russell viper venom). When the obtained values were greater than 1,26 and/or 1,14 in the aPTT tests and dRWT, respectively, they were held at the second step, where the aPTT test proceeded using a mixture of 50% plasma and 50% of the patient's normal plasma. If no correction was needed, the test proceeded to the third stage. This consisted of dRWT confirmatory testing, which tested positive for lupus anticoagulant when the concentration was greater than 1,21¹⁵.

The search for anti- β 2GPI antibodies was performed by ELISA, where values above 15 U/mL were considered to be reactive¹⁵.

The dosage of protein C was measured using the chromogenic method^{16,17} the result of which is the finding of a normal serum value greater than or equal to 65%. Values less than 65% are considered to indicate protein C deficiency^{16,17}.

The dosage of protein S was measured using the chromogenic method^{16,17}, the result of which is the finding of a normal serum value greater than or equal to 55%. Values below 30% are considered to indicate protein S deficiency^{16,17}.

Dosing of antithrombin was measured using the chromogenic method^{16,17}, the result of which is the finding of a normal serum value of greater than or equal to 60%. Values below 60% are considered to indicate antithrombin deficiency^{16,17}.

Homocysteine was measured using high-pressure liquid chromatography (HPLC) with isocratic elution and fluorimetric detection¹⁸, whose reference value is 4 to 12 μ mol/l. Hyperhomocysteinemia is evidence by values greater than 12 μ mol/l¹⁸.

The research Q506 mutation in the factor V (factor V Leiden) was measured using polymerase chain reaction (PCR) using to the restriction enzyme MnlI¹⁶, and is considered to be a positive mutation (homozygous or heterozygous).

Carriers of hereditary thrombophilia were all pregnant women who had test results that indicated protein C deficiency, protein S deficiency, antithrombin deficiency,

hyperhomocysteinemia or the presence of Factor V Leiden mutation (heterozygous or homozygous affected). Carriers of antiphospholipid antibodies were all patients whose results were positive for anticardiolipin IgM/IgG, lupus anticoagulant and/or anti- β 2GPI, according to the methodology explained.

We emphasize that serum markers for acquired thrombophilias were not repeated after 12 weeks, because the present study did not aim to perform the diagnosis of APS.

The parametric variables (age and parity) are expressed as the mean $\pm$ standard deviation and were compared using the Student t test. The nonparametric variables (presence/absence of hereditary thrombophilias and antiphospholipid antibodies) were evaluated in double-entry contingency tables using the χ^2 test with Yates correction or Fisher's Exact Test. Significant associations were those with p value $<0,05$. Relative risks were calculated and are presented with 95% confidence intervals (CI).

The patients included in the study signed an informed consent form (ICF). The study and its ICF were approved by the Ethics Committee on Human Research of the Federal University of Mato Grosso do Sul - UFMS, Protocol 884, as of May 18, 2007.

Results

Of the 57 pregnant women studied, 25 (43.9%) were in the study group and 32 (56.2%) were in the control group. The mean age in the SG was $29,4 \pm 6,3$ years, and the average number of pregnancies was $2,1 \pm 1,4$. In the CG, the mean age was $30,3 \pm 4,4$ years, and the mean number of pregnancies was $1,2 \pm 0,4$. No difference between the groups was found for maternal age or parity.

Positive screening for hereditary thrombophilia and/or antiphospholipid antibodies was found in 72% (18/25) of pregnant women in the SG. Among the CG patients, the

presence of thrombophilia and/or antiphospholipid antibodies was found in 6% (3/32) of the sample (Table 1).

Screening for antiphospholipid antibodies in pregnant women with lupus demonstrated positive results in ten women (40%), out of these, six (24%) patients were identified with isolated antibodies and 4 (16%) patients had antibodies associated with other thrombophilia serum markers. In the pregnant women of the CG the presence of antiphospholipid antibodies was detected only in one patient (3%) (Table 1).

There was an association ($p < 0,05$) between the presence of SLE in pregnant women and the occurrence of serum markers for hereditary thrombophilia and/or antiphospholipid antibodies (Table 1).

The relative risk for the presence of antiphospholipid antibodies in pregnant women with SLE was 13,20 (1,81 $<RR < 96,46$). The presence of serum markers for hereditary thrombophilia had a relative risk of 7,26 (1,77 $<RR < 29,86$). The relative risk was 7,92 (2,62 $<RR < 23,94$) when considering the occurrence of serum markers for hereditary thrombophilia and/or antiphospholipid antibodies.

Isolated hereditary thrombophilia was present in 24% of the pregnant women diagnosed with SLE (6/25) and 6,1% (2/33) of pregnant women in control group. Two or more hereditary thrombophilias and / or the presence of antiphospholipid antibodies together were found in 24% (6/25) of patients EG (Table 2). Among pregnant women in the SG, the most frequent isolated hereditary thrombophilias were as follows: antithrombin deficiency (12%), protein C and S deficiencies, and hyperhomocysteinemia (4%). In screening for the presence of antiphospholipid antibodies, the presence of lupic anticoagulant alone was demonstrated in 20,0% of the sample group (5/25) (Table 2).

Discussion

The prevalence of thrombophilic factors in pregnant women with SLE is not well established in the literature. Thus, the investigation of the prevalence of these factors in this group of patients helps to clarify its importance both in these clinical profiles and in the prevention of obstetric complications. The presence of antiphospholipid antibodies in patients with SLE has been described^{11,13,19}, but markers for hereditary thrombophilia are not well characterized, and varying methodologies make it difficult to compare data⁸⁻¹⁰.

The prevalence of antiphospholipid antibodies in SLE patients is approximately 40%, and between 12% and 44% of patients are positive for anticardiolipin, 15% to 34% are positive for lupus anticoagulant and 10% to 19% are positive for the anti- β 2-glycoprotein I (β 2-GPI anti)¹³. These data agree with the results of the present study, where 40% (10/25) of patients had markers for antiphospholipid antibodies. The anticardiolipin antibody was found in 12% (3/25) of patients, the lupus anticoagulant was found in 24% (6/25) and anti- β 2 GPI was found in 4% (1/25), which is the one antibody whose value was below that described in the literature.

Thrombotic events occur more frequently in lupus patients with antiphospholipid antibodies than in patients without SLE or other autoimmune disease who have these antibodies²⁰. A study conducted in 2009 showed similar results and found a higher frequency of thrombosis and pregnancy loss in patients with SLE, which were associated with the presence of markers for thrombophilia in patients with acquired primary APS²¹.

The presence of markers of antiphospholipid antibodies was found to be 3,1 times higher in women experiencing pregnancy loss, especially after 20 weeks gestation ($p = 0,004$). This was an independent risk factor for additional losses in a pregnancy cohort study of 166 pregnant women in the Hopkins Lupus Center²².

Maternal lupus activity and the presence of antiphospholipid antibodies were associated with concomitant major causes of obstetric complications^{12, 22}. It is estimated that

approximately 20% of pregnancies in women with SLE result in fetal loss²³. The rate of preterm birth (birth before 37 weeks gestation) is also increased in this group of patients. The incidence appears to vary between 23% and 28%²³. Preterm birth is often spontaneous, and it is mainly due to premature rupture of membranes, but there is also a significant portion of cases in which labor is induced to protect the health of the mother and / or baby (early fetal distress or pre-eclampsia)¹⁹.

In relation to serum markers of hereditary thrombophilia, protein C deficiency, S and antithrombin, we found an incidence of 40% (10/25) among pregnant women with lupus, however several authors^{9,24,25}, did not find the presence of these markers in non-pregnant patients with SLE, suggesting that they were not associated with an increased thrombotic risk. However, we observed changes in these protein systems¹⁰.

We can not say that patients with protein C and S deficiency are carriers of inherited deficiency since pregnancy is a hypercoagulable state with increased coagulation factors and simultaneous decrease of natural anticoagulant and fibrinolytic proteins. These important changes occur naturally in order to minimize the risk blood loss, but increases the occurrence of thromboembolic events. However as there were no subsequent dosages of natural anticoagulants, it is suggested that these deficiencies may be transient²⁶⁻²⁸.

We did not observe the presence of FV Leiden mutation in any patient. However, Brouwer et al. (2004)²⁴ found that FV Leiden in non-pregnant patients with SLE increases the risk of venous thrombosis and is associated with an OR of 3,5.

The presence of hyperhomocysteinemia was found in only 4% (1/25) of women in the study group. The results presented below from the literature in non-pregnant patients with lupus, which is approximately 37%, is related to renal impairment⁸. High concentrations of this amino acid are common in SLE patients and are predictive of late thrombosis, stroke and hypertension²¹.

1 Studies show that women with thrombophilia (protein S deficiency, and antithrombin
2 C, hyperhomocysteinemia and factor V Leiden mutation) during pregnancy have a higher
3 prevalence of obstetric and perinatal complications such as miscarriage, fetal loss and
4 preeclampsia^{6, 7}. Thus, the high incidence of these markers in women with lupus may be
5 related to the increased number of cases of obstetric complications in this group of women.
6

7 Whereas women with SLE have 2 to 4 times higher rates of complications during
8 pregnancy than non-pregnant women with SLE²⁹, the identification of markers for hereditary
9 and/or acquired thrombophilia in pregnant women with lupus may be clinically useful to
10 determine which patients have a higher risk of obstetric complications.
11

12 We emphasize that our study population is quite different from the casuistics studied
13 by other authors. The Brazilian racial miscegenation could induce genetic characteristics not
14 found in populations studied in other trials regarding hereditary/acquired thrombophilia^{30, 31}.
15

16 We either did not find any study that focused in the association of SLE pregnant
17 women and inherited thrombophilia. We were only able to find data on the prevalence of
18 acquired thrombophilia (antiphospholipid antibodies) and its impact on pregnancy in patients
19 with SLE. It may suggest that more studies regarding the impact of inherited thrombophilia in
20 pregnant women with SLE should be carried on.
21

22 Conflict of interest

23 The authors have no conflicts of interest.
24

25 References

26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

1. Wei Q, Ouyang Y, Zeng W, Duan L, Ge J, Liao H. Pregnancy complicating systemic lupus erythematosus: a series of 86 cases. *Arch Gynecol Obstet.* 2011;284(5):1067-71.
2. Dhar JP, Sokol RJ. Lupus and pregnancy: complex yet manageable. *Clin Med Res.* 2006;4(4):310-21.
3. Hochberg MC. Updating the American college of rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis & Rheumatism.* 1997;40(9):1725-.
4. Toglia MR, Weg JG. Venous thromboembolism during pregnancy. *N Engl J Med.* 1996;335(2):108-14.
5. Gayed M, Gordon C. Pregnancy and rheumatic diseases. *Rheumatology.* 2007;46(11):1634-40.
6. Figueiró-Filho E, Oliveira V. [Association of recurrent abortion, fetal loss and severe preeclampsia with hereditary thrombophilias and antiphospholipid antibodies in pregnant women of central Brazil.] *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2007;29(11):561-7.por
7. Figueiro-Filho EA, Oliveira VM, Coelho LR, Breda I. [Serum markers of inherited thrombophilia and antiphospholipid antibodies in pregnant women with previous history of severe pre-eclampsia]. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2012;34(1):40-6.por
8. Barcat D, Guerin V, Ryman A, Constans J, Vernhes JP, Vergnes C, et al. Thrombophilia and thrombosis in systemic lupus erythematosus: a case-control study. *Ann Rheum Dis.* 2003;62(10):1016-7.
9. Afeltra A, Vadacca M, Conti L, Galluzzo S, Mitterhofer AP, Ferri GM, et al. Thrombosis in systemic lupus erythematosus: congenital and acquired risk factors. *Arthritis Rheum.* 2005;53(3):452-9.
10. Vaya A, Santaolara M, Mico L, Calvo J, Oropesa R, Villa P, et al. Thrombotic events in systemic lupus erythematosus. Its association with acquired and inherited thrombophilic defects. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2008;40(2):79-87.

11. Ruiz-Irastorza G, Khamashta MA. [Systematic lupus erythematosus and antiphospholipid syndrome during pregnancy]. *Z Rheumatol.* 2006;65(3):192-4, 6-9.ger
12. Clowse ME, Magder LS, Witter F, Petri M. The impact of increased lupus activity on obstetric outcomes. *Arthritis Rheum.* 2005;52(2):514-21.
13. Biggioggero M, Meroni PL. The geoepidemiology of the antiphospholipid antibody syndrome. *Autoimmun Rev.* 2010;9(5):A299-304.
14. Middeldorp S, van Hylckama Vlieg A. Does thrombophilia testing help in the clinical management of patients? *Br J Haematol.* 2008;143(3):321-35.
15. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost.* 2006;4(2):295-306.
16. Jackson BR, Holmes K, Phansalkar A, Rodgers GM. Testing for hereditary thrombophilia: a retrospective analysis of testing referred to a national laboratory. *BMC Clin Pathol.* 2008;2(8):3.
17. Abbassi-Ghanavati M, Greer LG, Cunningham FG. Pregnancy and laboratory studies: a reference table for clinicians. *Obstet Gynecol.* 2009;114(6):1326-31.
18. Ubbink JB, Hayward Vermaak WJ, Bissbort S. Rapid high-performance liquid chromatographic assay for total homocysteine levels in human serum. *J Chromatogr.* 1991;565(1-2):441-6.
19. Andreoli L, Fredi M, Nalli C, Reggia R, Lojcono A, Motta M, et al. Pregnancy implications for systemic lupus erythematosus and the antiphospholipid syndrome. *J Autoimmun.* 2012;38(2-3):J197-208.
20. Laskin CA, Clark CA, Spitzer KA. Antiphospholipid syndrome in systemic lupus erythematosus: is the whole greater than the sum of its parts? *Rheum Dis Clin North Am.* 2005;31(2):255-72, vi.

21. Danowski A, de Azevedo MN, de Souza Papi JA, Petri M. Determinants of risk for venous and arterial thrombosis in primary antiphospholipid syndrome and in antiphospholipid syndrome with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 2009;36(6):1195-9.
22. Clowse ME, Magder LS, Witter F, Petri M. Early risk factors for pregnancy loss in lupus. *Obstet Gynecol.* 2006;107(2Pt1):293-9.
23. Yan Yuen S, Krizova A, Ouimet JM, Pope JE. Pregnancy Outcome in Systemic Lupus Erythematosus (SLE) is Improving: Results from a Case Control Study and Literature Review. *Open Rheumatol J.* 2008;2:89-98.
24. Brouwer JL, Bijl M, Veeger NJ, Kluin-Nelemans HC, van der Meer J. The contribution of inherited and acquired thrombophilic defects, alone or combined with antiphospholipid antibodies, to venous and arterial thromboembolism in patients with systemic lupus erythematosus. *Blood.* 2004;104(1):143-8.
25. Torresan M, Machado TF, Siqueira LH, Ozelo MC, Arruda VR, Annichino-Bizzacchi JM. The impact of the search for thrombophilia risk factors among antiphospholipid syndrome patients with thrombosis. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2000;11(7):679-82.
26. Adachi T. Protein S and congenital protein S deficiency: the most frequent congenital thrombophilia in Japanese. *Curr Drug Targets.* 2005;6(5):585-92.
27. Paidas MJ, Ku DH, Lee MJ, Manish S, Thurston A, Lockwood CJ, et al. Protein Z, protein S levels are lower in patients with thrombophilia and subsequent pregnancy complications. *J Thromb Haemost.* 2005;3(3):497-501.
28. Hojo S, Tsukimori K, Kimukawa N, Hattori S, Kang D, Hamasaki N, et al. Decreased maternal protein S activity is associated with fetal growth restriction. *Thromb Res.* 2008;123(1):55-9.
29. Clowse ME, Jamison M, Myers E, James AH. A national study of the complications of lupus in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 2008;199(2):127 e1-6.

- 1 30. De Stefano V, Martinelli I, Rossi E, Battaglioli T, Za T, Mannuccio Mannucci P, et al.
2
3 The risk of recurrent venous thromboembolism in pregnancy and puerperium without
4 antithrombotic prophylaxis. *Br J Haematol.* 2006;135(3):386-91.
5
6
7
8 31. Tranquilli AL, Giannubilo SR, Dell'Uomo B, Grandone E. Adverse pregnancy
9 outcomes are associated with multiple maternal thrombophilic factors. *Eur J Obstet Gynecol*
10 *Reprod Biol.* 2004;117(2):144-7.
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

Table

Table 1 - Association between the presence of SLE and the occurrence of serum markers of thrombophilias in pregnant women.

	Serum markers of antiphospholipid antibodies			Serum markers of hereditary thrombophilia			Serum markers of hereditary thrombophilia and/or antiphospholipid antibodies		
	n (%)	n (%)	Total n (%)	n (%)	n (%)	Total n (%)	n (%)	n (%)	Total n (%)
Study group ¹	10 (40,0)	15 (60,0)	25 (100,0)	11 (44,0)	15 (56,0)	25 (100,0)	18 (72,0)	7 (28,0)	25 (100,0)
Control group ²	1 (3,0)	32 (97,0)	33 (100,0)	2 (6,1)	31 (93,9)	33 (100,0)	3 (9,1)	30 (90,9)	33 (100,0)
Total	11 (19,0)	47 (81,0)	58 (100,0)	13 (22,4)	45 (77,6)	58 (100,0)	21 (36,2)	37 (63,8)	58 (100,0)
RR	13,20 (1,81 - 96,46)			7,26 (1,77 - 29,86)			7,92 (2,62 - 23,94)		
p	0,0004			0,001			<0,0001		

¹ Fisher's Exact Test; ² pregnant women with SLE; ³ pregnant women with at least one successful pregnancy;

Table 2 - Frequency of serum markers for thrombophilias in pregnant women with and without SLE.

Hereditary thrombophilia and / or antiphospholipid antibodies	Study Group ¹ (n / total group)	Control Group ² (n / total group)
Isolated antiphospholipid antibodies	24,0% (6/25)	3,0% (1/33)
• Antibody IgM anticardiolipin	4,0% (1/25)	3,1% (1/33)
• Lupus anticoagulant	20,0% (5/25)	- (0/33)
Isolated hereditary thrombophilia	24,0% (6/25)	6,1% (2/33)
• Protein C Deficiency	4,0% (1/25)	- (0/33)
• Protein S Deficiency	4,0% (1/25)	3,0% (1/33)
• Antithrombin Deficiency	12,0% (3/25)	3,1% (1/33)
• Hyperhomocysteinemia	4,0% (1/25)	- (0/33)
Hereditary thrombophilia and / or antiphospholipid antibodies identified together	24,0% (6/25)	- (0/33)
• Anticardiolipin antibody IgM + antithrombin deficiency	4,0% (1/25)	- (0/33)
• Anticardiolipin antibody IgG + antibody anti- β 2GPI	4,0% (1/25)	- (0/33)
• Lupus anticoagulant + antithrombin deficiency	8,0% (2/25)	- (0/33)
• Deficiency of protein S + deficiency of antithrombin	8,0% (2/25)	- (0/33)

¹ - pregnant women with SLE; ² - pregnant women with at least one successful pregnancy;