

Dissertação || Artigo de Revisão Bibliográfica
Mestrado Integrado em Medicina

Patogenia e Abordagem Terapêutica do Síndrome Antifosfolipídico na Gravidez

Carolina Santos de Oliveira Ourique
Mestrado Integrado em Medicina | 6ºAno Profissionalizante
Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar
Universidade do Porto
Largo Prof. Abel Salazar, 2, 4099-003 Porto

Orientador:

Dr. Jorge Sousa Braga
Professor Convidado ICBAS-UP
Assistente Hospitalar Graduado em Ginecologia/ Obstetrícia do CHP| HGSA

Porto 2010

Patogenia e Abordagem Terapêutica do Síndrome Antifosfolipídico na Gravidez

RESUMO

O Síndrome antifosfolipídico é caracterizado por trombose e/ou morbidades obstétricas na presença de anticorpos antifosfolipídicos. Grávidas com anticorpos antifosfolipídicos têm um elevado risco de aborto precoce, perda fetal, complicações tardias (tais como doença hipertensiva da gravidez e parto pré-termo) e trombose materna.

O conhecimento da patogenia das complicações obstétricas mediadas por anticorpos antifosfolipídicos tem evoluído nos últimos anos. O primeiro mecanismo proposto foi a trombose e enfarte na circulação útero-placentária através de múltiplos factores, entre os quais a activação de células endoteliais, monócitos, plaquetas e por ligação à anexina V no trofoblasto. Actualmente, novos dados experimentais e clínicos valorizam o papel da inflamação na lesão tecidual na interface materno-fetal, bem como a acção directa dos anticorpos antifosfolipídicos na invasão e diferenciação do trofoblasto.

Apesar da dificuldade em estabelecer recomendações baseadas na evidência, o tratamento *standard* de grávidas com síndrome antifosfolipídico é a terapia combinada de heparina e ácido acetilsalicílico em baixa dose. Permanece, no entanto, controverso o tratamento de mulheres assintomáticas ou com pelo menos um aborto precoce, na persistência de anticorpos antifosfolipídicos. Nos casos refractários a abordagem terapêutica é limitada ao uso de imunoglobulina intravenosa e, em casos especiais, glicorticóides.

É provável que nos próximos anos o tratamento de mulheres com síndrome antifosfolipídico durante a gravidez seja baseado em terapêuticas anti-inflamatórias e imunomoduladora. Vários potenciais alvos terapêuticos têm sido referidos com o conhecimento de novos mecanismos, pelo que os inibidores da cascata de complemento, os inibidores dos receptores 4 *Toll-Like*, anti-citocinas e a hidroxicloroquina são algumas das maiores promessas.

Palavras-Chave: Síndrome Antifosfolipídico; Abortamento; Perda Fetal; Gravidez; Anticorpos Antifosfolipídicos; β_2 -glicoproteína I; Receptores-4 *Toll-like*; Complemento; Heparina.

INTRODUÇÃO

Desde o início da década de 80 que é reconhecida a associação entre a presença de anticorpos antifosfolipídicos com trombose e perda fetal, tendo sido o termo clínico *Síndrome Antifosfolipídico* formalizado em 1986 (Branch and Khamashta, 2003; George and Erkan, 2009). Embora a maioria das características clínicas tenha sido descrita até essa data, passou mais de uma década para a realização de um Consenso Internacional de critérios preliminares (de Sapporo), publicado em 1999 e revisto em 2006 (Wilson *et al*, 1999; Miyakis *et al*, 2006).

Desde então, o Síndrome Antifosfolipídico (SAF) é definido pela presença de pelo menos um critério clínico e um laboratorial. Fazem parte dos critérios clínicos de Sapporo os eventos vasculares trombóticos (venosos ou arteriais) e morbidades na gravidez, o que inclui: 1) pelo menos uma morte inexplicada de feto morfologicamente normal com 10 ou mais semanas de gestação; 2) um ou mais partos pré-termo devido a eclampsia, pré-eclampsia ou insuficiência placentária; e 3) três ou mais abortos espontâneos consecutivos e inexplicados antes das 10 semanas de gestação, quando excluídas causas anatômicas, hormonais e cromossômicas dos progenitores. Para o critério laboratorial é necessária a persistência de anticorpos antifosfolipídicos, nomeadamente os anticorpos anti-cardiolipina, anticoagulante lúpico ou os anticorpos anti- β_2 glicoproteína-I.

O SAF (também conhecido como *Síndrome de Hughes*) foi primeiramente descrito num subgrupo de doentes com Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES), pelo que foi classificado de SAF secundário. Entre 20-40% dos doentes com LES têm anticorpos antifosfolipídicos, porém menos de metade destes apresentam SAF (Salmon *et al*, 2006). Na ausência de LES ou outra doença auto-imune é designado de SAF primário. Este último é a principal causa de trombofilia adquirida e é responsável por cerca de 10-15% das perdas fetais recorrentes em todas as mulheres (Pierangeli *et al*, 2007).

A perda fetal foi a primeira complicação obstétrica relacionada com anticorpos antifosfolipídicos a ser identificada e é a mais específica, uma vez que na população geral os abortos são mais frequentes durante as primeiras nove semanas de gestação e raras depois das catorze (Tincani *et al*, 2009). Por esta razão apenas um evento destes é suficiente para preencher o critério clínico na SAF. Contudo, os aAF estão

associados a um amplo espectro de complicações, que abrange também abortos recorrentes no período pré-embriónico (menos de seis semanas de gestação) e embriónico (entre as seis e nove semanas de gestação), restrição de crescimento intra-uterino, parto pré-termo, pré-eclampsia, eclampsia, síndrome de HELLP (anemia hemolítica, elevação de enzimas hepáticas e diminuição do número de plaquetas) e trombose materna (George and Erkan, 2009).

A taxa de pré-eclampsia em grávidas com SAF é elevada (20-50%) e especialmente precoce e grave, tornando-se um relevante problema clínico, uma vez que a morbilidade e mortalidade é significativa quando a pré-eclampsia ocorre antes das 33 semanas de gestação ou na presença de co-morbilidades maternas (Tincani *et al*, 2009). Também o síndrome de HELPP surge mais precocemente quando comparado com a população geral e é mais frequente no segundo trimestre, embora com possíveis exacerbações até três semanas após o parto (Tsirigotis *et al*, 2007). A pré-eclampsia, insuficiência placentária e consequente restrição de crescimento intra-uterino podem explicar a elevada taxa de partos pré-termo que ocorrem em doentes com SAF. A prematuridade é, de facto, a principal complicação neonatal, não se verificando aumento do risco de trombose neonatal (Tincani *et al*, 2009).

Aproximadamente um quarto das mulheres que sofrem abortos recorrentes tem SAF (Salmon *et al*, 2007), sendo esta uma das poucas causas tratáveis de abortamento (Branch and Khamashta, 2003). Para além disso, a probabilidade de morbilidade obstétrica nestas doentes pode atingir os 90% na ausência de tratamento, o que reflecte a importância do diagnóstico, acompanhamento e instituição terapêutica precoces (George and Erkan, 2009).

Esta revisão apresenta uma discussão dos mecanismos propostos para patogénia das morbilidades obstétricas mediadas pelos aAF e as suas implicações na abordagem terapêutica presente e futura destes casos. Na parte final é feita uma reflexão sobre algumas controvérsias deste tema, pois apesar de ser uma área em rápida evolução muitos dilemas permanecem e novos desafios vão surgindo.

PATOGENIA DAS COMPLICAÇÕES OBSTÉTRICAS

Os anticorpos antifosfolipídicos (aAF) são um grupo heterogéneo de auto-anticorpos que não se ligam directamente aos fosfolípidos da membrana das células, mas reconhecem epítomos nas proteínas de ligação aos fosfolípidos (Espinosa and Cervera, 2008). Exemplos desses co-factores são a anexina V, a proteína C e a protrombina, embora a proteína de ligação mais importante seja a β_2 -glicoproteína I

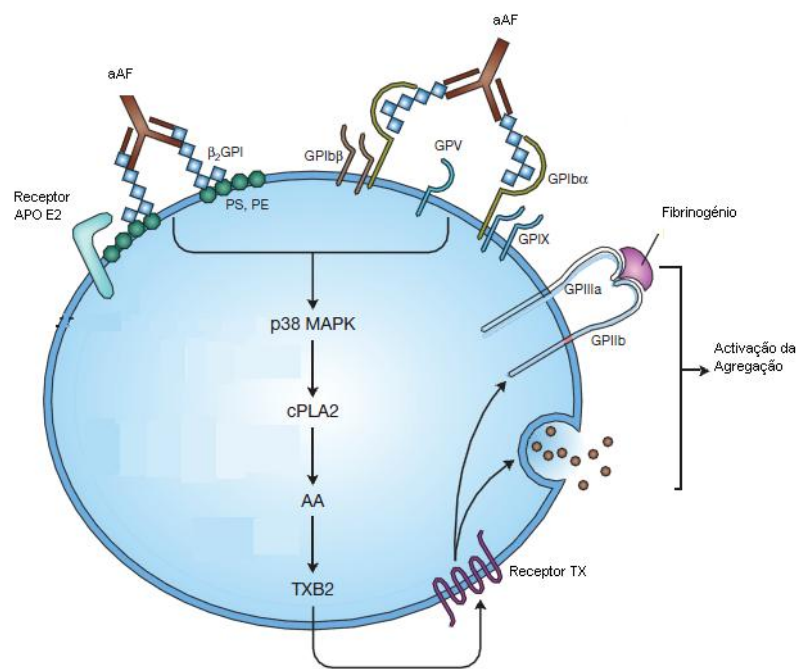
(β_2 GPI) que se liga com grande afinidade às cargas negativas dos fosfolípidos e é o principal antígeno alvo dos aAF (Abrahams, 2009).

Historicamente, o papel dos aAF na patogenia dos abortos na SAF tem sido demonstrado em vários estudos com modelos animais (Hanly, 2003). Inicialmente foi sugerido que as complicações obstétricas ocorriam como resultado de trombose e enfarte na circulação útero-placentária, sendo propostos diversos mecanismos para explicar esses eventos trombóticos, tais como a activação de plaquetas, activação de células endoteliais e monócitos, a inibição da proteína C, o aumento da expressão do factor tecidual e a redução da anexina V (Branch and Khamashta, 2003).

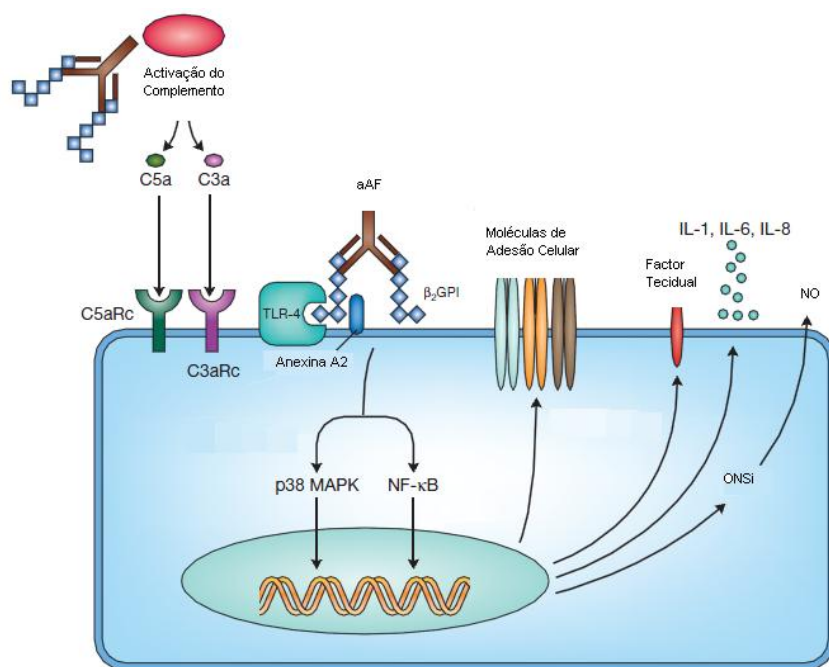
Foi demonstrado o aumento da activação e agregação plaquetária no plasma de doentes com aAF (Salmon *et al*, 2006). Os receptores e mecanismos intracelulares nas plaquetas não estão completamente esclarecidos, mas pensa-se que a ligação do complexo aAF- β_2 GPI ao receptor 2 da apolipoproteína E (apoER2) e ao receptor glicoproteína IIb/IIIa possa desencadear a produção e libertação de tromboxano, um potente vasoconstritor e agregante plaquetário. Esta resposta é mediada a nível intracelular pela fosforilação da cinase mitogénica p38 (p38 MAPK). A expressão de glicoproteínas IIb/IIIa também está aumentada na presença de aAF, contribuindo ainda mais para a formação do trombo (Pierangeli *et al*, 2007) (Figura IA).

Nas células endoteliais e monócitos, para além da ApoER2 foram identificados os receptores 4 *Toll-like* (TLR-4) e a anexina A2 (Pierangeli *et al*, 2007). Nestas células, a sinalização intracelular desencadeada seria mediada não só pela fosforilação de p38 MAPK como pela activação do factor nuclear (NF- κ B), resultando num aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias (incluindo interleucina-6, interleucina-8 e factor de necrose tumoral α , moléculas de adesão celular e factor tecidual) (Vega-Ostertag *et al*, 2005) (Figura IB).

Um terceiro mecanismo proposto para indução de trombose na circulação intra-uterina é a ligação dos aAF à anexina V. A anexina V, ou proteína anticoagulante da placenta I, é expressa em grande quantidade na superfície das vilosidades do sinciotrofoblasto e tem um potente efeito anticoagulante, contribuindo para a integridade da placenta (Tincani *et al*, 2009). Neste sentido, tem sido demonstrado que a expressão de anexina V está diminuída em placentas de mulheres com SAF e que os aAF podem reduzir a anexina V em culturas de células de trofoblasto. (Rand *et al*, 1997; Rand *et al*, 2010).



A



B

Figura I. Eventos membranares e intracelulares desencadeados pelos anticorpos antifosfolipídicos nas plaquetas (A) e nas células endoteliais (B). AA: Ácido araquidônico; aAF: anticorpos antifosfolipídicos; APOE2: Apoproteína E2; C5aRc: receptor C5a; C3aRc: Receptor C3a; GP: Glicoproteína; IL: Interleucina; NF- κ B: Factor Nuclear κ B; ON: Óxido Nítrico; ONSi: Óxido Nítrico Sintetase induzido; PLA2: Fosfolipase A2; TLR-4: receptor 4 *Toll-like*; TX: Tromboxano; β_2 GPI: β_2 -glicoproteína I; p38-MAPK: p38 proteína cinase mitogénica activada. (Adaptação de Pierangeli SS et al (2007) *New targeted therapies for treatment of thrombosis in antiphospholipid syndrome. Expert Reviews* 9: 1-15)

Contudo, nem todas as placentas de mulheres com aAF que sofreram abortos têm sinais de trombose, pelo que, embora relevantes, os mecanismos trombóticos referidos não parecem ser suficientes para explicar todo o espectro de complicações obstétricas em mulheres com aAF (Sebire *et al*, 2003; Espinosa and Cervera, 2008). Pelo contrário, parece haver insuficiência placentária com redução de decídua, com infiltração de células inflamatórias imunes e deficiente invasão trofoblástica das artérias espiraladas (Sebire *et al*, 2002; Bose *et al*, 2006; Van Horn *et al*, 2004). Este facto suscitou a hipótese dos aAF actuarem directamente no trofoblasto (Meroni *et al*, 2008). O trofoblasto possui condições peculiares que podem apoiar esta teoria. A maioria das células só estabelece ligação a β_2 GPI quando (sob situações patológicas, estimulantes ou apoptóticas) os fosfolípidos interiores de carga negativa são expostos no folheto externo da membrana plasmática. Porém, o trofoblasto é um caso especial, pois no seu estado normal expressa β_2 GPI na superfície das suas células (Abrahams, 2009). Para além disso, há uma maior quantidade de β_2 GPI em placentas de mulheres com SAF e abortos recorrentes em comparação com placentas de mulheres saudáveis (Meroni *et al*, 2008). Assim, o trofoblasto expressa os potenciais alvos dos aAF circulantes, cuja ligação pode resultar em prejuízo na formação e proliferação do sinciotrofoblasto, redução da produção de gonadotropina coriónica humana e deficiente capacidade invasiva do trofoblasto (Meroni *et al*, 2008).

Diversos estudos encontraram evidências sugestivas de um processo inflamatório como mecanismo subjacente às complicações obstétricas na SAF, tais como um aumento local e sistémico dos níveis de factor de necrose tumoral α (FNT α), depósitos de factores de complemento, maior expressão de factor tecidual e infiltração de neutrófilos na decídua (Holers *et al*, 2002; Girardi *et al*, 2003; Berman *et al*, 2005; Redecha *et al*, 2007). Para além disso, o bloqueio da via de complemento ou do factor tecidual em ratos com aAF preveniu a perda fetal, sugerindo que essas vias seriam cruciais para a lesão (Holers *et al*, 2002; Girardi *et al*, 2003; Redecha *et al*, 2007). Foi então proposto que o complexo β_2 GPI-aAF no trofoblasto active de forma exagerada a via complemento, com consequente recruta e activação de neutrófilos, monócitos e plaquetas, e com libertação de mediadores de inflamação (Salmon *et al*, 2006). Dependente da extensão da lesão poderia advir morte fetal ou restrição de crescimento intra-uterino (Salmon *et al*, 2006).

Recentemente, Mulla *et al* (2009) acrescentaram mais um degrau a este percurso. Demonstraram que a resposta pró-inflamatória aos anticorpos anti- β_2 GPI no trofoblasto é mediada pelos receptores 4 *Toll like* e por uma proteína adaptadora – o

Factor 88 de diferenciação mielóide (MyD88). Normalmente, estes receptores medeiam respostas celulares a componentes microbianos, mas algumas publicações já têm referido o mimetismo molecular da β_2 GPI, isto é, que β_2 GPI partilha partes homólogas com componentes de vários agentes víricos e bacterianos (Blank *et al*, 2004).

Em suma, não só a trombofilia como também mecanismos inflamatórios parecem estar envolvidos na patogenia das complicações obstétricas mediadas por aAF. A redução da invasão, migração e diferenciação do trofoblasto encontrada em mulheres com SAF parece ser justificada pela ligação directa dos aAF ao trofoblasto e o infiltrado inflamatório verificado na interface materno-fetal parece advir da activação da cascata do complemento, consequente produção de citocinas, e estimulação de outras células inflamatórias.

OPÇÕES TERAPÊUTICAS ACTUAIS NA GRAVIDEZ

Grávidas com SAF têm risco aumentado de complicações em todos os estadios da gravidez (Bertolaccini *et al*, 2010). O tratamento ideal deve melhorar a saúde materna e o prognóstico perinatal, prevenindo abortos, pré-eclampsia, insuficiência placentária e parto pré termo, bem como reduzir ou eliminar o risco trombótico materno (Branch and Khamashta, 2003). As incertezas na etiologia e patogenia das manifestações obstétricas da SAF, bem como a escassez de estudos nesta área contribuem para a controvérsia e limitação na escolha dos fármacos para o tratamento destas doentes (Espinosa and Cervera, 2009).

Historicamente, um conjunto de fármacos tem sido usado no tratamento de abortos na SAF, nomeadamente prednisona, imunoglobulinas, ácido acetilsalicílico, heparina e varfarina.

Prednisona

A prednisona foi inicialmente usada com o intuito de reduzir os níveis de anticorpos, embora não haja relação significativa entre o desaparecimento dos anticorpos antifosfolipídicos e número de nados vivos (Out *et al*, 1992). Os resultados de três importantes estudos aleatorizados demonstraram que o uso de prednisona não representa benefício em grávidas com SAF, quando comparado com heparina, AAS em monoterapia ou com placebo (Cowchock *et al*, 1992, Silver *et al*, 1993; Laskin *et al*,

1997). Adicionalmente, nestes estudos foi encontrada uma associação da prednisona com um risco aumentado de complicações maternas (tais como diabetes e hipertensão) e da prematuridade, pelo que o seu uso não é recomendado, à excepção de co-existência de LES ou púrpura trombocitopénica imune (Espinosa and Cervera, 2009).

Imunoglobulina intravenosa

O benefício da terapia com imunoglobulina intravenosa (Ig IV) é atribuído à sua capacidade de bloquear a ligação dos anticorpos aos seus receptores nos macrófagos, de aumentar as células T supressoras ou diminuir a síntese de anticorpos (Espinosa and Cervera, 2009). Contudo, o uso de Ig IV não revelou uma eficácia superior em comparação ou em associação à terapia combinada de heparina e AAS (Branch *et al*, 2000; Branch *et al*, 2001; Triolo *et al*, 2003). Como tal, a Ig IV não é actualmente recomendada como tratamento de primeira linha, devendo ser restrita a casos refractários ao tratamento com heparina e AAS, ou em doentes com indicações adicionais, como por exemplo trombocitopenia auto-imune (Khamashta, 2006; Tuthill and Khamashta, 2009).

Ácido Acetilsalicílico (AAS) e Heparina

O AAS, administrado em baixa dose (60-80 mg), inibe de forma irreversível a conversão do ácido araquidónico em tromboxano A₂, um agregante plaquetário e potente vasoconstritor (Cunningham *et al*, 2010). Esta capacidade de modular o metabolismo do ácido araquidónico parece aumentar os níveis de interleucina 3 que por sua vez promove a invasão e expansão do trofoblasto, justificando assim o efeito benéfico do AAS em grávidas com SAF (Rai, 2000).

De facto, o tratamento com AAS em baixa dose em mulheres com SAF obteve bons resultados com uma eficácia superior a 70% (Silver *et al*, 1993; Balasch *et al*, 1993; Carmona *et al*, 2001). Embora não haja evidências de que doses diárias superiores a 75 mg sejam mais efectivas na prevenção de eventos trombóticos, a dose óptima permanece incerta (Khamashta, 2006). Apesar de alguma controvérsia, parece haver maior benefício na administração de AAS antes da concepção, em todas as mulheres com SAF (Rai, 2000; Carmona *et al*, 2001; Bertolaccini *et al*, 2010).

O uso de heparina é uma abordagem terapêutica lógica em distúrbios associados a eventos trombóticos, tal como se pensava ser o caso do SAF, em que os

abortos seriam causados por trombose vascular da placenta (Rai, 2000). Contudo, tal como referido na secção anterior, evidências recentes indicam que outros mecanismos, que não apenas trombóticos, contribuem de forma crucial para a patogenia das complicações obstétricas do SAF. Assim sendo, para além de anti-trombótica, é plausível supor outros mecanismos de acção para a heparina. Vários estudos corroboram esta ideia, demonstrando os seus efeitos anti-inflamatórios na prevenção da lesão placentária. A heparina previne a adesão dos leucócitos às células endoteliais vasculares, bloqueia a cascata do complemento no trofoblasto em várias etapas da via clássica e alternativa e, quando em concentrações elevadas, inibe a resposta inflamatória mediada pela ligação dos aAF aos receptores TLR-4. Adicionalmente, pode modular a adesão, apoptose e a interacção celular durante a implantação (Salmon *et al*, 2007; Hossain, 2009). Este amplo espectro de efeitos pode explicar os benefícios clínicos da heparina.

As potenciais complicações da terapêutica com heparina durante a gravidez incluem hemorragias e em menor frequência osteoporose, fracturas e trombocitopenia induzida (Cunningham *et al*, 2010).

O tipo e a dose ideais de heparina a serem utilizados na grávida ainda não foram estabelecidos (Empson *et al*, 2002). Dois estudos não encontraram diferença entre a heparina de baixo peso molecular (HBPM) e a heparina não fraccionada (HNF) (Stephenson *et al*, 2004; Noble *et al*, 2005). No entanto, a HBPM é, em geral, a primeira opção perante a possibilidade de administração diária única e o seu melhor perfil de segurança - menor risco de trombocitopenia induzida e osteoporose (Ruiz-Irastorza and Khamashta, 2007; Espinosa and Cervera, 2009). Ambas as heparinas não atravessam a placenta e não são teratogénicas (Bertolaccini *et al*, 2010).

A HBPM deve ser suspensa 12 horas antes e até 12 horas após o parto electivo ou 12 a 24 horas antes e até 12 a 24 horas após qualquer intervenção cirúrgica, consoante a dose de heparina, de modo a evitar o risco de hemorragia (Tuthill and Khamashta, 2009). Em caso de parto imediato deve ser feita a sua reversão com sulfato de protamina (Bertolaccini *et al*, 2010).

Uma revisão sistemática Cochrane demonstrou que a combinação de AAS com heparina reduz o risco de abortamento em 54% (Empson *et al*, 2002). Esta conclusão é baseada em dois estudos controlados, nos quais a eficácia da terapêutica combinada de HNF e AAS foi superior ao AAS em monoterapia (Rai *et al*, 1997;

Kutteh, 1996). Contudo, os critérios de selecção destes estudos apresentam algumas limitações, para além de que apenas um dos estudos é aleatorizado (Rai *et al*, 1997; Ruiz-Irastorza and Khamashta, 2007). De acordo com o estudo de Farquharson *et al* (2002) o tratamento com AAS em monoterapia e a terapia combinada de AAS com HBPM apresentam resultados semelhantes. Apesar de alguma discrepância, esta combinação terapêutica tem apresentado os melhores resultados em mulheres com SAF.

Varfarina

A varfarina está contra-indicada no primeiro trimestre de gravidez devido ao seu potencial teratogénico, particularmente entre as seis e as doze semanas. A administração de varfarina deve ser interrompida e substituída por heparina antes da concepção ou assim que a gravidez for confirmada (Tuthill and Khamashta, 2009). Não há, no entanto, eliminação significativa de varfarina no leite materno, pelo que pode ser administrada durante o período de amamentação (Bertolaccini *et al*, 2010).

Recomendação Actual

Apesar da dificuldade em estabelecer recomendações baseadas na evidência, o actual tratamento de escolha, usado na rotina clínica durante a gravidez em mulheres com abortos recorrentes e aAF persistentemente positivos é a heparina e ácido acetilsalicílico em baixa dose (Cunningham *et al*, 2010). Todavia, a abordagem terapêutica pode variar de acordo com o contexto clínico específico de cada doente. Um algoritmo baseado em recomendações recentes para o tratamento da SAF durante a gravidez é apresentado na figura II.

É necessária a avaliação completa do perfil de anticorpos antifosfolipídicos de modo a garantir a sua persistência, que uma vez comprovada não requer avaliações posteriores, pois um resultado ulterior negativo não elimina o risco de complicações (Ruiz-Irastorza and Khamashta, 2007).

Recomenda-se a realização de um aconselhamento pré-concepcional com o objectivo de esclarecer e minimizar os riscos da gravidez numa doente com SAF. Devem ser identificados e controlados factores de risco vasculares adicionais e deve-se informar do risco potencial de pré-eclampsia, prematuridade e trombose durante e após a gestação, bem como da probabilidade (75-80%) de gravidez evolutiva com desfecho positivo sob tratamento adequado (Ruiz-Irastorza and Khamashta, 2007).

Doentes com hipertensão pulmonar devem ser desencorajadas a engravidar, uma vez que o risco de morte materna é superior a 35% (Tuthill and Khamashta, 2009).

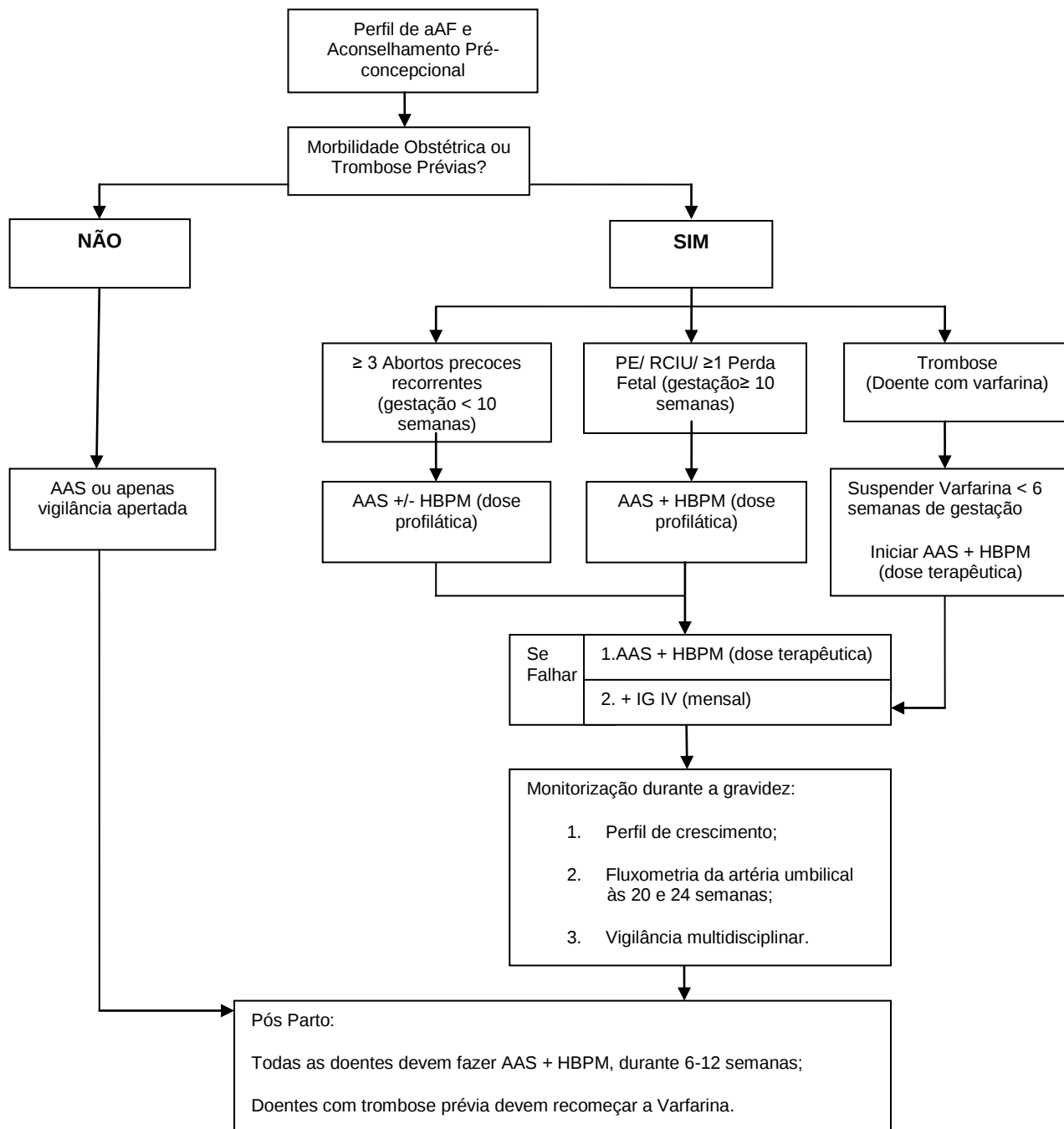


Figura II. Algoritmo do tratamento do Síndrome Antifosfolípídico durante a gravidez. aAF: anticorpos antifosfolípídicos; PE: pré-eclampsia; RCIU: restrição de crescimento intra-uterino; AAS: ácido acetilsalicílico; HBPM: heparina de baixo peso molecular; IG IV: imunoglobulina intravenosa. (Adaptação de Tuthill JI, Khamashta MA (2009) Management of antiphospholipid syndrome. Journal of Autoimmunity 33: 92-98)

Em geral, ao AAS deve ser adicionada: heparina em dose profilática para mulheres que preenchem os critérios de Sapporo baseado apenas em morbilidades obstétricas; ou heparina em dose terapêutica na presença de trombose, independentemente da história obstétrica (Derksen *et al*, 2004; George and Erkan, 2009). Contudo, alguns autores defendem uma abordagem inicial com AAS em monoterapia para mulheres com história de três ou mais abortos precoces (Tuthill and Khamashta, 2009; Espinosa and Cervera, 2009). Nos casos refractários, embora a melhor abordagem seja ainda incerta, estudos recentes recomendam o aumento da dose de heparina (para dose terapêutica) e, em última opção, a adição de imunoglobulina intravenosa mensal (Branch and Khamashta, 2003; Espinosa and Cervera, 2009).

Mulheres assintomáticas ou sem critérios clínicos necessários ao diagnóstico, mas com aAF positivos, o que inclui primigestas, mulheres com gravidezes anteriores normais ou mulheres com dois ou menos abortos precoces consecutivos, constituem um grupo controverso. O acompanhamento fetal e materno adequado, sem tratamento específico é defendido por alguns autores embora a maioria considere viável a possibilidade de tratamento com AAS em baixa dose (Derksen *et al*, 2004; Tuthill and Khamashta, 2009; George and Erkan, 2009; Espinosa and Cervera, 2009). Uma vez que a gravidez e a presença de anticorpos antifosfolípidicos constituem um risco adicional para trombose e porque o AAS possui poucos efeitos laterais na mãe e no feto, baixas doses deste fármaco são normalmente administradas na prática clínica, mesmo não existindo estudos clínicos que apoiem esta recomendação (George and Erkan, 2009).

É consensual entre os autores a extrema importância de uma maior vigilância materna e fetal em todas estas doentes por uma equipa multidisciplinar (Lima *et al*, 1996; Cowchock and Reece, 1997; Pattison *et al*, 2000; Rai, 2000; Ruiz-Irastorza and Khamashta, 2007; Tuthill and Khamashta, 2009). De acordo com Tuthill and Khamashta (2009), é recomendada a monitorização com consultas quinzenais até meio da gestação e semanais até ao parto, com medição, em cada consulta, da pressão arterial e proteínas urinárias. Devem também ser realizadas ecografias periódicas para avaliar o crescimento e bem-estar fetal. A avaliação do fluxo da artéria umbilical por Doppler durante o segundo trimestre tem um importante valor preditivo do desenvolvimento de complicações obstétricas em grávidas com SAF, tais como pré-eclampsia e restrição de crescimento intra-uterino (Papageorgiou and Roberts, 2005; Le Thi Huong *et al*, 2006; De Carolis *et al*, 2007). Assim, o Doppler da artéria

uterina deve ser realizado em todas estas doentes às 20 e 24 semanas de gestação (Tuthill and Khamashta, 2009; Espinosa and Cervera, 2009).

O pós-parto é um período de elevado risco trombótico, principalmente em mulheres com história de trombose prévia e/ou submetidas a cesariana, pelo que a vigilância e terapêutica devem manter-se (Esplin, 2001; Derksen *et al*, 2004). As doentes tratadas com varfarina antes da gestação devem retomá-la o mais precocemente possível após o parto, e as restantes devem iniciar terapêutica com heparina e AAS por um período que difere entre os autores, variando entre seis e doze semanas (Esplin, 2001; Derksen *et al*, 2004; George and Erkan, 2009; Tuthill and Khamashta, 2009). Mulheres com SAF não devem fazer anticoncepcionais orais que contêm estrogénio, devido ao risco adicional de trombose (ACOG Practice Bulletin, 2005).

NOVOS ALVOS TERAPÊUTICOS

Apesar do tratamento actual, 20-30% das doentes são refractárias e a incidência de complicações tardias na gravidez, incluindo pré-eclampsia, restrição do crescimento intra-uterino e prematuridade, permanecem elevadas (Branch and Khamashta, 2003; Abrahams, 2009).

A par das recentes descobertas sobre os mecanismos patogénicos da SAF têm surgido novos potenciais alvos terapêuticos, que parecem ser pontos-chave na resposta inflamatória. Neste sentido, os inibidores específicos da via do complemento, bem como os inibidores dos receptores TLR-4 e a inibição de produtos como o factor tecidual ou o factor de necrose tumoral α (FNT α) tornaram-se áreas de grande interesse. Embora escassos, estudos em modelos animais evidenciam a importância destes alvos na produção de morbilidades obstétricas mediadas por aAF.

Deste modo, foi demonstrado que não ocorre perda fetal e restrição de crescimento intra-uterino em ratos sem os factores C3 e C5 do complemento ou com o uso de inibidores de C3 ou ainda com o anticorpo monoclonal anti-C5 (Holers *et al*, 2003; Girardi *et al*, 2003; Pierangeli *et al*, 2005). O FNT α , produzido em resposta à activação do complemento, é também um mediador crucial de abortos em ratos com aAF e o seu bloqueio ou ausência pode prevenir a perda fetal (Berman *et al*, 2005). Em modelos animais, a vacinação com FNT α ADN numa fase inicial da doença causou diminuição dos títulos de anticorpos anti- β_2 GPI, seguido de melhoria de perda

fetal, aumento da contagem de plaquetas e normalização do tempo de tromboplastina parcial (Blank *et al*, 2003). Assim, terapias dirigidas ao FNT α , já usadas em outras doenças inflamatórias, bem como terapias específicas para elementos da cascata do complemento poderão ser úteis em humanos.

Os antagonistas dos receptores TLR-4 são fortes candidatos terapêuticos devido às recentes descobertas que apoiam o papel destes receptores na patologia obstétrica mediada pelos aAF (Abrahams, 2009). Sabe-se que os receptores *Toll-like* expressos no trofoblasto são muito imunorreactivos e que a resposta inflamatória da placenta desencadeada pelos anticorpos anti- β_2 GPI é dependente da activação da via TLR-4/MyD88, comprometendo a sobrevivência do trofoblasto (Holmlund *et al*, 2002; Mulla *et al*, 2009).

O bloqueio do factor tecidual com anticorpo monoclonal em modelos animais previne a indução de inflamação e aborto mediados por aAF (Redecha *et al*, 2007). Assim, e sabendo que a expressão de factor tecidual pelos monócitos é um dos potenciais mecanismos de trombose, o bloqueio da sua produção com inibidores da conversão da angiotensina, dilazep (inibidor da captação de adenosina) ou com defibrotide (agonista dos receptores de adenosina) pode, teoricamente, ser considerado uma potencial arma em doentes com aAF; há, no entanto, carência de estudos com estes agentes (Erkan and Lockshin, 2009).

Outros fármacos, já conhecidos para outros fins, como a hidroxicloroquina, estatinas e rituximab podem vir a desempenhar um importante papel em doentes refractárias ao tratamento actual, devido aos seus efeitos em alguns dos alvos já mencionados.

A hidroxicloroquina é um antimalárico com propriedades anti-inflamatórias e anti-trombóticas, através da inibição da agregação plaquetária e da liberação de ácido araquidónico (George and Erkan, 2009). Tem sido usada no tratamento de doentes com Lúpus Eritematoso Sistémico (LES) e há estudos que demonstram a diminuição do risco de trombose nesses doentes (Kaiser *et al*, 2009). Em ratos injectados com aAF, a hidroxicloroquina reduz o tamanho do trombo e o seu tempo da persistência (Edwards *et al*, 1997). Tem também a capacidade de inibir a expressão dos receptores de glicoproteína IIb/IIIa para a activação das plaquetas mediada pelos aAF, sendo esse efeito dose dependente (Espinola *et al*, 2002). Adicionalmente, este agente parece reduzir os níveis de aAF em humanos (Toubi *et al*, 2002).

Um estudo recente demonstrou que a hidroxicloroquina reverte a redução da anexina V mediada pelos aAF em culturas de células endoteliais da veia umbilical humana e de células do trofoblasto de doentes com SAF (Rand *et al*, 2010). A hidroxicloroquina também aumentou a actividade coagulante da anexina V no plasma dessas doentes. Embora não tenham sido descritos efeitos teratogénicos deste agente em doentes com LES, são necessários estudos controlo para determinar a segurança e eficácia deste promissor fármaco em grávidas com SAF (Klinger *et al*, 2001; Motta *et al*, 2005).

As estatinas, para além de inibidores da síntese de colesterol, são pleotrópicas nos seus efeitos, em consequência do seu poder anti-inflamatório (George and Erkan, 2009). Num modelo *in vivo* com ratos imunizados com aAF, a fluvastatina reduziu a resposta trombogénica e inflamatória, independentemente do seu efeito nos níveis de colesterol (Ferrara *et al*, 2003). Vários estudos demonstraram também que as estatinas interferem com os mecanismos pelos quais os aAF causam trombose: as estatinas diminuem a activação das células endoteliais por inibição da expressão de moléculas de adesão e interleucina 6, e inibem a produção de factor tecidual de forma dependente da dose (Meroni *et al*, 2001; Ferrara *et al*, 2004). Estas evidências e o facto do factor tecidual ser um potencial mediador nos abortos induzidos por aAF foram os alicerces para o recente estudo de Girardi (2009), que concluiu que a simvastatina e a pravastatina podem prevenir abortos induzidos por aAF em ratos. Contudo, tanto a pravastatina como todas as outras estatinas pertencem à categoria X da *Food and Drug Administration* para grávidas, isto é, são contra-indicadas, pelo que não será plausível, pelo menos por enquanto, a realização de estudos clínicos em humanos, como sugerido pelo autor (Lockshin and Pierangeli, 2010). Em acréscimo, estudos sobre os efeitos das estatinas na função placentária no primeiro trimestre de gravidez revelaram que estes componentes, paradoxalmente, inibem a migração e proliferação do trofoblasto e aumentam a apoptose, o que pode exacerbar a lesão da placenta mediada por aAF (Abrahams, 2009). Estes estudos despertam sérias dúvidas quanto ao uso das estatinas em grávidas com SAF e alerta para a necessidade de mais estudos que avaliem o impacto destes agentes no microambiente da interface materno-fetal.

Quadro I. Novos potenciais alvos terapêuticos dos eventos clínicos desencadeados por anticorpos antifosfolipídicos. aAF: anticorpos antifosfolipídicos; ADN: ácido desoxiribonucleico; C3-/ : Ausência de C3; C5-/ : Ausência de C5; FNT α : Factor de Necrose Tumoral α ; FT: Factor Tecidual; IECA: Inibidor da Enzima de Conversão da Angiotensina; NF- κ B: Factor Nuclear κ B; p38-MAPK: proteína cinase mitogénica p38; RCIU: restrição de crescimento intra-uterino; SAF: Síndrome Antifosfolipídico; TLR-4: receptor 4 *Toll-like*; β ₂GPI: β ₂-glicoproteína I. * Referências de evidências na morbilidade obstétrica da SAF.

ALVO TERAPÊUTICO/ FÁRMACO	EVIDÊNCIAS CIENTÍFICAS	REFERÊNCIAS
Inibidores específicos do Complemento	O bloqueio ou ausência de C3 e/ou C5 em ratos impede a trombose, activação das células endoteliais, perda fetal e RCIU. Anticorpo monoclonal anti-C5 reverte as propriedades trombogénicas, <i>in vivo</i> .	*Pierangeli <i>et al</i> (2005) *Holers <i>et al</i> (2002) *Girardi <i>et al</i> (2003)
Potenciais anti-citocinas	FNT α medeia os abortos em modelos animais. Vacina ADN FNT α previne perdas fetais.	*Berman <i>et al</i> (2005) *Blank <i>et al</i> (2003)
Inibidores específicos de receptores celulares	Em ratos, anticorpos anti- β ₂ GPI desencadeiam, no trofoblasto, uma resposta inflamatória dependente da via TLR-4/MyD88 e a desactivação da via TLR-4 atenua essa resposta. Moléculas que mimetizam regiões de β ₂ GPI diminuem, <i>in vivo</i> , os efeitos trombogénicos dos aAF.	*Mulla <i>et al</i> (2009) Ioannou <i>et al</i> (2009) Ostertag <i>et al</i> (2006)
Potenciais inibidores da expressão do Factor Tecidual	Em ratos, o bloqueio do FT preveniu a perda fetal. IECA, Dilazep, Defibrotide	*Redecha <i>et al</i> (2007) Erkan and Lockshin (2009)
Hidroxicloroquina	↓ Activação plaquetária <i>in vitro</i> . Inibe trombose em ratos <i>in vivo</i> . ↓ Níveis de aAF em humanos. Reverte a redução de Anexina V.	Edwards <i>et al</i> (1997) Espinola <i>et al</i> (2002) Toubi <i>et al</i> (2003) *Rand <i>et al</i> (2010)
Estatinas	Fluvastatina: ↓ Resposta trombogénica e inflamatória em ratos Reverte activação de células endoteliais e ↓ Factor Tecidual, <i>in vitro</i> Pravastatina: Previne abortos em ratos.	Ferrara <i>et al</i> (2003) Meroni <i>et al</i> (2001) Ferrara <i>et al</i> (2004) *Girardi (2009)
Rituximab	Linfócitos B estão relacionados, <i>in vitro</i> , com os eventos clínicos mediados por aAF. Bloqueio do Factor activador de Células B pode prevenir o aparecimento de SAF, em ratos. <i>Case report</i> : gravidez de sucesso após o uso de rituximab.	Youinou and Reneaudineau (2004) Kahn <i>et al</i> (2008) *Ng <i>et al</i> (2008)
Inibidor da p38-MAPK (SB 203580)	Efeito, <i>in vitro</i> , na expressão de FT mediada por aAF nas células endoteliais. Efeito, <i>in vivo</i> , na formação do trombo, activação de células endoteliais e de plaquetas, e na regulação de FT mediado por aAF.	Vega-Ostertag <i>et al</i> (2005)
Inibidor NFκB (MG132)	Significativa redução da expressão de FT e trombose mediada por aAF.	Vega-Ostertag <i>et al</i> (2005)
Inibidor Glicoproteína IIb/IIIa	Anticorpo monoclonal: ↓ activação plaquetária, com menor formação de trombo.	Pierangeli <i>et al</i> (2007)

Outro potencial fármaco é o rituximab, um anticorpo monoclonal quimérico, cujo alvo é o antígeno CD20 expresso nas células B. A sua eficácia foi inicialmente estabelecida no tratamento de linfomas de células B, embora, actualmente, a sua aplicação tenha sido alargada a várias doenças autoimunes (Klink *et al*, 2008). Estudos recentes demonstram a importância do papel das células B no desenvolvimento dos eventos clínicos produzidos por aAF, incluindo abortos recorrentes, e revelam que o bloqueio dessas células pode prevenir o aparecimento da doença em modelos animais (Youinou and Reneaudineau, 2004; Kahn *et al*, 2008). Foi encontrado apenas um estudo de caso que descreve uma gravidez de sucesso após o uso de rituximab numa mulher com aAF e falha recorrente da fertilização *in vitro* (Ng *et al*, 2008). A escassez de estudos limita a declaração de segurança do uso de rituximab na gravidez (Østensen *et al*, 2008).

Embora ainda sem evidências na prevenção de complicações obstétricas, outros alvos terapêuticos são muito aliciantes e promissores, nomeadamente: a inibição dos mediadores de sinalização intracelulares p38 MAPK e NFκB (com SB203580 e MG132, respectivamente), que reduzem a produção de factor tecidual, interleucina 6 e interleucina 8; e moléculas que inibem a ligação dos aAF a determinados domínios (I e V) da β₂CPI, reduzindo assim a indução de trombose (Vega-Ostertag *et al*, 2005; Ioannou *et al*, 2009). A inibição de glicoproteína IIb/IIIa é outro potencial alvo específico, uma vez que este é um importante receptor responsável pela agregação plaquetária (Pierangeli *et al*, 2007).

CONTROVÉRSIAS E DESAFIOS FUTUROS

As investigações realizadas ao longo dos mais de 20 anos que passaram desde a primeira descrição desta síndrome têm ajudado a compreender melhor os mecanismos que estão na base das manifestações clínicas obstétricas mediadas por aAF. Contudo, muitas dúvidas continuam por esclarecer e muitas outras vão surgindo. Ao longo desta revisão são também evidentes inúmeros obstáculos a serem ultrapassados para o desenvolvimento científico nesta área, principalmente relacionadas com a escassez de estudos clínicos de qualidade. Estas problemáticas reflectem-se na abordagem terapêutica, pois é consensual que o tratamento óptimo destas doentes ainda não foi atingido.

Como doença multissistémica, a apresentação clínica de grávidas com aAF é heterogénea: podem ter uma doença auto-imune subjacente (ex. LES), apresentar história trombótica prévia, podem apresentar uma história obstétrica muito variada (com perda fetal e/ou abortos precoces e/ou pré-eclampsia) e podem até ser assintomáticas. Consequentemente, um amplo espectro de especialidades lida com doentes com esta sintomatologia. Como podemos prever que doentes com aAF vão desenvolver complicações obstétricas? E que tipo de morbilidades irão ter? De que forma é que as características clínicas individuais influenciam a escolha do tratamento?

Os achados patológicos também são muito heterogéneos, histologicamente não são específicos e nem sempre estão presentes na placenta de mulheres com aAF (Esplin, 2001). Se os aAF são a causa das morbilidades na gravidez, qual a razão para numas doentes causar abortos precoces e noutras complicações no 2º e 3º trimestre? Esta relação é vista como um *continuum* por alguns autores, isto é, que o mesmo mecanismo (ex. hipercoagulabilidade mediada por aAF) actue ao longo de toda a gestação. Uma teoria alternativa, e actualmente mais aceite, defende que mulheres com aAF e abortos nos períodos pré-embrionário e embrionário representem um grupo diferente das mulheres com complicações no período fetal, implicando, mecanismos ou aAF específicos distintos (Branch and Khamashta, 2003).

Um dos maiores impedimentos à correcta interpretação e generalização de resultados em estudos clínicos é a grande discrepância nos critérios (clínicos e laboratoriais) usados nas amostras, apesar dos esforços internacionais para um consenso (Branch and Khamashta, 2003). Esta realidade dificulta a definição de recomendações universais para o tratamento de grávidas com aAF positivo. Apesar da terapia combinada com heparina e AAS ser o tratamento *standard* permanecem dúvidas quanto às doses ideais e não há estudos que avaliem o melhor tipo de heparina a ser utilizado (Tuthill and Khamashta, 2009). Adicionalmente, o tempo de início e término deste tratamento varia entre os autores (Rai, 2000). E nos casos refractários, qual o melhor tratamento a ser instituído? A atitude perante doentes que não preenchem os critérios diagnósticos de SAF é outra controvérsia (Shoenfeld *et al*, 2008). E mulheres aAF-positivo assintomáticas devem ser tratadas com aspirina ou a atitude expectante será a mais indicada?

CONCLUSÃO

A presença de anticorpos antifosfolipídicos pode ter um impacto negativo drástico no processo reprodutivo da mulher, aumentando o risco de abortos espontâneos recorrentes e de complicações tardias, tais como distúrbios hipertensivos da gestação e parto pré-termo. Os mecanismos através dos quais os aAF medeiam estas lesões continuam a ser alvo de investigações, sendo a sua acção provavelmente multifactorial. Enquanto os eventos trombóticos na circulação útero-placentária foram inicialmente propostos como principal mecanismo, actualmente a trombose não parece ser universal nem suficiente para explicar todas as morbilidades em grávidas com aAF. À luz das evidências actuais, o envolvimento de mecanismos inflamatórios começa a ganhar um papel de destaque na patofisiologia das lesões na interface materno-fetal, sendo também provável um efeito directo dos aAF, alterando a invasão e diferenciação do trofoblasto.

Dada a complexidade da SAF e uma vez que, como entidade clínica, é reconhecida formalmente há menos de 30 anos não é surpreendente que muitas dúvidas relacionadas com a patogenia e tratamento das morbilidades obstétricas continuem por esclarecer.

A abordagem terapêutica de grávidas com aAF tem evoluído pouco nos últimos anos, restringindo as opções terapêuticas ao uso de heparina, ácido acetilsalicílico e, com alguma controvérsia, a imunoglobulina. No entanto, as recentes descobertas na patogenia da SAF irão permitir dar um passo em frente no tratamento não só pela identificação de potenciais novos alvos terapêuticos, com importância crucial em doentes refractárias, bem como por explicar a eficácia da heparina em muitos casos. É provável que nos próximos anos a abordagem de grávidas com aAF seja mais direccionada a terapêuticas anti-inflamatórias e imunomoduladoras específicas. Neste sentido, esta revisão reuniu os estudos dos potenciais alvos terapêuticos, destacando os que apresentam evidências promissoras específicas na morbilidade obstétrica, sendo dignos de nota os antagonistas dos receptores TLR-4, inibidores da cascata do complemento, inibidores do factor tecidual e do FNT α e a hidroxicloroquina.

Em suma, é certo que a SAF na gravidez permanece um tema fértil de discussão e investigação. Sendo responsável por uma elevada taxa de complicações obstétricas, algumas das quais potencialmente fatais para a mãe e feto, é de extrema

importância, por um lado o desenvolvimento de recomendações universais para o acompanhamento e tratamento destas doentes segundo a sua apresentação clínica e laboratorial, e por outro, a criação de novos fármacos que permitam reduzir/eliminar a percentagem significativa de doentes que permanece refractários à heparina.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar ao meu orientador, Dr. Jorge Braga, pela disponibilidade e empenho em colaborar com este projecto. Para além do conhecimento e experiência, a sua calma e confiança inspiradoras foram fundamentais.

Manifesto também a minha gratidão pela cordialidade e generosidade dos honrosos autores Amit Sasha, Doruk Erkan e Ricard Cervera por partilharem os seus recentes trabalhos.

Por fim, agradeço o apoio dos meus amigos: Litos, os meus pais e o Francois.

BIBLIOGRAFIA

Abrahams VM (2009) Mechanisms of Antiphospholipid antibody-associated pregnancy complications. *Thrombosis Research* 124:521-525.

ACOG Practice Bulletin no 68 (2005) Antiphospholipid syndrome. *American College of Obstetricians and Gynecologists* 1006:1113-21.

Balasch J, Carmona F, López-Soto A, Font J, Creus M, Fábregues F, Ingelmo M, Vanrell JA (1993) Low-dose aspirin for prevention of pregnancy losses in women with primary antiphospholipid syndrome. *Hum Reprod* 8:2234-2239.

Berman J, Girardi G, Salmon JE (2005) TNF-alpha is a critical effector and a target for therapy in antiphospholipid antibody-induced pregnancy loss. *J Immunol* 174:485 –490.

Bertolaccini ML, Ateka-Barrutia O, Khamashta MA (2010) Management of APS. In: *Antiphospholipid Syndrome Handbook*, pp 69-76 . New York: Springer.

Blank M, Asherson RA, Cervera R, Shoenfeld Y (2004) Antiphospholipid syndrome infectious origin. *J Clin Immunol* 24:12-23.

Blank M, Krause I, Wildbaum G, Karin N, Shoenfeld Y (2003) TNFalpha DNA vaccination prevents clinical manifestations of experimental antiphospholipid syndrome (Abstract). *Lupus* 12: 546-549.

Bose P, Kadyrov M, Goldin R, Hahn S, Backos M, Regan L, Huppertz B (2006) Aberrations of early trophoblast differentiation predispose to pregnancy failure: lessons from the antiphospholipidsyndrome. *Placenta* 27:869–875.

Branch DW, Khamashta MA (2003) Antiphospholipid Syndrome: Obstetric Diagnosis, Managment, and Controversies. *The Am College of Ostetricians and Gynecologists* 101: 1332-1342.

Branch DW, Peaceman AM, Druzin M, Silver RK, El-Sayed Y, Silver RM, Esplin MS, Spinnato J, Harger J (2000) A multicenter, placebo-controlled pilot study of intravenous

immune globulin treatment of antiphospholipid syndrome during pregnancy. The Pregnancy Loss Study Group (Abstract). *Am J Obstet Gynecol* 182:122-127.

Branch DW, Porter TF, Paidas MJ, Belfort MA, Gonik B (2001) Obstetric uses of intravenous immunoglobulin: successes, failures, and promises. *J Allergy Clin Immunol* 108:133-138.

Carmona F, Font J, Azulay M, Creus M, Fábregues F, Cervera R, Puerto B, Balasch J (2001) Risk factors associated with fetal losses in treated antiphospholipid syndrome pregnancies: a multivariate analysis (Abstract). *Am J Reprod Immunol* 46:274-279.

Cowchock FS, Reece EA, Balaban D, Branch DW, Plouffe L (1992) Repeated fetal losses associated with antiphospholipid antibodies: a collaborative randomized trial comparing prednisone with low-dose heparin treatment (Abstract). *Am J Obstet Gynecol* 166:1318-1323.

Cowchock FS, Reece EA (1997) Do low-risk pregnant women with antiphospholipid antibodies need to be treated? Organizing Group of the Antiphospholipid Antibody Treatment Trial. *Am J Obstet Gynecol* 176: 1099-1100.

Cunningham FG, Leveno KJ, Bloom SL, Hauth JC, Rouse DJ, Spong CY (2010) Connective-Tissue Disorders. In: *Williams Obstetrics*, chapter 54. USA:McGraw-Hill.

De Carolis S, Botta A, Garofalo S, Ferrazzani S, Martino C, Fatigante G, Caforio L, Caruso A (2007) Uterine artery velocity waveforms as predictors of pregnancy outcome in patients with antiphospholipid syndrome: a review *Ann N Y Acad Sci*. 1108:530-539.

Derksen RHWM, Khamashta MA, Branch DW (2004) Management of Obstetric Antiphospholipid Syndrome. *Am College of Rheumatol* 2004; 50:1028-1039.

Edwards MH, Pierangeli S, Liu X, Barker JH, Anderson G, Harris EN (1007) Hydroxychloroquine reverses thrombogenic properties of antiphospholipid antibodies in mice. *Circulation* 96:4380–4384.

Empson M, Lassere M, Craig JC, Scott JR (2002) Recurrent Pregnancy Loss With Antiphospholipid Antibody: A Systematic Review of Therapeutic Trials. *Obstet Gynecol* 99: 135-144.

Espinola RG, Pierangeli SS, Gharavi AE, Harris EN (2002) Hydroxychloroquine reverses platelet activation induced by human IgG antiphospholipid antibodies (Abstract). *Thromb Haemost.* 87:518–522.

Espinosa G, Cervera R (2008) Antiphospholipid Syndrome. *Arthritis Research Therapy* 10:230-239.

Espinosa G, Cervera R (2009) Thromboprophylaxis and obstetric management of the antiphospholipid syndrome. *Expert Opinion* 10:601-614.

Esplin MS (2001) Management of antiphospholipid syndrome during pregnancy. *Clinical obstetrics and gynecology* 2001; 44:20-28.

Farquharson RG, Quenby S, Greaves M (2002) Antiphospholipid Syndrome in pregnancy: a randomized, controlled trial of treatment. *Obstet Gynecol* 100:408-413.

Ferrara DE, Liu X, Espinola RG, Meroni PL, Abukhalaf I, Harris EN, Pierangeli SS (2003) Inhibition of the thrombogenic and inflammatory properties of antiphospholipid antibodies by fluvastatin in na in vivo animal model. *Arthritis Rheum* 48: 3272-3279.

Ferrara DE, Swerlick R, Casper K, Meroni PL, Vega-Ostertag ME, Harris EN, Pierangeli SS (2004) Fluvastatin inhibits up-regulation tissue factor expression by antiphospholipid antibodies on endothelial cells. *J Thromb Haemost* 2:1558-1563.

George D, Erkan D (2009) Antiphospholipid Syndrome. *Progress in Cardiovascular Diseases* 52:115-125.

Girardi G, Redecha P, Spruce L, Thurman JM, Kraus D, Hollman TJ, Casali P, Carroll MC, Wetzel RA, Lambris JD, Holers VM, Salmon JE (2003) Complement C5a receptor and neutrophils mediate fetal injury in the antiphospholipid syndrome. *J Clin Invest* 112:1644-1654.

Girardi G (2009) Pravastatin prevents miscarriages in antiphospholipid antibody-treated mice. *Journal of Reproductive Immunology* 82:12-131.6

Hanly JG (2003) Antiphospholipid syndrome: an overview. *CMAJ* 168: 1675-1682.

Holers VM, Girardi G, Mo L, Guthridge JM, Molina H, Pierangeli SS, Espinola R, Xiaowei LE, Mao D, Vialpando CG, Salmon JE (2002) Complement C3 activation is required for antiphospholipid antibody-induced fetal loss. *J Exp Med.* 195:211-220.

Holmlund U, Cebers G, Dahlfors AR, Sandstedt B, Bremme K, Ekström ES, Scheynius A. (2002) Expression and regulation of the pattern recognition receptors Toll-like receptor-2 and Toll-like receptor-4 in the human placenta. *Immunology* 107: 145-151.

Hossain N, Schatz F, Paidas MJ (2009) Heparin and maternal fetal interface: Why should it work to prevent pregnancy complication? *Thrombosis Research* 124: 653-655.

Ioannou Y, Romy-Penabad Z, Pericleous C, Giles I, Papalardo E, Vargas G, Shilagard T, Latchman DS, Isenberg DA, Rahman A, Pierangeli SS (2009) In vivo inhibition of antiphospholipid antibody-induced pathogenicity utilizing the antigenic target peptide domain I of beta2-glycoprotein I: proof of concept (Abstract). *J Thromb Haemost* 7:833-842.

Kahn P, Ramanujam M, Bethunaickan R, Huang W, Tao H, Madaio MP, Factor SM, Davidson A. (2008) Prevention of murine antiphospholipid syndrome by BAFF blockade. *Arthritis Rheum* 58; 2824-2834.

Kaiser R, Cleveland CM, Criswell LA (2009) Risk and protective factors for thrombosis in systemic lupus erythematosus: results from a large, multi-ethnic cohort (Abstract). *Ann Rheum Dis* 68:238:241.

Khamashta MA (2006) Systemic Lupus erythemathosus and pregnancy. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 20:685-694.

Rai J (2000) Obstetric Management of Antiphospholipid Syndrome. *Journal of Autoimmunity* 15:203-207.

Klinger G, Morad Y, Westall CA, Laskin C, Spitzer KA, Koren G, Ito S, Buncic RJ (2001) Ocular toxicity and antenatal exposure to chloroquine or hydroxychloroquine for rheumatic diseases (Abstract). *Lancet* 358: 813-814.

Klink DT, van Elburg RM, Schreurs MW, van Well GT (2008) Rituximab Administration in Third Trimester of Pregnancy Suppresses Neonatal B-Cell Development. *Clin Dev Immunol.* 271363.

Kutteh WH (1996) Antiphospholipid antibody-associated recurrent pregnancy loss: treatment with heparin and low-dose aspirin is superior to low-dose aspirin alone (Abstract). *Am J Obstet Gynecol* 174:1584–1589.

Laskin CA, Bombardier C, Hannah ME, Mandel FP, Ritchie JW, Farewell V, Farine D, Spitzer K, Fielding L, Soloninka CA, Yeung M (1997) Prednisone and aspirin in women with autoantibodies and unexplained recurrent fetal loss (Abstract). *N Engl J Med* 337: 148-153.

Le Thi Huong D, Wechsler B, Vauthier-Brouzes D, Duhaut P, Costedoat, Andreu MR, Lefebvre G, Piette JC (2006) The second trimester Doppler ultrasound examination is the best predictor of late pregnancy outcome in systemic lupus erythematosus and/ or the antiphospholipid syndrome. *Rheumatology (Oxford)* 45: 332–338.

Lima F, Khamashta MA, Buchanan NM, Kerslake S, Hunt BJ, Hughes GR (1996) A study of sixty pregnancies in patients with the antiphospholipid syndrome. *Clin Exp Rheumatol* 14: 131-136.

Lockshin MD, Pierangeli SS (2010) Statins for the treatment of obstétrica complications in antiphospholipid syndrome? *Journal of Reproductive Immunology* 84:206; author reply 206-7.

Meroni PL, Gerosa M, Raschi E, Scurati S, Grossi C, Borghi MO (2008) Updating on the Pathogenic Mechanisms 5 of the Antiphospholipid Antibodies-Associated Pregnancy Loss. *Clinic Rev Allerg Immunol* 34:332–337.

Meroni PL, Raschi E, Testoni C, Tincani A, Balestrieri G, Molteni R, Khamashta MA, Tremoli E, Camera M (2001) Statins prevent endothelial cell activation induced by antiphospholipid (anti-beta2-glycoprotein I) antibodies: effects on the proadhesive and proinflammatory phenotype (Abstract). *Arthritis Rheum* 44: 2870-2878.

Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, Derksen RH, DE Groot PG, Koike T, Meroni PL, Reber G, Shoenfeld Y, Tincani A, Vlachoyiannopoulos PG, Krilis SA (2006) International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost* 4:295-306.

Motta M, Tincani A, Faden D, Zinzini E, Lojacono A, Marchesi A, Frassi M, Biasini C, Zatti S, Chirico G (2005) Follow-up of infants exposed to hydroxychloroquine given to mothers during pregnancy and lactation. *J Perinatol* 25:86-89.

Mulla M, Jan JB, Chamley LW, Giles I, Pericleous C, Rahman A, Joyce SK, Panda B, Paidas MJ, Abrahams VM (2009) Antiphospholipid antibodies induce a Pro-inflammatory response in first trimester trophoblast via the TLR4/MyD88 pathway. *American Journal of Reproductive Immunology* 62:96-111.

Ng CT, O'Neil M, Walsh D, Walsh T, Veale DJ (2008) Successful pregnancy after rituximab in a women with recurrent in vitro fertilisation failures and anti-phospholipid antibody positive. *Ir J Med Sci*.

Noble LS, Kutteh WH, Lashey N, Franklin RD, Herrada J (2005) Antiphospholipid antibodies associated with recurrent pregnancy loss: prospective, multicenter, controlled pilot study comparing treatment with low-molecular-weight heparin versus unfractionated heparin. *Fertility and Sterility* 83:684-690.

Out HJ, Bruinse HW, Christiaens GC, van Vliet M, de Groot PG, Nieuwenhuis HK, Derksen RH (1992) A prospective, controlled multicenter study on the obstetric risks of pregnant women with antiphospholipid antibodies. *Am J Obstetric Gynecol* 167:26-32.

Østensen M, Lockshin M, Doria A, Valesini G, Meroni P, Gordon C, Brucato A, Tincani A (2008) Update on safety during pregnancy of biological agents and some immunosuppressive anti-rheumatic drugs. *Rheumatology* 47:28-31.

Ostertag MV, Liu X, Henderson V, Pierangeli SS (2006) A peptide that mimics the Vth region of beta-2-glycoprotein I reverses antiphospholipid-mediated thrombosis in mice (Abstract). *Lupus* 15:358-365.

Papageorgiou AT & Roberts N (2005) Uterine artery Doppler screening for adverse pregnancy outcome. *Curr Opin Gynecol* 17: 584–590.

Pattison NS, Chamley LW, Birdsall M, Zanderigo AM, Liddell HS, McDougall J. (2000) Does aspirin have a role in improving pregnancy outcome for women with the antiphospholipid syndrome? A randomized controlled trial. *Am J Gynecol* 183:1008-1012.

Pierangeli SS, Girardi G, Vega-Ostertag M, Liu X, Espinola RG, Salmon J (2005) Requirement of activation of complement C3 and C5 for antiphospholipid antibody-mediated thrombophilia. *Arthritis Rheum* 52:2120-2124.

Pierangeli SS, Vega-Ostertag ME, González EB (2007) New targeted therapies for treatment of thrombosis in antiphospholipid syndrome. *Expert Opinion* 9: 1-15.

Rai R, Cohen H, Dave M, Regan L (1997) Randomised controlled trial of aspirin and aspirin plus heparin in pregnant women with recurrent miscarriage associated with phospholipid antibodies (or antiphospholipid antibodies). *BMJ* 314:253–257.

Rand JH, Wu XX, Andree HA, Lockwood CJ, Guller S, Scher J, Harpel PC (1997) Pregnancy loss in the antiphospholipid-antibody syndrome--a possible thrombogenic mechanism. *N Engl J Med* 337: 154-160.

Rand JH, Wu XX, Quinn AS, Ashton AW, Chen PP, Hathcock JJ, Andree HA, Taatjes DJ (2010) Hydroxychloroquine protects the annexin A5 anticoagulant shield from disruption by antiphospholipid antibodies: evidence for a novel effect for an old antimalarial drug (Abstract). *Blood* 115:2292-2299.

Rand JH, Wu XX, Quinn AS, Taatjes DJ (2010) The annexin A5-mediated pathogenic mechanism in the antiphospholipid syndrome: role in pregnancy losses and thrombosis (Abstract). *Lupus* 19:460-469.

Redecha P, Tilley R, Tencati M, Salmon JE, Kirchhofer D, Mackman N, Girardi G. (2007) Tissue factor: a link between C5a and neutrophil activation in antiphospholipid antibody induced fetal injury. *Blood* 110:2423–2431.

Ruiz-Irastorza and khamashta MA (2007) The treatment of antiphospholipid syndrome: A harmonic contrast. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 21: 1079-1092.

Salmon JE, Girardi G, Lockshin MD (2007) The antiphospholipid syndrome as a disorder initiated by inflammation: implications for the therapy of pregnant patients. *Nature Clinical Practice* 3:140:147.

Sebire NJ, Backos M, El Gaddal S, Goldin RD, Regan L (2003) Placental Pathology, Antiphospholipid Antibodies, and Pregnancy Outcome in Recurrent Miscarriage Patients. *The American College of Obstetricians and Gynecologists* 101:258-262.

Sebire NJ, Fox H, Backos M, Rai R, Paterson C, Regan L (2002) Defective endovascular trophoblast invasion in primary antiphospholipid antibody syndrome-associated early pregnancy failure. *Hum Reprod* 17:1067–71.

Shoenfeld Y, Meroni PL, Cervera R (2008) Antiphospholipid syndrome dilemmas still to be solved: 2008 status. *Ann Rheum Dis* 67 no 4.

Silver RK, MacGregor SN, Sholl JS, Hobart JM, Neerhof MG, Ragin A (1993) Comparative trial of prednisone plus aspirin versus aspirin alone in the treatment of anticardiolipin antibody-positive obstetric patients (Abstract). *Am J Obstet Gynecol* 169:1411-1417.

Sorice M, Longo A, Capozzi A, Garofalo T, Misasi R, Alessandri C, Conti F, Buttari B, Riganò R, Ortona E, Valesini G (2007) Anti-beta2-glycoprotein I antibodies induce monocyte release of tumor necrosis factor alpha and tissue factor by signal transduction pathways involving lipid rafts. *Arthritis Rheum* 56: 2687-2697.

Stephenson MD, Ballem PJ, Tsang P, Purkiss S, Ensworth S, Houlihan E, Ensom MH (2004) Treatment of antiphospholipid antibody syndrome (APS) in pregnancy: a randomized pilot trial comparing low molecular weight heparin to unfractionated heparin (Abstract). *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada* 26: 729–734.

Tincani A, Rebaioli CB, Andreoli L, Lojacono A, Motta M (2009). Neonatal effects of maternal antiphospholipid syndrome 11:70-76.

Toubi E, Kessel A, Rosner I, Rozenbaum M, Lorber M, Paran D, Sabo E, Golan TD (2003) Quinacrine added to ongoing therapeutic regimens attenuates anticardiolipin antibody production in SLE (Abstract). *Lupus* 12:297-301.

Triolo G, Ferrante A, Ciccia F, Accardo-Palumbo A, Perino A, Castelli A, Giarratano A, Licata G (2003) Randomized study of subcutaneous low molecular weight heparin plus aspirin versus intravenous immunoglobulin in the treatment of recurrent fetal loss associated with antiphospholipid antibodies. *Arthritis Rheum* 48: 728:731.

Tsirigotis P, Mantzios G, Pappa V, Girkas K, Salamalekis G, Koutras A, Giannopoulou V, Spirou K, Balanika A, Papageorgiou S, Travlou A, Dervenoulas J (2007) Antiphospholipid syndrome: a predisposing factor for early onset HELLP syndrome. *Rheumatol Int.* 28:171–174.

Tuthill JI, Khamashta MA. Management of antiphospholipid syndrome. *Journal of Autoimmunity* 2009; 33:92-98

Van Horn JT, Craven C, Ward K, Branch DW, Silver RM (2004) Histologic features of placentas and abortion specimens from women with antiphospholipid and antiphospholipid-like syndromes. *Placenta* 25: 642-648.

Vega-Ostertag M, Casper K, Swerlick R, Ferrara D, Harris EN, Pierangeli SS (2005) Involvement of p38 MAPK in the up-regulation of tissue factor on endothelial cells by antiphospholipid antibodies. *Arthritis Rheum* 52: 1545-1554.

Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC, Brey R, Derksen R, Harris EN, Hughes GR, Triplett DA, Khamashta MA (1999) International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. *Arthritis Rheum* 42:1309-1311.

Youinou P, Reneaudineau Y (2004) The antiphospholipid syndrome as a model for B-cell-induced autoimmune diseases (Abstract). *Thromb Res* 114:363-369.