

VANESSA MARCON DE OLIVEIRA.

**ASSOCIAÇÃO ENTRE A PRESENÇA DE TROMBOFILIAS ADQUIRIDAS E
HEREDITÁRIAS E A OCORRÊNCIA DE ABORTAMENTOS RECORRENTES,
PERDAS FETAIS EM GESTANTES DE ALTO RISCO.**

CAMPO GRANDE
2010

VANESSA MARCON DE OLIVEIRA.

**ASSOCIAÇÃO ENTRE A PRESENÇA DE TROMBOFILIAS ADQUIRIDAS E
HEREDITÁRIAS E A OCORRÊNCIA DE ABORTAMENTOS RECORRENTES,
PERDAS FETAIS EM GESTANTES DE ALTO RISCO.**

Dissertação 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 Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Ernesto Antônio
Figueiró-Filho

CAMPO GRANDE
2010

FOLHA DE APROVAÇÃO

VANESSA MARCON DE OLIVEIRA

**ASSOCIAÇÃO ENTRE A PRESENÇA DE TROMBOFILIAS ADQUIRIDAS E
HEREDITÁRIAS E A OCORRÊNCIA DE ABORTAMENTOS RECORRENTES,
PERDAS FETAIS EM GESTANTES DE ALTO RISCO.**

Dissertação 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 Mestre.

Resultado_____

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

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Ernesto Antônio Figueiró-Filho

Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS)

Profa. Dra. Inês Aparecida Tozetti

Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS)

Profa. Dra. Patrícia El Beitune

Instituição: Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA)

Dedico este trabalho...

Ao meu esposo,
Windson,
pelo carinho e compreensão
nos momentos árdusos dessa jornada,
e por acreditar na minha capacidade
(muitas vezes mais do que eu mesma).

Aos meus pais,
Milton e Marlene,
por incentivar e apoiar incondicionalmente
todos os meus projetos de vida

Aos meus irmãos,
Mylena e Guilherme,
pelo carinho e por entenderem os momentos de ausência.

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 aptos a participarem deste trabalho.

Às minhas amigas, Érica e Giselle, pela amizade 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.

Ninguém adquire paz sem aceitar a luta incessante pela segurança do bem.

Felicidade é o outro nome da consciência tranquila.

Trabalho é capital que não se desvaloriza.

Estudo é aquisição de responsabilidade.

Quem não perdoa carrega peso desnecessário.

Azedume é caminho para solidão.

Observar tudo que se vê, assinalar os erros e corrigi-los, em cada um de nós, por nossa própria conta.

(André Luiz - Psicografia de Chico Xavier)

RESUMO

Oliveira VM. Associação entre a presença de trombofilias adquiridas e hereditárias e a ocorrência de abortamentos recorrentes, perdas fetais em gestantes de alto risco. Campo Grande; 2010. [Dissertação – Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul].

A presença de trombofilias tem sido relacionada com a maioria dos eventos trombóticos venosos maternos e com complicações na gravidez. Para verificar se há associação entre a ocorrência de abortamentos recorrentes e perdas fetais com a presença de trombofilias hereditárias e adquiridas realizou-se estudo envolvendo 180 gestantes divididas em dois grupos, grupo AB - gestantes com histórico de abortamentos recorrentes e perdas fetais e grupo CO - gestantes de comparação, atendidas no ambulatório de Gestação de Alto Risco da Faculdade de Medicina Dr Hélio Mandeta da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (FAMED-UFMS). Foram rastreadas a presença de trombofilias adquiridas através da pesquisa de anticorpos anticardiolipina (aCL) IgM e IgG, anticoagulante lúpico (AL) e anti- β 2 glicoproteína I (anti- β 2GPI) e a presença de trombofilias hereditárias através da pesquisa de deficiências de proteína C (PC), proteína S (PS) e antitrombina (AT), hiperhomocisteinemia e mutação do fator V (Leiden). Os exames para rastreamento destas trombofilias foram realizados durante o pré-natal e não foram repetidos após o puerpério. A presença de trombofilias hereditárias ou adquiridas de forma isolada foi encontrada em 50,0% (50/100) das pacientes pertencentes ao grupo AB e em 31,3% (25/80) das gestantes pertencentes ao grupo CO. As trombofilias hereditárias, ou adquiridas em conjunto, foram observadas em 32,0% (32/100) das gestantes do grupo AB e em 26,3% (21/80) das gestantes do grupo CO. Dentre as trombofilias adquiridas a mais frequente, entre as gestantes do grupo AB e CO, foi o AL encontrado em 20,0% (20/100) e 16,3% (13/80) respectivamente. No grupo AB a trombofilia hereditária mais frequente foi a deficiência de PS encontrada em 31,0% (31/100) das gestantes enquanto, no grupo CO a mais frequente foi a deficiência de AT em 17,5% (14/80). Concluiu-se que houve associação positiva ($p=0,0005$) entre a presença de trombofilias hereditárias e adquiridas e a ocorrência de abortamentos recorrentes e perdas fetais.

Palavras Chaves: Trombofilias hereditárias e adquiridas; gestação; abortamentos recorrentes; perdas fetais; complicações obstétricas

ABSTRACT

Oliveira VM. Association between the presence of acquired and inherited thrombophilia and the occurrence of miscarriage, fetal loss in pregnant women at high risk. Campo Grande; 2010 [Dissertation – Faculdade de Medicina Dr. Hélio Mandeta da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul]

The presence of thrombophilia has been associated with most maternal venous thrombotic events and adverse complications of pregnancy. To check for association between the occurrence of miscarriage, fetal loss with the presence of hereditary and acquired thrombophilia study was performed involving 180 pregnant women divided into two groups, group AB - women with a history of recurrent abortion and fetal loss and group CO - women comparison, an Ambulatory of High Risk Pregnancy, School of Medicine Dr Hélio Mandeta Federal University of Mato Grosso do Sul (FAMED-UFMS). Were traced to the presence of acquired thrombophilia through research of anticardiolipin (aCL) IgM and IgG, lupus anticoagulant (LA) and anti- β 2 glycoprotein I (anti- β 2GPI) and the presence of hereditary thrombophilia through research deficiencies of protein C (PC), protein S (PS) and antithrombin (AT), hyperhomocysteinemia and factor V mutation (Leiden). Tests for thrombophilia screening of these were performed during the prenatal and were not repeated after the puerperium. The presence of inherited or acquired thrombophilia in isolation was found in 50.0% (50/100) of patients belonging to group AB and 31.3% (25/80) of pregnant women belonging to the CO group. The hereditary thrombophilias or, acquired simultaneously, were observed in 32.0% (32/100) of women in the group AB and 26.3% (21/80) of women in the CO group. Of the acquired thrombophilias more common among pregnant women in group AB and BC was the AL found in 20.0% (20/100) and 16.3% (13/80) respectively. In group AB the most common hereditary thrombophilia was PS deficiency found in 31.0% (31/100) of pregnant women while in group C met AT deficiency in 17.5% (14/80). It was concluded that there is a positive association ($p = 0.0005$) between the presence of hereditary and acquired thrombophilia and the occurrence of miscarriage and fetal loss.

Keywords: hereditary and acquired thrombophilia, pregnancy, recurrent abortion, fetal loss, obstetrical complications

LISTA DE TABELAS

Tabela 5.1 - Distribuição de raça/cor, número de gestações, número de abortos espontâneos e número de perdas fetais das pacientes segundo seus grupos de estudo.	54
Tabela 5.2 – Distribuição das trombofilias hereditárias e anticorpos antifosfolípidos de forma isolada entre os dois grupos de estudo.	56
Tabela 5.3 - Distribuição das trombofilias hereditárias e anticorpos antifosfolípidos de forma conjunta entre os dois grupos de estudo.	57
Tabela 5.4 - Distribuição das trombofilias hereditárias e anticorpos antifosfolípidos entre os dois grupos de estudo.	59
Tabela 5.5 – Associação entre a presença de trombofilias hereditárias e história pregressa de abortamentos e perdas fetais.	60
Tabela 5.6 – Associação entre a presença de anticorpos anticardiolipina e história pregressa de abortamentos e perdas fetais.	60
Tabela 5.7 – Associação entre a presença de trombofilias hereditárias e anticorpos anticardiolipina e história pregressa de abortamentos e perdas fetais.	61

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 – Esquema da cascata da coagulação. CAPM: cininogênio de alto peso molecular; PK: pré-caliceína.	20
Figura 2.2 – Esquema geral da coagulação (EPCR: receptor endotelial de proteína C).....	22
Figura 2.3 – Inibição da via de ativação da coagulação dependente do fator tecidual pelo TFPI (“tissue factor pathway inhibitor). O X em azul indicam os pontos de inibição do TFPI.	23
Figura 2.4 – Sistema da proteína C ativada. A ligação da trombina (IIa) ao receptor endotelial trombomodulina (TM) modifica as propriedades da trombina transformando-a em um potente anticoagulante, por ativar a PC, que juntamente com seu co-fator (PS) inativa os fatores VIIIa e Va suprimindo a gênese da trombina. EPCR: receptor endotelial da PC.....	24
Figura 2.5 – Representação esquemática do sistema fibrinolítico. PDF: produtos de degradação da fibrina.	26
Figura 2.6 – TAFI: ponto de conexão entre o sistema de coagulação e da fibrinólise, intermediado pelo complexo trombina/trombomodulina. PLG: plasminogênio, Pn: plasmina, TM: trombomodulina, FGN: fibrinogênio, PDF: produtos de degradação de fibrina.....	27
Figura 2.7 – Metabolismo da homocisteína	37
Figura 2.8 – Critérios redefinidos para o diagnóstico da síndrome do anticorpo antifosfolípide (SAAF)......	43
Figura 6.1 - Comparativo entre os trabalhos que apresentaram ou não concordância com os resultados da presente pesquisa.	68
Figura 6.2 – Principais fontes e trombofilias pesquisadas utilizadas na presente pesquisa.....	70

LISTA DE ABREVEATURAS E SIGLAS

AAF – Anticorpo antifosfolípide
aCL – Anticorpo anticardiolipina
ADP – Adenina difosfato
AL – Anticoagulante lúpico
AT – Antitrombina
BHMT – betáina homocisteína metil transferase
C4BP – Cadeia β da proteína C4b
CAPM – cininogênio de alto peso molecular
CEP – Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos
C β S – Cistadiona β sintetase
DNA – Ácido desoxirribonucleico
DPP – Descolamento prematuro de placenta
EGF – Fator de crescimento epidérmico
ELISA – Enzimaimuno ensaio
EPCR – Receptor endotelial da proteína C
FADH2 – Flavina adenina dinucleotídio
FAMED – Faculdade de Medicina Dr Hélio Mandeta
FGN – Fibrinogênio
FT – Fator tecidual
FVL – Fator V Leiden
HU – Hospital Universitário
IgG – Imunoglobulina G
IgM – Imunoglobulina M
LES – Lúpus eritematoso sistêmico
MS – Metionina sintetase
MSR – Metionina sintetase redutase
MTHFR – Metilenotetrahidrofolato redutase
NADPH – Nicotinamida adenina dinucleotídio-P

OR – Odds ratio

PAI – Inibidor específico do plasminogênio

PAP – Proteína placentária anticoagulante

PC – Proteína C

PCa – Proteína C ativada

PCR – Reação em cadeia da polimerase

PDF – Produto de degradação da fibrina

PK – pré-caliceína

PLG – Plasminogênio

Pn - Plasmina

PROS1 – Gene ativo da proteína S

PROS2 – Gene inativo da proteína S

PS – Proteína S

PSA – Gene ativo da proteína S

PSB – Gene inativo da proteína S

RCIU – Restrição de crescimento intra-uterino

RNA – Ácido ribonucleico

RPCA – Resistência a proteína C ativada

SAAF – Síndrome do anticorpo antifosfolípide

SUS – Sistema Único de Saúde

TAFI – Inibidor fibrinolítico ativado pela trombina

TCLE – Termo de consentimento livre e esclarecido

TEV – trombose venosa profunda

TFPI – Inibidor da via do fator tecidual

TM – Trombomodulina

TP – tempo de protrombina

t-PA – Ativador Tecidual do plasminogênio

TTPa – Tempo de tromboplastina parcial ativado

UFMS – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

u-PA – Ativador tipo uroquinase do plasminogênio

wr/wr – Homozigoto afetado

wr/wt – Heterozigoto

wt/wt – Homozigoto normal

α 2-AP - α 2-antiplasmina

β 2-GPI – β 2-glicoproteína I

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	18
2.1 Hemostasia e coagulação.....	18
2.1.1 Coagulação.....	18
2.1.2 Mecanismos Reguladores da coagulação sanguínea.....	22
2.1.3 Sistema fibrinolítico	25
2.1.4 Conexão entre Coagulação e Fibrinólise	26
2.2 Hemostase na gestação.....	27
2.2.1 Alterações do mecanismo hemostático durante a gestação	28
2.3 Trombofilias	29
2.3.1 Trombofilias Hereditárias.....	29
2.3.1.1 Deficiência de proteína C	30
2.3.1.2 Deficiência de proteína S.....	31
2.3.1.3 Deficiência de antitrombina.....	34
2.3.1.4 Hiperhomocisteinemia.....	36
2.3.1.5 Fator V Leiden	39
2.3.2 Trombofilias adquiridas.....	41
2.3.2.1 Síndrome do anticorpo antifosfolípide	41
3 OBJETIVOS	46
3.1 Objetivo geral	46
3.2 Objetivos específicos.....	46
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	47
4.1 Seleção da amostra.....	47
4.1.1 Critérios de inclusão para o Grupo AB	47
4.1.2 Critérios de exclusão para o Grupo AB:.....	47
4.1.3 Critérios de inclusão para o Grupo CO:	48
4.1.4 Critérios de exclusão para o Grupo CO:.....	48
4.1.5 Considerações éticas.....	48

4.1.6 Investigação laboratorial.....	49
4.1.6.1 Anticorpos antifosfolípidos.....	49
4.1.6.2 Trombofilias hereditárias.....	49
4.2 Variáveis de estudo	50
4.2.1 Apresentação das variáveis.....	50
4.2.2 Definição das variáveis e conceitos	50
4.3 Coleta de dados.....	52
4.4 Processamento e análise de dados.....	52
5 RESULTADOS	53
6 DISCUSSÃO	62
7 CONCLUSÕES	72
REFERÊNCIAS	74
APÊNDICE	94
APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO	94
APÊNDICE B - PROTOCOLO DE ESTUDO	96
ANEXO	97
ANEXO A – CARTA DE APROVAÇÃO	97

1 INTRODUÇÃO

Dá-se o nome de abortamento recorrente, a ocorrência de três ou mais abortamentos clinicamente reconhecidos antes da 20ª semana de gestação. Porém, a investigação clínica deve ser iniciada após dois abortamentos espontâneos consecutivos, principalmente, quando já havia sido identificado batimentos cardíacos fetais antes de qualquer abortamento, a paciente possui idade superior a 35 anos, ou o casal possui dificuldade de conceber. Acomete aproximadamente de 12% a 15% das gestações clinicamente diagnosticadas e afeta 2% da população em idade reprodutiva (COUTO et al, 2005; BEREK, 2005; MATTAR; CAMANO; DAHER, 2003).

Perda fetal está definida como todo óbito fetal intrauterino, ocorrido após a 20ª semana de gestação, ou quando o feto possuía peso superior a 500 gramas (SCHUST; HILL, 2005; MEDEIROS, 2001).

Diversos autores divergem entre os fatores que levam a ocorrência de abortos recorrentes, não sendo possível elucidá-los em mais da metade dos casos. Entre as causas propostas encontram-se: anormalidades anatômicas, fatores endócrinos, infecções, fatores imunológicos - incluindo os fatores associados à Síndrome do Anticorpo Antifosfolípide (SAAF) - e fatores genéticos - incluindo os fatores trombóticos (BEREK, 2005; MATTAR; CAMANO; DAHER, 2003).

Dentre as diversas causas, a mais estudada é a imunológica, onde estão envolvidos os aspectos autoimunes - produção de auto-anticorpos pelo sistema imunológico materno - e aspectos aloimunológicos - falha na tolerância aos antígenos feto-paternos e/ou na resposta imunológica modulada e protetora (MATTAR ET AL, 2003).

Trombofilias denominam um conjunto de várias anomalias específicas, adquiridas, ou hereditárias, as quais condicionam um estado de hipercoagulabilidade e maior risco de trombose venosa aumentando em oito vezes o risco de complicações obstétricas durante a gestação e puerpério em mulheres portadoras, não se restringindo apenas à trombose venosa profunda (TEV) (KRABBENDAM et al, 2005; MONGA; DOYLE, 2004; DUARTE et al, 2002).

A doença tromboembólica é a principal causa de mortalidade materna nos países desenvolvidos. A morte fetal *in útero*, a restrição de crescimento intrauterino (RCIU), a pré-

eclâmpsia grave e de início precoce são causas importantes de morbi-mortalidade perinatal (LIMA, 2006). No exame histológico dos vasos útero-placentários e da arquitetura intervilositárias dessas gestações são típicos o aumento da deposição de fibrina, a trombose e as alterações endoteliais e do trofoblasto associados à hipóxia. Estes achados sugerem que a trombose da circulação útero-placentária está implicada na fisiopatologia destes quadros obstétricos (KUJOVICH, 2004; MONGA; DOYLE, 2004). Atualmente, a presença de trombofilias têm sido relacionada com a maioria dos eventos trombóticos venosos maternos e com complicações adversas da gravidez.

Os trombofílicos estão em constante risco de trombose, o que é demonstrado bioquimicamente pelo aumento de trombina no plasma, mesmo durante os períodos assintomáticos. Quase sempre nesses indivíduos é necessário um estímulo trombogênico para iniciar o evento trombótico. Outro aspecto interessante das trombofilias é a grande variabilidade fenotípica, o que sugere uma complexa interação entre múltiplos genes que determina uma predisposição hereditária para a trombose. A existência de uma predisposição para a trombose, mesmo quando mais de um gene está afetado, é insuficiente para causar um evento trombótico clínico. Entretanto, um evento trombótico atípico desproporcional a um determinado estímulo reconhecido deve levantar sempre a suspeita de trombofilia. (LIMA, 2006).

As trombofilias hereditárias são a principal causa de tromboembolismo materno e estão associadas a um aumento de complicações na gravidez: perdas fetais no 2.º e 3.º trimestres, deslocamento prematuro de placenta (DPP), RCIU grave e pré-eclâmpsia grave e de início precoce. Todas as mulheres com estes antecedentes obstétricos graves e com antecedentes de trombose venosa devem ser investigadas e excluídas da presença de trombofilias (KUJOVICH, 2004; MONGA; DOYLE, 2004; LOCKWOOD, 2002).

São incluídas nas trombofilias hereditárias as deficiências de antitrombina (AT), proteína C (PC) e proteína S (PS), mutações genéticas do fator V Leiden (FVL), gene G20210A da protrombina e o gene C677T variante termolábil da enzima metilenotetrahidrofolato redutase (DE SANTIS et al, 2006; ROBERTSON et al, 2006). As trombofilias adquiridas mais comuns são devido aos anticorpos antifosfolípides (AAF), que incluem o anticoagulante lúpico (AL) e os anticorpos anticardiolipina (aCL) (DE SANTIS et al, 2006; ROBERTSON et al, 2006). A resistência à proteína C ativada e a hiperhomocisteinemia são trombofilias derivadas da combinação de fatores hereditários e

adquiridos (HAEMOSTASIS AND TROMBOSIS TASK FORCE, BRITISH COMMITTEE FOR STANDARDS IN HAEMATOLOGY, 2001).

O abortamento recorrente e perdas fetais inexplicadas continuam sendo um problema complexo que desafia a atuação de obstetras e ginecologistas. Tanto a padronização da avaliação clínico-laboratorial como a conduta nesta condição exige maior aperfeiçoamento de clínicos e pesquisadores envolvidos com a reprodução humana. As múltiplas causas atualmente propostas, a incidência semelhante das causas prováveis entre populações de pacientes com complicações obstétricas e com vida reprodutiva normal, o grande número de casais que permanecem com causa não-determinada, a grande repercussão psicológica sobre o casal que apresenta uma ou mais gestações interrompidas e a incerteza em relação ao sucesso das medidas terapêuticas, quando essas são comparadas com o simples acompanhamento, são fatores que confundem o nosso entendimento e exigem pronta investigação.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Hemostasia e coagulação

A hemostasia pode ser definida como o ponto de equilíbrio entre a hemorragia e a trombose, ou seja, o sangue deve correr de maneira fluida no sistema circulatório, não podendo deste modo extravasar, o que caracterizaria uma hemorragia, e não pode coagular o que caracterizaria um trombo (SILVA; HASHIMOTO, 2006). Assim o organismo possui mecanismos que inibem a formação de trombos ou o extravasamento sanguíneo. Os componentes do sistema hemostático incluem as plaquetas, os vasos, as proteínas da coagulação, os anticoagulantes naturais e o sistema de fibrinólise.

Didaticamente pode-se dividir a hemostasia em primária e secundária. A resposta primária da hemostasia está relacionada com o endotélio vascular e as plaquetas, pois estes resultam na formação de trombo plaquetário transitório. As proteínas da coagulação, os anticoagulantes naturais e o sistema de fibrinólise são responsáveis pela resposta secundária, sendo aqueles responsáveis pela formação de fibrina, reforçando o trombo primário, esses responsáveis pelo controle da formação de fibrina, e este, deverá dissolver o trombo gradualmente, a fim de restaurar o fluxo sanguíneo normal. (FRANCO, 2004).

2.1.1 Coagulação

Em 1964, Macfarlene e Davie; Ratnoff¹ *apud* Franco (2004, p. 740) propuseram um modelo em “cascata” para explicar a fisiologia da coagulação sanguínea (Figura 2.1), onde a

¹ Macfarlene e Davie; Ratnoff (1964) *apud* Franco RF. Fisiologia da coagulação do sangue e fibrinólise. In: Zago MA, Falcão RP, Pasquini R. Hematologia: fundamentos e prática. São Paulo: Editora Atheneu; 2004. p. 739-48.

coagulação ocorre por meio de uma ativação proteolítica sequencial de pró-enzimas por proteases do plasma, o que resultaria na formação de trombina que então, converte a molécula de fibrinogênio em fibrina. Este esquema divide a coagulação em duas vias, uma via extrínseca – envolvendo componentes sanguíneos e também elementos que não estão presentes no espaço intravascular, e também uma via intrínseca – iniciada por elementos presentes no espaço intravascular. Tal separação é considerada inadequada do ponto de vista fisiológico, visto que esta divisão não ocorre *in vivo*.

A coagulação é desencadeada quando ocorre a exposição do sangue a componentes que normalmente não estão presentes no interior dos vasos. Estes componentes são provenientes de lesões estruturais (lesão vascular) ou alterações bioquímicas (liberação de citocinas). Qualquer que seja o evento desencadeante, o iniciador fisiológico da coagulação será o fator tecidual (FT), já que este será exposto no espaço intravascular. (D'AMICO; VILLAÇA, 2006; FRANCO, 2004).

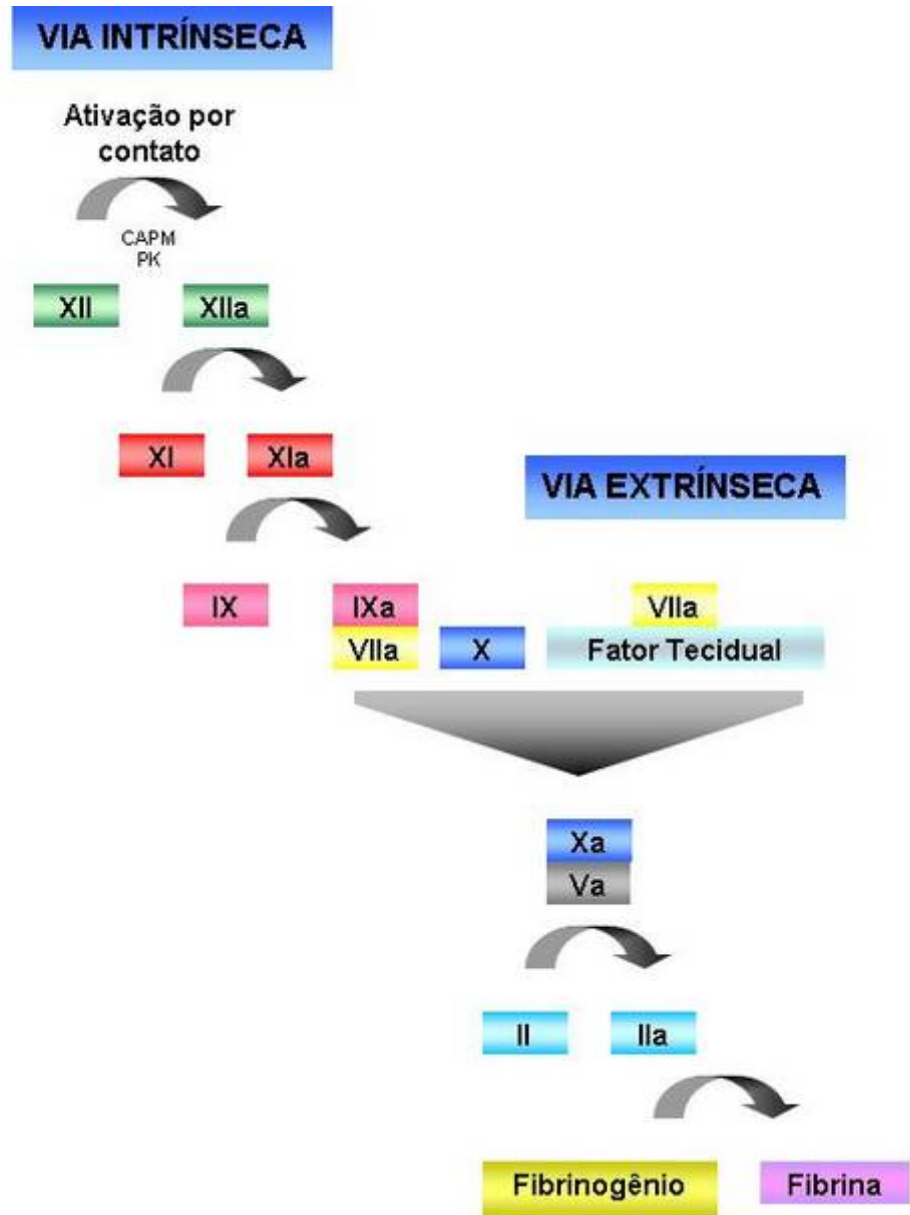


Figura 2.1 – Esquema da cascata da coagulação. CAPM: cininogênio de alto peso molecular; PK: pré-caliceína.

O FT é uma glicoproteína transmembrana presente na superfície de muitas células, que geralmente, não estão em contato com a circulação. O FT pode ser expresso por monócitos e macrófagos quando estes são estimulados por endotoxinas e citocinas. (D'AMICO; VILLAÇA, 2006; SILVA; HASHIMOTO, 2006).

Em indivíduos normais uma pequena quantidade (1%) de fator VII circula de forma ativa – Fator VIIa. O fator VIIa é capaz de se ligar ao FT, e o complexo formado (FT/fator VIIa) exibe função enzimática ativa, sendo capaz de ativar o fator VII em processo denominado “auto ativação”. O complexo FT/fator VIIa tem como principais substratos os fatores IX e X, cuja clivagem resulta na formação de fator IXa e fator Xa, o que consequentemente resultará na formação de trombina e fibrina. A pequena quantidade de trombina formada a partir deste complexo é suficiente para a ativação dos fatores V e VIII. Ocorrerá deste modo a ligação do fator IXa ao fator VIIa, dando origem ao complexo “tenase” intrínseco (fator IXa/fator VIIa), este é capaz de ativar o fator X, que formará o complexo “protrombinase” (fator Va/fator Xa), que converte a protrombina (fator II) em trombina (fator IIa). É importante ressaltar que o complexo fator IXa/fator VIIa é 50 vezes mais eficiente do que o fator FT/fator VIIa na ativação do fator X. A trombina formada transformará o fibrinogênio em fibrina, promoverá ativação plaquetária e irá ativar o fator XIII, que será o responsável pela estabilização do coagulo de fibrina. (figura 2.2) (FRANCO, 2004).

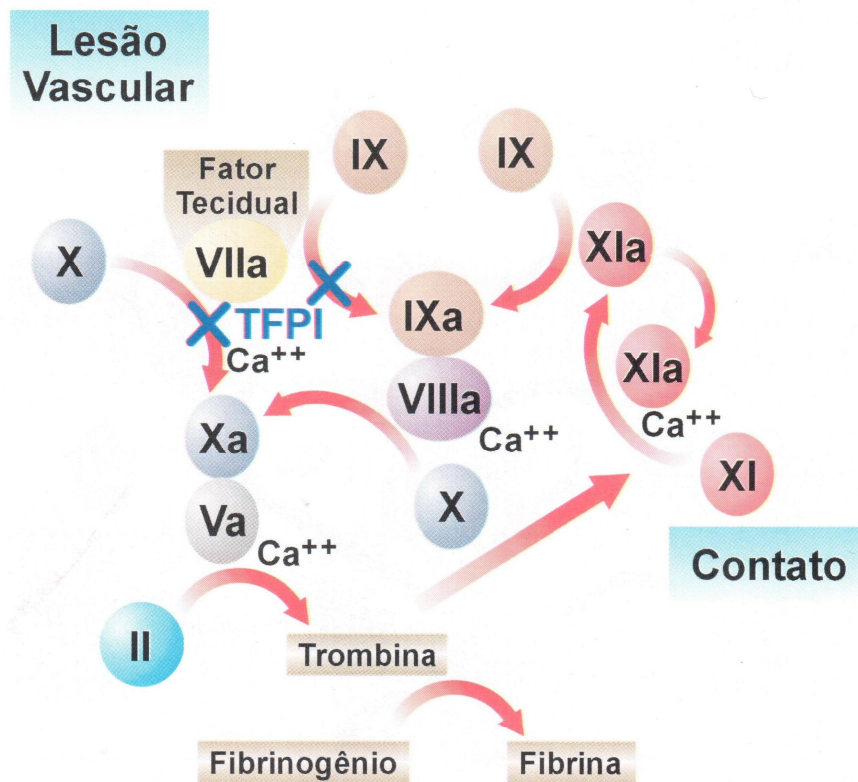


Figura 2.3 – Inibição da via de ativação da coagulação dependente do fator tecidual pelo TFPI (“tissue factor pathway inhibitor). O X em azul indicam os pontos de inibição do TFPI.

Franco RF. Fisiologia da coagulação do sangue e fibrinólise. In: Zago MA, Falcão RP, Pasquini R. Hematologia: fundamentos e prática. São Paulo: Editora Atheneu; 2004. p. 739-48.

Outra importante via de anticoagulação sanguínea é o sistema da proteína C ativada (PCa). Após a ligação da trombina ao receptor endotelial trombomodulina, a proteína C (PC) se liga ao seu receptor do endotélio (EPCR, “endothelial PC receptor”), sendo então dessa forma ativada. A PCa inibe a coagulação clivando e inativando os fatores Va e VIIIa. Esse processo é potencializado pela ligação da PC à proteína S (PS) que atua como um co-fator não enzimático nas reações de inativação. (figura 2.4) (SILVA; HASHIMOTO, 2006; FRANCO, 2004).

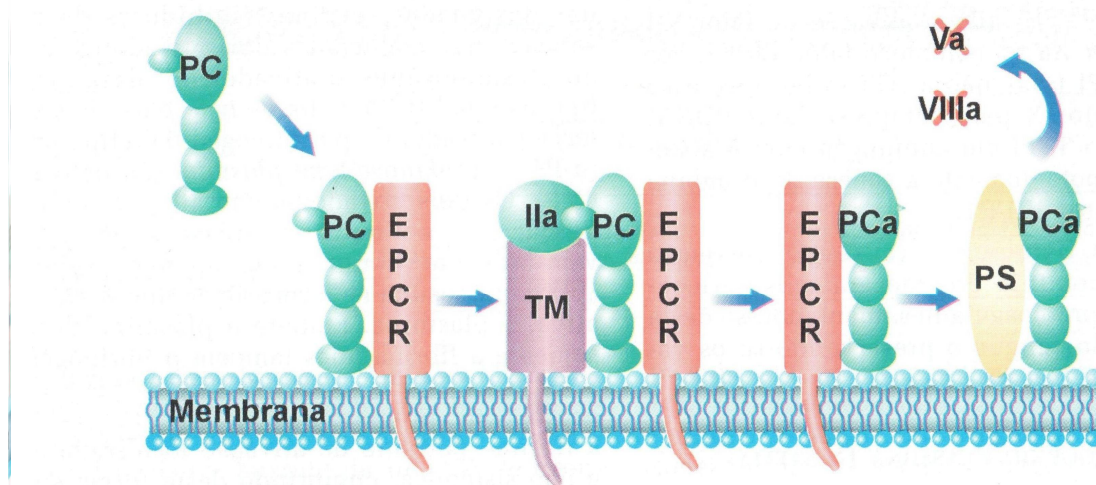


Figura 2.4 – Sistema da proteína C ativada. A ligação da trombina (IIa) ao receptor endotelial trombomodulina (TM) modifica as propriedades da trombina transformando-a em um potente anticoagulante, por ativar a PC, que juntamente com seu co-fator (PS) inativa os fatores VIIIa e Va suprimindo a gênese da trombina. EPCR: receptor endotelial da PC.

Franco RF. Fisiologia da coagulação do sangue e fibrinólise. In: Zago MA, Falcão RP, Pasquini R. Hematologia: fundamentos e prática. São Paulo: Editora Atheneu; 2004. p. 739-48.

A antitrombina (AT) – antigamente denominada antitrombina III – tem a função de eliminar qualquer atividade enzimática pró-coagulante excessiva. É o inibidor primário da trombina, exerce atividade inibitória em diversas outras enzimas da coagulação, incluindo os fatores IXa, Xa e XIa; e, também é responsável pela dissociação do complexo fator VIIa/FT e impede a sua reassociação. A AT tem a sua atividade inibitória potencializada quando há associação com a molécula de heparan-sulfato, um proteoglicano presente nas células endoteliais. A heparina também tem a capacidade de potencializar a ação inibitória da AT, devido a sua semelhança com a molécula de heparan-sulfato (SILVA; HASHIMOTO, 2006; FRANCO, 2004).

Os diferentes mecanismos reguladores da coagulação sanguínea já citados não trabalham isoladamente. Visto que há sinergismo entre o TFPI e a AT, e entre o TFPI e o sistema da PC ativada, já que a AT - mas não o TFPI - inibe a ativação do fator VII mediada pelo fator Xa no complexo fator VII/FT, e o TFPI - mas não a AT - inibe o excesso de ativação do fator X pelo complexo fator VII/FT (FRANCO, 2004).

Em condições fisiológicas - ausência de lesão vascular - há predomínio dos mecanismos anticoagulantes aos pró-coagulantes, mantendo-se assim, a fluidez sanguínea e a desobstrução do sistema circulatório.

2.1.3 Sistema fibrinolítico

A fibrinólise é o mecanismo final que contrapõe-se ao processo de coagulação. É iniciada pelos ativadores do plasminogênio, os quais convertem o plasminogênio na enzima ativa, a plasmina, que possui atividade fibrinolítica. Os ativadores do plasminogênio são o ativador tecidual do plasminogênio (t-PA) e o ativador tipo uroquinase do plasminogênio (u-PA) (FRANCO, 2004).

Os dois ativadores possuem alta afinidade de ligação com o seu substrato - plasminogênio - e promovem a ativação eficiente do plasminogênio em plasmina. A plasmina cliva o fibrinogênio e/ou a fibrina, gerando produtos de degradação (FRANCO, 2004). Os produtos da degradação do fibrinogênio/fibrina inibem a ação da trombina e a polimerização da fibrina (D'AMICO; VILLAÇA, 2006). Apesar de a plasmina não degradar somente o fibrinogênio e a fibrina, mas também os fatores V e VIII, em condições fisiológicas a fibrinólise ocorre como um processo altamente específico para a fibrina com ativação localizada e restrita. Desse modo cumpre sua função de remover o excesso de fibrina intravascular de modo equilibrado (FRANCO, 2004).

Os inibidores específicos do plasminogênio (PAI = plasminogen activator inhibitor), cujo principal representante é o PAI-1, são responsáveis pela regulação do sistema fibrinolítico. A função inibitória realizada diretamente sobre a plasmina é exercida pela α 2-antiplasmina (α 2-AP) (figura 2.5) (FRANCO, 2004).

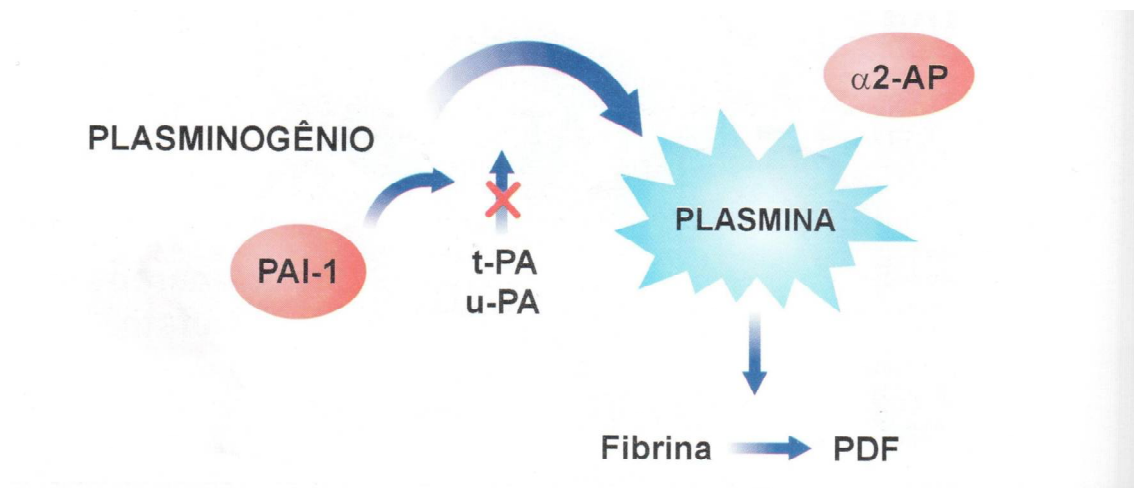


Figura 2.5 – Representação esquemática do sistema fibrinolítico. PDF: produtos de degradação da fibrina.

Franco RF. Fisiologia da coagulação do sangue e fibrinólise. In: Zago MA, Falcão RP, Pasquini R. Hematologia: fundamentos e prática. São Paulo: Editora Atheneu; 2004. p. 739-48.

2.1.4 Conexão entre Coagulação e Fibrinólise

O inibidor da fibrinólise ativado pela trombina (TAFI) é uma pró-enzima atuante como potente inibidor deste processo. O TAFI é ativado pela trombina, tripsina e plasmina. Em sua forma ativa é capaz de inibir a fibrinólise, pois remove resíduos de lisina da molécula de fibrina. Deste modo a fibrina não atuará como co-fator na ativação do plasminogênio. A principal via de ativação do TAFI é dependente da ligação do fator IIa à trombomodulina – a qual também ativa o sistema da PC ativa. Verifica-se assim que o TAFI é um ponto de conexão entre o sistema de coagulação e fibrinólise (figura 2.6) (FRANCO, 2004).

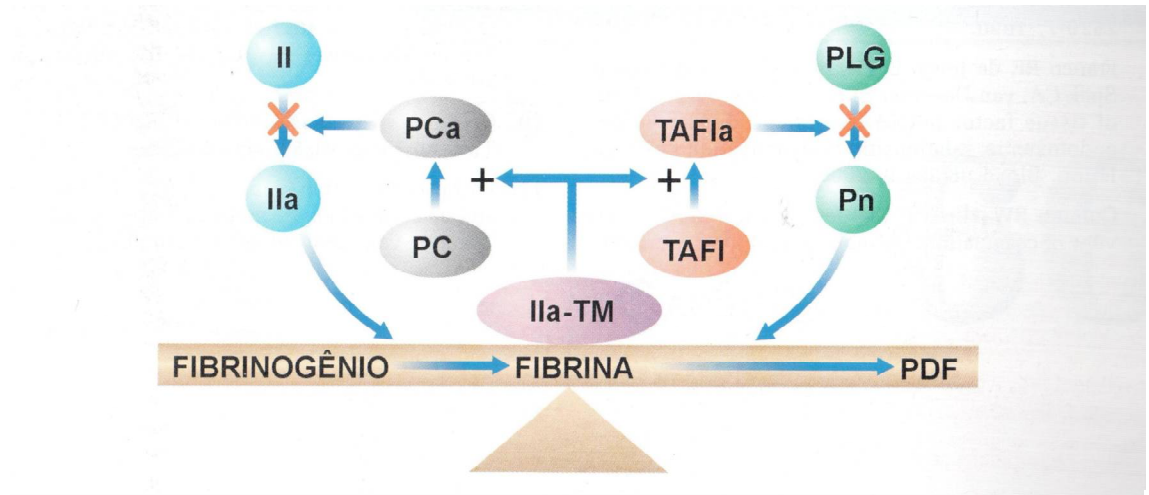


Figura 2.6 – TAFI: ponto de conexão entre o sistema de coagulação e da fibrinólise, intermediado pelo complexo trombina/trombomodulina. PLG: plasminogênio, Pn: plasmina, TM: trombomodulina, FGN: fibrinogênio, PDF: produtos de degradação de fibrina.

Franco RF. Fisiologia da coagulação do sangue e fibrinólise. In: Zago MA, Falcão RP, Pasquini R. Hematologia: fundamentos e prática. São Paulo: Editora Atheneu; 2004. p. 739-48.

2.2 Hemostase na gestação

Durante a gestação o organismo materno sofre diversas alterações a fim de proteger o desenvolvimento de um novo ser, deste modo ocorrem mudanças fisiológicas e anatômicas, incluindo a composição dos elementos figurados e humorais do sangue.

Como exemplo, têm-se modificações uterinas devido a hipertrofia e dilatação, ocorrendo um aumento da vascularização pela necessidade de maior perfusão sanguínea, na placenta, devido ao aumento progressivo, há uma maior circulação de sangue materno-fetal durante a evolução da gestação, necessitando assim do aumento do número de vasos sanguíneos (CUNNINGHAM et al, 2005). Deste modo é necessário conhecermos as alterações hemostáticas que ocorrem durante a gestação, já que estas estão relacionadas à ocorrência de complicações obstétricas associadas a eventos tromboembólicos.

2.2.1 Alterações do mecanismo hemostático durante a gestação

O organismo materno sofre adaptações fisiológicas visando reduzir os riscos de hemorragia no momento do parto, porém é criado um estado de hipercoagulabilidade. Durante a gestação normal o sistema de coagulação se encontra em estado ativado. Há a ocorrência do aumento dos níveis de todos os fatores da coagulação, exceto fatores XI e XIII, com aumento dos níveis de fibrinogênio, quando comparados a não gestantes (CUNNINGHAM et al, 2005, UCHIKOVA; LEDJEV, 2005). O volume plasmático aumentado durante o terceiro trimestre é uma possível explicação para o aumento do fibrinogênio (HELLGREN, 2003). De acordo com estes estudos as mudanças nas variáveis da coagulação, que são mais significativas no terceiro trimestre de gestação, são provavelmente devido às mudanças hormonais e, especialmente, ao aumento dos níveis de estrogênio. Essas alterações também são observadas em mulheres em uso de contraceptivos orais (UCHIKOVA; LEDJEV, 2005).

Verifica-se aumento do fibrinogênio plasmático a partir do terceiro mês de gestação, sendo este aumento progressivo. Em mulheres não grávidas os níveis de fibrinogênio variam de 1,5 a 4,5 mg/dl, enquanto em gestantes o valor está entre 4,0 a 6,5 mg/dl (KAHAM; KOSS, 2007).

Observa-se uma pequena diminuição no número de plaquetas, devido principalmente a hemodiluição, mas também devido ao consumo destas. Durante a gestação a produção de tromboxano A₂, que induz a agregação plaquetária, aumenta progressivamente (HAYASHI ET AL., 2002).

Dentro da literatura há controvérsias quanto ao aumento e diminuição dos anticoagulantes naturais durante a gestação, os níveis de PC são ligeiramente aumentados ou inalterados (CLARK et al., 1998; CERNECA et al., 1997), porém os níveis de AT se mantêm inalterados (O'RIORDAN, 2003). Wickstrom et al., 2004 constataram que a AT está ligeiramente diminuída durante o terceiro trimestre de gestação. Segundo Kjellberg et al., 1999 os níveis de PS declinam significativamente com o avanço desta e Uchikova; Ledjev (2005) verificaram diminuição estatisticamente significativa dos níveis de PC e PS em gestantes, quando comparadas ao grupo controle. Durante a gestação é observado um aumento progressivo na resistência à PCa, essa resistência está diretamente relacionada à

diminuição dos níveis de PS livre, cuja diminuição é hormonalmente mediada, pois observa-se que os contraceptivos orais também causam queda nos níveis de PS livre. Os níveis de AT permanecem relativamente constantes durante este período ocorrendo uma pequena diminuição durante o puerpério (CUNNINGHAM et al, 2005).

A atividade do plasminogênio, convertido em plasmina, é equilibrada por inibidores específicos presentes no plasma e plaquetas (CUNNINGHAM et al, 2005). O aumento da atividade fibrinolítica restringe a formação de fibrina, melhorando ou restaurando a circulação em vasos ocluídos (UCHIKOVA; LEDJEV, 2005). O plasminogênio tem seus níveis aumentados de acordo com os aumentos dos níveis de fibrinogênio, causando, deste modo, um equilíbrio na coagulação e na atividade fibrinolítica (KAHAM; KOSS, 2007). Níveis aumentados de plasminogênio são devido à diminuição de sua utilização e o aumento da produção do mesmo durante a gestação normal, é considerada, também, uma reação de defesa compensatória para evitar trombozes (HELLGREN, 2003; UCHIKOVA; LEDJEV, 2005).

Os níveis de ativador tecidual de plasminogênio (t-PA) plasmático estão elevados durante o período gestacional (NAKASHIMA et al., 1996; BELLART et al., 1997). Porém, existe controvérsias na literatura, onde Choi; Pai, (2002) relatam que as mudanças nos níveis do t-PA plasmático ocorrem paralelamente as mudanças com os níveis de fibrinogênio plasmático.

Durante a gestação verifica-se concentrações elevadas de fibrina, indicando que esta é formada em resposta à ativação da coagulação (UCHIKOVA; LEDJEV, 2005). Segundo Pannicia et al., (2002) o processo de coagulação intravascular, confina-se à placenta e o aumento da formação de fibrina e sua deposição podem ser necessárias para manter a integridade vascular da placenta.

2.3 Trombofilias

2.3.1 Trombofilias Hereditárias

2.3.1.1 Deficiência de proteína C

A proteína C (PC) é uma proteína da coagulação dependente de vitamina K e está associada à regulação do sistema de coagulação sanguíneo, atuando como um anticoagulante natural. (MOSNIER; ZLOKOVIC; GRIFFIN, 2007; DAHLBÄCK; VILLOUTREIX, 2005). É sintetizada nos hepatócitos e circula no plasma em concentrações muito baixas. Sua ativação ocorre sobre a superfícies de células endoteliais pela trombina que está vinculada a trombomodulina, sendo estimulado pela presença de EPCR dando origem a PCa, cuja meia vida na circulação é relativamente longa (aproximadamente 20 minutos), sugerindo sua vinculação à anticoagulação sistêmica. A PCa possui sua atividade aumentada por alguns cofatores, como a PS, sendo responsável pela clivagem de sítios ativos de fatores pró coagulantes, os fatores Va e VIIIa, inativando-os. Pacientes com deficiência de PC possuem uma capacidade diminuída para regular a propagação e geração de trombina, fator V e fator VIII, após a ativação da PC pela pequena quantidade de trombina gerada no início da coagulação (GOLDENBERG; MANCO-JHONSON, 2008).

A PCa também possui funções na regulação da inflamação. Durante a sepse a sinalização inflamatórias pela interleucina-1 (IL-1) e pelo fator de necrose tumoral medeiam a resposta inflamatória sistêmica, esta resposta diminui a síntese de proteínas regulatórias, (AT, PS e PC), e aumenta a síntese de proteínas pró trombóticas, tais como o fator VIII, fator von Willebrand e fibrinogênio (MOSNIER ZLOKOVIC; GRIFFIN., 2007). Cobas et al., 2003, demonstraram a influencia da PCa na fisiopatologia da sepse infundindo PCa recombinante em pacientes com este quadro clínico, descrevendo uma diminuição significativa na mortalidade de adultos com sepse.

Concentrações plasmática de PC são encontradas ligeiramente diminuídas na infância e seus valores normais são atingidos após a puberdade. (PETÄJÄ; MANCO-JHONSHON, 2003).

A deficiência de PC é herdada de forma autossômica dominante e caracteriza-se por uma ausência de inativação dos fatores Va e VIIIa com consequente hipercoagulabilidade (ESMON, 2000). A maioria das mutações genéticas da PC resulta em deficiências do tipo I, no qual os decréscimos nos valores do antígeno da PC e da sua atividade funcional são equivalentes. Deficiências do tipo II possuem valores de atividade da PC inferior aos do

antígeno e representam 15% dos deficientes sintomáticos (BERTINA, 2000). A heterozigoticidade para a deficiência de proteína C existe em 0,3% da população geral e é um risco significativo para trombose venosa. O risco de uma mulher com esta deficiência ter doença tromboembólica durante a sua vida é de 50% (MONGA; DOYLE, 2004; LOCKWOOD, 2002). O risco de trombose durante a gravidez varia entre 10% a 30%. O risco de trombose no puerpério é de 7% a 19%. A deficiência de PC está associada também a um aumento de risco de complicações na gravidez, nomeadamente de morte fetal *in útero* e de pré-eclâmpsia (MONGA; DOYLE, 2004; LOCKWOOD, 2002).

A deficiência de PC pode ser adquirida e é causada pelo aumento do consumo da PC, como em infecções graves e TEV aguda, ou pela diminuição de sua síntese, como na administração de antagonistas da vitamina K e disfunção hepática grave (GOLDENBERG; MANCO-JHONSON, 2008).

O diagnóstico de deficiência de PC é normalmente realizado por ensaios funcionais, como ensaios cromogênicos que utilizam a ativação da PC pelo veneno de serpente e os enzimaímuno ensaio (ELISA). Devido à ocorrência de deficiência adquirida, é sugerido que seja feita uma nova dosagem para excluir uma deficiência transitória (MACKIE; COOPER; KITCHEN, 2007).

Em caso de suspeita de deficiência homozigótica, recomenda-se testar pais e/ou avós. A análise genética da PC é um teste de difícil acesso, visto que está disponível em poucos laboratórios. (GOLDENBERG; MANCO-JHONSON, 2008).

2.3.1.2 Deficiência de proteína S

A proteína S (PS) é uma proteína dependente de vitamina K e possui um importante papel no sistema de coagulação natural, aumentando a velocidade de inativação, mediado pela PCa, do fator Va e fator VIIIa. É sintetizada principalmente nos hepatócitos, mas também nos megacariócitos, osteoblastos, células de Leydig e músculo liso vascular. Circula no plasma em uma concentração de 20-25 mg/l, de duas formas. Cerca de 60% esta ligada de forma não covalente pela cadeia β da proteína C4b (C4BP) do sistema complemento,

enquanto os 40% restantes está na forma livre. Apenas a fração livre possui afinidade para ligação com a PCa (DAHLBACK, 2007).

Os níveis de PS são influenciados pelo sexo, onde as mulheres possuem níveis mais baixos que os homens, e pela idade, os níveis de PS aumentam com a idade nas mulheres, devido a influência do estado hormonal. São mais baixos antes da menopausa, durante a terapia com contraceptivos orais ou quando submetidos à reposição hormonal e durante a gestação. Em neonatos e lactentes até um ano de idade os níveis são 30-40% mais baixos quando comparados a adultos normais (LIBERTI; BERTINA; ROSENDAAL, 1999).

A deficiência de PS pode ser hereditária ou adquirida. A deficiência hereditária é transmitida de forma autossômica dominante e está associada à ocorrência de TEV (GANDRILE et al., 2000). A prevalência estimada na população geral em torno de 0,08% (MONGA; DOYLE, 2004). Embora seja incomum, encontrou-se 2% de deficiência de PS em pacientes não selecionados (LANE et al., 1996a) e 1 a 13% em pacientes com TEV (SELIGSOHN; LUBETSKY, 2001).

Quando adquirida é devido à terapia com antagonistas da vitamina K, contraceptivos orais e vários transtornos como doenças hepáticas, síndrome nefrótica, coagulação intravascular disseminada e infecções (HIV). (DAHLBACK, 2007; REZENDE; SIMMONDS; LANE, 2004; DE FRUTOS et al., 2007).

Verifica-se uma progressiva diminuição da atividade da PS durante a gestação, considerando deste modo uma deficiência adquirida de PS (ADACHI, 2005; PAIDAS et al., 2005). Observou-se que os níveis de C4BP aumentam durante a gestação, concluindo assim, que este aumento pode contribuir para a diminuição da atividade de PS (HOJO et al., 2008; LOCKWOOD, 2002). Gestantes afetadas pela deficiência de PS possuem risco de 10 a 30% de desenvolver pelo menos um episódio trombótico durante a gestação (MONGA; DOYLE, 2004) e observou-se que estas possuem um risco maior para ocorrência de perda fetal tardia (SELIGSOHN; LUBETSKY, 2001).

A Sociedade Internacional de Trombose e Hemostasia (The Internacional Society for Thrombosis and Haemostasis) – subcomissão de padronização, definiu três tipos de deficiência hereditária de PS baseados em sua concentração plasmática total e livre e na atividade da PCa. A deficiência tipo I é identificada por baixos níveis de PS livre e total e diminuição da atividade do PCa, a tipo II é caracterizada por níveis normais de PS total e livre e baixos níveis na atividade do PCa, enquanto na deficiência tipo III verifica-se diminuição

dos níveis de PS total e livre e uma elevação na fração de PS ligada ao C4BP (GANDRILE et al., 2000).

A PS possui dois genes, um dos quais está ativo (PROS1 ou PSA) e o segundo é um pseudogene inativo (PROS2 ou PSB). Ambos estão localizados no cromossomo 3. Existem quase 200 mutações diferentes no gene PROS1, essas mutações resultam na perda da função da PS. Defeitos genéticos neste gene foram identificados como causa de deficiências do tipo I e II. Mutações que causam o tipo II ou III estão normalmente localizadas no fator de crescimento epidérmico (EGF) e são mutações missenses (TEM KATE; VAN DER MEER, 2008).

O diagnóstico da deficiência hereditária de PS é notavelmente difícil, devido à sobreposição dos níveis de PS em portadores e não portadores de mutações e variações em níveis relacionados à idade, sexo e condições adquiridas do indivíduo. Para evitar falso-positivo, deve-se realizar o exame após o término da terapia com estrogênio ou antagonista da vitamina K. Se necessário prolongar a terapia anticoagulante, recomenda-se o uso de heparina de baixo peso molecular por 2 a 4 semanas antes da colheita da amostra. Resultados positivos devem ser confirmados por novo exame, com nova amostra de sangue. Em gestantes os resultados positivos devem ser confirmados após o puerpério (TEM KATE; VAN DER MEER, 2008).

Destaca-se dois tipos de ensaios para a determinação dos níveis de PS. Enzimaimuno ensaio (ELISA) para a determinação de PS total e livre e testes para medir a atividade da PCa (GOODWIN et al., 2002).

Em 1996, a Sociedade Internacional de Trombose e Hemostasia e a Organização Mundial de Saúde (OMS) recomendaram que a dosagem de PS livre seria melhor para o diagnóstico da deficiência de PS (LANE et al., 1996a; LANE et al., 1996b). A atividade da PCa pode ser mensurada em ensaios baseados no tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA) e tempo de protrombina (TP), com modificações (GOODWIN et al., 2002). Há relatos de que estes ensaios possuem elevada taxa de falso-positivo devido a presença de resistência à PCa, fator V Leiden (FVL) e altas concentrações de protrombina, fator VIII e VIIa. A presença de anticoagulante lúpico (AL) também pode interferir, mas este pode ser minimizado pela diluição do plasma do paciente (TEM KATE; VAN DER MEER, 2008).

A técnica mais utilizada para a detecção em mutações dos genes PROS1 é a reação em cadeia da polimerase (PCR) seguida de avaliação do polimorfismo conformacional Single-

Strand ou, desnaturação do gradiente por eletroforese em gel com análise do ácido desoxirribonucleico (DNA) e sequenciamento direto do DNA (DE FRUTOS et al., 2007).

2.3.1.3 Deficiência de antitrombina

A antitrombina (AT) é um inibidor de serino proteases que inativa fisiologicamente a trombina (fator II ativado) e o fator Xa, e em menor quantidade inativa os fatores IXa, XIa, XIIa. É uma α_2 -globulina sintetizada predominantemente no fígado, possuindo meia vida de cerca de 2,4 dias e duas isoformas circulantes, a isoforma α , que corresponde a cerca de 90-95% da AT circulante e a isoforma β que corresponde a 5-10% da AT circulante, esta possui uma maior afinidade pela heparina (PATNAIK; MOLL, 2008).

A AT circulante possui baixa atividade inibitória, porém seus efeitos são acelerados na presença de heparina e glicosaminoglicanas semelhantes à heparina, como o heparan-sulfato, sua interação com essas moléculas produz mudanças conformacionais na molécula e aceleram a inibição do fator Xa. Além do seu papel anticoagulante também verificou-se que a AT possui efeito anti-inflamatório, onde a inibição de trombina e fator Xa e sua consequente redução, faz com que ocorra a liberação de citocinas, tais como a interleucina 6 e 8. Devido à ligação da AT ao heparan-sulfato presente no endotélio, há um aumento importante de citocinas e prostaciclina que iram desencadear o relaxamento da musculatura vascular e a inibição da agregação plaquetária (PATNAIK; MOLL, 2008).

A deficiência de AT é um transtorno dominante e autossômico raro, onde a maioria dos casos são heterozigotos. A deficiência homozigótica é rara e quase sempre fatal *in útero*. As taxas de prevalência na população geral são controversas variando de 1/500 a 1/5000 (TAIT et al., 1994; WELLS et al., 1994). Tal controvérsia é devido ao fato de vários estudos não repetirem as dosagens séricas de AT em indivíduos cuja atividade de AT está reduzida.

A deficiência hereditária de AT é dividida em deficiência do tipo I, no qual tanto os níveis de atividade funcional e antigênica estão reduzidos - deficiência quantitativa - e deficiência do tipo II, onde se verifica níveis normais de antígeno associados à baixa atividade devido a uma molécula disfuncional de AT - deficiência qualitativa (LANE et al., 1997). As causas de deficiência adquirida de AT são devido à diminuição de sua síntese, como em casos

de doenças hepática, por excreção aumentada, em casos de síndrome nefrótica, por aumento do consumo e inativação, como na sepse com coagulação intravascular disseminada e metástase tumoral e devido a indução da deficiência por drogas, como durante a terapia com heparina (MACLEAN; TAIT, 2007).

Manifestações tromboembólicas estão significativamente aumentadas em pacientes com deficiência de AT, sendo das trombofilias hereditárias a que possui maior risco para TEV, sendo incomum para durante as primeiras duas décadas de vida (CROWTHER; KELTON, 2003; BUCCIARELLI et al., 1999; MARTINELLI et al., 1998), possivelmente devido ao elevado nível de outros anticoagulantes naturais. O risco aumenta em torno dos 20 aos 50 anos, aproximadamente 50% dos indivíduos que possuem deficiência de AT terá tido pelo menos um episódio de TEV (CROWTHER; KELTON, 2003; BUCCIARELLI et al., 1999; MARTINELLI et al., 1998). O risco de TEV durante a gestação em pacientes com deficiência de AT é elevado quando não se realiza nenhuma profilaxia (ROBERTSON et al., 2006; VICENTE et al., 1994). O risco de trombose entre as mulheres afetadas é de 60% durante a gravidez e de 33% no puerpério. Na gravidez ocorre um aumento de risco tromboembólico de 50 a 250 vezes. Nas grávidas com esta deficiência o risco de morte fetal *in útero* é também elevado (LOCKWOOD et al 2002; BICK et al., 2003). Em mulheres que não possuem nenhum episódio de TEV, 31% irão desenvolver durante a gestação, já em pacientes que possuem pelo menos um episódio de TEV, 49% o desenvolvem novamente (VICENTE et al., 1994), sendo mais da metade dos episódios ocorridos no puerpério.

O risco de perda fetal é ligeiramente aumentado, dados retrospectivos com 260 gestações em 108 mulheres com deficiência de AT mostra que 19,2% das gestações em mulheres com deficiência de AT tiveram perda fetal, em comparação aos 12,2% das mulheres sem trombofilias (PRESTON et al., 1996). A perda fetal ocorreu após 28 semanas em 2,3% das mulheres com deficiência de AT e em 0,6% das gestantes sem trombofilias e antes de 28 semanas em 16,9% das gestantes com deficiência e 11,6% das gestantes sem trombofilias (PRESTON et al., 1996). Atualmente os dados são insuficientes para concluir se há associação entre deficiência de AT e a ocorrência de RCIU, DPP, pré-eclâmpsia e eclâmpsia.

O teste adequado para avaliação da presença de deficiência de AT é um ensaio funcional (KOTTKE-MARCHANT; DUNCAN, 2002; WALKER et al., 1999), não sendo necessário a realização de ensaio antigênico no caso da atividade de AT ser normal, pois níveis normais de AT não excluem a deficiência do tipo II. Os testes para deficiência de AT

não devem ser feitos durante quadros de trombose aguda e durante o tratamento com heparina. Em pacientes que fazem uso de antagonistas da vitamina K, os níveis de AT podem estar aumentados e uma deficiência pode ser mascarada. As causas da deficiência adquirida devem ser excluídas antes de um diagnóstico de deficiência hereditária. Quando o ensaio funcional esta alterado, o ensaio antigênico será útil para diferenciar entre as deficiências do tipo I e tipo II (PATNAIK; MOLL, 2008).

2.3.1.4 Hiperhomocisteinemia

A homocisteína é um aminoácido essencial necessário para a formação de células e tecidos. É proveniente da metionina, sendo esta um aminoácido essencial contendo enxofre, proveniente de proteínas de origem animal (DE LA CALLE et al., 2003). A circulação elevada de homocisteína é um fator de risco para doença vascular periférica e doença arterial coronariana (GRAHAM et al., 1997; MAYER et al., 1996). A concentração normal da homocisteína plasmática está entre 5.0 e 15.0 $\mu\text{mol/l}$ (KANG; WONG; MALINOW, 1992).

O metabolismo da homocisteína está representado na figura 2.7. A metionina é transformada em homocisteína através de duas reações sucessivas, que envolvem o S-adenosil L-metionina e o S-adenosilhomocisteína. A homocisteína por sua vez, utiliza duas vias de biotransformação: transsulfuração e remetilação. Na transsulfuração a homocisteína é transformada em cisteína através de reações que envolvem a cistationina β -sintetase (C β S) e a vitamina B6 como co-fator. A natureza unidirecional desta reação explica a incapacidade da cisteína de servir como precursor da homocisteína e da metionina. Na remetilação ocorre a presença da metionina sintetase (MS), enzima que utiliza a vitamina B12 (cobalamina) como co-fator e 5-metilenotetrahidrofolato como substrato. A enzima metilenotetrahidrofolato redutase (MTHFR) é a responsável pela conversão do 5,10-metilenotetrahidrofolato em 5-metilenotetrahidrofolato, tal enzima possui influência indireta sobre a remetilação da homocisteína em metionina, e que utiliza o ácido fólico como cofator. A remetilação possui ainda um segundo mecanismo onde há a presença da enzima homocisteína metiltransferase que possui betaína como co-fator (DE LA CALLE et al., 2003).

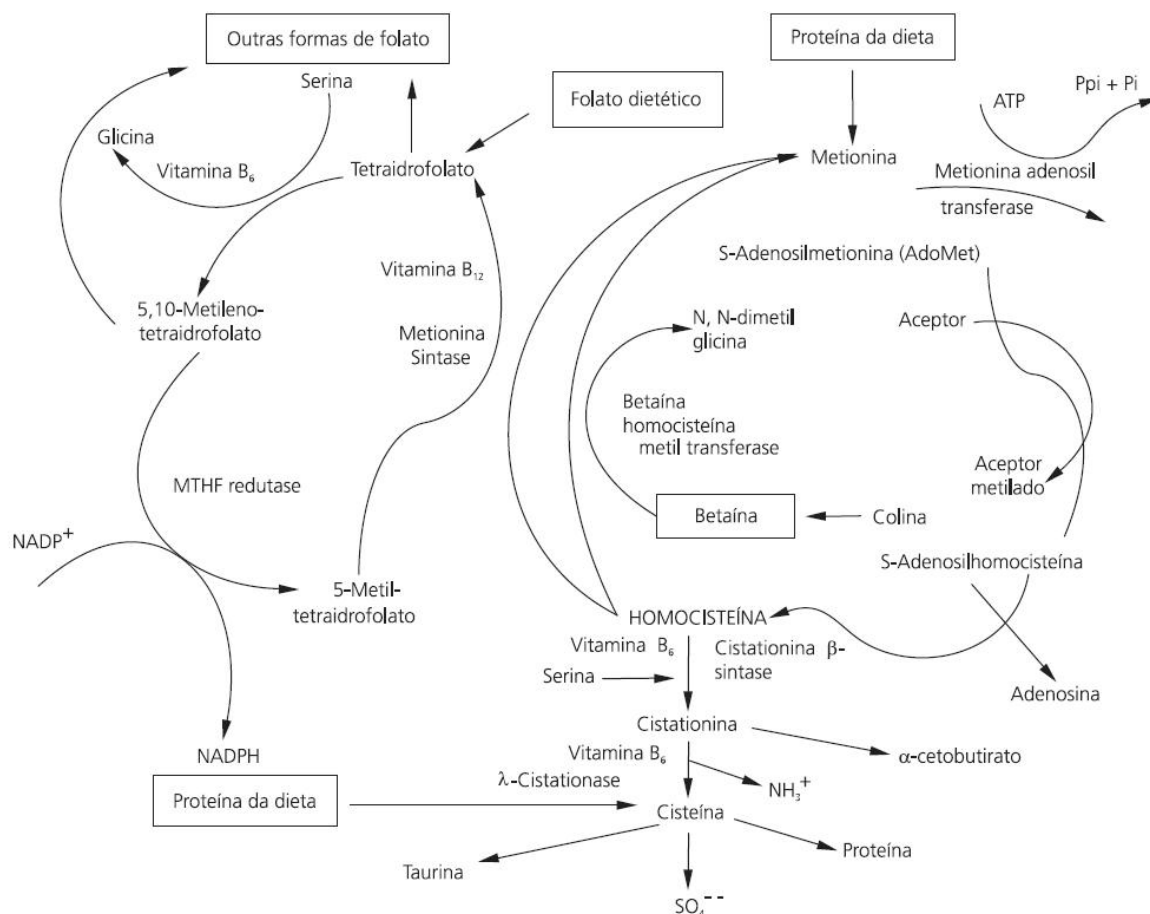


Figura 2.7 – Metabolismo da homocisteína

Uehara SK, Baluz K, Rosa G. Possíveis mecanismos trombogênicos da hiper-homocisteinemia e o seu tratamento nutricional. Rev Nutr Campinas. 2005; 18(6):743-51.

Fisiologicamente a 5,10-metilenotetraidrofolato redutase (MTHFR) catalisa a conversão de 5-10-metilenotetraidrofolato a 5-metilenotetraidrofolato. A atividade do MTHFR requer quantidades adequadas de nicotinamida adenina dinucleotídio-P (NADPH) e flavina adenina dinucleotídio (FADH2), para a manutenção de níveis adequados de 5-metilenotetraidrofolato na célula. Se a atividade do MTHFR estiver baixa, os níveis intracelulares de 5-metilenotetraidrofolato diminuem e a conversão de homocisteína em metionina também é afetada. A deficiência de metionina resulta na carência de grupos metila, os quais são necessários para a reação de metilação, com a qual ocorre a síntese de DNA, carnitina, creatina, epinefrina, purinas e nicotinamida. Assim quando a formação do 5-metilenotetraidrofolato está comprometida, ocorre uma diminuição da capacidade do

organismo sintetizar produtos metilados e remover a homocisteína do organismo (CARDONA et al., 2008).

A hiperhomocisteinemia pode ser causada devido a defeitos genéticos metabólicos onde ocorre uma falha no metabolismo da homocisteína. A mais frequente é o defeito hereditário de CBS responsável pela causa da homocistinúria clássica, a mutação genética é do tipo recessiva autossômica. Mutação na enzima MTHFR, que leva a formação de uma variante termolábil também causa hiperhomocisteinemia. A deficiência na ingestão de micronutrientes essenciais também pode provocar a diminuição do metabolismo da homocisteína, levando a hiperhomocisteinemia. Considerando que a vitamina B6 (piridoxina) faz parte do processo de transsulfuração e a vitamina B12 (cobalamina) e o ácido fólico participam do processo de remetilação, a deficiência na ingestão destas vitaminas leva ao aumento dos níveis séricos de homocisteína. Com relação às drogas, sabe-se que o ácido fólico está diminuído durante terapia com metotrexato e anticonvulsivantes (fenitoína e carbamazepina); a vitamina B12, com uso de anestésico (óxido nitroso), e a vitamina B6, com a teofilina (DE LA CALLE et al., 2003).

Os níveis de homocisteína são geralmente mais baixos durante a gravidez, quer devido a uma resposta fisiológica da gravidez com aumento de estrogênio e hemodiluição; ou, o aumento da procura de metionina tanto pela mãe quanto pelo feto (LÓPEZ-QUESADA et al., 2000). Níveis elevados de homocisteína plasmática durante a gestação são frequentemente associados ao aumento da incidência de abortos espontâneos, RCIU, infartos placentários, defeitos do tubo neural e pré-eclâmpsia (AUBARD et al., 2002; NELEN et al., 2000; POWER et al., 1998).

Poucos estudos têm calculados os valores normais durante a gravidez. Khong; Hague, em 1999, estudando mulheres australianas com 28 semanas de gestação concluíram que os valores acima 10,9 $\mu\text{mol/l}$ foram sugestivos de hiperhomocisteinemia. Bonnette et al., 1998, determinaram que as concentrações foram 60% mais baixas durante o primeiro trimestre em comparação a não-gestantes controles, independentemente da ingestão de folatos. Em 2006, Milman et al., verificaram que a homocisteína tende a ter seus valores aumentados com a evolução da gestação, onde o valor encontrado no primeiro trimestre foi de 6.4 $\mu\text{mol/l}$, no terceiro trimestre os valores eram em torno de 7.0 $\mu\text{mol/l}$ e oito semanas pós parto foi de 10.8 $\mu\text{mol/l}$. Walker et al., (1999) concluíram que concentrações séricas foram significativamente mais baixas durante os 9 meses de gestação, onde os menores níveis foram

encontrados no segundo trimestre. Eles também encontraram uma correlação direta entre os níveis de homocisteína e os de albumina, que também são reduzidos durante a gravidez. Em 2008, a pesquisa conduzida por Idzior-Walum et al., (2008) mostrou que o nível de homocisteína plasmática em gestantes normais foi de 8.0 $\mu\text{mol/l}$. O bom desenvolvimento fetal exige elevados níveis de metionina, os aminoácidos precursores do S-adenosil L-metionina, o principal doador de grupos metil na transmetilação e na bio transformação de ácido ribonucleico (RNA) e DNA (PICCIANO, 2000; STEEGER-THEUNISSEN et al., 1997).

2.3.1.5 Fator V Leiden

O fator V é uma proteína plasmática formada por 2.196 aminoácidos, precursor do fator Va (fator V ativado) essencial para a síntese da trombina, responsável pela ativação da coagulação (DAHKBÄCK, 1995). O processo de desativação baseia-se na ligação da trombina e da proteína C à trombomodulina (presente no endotélio) convertendo a PC à PCa. Esta ativação ocorre na presença da PS. O complexo PCA/ PS causa a inativação através da clivagem enzimática dos cofatores Va e VIIa que inibem a atividade do sistema coagulante (VAN COTT et al., 2002).

Até recentemente, na maior parte dos casos de tromboembolismo venoso, não era possível identificar um fator genético envolvido, uma vez que as deficiências hereditárias de anticoagulantes naturais respondem por, no máximo, 15% dos casos de trombofilias. O panorama alterou-se significativamente em 1993, quando descreveu-se o fenótipo conhecido por resistência à proteína C ativada (RPCA), como uma anormalidade altamente prevalente em pacientes com trombofilias hereditárias. (FRANCO, 2001).

Resistência à proteína C ativada (RCPA) hereditária é, em ao menos 95% dos casos, decorrente de uma mutação no fator V da coagulação. Demonstrou-se que o fenótipo da RPCA é obtido através da transição da Guanina (G) por Adenina (A) na posição 1691 do gene que codifica o fator V, resultando na substituição de Glutamina (Q) por Arginina (R) na posição do aminoácido 506 - que constitui sítio de clivagem da PC ativada na molécula do

fator V. O fator V mutante - conhecido como fator V Leiden (FVL) - é resistente à neutralização mediada pela PCa, resultando no fenótipo de RPCA (DUARTE et al., 2002).

Estudos mostram que a prevalência desta mutação dependerá da etnia da população estudada. A taxa da mutação dentro da população européia é de 5%, nos Estados Unidos é de 6% e praticamente ausente entre os africanos e asiáticos (CARVALHO et al., 2005). A prevalência em afro-americanos é encontrada em cerca de 1% (DE STEFANO et al., 1998). No Brasil, a mutação está presente em cerca de 2% da população (ARRUDA et al., 1995). Pacientes portadores de doenças trombóticas, o FVL é responsável por 20% dos casos (ROBETORYE; RODGERS, 2001). Pacientes heterozigotos possuem risco aumentado em cinco a dez vezes maiores de apresentarem processos tromboembólicos, podendo resultar em 50 vezes mais chances de desenvolver tromboembolismo durante a gestação. Em pacientes homozigotos o risco se eleva em até 100 vezes para o desenvolvimento de complicações obstétricas (LOCKWOOD, 2001).

A prevalência de RPCA é de aproximadamente 60% em mulheres com os eventos tromboembólicos que ocorrem durante a gravidez, enquanto o número correspondente nos indivíduos com uma história de tromboes que ocorre durante o uso de contraceptivos orais era em torno de 30% (HELLGREN et al., 1995).

Ainda é incerto se existe aumento das perdas fetais em pacientes com mutação do FVL. Há controvérsias segundo os autores sobre o risco de abortamento recorrente nessas pacientes. Em estudo conduzido por Dudding; Attia, (2004) relataram que o FVL está associado a perdas fetais tardias e Rey et al., (2003) encontraram associação entre a presença de FVL e ao óbito fetal recorrente. Krabbendam et al., (2005) afirmam que o FVL pode desempenhar um papel nas perdas de segundo trimestre, porém acrescenta que são necessários estudos prospectivos para melhor esclarecer a relação entre essa trombofilia e perdas recorrentes. Em 2005, Dizon-Townson et al., estudaram mulheres primigestas e sem histórico de tromboembolismo, identificaram as portadoras da mutação e realizou avaliação desta sobre o binômio materno-fetal, a presença da referida mutação não esteve associada ao aumento de perdas gestacionais e em 2005 Van Dunne et al., em seu estudo parearam pacientes com um evento trombotico, sendo 115 pacientes portadoras do FVL e 230 não portadoras, não foram encontradas diferenças nas taxas de perdas gestacionais de primeiro trimestre dessas pacientes.

2.3.2 Trombofilias adquiridas

2.3.2.1 Síndrome do anticorpo antifosfolípide

Os anticorpos antifosfolípides (AAF) compreendem um grupo altamente polimórfico de autoanticorpos. Os alvos destes anticorpos são fosfolípides e cofatores fosfolipídicos de membranas celulares, principalmente as de plaquetas e de células endoteliais. Os AAF clássicos, anticorpos anticardiolipina (aCL) e anticoagulante lúpico (AL), estão associados a infecções, neoplasias, uso de drogas e a uma diátese trombótica conhecida como síndrome do anticorpo antifosfolípide (SAAF) (FAGUNDES et al., 2005).

Historicamente, o primeiro anticorpo antifosfolípide detectado era a reação falso-positiva de Wassermann, encontrado principalmente em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico (LES). O anticoagulante lúpico foi descrito primeiramente nos anos 50 devido ao prolongamento em exames de coagulação. Alguns anos mais tarde, o anticoagulante lúpico foi encontrado associado com o teste falso-positivo para sífilis e (paradoxalmente) trombozes. O componente antigênico da reação de Wassermann era a cardiolipina, um fosfolípide encontrado nas membranas mitocondriais (BRANCH;KHAMASHTA, 2003).

A SAAF está caracterizada por manifestações clínicas e laboratoriais, é considerada, como a mais comum das diáteses trombóticas adquiridas do adulto jovem (FAGUNDES et al., 2005). Os anticorpos predominantes estão dirigidos contra proteínas que se ligam a fosfolípides aniônicos, como a β 2-glicoproteína I (β 2-GPI), e a protrombina, esta é uma pró-enzima que após a sua clivagem pela protrombinase leva a geração de trombina. O β 2-GPI é uma proteína composta de cinco domínios, os quais vão do I ao V, cujo domínio V é o responsável pela vinculação ao fosfolípide aniônico. *In vivo* a função da β 2-GPI não é bem conhecida, porém, *in vitro* sabe-se que esta proteína interage com diversos tipos de células e receptores. Antígenos diferentes da β 2-GPI e da protrombina foram encontrados em pacientes com SAAF, entre eles estão o t-PA, plasmina, anexina A2 e trombina (GIANNAKOPOULOS et al., 2009).

Estudo com 59 gestantes divididas em dois grupos, o primeiro constituído de gestantes com diagnóstico de SAAF, e o segundo grupo por gestantes com quadro clínico semelhante,

porém positivas para a presença de anticorpo anti β 2-GPI. Não verificou diferenças entre os dois grupos, sendo que as complicações obstétricas e os nascimentos foram semelhantes em ambos os grupos. Deste modo pode-se concluir que a presença de anticorpo anti β 2-GPI é um marcador eficaz para o diagnóstico de SAAF (ALIJOTAS-REIG et al., 2008).

O consenso internacional de critérios preliminares para o diagnóstico da SAAF (Sapporo) foi restabelecido em 2005, durante um workshop que precedeu o 11º Congresso Internacional de Síndrome do Anticorpo Antifosfolípide em Sydney/Austrália, apresentando um critério simples para o diagnóstico da síndrome. Os critérios estabelecidos pelo consenso estão explicitados na Figura 2.8. A paciente com SAF deve manifestar pelo menos um de dois critérios clínicos (trombose vascular ou morbidade gestacional) e pelo menos um de três critérios laboratoriais (anticoagulante lúpico positivo, títulos de anticorpos anti- β 2GP-I com isotipos de imunoglobulina G ou M (IgG ou IgM) e médios a altos títulos de anticorpos anticardiolipina com isotipos de imunoglobulina G ou M (IgG ou IgM) confirmados em duas ocasiões com pelo menos 12 semanas de intervalo entre as titulações (MIYAKIS et al., 2006).

Critérios clínicos: (necessário pelo menos um critério)

1. Trombose vascular
 - Um ou mais episódios de trombose arterial, venosa ou de pequenos vasos, em qualquer tecido ou órgão, confirmado por estudo Doppler ou histopatológico (exceto para trombose venosa superficial). Para a confirmação histológica, deve haver trombose, sem evidência na parede vascular.
2. Morbidade gestacional
 - Um ou mais óbitos inexplicados de feto morfologicamente normal, após a 10ª semana de gestação. A morfologia fetal normal deve ser demonstrada por exame ultra-sonográfico ou exame direto, ou
 - Um ou mais partos pré-termo de neonatos morfologicamente normais, antes da 34ª semana de gestação, devido a pré-eclâmpsia ou eclâmpsia ou grave insuficiência placentária, ou
 - Três ou mais abortos espontâneos, consecutivos, antes da 10ª semana de gestação, após exclusão de anormalidades anatômicas ou hormonais, e de causas cromossômicas parentais.

Critérios laboratoriais: (necessário pelo menos um critério)

1. Anticorpo anticardiolipina (aCL) tipo IgG ou IgM presentes em moderados ou altos títulos no plasma, em duas ou mais ocasiões com intervalo mínimo de 12 semanas, mensurado pela técnica de ELISA.
 2. Anticoagulante lúpico (LA) presente no plasma em duas ou mais ocasiões com intervalo mínimo de 12 semanas, detectado de acordo com a padronização da Sociedade Internacional de Trombose e Hemostasia.
 3. Anticorpo anti- β 2-glicoproteína I tipo IgM ou IgG presente em duas ou mais ocasiões com intervalo mínimo de 12 semanas, mensurado pela técnica de ELISA.
-

Figura 2.8 – Critérios redefinidos para o diagnóstico da síndrome do anticorpo antifosfolípide (SAAF).

A SAAF pode ser classificada como sendo primária, ou seja, os anticorpos antifosfolípides de membrana surgem sem nenhuma doença associada, e secundária quando associada à outra patologia previamente existente, sendo a principal patologia associada com SAAF o lúpus eritematoso sistêmico (LES). (FAGUNDES et al., 2005; FREITAS et al., 2003).

Os problemas clínicos relacionados à SAAF são principalmente trombozes venosas ou arteriais, sendo que 2% dos pacientes com trombose venosa inexplicada possuem anticorpo antifosfolípide. Embolia arterial, ataque isquêmico transitório, embolia pulmonar, trombocitopenia autoimune e anemia hemolítica também estão relacionadas à SAAF. Entre

as complicações obstétricas destacam-se perdas fetais recorrentes, morte fetal inexplicada no segundo e terceiro trimestres, pré-eclâmpsia, RCIU, insuficiência placentária e partos pré-termo (FIGUEIRÓ-FILHO et al., 2005; BEREK 2005).

O AAF pode ser do tipo IgG quando relacionado à trombose venosa recorrente, ou do tipo IgM quando relacionada a abortamentos recorrentes e trombose arterial recorrente. O AL está relacionado à trombose arterial recorrente (BEREK 2005).

A prevalência de AAF em pacientes com LES é de 40%, sendo o AL encontrado em maior proporção (30% dos casos). Dentre as portadoras de AAF, 30 a 40% possuem manifestações clínicas, sendo que 10 a 15% das gestantes lúpicas são portadoras de SAAF (FIGUEIRÓ-FILHO et al., 2005).

A incidência de aCL na população obstétrica geral é de 1 a 5% (BAXI; PEARLSTONE, 1991; PIURA et al., 1991) e varia de 20% a 40% em pacientes com histórico obstétrico ruim (PIURA et al., 1991; BALASH et al., 1990).

No Estado da Bahia, entre os portadores de LES encontra-se maior prevalência de anticorpos antifosfolípidos em mulatos que entre brancos e negros (TRAVASSOS et al., 2000). Pode-se concluir que a prevalência desses anticorpos difere nas populações estudadas em decorrência de diversos fatores, entre eles o fator racial.

A perda fetal é associada à presença de AAF, onde este inibe a secreção de gonadotrofina coriônica, afetando o desenvolvimento embrionário. Além disso, interfere com a proteína placentária anticoagulante (PAP) – um anticoagulante natural, que se liga com alta afinidade aos fosfolípidos aniônicos. O AAF inibe competitivamente a PAP, assim, altos títulos de anticorpo anticardiolipina podem levar à trombose placentária e à perda fetal. Anticorpos contra fosfolípidos poderiam aumentar a síntese de tromboxano e reduzir a síntese de prostaciclina nos vasos placentários. Este ambiente protrombótico poderia promover constrição vascular, adesão plaquetária e infarto placentário. (BEREK 2005; LOUZADA JR. et al., 1998).

Células sinciciotrofoblásticas e do citotrofoblasto extraviloso sintetizam $\beta 2$ -GPI, cofator essencial para a ligação de anticorpos antifosfolípidos ao fosfolípido. Esta funcionaria como um anticoagulante natural, inibindo a fase de contato da coagulação (formação do complexo protrombinase), prevenindo a formação de trombina na presença de grânulos plaquetários ou plaquetas ativadas, interferindo na agregação plaquetária, induzida pela

adenina difosfato (ADP). Assim a ligação de anticorpos antifosfolípides com a β 2-GPI pode induzir uma diátese protrombótica (BEREK, 2005; LOUZADA JR. et al., 1998).

As células endoteliais *in vivo* são potencialmente ativadas por AAF, gerando a expressão de adesinas, síntese de citocinas e produção de metabólitos do ácido araquidônico, esta ativação do endotélio predispõe à ocorrência de acidentes trombóticos, entre eles infarto placentário e consequente morte fetal (FAGUNDES et al., 2005). Arakawa et al., (1999) demonstraram que *in vivo* os aCL têm efeito supressivo sobre cultura de células endoteliais de cordão umbilical. Em 2001, Vinatier et al., relataram que o AAF poderia ativar o sistema complemento e que intensificaria o dano placentário documentado em pacientes com SAAF.

De acordo com Rai et al., (1995a), em casuística com 500 mulheres com abortamentos recorrentes, as frequências de AL, aCL IgG e aCL IgM foram de, respectivamente, 9,6%, 3,3% e 2,2%. Entretanto, não mais do que 1,4% das pacientes tiveram AL e aCL positivos paralelamente. A positividade no re-teste após 8 semanas foi de dois terços para AL e não mais do que um terço para aCL.

Este mesmo grupo de pesquisadores, em estudo subsequente, avaliou a evolução gestacional de 20 pacientes com presença de AAF e histórico de abortamento, os dados foram comparados com gestantes negativas para a presença de AAF e com histórico de abortamentos. Entre as gestantes selecionadas (que não seguiram o protocolo padrão de SAAF gestacional) 90% evoluíram para perda gestacional, em particular durante o primeiro trimestre (RAI et al., 1995b).

No estado da Bahia observou-se que a prevalência de AAF na população obstétrica foi de 17% enquanto que em pacientes com perdas gestacionais foi de 28%. Verificou-se ainda, que pacientes portadoras de aCL IgG possuem duas vezes mais chances de ter perdas gestacionais que a população obstétrica em geral (COSTA et al., 2005).

Estudo histopatológico em placentas de mulheres com abortos recorrentes mostrou que as lesões encontradas (infartos placentários, DPP e hemorragias) não são encontradas com frequência em mulheres com AAF; e, essas mesmas lesões são observadas em mulheres com abortamento recorrente sem evidências laboratoriais desta classe de anticorpo. Assim, as evidências patológicas da etiologia da SAAF são ainda questionáveis (SEBIRE et al., 2003).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- a. Verificar a associação entre a presença de trombofilias adquiridas e hereditárias e a ocorrência de abortamentos recorrentes, perdas fetais em gestantes de alto risco;

3.2 Objetivos específicos

- b. Verificar a frequência de anticorpos anticardiolipina IgM e IgG, anticoagulante lúpico e anticorpos anti – β 2 glicoproteína I em gestantes com histórico de abortamentos recorrentes, perdas fetais e outras complicações obstétricas;
- c. Verificar a frequência de deficiência de proteína C, deficiência de proteína S, deficiência de antitrombina, hiperhomocisteinemia e mutações no fator V Leiden em gestantes com histórico de abortamentos recorrentes, perdas fetais e outras complicações obstétricas;

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Seleção da amostra

Desenvolveu-se estudo observacional transversal com grupo de comparação durante o período de maio de 2007 a maio de 2009, no Ambulatório de Gestação de Alto Risco do Hospital Universitário (HU) da Faculdade de Medicina Dr. Hélio Mandeta da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (FAMED-UFMS), envolvendo dois grupos de gestantes: Grupo aborto (AB) e Grupo de comparação (CO).

4.1.1 Critérios de inclusão para o Grupo AB

- Presença de abortamentos de repetição;
- Histórico prévio de perdas fetais;
- Aceite e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

4.1.2 Critérios de exclusão para o Grupo AB:

- Possuir idade inferior a 18 anos e os responsáveis legais não autorizarem sua participação;
- Não preencher os critérios de inclusão;
- Ser de origem indígena;
- Ser portadora de lúpus eritematoso sistêmico (LES) e possuir histórico de abortamentos recorrentes ou perdas gestacionais;
- Possuir histórico de abortamentos recorrentes ou perdas fetais em gestações com desenvolvimento de pré-eclâmpsia e/ou eclâmpsia;

- Não aceitar a participação na pesquisa;

4.1.3 Critérios de inclusão para o Grupo CO:

- Diagnóstico prévio à gestação atual de LES;
- Histórico de pré-eclâmpsia grave e/ou eclâmpsia em gestação anterior;
- Desenvolvimento de pré-eclâmpsia grave em gestação atua;
- Aceite e assinatura do TCLE.

4.1.4 Critérios de exclusão para o Grupo CO:

- Possuir idade inferior a 18 anos e os responsáveis legais não autorizarem sua participação;
- Não preencher os critérios de inclusão;
- Ser de origem indígena;
- Possuir histórico de hipertensão arterial crônica previa à gestação;
- Não aceitar a participação na pesquisa.

4.1.5 Considerações éticas

Todas as pacientes foram informadas sobre os objetivos e metodologias do estudo, e admitidas após a assinatura do TCLE (Apêndice A). 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).

4.1.6 Investigação laboratorial

Em ambos os grupos de estudo, foi investigado a presença de trombofilias hereditárias e adquiridas, através da realização de exames, na primeira consulta de pré-natal, após confirmação dos critérios de inclusão e alocação da gestante no grupo correspondente.

Todos os exames foram realizados em laboratório custeado pelo Sistema Único de Saúde (SUS). Considerou-se os valores de referência informado pelo laboratório onde foram realizados os exames.

Os exames para rastreamento de trombofilias hereditárias e presença de anticorpos antifosfolípides solicitados foram:

4.1.6.1 Anticorpos antifosfolípides

- Anticorpo anticardiolipina IgM e IgG (aCL IgM, aCL IgG) realizado através do teste de ELISA;
- Anticoagulante lúpico (AL) realizado através do teste de triagem pelo teste dRWT (tempo do veneno de víbora Russel diluído), e pelo procedimento confirmatório utilizando o dRWT confirmatório;
- Anticorpo anti β 2-glicoproteína I (anti β 2GPI), realizado através do teste de ELISA;

4.1.6.2 Trombofilias hereditárias

- Proteína C (PC), dosada através do método coagulômetro;
- Proteína S (PS), dosada através do método coagulômetro;
- Antitrombina (AT), realizada através da quantificação funcional utilizando substrato cromogênico;
- Dosagem de homocisteína plasmática, através da técnica de quimioluminescência

- Pesquisa de mutação do fator V Leiden pela técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR);

4.2 Variáveis de estudo

4.2.1 Apresentação das variáveis

- Variável dependente: ocorrência de abortos de repetição e/ou perdas fetais, presença de outras complicações obstétricas;
- Variáveis independentes: presença de aCL, presença de AL e presença de anti β 2GPI, 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;

4.2.2 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; Positivo – valor de referência: $> 10\text{U/ml}$.
- 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; Reagente – valor de referência: $> 1,26$.
- Anti- β 2GPI: imunoglobulina que reage contra a β 2-glicoproteína I, um fosfolípide aniônico. Categorias: positivo ou negativo; Positivo – valor de referência: $>15\text{ U/ml}$.

- PC: glicoproteína sintetizada no fígado, dependente de vitamina K, é considerada um anticoagulante natural. Categorias: normal ou deficiente; Deficiente – valor de referência: < 55%
- 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; Deficiente – valor de referência: < 55%
- AT: glicoproteína plasmática com função anticoagulante. Categorias: normal ou deficiente; Deficiente – valor de referência: < 75%
- Hiperhomocisteinemia: presença de dosagens elevadas no plasma do aminoácido essencial homocisteína. Categorias: presente ou ausente; Presente – valor de referência: > 10 $\mu\text{mol/L}$
- Fator V 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 de repetição: investigação clínica 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 feto com peso superior a 500g. Categorias: presente ou ausente.
- Complicações obstétricas: presença de pré-eclâmpsia grave em gestação anterior, anotada em prontuário da paciente com duas ou mais aferições superiores a 140X90 mmHG com intervalo mínimo de quatro horas entre as aferições e proteinúria de 24 horas maior, ou igual a 300 mg e presença de LES diagnosticada previamente à gestação. Categorias: ausente ou presente;
- 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;

4.3 Coleta de dados

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

4.4 Processamento e análise de dados

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

A associação entre o resultado de cada exame e os grupos de estudo (GRUPO AB) e grupo de comparação (GRUPO CO) foi medida pelo *odds ratio* (OR). Teste de qui-quadrado com correção de Yates e exato de Fisher foram utilizados para testar a associação entre a presença de trombofilias e o antecedente de abortamento recorrente e perdas fetais. Em toda a análise estatística, considerou-se significantes os resultados onde os valores de *p* foram inferiores a 0,05.

5 RESULTADOS

Segundo os critérios de inclusão, foram alocadas 100 pacientes no Grupo AB e 80 gestantes no Grupo CO. No grupo AB, a média de idade das gestantes foi de $30,6 \pm 5,5$ anos (19 a 46 anos), e no grupo CO a média de idade das gestantes foi de $29,5 \pm 6,1$ anos (18 a 45 anos). Não houve diferença significativa ($p=0,1933$) entre a média das idades materna das pacientes de ambos os grupos.

Não houve diferença estatística na distribuição da raça/cor entre os dois grupos estudados ($p=0,1416$), sendo 80,0% pacientes brancas no grupo AB e 70,0% no grupo CO.

A média de gestações das pacientes do grupo AB foi de $3,7 \pm 1,4$ gestações, enquanto no grupo CO o número médio foi de $2,4 \pm 1,3$ gestações.

Das pacientes do grupo AB, 21,0% eram secundigestas, 30,0% tinham três gestações, e 49,0% das gestantes possuíam quatro ou mais gestações. No grupo CO, 31,2% eram primigestas, 31,2% eram secundigestas, 16,3% tinham três gestações e 21,3% possuíam quatro ou mais gestações. Quanto aos abortos e perdas fetais, no grupo AB 27,0% das pacientes relataram dois abortos espontâneos, 49,0% possuíam histórico de três ou mais abortamentos de repetição e 45,0% das gestantes pertencentes a esse grupo possuíam perdas fetais. No grupo CO 82,5% das pacientes não possuíam histórico de abortos espontâneos e 18,8% relataram a ocorrência de perdas fetais (Tabela 5.1).

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

	Grupo AB		Grupo CO		<i>p</i>
	n	%	n	%	
Raça/cor					
Branca	80	80,0	56	70,0	0,1416*
Não branca	20	20,0	24	30,0	
Gestações					
1	0	0,0	25	31,2	<0,0001**
2	21	21,0	25	31,2	
3	30	30,0	13	16,3	
4 ou mais	49	49,0	17	21,3	
Abortos					
Nenhum	35	35,0	66	82,5	<0,0001**
1	15	15,0	10	12,5	
2	27	27,0	3	3,8	
3 ou mais	23	23,0	1	1,3	
Perdas fetais					
Nenhum	55	55,0	65	81,2	0,0007**
1	40	40,0	14	17,5	
2	5	5,0	0	0,0	
3 ou mais	0	0,0	1	1,3	
Total	100	100,0	80	100,0	

* Teste exato de Fisher com correção de Yates

** Teste *t* de Student

Dentre as gestantes estudadas 50,0%, (50/100) das pacientes do grupo AB apresentaram a presença de trombofilia hereditária ou anticorpo antifosfolípide de forma isolada, enquanto no grupo CO a presença da forma isolada foi observada em 31,3% (25/80). Em 32,0% (32/100) das gestantes com histórico de abortamentos de repetição e perdas fetais, foi encontrado resultado positivo para a presença de duas ou mais trombofilias ou a presença de anticorpo antifosfolípide. No grupo de gestantes de comparação esse valor foi de 26,3% (21/80).

O AL de forma isolada foi o anticorpo antifosfolípide encontrado com maior frequência, em 12,0% das gestantes do grupo AB, seguido pelo aCL IgM observado em 6,0% dessas gestantes. No grupo de gestantes de comparação o AL de forma isolada esteve presente em 8,7%. Para as trombofilias hereditárias encontrou-se deficiência de PS em 11,0% e 8,7% das gestantes dos grupos AB e CO respectivamente. A deficiência de AT foi a segunda trombofilia hereditária de forma isolada mais frequente, com 8,0% em gestantes com histórico de abortamentos recorrentes e perdas fetais e 6,3% em gestantes do grupo de comparação. A frequência das trombofilias hereditárias e de anticorpos antifosfolípidos de forma isolada em ambos os grupos está apresentada na tabela 5.2.

Tabela 5.2 – Distribuição das trombofilias hereditárias e anticorpos antifosfolípides de forma isolada entre os dois grupos de estudo.

	Grupo AB		Grupo CO	
	(n)	(%)	(n)	(%)
aCL IgM	6	6,0	0	-
aCL IgG	2	2,0	1	1,3
AL	12	12,0	7	8,7
Anti- β_2 GPI	1	1,0	0	-
Deficiência de PC	4	4,0	0	-
Deficiência de PS	11	11,0	7	8,7
Deficiência de AT	8	8,0	5	6,3
Hiperhomocisteinemia	6	6,0	5	6,3
Fator V de Leiden				
Heterozigoto	0	-	0	-
Homozigoto	0	-	0	-
Total	(50/100)	50	(25/80)	31,3

A análise de trombofilias hereditárias e anticorpos antifosfolípide entre os dois grupos mostrou que a presença de aCL IgM em conjunto com a deficiência de PS e deficiência de AT foram encontradas em 5,0% das gestantes do grupo AB e em nenhuma gestante do grupo CO. A deficiência de PS em conjunto com a deficiência de AT, foi observada em 5,0% das gestantes com abortos de repetição e perdas fetais e em 3,8% das gestantes de comparação. A frequência das trombofilias hereditárias e anticorpos antifosfolípides, em conjunto, estão apresentados na tabela 5.3.

Tabela 5.3 - Distribuição das trombofilias hereditárias e anticorpos antifosfolípidos de forma conjunta entre os dois grupos de estudo.

		Grupo AB		Grupo CO	
		(n)	(%)	(n)	(%)
aCL IgM	+ Deficiência de PS	1	1,0	0	-
	+ Deficiência de AT	1	1,0	2	2,5
	+ Hiperhomocisteinemia	0	-	1	1,3
	+ AL	0	-	1	1,3
	+ Deficiência de PS + Deficiência de AT	5	5,0	0	-
	+ Hiperhomocisteinemia + FVL heterozigoto	1	1,0	0	-
	+ aCL IgG + hiperhomocisteinemia	1	1,0	0	-
aCL IgG	+ Deficiência de PS	1	1,0	1	1,3
	+ Deficiência de AT	0	-	1	1,3
	+ Hiperhomocisteinemia	1	1,0	0	-
	+ AL	1	1,0	0	-
	+ Anti - β_2 GPI	0	-	1	1,3
AL	+ Deficiência de PS	1	1,0	1	1,3
	+ Deficiência de AT	2	2,0	3	3,8
	+ Hiperhomocisteinemia	3	3,0	1	1,3
	+ Deficiência de AT + Hiperhomocisteinemia	1	1,0	0	-
Anti- β_2 GPI	+ Hiperhomocisteinemia	1	2,0	1	1,3
	+ Deficiência de PS + Deficiência de AT	1	1,0	0	-
Deficiência de PC	+ Deficiência de PS	2	2,0	2	2,5
	+ Deficiência de AT	0	-	1	1,3
	+ Deficiência de PS + Deficiência de AT	2	2,0	0	-
	+ Deficiência de AT + Hiperhomocisteinemia	0	-	1	1,3
Deficiência de PS	+ Deficiência de AT	5	5,0	3	3,8
	+ FVL heterozigoto	1	1,0	0	-
	+ Hiperhomocisteinemia	1	1,0	0	-
Total		(32/100)	32,0	(21/80)	26,3

O anticorpo anticardiolipina foi encontrado em 21% das pacientes pertencentes ao grupo AB, sendo que 15% possuíam anticorpo tipo IgM e 6% possuíam anticorpo tipo IgG. No grupo CO 7,5% possuíam anticorpo anticardiolipina, sendo 3,7% do tipo IgM e 5,0% do tipo IgG.

O anticoagulante lúpico foi encontrado em 20% das gestantes do grupo AB e em 16,3% das pacientes do grupo CO. A presença de anticorpos anti- β_2 GPI foi identificada em 3% das gestantes pertencentes ao grupo AB e em 2,5% das gestantes pertencente ao grupo CO.

A deficiência de PC foi detectada em 8,0% no grupo AB e em 5,0% no grupo CO. Da mesma forma, a deficiência de PS foi verificada em 31,0% das gestantes com histórico de abortamentos e perdas fetais e em 17,5% das gestantes de comparação.

A deficiência de AT esteve presente em 25,0% no grupo AB e em 20,0% no grupo CO. Foi encontrada hiperhomocisteinemia em 15,0% das gestantes com histórico de abortamentos e perdas fetais e em 11,3% das gestantes de comparação.

A mutação no gene do fator V (fator V Leiden) foi encontrada somente em sua forma heterozigótica, em 2% das gestantes do grupo AB e nenhuma gestante do grupo CO possuía a referida mutação no gene do fator V.

A distribuição das trombofilias hereditárias e presença de anticorpos antifosfolípidos entre as gestantes de ambos os grupos pode ser observada na tabela 5.4.

Tabela 5.4 - Distribuição das trombofilias hereditárias e anticorpos antifosfolípides entre os dois grupos de estudo.

	Grupo AB		Grupo CO	
	(n)	(%)	(n)	(%)
aCL IgM	15	15,0	3	3,7
aCL IgG	6	6,0	4	5,0
AL	20	20,0	13	16,3
Anti- β_2 GPI	3	3,0	2	2,5
Deficiência de PC	8	8,0	4	5,0
Deficiência de PS	31	31,0	14	17,5
Deficiência de AT	25	25,0	16	20,0
Hiperhomocisteinemia	15	15,0	9	11,3
Fator V de Leiden				
Heterozigoto	2	2,0	0	-
Homozigoto	0	-	0	-

Verificou-se associação significativa ($p < 0,05$) entre a presença de trombofilias hereditárias e a ocorrência de abortamentos recorrentes e perdas fetais (Grupo AB), conforme observado na tabela 5.5. Houve associação significativa deste grupo com a identificação de anticorpos antifosfolípides (Tabela 5.6). Também observou-se associação da presença de trombofilias hereditárias juntamente com a presença de anticorpos antifosfolípides e a ocorrência de abortamentos recorrentes e perdas fetais (tabela 5.7)

Tabela 5.5 – Associação entre a presença de trombofilias hereditárias e história pregressa de abortamentos e perdas fetais

Trombofilias	Grupo AB – Abortamento recorrente e perdas fetais*				TOTAL	
	SIM		NÃO			
	n	%	n	%	n	%
<i>Presente</i>	60	60,0	35	43,8	95	52,8
<i>Ausente</i>	40	40,0	45	56,2	85	47,2
<i>Total</i>	100	100,0	80	100,0	180	100,0

* Teste Qui-Quadrado $p=0,043$ OR= 1,93 IC95%=1,02 - 3,66

Tabela 5.6 – Associação entre a presença de anticorpos anticardiolipina e história pregressa de abortamentos e perdas fetais.

AAF	Grupo AB – Abortamento recorrente e perdas fetais*				TOTAL	
	SIM		NÃO			
	n	%	n	%	n	%
<i>Presente</i>	42	42,0	21	25,0	62	34,4
<i>Ausente</i>	58	58,0	59	75,0	118	65,6
<i>Total</i>	100	100,0	80	100,0	180	100,0

* Teste Qui-Quadrado $p=0,04$ OR= 2,03 IC95%=1,03 - 4,05

Tabela 5.7 – Associação entre a presença de trombofilias hereditárias e anticorpos anticardiolipina e história pregressa de abortamentos e perdas fetais.

Trombofilias e AAF	Grupo AB – Abortamento recorrente e perdas fetais*				TOTAL	
	SIM		NÃO			
	N	%	n	%	n	%
<i>Presente</i>	82	82,0	46	57,5	128	71,1
<i>Ausente</i>	18	18,0	34	42,5	52	28,9
<i>Total</i>	100	100,0	80	100,0	180	100,0

* Teste Qui-Quadrado $p=0,0005$ OR= 3,37 IC95%=1,63 – 7,01

6 DISCUSSÃO

Abortamentos recorrentes acometem aproximadamente 12% a 15% das gestações clinicamente diagnosticadas e afeta 2% da população em idade reprodutiva (SCHEIVE et al., 2003; MEDEIROS, 2001). 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 (SCHUST, HILL; 2005; COUTO et al., 2005; MATAR et al., 2003; BARINE et al., 2000).

A presença de anticorpos antifosfolípides identificados em 42% das gestantes do grupo AB da presente casuística, está em acordo com a literatura, no qual Piura et al., (1991) e Balash et al., (1990) relatam valores em torno de 20% a 40% em pacientes cujo histórico obstétrico é ruim. O valor encontrado pelo presente estudo vem ao encontro do resultado obtido por Vora et al., (2008), onde 42,6% das pacientes do grupo de estudo apresentaram presença de anticorpos antifosfolípide. Entretanto, Costa et al., (2005) relatam frequência de anticorpos antifosfolípides em 28% das gestantes com histórico de perdas gestacionais, resultado este abaixo do encontrado na presente casuística.

A frequência de anticorpos anticardiolipina IgM e IgG foi encontrada em 21% das pacientes, resultado este inferior aos apresentados por Vora et al., (2008), onde 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 anticorpos anticardiolipina IgM e IgG foi de 23%. Quando se compara os isotipos IgM e IgG observa-se uma inversão na frequência deste, pois o mais prevalente anticorpo anticardiolipina encontrado na presente casuística foi o isotipo IgM, presente em 15% das pacientes, e o isotipo IgG foi encontrado em 6% das gestantes. Nos resultados obtidos por Costa et al., (2005), verificou-se maior frequência do isotipo IgG (18%) e o isotipo IgM foi encontrado em apenas 6% da amostra. Os valores demonstrados por Rai et al., (1995a) foram inferiores aos encontrado por este estudo, sendo a frequência de aCL IgM de 3,3% e de aCL IgG de 2,2%. Esta variação pode ser explicada devido ao fator racial, visto que há grande miscigenação em nosso país, e as características raciais, variam de acordo com os locais onde se realizaram os diversos estudos.

A frequência de AL no presente estudo foi de 20%, valor este superior ao observado na literatura, cuja frequência varia de 5 a 11% (VORA et al., 2008; COSTA et al., 2005; RAI et al., 1995a; BALASCH et al., 1990). 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.

Para o diagnóstico de SAAF, os ensaios laboratoriais para detecção de anticorpos anti- β_2 GPI são mais sensíveis, quando comparado a detecção isolada de aCL (ALIJOTAS-REIG et al., 2008). Considerando a existência do anticorpo anti- β_2 GPI, em gestantes negativas para a presença de aCL, dentro do grupo com abortamentos recorrentes e perdas fetais, nota-se, no presente estudo que o mesmo pode identificar pacientes adicionais. 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. Entretanto não podemos inferir com base nos resultados para a presença do anticorpo anti- β_2 GPI encontrados, que a presente pesquisa está de acordo com esta conclusão, considerando que diversas pacientes não realizaram o exame para detectar a presença de anti- β_2 GPI, assim, presumi-se que a presença deste anticorpo deveria ser mais elevada.

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. Este valor é superior ao observado nesta pesquisa, o qual demonstrou 3,0% de frequência em pacientes com abortamentos recorrentes e perdas fetais.

A presente casuística demonstra que as trombofilias hereditárias estavam presentes em 60% das pacientes do grupo de estudo, configurando associação significativa entre a presença de trombofilias hereditárias e a ocorrência de má história obstétrica deste grupo. Vários estudos demonstram que a presença de trombofilias hereditárias, está incluída como fator de risco para resultados adversos durante a gestação (VAN DER MOLEN et al., 2000; KUPFERMINC et al., 1999; PRESTON et al., 1996).

Dentre as trombofilias hereditárias, as deficiências de PS, AT e PC foram as mais frequentes no presente trabalho. Em diversos estudos a frequência de deficiências de PC e PS é controversa. Tranquili et al., (2004) relatam a presença de deficiência PC em 45,1% das gestantes com algum tipo de patologia e 8,3% das gestantes normais apresentaram resultado

positivo. Já a deficiência de PS não foi relatada em nenhuma paciente. Many et al., (2002), não relataram a presença de deficiência de PC em nenhuma paciente estudada, porém deficiência de PS em gestantes com morte fetal intra-uterina inexplicada foi de 7,5%. Raziel et al., (2001) atribuíram a deficiência de PC e PS frequência de 5,5% e 10,0% respectivamente. Aceita-se a possibilidade de que as pacientes estudadas que possuam deficiência destas proteínas e, portanto, desenvolvam abortos de repetição e perdas fetais devido à ocorrência de trombose no leito de implantação placentária. Esta hipótese pode ter sido corroborada pelo presente estudo, considerando o achado de 31,0% para a presença de deficiência de PS e 8,0% de frequência de deficiência de PC, em gestantes com histórico de abortamentos recorrentes e perdas fetais.

Não se pode afirmar que as pacientes que apresentaram deficiência de PC são portadoras de deficiência herdada, uma vez que a gravidez é um estado de hipercoagulabilidade, no qual há 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, fato relatado na literatura (HOJO et al; 2008; ADACHI, 2005; PAIDAS et al., 2005; LOCKWOOD, 2002).

Verificou-se a frequência da deficiência de AT em 25% das pacientes que possuíam histórico de abortamentos de repetição e perdas fetais, valor mais elevado quando comparado à frequência desta trombofilia em pacientes com fenômenos tromboembólicos, em que a taxa desta deficiência foi 2,3% (DE STEFANO et al., 2006). Estudos em pacientes com má história obstétrica não encontraram a presença de casos de deficiência de AT (TRANQUILLI et al., 2004; MANY et al., 2002; RAZIEL et al., 2001). Tal resultado é contraditório à presente casuística. Preston et al., (1996) demonstraram que a deficiência de AT pode estar relacionada a ocorrência de abortamentos e perdas fetais.

Quando observa-se detalhadamente os casos de deficiência de AT, no presente estudo, nota-se além do histórico anterior de abortamentos recorrentes, situações que sugerem a presença de insuficiência placentária, com gênese de RCIU e nascimentos pré-termo

De acordo com os dados deste trabalho, pode-se inferir que deficiências de anticoagulantes naturais (PC, PS, AT) estão relacionadas com a ocorrência de abortamentos

de repetição e perdas fetais. Tal fato contrapõe-se à literatura na qual de Santis et al, (2006) afirmam que a relação entre a ocorrência de abortamentos de repetição não está claramente associada com a presença de deficiências e PC e AT.

Na população estudada, destaca-se a existência de algumas características que as tornam diferente das populações analisadas por outros autores. A miscigenação racial poderia induzir a características genéticas não encontradas em populações analisadas na literatura quanto a presença de trombofilias (DE STEFANO et al., 2006; TRANQUILLI et al., 2004; MANY et al., 2002; RAZIEL et al., 2001; PRESTON et al., 1996).

A hiperhomocisteinemia está consagrada como um dos fatores de risco para a presença de doença vascular periférica e doença arterial coronariana (MAYER et al., 1996; GRAHAM, et al., 1997). No entanto em 2008, Lijfering et al., estudando 1052 indivíduos com parentesco de pacientes com histórico de trombose venosa ou arterial, concluíram que a hiperhomocisteinemia não é fator de risco para trombose venosa ou arterial. Alguns autores afirmam que a sua presença está associada com a ocorrência de complicações na gravidez, tais como descolamento prematuro de placenta, infartos placentarios, morte fetal intrauterina, pré-eclâmpsia grave e RCIU grave. (LIN; AUGUST, 2005; MONGA; DOYLE, 2004; LOCKWOOD, 2002). Entretanto Nelen et al., (2000), em meta-análise, se contrapõe a associação de hiperhomocisteinemia e a ocorrência de abortos recorrentes.

No presente estudo a presença de hiperhomocisteinemia foi encontrada em 15,0% das pacientes com abortamentos de repetição e perdas fetais, valor este abaixo do apresentado por Sikora et al., (2007), cujo trabalho avaliou mulheres com abortos de repetição encontrando hiperhomocisteinemia em 26,7% e níveis reduzido de folato plasmático.

A associação entre a presença de mutação no gene da MTHFR, e outras mutações, não está completamente definida na literatura. Alguns autores afirmam que a presença de polimorfismos genéticos, como causadores da hiperhomocisteinemia, poderiam ser os responsáveis pela ocorrência de complicações obstétricas (ANANTH et al., 2007a; COUTO et al., 2005; KUPFERMINC et al., 1999). Todavia outros autores relataram resultados diferentes. A presença de homozigose para mutação na enzima betaína homocisteína metil transferase (BHMT) está associada com o aumento do risco de descolamento prematuro de placenta (ANANTH et al., 2007b). Couto et al., (2005) encontraram a forma heterozigótica da enzima MTHFR com maior frequência em mulheres com abortamentos recorrentes (53,4%) quando comparados a mulheres normais (29,5%).

A presença de mutação no gene da enzima MTHFR em pacientes com abortamentos de repetição, avaliada por Cardona et al., (2008), não demonstrou elevação nos níveis plasmáticos de homocisteína tão pouco fator ser desencadeante para a ocorrência deste evento. Ananth et al., (2007a), estudando 195 casos de descolamento prematuro de placenta não verificaram associação entre a presença de homozigose ou heterozigose em variantes do MTHFR e a ocorrência da referida complicação. A presença de pré-eclâmpsia não esteve associada à mutações nos genes das enzimas C β S, MS, MTHFR e metionina sintetase redutase (MSR) no estudo conduzido por Also-Rallo et al., (2005).

Deve-se salientar que todas as pacientes participantes do presente estudo, recebiam suplementação de ácido fólico antes da realização da dosagem de homocisteína plasmática. Este fato pode ter colaborado para a redução do número de pacientes com hiperhomocisteinemia, visto que Uehara et al., (2005) sugere a suplementação combinada de folato, piridoxina e cobalamina para promover a redução dos níveis de homocisteína plasmática sendo a suplementação com folato isoladamente é mais eficiente.

Quando rastreou-se a presença do FVL, encontrou-se frequência de 4,0% da mutação na população estudada. A literatura mostra divergências quanto à importância do FVL na ocorrência de complicações obstétricas. Alguns estudos relatam que a presença dessa mutação está relacionada à ocorrência de complicações obstétricas (KARAKANTZA et al., 2008; TOTH et al., 2008; DUDDING; ATIA, 2004; REY et al., 2003; REZNIKOFF-ETIÉVANT et al., 2001). Entretanto, outros autores não afirmam claramente a existência de associação entre o FVL e complicações obstétricas (PASQUIER et al., 2009; ALTINTAS et al., 2007; DUSSE et al., 2007).

Pasquier et al., (2009), afirmam não haver qualquer relação entre a presença de FVL materno e paterno e a ocorrência de perdas gestacionais inexplicadas, pois em estudo com 284 casais alocados como pacientes estudo e 297 casais controle, não houve diferença significativa entre a presença de FVL e a ocorrência de perdas gestacionais. Entretanto, Toth et al., (2008), em estudo com 151 casais com abortos de repetição e 157 casais controle, indicaram que a presença de FVL em mulheres com histórico de abortamentos de repetição podem influenciar no resultado gestacional. Em contrapartida, a predisposição a mutação genética no fator V do parceiro não pareceu ser fator de risco para abortos de repetição.

Karakantza et al., (2008), estudando trombofilias hereditárias em gestantes, observaram que 7,3% das gestantes que apresentaram complicações obstétricas durante a gestação atual

eram heterozigotas para a presença de FVL e 7,3% das gestantes com histórico de complicações gestacionais também possuíam essa mutação. Não foi relatado nenhum caso de homozigotia entre as gestantes estudadas.

Em outro estudo a presença do FVL foi observada em 20,5% de gestantes com abortos de repetição, entre as quais 18,2% eram heterozigotos e 2,3% homozigotos e em 12,8% das gestantes com apenas um aborto espontâneo e mais de uma gestação bem sucedida (GLUECK et al., 2008).

Os valores para a presença de FVL, apresentados na literatura, são superiores ao observado no presente estudo, onde foi encontrado a presença de FVL na forma heterozigótica em 2,0% das pacientes com abortamentos recorrentes e perdas fetais, e nenhum caso de homozigotia. Entretanto, nem todas as pacientes realizaram o exame para verificar a presença de mutação no fator V, este fato pode ter contribuído para o registro do pequeno número de casos.

Em revisão sistemática, publicada em 2006, Robertson et al. avaliaram a correlação existente entre o aborto e presença de trombofilias. Foram selecionados 35 estudos, compostos por 7167 pacientes com abortos e 15 estudos totalizando 4038 pacientes com perdas fetais. Estes resultados revelaram a existência de uma ligação estatisticamente significativa com trombofilias hereditárias e presença de anticorpos antifosfolípides.

Dados da literatura são contraditórios, quanto à associação da presença de trombofilias hereditárias e adquiridas e a ocorrência de má história obstétrica. Alguns autores mostraram que existe associação (KARAKANTZA et al., 2008; VORA et al., 2008; CARDONA et al., 2008; MEZZESIMI et al., 2007; COSTA et al., 2005), o que está de acordo com os resultados obtidos no presente estudo. Enquanto outros estudos revelaram a inexistência de associação entre a presença de trombofilias e ocorrência de complicações obstétricas (SOTIRIADIS et al., 2007; DE SANTIS et al., 2006; KRABBENDAM et al., 2005).

Na figura 6.1 verifica-se um comparativo entre os trabalhos que demonstraram ou não concordância com o presente estudo.

Trabalhos com concordância	Trabalhos sem concordância
Ananth et al., (2007a)	Also-Rallo et al., (2005)
August; Lin, (2005)	Altintas et al., (2007)
Cardona et al., (2008)	Ananth et al., (2007b)
Costa et al. (2005)	De Santis et al., (2006)
Couto et al., (2005)	Dusse et al., (2007)
Dudding; Atia, (2004)	Krambendann et al., (2005)
Glueck et al., (2008)	Lijfering et al., (2008)
Hojo et al., (2008)	Pasquier, et al., (2009)
Karakantza et al., (2008)	Raziel et al., (2001)
Kupferminc et al., (1999)	Sotiriades et al., (2007)
Many et al., (2002)	
Mezzesimi et al., (2007)	
Monga; Doyle (2004)	
Nelen et al., (2000)	
Raziel et al., (2001)	
Resnikoff-Etièvant et al., (2001)	
Rey et al., (2004)	
Robertson et al., (2006)	
Sikora et al., (2007)	
Toth et al., (2008)	
Tranquilli et al., (2004)	
Vora et al., (2008)	

Figura 6.1 - Comparativo entre os trabalhos que apresentaram ou não concordância com os resultados da presente pesquisa.

Em estudos nacionais sobre este tema, encontramos alguns trabalhos de relevância, entre os quais, Couto et al., (2005), com metodologia semelhante, avaliaram apenas pacientes com abortamentos recorrentes, diferenciando-se da presente pesquisa, cuja metodologia trabalha com abortamentos recorrentes, perdas fetais e outras complicações obstétricas. Outro estudo relevante foi realizado por Costa et al., (2005), que avaliaram apenas a presença de

anticorpos antifosfolípidos em gestantes com abortos de repetição. Em 2008, Dusse et al., avaliaram a presença de fatores trombofílicos em gestantes com histórico de pré-eclâmpsia, no entanto esta metodologia envolveu apenas trombofilias proveniente de mutações genéticas. Entre os trabalhos internacionais, não encontramos estudos com metodologia ampla e abrangente tal qual a desenvolvida na presente proposta. As principais publicações internacionais sobre o assunto são por base apenas a demonstração de trombofilias derivadas de mutações genéticas, como os trabalhos de Pasquier et al., (2009), Toth et al., (2008) Glueck et al., (2008) e Altintas et al., (2007) os quais diferem do presente trabalho (Figura 6.2).

Fonte	Trombofilias pesquisadas
Alijotas-Reig et al., (2008)	anti – β 2GPI, AL, aCL IgM e IgG
Also-Rallo et al., (2005)	Mutações nos genes das enzimas cistadiona β sintetase, (C β S), metionina sintetase (MS), metionina sintetase redutase (MSR) e MTHFR
Altintas et al., (2007)	Mutação no gene da protrombina e fator V Leiden
Ananth et al., (2007a)	Mutações no gene da enzima MTHFR
Ananth et al., (2007b)	Mutações nas enzimas MSR e BHMT e presença de hiperhomocisteinemia
Cardona et al., (2008)	Mutação na enzima MTHFR e níveis plasmáticos de homocisteína
Costa et al., (2005)	anticorpos antifosfolípidos (AL, aCL IgM e IgG)
Couto et al., (2005)	Deficiência de PS, PC, AT, hiperhomocisteinemia, Mutações no fator V Leiden, gene da protrombina e na enzima MTHFR e presença de anticorpo anticardiolipina e anticoagulante lúpico.
De Santis et al., (2006)	Deficiência de PS, PC, AT, hiperhomocisteinemia, Mutações no fator V Leiden, gene da protrombina e na enzima MTHFR e presença de anticorpo anticardiolipina e anticoagulante lúpico.
De Stefano et al., (2006)	Deficiência de PS, PC e AT.
Dudding; Atia, (2004)	Fator V Leiden
Dusse et al., (2007)	Mutações no fator V Leide, gene da protrombina e enzima MTHFR
Glueck et al., (2008)	Mutação do fator V Leiden
Hojo et al., (2008)	PS
Karakantza et al., (2008)	Mutações no fator V Leiden, gene da protrombina e enzima MTHFR
Krambendann et al., (2005)	Hiperhomocisteinemia, mutação no gene da enzima MTHFR, deficiências de PC, PS E AT e fator V Leiden
Kupferminc et al., (1999)	Deficiência de PS, PC e AT, presença de anticorpo anticardiolipina e anticoagulante lúpico.

Figura 6.2 - Continuação

Lijfering et al., (2008)	Homocisteinemia
Lin; August, (2005)	Homocisteinemia
Loockwood, (2002)	Deficiências de PC, PS e AT, hiperhomocisteinemia e mutação no FVL.
Many et al., (2002)	Mutações no fator V Leiden, gene da protrombina e na enzima MTHFR, deficiências de PC, PS e AT.
Mezzesimi et al., (2007)	Anticorpos antifosfolípidos (aCL IgM e IgG, AL, anti – β 2GPI)
Monga; Doyle (2004)	Deficiência de PS, PC e AT, hiperhomocisteinemia
Nelen et al., (2000)	Hiperhomocisteinemia
Paquier, et al., (2009)	Mutações no fator V Leiden e gene da protrombina
Raziel et al., (2001)	Mutações no fator V Leiden, gene da protrombina e na enzima MTHFR, deficiências de PC, PS e AT.
Resnikoff-Etiévant et al., (2001)	Fator V (Leiden), mutação no gene da protrombina, mutação na enzima MTHFR, deficiência de PC, PS e AT e AL.
Rey et al., (2004)	Fator V Leiden
Robertson et al., (2006)	Hiperhomocisteinemia, mutação no gene da enzima MTHFR, deficiências de PC, PS e AT e fator V Leiden
Sikora et al., (2007)	hiperhomocisteinemia
Sotiriades et al., (2007)	Fator V (Leiden), mutação no gene da protrombina, mutação na enzima MTHFR.
Toth et al., (2008)	Mutações no fator V Leiden, gene da protrombina e enzima MTHFR
Tranquilli et al., (2004)	Fator V (Leiden), mutação no gene da protrombina, mutação na enzima MTHFR, deficiência de PC, PS e AT e AL.
Van der Molen et al., (2000)	Hiperhomocisteinemia, deficiências de PC, PS e AT
Vora et al., (2008)	anticorpos antifosfolípidos (AL, aCL IgM e IgG, anti – β 2GPI e anti-anexina V)

Figura 6.2 – Principais fontes e trombofilias pesquisadas utilizadas na presente pesquisa.

Devido à grande importância de se apresentarem novas perspectivas que amenizem o sofrimento de tantas famílias, as quais não conseguem chegar ao fim de uma gestação com bons resultados perinatais, e o impacto socioeconômico que a ocorrência de complicações obstétricas causam, este trabalho vem incentivar novas pesquisas científicas, visto o grande interesse que este assunto desperta na comunidade científica mundial. Embora exista condutas a serem seguidas em casos confirmados de trombofilias e SAAF, este estudo aponta para a necessidade de implementar, na rede pública de saúde, um protocolo padrão para

rastreamento de trombofilias e SAAF, ampliando os cuidados, além da distribuição gratuita dos medicamentos para as gestantes portadoras destas patologias.

7 CONCLUSÕES

- a. 1) Verificou-se associação significativa entre a presença de trombofilias hereditárias e a ocorrência de abortamentos recorrentes e perdas fetais;
- 2) Verificou-se associação significativa entre a presença de anticorpos antifosfolípidos e a ocorrência de abortamentos recorrentes e perdas fetais;
- 3) Verificou-se associação significativa entre a presença de trombofilias hereditárias e adquiridas e a ocorrência de abortamentos recorrentes e perdas fetais;
- b. 1) A frequência de anticorpos anticardiolipina IgM encontrada em gestantes com histórico de abortamentos recorrentes e perdas fetais foi de 15,0% e em gestantes do grupo de comparação foi de 3,7%;
- 2) A frequência de anticorpos anticardiolipina IgG encontrada em gestantes com histórico de abortamentos recorrentes e perdas fetais foi de 6,0% e em gestantes do grupo de comparação foi de 5,0%;
- 3) A frequência de anticoagulante lúpico encontrada em gestantes com histórico de abortamentos recorrentes e perdas fetais foi de 20,0% e em gestantes do grupo de comparação foi de 16,3%;
- 4) A frequência de anticorpos anti – β 2 glicoproteína I encontrada em gestantes com histórico de abortamentos recorrentes e perdas fetais foi de 6,0% e em gestantes do grupo de comparação foi de 2,5%;
- c. 1) A frequência de deficiência de proteína C encontrada em gestantes com histórico de abortamentos recorrentes e perdas fetais foi de 8,0%; e, em gestantes do grupo de comparação foi de 5,0%;
- 2) A frequência de deficiência de PS encontrada em gestantes com histórico de abortamentos recorrentes e perdas fetais foi de 31,0% e em gestantes do grupo de comparação foi de 17,5%;

- 3) A frequência de deficiência de AT encontrada em gestantes com histórico de abortamentos recorrentes e perdas fetais foi de 25,0% e em gestantes do grupo de comparação foi de 20,0%;
- 4) A frequência de hiperhomocisteinemia encontrada em gestantes com histórico de abortamentos recorrentes e e perdas fetais foi de 15,0% e em gestantes do grupo de comparação foi de 11,3%;
- 5) A frequência de mutação no fator V (Leiden) encontrada em gestantes com histórico de abortamentos recorrentes e perdas fetais foi de 4,0% e não se encontrou mutação do fator V (Leiden) em gestantes do grupo de comparação.

REFERÊNCIAS

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

Alijotas-Reig J, Casellas-Caro M, Ferrer-Oliveras R, Llurba-Olive E, Hermosilla E, Vilardell-Tarres M, et al. Are anti-beta2-glicoprotein-I antibodies markes for recurrent pregnancy loss in lúpus anticoagulant/anticardiolipin seronegative women? *Am J Reprod Immunol*. 2008; 60(3):229-37.

Also-Rallo E, Lopez-Quesada E, Urreizti R, Vilaseca A, Lailla JM, Balcells S, et al. Polymorphisms of genes involved in homocysteine metabolism in preeclampsia and in uncomplicated pregnancies. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2005; 120(1):45-52.

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

Ananth CV, Elsasser DA, Kinzler WL, Peltier MR, Getahum D, Leclerc D, et al. Polymorphisms in methionine synthase reductase and betaine-homocysteine S-methyltransferase genes: risk of placental abruption. *Mol Genet and Metab*. 2007b; 91(1):104-10.

Ananth CV, Peltier MR, De Marco C, Elsasser DA, Getahum D, Rozen R, et al. Associations between 2 polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene and placental abruption. *Am J Obstet Gynecol*. 2007a; 197(4):385.e1-7

Arakawa M, Takakuwa K, Honda K, Tamura M, Karabayashi T, Tanaka K. Supressive effect of anticardiolipin antibodies on the proliferation of human umbilical vein endothelial cells. *Fertil Steril*. 1999; 71(6):1103-7.

Arruda VR, Annichino-Bizzacchi JM, Costa FF, Reitsma PH. Factor V Leiden (FVQ 506) is common in a Brazilian population. *Am J Hematol*. 1995; 49(3):242-3

Aubard Y, Genet D, Eyraud JL, Clavère P, Tubiana-Mathieu N, Philippe HJ. Impact of screening on breast cancer detection. Retrospective comparative study of two periods ten years apart. *Eur J Gynaecol Oncol*. 2002; 23(1):37-41.

Balasch J, Font J, Lopez-Soto A, Cervera R, Jové I, Casals FJ, Vanrell JA. Antiphospholipid antibodies in unselected patients with repeated abortion. *Hum Reprod*. 1990; 5(1):43-6.

Barini R, Couto E, Mota MM, Santos CTM, Leiber SR, Batista SC. Fatores associados ao aborto espontâneo recorrente. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2000; 22(4):217-223.

Baxi V, Pearlstone MM. Subchorionic hematomas and the presence of autoantibodies. *Am J Obstet Gynecol*. 1991; 165(5 Pt 1):1423-4.

Bellart J, Gilaberr R, Fontcuberta J, Borrell M, Miralles RM, Cabero L. Fibrinolysis changes in normal pregnancy. *J Perinat Med*. 1997;25(4):368–72.

Berek JS editor. *Noovak Tratado de Ginecologia* 13° ed. Rio de Janeiro (RJ): Guanabara Koogan; 2005.

Bertina RM. Protein C deficiency and venous thrombosis: the search for the second genetic defect. *Thromb Haemost.* 2000; 83(3): 360–1.

Bick RL. Prothrombin G20210A mutation, antithrombin, heparin cofactor II, protein C, and protein S defects. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2003; 17(1):9-36

Bonnette RE, Caudill MA, Boddie AM, Hutson A, Kauwell G, Bailey L. Plasma homocysteine concentrations in pregnant and nonpregnant women with controlled folate intake. *Obstet Gynecol.* 1998; 92(2):167–70

Branch DW, Khamashta MA. Antiphospholipid Syndrome: Obstetric Diagnosis, Management and Controversies. *Obstet Gynecol.* 2003; 101(6):1333-42.

Bucciarelli P, Rosendaal FR, Tripodi A, Mannucci PM, De Stefano V, Palareti G, et al. Risk of venous thromboembolism and clinical manifestations in carriers of antithrombin, protein C, protein S deficiency, or activated protein C resistance: a multicenter collaborative family study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999; 19(4):1026–33.

Cardona H, Cardona-Maya W, Gómez JG, Castañeda S, Gómez 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):277-282

Carvalho EB, Pardine MIMC, Holanda EARR, Galiza-Neto GC, Magalhães SMM, Pitombeira MHS, et al. Rastreamento familiar do fator V de Leiden: A importância da detecção de portadores heterozigotos. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2005;27(2):83-6.

Cerneca K, Ricci G, Simeone R, Malisano M, Alberico S, Guaschino S. Coagulation and fibrinolysis changes in normal pregnancy. Increased levels of procoagulants and reduced levels of inhibitors during pregnancy induce a hypercoagulable state, combined with a reactive fibrinolysis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1997;73(1):31–6.

Choi JW, Pai SH. Tissue plasminogen activator levels change with plasma fibrinogen concentrations during pregnancy. *Ann Hematol.* 2002;81(11):611–5.

Clark P, Brennand J, Conkie JA, McCall F, Greer IA, Walker ID. Activated protein C sensitivity, protein S and coagulation in normal pregnancy. *Thromb Haemost.* 1998;79(6):1166–70.

Cobas Meyer M, Langenfeld H, Rossaint R, Sablotzki A. Prowess, enhance, and address: clinical implications for the treatment with drotrecogin alfa (activated). *Anaesthetist.* 2006; 55(Suppl. 1): 16–23.

Costa OLN, Brandão C, Silva MMR, Pimentel KS, Santiago MB. Anticorpo antifosfolípide em mulheres com antecedentes de perdas gestacionais: Estudo caso-controle. *Rev Bras Reumatol.* 2005;45(3):119-23.

Couto E, Barini R, Zaccaria R, Annicchino-Bizzacchi JM, Passini-Jr PR, Pereira BG, et al. Association of anti-cardiolipin 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.

Crowther MA, Kelton JG. Congenital thrombophilic states associated with venous thrombosis: a qualitative overview and proposed classification system. *Ann Intern Med.* 2003; 138(2):128-34.

Cunningham FG, Gant N, Leveno KJ, et al. *Williams obstetrics*. 22nd Ed. New York: McGraw-Hill; 2005.

D'Amico EA, Villaça PR. Fisiologia da hemostasia. In: Lorenzi FH, coordenadora. *Atlas de Hematologia: clínica hematológica ilustrada*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p. 139-63.

Dahlbäck B. New molecular insights into the genetics of thrombophilia. Resistance to activated protein C caused by Arg506 to Gln mutation in factor V as a pathogenic risk factor for venous thrombosis. *Thromb Haemost.* 1995; 74(1):139-48.

Dahlbäck B. The tale of protein S and C4b-binding protein, a story of affection. *Thromb Haemost.* 2007; 98(1):90–6.

Dahlbäck B, Villoutreix BO. Regulation of blood coagulation by the protein C anticoagulant pathway : novel insights into structure-function relationships and molecular recognition. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005; 25(7):1311–20.

De Frutos PG, Fuentes-Prior P, Hurtado B, Sala N. Molecular basis of protein S deficiency. *Thromb Haemost.* 2007; 98(3): 543-56.

De La Calle M, Usandizaga R, Sancha M, Magdaleno F, herranz A, Cabrillo E. Homocysteine, Folic Acid and B-group Vitamins in Obstetrics and Gyneacology. *Obstet Gynecol.* 2003; 107(2):125-34.

De Santis M, Cavaliere AF, Straface G, Di Gianantonio E, Caruso A. Inherited and acquired thrombophilia: pregnancy outcome and teatment. *Reprod Toxicol.* 2006; 22(6):227-33.

De Stefano V, Chiusolo P, Paciaroni K, Leone G. Epidemiology of factor V Leiden: Clinical implications. *Semin Thromb Hemost.* 1998; 24(4):367-79.

De Stefano V, Simioni P, Rossi E, Tomene D, Za T, Pagman A, Leone G. 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.

Dizon-Townson D, Miller C, Sibai B, Spong CY, Thom E, Wendel G Jr, et al. The relationship of the factor V Leiden mutation and pregnancy outcomes for mother and fetus. *Obstet Gynecol.* 2005; 106(3):517–24.

Duarte G, Figueiró-Filho EA, Nogueira AA, Mauad-Filho F, Berezowski AT. Mutação do Fator V Leiden – Implicações Obstétricas. *Femina* 2002; 30(6):367-371.

Dudding TE, Attia J. The association between adverse pregnancy outcomes and maternal factor V Leiden genotype: a meta-analysis. *Thromb Haemost.* 2004; 91(4):700-11

Dusse LMS, Carvalho MG, Bragança WF, Paiva SG, Godoi LC, Guimarães DAM, et al. Inherited thrombophilias and pré-eclampsia in brazilian women. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2007; 134(1):20-3.

Esmon C. The protein C pathway. Crit Care Med. 2000; 28(9 Suppl): S44–8

Fagundes I, Borges RK, Schiavo N, Neumann J, Muhelen CA, Staub HL. Síndrome Antifosfolípídica e Morbidade Gestacional. Scientia Medica 2005; 15(3):179-188.

Figueiró-Filho EA, Lopes AHA, Senefonte FRA, Duarte G. Lúpus Eritematoso Sistêmico e Gestação. Femina. 2005; 33(6):541-61.

Franco RF. Fisiologia da coagulação do sangue e fibrinólise. In: Zago MA, Falcão RP, Pasquini R. Hematologia: fundamentos e prática. São Paulo: Editora Atheneu; 2004. p. 739-48.

Franco RF. Trombofilias Hereditárias. Medicina, Ribeirão Preto 2001; 34: 248-257.

Freitas MV, Silva LMS, Petean FC, Carvalho IF, Franco RF, Donadi EA, et al. Síndrome do Anticorpo Antifosfolípide: Estudo Comparativo das Formas Primárias e Secundárias. Rev Bras Reumatol. 2003; 43(3):153-9.

Gandrille S, Borgel D, Sala N, Espinosa-Parrilla Y, Simmonds R, Rezende S, Lind B, et al. Protein S Deficiency: A Database of Mutations – summary of the first update. Thrombo Haemost. 2000; 84(5):918

Giannakopoulos B, Passam F, Loannou Y, Krilis AS. How we diagnose the antiphospholipide syndrome. *Blood*. 2009; 113(5):985-94.

Glueck CJ, Gogenini S, Munjal J, Tracy T, Pranikoff J, Wang P. Factor V mutation: a treatable etiology for sporadic and recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril*. 2008; 89(2):410-6.

Goldenberg NA, Manco-Johnson MJ. Protein C deficiency. *Haemophilia*, 2008;14(6):1214-21.

Goodwin AJ, Rosendaal FR, Kottke-Marchant K, Bovill EG. A review of the technical, diagnostic, and epidemiologic considerations for protein S assays. *Arch Pathol Lab Med*. 2002; 126(11):1349-66.

Graham IM, Daly LE, Refsum HM, Robinson K, Brattström 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.

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

Hayashi M, Inoue T, Hoshimoto K, Hirabayashi H, Negishi H, Ohkura T. The levels of five markers of hemostasis and endothelial status at different stages of normotensive pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2002;81(3):208-13.

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.

Hellgren M. Haemostasis during normal pregnancy and puerperium. *Semin Thromb Hemost.* 2003;29(2):125–30.

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

Idzior-Walum B, Cyganek K, Sztéfko K, Seghieri G, Breschi MC, Walum-Miarka M, et al. Total plasma homocysteine correlates in women with gestational Diabetes. *Arch Gynecol Obstet.* 2008; 278(4):309-313

Kaham DA, Koos BJ. Maternal physiology during pregnancy. In: DeCherney AH, Nathan L, Goodwin TM, et al. *Current: obstetric and gynecology diagnosis and treatment.* 10th. New York: McGraw-Hill; 2007. p. 149-58.

Kang SS, Wong PW, Malinow MR. Hyperhomocyst(e)inemia as a risk factor for occlusive vascular disease. *Annu Rev Nutr.* 1992; 12:279-98.

Karakantza M, Androuspoulos 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.

Khong TY, Hague WM. The placenta in maternal hyperhomocysteinemia. *Br J Obstet Gynaecol.* 1999; 106(3):273-8.

Kjellberg U, Andersson N-EE., Rosen S, Tengborn L, Hellgren M. APC resistance and other haemostatic variables during pregnancy and puerperium. *Thromb Haemost.* 1999;81:527-31.

Kottke-Marchant K, Duncan A. Antithrombin deficiency: issues in laboratory diagnosis. *Arch Pathol Lab Med.* 2002; 126(11):1326-36.

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):414-424.

Kupferminc MJ, Eldor A, Steinman N, Many A, Bar-Am A, Jaffa A, et al. Increased frequency of genetic thrombophilia in women with complications of pregnancy. *N Engl J Med.* 1999; 340(1):9-13.

Lane DA, Bayston T, Olds RJ, Fitches AC, Cooper DN, Millar DS, et al. Antithrombin mutation database: 2nd (1997) update. For the Plasma Coagulation Inhibitors Subcommittee of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. *Thromb Haemost.* 1997; 77(1):197-211.

Lane DA, Mannucci PM, Bauer KA, Bertina RM, Bochkov NP, Boulyjenkov V, et al.
Inherited thrombophilia: part 1. *Thromb Haemost.* 1996a; 76(5):651-62.

Lane DA, Mannucci PM, Bauer KA, Bertina RM, Bochkov NP, Boulyjenkov V, et al.
Inherited thrombophilia: part 2. *Thromb Haemost.* 1996b; 76(5):824-34.

Liberti G, Bertina RM, Rosendaal FR. Hormonal state rather than age influences cut-off values of protein S: reevaluation of the thrombotic risk associated with protein S deficiency. *Thromb Haemost.* 1999; 82(3):1093-1096

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

Lin J, August P. Genetic thrombophilias and preeclampsia: a meta-analysis. *Obstet Gynecol.* 2005; 105(1):182-192

Lima J. Trombofilias e gravidez. *Boletim da SPHM* . 2006; 21(3):6-23.

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

Lockwood CJ. Inherited thrombophilias in pregnant patients: detection and tr. *Prenat Neonat Med* 2001; 6:3-14.

López-Quesada EL, Vilaseca MA, González S. Homocisteína y gestación. *Med Clin Barc.* 2000; 115(9):352-6.

Louzada-Jr P, Simon SM, Voltarelli JC, Donadi EA. Síndrome do Anticorpo Antifosfolípide. *Medicina Ribeirão Preto* 1998, 33:305-15.

Mackie I, Cooper P, Kitchen S. Quality assurance issues and interpretation of assays. *Semin Hematol.* 2007; 44(2):114–25.

Maclean PS, Tait RC. Hereditary and acquired antithrombin deficiency: epidemiology, pathogenesis and treatment options. *Drugs.* 2007; 67(10):1429–40.

Many A, Elad R, Yaron Y, Eldor A, Lessing JB, Kupfermic MJ. Third-trimester unexplained intrauterine fetal death is associated with inherited thrombophilia. *Obstet Gynecol.* 2002; 99(5 Part 1):684-7

Martinelli I, Mannucci PM, De Stefano V, Taioli E, Rossi V, Crosti F, et al. Different risks of thrombosis in four coagulation defects associated with inherited thrombophilia: a study of 150 families. *Blood.* 1998; 92(7):2353–8.

Mattar R, Camano L, Daher S. Aborto espontâneo de repetição e atopia. *Rev Bras Ginecol Obstet* 2003; 25(5):331-335.

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

Medeiros SF. Abortamento Habitual. In: FEBRASGO. Tratado de Ginecologia, Vol 1, Rio de Janeiro (RJ); Revinter 2001;565-576.

Mezzesimi A, Florio P, Reis FM, Aniello GD, Sabatini L, Razzi S, et al. The detection of anti- β 2-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.

Milman N, Byg KE, Hvas AM, Bergholt T, Eriksen L. Erythrocyte folate, plasma folate and plasma homocysteine during normal pregnancy and postpartum: a longitudinal study comprising 404 Danish women. *Eur J Haematol.* 2006; 76(3):200-5.

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. *J Thromb Haemost.* 2006; 4(2):295-306.

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

Mosnier LO, Zlokovic BV, Griffin JH. The cytoprotective protein C pathway. *Blood.* 2007; 109(8): 3161–72.

Nakashima A, Kobayashi T, Terao T. Fibrinolysis during normal pregnancy and severe preeclampsia: relationships between plasma levels of plasminogen activators and inhibitors. *Gynecol Obstet Invest.* 1996;42(2):95–101.

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

O’Riordan MN, Hinggis JR. Haemostasis in normal and abnormal pregnancy. *Best Prac Res Clin Obstet Gynaecol.* 2003;17(3):385–96.

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.

Paniccia R, Domenico P, Bandinelli B, Fedi S, Giusti B, Pepe G, et al. Plasma and serum levels of D dimer and their correlation with other haemostatic parameters in pregnancy. *Thromb Res.* 2002;105(3):257–62.

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

Patnaik MM, Moll S. Inherited antithrombin deficiency: a review. *Haemophilia.* 2008; 14(6):1229-39.

Petäjä J, Manco-Johnson MJ. Protein C pathway in infants and children. *Semin Thromb Hemost.* 2003; 29(4):349–61

Picciano MF. Is homocysteine a biomarker for identifying women at risk of complications and adverse pregnancy outcomes. *Am J Clin Nutr.* 2000; 71(4):857-8.

Piura B, Tauber E, Dror Y, Sarov B, Buskila D, Slor H, Shoenfeld Y. Antinuclear antibodies in healthy pregnant and pregnant women and their offsprings. *Am J Reprod Immunol.* 1991; 26(1):28-31.

Powers RW, Evans RW, Majors AK, Ojimba JI, Ness RB, Crombleholme WR, et al. Plasma homocysteine is increased in preeclampsia and is associated with evidence of endothelial activation. *Am J Obstet Gynaecol.* 1998; 179(6 Pt 1):1605-11.

Preston FE, Rosendaal FR, Walker ID, Briet E, Berntorp E, Conard J, et al. Increased fetal loss in women with heritable thrombophilia. *Lancet.* 1996; 348(9032):913-6.

Rai R, Regan L, Clifford DK, Pickering W, Dave M, Mackie I, et al. Antiphospholipid antibodies and beta2-glycoprotein 1 in 500 women with recurrent miscarriage: results of a comprehensive screening approach. *Hum Reprod.* 1995a; 10(8):2001-5.

Rai RS, Clifford K, Cohen H, Regan L. High prospective fetal loss rate in untreated pregnancies of women with recurrent miscarriage and antiphospholipid antibodies. *Hum Reprod.* 1995b; 10(12):3301-4.

Raziel A, Kornberg Y, Friedler S, Schachter M, Sela BA, Ron-El R. Hypercoagulable thrombophilic defects and hyperhomocysteinemia in patientes with recurrent pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol* 2001; 45(2):65-71

Rey E, Kahn SR, David M, Shrier I. Thrombophilic disorders and fetal loss: a meta-analysis. *Lancet* . 2003; 361(9361):901-8.

Rezende SM, Simmonds RE, Lane DA. Coagulation, inflammation, and apoptosis: different roles for protein S and the protein S-C4b binding protein complex. *Blood*. 2004; 103(4): 1192-201.

Reznikoff-Etièvant MF, Cayol V, Carbonne B, Robert A, Coulet F, Milliez J. Factor V Leiden and G20210A prothrombin mutations are risk factors for very early recurrent miscarriage. *BJOG*. 2001; 108(12):1251-4.

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.

Robetorye RS, Rodgers GM. Update on selected inherited venous thrombotic disorders. *Am J Hematol*. 2001; 68(4):256-68.

Schieve LA, Tayham 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):959-67.

Schust DJ, Hill JA. Abortamento recorrente. In: Berek JS editor. *Tratado de Ginecologia* 13^o ed. Rio de Janeiro (RJ): Guanabara Koogan; 2005; 996-1023.

Sebire NJ, Backos M, El Gaddal S, Godin RD, Regan L. Placental pathology, antiphospholipid antibodies, and pregnancy outcome in recurrent miscarriage patients. *Obstet Gynecol.* 2003;101(2):258-63.

Seligsohn U, Lubetsky A. Genetic susceptibility to venous thrombosis. *N Engl J Med.* 2001; 344(16): 1222-31.

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.

Silva PH, Hashimoto Y. *Coagulação: visão laboratorial da hemostasia primária e secundária.* Rio de Janeiro: Livraria e Editora Revinter; 2006.

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

Steegers-Theunissen RP, Wathen NC, Eskes TK, Van Raaij-Selten B, Chard T. Maternal and fetal levels of methionine and homocysteine in early human pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol.* 1997; 104(1):20-4.

Tait RC, Walker ID, Perry DJ, Islam SI, Daly ME, McCall F, et al. Prevalence of antithrombin deficiency in the healthy population. *Br J Haematol.* 1994; 87(1):106–12.

ten Kate MK, van der Meer J. Protein S deficiency: a clinical perspective. *Haemophilia*. 2008; 14(6):1222-8.

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

Tranquilli AL, Giannubilo SR, Dell’Uomo B, Grandone E. Adverse pregnancy outcomes are associated with multiple maternal thrombophilic factors. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2004; 117(2):144-7.

Travassos AC, Rocha MC, Souza S, Brandão C, Silva JF, Santiago M: Frequência dos anticorpos antifosfolípidos (aFL) em portadores de lúpus eritematoso sistêmico (LES) no Estado da Bahia. *Rev Bras Reumatol*. 2000; 40:183-8.

Uchikova EH, Ledjev II. Changes in haemostasis during normal pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2005;119(2):185–8.

Uehara SK, Baluz K, Rosa G. Possíveis mecanismos trombogênicos da hiperhomocisteinemia e o seu tratamento nutricional. *Rev Nutr Campinas*. 2005; 18(6):743-51.

Van Cott EM, Soderberg BL, Laposata M. Activated protein C resistance, the factor V Leiden mutation, and a laboratory testing algorithm. *Arch Pathol Lab Med*. 2002; 126(5):577-82.

van der Molen EF, Verbruggen B, Nováková I, Eskes TKAB, Monnens LAH, Blom HJ. Hyperhomocysteinemia and other thrombotic risk factors in women with placental vasculopathy. *BJOG*. 2000; 107(6):785-91.

van Dunné FM, Doggen CJ, Heemskerk M, Rosendaal FR, Helmerhorst FM. Factor V Leiden mutation in relation to fecundity and miscarriage in women with venous thrombosis. *Hum Reprod*. 2005; 20(3):802–6.

Vicente V, Rodríguez C, Soto I, Fernández M, Moraleda JM. Risk of thrombosis during pregnancy and post-partum in hereditary thrombophilia. *Am J Hematol*. 1994; 46(2):151-2.

Vinatier D, Dufour P, Cosson M, Houpeau JL. Antiphospholipid syndrome and recurrent miscarriages. *Eur J Obstet Gynaecol Reproduct Biol*. 2001; 96(1):37-50.

Vora S, Shrimati S, Salvi V, Stokar 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, Smith GN, Perkins SL, Keely EJ, Garner PR. Changes in homocysteine levels during normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 1999; 180(3 Pt 1):660-4.

Wells PS, Blajchman MA, Henderson P, Wells MJ, Demers C, Bourque R, et al. Prevalence of antithrombin deficiency in healthy blood donors: a cross-sectional study. *Am J Hematol*. 1994; 45(4):321–4.

Wickstrom K, Edelstam G, Löwbeer CH, Hansson LO, Siegbahn A. Reference interval for plasma levels of fibronectin, von Willebrand factor, free protein S and antithrombin during third- trimester pregnancy. *Scand J Clin Lab Invest* 2004;64(1):31–40.

APÊNDICE

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO

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 sanguínea. A presença de anticorpos antifosfolípides e trombofilias está relacionada a trombooses de veias ou artérias, e complicações obstétricas como perdas fetais recorrentes, morte fetal inexplicada no segundo e terceiro trimestres de gestação e pré-eclâmpsia. A trombose é a formação de coágulo sanguíneo 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 20ª 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 durante a gestação. 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 devido a presença dos anticorpos antifosfolípides que são encontrados normalmente em pacientes que possuem esta doença. As pacientes que possuem história de abortamento recorrente e perdas fetais onde as causas não foram descobertas, podem possuir a presença de anticorpos antifosfolípides e ou fatores para trombofilias, que podem 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. 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 um dos exames será 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 de um dos fatores para o risco de trombofilia). O sangue coletado será utilizado única e exclusivamente para as dosagens deste projeto. Caso seja encontrada qualquer alteração nos exames realizados para este estudo, a Sra será comunicada e receberá toda orientação e acompanhamento 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. 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. 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 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. Não ocorrendo perda de nenhum benefício ao qual a Sra tenha direito, nem deixará 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 A PRESENÇA DE TROMBOFILIAS ADQUIRIDAS E HEREDITÁRIAS E A OCORRÊNCIA DE ABORTAMENTOS RECORRENTES, PERDAS FETAIS E OUTRAS COMPLICAÇÕES OBSTÉTRICAS**. 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 B - PROTOCOLO DE ESTUDO

Dados de Identificação Pessoal:

Nº Prontuário HU: _____

Iniciais: _____ Idade: _____ Raça: _____

História da Gestação Atual

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

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

Evolução de gestações anteriores: _____ + _____

Antecedentes pessoais patológicos: _____

Uso de Medicamentos: _____

Exames:

✓ Pesquisa de trombofilias adquiridas:

☐ ANTI-CARDIOLIPINA IgM

☐ Resultado: _____

☐ ANTI-CARDIOLIPINA IgG

☐ Resultado: _____

☐ ANTICOAGULANTE LÚPICO:

☐ Resultado: _____

☐ ANTI-B2-GLICOPROTEÍNA I (B2 GP I)

☐ Resultado: _____

✓ Pesquisa de trombofilias hereditárias:

☐ NÍVEIS SÉRICOS DE PROTEÍNA C

☐ Resultado: _____

☐ NÍVEIS SÉRICOS DE PROTEÍNA S

☐ Resultado: _____

☐ NÍVEIS SÉRICOS DE ANTITROMBINA

☐ Resultado: _____

☐ DOSAGEM DE HOMOCISTEÍNA PLASMÁTICA

☐ Resultado: _____

☐ PESQUISA DE MUTAÇÃO NO GENE DO FATOR V (LEIDEN)

☐ Resultado: _____

ANEXO

ANEXO A – CARTA DE APROVAÇÃO



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 antifosfolipídios 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. Osair 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/etica/cep/>
etica@propp.ufms.br
fone 0XX67 345-7187