ANTICUERPOS ANTIFOSFOLÍPIDOS EN EMBARAZO NORMAL A TÉRMINO Y ABORTO ESPONTÁNEO RECURRENTE

Sarah Bethencourt[1], Robert Tovar[2], Francisco Mendoza[2], Loida Ponce[2], Julie Verzura[2], José Corado[2], Sioly de Orta[2]

[1] Escuela de Bioanálisis, [2] Escuela de Ciencias Biomédicas y Tecnológicas.
Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo.
Recibido para publicación el 2 de febrero 2016. Aprobado para publicación el 29 de abril 2017.

RESUMEN:
Los anticuerpos antifosfolípidos son una familia heterogénea de inmunoglobulinas que se unen a los fosfolípidos, cargados negativamente, presentes en las membranas celulares. Los anticuerpos anticardiolipinas y los anticoagulantes lúpicos, principales representantes de esta familia de autoanticuerpos, están siendo relacionados con complicaciones obstétricas, principalmente abortos a repetición. Se determinó la significación clínico biológica de estos autoanticuerpos en una muestra conformada por 45 mujeres con embarazo normal y 35 con más de 2 abortos a repetición, para ello se determinaron en sangre periférica IgM e IgG anticardiolipinas (ACA) y antiβ2glicoproteina con el método de ELISA. Los resultados muestran que 11,1% de las mujeres con embarazo normal fueron positivas para IgM ACA, mientras que en las pacientes con aborto a repetición el porcentaje de positividad fue de 23%. En cuanto a la IgG ACA se obtuvo 15% de positividad en las mujeres con embarazo normal vs 57% en las pacientes con aborto a repetición (p<0,001). En el caso de la IgM anti β2 glicoproteína se encontró una positividad de 1% en las mujeres con embarazo normal vs 43% en las pacientes con aborto a repetición (p<0,001), la positividad de la IgG anti anti β2 glicoproteína fue de 20% en las mujeres con embarazo normal y de 9% en pacientes con aborto a repetición. Se concluye que IgG ACA e IgM anti β2 glicoproteína se encontraron asociadas a problemas obstétricos.

Palabras claves: Anticuerpos anticardiolipinas, anticuerpos anti β2 glicoproteína, embarazo, aborto recurrente.

ANTIPHOSPHOLIPID ANTIBODIES IN NORMAL PREGNANCY AND SPONTANEOUS ABORTIONS TO REPETITION

SUMMARY
Antiphospholipid antibodies are a heterogeneous family of immunoglobulin that interact with negatively charged phospholipids present in cellular membranes. The main representatives of antiphospholipid family of autoantibodies are anticardiolipin and lupus's anticoagulant antibodies, both of them have been implicated in obstetrical complications, mainly in spontaneous abortions to repetition. In this work, the incidence of serum autoantibodies in a shaped sample
45 women with normal pregnancies and 35 women with more than 2 abortions to repetition was determined. IgM and IgG isotypes anticardiolipins antibodies (ACA) and anti beta2glycoprotein I (antiβ2GPI) were measured using the ELISA technique. Our results show that 11.1% of women with normal pregnancies were positive for IgM ACA, whereas 23% of women with spontaneous abortions to repetition were positive for the same isotype. IgG ACA was found positive in 15% of women with normal pregnancies against 57% in women with abortions (p<0,01). IgM antiβ2GPI isotype was positive in 1% of women with normal pregnancies against 43% of women with abortions to repetition (p<0,001), IgG antiβ2GPI was found positive in 20% of women with normal pregnancies and in 9% of women with abortions. These results suggest that IgG ACA and IgM antiβ2GPI may play a role in the induction of spontaneous abortions to repetition.

Keywords: Anticardiolipin antibodies, anti β2 glycoprotein antibodies, pregnancy, recurrent abortion.

Introducción

Los mecanismos fisiológicos, tanto sistémicos como locales en el útero, que se producen durante el embarazo son regulados por interacciones entre hormonas esteroideas, péptidos y componentes del sistema inmunitario (SI); este conjunto de metabolitos actúa de manera sincronizada en la preparación del endometrio y la placenta para garantizar el desarrollo fetal (1). El embarazo es un alotrasplante de 40 semanas de duración, en un organismo inmunocompetente, cuya evolución fisiológica o patológica está íntimamente ligada al desarrollo de la placenta o interfase materno-fetal (2,3,4).

Una complicación frecuente en el embarazo es el

Solicitar copia a: Sarah Bethencourt, sbethenc@uc.edu.ve

aborto espontáneo recurrente, definido como tres o más pérdidas espontáneas antes de las 20 semanas de gestación, sus causas se atribuyen a infecciones, alteraciones en las estructuras anatómicas, factores genéticos y hormonales, y trastornos del sistema inmunitario. Aproximadamente 80% de los abortos espontáneos, son de causa desconocida; sin embargo, cada día cobran más importancia las alteraciones del sistema inmunitario como posibles desencadenantes, ya que al ser el feto un trasplante semi alogenéico es indispensable que este sistema desarrolle mecanismos de adaptación que permitan la tolerancia fetal, si esto no ocurre el riesgo de pérdida del embarazo es elevado (5,6). Entre las causas de origen inmunológico más frecuentemente invocadas se incluye la presencia de anticuerpos antifosfolípidos (aAF) y el desarrollo del síndrome antifosfolípido (SAF) (7,8,9).

Los aAF son un grupo heterogéneo de autoanticuerpos (IgM, IgG o IGA), cargados negativamente, que reconocen diversas moléculas entre las que se incluyen β2 glicoproteína I, protrombina, proteína C activada, activador del plasminógeno tisular, plasmina, anexina II y cardiolipina de la membrana mitocondrial. Esta familia de autoanticuerpos está conformada por el anticoagulante lúpico (LAC) que se estudia usando una técnica funcional de coagulación), y los anticuerpos anticardiolipina (ACA) y anti (anti-β2 GPI), detectados mediante ELISA (10,11). Los anticuerpos antifosfolípidos pueden estar presentes en 1-5 % de la población general, aunque el SAF tiene una prevalencia menor de 0,5 %, con una relación mujer:hombre de 5:1 (12,13).

En general, el Síndrome antifosfolípido puede desarrollarse en la infancia o en la vida adulta, en ambos sexos, y es una entidad clínica caracterizada por la presencia en el suero de títulos elevados de anticuerpos antifosfolípidos, asociada con uno o más eventos de trombosis arterial o venosa, y trombocitopenia. Este tipo de desorden autoinmune, puede ser primario, y aislado, o secundario asociado a otros trastornos del sistema inmunitario tales como el Lupus Eritematoso Sistémico (LES), el Síndrome de Sjögren, la Artritis Reumatoide, las Vasculitis y la Esclerosis Sistémica Progresiva (14,15,16). El SAF obstétrico, en particular, se caracteriza por criterios biológicos, dados por la presencia de los anticuerpos antifosfolípidos, y criterios clínicos del tipo de infertilidad, abortos recurrentes, retardo en el crecimiento intrauterino, preeclampsia y síndrome de HELLP. El diagnóstico de SAF obstétrico requiere que la paciente presente al menos un (1) criterio biológico y un (1) clínico (17,18).

A pesar de que se han reportado numerosos estudios sobre anticuerpos antifosfolípidos y síndrome antifosfolípido, en relación con los trastornos de la fertilidad y el desarrollo del embarazo, en particular con el aborto espontáneo recurrente (19,20), no hay respuestas concluyentes en cuanto al papel que en forma directa ejercen estos anticuerpos en la infertilidad, implantación o morbilidad durante la gestación; lo que si esta claro es que su acción en estos procesos es controversial, y, por tanto, se recomienda evitar procedimientos de fertilización in vitro, en pacientes con historia de positividad para anticuerpos antifosfolípidos y fallas en la implantación (21,22,23). La escasa literatura al respecto en nuestro medio nos animó a efectuar el presente trabajo.

Materiales y Métodos

Recolección de la muestra y procesamiento

Previo consentimiento informado, se obtuvieron muestras de sangre, mediante venopunción de la región flexora del codo, de 45 mujeres con embarazo normal a término (ENAT), sin historia de abortos, y 35 mujeres que presentaron abortos espontáneos recurrentes (EAR), que asistieron a la consulta de Ginecología y Obstetricia de la Ciudad Hospitalaria Dr. Enrique Tejera (CHET). Los criterios de inclusión establecidos para todas las pacientes tanto ENAT y EAR eran: no presentar manifestaciones clínicas previas o actuales de enfermedad autoinmune de base, ser normotensas, no cardiópatas. En cuanto a las pacientes con abortos se estableció como criterio de inclusión el haber sufrido más de 2 abortos espontáneos a repetición de menos de 22 de semanas de gestación. Las muestras fueron colocadas en tubos siliconados, sin anticoagulante, y llevadas baño de María a 37 °C, durante 10 minutos, para favorecer la retracción del coágulo. Posteriormente fueron centrifugadas a 2500 rpm por 10 minutos para obtener el suero; el cual fue alicuotado en criotubos estériles y conservado a -70°C en un Revco hasta su procesamiento.

Determinación de IgM e IgG anticardiolipinas y anti β2 glicoproteina 1

Las concentraciones de los anticuerpos IgM e IgG anticardiolipina y anti β2 glicoproteína I, se determinaron mediante la técnica de inmunoensayo enzimático de fase sólida (ELISA), Inmuco Diagnóstic. Las muestras de suero, previamente diluidas 1/100, fueron incubadas

en los micropozos sensibilizados, respectivamente, con los antígenos cardiolipina o β2 glicoproteína I, a temperatura ambiente durante 30 minutos. Siguiendo las recomendaciones de la casa comercial se practicaron 3 lavados con solución provista por la casa comercial para este propósito. Para la detección de los anticuerpos unidos a la microplaca se usaron anticuerpos, policlonales, anti IgM e IgG humanos conjugados a la enzima peroxidasa de rábano, los cuales se ponen de manifiesto al agregar el sustrato específico TMB, produciéndose una reacción colorimétrica, cuya intensidad es directamente proporcional a la cantidad de los anticuerpos presentes en las muestras. La reacción enzimática se detiene agregando ácido sulfúrico y se determina la densidad óptica de cada pozo por espectrofotometría a 405 nm con un filtro diferencial de 630nm, en un lector de ELISA. Se efectuó curva de calibración y los controles positivo y negativo, todas las muestras se procesaron por duplicado.

Los resultados tanto de las ACA IgG e IgM como de la anti β2 GPL I fueron expresados según la clasificación de Harris en unidades GPL (IgG) y MPL (IgM), donde cada unidad GPL o MPL corresponde a una U/mL en la curva de calibración. Las diferencias en la expresión de los resultados estriba en los puntos de corte, considerándose positivos para las IgG ACA resultados > 19 GPL y para las IgM ACA >10 MPL, mientras que, para la anti β2 GPL I (IgG e IgM) valores > 25 GPL y MPL, respectivamente.

Los datos obtenidos en las poblaciones estudiadas, fueron reportados bajo la forma de porcentajes de positividad, se aplicó la t de Student para comparar las medias de los grupos en estudio, y la prueba Z para determinar si había correlación entre las variables, cualquier valor de p< 0,05, fue considerado significativo.

Resultados

Niveles séricos de IgM e IgG anticardiolipinas (ACA) y anti β2 glicoproteina 1 (anti β2 GPL I)

En el gráfico 1 se muestra las medias aritméticas y desviaciones estándar de los valores séricos de los isotipos IgM e IgG ACA, en mujeres con embarazos normales (ENAT) y en mujeres con abortos espontáneos a repetición (EAR). Observándose que los niveles séricos de IgG ACA son más elevados (30,17 ± 27,89) en el grupo de mujeres con abortos espontáneos a repetición que los niveles de IgM ACA (8,41 ± 2,13), con una diferencia altamente significativa (p<0,01). En las mujeres con embarazos normales los niveles séricos

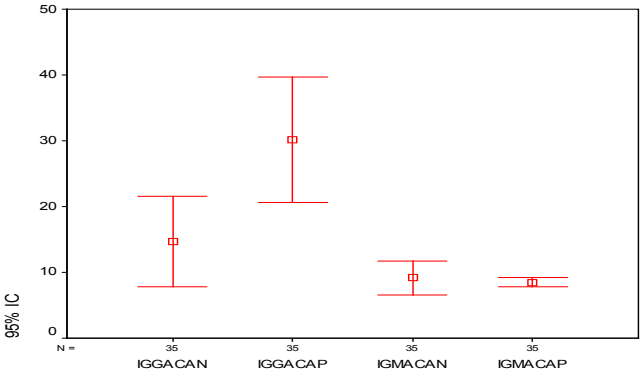


Gráfico 1. Niveles séricos de IgG/IgM de Anticuerpos anticardilipina (ACA) en pacientes con embarazos normales a término(N) y en pacientes con abortos(P).

de IgG ACA (14,14 ± 19,88) e IgM ACA (8,80 ± 6,70) no mostraron diferencias estadísticamente significativas. En el gráfico 2 se muestran las medias aritméticas y desviación estándar de los valores de IgM e IgG anti β2 GPI, en ambos grupos de estudio. En las mujeres con abortos espontáneos a repetición se observa que los valores (5,81 ± 4,13) de IgG anti β2 GPI son menores que los de IgM anti β2 GPI (19,03 ± 10,54), siendo la diferencia estadísticamente significativa (p<0,01). En las mujeres con embarazos normales los niveles séricos de IgG anti β2 GPI (16,54 ± 18,71) e IgM anti β2 GPI (4,83 ± 1,64) no mostraron diferencias estadísticamente significativas.

En el gráfico 3 se observa el % de positividad de los niveles séricos de ACA IgM (11,1%) e IgG (37,8%) en

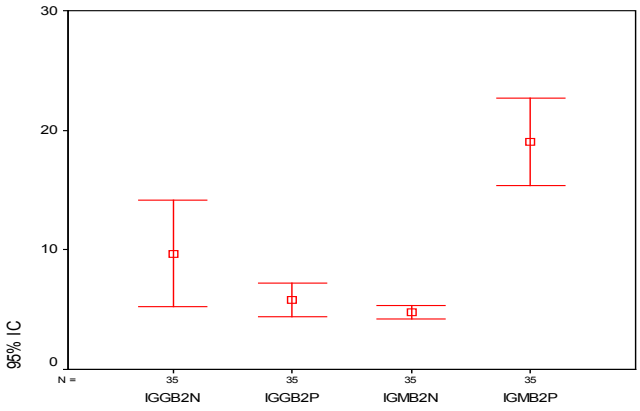
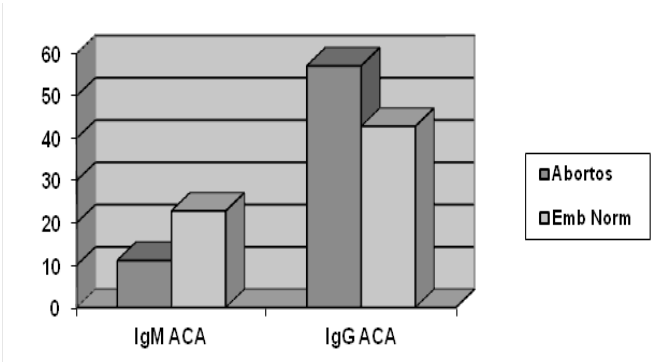


Gráfico 2. Niveles séricos de IgM/IgG de Anticuerpo Anti β2 glicoproteina I en pacientes con embarazos normales a término (N) y en pacientes con abortos (P).

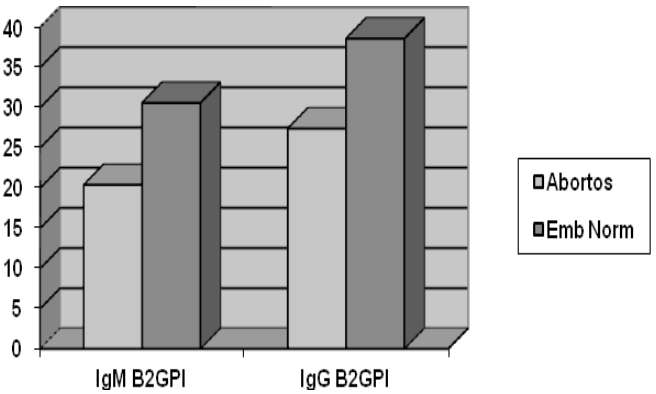


IgM ACA Emb Normales Vs IgM ACA Abortos p>0,05
IgG ACA Emb Normales Vs IgG ACA Abortos p< 0,01
(Pruebas estadísticas utilizadas, prueba Z y Chi cuadrado)

Gráfico 3. Isotipos IgM/IgG de Anticuerpos Anticardiolipina entre mujeres con Embarazos normales y mujeres con abortos.

las pacientes con ENAT, así como, los de ACA IgM (22,8%) e IgG (57,1%) en las mujeres con AER, al comparar dichos porcentajes se encontró una diferencia significativa (p<0,01). Se muestran los porcentajes de positividad (IgG vs IgM) en el grupo de pacientes con AER, evidenciándose una asociación altamente significativa con una p<0,001, del isotipo IgG con AER.

En el gráfico 4 se muestra el % de positividad de los niveles séricos de B2 glicoproteina1 IgM (4,5%) e IgG (24,4%) en las pacientes con ENAT, así como, los de B2



IgM β2 GPI Embarazos Normales Vs IgM β2 GPI abortos p<0,05
IgG β2 GPI Embarazos Normales Vs IgG β2 GPI abortos p>0,05
(Pruebas estadísticas utilizadas, prueba Z y Chi cuadrado)

Gráfico 4. Isotipos IgM/IgG de Anticuerpos Anti β2 Glicoproteína I en mujeres con embarazos normales y en mujeres con abortos.

glicoproteina1 IgM (42,9%) e IgG (8,6%) en las mujeres con AER, al comparar dichos porcentajes se encontró una diferencia significativa (p<0,01). Al investigar la correlación de los porcentajes de positividad del isotipo IgM, en ambos grupos, se encontró una asociación significativa (p<0,05) entre dicho isotipo y AER, tal como se observa en este gráfico.

Discusión

Se ha estimado que la prevalencia de aAF es de aproximadamente 5% en la población general, mientras que la del SAF es de 0,5%. Cuando se trata de mujeres multíparas la prevalencia de los aAF puede alcanzar hasta 15%. Investigaciones previas (24,25,26,27,28) reportan una gran variabilidad para estos dos isotipos en los grupos objeto de estudio. Por el contrario, resultados discrepantes con los obtenidos en esta investigación encontraron que el isotipo IgM ACA estuvo presente en aproximadamente el 75% de los casos de abortos. (29,30,31)

Se determinó anticuerpos contra la β2 glicoproteina I la cual se comporta como un antígeno proteico que se encuentra asociado con frecuencia a la cardiolipina. Se observa que los porcentajes de positividad son mayores en el isotipo IgG anti β2 glicoproteina I en las mujeres con embarazos normales que en las mujeres con abortos (24,4% vs. 8,6%%) aun cuando no se encontró diferencia significativa (p>0,05) (17,19,24,32). Con respecto al isotipo IgM de la anti β2 glicoproteina I se observa un porcentaje mayor de positividad en las pacientes con abortos con respecto a las pacientes con embarazos normales (49,9% vs. 4,5%) encontrándose una asociación significativa entre los niveles de IgM anti β2 glicoproteina I y abortos, sin embargo, aun cuando los niveles séricos del isotipo IgM obtenidos fueron mayores que los del isotipo IgG no se encontraron diferencias estadísticamente significativas asociadas a este hallazgo.(p>0,05) (33,34,35).

En otras investigaciones se observan resultados similares aun cuando los porcentajes de positividad encontrados son superiores a los encontrados en este estudio. (18,23,36) Al analizar los resultados de los niveles séricos de anticuerpos IgM/IgG Anti cardiolipina y anti β2 glicoproteina I se puede concluir, que el isotipo IgG de ACA presenta niveles mayores que el isotipo M en las mujeres con embarazos normales aun cuando esto no arroje una diferencia significativa, el isotipo IgM de la anti β2 glicoproteina I se observó en menor % de positividad en los embarazos normales que el isotipo G aun cuando no tuvo ninguna significación. Se encontró una

asociación significativa entre IgG ACA y la IgM anti β2 glicoproteina I con los abortos, aunque una parte de la población estudiada que, a pesar de tener niveles positivos para estos anticuerpos, no manifestaron complicaciones obstétricas, lo que se explica por la heterogeneidad antigénica y de efecto que presentan estos anticuerpos. (11,26,32,23)

Los objetivos del presente estudio se basaron en establecer los niveles séricos de los isotipos IgM/IgG de anticuerpos anticardiolipinas aCL y anticuerpos anti β2 glicoproteina I, en pacientes con embarazos normales a término y en pacientes que presentaban abortos recurrentes a repetición. Los aCL y aβ2-GPI se determinan por inmunoensayos, representando sus niveles en suero, la medida inmunológica de la reactividad frente a un fosfolípido o una proteína de unión al fosfolípido (cardiolipina y β2-GPI, respectivamente). En general, la especificidad de aCL para APS aumenta con título y es mayor para la IgG que para el IgM e IgA de isotipo. No existe ninguna asociación definitiva entre la clínica específica manifestaciones y subgrupos particulares de la APL. Por lo tanto, múltiples pruebas para AAF se deben utilizar, ya que los pacientes pueden ser seronegativos para un tipo de anticuerpo y de acuerdo con otro isotipo arrojar una prueba positiva.

Referencias

1. Li M, Schwerbrock NM, Lenhart PM, Fritz-Six KL, Kadmiel M, Christine KS, et al. Fetal-derived adrenomedullin mediates the innate immune milieu of the placenta. J Clin Invest 2013;123(6):2408-2420.
2. Piccinni MP. T cell tolerance towards the fetal allograft. J Reprod Immunol 2010;85(1):71-75.
3. Zenclussen ML, Thuere C, Ahmad N, Wafula PO, Fest S, Teles A, et al. The persistence of paternal antigens in the maternal body is involved in regulatory T-cell expansion and fetal-maternal tolerance in murine pregnancy. Am J Reprod Immunol 2010;63(3):200-208.
4. El Costa H, Casemayou A, Aguerre-Girr M, Rabot M, Berrebi A, Parant O, et al. Critical and Differential Roles of NKp46- andNKp30-Activating Receptors Expressed by Uterine NK Cells in Early Pregnancy. J Immunol 2008;181:3009-3017.
5. Santner-Nanan B, Straubinger K, Hsu P, Parnell G, Tang B, Xu B, et al. Fetal-maternal alignment of regulatory T cells correlates with IL-10 and Bcl-2 upregulation in pregnancy. J Immunol 2013;191(1):145-153.
6. Ernest JM, Marshburn PB, Kutteh WH. Obstetric antiphospholipid syndrome: an update on pathophysiology and management. Semin Reprod Med 2011;29(6):522-539.
7. Sanguansermsri D, Pongcharoen S. Pregnancy Immunology: Decidual Im-mune Cells. Asian Pac J Allergy 2008;26:171-181.
8. Marchetti T, Cohen M, Gris J, Moerloose P. Diagnosis and management of obstetrical antiphospholipid syndrome: where do we stand? Pol Arch Med Wewn 2013;123(12):713-720.
9. Andreoli L, Fredi M, Nalli C, Piantoni S, Reggia R, Dall'Ara F, et al. Clinical Significance of IgA Anti-Cardiolipin and IgA Anti-β2Glycoprotein I Antibodies. Curr Rheumatol Rep 2013;15(7):343. doi: 10.1007/s11926-013-0343-1.
10. Rawat A, Sikka M, Rusia U, Guleria K. Lupus anticoagulants and anticardiolipin antibodies in Indian women with spontaneous, recurrent fetal loss. Indian J Hematol Blood Transfus 2015;31(2):281-285.
11. Kutteh WH1, Hinote CD2. Antiphospholipid Antibody Syndrome. Obstet Gynecol Clin North Am 2014;41(1):113-132.
12. Otomo K, Atsumi T. The significance of antiphospholipid antibodies tests. Jpn J Clin Inmunol 2013;36(2):63-70.
13. Ruffatti A, Calligaro A, Hoxha A, et al. Laboratory and clinical features of pregnant women with antiphospholipid syndrome and neonatal outcome. Arthritis Care Res 2010;62(3):302-307.
14. Andreoli L, Chighizola CB, Banzato A, Pons-Estel GJ, de Jesús GR, Erkan D, et al. On behalf of APS ACTION. The estimated frequency of antiphospholipid antibodies in patients with pregnancy morbidity, stroke, myocardial infarction, and deep vein thrombosis. Arthritis Care Res 2013;65(11):1869-1873
15. Kwak-Kim J, Agcaoili MS, Aleta L, Liao A, Ota K, Dambaeva Set, et al. Management of women with recurrent pregnancy losses and antiphospholipid antibody syndrome. Am J Reprod Immunol 2013;69(6):596-607. doi: 10.1111/aji.12114
16. Marchetti T, Cohen M, and de Moerloose P. Obstetrical Antiphospholipid Syndrome: From the Pathogenesis to the Clinical and Therapeutic Implications. Clinical and Developmental Immunology 2013;159124. doi: 10.1155/2013/159124.
17. Derksen RH and de Groot PG. The obstetric antiphospholipid syndrome. J Reprod Immunol 2008;77(1):41–50.
18. Ravelli A and Martini A. Antiphospholipid Syndrome in Pediatrics. Rheum Dis Clin N Am 2007;33:499–523
19. Sweiss NJ, Bo R, Kapadia R, Manst D, Mahmood F, Adhikari T, et al. IgA anti-beta2-glycoprotein I autoantibodies are associated with an increased risk of thromboembolic events in patients with systemic lupus erythematosus. PLoS One. 2010;19;5(8):e12280. doi. org/10.1371/journal.pone.0012280
20. Willis R, Pierangeli SS. Anti-β2 -glycoprotein I antibodies. Ann N Y Acad Sci. 2013;1285(1):44-58.
21. Luma HN, Doualla MS, Temfack E, Bagnaka SA, Mankaa EW, Fofung D. The antiphospholipid antibody syndrome: a case report. Int Med Case Rep J 2012;5;5:63-67.
22. Mekinian A, Loire-Berson P, Nicaise-Roland P,

Lachassinne E, Stirnemann J, Boffa MC, et al. Outcomes and treatment of obstetrical antiphospholipid syndrome in women with low antiphospholipid antibody levels. J Reprod Immunol 2012;94(2):222-226. doi.org/10.1016/j.jri.2012.02.004

23. Chauleur C, Galanaud JP, Alonso S, Cochery-Nouvellon E, Balducchi JP, Marés P, et al. Observational study of pregnant women with a previous spontaneous abortion before the 10th gestation week with and without antiphospholipid antibodies. J Thromb Haemost 2010;8(4):699-706.
24. Alijotas-Reig J, Casellas-Caro M, Ferrer-Oliveras R, Llurba-Olive E, Hermosilla E, Vilardell-Tarrés M. Are anti-beta-glycoprotein-I antibodies markers for recurrent pregnancy loss in lupus anticoagulant/anticardiolipin seronegative women? Am J Reprod Immunol 2008;60(3):229-237.
25. Devreese KM. Antiphospholipid antibodies: evaluation of the thrombotic risk. Thromb Res 2012;130 Suppl 1:S37-40.
26. Abrahams VM. Mechanisms of antiphospholipid antibody-associated pregnancy complications. Thromb Res 2009;124(5):521-525.
27. Ernest JM, Marshburn PB, Kutteh WH. Obstetric antiphospholipid syndrome: an update on pathophysiology and management. Semin Reprod Med 2011;29(6):522-539.
28. Alessandri C, Conti F, Pendolino M, Mancini R, Valesini G. New autoantigens in the antiphospholipid syndrome. Autoimmun Rev 2011;10(10):609-616. doi: 10.1016/j.autrev.2011.04.011.
29. Tincani A, Casu C, Cartella S, Ziglioli T, Cattaneo R. Antiphospholipid antibody: laboratory, pathogenesis and clinical manifestations. Reumatismo 2010;62(1):65-75.
30. Pengo V, Banzato A, Bison E, Denas G, Padayattil Jose S, Ruffatti A. Antiphospholipid syndrome: critical analysis of the diagnostic path. Lupus 2010;19(4):428-431. doi: 10.1177/0961203309360543.
31. Galli M. Clinical utility of laboratory tests used to identify antiphospholipid antibodies and to diagnose the antiphospholipid syndrome. Semin Thromb Hemost 2008;34(4):329-334. doi: 10.1055/s-0028-1085474.
32. Liu XL, Xiao J, Zhu F. Anti-β2 glycoprotein I antibodies and pregnancy outcome in antiphospholipid syndrome. Acta Obstet Gynecol Scand 2013;92(2):234-237. doi: 10.1111/aogs.12038. Epub.
33. Galarza-Maldonado C, Kourilovitch MR, Pérez-Fernández OM, Gaybor M, Cordero C, Cabrera S, et al. Obstetric antiphospholipid syndrome. Autoimmun Rev 2012;11(4):288-295.
34. Alijotas-Reig J, Palacio-Garcia C, Llurba E, Vilardell-Tarres M. Cell-derived microparticles and vascular pregnancy complications: a systematic and comprehensive review. Fertil Steril 2013;99(2):441-449.
35. De la Torre YM, Pregnolato F, D'Amelio F, Grossi C, DiSomone N, Pasqualini F, et al. Anti-phospholipid induced murine fetal loss: novel protective effect of a peptide targeting the β2 glycoprotein I phospholipid-binding site. Implications for human fetal loss. J Autoimmun 2012;38(2-3):J209-215.
36. Visseaux B, Masliah-Planchon J, Fischer AM, Darnige L. Antiphospholipid syndrome diagnosis: an update. Ann Biol Clin 2011;69(4):411-418. doi: 10.1684/abc.2011.0592