



SERIE DE CASOS

DESCRIPCIÓN DE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS ANTIANEXINA V, CARDIOLIPINA Y β_2 -GLICOPROTEÍNA I EN MUJERES CON PÉRDIDAS GESTACIONALES RECURRENTES EN LA CIUDAD DE MEDELLÍN, COLOMBIA

Describing the presence of anti-annexin V antibodies, cardiolipin and β_2 -glycoprotein 1 in females suffering recurrent pregnancy loss in Medellin, Colombia

María Victoria Mejía-Mejía¹; Ángela María Segura-Cardona MSc, PhD²; María Camila Velásquez-Escobar³; María Camila Arango-White³; Jazmín Abad-Restrepo³; Martín Orrego-Vélez³; Santiago Álvarez-Arango³; Carlos Ignacio Uribe-Pardo, MD⁴

Recibido: abril 3/12 – Aceptado: diciembre 20/12

RESUMEN

Objetivo: describir la frecuencia de anticuerpos antianexina V en una serie de mujeres que presentaron aborto recurrente en la ciudad de Medellín.

Materiales y métodos: se llevó a cabo una serie de casos constituida por mujeres sanas que acudían a consulta ginecológica por historia de pérdidas gestacionales recurrentes caracterizadas por dos o más abortos en el primer trimestre de gestación, en dos instituciones prestadoras de servicios de salud de segundo y tercer nivel de complejidad, y a la consulta privada de algunos ginecólogos de la ciudad de Medellín que aceptaron participar en el estudio. Se excluyeron las mujeres con diagnóstico de síndrome antifosfolípido secundario. Se evaluaron las

características sociodemográficas, los antecedentes obstétricos y médicos con énfasis en hipertensión arterial y trombosis. También se evaluaron los anticuerpos anticardiolipina, anticoagulante lúpico, número de anticuerpos anti β_2 -GPI y número de anticuerpos antianexina V. La información se tabuló en una hoja de cálculo de Microsoft Excel y se procesó en el programa estadístico Stata 10.0, en el análisis estadístico se utilizó estadística descriptiva.

Resultados: se encuestaron 65 mujeres con edades entre los 18 y 46 años, la mitad de las pacientes reportaron 2 abortos antes de la décima semana, y la otra mitad después de esta. En los resultados de los anticuerpos anticardiolipina se encontró que el 4,6% (3) de las pacientes presentaron anticuerpos positivos IgM y el 3,1% (2) tenían anticuerpos positivos IgG. El 3,1% (2) de las mujeres presentaron anticuerpos anti β_2 -GPI IgG e IgM. El 4,6% (3) de las pacientes presentaron anticuerpos positivos antianexina IgG y un 12,3% (8) de estas presentaron un resultado indeterminado.

¹ Bacterióloga, Magíster en Ciencias Básicas, Investigadora Grupo Ciencias Básicas Universidad CES. Medellín, Colombia. mmejia@CES.EDU.CO

² Estadística Informática, Magíster en Epidemiología, PhD en Epidemiología, Investigadora Grupo de Epidemiología y Bioestadística Universidad CES. Medellín, Colombia.

³ Estudiante de Pregrado de Medicina, Universidad CES. Medellín, Colombia.

⁴ Médico ginecoobstetra, ecografista. Medellín, Colombia.

Conclusiones: se evidencia la presencia de anticuerpos antianexina en las pacientes estudiadas, aunque un subgrupo de mujeres presentó un resultado indeterminado; surge la hipótesis de que la anexina V podría ser un factor importante e independiente de los anticuerpos cardiolipina y β_2 -GPI en las pérdidas gestacionales recurrentes.

Palabras clave: anticuerpos, síndrome antifosfolípido, anticuerpos antifosfolípidos, anticuerpos anticardiolipina, anexina a5, aborto recurrente.

ABSTRACT

Objective: Describing anti-annexin V antibody frequency in a series of females suffering recurrent abortion in Medellín.

Materials and methods: A series of cases was compiled, consisting of healthy females attending gynecological consultation who had a background of recurrent pregnancy loss (RPL), characterized by two or more abortions during the first three months of pregnancy. The females were attending a second- and third-level complexity healthcare-providing institution and/or private consultation with some gynecologists in Medellín who agreed to participate in the study. Females diagnosed with secondary antiphospholipid syndrome were excluded. Socio-demographic characteristics, obstetric and medical background emphasizing hypertension and thrombosis were evaluated, as were anti-cardiolipin antibodies, lupus anticoagulant, number of anti- β_2 -GPI antibodies and number of anti-annexin V antibodies. Such information was tabulated on a Microsoft Excel sheet and processed using Stata 10.0 statistical software; descriptive statistics were used for statistical analysis.

Results: 65 females were surveyed, their ages ranging from 18 to 46 years. Half the patients reported 2 abortions before the tenth week and the other half following such time. Anti-cardiolipin antibody results revealed that 4.6% (3) of the patients proved positive for IgM antibodies and 3.1% (2) positive for IgG antibodies. 3.1% (2) of the females had IgG and IgM anti- β_2 -GPI antibodies. 4.6% (3) of the patients

were positive for anti-annexin IgG antibodies and 12.3% (8) had an indeterminate result.

Conclusions: Anti-annexin antibodies were detected in the patients surveyed in this study, although a subgroup of females had an indeterminate result. This led to advancing a hypothesis that annexin V could be an important and independent factor for cardiolipin and β_2 -GPI antibodies in recurrent pregnancy loss.

Key words: Antibodies, antiphospholipid syndrome, antiphospholipid antibodies, anticardiolipin antibodies, annexin AV, recurrent abortion.

INTRODUCCIÓN

La pérdida gestacional recurrente se define por la ocurrencia consecutiva de dos o más pérdidas embrionarias o fetales antes de la semana 20 de gestación (1), esto afecta alrededor del 1-5% de las parejas (2). Entre el 15-20% de los embarazos que empiezan terminan en aborto espontáneo. La pérdida recurrente de embarazo es un tema importante en medicina reproductiva, puesto que en más del 50% de las parejas que consultan por este motivo no se establece una causa. Hay revisiones que manifiestan la importancia de identificar la causa y poder definir la probabilidad de recurrencia, ya que las parejas que han pasado por varios embarazos fallidos tratan de buscar una solución y recurren a tratamientos alternativos con soluciones empíricas sin base en la evidencia (3).

Las causas de los abortos recurrentes pueden ser genéticas, anormalidades anatómicas, disfunción tiroidea, infecciones maternas, anormalidad uterina, estados hipercoagulables y enfermedades autoinmunes como el Síndrome Antifosfolípido (SAF). Sin embargo, las causas exactas siguen siendo indeterminadas hasta en el 50% de los casos (4). El SAF es una enfermedad autoinmune con presencia de trombosis venosa o arterial, pérdidas fetales recurrentes y alteraciones hematológicas, como trombocitopenia o anemia hemolítica (5, 6). La relación entre pérdida gestacional y SAF es formalmente reconocida, se han postulado

múltiples mecanismos patogénicos responsables de esta asociación, sin embargo, la fisiopatología y la relación entre los anticuerpos contra los fosfolípidos de membrana y las diferentes proteínas plasmáticas que intervienen en este síndrome no se conocen con exactitud hasta el momento (5). El SAF asociado a pérdida fetal cursa con eventos tromboticos de vasos placentarios; entre más temprano sea el evento, los vasos placentarios y uterinos comprometidos serán los de menor tamaño, por lo que estos se ocluirán totalmente. Esta oclusión interfiere con una nutrición adecuada y no permite el desarrollo del feto (6-8).

La presencia de anticuerpos anticardiolipina, β_2 glicoproteína (β_2 -GPI) y anticoagulante lúpico (9, 11) son un hallazgo serológico importante en el SAF. Recientemente se han observado anticuerpos contra proteínas unidoras de fosfolípidos como la anexina V, esta es una glicoproteína de 36 kDa que se encuentra presente en una amplia variedad de tejidos y células, como placenta, endotelio y células de la sangre periférica. Respecto a la importancia clínica de los anticuerpos antianexina V, muchos autores sugieren que son un marcador diagnóstico en pacientes con trombosis, problemas reproductivos y enfermedades autoinmunes como lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide y SAF (12-14). La presencia de anticuerpos contra esta proteína se relaciona con pérdida gestacional recurrente debido a procesos tromboticos e isquémicos en la placenta, dado que la anexina V inhibe la activación de la protrombina de manera que previene la formación de trombos en condiciones normales de flujo venoso o arterial (6, 15, 16). Además, posee efecto antiinflamatorio e inhibe la proteinkinasa C (17-20). Aunque en el SAF la relación entre pérdida gestacional y presencia de anticuerpos anticardiolipina y β_2 -GPI es formalmente conocida, en algunas pacientes estos anticuerpos son negativos. En estos casos se puede pensar en la presencia de anticuerpos contra la anexina V, los cuales se han encontrado positivos en algunas pacientes con abortos recurrentes (21-23).

Una posible explicación es que la anexina V es un cofactor necesario para mantener la integridad de la placenta y tiene una función tromborreguladora en la interfase materno-fetal (24).

No se conocen antecedentes de reportes que relacionen la asociación de los anticuerpos antianexina V con abortos a repetición en la población colombiana. Por tanto, el objetivo de esta investigación es describir la frecuencia de anticuerpos antianexina V en una serie de mujeres que presentaron abortos recurrentes en la ciudad de Medellín, Colombia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó una serie de casos con base en un grupo de mujeres sanas con pérdidas gestacionales recurrentes, quienes acudían a la consulta ginecológica por presentar abortos espontáneos previos, con historia de dos o más abortos en el primer trimestre de gestación, de dos instituciones prestadoras de servicios de salud de segundo y tercer nivel de complejidad, y a la consulta privada de algunos ginecoobstetras de la ciudad de Medellín, Colombia, que aceptaron participar en el estudio. Se excluyeron las mujeres con diagnóstico de síndrome antifosfolípido secundario. El cálculo del tamaño muestral se estimó usando el programa Epidat 3.01, utilizando los siguientes parámetros: población (N), 35.000 mujeres, nivel de confianza del 95%, prevalencia esperada de SAF del 20% y error de muestreo del 7% para un tamaño de la muestra de 112 pacientes; finalmente, se logró incluir en la serie de casos a 65 mujeres, lo que implica un cambio en el error de muestreo del 9,7%.

Procedimiento. A todas las pacientes se les aplicó una encuesta que indagaba por aspectos sociodemográficos, clínicos e historia previa de abortos, y se les tomó muestra de sangre venosa; el suero obtenido se congeló hasta el momento del procesamiento de las muestras en el laboratorio de la Facultad de Medicina de la Universidad CES de la ciudad de Medellín, a estos sueros se les realizó un ensayo inmuno-enzimático (ELISA) para la detección de anticuerpos IgG e IgM antianexina, anticardiolipina y β_2 -GPI utilizando estuches

comerciales de las casas Annar Diagnostic import y Aesku.Diagnostic.

El principio básico de la técnica de ELISA es el uso de antígenos específicos unidos a una fase sólida (anexina, cardiolipina, β_2 -GPI), los cuales se unen al anticuerpo presente en el suero de la paciente. Posteriormente, se adiciona un anticuerpo conjugado a una enzima, la cual reacciona con el sustrato generando una reacción colorimétrica la cual se determina por espectrofotometría a una absorbancia de 450 nm. La formación de color por parte del cromógeno va en función de la cantidad de conjugado unida al complejo antígeno-anticuerpo específico, lo cual es proporcional a la concentración inicial de los respectivos anticuerpos específicos en la muestra de cada paciente. El nivel de absorbancia de la reacción es expresado en densidades ópticas (DO) teniendo en cuenta como parámetro de comparación el calibrado *cut-off* y el control negativo. Todas las muestras con DO mayores que las DO del *cut-off* se consideran positivas.

Los valores normales o negativos para los anticuerpos anticardiolipina IgG son de < 17 GPL/ml y positivos > 17 GPL/ml. Para los anticuerpos cardiolipina IgM los valores normales o negativos son < 15 MPL/ml y los positivos > 15 MPL/ml. Para β_2 -GPI, IgG e IgM los rangos normales o negativos son < 15 GPL/ml o MPL/ml, y positivos > 15 GPL/ml o MPL/ml. Respecto a los anticuerpos antianexina IgG e IgM el rango normal o negativo es < 15 GPL/ml o MPL/ml, y positivo es > 15 GPL/ml o MPL/ml; se consideran valores indeterminados entre 12-18 U/ml (GPL/ml o MPL/ml).

Se midieron las siguientes variables: edad (en años cumplidos), número de embarazos, número de hijos vivos, número de partos antes de la 34 semana, número de partos a término, número de abortos antes y después de la décima semana de gestación, número de fetos muertos *in utero*; en cuanto a variables cualitativas se indagó por antecedentes de hipertensión arterial y de trombosis. Las variables de laboratorio fueron en su mayoría cuantitativas, anticuerpos anticardiolipina IgM

(MPL/ml), anticuerpos anticardiolipina IgG (GPL/ml), anticoagulante lúpico (radio normalizado, en segundos), número de anticuerpos anti β_2 -GPI IgM (MPL/ml), número de anticuerpos anti β_2 -GPI IgG (GPL/ml), número de anticuerpos antianexina V IgM (U/ml), número de anticuerpos antianexina V IgG (U/ml).

Análisis estadístico. La información se tabuló en una hoja de cálculo de Microsoft Excel, y el análisis estadístico consistió en la elaboración de un análisis descriptivo compuesto por porcentajes y frecuencias para las variables cualitativas y promedio, desviación estándar, mediana y rango intercuartil para las variables cuantitativas; esta información fue representada en tablas y analizada en Stata 11.0.

Consideraciones éticas. Las mujeres incluidas en el estudio fueron informadas del mismo por sus ginecólogos y firmaron el consentimiento informado. El estudio fue aprobado por el Comité Institucional de Ética de la Universidad CES.

RESULTADOS

Se encuestaron 65 mujeres con un promedio de edad de 32,7 años (DE 6,29), cerca de la mitad de ellas tenían como nivel máximo de estudios los tecnológicos o universitarios. El estado civil que predominó fue el de casadas, seguido de solteras y en unión libre. Una de cada dos de estas mujeres pertenecía a los estratos socioeconómicos 1, 2 o 3. Las características sociales y los antecedentes médicos se observan en la tabla 1. La mitad de las mujeres encuestadas habían tenido tres embarazos o menos (rango intercuartil 1,0), aunque tenían aproximadamente un solo hijo vivo. La mitad de las mujeres presentaron máximo 2,0 abortos antes de la décima semana de gestación (Rango intercuartil 1,0), y el otro 50% después de la décima semana. Ninguna de las pacientes presentó serologías positivas para sífilis.

Respecto a los resultados de los anticuerpos anticardiolipina se encontró que el 4,6% (3) de las pacientes presentaron anticuerpos positivos IgM, y el 3,1% (2) tenían anticuerpos positivos IgG. Respecto a la positividad de los anticuerpos anti β_2 -GPI,

Tabla 1.
Distribución de las mujeres encuestadas según variables sociodemográficas y clínicas

Variable	Frecuencia	Porcentaje
<i>Edad</i>		
Promedio \pm (DE)	32,75	(6,29)
<i>Nivel de escolaridad</i>		
Primaria	5	7,7
Secundaria	15	23,1
Tecnológica	13	20,0
Universitaria	16	24,6
Posgrado	4	6,2
Sin dato	12	18,5
<i>Estado civil</i>		
Casada	31	47,7
Separada	1	1,5
Soltera	12	18,5
Unión libre	9	13,8
Sin dato	12	18,5
<i>Estrato socioeconómico de la vivienda</i>		
1: Bajo - Bajo	5	7,7
2: Bajo	17	26,2
3: Medio	13	20,0
4: Medio - Alto	3	4,6
5: Alto	6	9,2
6: Alto - Alto	8	12,3
Sin dato	13	20,0
<i>HTA durante el embarazo</i>		
Sí	2	3,1
No	61	93,8
Sin dato	2	3,1
<i>Preeclampsia</i>		
Sí	4	6,2
No	59	90,8
Sin dato	2	3,1
<i>Trombosis arterial o venosa</i>		
Sí	2	3,1
No	61	93,8
Sin dato	2	3,1
<i>Antecedentes familiares de enfermedades autoinmunes</i>		
Sí *	9	13,8
No	56	86,2
<i>Sospecha de SAF primario</i>		
Sí	10	15,4
No	55	84,6

* Las encuestadas aducen abortos, LES o SAF primario; DE: Desviación estándar

IgG e IgM, el 3,1% (2) de las mujeres presentaron anticuerpos. En el grupo de estudio se encontró que el 4,6% (3) de las pacientes presentó anticuerpos positivos antianexina IgG, y un 12,3% (8) presentó un resultado indeterminado o en zona gris para la anexina V (tabla 2).

DISCUSIÓN

En el presente trabajo se describió la presencia de anticuerpos IgG/IgM antianexina V, cardiolipina y β_2 -GPI en una serie de 65 mujeres con abortos recurrentes. Se encontró que el 4,6% (3) de las pacientes presentó anticuerpos IgG positivos contra la anexina, y un 12,3% (8) presentó un resultado indeterminado, sin poderse confirmar realmente su positividad contra la anexina V. Este hallazgo concuerda con varios estudios realizados a nivel mundial; en la investigación de Matsubayashi se

observó que el 5,5% de mujeres con pérdidas recurrentes presentaban anticuerpos antianexina positivos comparadas con el 1,1% de mujeres sanas en embarazo o mujeres no embarazadas (21). En un estudio realizado en mujeres durante el primer trimestre de gestación, EL-Gharib *et al.* demostraron un incremento significativo (dos veces) en el título de anticuerpos antianexina V en las mujeres que habían presentado abortos a repetición, al ser comparadas con mujeres embarazadas sin historia de pérdidas fetales, y mujeres no embarazadas sin antecedentes de abortos (22). Según estos autores, los anticuerpos antianexina V se asocian con abortos a repetición y se deberían considerar como un factor de riesgo en embarazos fallidos (21).

Además, en el presente trabajo se encontró que el 3,1% (2) de estas mujeres tenían anticuerpos anticardiolipina positivos para IgG, y el 4,6% (3) de

Tabla 2.
Distribución de las encuestas según resultados de laboratorio

Variable	Frecuencia	Porcentaje
<i>Ac Aca IgM</i>		
Positivo débil	3	4,6
Negativo	62	95,4
<i>Ac Aca IgG</i>		
Positivo débil	2	3,1
Negativo	63	96,9
<i>Ac β_2 Glicoproteína IgM</i>		
Positivo	2	3,1
Negativo	63	96,9
<i>Ac β_2 Glicoproteína IgG</i>		
Negativo	65	100,0
<i>Ac Anexina IgM</i>		
Negativo	63	96,9
Indeterminado	2	3,1
<i>Ac Anexina IgG</i>		
Positivo	3	4,6
Negativo	54	83,1
Indeterminado	8	12,3
<i>SAF según resultados</i>		
Sí	1	1,5
No	12	18,5
Indeterminado	10	15,4
Sin dato	42	64,6

las pacientes presentaron anticuerpos positivos para IgM. Es de anotar que las pacientes positivas para anexina fueron negativas para anticuerpos cardiolipina, hallazgo similar al estudio de Bizzaro, quien en una investigación retrospectiva en mujeres con pérdidas fetales describió que la asociación de anticuerpos antianexina V era independiente de la presencia de anticuerpos anticardiolipina (23). Se conoce bien la asociación entre aborto a repetición y presencia de anticuerpos anticardiolipina IgG (25, 27).

Respecto a los resultados encontrados contra la β_2 -GPI en nuestro estudio, solamente el 3,1% presentaron anticuerpos positivos. Las pacientes positivas o indeterminadas para anexina no presentaron anticuerpos contra β_2 -GPI. Este hallazgo puede sugerir que la anexina V es un factor importante e independiente de los anticuerpos anticardiolipina y β_2 -GPI en las pérdidas gestacionales recurrentes como se ha reportado en trabajos anteriores (28).

También se encuentran estudios controversiales respecto a la asociación de anexina V y aborto recurrente, como los realizados por Alijotas-Reig (29) y Arnol (30), quienes reportan que los anticuerpos antianexina no son un factor de riesgo en abortos recurrentes en mujeres con pérdidas fetales no explicadas. Adicionalmente, Ahmed Rezk y su grupo (11) describieron que los anticuerpos antianexina V no son relevantes en la presencia de abortos recurrentes en mujeres sanas. Por otro lado Bizarro, en un estudio prospectivo concluyó, similar a los anteriores autores, la no relevancia de la presencia de antianexina V en la evaluación de riesgo obstétrico de aborto involuntario (31).

Debido a los hallazgos de los estudios anteriores se observa la necesidad de realizar investigaciones que determinen la asociación de los anticuerpos antianexina V y la presencia de abortos recurrentes, ya que los resultados encontrados en la literatura son muy controvertidos.

En estudios futuros se hace necesario incluir un número mayor de mujeres y hacer estudios comparativos con mujeres sanas embarazadas y mujeres embarazadas sin historia de abortos recurrentes.

CONCLUSIÓN

Se evidencia la presencia de anticuerpos antianexina en las pacientes estudiadas, aunque un subgrupo de estas presentó un resultado indeterminado. Surge la hipótesis de que la anexina V podría ser un factor importante e independiente de los anticuerpos cardiolipina y β_2 -GPI en las pérdidas gestacionales recurrentes.

Agradecimientos: a las pacientes que voluntariamente hicieron parte del estudio, y a la doctora Clara Mesa por la información suministrada de algunas de las pacientes.

REFERENCIAS

1. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril* 2008;90:S60.
2. Baek KH, Lee EJ, Kim YS. Recurrent pregnancy loss: the key potential mechanisms. *Trends Mol Med* 2007;13:310-7.
3. Ciarmatori S. Aborto recurrente de causa endocrina. *Reproducción* 2012;27:138-59.
4. Li TC, Makris M, Tomsu M, Tuckerman E, Laird S. Recurrent miscarriage: aetiology, management and prognosis. *Hum Reprod Update* 2002;8:463-81.
5. Anaya JM, Shoenfeld Y, Correa PA, Garcia-Carrasco M, Cervera R. Autoinmunidad y enfermedad autoinmune. 1a. ed. Medellín: CIB; 2005.
6. Bick RL. Antiphospholipid syndrome in pregnancy. *Hematol Oncol Clin North Am* 2008;22:107-20.
7. Speroff L, Glass RH, Kase NG. Recurrent early pregnancy loss. *Clinical gynecologic endocrinology and infertility*. 6a. ed. USA: Lippincott Williams and Wilkins; 1999.
8. Hanly JG, Smith SA. Anti-beta2-glycoprotein I (GPI) autoantibodies, annexin V binding and the anti-phospholipid syndrome. *Clin Exp Immunol* 2000;120:537-43.
9. Mtraoui N, Zammit W, Fekih M, Hider S, Mahjoub T. Lupus anticoagulant and antibodies to beta 2-glycoprotein I, annexin V, and cardiolipin as a cause of recurrent spontaneous abortion. *Fertil Steril* 2007;88:1458-61.
10. Wu XX, Arslan AA, Wein R, Reutelingsperger CP, Lockwood CJ, Kuczynski E, et al. Analysis of circulat-

- ing annexin A5 parameters during pregnancy: absence of differences between women with recurrent spontaneous pregnancy losses and controls. *Am J Obstet Gynecol* 2006;195:971-8.
11. Rezk A, Abdel-Hafeez N, Rageh IM, Abdalla W. Anti-annexin as a marker in patients with recurrent miscarriages. *Middle East Fertility Society Journal* 2010;15:47-50.
 12. Zammit W, Mtiraoui N, Kallel C, Mercier E, Almavi WY, Mahjoub T. A case-control study on the association of idiopathic recurrent pregnancy loss with autoantibodies against beta2-glycoprotein I and annexin V. *Reproduction* 2006;131:817-22.
 13. Tripathy NK, Sinha N, Nityanand S. Anti-annexin V antibodies in Takayasu's arteritis: prevalence and relationship with disease activity. *Clin Exp Immunol* 2003;134:360-4.
 14. Lakos G, Kiss E, Regeczy N, Tarjan P, Soltesz P, Zeher M, et al. Antiprothrombin and anti annexin V antibodies imply risk of thrombosis in patients with systemic autoimmune diseases. *J Rheumatol* 2000;27:924-9.
 15. Rand JH, Wu XX, Andree HA, Lockwood CJ, Guller S, Scher J, et al. Pregnancy loss in the antiphospholipid-antibody syndrome: a possible thrombogenic mechanism. *N Engl J Med* 1997;337:154-60.
 16. Baleva MP, Histrova MH, Nikolov KV. Diagnostic significance of anti-annexin-A5 antibody determination. *Cent Eur J Med* 2010;5:6-11.
 17. Cunningham FG, Leveno KJ, Bloom SL, Hauth JC, Gilstrap LC, Wenstrom KD. *Williams Obstetrics*. 22 ed. New York: McGraw-Hill; 2005.
 18. Ogawa H, Zhao D, Dlott JS, Cameron GS, Yamazaki M, Hata T, et al. Elevated anti-Annexin V Antibody levels in antiphospholipid syndrome and their involvement in antiphospholipid antibody specificities. *Am J Clin Pathol* 2000;114:619-28.
 19. De Laat B, Wu XX, van Lummel M, Derksen RH, de Groot PG, Rand JH. Correlation between antiphospholipid antibodies that recognize domain I of beta2-glycoprotein I and a reduction in the anticoagulant activity of annexin A5. *Blood* 2007;109:1490-4.
 20. Rand JH, Wu XX, Quinn AS, Taatjes DJ. The annexin A5-mediated pathogenic mechanism in the antiphospholipid syndrome: role in pregnancy losses and thrombosis. *Lupus* 2010;460-9.
 21. Matsubayashi H, Arai T, Izumi S, Sugi T, McIntyre JA, Makino T. Anti-annexin V antibodies in patients with early pregnancy loss or implantation failures. *Fertil Steril* 2001;76:694-9.
 22. EL-Gharib MN, Elhawary TM, Elshourbagy SH, Morad MA. Anti-annexin V Antibodies in Women with Recurrent Miscarriage. *Clinical Medicine Insights: Reproductive Health* 2010;4.
 23. Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D, Tampoia M, Tozzoli R. Prevalence and clinical correlation of anti-phospholipid-binding protein antibodies in anti-cardiolipin negative patients with systemic lupus erythematosus and women with unexplained recurrent miscarriages. *Arch Pathol Lab Med* 2005;129:61-8.
 24. Suat K, Yavuz A, Fahri O, Aysenur B, Huriye B. Hereditary Thrombophilia, Anti-Beta2 Glycoprotein 1 IgM, and Anti-Annexin V Antibodies in Recurrent Pregnancy Loss. *American Journal of Reproductive Immunology* 2012;67:251-5.
 25. Carp HJA. Antiphospholipid syndrome in pregnancy. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2004;16:129-35.
 26. Finazzi G. The Italian registry of Antiphospholipid antibodies. *Haematologica* 1997;82:101-5.
 27. Passam F, Krilis S. Laboratory test Antiphospholipid syndrome:current concepts. *Pathology* 2004;36:129-38.
 28. Baleva MP, Histrova MH, Nikolov KV. Diagnostic significance of anti-annexin-A5 antibody determination. *Cent Eur J Med* 2010;5:6-11.
 29. Alijotas-Reig J, Ferrer-Oliveras R, Rodrigo-Anoro MJ, Farran-Codina I, Llorba-Olive´ E, Vilardell-Tarres M, et al. Antiannexin A5 antibodies in women with spontaneous pregnancy loss. *Med Clin (Barc)* 2010;134:433-8.
 30. Arnol J, et al. Anti-B2GPI y anti-annexin V antibodies in women with recurrent miscarriage. *Br J Haematology* 2001;113:911-4.
 31. Bizzaro N, Antico A, Musso M, Platzgummer S, Camogliano L, Tozzoli R, et al. A prospective study of 1038 pregnancies on the predictive value of anti-annexin V antibodies for foetal loss. *Ann NY Acad Sci* 2005;1050:348-56.