

ARTÍCULOS ORIGINALES

Asociación entre anticardiolipina y anti b₂ glicoproteína I con preeclampsia antes de las 35 semanas de gestación¹

Jorge Mario Gómez Jiménez*, Héctor Iván García García**,
Jáder Gómez Gallego***, Alejandro Quintero Galeano****,
Clara María Mesa Restrepo***, Natalia Aguirre ****

Recibido: Nov. 30/2000 - Revisado: Enero 29/2001 - Aceptado: Mayo 11/2001

RESUMEN

OBJETIVO: Explorar la asociación entre las inmunoglobulinas G anticardiolipina (AC) y anti b₂ glicoproteína I (Ab2GP I) con preeclampsia (PE) y sus complicaciones antes de las 35 semanas de gestación.

METODOLOGÍA: Estudio prospectivo descriptivo de casos (55 preeclámpticas) y controles (55 gestantes no preeclámpticas) con menos de 35 semanas de gestación, de los Hospitales Universitario San Vicente de Paúl y General de Medellín, entre 1° de septiembre de 1999 y 1° de septiembre 2000.

RESULTADOS: El análisis de las variables sobre las características generales de los casos y controles no reveló diferencias significativas. Un caso (1,8%) resultó positivo para Ab₂GP I vs 5/54 controles (9.2%) (P=0.09 ns). Se presentaron 7/55 casos positivos para AC(12.7%) (interpretada según recomendación de la casa fabricante) vs 11/54 controles (20.3%)(P=0.47 ns). Cuando se interpretó el resultado de AC siguiendo la recomendación internacional (AC₁), se encontraron 24/55 casos positivos (43,6%) vs 30/54 controles (55.5%)(P=0.48 ns). En cuanto a las complicaciones, se presentaron 25 casos de RCIU (45.4%) sin asociación con Ab2GP I ni con AC interpretada por cualquiera de los dos métodos. Catorce casos (25.6%) tuvieron otras complicaciones atribuibles a la PE (HELLP, abrupcio, edema pulmonar, etc.) sin asociación con los anticuerpos estudiados. Ninguno de los controles presentó preeclampsia y sólo uno de los positivos se complicó con tromboembolismo pulmonar pero se demostró estenosis mitral asociada.

CONCLUSIÓN: No hay asociación entre la preeclampsia que se inicia antes de las 35 semanas y sus complicaciones con Ab2GP I ni con AC.

PALABRAS CLAVES: Preeclampsia, Anticardiolipina, b₂ Glicoproteína I.

¹ Distinguido con el primer puesto en Trabajos Libres. VI Congreso Nacional de Perinatología, Medellín febrero de 2001
* Ginecoobstetra Docente Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia
** MD,MSP , Docente Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia
*** Ginecoobstetra CES
**** Residentes Ginecoobstetricia U de A.

SUMMARY

OBJETIVE: To explore association between Immunoglobulins G Anticardiolipina and Anti b₂ Glycoprotein I with Preeclampsia and related complications before 35 weeks of pregnancy.

METODOLOGY: Case control prospective descriptive study with 55 preeclamptics and 55 non preeclamptics pregnant patients before 35 weeks of gestational edge of The Hospitals Universitario San Vicente de Paúl and General de Medellín, between september 1°_1999 and september 1°_2000.

RESULTS: Over a one year period we studied 55 preeclamptic patients (90,9% severes) for ACA and Ab₂GP I and it relation with atributable complications; comparation was made with 54 non preeclamptic pregnant patients. There havn't significative differences in the general characteristics of the patients. 1/55 case has Ab₂GP I vs 5/54 control (P=0.09 ns). 7/55 cases had positive titles for AC vs 11/54 controls (P=0.47 ns). (Interpretation by house factoring recomendation). 24/55 cases resulted positives for AC vs 30/54 controls (P=0,48 ns) Interpretation by international guide) (AC1). 25/55 cases of Fetal Growth Restriction hadn't associated to the antibodies AC,AC1 nor Ab₂GP I. Of fourteen cases with severes complications (Hellp, abruptio, pulmonary edema, etc.) none where related to the studied antibodies.

None of the controls presented PE; one of positives was complicated by pulmonary embolism but related to mitral estenosis.

CONCLUSION: There is not an association between preeclampsia before 35 weeks and related complications and Ab₂GP I or AC.

KEY WORDS: Preeclampsia, Anticardiolipin, b₂ Glycoprotein I, Antiphospholipids.

INTRODUCCIÓN

La preeclampsia (PE) es una de las tres principales causas de mortalidad materna en el mundo. Podríamos decir que es la más importante de las patologías obstétricas en muchos países¹; en Colombia, según estadísticas oficiales del Ministerio de Salud, ocupa el primer puesto en mortalidad materna, con 42 por 100.000 nacidos vivos². Presenta además complicaciones, tanto para la madre (falla renal, coagulopatía, convulsiones, síndrome de Hellp) como para el feto: retardo del crecimiento intrauterino (RCIU), sufrimiento fetal agudo (SFA), prematurez, y muerte fetal (MF).

Debido a la variedad de alteraciones que pueden intervenir en su etiología se ha definido su origen multifactorial y los factores de riesgo agrupados en alteraciones placentarias y/o enfermedades maternas subyacentes que hayan tenido o no expresión clínica antes del embarazo, con disfunción endotelial como compromiso final común³.

Entre los hallazgos encontrados en las investigaciones inmunológicas, sobresalen los que asocian la presencia de anticuerpos antifosfolípidos (AAF) con la presentación "sui generis" de la enfermedad: temprana y con graves complicaciones. Dos clases de AAF están asociados a un pronóstico adverso de

la gestación. Los que se identifican por inmunoensayos usando celdas revestidas por fosfolípidos - anticardiolipina- (AC) IgG e IgM) se unen a una proteína de 57 kD, b₂ glicoproteína I (b₂GP I), formando complejos donde participan fosfolípidos aniónicos (FA) de disposición bilaminar. Pueden o no prolongar los tiempos de coagulación dependientes de fosfolípidos. La segunda clase de AAF se identifica por su interferencia con ensayos de coagulación dependientes de fosfolípidos (Anticoagulante Lúpico (AL); tiempos de Caolina, de veneno de víbora Russel, de Tromboplastina activado) se unen a fosfolípidos de fase hexagonal o formando complejos con Protrombina o b₂GP I. Paradójicamente los pacientes que presentan el AL ó AC no sufren diátesis hemorrágicas, por el contrario, tienen tendencia a la trombosis, incluso de tipo catastrófico⁴. Ambas clases se asocian a Aborto Recurrente (AR), Muerte Fetal (MF), Abrupcio de placenta (AbP), Retardo en el crecimiento intrauterino (RCIU) y Preeclampsia (PE).

Los AAF pueden estar presentes en bajas concentraciones en personas sanas, incluyendo a mujeres gestantes y ancianos, y sin consecuencias clínicas significativas⁶⁻⁸. La prevalencia de AC en personas sanas es 1,8% para Ig G y 1% para Ig M. En ancianos sanos hasta 12% para ambas inmunoglobulinas⁸. La

prevalencia de AC en poblaciones de embarazadas saludables ha sido reportada en un rango del 1 al 4%. Los investigadores recomiendan que las pruebas de AC no se utilicen como tamizaje de mujeres sanas ya que son infrecuentemente positivos en esta población, y aún cuando fueran positivos los niveles son usualmente bajos y de significancia incierta. Sugieren que el tratamiento agresivo puede estar justificado durante el embarazo de mujeres con antecedentes de AR que tienen resultados positivos bajos de IgG AC o moderados de IgM; pacientes con trombosis venosa profunda (TVP), enfermedad cerebrovascular (ECV) y lupus eritematoso sistémico (LES). Sugieren el tratamiento en pacientes con resultados de la prueba IgG AC moderada o altamente positiva o el test de AL positivo⁹.

En el estudio más completo sobre las enfermedades maternas asociadas a la PE severa lejos del término, 27 de 95 (29.4 %) presentaron AC positiva⁵. Los estudios de Branch¹⁰, Van Pampus²⁰, Yasuda¹¹ y Kupferminc¹⁹, sugieren alguna relación entre los AC y preeclampsia mientras que otros no han confirmado dicha asociación (Faden¹⁷, Katano¹⁶, Rajah²¹, Out²²). Todos adolecen del número de casos suficientes para establecer o negar asociación (Ver discusión).

Este estudio se realizó con el interés de aportar elementos que aclaren la controversia planteada.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de estudio: prospectivo, descriptivo, de casos y controles.

Población de referencia: Gestantes que consultaron en los servicios de urgencias y de alto riesgo obstétrico (ARO) de los Hospitales General y San Vicente de Paúl de Medellín, con Preeclampsia moderada o severa (casos) y gestaciones no complicadas por trastornos hipertensivos (controles), antes de las 35 semanas edad gestacional.

Población de estudio: Se incluyeron 55 casos y 55 controles.

Criterios de exclusión: Gestantes con diagnóstico previo de Hipertensión arterial crónica, colagenopatías o nefropatías crónicas o agudas, al igual que cualquier otra patología que pudiera llevar a ellas, embarazos múltiples, embarazo molar, tiroidopatías, epilepsia o antecedente personal de aborto recurrente. También se excluyeron las que estaban en tratamiento con cualquiera de estos medicamentos:

Clorpromazina	Ácido Valpróico
Hidralazina	Amoxicilina

Propanolol	Estreptomina
Procainamida	Interferón
Quinidina	Sulfadoxina
Dilantín	Pirimetamina

Se consideró preeclampsia si la presión arterial era >140/90 con proteinuria (> 300 mg en la orina de 24 horas) o con signos y síntomas premonitorios de convulsión.

Criterios de HELLP: Crenocitos en extendido de sangre periférica o lácticos hidrogenasa \geq de 1000, AST o ALT > 70, recuento de plaquetas \leq de 100.000.

RCIU: peso fetal al nacer por debajo del percentil 10 de Hadlock¹⁸ para la edad gestacional.

Especificaciones técnicas de las pruebas de laboratorio

La detección de AC se realizó mediante una prueba semicuantitativa de inmuno-absorción enzimática (ELISA) en suero humano, QUANTA LitemTM, ACA IgG (HRP) Inova Diagnostics, Inc, San Diego CA 92121.

AC positiva de 15,01 a 20 (+), 20,01 a 80 (++) , >80 (+++). Recomendación de Inova Diagnostics.

AC1 positiva de 8 a 19,9 (+), 20 a 80 (++) , >80 (+++). Recomendación internacional⁹.

Espécimen:

Este procedimiento se realizó en suero, el cual se separó del coágulo y se almacenó a una temperatura de -20 grados centígrados hasta la realización de la prueba.

La detección de los anticuerpos Ab2GP I se realizó mediante una prueba semicuantitativa de inmunoabsorción enzimática (ELISA) en suero humano para detectar anticuerpos de la clase IgG, QUANTA LitemTM b₂GPI IgG, Inova Diagnostics Inc, San Diego, CA 92121.

Valores positivos > de 20 unidades

Espécimen: Similar a lo descrito para anticardiolipina

Este proyecto se sometió a evaluación por el comité de ética de los centros participantes y todas las pacientes firmaron consentimiento para su participación. Además donaron sus sueros para futuras investigaciones.

Análisis estadístico

El tamaño de la muestra se calculó con el programa Epiinfo 6.04. Con un poder de 80%.

OR=2.7 Casos positivos esperados 20%; controles positivos esperados 4%; relación casos controles 1; nivel de confianza 90%. Muestra=64 casos y 64 controles. Margen de pérdida 10%. Nivel de confianza 90%.

La asociación entre los anticuerpos (Ab₂GP I y AC) y la preeclampsia se buscó utilizando como pruebas de significación estadística, la t student para las variables continuas, y el chi cuadrado para las variables categóricas. Cuando la frecuencia esperada en alguna de las celdas fue menor de 5 se utilizó la prueba exacta de Fisher. Además se calcularon las razones de disparidad (OR) en cada asociación buscada, con sus respectivos intervalos de confianza (los cuales no se muestran ya que no hubo relaciones significativas).

RESULTADOS

Se estudiaron 55 casos (50 PE severas y 5 moderadas) y 54 controles (34 amenaza de parto prematuro, 14 ruptura prematura de membranas, 1 miomatosis y 5 sin datos) cuyas características generales no diferían significativamente (Tabla 1).

Sólo un caso (1,8%) resultó positivo para Ab₂GP I vs 5/54 controles (9,2%) (P=0,09 no significativa).

Cuando se interpretó AC según recomendación de la casa fabricante, se encontraron positivos 7/55 casos (12,7%) vs 11/54 controles (20,3%), diferencia no significativa (P=0,47). Por la interpretación internacional 24/55 casos positivos (43,6%) vs 30/54 controles (55,5%) (P=0,48 no significativa) (Tabla 2).

En cuanto a las complicaciones, hubo 25 casos de RCIU (45,4%), sin asociación a los anticuerpos estudiados (Tablas 3 y 4).

Se presentaron 14 casos con complicaciones graves sin asociación con Ab₂ GP I ni con AC (Tablas 5-7).

No hubo pacientes con VDRL reactivo.

6/26 controles (que terminaron su gestación en los hospitales donde se realizó el estudio) presentaron RCIU sin relación con positividad para los anticuerpos estudiados. Uno de los positivos se complicó con TEP pero se demostró estenosis mitral asociada. Ninguno desarrolló PE.

Tabla 1
Características Generales

VARIABLE	Casos n = 55		Controles n=54		P
	No.	%	No.	%	
Edad	26+7		25+7		0,48 *
Edad Gestacional	30,4+2,6		31+2,7		0,29 *
Edad Gestacional <28	17	65,4	9	34,6	
Edad Gestacional >28	38	45,8	45	54,2	
1	21	56,8	16	43,2	
Gravidez	2	8	18	69,2	0,98 **
3	15	65,2	8	34,8	
4	11	47,8	12	52,2	
Nuevo cónyuge	11	37,8	18	62,1	0,11 **

* T Student

** X²

Tabla 2
Positividad para AC, AC1 Y Ab2 GP I

Anticuerpo	Casos n=55	Controles n=54	P
Ab ₂ GP I	1	5	0,09*
AC	7	11	0,47**
AC ₁	24	30	0,48 **

* Prueba exacta de Fisher

** Prueba de Kruskal Wallis

Tabla 3
Relación entre RCIU y AC en 55 casos

AC	RCIU	NO
0	24	24
+	1	2
++	0	4
	25	30

P=0,23 Prueba exacta de Fisher

Tabla 4
Relación entre RCIU Y AC₁ en 55 casos

AC ₁ CRUCES	RCIU	NO
0	16	15
+	9	11
++	0	4
	25	30

P=0,17 Prueba exacta de Fisher

Tabla 5
Complicaciones

CASO	COMPLICACIÓN	A b ₂ GP I	AC ₁	AC ₂
1	Hellp Abrupcio Edema pulmonar			+
2	Eclampsia			
3	Abrupcio			
4	Hellp			
5	Sme Nefrótico			
6	Hellp Abrupcio Edema Pulmonar			
7	Abrupcio		+	+
8	Muerte Fetal	+		+
9	Abrupcio			
10	IRA			+
11	Muerte Fetal			
12	SFC			
13	SFA			+
14	SFC			+

Tabla 6
Preeclampsia complicada VS AC

AC CRUCES	PREECLAMPSIA	NO
0	13	35
+	1	2
++	0	4
	14	41

P=0,63 Prueba exacta de Fisher

Tabla 7
Preeclampsia complicada VS AC₁

AC ₁	PREECLAMPSIA	NO
0	8	23
+	6	14
++	0	4
	14	41

P= 0,52 Prueba exacta de Fisher

DISCUSIÓN

En el estudio realizado por Branch y cols¹⁰ con 43 mujeres gestantes que presentaron PE severa antes de la semana 34 de edad gestacional, se encontró que un 16% de las pacientes tenía niveles significativos de AC y ninguno de los controles normotensos de edad gestacional similar. ($p < 0.001$). También encontraron complicaciones periparto en 3 de las 7 mujeres positivas (infarto cerebral, episodios de ceguera monocular transitoria, TEP, TVP y amnesia); estos autores sugieren que AC se encuentran en una proporción sustancial de casos con PE severa de presentación temprana y tienen importantes implicaciones clínicas. Sugieren que estas pacientes sean tamizadas para AC y en el caso de hallarse positivos se inicie terapia profiláctica con anticoagulación.

Yasuda, y cols¹¹ publicaron en 1995 un estudio prospectivo donde investigaron la asociación entre AC y resultados adversos del embarazo. La población de estudio fue de 860 mujeres embarazadas a las cuales se les midió AC por método de Elisa durante el primer trimestre del embarazo. Se compararon los resultados de 60 pacientes positivas con los de 800 negativas. Se excluyeron las pacientes con pérdida fetal recurrente que estaban siendo manejadas con prednisona. Los resultados fueron los siguientes: Aborto 25% vs 9,8%, RCIU 11,7% vs 1,9%, PE 11,7 % vs 1,9%, $p < 0.001$ para las tres complicaciones.

La prevalencia de AC fue del 7%, más alta que la informada por Petri y cols. (2.1%)¹² y por Lockwood y cols. (2.2%)⁴. La razón de esta discrepancia la atribuyen los autores a haberse realizado el estudio en un centro de referencia. La conclusión del trabajo fue que la presencia de AC está asociada a resultados adversos del embarazo.

Van Pampus encuentra en más de 300 preeclámpticas estudiadas que cuando la edad gestacional es menor de 28 semanas el 27% son positivas para AC y si son de 28 semanas o más el 19,3%, contra el 7,5% de positividad en 67 testigos sin preeclampsia.

Kupfermanc describió 5/110 (5%) de positividad para AC vs 0/110 (0%) controles, en el postparto de gestantes complicadas por preeclampsia (31%), abrupcio, RCIU y muerte fetal.

Nuestros resultados demuestran que tanto en casos como en controles se encuentran positivos para AC sin que medie diferencia estadísticamente significativa y sin implicaciones en las complicaciones atribuibles.

La alta incidencia de controles positivos para los anticuerpos estudiados puede ser explicada por la

activación endotelial vecina a la interfase coriodesidual observada en pacientes con amenaza de parto prematuro y ruptura prematura de membranas, a veces en relación con infección subclínica. Éste hallazgo no ha sido descrito en la literatura y puede ser explorado en un futuro como marcador de pronóstico de éstas frecuentes enfermedades de la gestación que responden por altas tasas de morbilidad materno-fetal.

En el cuarto simposio internacional sobre aPL realizado en Italia en abril de 1990, Matsuura y cols¹³ informaron que los aCL obtenidos del suero de pacientes con enfermedades autoinmunes reaccionaban con un complejo: "Cofactor" -Fosfolípidos cargados negativamente; se identificó este cofactor como b₂GP I el cual tiene una masa molecular de 50 kD y es un inhibidor natural de la cascada de la coagulación al bloquear la vía intrínseca y la agregación plaquetaria mediada por el ADP. Esto explica por qué la interferencia con la función de la b₂GP I por parte de los AAF podría dar como resultado trombosis y aumento de la agregación plaquetaria.

Los niveles séricos de b₂GP₁ pueden variar significativamente. Se ha observado una variación cuantitativa genéticamente controlada con una herencia codominante autosómica que involucra un alelo normal BgN y un alelo deficiente BgD. Los heterocigotos tienen la mitad de los niveles normales (11mg/ 100ml) y los homocigotos para BgD tienen niveles casi no detectables del cofactor¹³.

El papel jugado por el cofactor sigue siendo controvertido. Galli¹⁴ sugiere que la b₂GP₁ es el Ag blanco real para los aPL, mientras otros creen que un complejo proteína-fosfolípido es reconocido por los AAF y que la presencia del cofactor es un requerimiento absoluto para ese reconocimiento. Otros investigadores controvierten esta interpretación expresando que aunque el cofactor aumenta la unión de los AAF purificados a los fosfolípidos, la presencia de éste no es un requerimiento absoluto ya que los AAF (IgG purificada) pueden unirse a los fosfolípidos en su ausencia¹⁵. El estudio de Katano y cols¹⁶ publicado en 1996 es el primero en explorar prospectivamente la dependencia de anticardiolipina por b₂GP I para predecir un resultado adverso en el embarazo de mujeres saludables y si ésta debería ser utilizada como una prueba de tamizaje. Se diseñó un estudio de cohorte prospectivo con 1125 mujeres embarazadas sanas a quienes se les midió mediante técnica de Elisa modificada los niveles de AC en presencia o no de b₂GP I y compararon las tasas de MF, RCIU y PE, demostrando que hay una asociación altamente significativa entre la positividad para AC dependiente del cofactor y el resultado adverso

investigado, especialmente para PE. Es de anotar que solo hubo ocho casos positivos y 4 (50%) PE, lo cual le resta poder a la asociación sugerida. Los 17 casos de AC positiva no se asociaron a resultado adverso de la gestación, acorde con nuestros hallazgos. Faden y cols¹⁷ publicaron en 1997 un estudio prospectivo de AC y Ab₂GPI como posible nuevo marcador de patología relacionada con los AF. Se estudiaron 510 mujeres embarazadas sanas entre las 15 y 18 semanas de edad gestacional; demostraron que los resultados adversos investigados (MF, AbP, RCIU y PE) se presentaron asociados a la positividad para anti b₂GP I pero no a AC lo cual está de acuerdo con nuestros resultados.

Tampoco encontraron asociación, Rajah²¹ ni Out²² en sus estudios que incluyeron testigos sin preeclampsia.

El futuro debe aclarar con mayor número de casos si la búsqueda de AC dependiente de cofactor (b₂GP I) selecciona las pacientes de riesgo para PE y sus complicaciones.

Mientras se aclara la controversia recomendamos reservar el estudio de AAF para las pacientes con LES, antecedentes mórbidos que denoten un estado trombofílico, gestantes con síndrome antifosfolípido primario y mujeres con antecedente o estado actual de PE de inicio muy temprano en la gestación.

Los resultados nos permiten recomendar el que se inicien estudios en búsqueda de asociación entre APP y RPM con los AAF cómo factor pronóstico.

No creemos que esté justificado el estudio de AC en preeclampsia, para definir gravedad o establecer un pronóstico.

AGRADECIMIENTOS

Al Centro de Investigaciones Médicas de la Facultad de Medicina y al Comité para el Desarrollo de la Investigación de la Universidad de Antioquia por la financiación y apoyo ofrecidos para esta investigación.

BIBLIOGRAFÍA

1. E.U. Population Reference Bureau (PRB). Resumen de las conclusiones del Consejo Nacional de Investigación de la Academia Nacional de Ciencias de los E.U. "Cómo mejorar la salud reproductiva de los países en desarrollo". Washington. Oct. 1997.
2. Presidencia de la República, Departamento Nacional de Planeación, Ministerio de Salud y otros. "Mortalidad Materna en Colombia". Santafé de Bogotá, agosto 1996.
3. Ness R., Roberts JM. Heterogeneous causes constituting the single syndrome of Preeclampsia: A hypothesis and its implications. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 175: 1365-70.

4. Lockwood CJ., Rand J. The Immunobiology and Obstetrical Consequences of Antiphospholipid Antibodies. *Obstet Gynecol Survey*. 1994; 49: 432-40.
5. Dekker G., de Vries J., Doelitzsch P., et al. Underlying disorders associated with severe early-onset preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 173: 1042-8.
6. Harris E., Spinnato J. Should anticardiolipin tests be performed in otherwise healthy pregnant women? *Am J Obstet Gynecol* 1991;165 part 1: 1272-77.
7. El-Roely A., Collicher N. Definition of Normal Autoantibody levels in apparently healthy population. *Obstet Gynecol* 1988; 72: 596-602.
8. Fields RA., Toubbeh H., Scarles RP. The Prevalence of the Anticardiolipin antibodies in healthy elderly population and its association with antinuclear antibodies. *J Rheumatol*. 1989; 16: 623-25.
9. The Anticardiolipin Wet Workshop. Fifth International Symposium on Antiphospholipid Antibodies, San Antonio, sept 13, 1992.
10. Branch D., Andrés R., Digre K., et al. The association of Antiphospholipid Antibodies With Severe Preeclampsia. *Obstet Gynecol* 1989; 73: 541-45.
11. Yasuda M., Takakuwa K., Tokunaga A., Tanaka K. Prospective Studies of the Association Between Anticardiolipin Antibody and Outcome of Pregnancy. *Obstet Gynecol* 1995; 86: 555-9.
12. Petri M., Rheinschmidt M., Whitting-O'Keete Q., et al. The Frequency of Lupus Anticoagulant in Systemic Lupus Erythematosus. *Ann Intern Med* 1987; 106: 524-531.
13. Matsuura E., Igarashi Y., Fujimoto M., et al. Improved enzyme immunoassay for anticardiolipin antibody: A highly specific assay for antiphospholipid syndrome. *Clin Exp Rheumatol* 1990; 8: 204.
14. Galli M. Anticardiolipin antibodies (ACA) directed not to cardiolipin but to a plasma protein cofactor. *The Lancet* 1990; 335: 1544-47.
15. Matsuura E., Igarashi Y., Fujimoto M., et al. Heterogeneity anticardiolipin antibodies defined by the anticardiolipin cofactor. *J. Immunol* 1992; 148: 3885-91.
16. Katano K., Aoki K., Sasa H et al. B2-Glycoprotein I dependent anticardiolipin antibodies as a predictor of adverse pregnancy outcomes in healthy pregnant women. *HumReprod*1996;11:509-12.
17. Faden D. Anti-beta 2 glycoprotein I antibodies in a general obstetric population: preliminary results on the prevalence and correlation with pregnancy outcome. Anti-b2 glycoprotein I antibodies are associated with some obstetrical complications, mainly preeclampsia-eclampsia. *Europ Jour Obstet Gynecol Reprod Biol* 1997; 73: 37- 421.
18. Hadlock FP., Harrist RB., Martínez-Poyer J. In útero analysis of fetal growth: A sonographic weights standar. *Radiology* 1991; 181: 129-33.
19. Kupferminc M., Eldor A., Steinman N., et al. Increased frequency of genetic thrombophilia in women with complications of pregnancy. *N Engl J Med* 1999; 340: 9-13.
20. Pampus van MG., Wolf H., Buller HR., et al. Underlying disorders associated with severe preeclampsia and hellp syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 175: s26 (Abstracts SPO 1997).
21. Rajah SB., Moodley J., Pudifin D., et al. Anticardiolipin antibodies in Hypertensive emergencies. *Clin and exper hipertens pregnancy* 1990; B9: 267-27.
22. Out HJ., Bruinse HW., Christiaens GCML., et al. A prospective, controlled multicenter study on the obstetric risks of pregnant women with antiphospholipid antibodies. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 167: 26-32.