ÉRICA RADES

**Investigação de trombofilias em gestantes
de risco para o parto prematuro**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutor em Ciências

Área de Concentração: Obstetrícia e Ginecologia

Orientador: Prof. Dr. Roberto Eduardo Bittar

**São Paulo
2007**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Rades, Érica

Investigação de trombofilias em gestantes de risco para o parto prematuro / Érica Rades. -- São Paulo, 2007.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Departamento de Obstetrícia e Ginecologia.

Área de concentração: Obstetrícia e Ginecologia.

Orientador: Roberto Eduardo Bittar.

Descritores: 1.Trabalho de parto prematuro/epidemiologia
2.Trombofilia/diagnóstico 3.Trombofilia/epidemiologia 4.Anticorpos
antifosfolipídeos

USP/FM/SBD-136/07

“ Os ideais que iluminaram meu caminho e sempre me deram
coragem para enfrentar a vida com alegria foram a Verdade, a
Bondade e a Beleza.”

Albert Einstein

Aos meus pais,

Luis e Laércia, para mim, tudo ainda é muito pouco para agradecer.

Ao meu marido,

Ricardo, pela sua fiel dedicação e companheirismo, meu amor e gratidão.

Agradecimientos

Ao **Professor Dr. Roberto Eduardo Bittar**,

“De longe, o maior prêmio que a vida oferece é a chance de trabalhar muito
e se dedicar a algo que valha a pena”

(Theodore Roosevelt)

Agradeço pelo incentivo, pela dedicada orientação deste estudo, e,
principalmente, pela amizade.

Ao **Professor Dr. Marcelo Zugaib**, pela oportunidade e confiança nos meus propósitos.

Ao Prof. Dr. **Soubhi Kahhale**, Dr. **Elbio Antonio D'Amico** e Dr. **Rodrigo Ruano**, pela valiosa contribuição nos arremates desta tese.

À Dra. **Rossana Pulcinelli Vieira Francisco**, chefe da pós-graduação, pelo auxílio frente às dificuldades encontradas.

À Dra. **Célia Maria Cássaro Strunz** e ao Dr. **Ricardo de Oliveira**, pela realização dos exames laboratoriais.

Ao Sr. **Rogério de Ruscitto do Prado**, pela consultoria estatística.

À Prof^a **Maria Nilse Pereira**, por sua carinhosa colaboração na revisão final deste texto.

À Sra. **Inez Muras Fuentes Jazra**, pela colaboração e eficiência em seu trabalho.

Aos colegas do Setor de Baixo Peso Fetal, **Mário Henrique Burlacchini de Carvalho**, **Silvio Martinelli** e **Eduardo Borges da Fonseca**, pela preciosa amizade e apoio constante.

Às amigas pós-graduandas **Cristiane Ortigosa**, **Eliane Bio**, **Luciana Longo**, **Rita Alam**, **Samia K. de Albuquerque Alves**, pelo salutar convívio.

A todos os **assistentes e residentes** da Clínica Obstétrica do HCFMUSP, que contribuíram de forma direta ou indireta com este estudo.

À **equipe de enfermagem** da Clínica Obstétrica do HCFMUSP, pela disponibilidade em ajudar-me.

Aos meus **familiares e amigos**, pela compreensão e estímulo.

Às **pacientes** que acreditaram em nosso trabalho e concordaram em participar.

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A.L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 2ª ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

Lista de abreviaturas, símbolos e siglas

Lista de figuras

Lista de tabelas

Resumo

Summary

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Objetivos.....	11
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	13
2.1. Prematuridade espontânea e trombofilias adquiridas.....	14
2.2. Prematuridade espontânea e trombofilias hereditárias.....	15
3. MÉTODOS.....	21
3.1. Seleção e seguimento das gestantes.....	22
3.2. Variáveis e conceitos.....	28
3.3. Método estatístico.....	29
3.4. Características da população.....	31
4. RESULTADOS.....	38
4.1. Resultados do parto e perinatais.....	39
4.2. Prevalência das alterações dos testes de trombofilias.....	41
4.3. Risco de prematuridade espontânea e RCF nas pacientes com testes de trombofilias alterados.....	46
5. DISCUSSÃO.....	52
6. CONCLUSÕES.....	65
7. ANEXOS.....	67
8. REFERÊNCIAS.....	77

Lista de abreviaturas, símbolos e siglas

AIG	adequado para a idade gestacional
ACLúpico	anticoagulante lúpico
AcL	anticardiolipina(s)
CRH	hormônio corticotrófico
ECA	enzima conversora da angiotensina
EUA	Estados Unidos da América
FVL	fator V Leiden
g	grama(s)
GIG	grande para a idade gestacional
GPL _(s)	fosfolípido(s) G
HCFMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HCT	homocisteína
IC	intervalo de confiança
IG	idade gestacional
IgG	imunoglobulina G
IgM	imunoglobulina M
mg	miligrama(s)
ml/mL	mililitro/mililitros
mmHg	milímetros de mercúrio
MP	mutação da protombina
MPL _(s)	fosfolípido(s) M
MTHFR	metilenetetrahydrofolato redutase
nm	nanômetro(s)
OMS	Organização Mundial da Saúde
OR	odds ratio
PBF	perfil biofísico fetal
PCR	reação em cadeia da polimerase
PN	plasma normal
PP	plasma do paciente
PPA	parto(s) prematuro(s) anterior(es)
PIG	pequeno para a idade gestacional
RCF	restrição do crescimento fetal
RN _(s)	recém-nascido(s)
RPM	rotura prematura de membranas
RR	risco relativo
SEADE	Sistema Estadual de Análise de Dados
SAF	síndrome antifosfolípide
SINASC	Sistema de Informação de Nascidos Vivos
TNF	fator de necrose tumoral
TTPA	tempo de tromboplastina parcial ativado
>	maior
≥	maior ou igual
<	menor
≤	menor ou igual
μl	microlitro(s)

Lista de figuras

	página
Figura 1	Distribuição das gestantes conforme a etnia.....33
Figura 2	Distribuição das gestantes segundo o número de gestações anteriores.....34
Figura 3	Distribuição das gestantes conforme a paridade.....35
Figura 4	Distribuição das gestantes do Grupo 1 conforme a porcentagem de partos prematuros anteriores.....36
Figura 5	Distribuição das gestantes do Grupo 1 conforme a porcentagem de recém-nascidos anteriores com peso no nascimento inferior a 1.500g.....36
Figura 6	Distribuição das gestantes segundo o tipo de parto.....39
Figura 7	Distribuição dos 19 recém-nascidos prematuros espontâneos segundo o peso de nascimento.....40
Figura 8	Distribuição dos 19 recém-nascidos prematuros espontâneos segundo a idade gestacional no nascimento.....40
Figura 9	Distribuição dos títulos de anticardiolipina IgM, em MPL _s , nas pacientes com antecedente de prematuridade e no grupo controle.....44
Figura 10	Distribuição dos títulos de anticardiolipina IgG, em GPL _s , nas pacientes com antecedente de prematuridade e no grupo controle.....45

Lista de tabelas

	página
Tabela 1	Distribuição das gestantes conforme a idade.....32
Tabela 2	Prevalência de trombofilias hereditárias e adquiridas em pacientes com antecedente de prematuridade e grupo controle.....42
Tabela 3	Razão de chances (<i>odds ratio</i> – OR) da prevalência das trombofilias hereditárias e adquiridas em pacientes com antecedente de prematuridade e grupo controle.....43
Tabela 4	Incidência de prematuridade espontânea na gestação atual conforme o tipo de trombofilia.....47
Tabela 5	Razão de chances (<i>odds ratio</i> – OR) da prematuridade espontânea na gestação atual conforme o tipo de trombofilia.....47
Tabela 6	Modelos de regressão logística para a prematuridade espontânea.....48
Tabela 7	Classificação do peso fetal na gestação atual conforme o tipo de trombofilia.....49
Tabela 8	Razão de chances (<i>odds ratio</i> – OR) da prevalência da classificação do peso do recém-nascido na gestação atual conforme o tipo de trombofilia.....50
Tabela 9	Modelos de regressão logística para a restrição do crescimento fetal.....51

RADES, E. *Investigação de trombofilias em gestantes de risco para o parto prematuro*. [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2007. 90 p.

Introdução: O parto prematuro espontâneo é doença multifatorial e sua etiologia permanece desconhecida em até 40% das vezes. Neste estudo, investigamos a existência de trombofilias maternas adquiridas e hereditárias em gestantes de risco para o parto prematuro espontâneo e as relacionamos com a incidência de prematuridade na gestação. **Métodos:** Neste estudo prospectivo, realizado entre julho de 2004 e setembro de 2006, foram pesquisadas 66 gestantes com antecedente de parto prematuro espontâneo e 66 gestantes sem antecedente de complicações, com pelo menos um parto a termo anterior. Até 25 semanas de gestação, foi realizada coleta única dos seguintes testes laboratoriais: anticardiolipina IgG, anticardiolipina IgM, anticoagulante lúpico, fator V Leiden, mutação da protrombina e homocisteína. Foram excluídas três gestantes por abortamento, duas por incompetência cervical, duas por malformação fetal, e uma por coleta inadequada. Dessa maneira, foram avaliadas 64 gestantes de risco e 60 sem complicações (grupo controle). **Resultados:** A incidência de prematuridade espontânea foi significativamente maior no grupo de risco ($RR=7,97$; $IC_{95\%}=1,92-33,04$, $p<0,05$). Não houve diferenças quanto ao tipo de parto nem quanto às médias dos pesos dos recém-nascidos entre os grupos. Entre as pacientes com antecedente de prematuridade, a presença de trombofilias adquiridas e hereditárias foi mais freqüente ($OR=3,2$; $IC_{95\%}=1,4-7,5$, $p<0,05$). As trombofilias adquiridas, quando analisadas em separado, foram mais freqüentes no grupo de risco ($OR=3,0$; $IC_{95\%}=1,1-7,7$, $p<0,05$), assim como, observou-se maior freqüência da anticardiolipina IgG em títulos baixos ($OR=2,8$; $IC_{95\%}=1,0-7,5$, $p<0,05$) e IgM em títulos intermediários ou altos ($OR=3,9$; $IC_{95\%}=1,0-15,1$, $p<0,05$). O anticoagulante lúpico e as trombofilias hereditárias, quando analisados em separado, não diferiram entre os grupos. Entre os casos com prematuridade espontânea na gestação atual, 79% apresentaram algum teste de trombofilia alterado. Na análise univariada, a presença de trombofilias aumentou o risco de prematuridade espontânea ($OR=4,5$; $IC_{95\%}=1,4-14,4$, $p<0,05$). Na análise multivariada, no entanto, o parto prematuro prévio esteve 11 vezes mais associado à prematuridade espontânea. **Conclusões:** Concluímos que as trombofilias adquiridas e hereditárias foram mais freqüentes no grupo de risco, sendo prevalentes as adquiridas, das quais a anticardiolipina IgG e IgM foram as mais freqüentemente encontradas. Houve aumento do risco de prematuridade espontânea nas portadoras de trombofilias adquiridas e hereditárias, mas o antecedente de parto prematuro permaneceu como o maior fator de risco associado à prematuridade espontânea. **Descritores:** trabalho de parto prematuro, trombofilia, anticorpos antifosfolipídeos.

RADES, E. *Investigation of thrombophilias in high risk pregnant patients for preterm birth*. [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2007. 90 p.

Introduction: The spontaneous preterm birth is a multifactorial disease and its etiology remains unknown in 40% of the time. In this study, we investigated the acquired and inherited thrombophilias in high risk pregnant patients to the spontaneous preterm birth and related to the incidence of prematurity in the current pregnancy. **Methods:** In this prospective study realized from July of 2004 to September of 2006 was evaluated 66 pregnant women with previous spontaneous preterm birth and 66 pregnant women without complications, with at least one previous term birth. Until 25 weeks of pregnancy, was realized single collection of the following laboratorial tests: IgG/IgM anticardiolipin, lupus anticoagulant, factor V Leiden, prothrombin mutation and homocystein. It was excluded three pregnant women due to miscarriage, two for cervical incompetence, two for fetal malformation, and one for inadequated collection of exams. In this way, we evaluated 64 high risk pregnant women and 60 with no complications (control group). **Results:** The frequency of spontaneous preterm birth was significantly higher in the high risk group ($RR=7,97$; $IC_{95\%}=1,92-33,04$, $p<0,05$). There was neither differences in the birth type nor in the average weight in newborn infants between the groups. Among to the patients with risk of preterm birth in the current pregnancy, the acquired and inherited thrombophilias were more frequent ($OR=3,2$; $IC_{95\%}=1,4-7,5$, $p<0,05$). The acquired thrombophilias, when analysed in separately, were more frequents in the risk group ($OR=3,0$; $IC_{95\%}=1,1-7,7$, $p<0,05$), like it was observed more frequency of IgG anticardiolipin in low titles ($OR=2,8$; $IC_{95\%}=1,0-7,5$, $p<0,05$) and IgM anticardiolipin in intermediary or high titles ($OR=3,9$; $IC_{95\%}=1,0-15,1$, $p<0,05$). The lupus anticoagulant and the inherited thrombophilias when analysed separately were not different among groups. In spontaneous preterm birth cases in the current pregnancy, 79% had some altered thrombophilia test. In univariate analysis, the existence of thrombophilias increased the risk for spontaneous preterm birth ($OR=4,5$; $IC_{95\%}=1,4-14,4$, $p<0,05$). In multivariate analysis, however, the previous spontaneous preterm birth was 11 times more associated with current spontaneous preterm birth. **Conclusions:** We conclude that the acquired and inherited thrombophilias were more frequent in high risk group, being more prevalent the acquired ones, of which IgG anticardiolipin and IgM anticardiolipin were more frequently founded. There was increased risk for spontaneous preterm birth in women with acquired and inherited thrombophilias but the previous preterm birth remained the major risk factor related to the spontaneous preterm birth.

Descriptors: preterm birth, thrombophilia, antiphospholipid antibodies

1. Introdução

O parto prematuro representa um dos maiores riscos à saúde do recém-nascido (RN), e a maior causa de morbidade e mortalidade neonatais^{1, 2}. Configura-se um desafio obstétrico global, visto que ocorrem anualmente 13 milhões de nascimentos prematuros³.

O conceito de prematuridade tem como base a definição da Organização Mundial de Saúde (OMS), incluindo todo recém-nascido vivo com menos de 37 semanas completas de gestação (<259 dias), contadas a partir do primeiro dia do último período menstrual⁴.

Embora a sobrevida dos RNs tenha melhorado nos últimos anos, principalmente nos centros terciários, a prematuridade ainda é a principal causa de mortalidade neonatal, responsável por 75% das mortes neonatais⁵.

Em relação à morbidade, está diretamente relacionada aos distúrbios respiratórios e às complicações infecciosas e neurológicas^{6, 7}.

Com a melhora contínua da sobrevida, em vista dos avanços nos cuidados neonatais nos últimos anos, atualmente há maior preocupação quanto às seqüelas e à qualidade de vida dos prematuros extremos, principalmente no que diz respeito ao sistema neurológico, visto que as alterações nos desenvolvimentos mental e neuropsicomotor, assim como na função sensorial e na comunicação, estão presentes em até metade dos prematuros extremos até 30 meses de vida⁸. Nas fases pré-escolar e escolar, observam-se diminuição do coeficiente de inteligência, alterações no comportamento e no desenvolvimento cognitivo⁹. As crianças intelectualmente normais podem apresentar menor coordenação motora e controle voluntário das mãos e diminuição das percepções tátil, sinestésica e

visual¹⁰. Na pré-adolescência, a hiperatividade e a deficiência de atenção podem estar presentes¹¹. Na idade escolar, pré-adolescência e em adultos jovens, o peso e a circunferência cefálica são menores¹², como também os índices de massa corpórea e mineralização óssea, sendo maiores as taxas de infecções respiratórias e alterações do fluxo expiratório e das provas de função pulmonar^{13, 14}. Quando associadas à restrição do crescimento fetal (RCF), as alterações cognitivas e neurológicas são ainda mais observadas¹⁵.

A incidência da prematuridade varia de acordo com as características populacionais. Em países industrializados, tais como Alemanha e Japão, sua incidência é elevada, presente em 4 a 11% dos nascimentos e tem-se mantido constante¹⁶⁻¹⁸. Observa-se aumento dessa incidência nos EUA nos últimos anos, com taxa de 12,5% em 2005. Segundo estatísticas do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos EUA, a incidência passou de 8,9% em 1980 para 9,8% em 1985, para 10% em 1990, 11% em 1994 e atualmente é de 12,5%, sendo que, desde 1981, elevou-se em 30%. Outros países desenvolvidos também relatam aumento da incidência de prematuridade, como o Canadá, a Austrália e a Dinamarca¹⁹. Os únicos países a relatar diminuição da prematuridade são a Finlândia, a França e, mais recentemente, a Suécia, onde a incidência atinge aproximadamente 5% dos nascimentos²⁰⁻²². Os custos da prematuridade em 2005 nos EUA chegaram a US\$ 26 bilhões, cerca de US\$ 52.000 por RN prematuro²³.

As informações sobre os nascimentos prematuros na população brasileira, publicadas pelo Ministério da Saúde com os dados do Sistema de Informação sobre Nascidos Vivos (SINASC), evidenciam que a incidência de

prematuridade tem-se mantido constante entre os anos de 2000 a 2004, com média de 6,6%. As maiores taxas encontram-se nos estados do Rio Grande do Sul (8,5%), Mato Grosso do Sul (8,4%) e Distrito Federal (8,3%). No Estado de São Paulo, em 2004, registraram-se 7,6% de prematuridade²⁴. A Fundação do Sistema Estadual de Análise de Dados (SEADE), em 2001, constatou 7,07% de prematuridade na cidade de São Paulo. Nos anos de 2004 e 2005, a incidência média foi de 8,76%²⁵.

Na Clínica Obstétrica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP), em virtude da alta prevalência de gestações de alto risco, a incidência média de prematuridade entre os anos de 1993 e 2004 foi de 22%. Outros serviços públicos terciários da mesma região apresentam taxas semelhantes²⁶.

A prematuridade é classificada em duas categorias: espontânea, consequência do trabalho de parto espontâneo propriamente dito e eletiva, quando ocorre por indicação médica, decorrente de intercorrências maternas e/ou fetais¹.

A literatura internacional destaca a importância do parto prematuro espontâneo por representar 75% dos casos^{2, 27}. Na Clínica Obstétrica do HCFMUSP, 50% dos nascimentos prematuros ocorrem espontaneamente²⁸.

Considerando os estudos realizados no Setor de Baixo Peso Fetal da Clínica Obstétrica do HCFMUSP, a incidência de parto prematuro espontâneo passou de 37,25% (1994-95) para 23,39% (1996-01) e para 18,5% (2001-04)²⁹⁻³². Em nosso último levantamento, 75% dos nascimentos ocorreram entre 34 e 36 semanas e 25% abaixo dessa idade gestacional.

Tal fato denota a importância de algumas alterações detectáveis precocemente por meio de indicadores preditivos e de certas medidas que alcançam resultados satisfatórios, como demonstram relatos de programas de prevenção que conseguiram diminuir a incidência de partos prematuros^{18, 33-37}. Embora a incidência de prematuridade tenha diminuído nos últimos anos, esta ainda permanece alta; achado esse que muito nos preocupa.

A etiologia do parto prematuro espontâneo é multifatorial e pode ser desconhecida em 40 a 50% das vezes³⁸. Inúmeros fatores predisponentes já foram detectados, tais como o baixo nível sócio-econômico, o baixo peso pré-gestacional, a gestação gemelar, a multiparidade, as anomalias uterinas, o tabagismo, o consumo de drogas ilícitas, a ansiedade, o estresse emocional materno e a ausência de pré-natal adequado³⁹⁻⁴². O antecedente de parto prematuro espontâneo, por si só, constitui fator de recorrência de aproximadamente 40%⁴³.

Os mecanismos fisiopatológicos mais estudados na prematuridade espontânea incluem a infecção ascendente e o processo inflamatório, presentes em cerca de 40% dos partos prematuros, seguidos pela ativação do eixo hipotálamo-hipofisário-adrenal materno-fetal, em 30%. Com menor frequência, também são citadas a hemorragia decidual e a sobredistensão uterina⁴⁴.

Nos últimos anos, contudo, alguns fatores imunológicos e polimorfismos genéticos têm sido propostos como fatores possivelmente associados à prematuridade espontânea, tais como as mutações de

algumas citocinas inflamatórias, dos receptores da ocitocina e hormônio corticotrópico, e de genes associados a doenças vasculares⁴⁵.

A associação das alterações vasculares placentárias ao parto prematuro espontâneo foi inicialmente observada há aproximadamente duas décadas⁴⁶. Posteriormente, foram definidos dois tipos distintos de alterações placentárias em mulheres em trabalho de parto prematuro: aquelas com infecção aguda e aquelas com doença vascular uteroplacentária e hipoxia placentária⁴⁷. Estudos realizados na China⁴⁸, Tchecoslováquia⁴⁹ e Arábia Saudita⁵⁰ também registraram esses achados. As anormalidades placentárias mais encontradas em mulheres em trabalho de parto prematuro são a vasculite crônica, a vasculopatia decidual e a vileíte crônica⁵¹. Em nosso meio, a avaliação das placentas em mulheres em parto prematuro espontâneo evidenciou que a corioamnionite foi o achado mais freqüente (25,5%) e, secundariamente, as alterações vasculares placentárias foram representadas por amadurecimento precoce dos vilos em 14,5%, trombose intervilosa em 14,5% e infartos vilosos em 11%⁵².

Em placentas de mulheres com RN_s de peso inferior a 1.500g, foram observadas 41% com alterações vasculares, inflamação crônica ou ambas⁵³. Em estudo recente, constatou-se que a presença de trombose da placa coriônica foi significativamente associada ao parto prematuro espontâneo⁵⁴. A evidência histológica de sangramento intra-uterino crônico⁵⁵, de invasão trofoblástica anormal⁵⁶ e o aumento da resistência vascular das artérias uterinas e umbilicais em 58% das gestantes com partos prematuros

espontâneos⁵⁷ levaram alguns autores a sugerir o mesmo mecanismo fisiopatológico para a prematuridade espontânea e eletiva⁵⁵⁻⁵⁷.

Além disso, tem-se relatado que entre os RN_s prematuros espontâneos, o risco de apresentar RCF é de um e meio a seis vezes maior do que o esperado^{58, 59, 60, 61}. A estimativa ultra-sonográfica de peso fetal entre os RN_s de parto prematuro é menor do que aqueles que chegam ao termo⁵⁹. Dessa forma, sugere-se relação linear positiva entre os percentis de crescimento potencial e a idade gestacional no parto, indicando que quanto maior é o prejuízo do crescimento fetal, mais precocemente ocorre o parto prematuro⁶¹. Segundo Gardosi (2005)⁶², “a ligação entre a diminuição do crescimento fetal e o trabalho de parto prematuro leva a pensar que o trabalho de parto prematuro deveria ser visto, algumas vezes, como resposta adaptativa a um ambiente intra-uterino desfavorável, iniciado pela unidade feto - placentária”. Também observa-se que existe associação entre a RCF e as alterações vasculares placentárias com as trombofilias⁶³⁻⁶⁷.

As trombofilias hereditárias e adquiridas têm sido associadas a várias complicações da gestação. Em metanálise recente, foram associadas significativamente com os abortos precoces ($OR=1,4-6,25$), com a perda fetal tardia ($OR=1,31-20$), pré-eclâmpsia ($OR=1,37-3,49$), descolamento prematuro de placenta ($OR=1,42-7,71$) e RCF ($OR=1,24-2,92$)⁶⁸.

As trombofilias no parto prematuro podem ser aventadas pela associação entre a prematuridade espontânea e a doença vascular

placentária^{46, 47, 53, 54, 57} e têm sido sugeridas, por alguns autores, como possível causa de parto prematuro espontâneo⁶⁹⁻⁷⁷.

As trombofilias constituem um grupo heterogêneo de alterações na coagulação sangüínea, que aumentam a predisposição ao desenvolvimento de fenômenos tromboembólicos e complicações da gestação e manifestam-se, em geral, na presença de outros fatores de risco. Essas alterações podem ser hereditárias ou adquiridas.

Fatores de risco adquiridos incluem anticorpos antifosfolípides, detectados como anticoagulante lúpico e/ou anticorpos anticardiolipina e/ou anti-beta2-glicoproteína I. A prevalência das anticardiolipinas na população obstétrica é variável, com taxas entre 1% e 25%^{70, 78-85}. Em revisão de literatura com aproximadamente 7 mil gestações normais, a prevalência desses anticorpos foi de 5%⁸⁴. Observa-se que na população de gestantes os títulos de anticardiolipinas podem flutuar durante a gestação⁸³. Os anticorpos antifosfolípides positivos no início da gestação ou persistentemente positivos parecem ter maior correlação com complicações obstétricas^{83, 86}.

A presença de fatores imunológicos, incluindo os anticorpos antifosfolípides, foi verificada em 30% de gestantes que tiveram partos prematuros espontâneos⁶⁹. O aumento no risco de prematuridade foi observado, posteriormente, em avaliação prospectiva⁷⁰.

Embora nos critérios diagnósticos atuais da síndrome antifosfólípide (SAF) não tenham sido incluídas as pacientes com partos prematuros

espontâneos⁸⁷, observamos que, em gestantes com SAF e abortos de repetição, a incidência de prematuridade espontânea pode atingir 25%⁷⁶.

As trombofilias hereditárias incluem as mutações do fator V (fator V Leiden) e do fator II (protrombina). Outras trombofilias mais raramente encontradas incluem as deficiências das proteínas anticoagulantes, tais como as proteínas C, S e antitrombina. Por outro lado, a hiperhomocisteinemia é uma trombofilia que pode ser genética ou adquirida. As trombofilias hereditárias citadas têm padrão de herança autossômica dominante.

A mutação no gene do fator V resulta da substituição do aminoácido glutamina por arginina na posição 506 do gene do fator V e este fator V mutante foi denominado Fator V Leiden. A mutação heterozigota está presente em 5% a 9% da população branca descendente de europeus, sendo rara em asiáticos e africanos⁸⁸.

Da mesma forma, a mutação no gene da protrombina é encontrada em 2% a 3% da população branca européia, sendo rara em indivíduos de origem africana, asiáticos ou descendentes de nativos americanos⁸⁹.

A hiperhomocisteína pode ser hereditária (resultante da mutação C677T no gene da metilenetetrahidrofolato redutase), adquirida ou ambas. A mutação heterozigota está presente em 34% a 37% e a homozigota em 11% da população branca européia⁹⁰. As vitaminas B6, B12 e/ou ácido fólico são necessários ao metabolismo da homocisteína e, nas deficiências destes cofatores, também pode ocorrer hiperhomocisteinemia.

A deficiência da proteína S (PS) pode ser decorrente de mais de 130 mutações já descritas⁹¹, ocorrendo em 0,03% a 0,13% da população⁹². A deficiência da proteína C (PC) resulta de mais de 160 mutações descritas e sua prevalência é de 0,2% da população caucasiana^{93, 94}. A deficiência da antitrombina pode ser decorrente de mais de 100 mutações⁹⁵. Sua prevalência é baixa, acometendo 0,01% a 0,05% da população⁹⁵⁻⁹⁷ e, por conta disso, não tem sido associada às complicações da gestação⁹⁸.

A associação de algumas trombofilias com a prematuridade espontânea foi observada em poucos estudos⁶⁹⁻⁷⁷, porém seus resultados foram conflitantes com outras avaliações que não encontraram tal associação^{83, 99-102}, o que torna o tema controverso e pouco estudado na literatura. O conhecimento de novos fatores etiológicos poderá auxiliar o obstetra, futuramente, na escolha da terapêutica mais efetiva na prevenção da prematuridade. Em busca de tal objetivo, ficamos motivados a investigar a possível participação das trombofilias na fisiopatologia do parto prematuro espontâneo.

1.1 Objetivos

O presente estudo, que avaliou gestantes com antecedente de parto prematuro espontâneo, objetivou:

Investigar a existência de trombofilias maternas adquiridas e hereditárias.

Avaliar o risco de prematuridade nas gestantes portadoras de trombofilias.

2. Revisão da Literatura

As trombofilias podem ser adquiridas, como a síndrome antifosfolípide, ou hereditárias e, entre as últimas, as mais comuns incluem as mutações do Fator V Leiden, a mutação no gene da protrombina, as deficiências das proteínas S e C, antitrombina e a hiperhomocisteinemia com ou sem mutação da metilenotetrahidrofolato redutase (MTHFR).

2.1. Prematuridade espontânea e trombofilias adquiridas

Lettieri *et al.* (1993)⁶⁹ estudam prospectivamente as causas do parto prematuro em 50 gestantes submetidas à terapia tocolítica sem sucesso, e encontram, entre outras causas, alterações imunológicas, representadas por anticorpos antifosfolípidos e/ou alterações placentárias, em 30% destas. As outras causas foram: alterações da placentação, em 50%, infecção intra-uterina em 38%, a incompetência cervical em 16%, fatores uterinos em 14%, fatores maternos em 10%, trauma ou cirurgia em 8%, malformações fetais em 6% e idiopáticas em apenas 4%. Houve duas ou mais causas em 58% das pacientes.

Lynch *et al.* (1994)⁸³ realizam estudo prospectivo para determinar se a positividade dos anticorpos anticardiolipina e anticoagulante lúpico colhidos até 25 semanas, em 389 gestantes nulíparas, relaciona-se com os resultados adversos da gestação. A positividade destes anticorpos foi de 24,4% e relacionou-se à perda fetal ($RR= 2,44$; $IC_{95\%}=1,29 - 4,62$), mas não ao baixo peso ao nascer ou às complicações maternas da gestação. A presença da anticardiolipina IgG, por si só, relacionou-se à perda fetal ($RR=3,5$; $IC_{95\%}=1,56 - 8,07$). Após o ajuste para variáveis de confusão, como etnia, idade, tabagismo e idade gestacional (IG) da coleta, a

associação encontrada manteve significância estatística (RR ajustado=1,57; $IC_{95\%}$ =1,08 - 2,29).

Em estudo prospectivo, a positividade dos anticorpos anticardiolipina foi avaliada por Yasuda *et al.* (1995)⁷⁰ em 860 gestantes no primeiro trimestre da gestação bem como suas complicações. Encontraram 60 gestantes (7,0%) positivas para anticardiolipinas e, entre estas, foram maiores as taxas de abortos (25% x 9%, RR =2,56; $IC_{95\%}$ =1,37-4,81, $p<0,001$), RCF e pré-eclâmpsia (11,7% X 1,9%, RR =6,22; $IC_{95\%}$ =2,43-16, $p<0,001$). Os autores também encontraram alta taxa de partos prematuros na população com anticorpos anticardiolipina positivos (11,7% x 4%, RR = 2,93; $IC_{95\%}$ =1,23-6,94, $p<0,05$).

Ao avaliarem 91 gestações em 88 mulheres com história obstétrica de abortamento de repetição, Rades *et al.* (2005)⁷⁶ verificaram que 27,3% delas apresentavam resultados de exames compatíveis com trombofilias, sendo que em 82,3% dos casos os anticorpos anticardiolipina estavam presentes. Observam incidência significativa de prematuridade espontânea nas pacientes com anticorpos antifosfolipídeos positivos e trombofilias hereditárias, quando comparadas às pacientes sem trombofilias (66,7% x 20,4%, RR = 3,27; $IC_{95\%}$ = 1,85-6,44, $p=0,02$).

2.2. Prematuridade espontânea e trombofilias hereditárias

A observação de maior taxa de prematuridade entre irmãs e também o histórico pessoal de nascimento prematuro^{103, 104} em mulheres com parto prematuro, associados aos novos conhecimentos advindos do Projeto Genoma Humano e o avanço de métodos moleculares, abriram caminho

para se estudar o envolvimento genético no espectro do parto prematuro. Da mesma forma que outras doenças multifatoriais, como a doença coronariana e o câncer, o parto prematuro não mostra, no entanto, ter característica *Mendeliana* de hereditariedade¹⁰⁵, sendo hoje considerado como consequência de características genéticas associadas aos fatores ambientais. A presença de polimorfismos das citocinas inflamatórias (interleucinas 6 / 1b / 10 e fator de necrose tumoral-alfa), por exemplo, altera a resposta do hospedeiro às infecções^{106, 107}.

Outros genes de interesse são aqueles envolvidos diretamente na cascata que leva ao parto prematuro. A existência de polimorfismo no gene receptor da ocitocina poderia aumentar a resposta à presença da ocitocina, levando ao maior influxo de cálcio intracelular e estímulo à contração uterina; o polimorfismo sobre o gene do hormônio corticotrófico (CRH), que é o mediador chave da resposta ao estresse e da ativação do eixo hipotálamo-hipofisário-adrenal materno-fetal, poderia levar ao aumento do CRH placentário e das prostaglandinas, iniciando o trabalho de parto prematuro; até hoje porém, os efeitos destes polimorfismos nas mulheres com partos prematuros permanecem desconhecidos¹⁰⁸.

Outra área de interesse são as influências genéticas nas doenças vascular materna e útero - placentária, visto que a lesão vascular e os infartos têm sido observados em mulheres com parto prematuro espontâneo¹⁰⁹.

As trombofilias hereditárias têm sido sugeridas, por alguns autores, como possível causa de parto prematuro espontâneo^{71-75, 77}.

Brenner *et al.* (1997)⁷¹ relatam a associação da resistência à proteína C ativada hereditária ou adquirida com as perdas fetais de repetição. Neste estudo, o histórico obstétrico evidenciava somente 34 de 184 gestações (18%) que terminaram com RN_s vivos. Nestas pacientes, foi observada elevada taxa de prematuridade (32%).

Gopel *et al.* (1999)⁷² observam a presença das mutações do fator V e da protrombina em 205 RN_s prematuros (peso inferior a 1.500g) e 205 RN_s de termo. A presença do fator V Leiden foi significativamente maior no grupo de prematuros do que no grupo controle (10,7% x 5,4%, $OR=2,12$; $IC_{95\%}=1,01-4,44$, $p=0,034$), assim como da mutação da protrombina (6,3% x 1,9%, $OR=3,4$; $IC_{95\%}=1,16-9,99$, $p=0,022$). Na opinião desses autores, as diferenças entre os grupos foram ainda mais significantes quando consideradas ambas as mutações, (16,6% x 7,3%, $OR=2,52$; $IC_{95\%}=1,34-4,71$, $p=0,0028$).

Erhardt *et al.* (2000)⁷³ determinam a presença da mutação do Fator V Leiden em 50 mães de RN_s prematuros e 56 mães de RN_s de termo com RCF. A prevalência da mutação foi significativamente maior no grupo de mães com parto prematuro quando comparadas às mães de RN_s com RCF (18% x 7,2%, $p<0,01$); diferença também significativa quando comparada à prevalência de 6,3% dessa mutação na população geral do local do estudo.

Um estudo retrospectivo com 122 mulheres, com pelo menos uma gestação anterior, foi realizado por Glueck *et al.* (2000)⁷⁴. Foram pesquisadas as mutações trombofílicas dos genes do fator V, protrombina e

MTHFR e as mutações hipofibrinolíticas do gene ativador-inibidor do plasminogênio tipo 1 (PAI-1), bem como as complicações da gestação. Entre as 68 mulheres portadoras de alguma mutação, foram maiores as taxas de prematuridade (10% x 4%, $p=0,021$) e RCF (3% x 0%, $p=0,035$).

Resch *et al.* (2004)⁹⁹ pesquisam a influência de três trombofilias comuns, do Fator V Leiden, do gene da protrombina e da MTHFR no parto prematuro idiopático em estudo caso-controle com 35 mulheres que tiveram RN_s abaixo de 35 semanas sem causa estabelecida. O grupo controle foi composto por 54 mulheres com RN_s de termo, hospitalizadas no mesmo período. Os antecedentes obstétricos de abortos, partos prematuros anteriores, história pessoal ou familiar de trombose não diferiram entre os grupos. O fator V Leiden foi encontrado em 8,6% dos casos e em 5,4% do grupo controle ($OR=1,594$; $IC_{95\%}=0,3-8,3$, $p=0,292$). A mutação da protrombina foi encontrada em 5,7% dos casos e em 7,4% do grupo controle ($OR=0,758$; $IC_{95\%}=0,13-4,37$, $p=0,379$). A mutação homozigota da MTHFR foi encontrada em 4,8% dos casos e em 4,5% do grupo controle ($OR=1,05$; $IC_{95\%}=0,09-12,27$, $p=0,485$). Foram observadas, portanto, taxas semelhantes de trombofilias hereditárias entre os grupos estudados.

Um estudo caso-controle foi conduzido por Hao *et al.* (2004)⁷⁵, selecionando 426 polimorfismos genéticos. Foram estudados 111 polimorfismos em 25 genes em 300 mulheres que tiveram partos prematuros e 458 mulheres com partos a termo. Houve associação significativa da mutação na posição 107 do fator V com a ocorrência de parto prematuro em

todos os grupos étnicos. A mutação na posição 506 (fator V Leiden) não teve associação com a prematuridade espontânea, no entanto, sua prevalência foi muito baixa na população estudada.

Valdez *et al.* (2004)¹⁰⁰ avaliam 86 mulheres com história de parto prematuro espontâneo ou por rotura prematura de membranas ovulares e 164 controles, sendo pesquisados os polimorfismos genéticos do fator de necrose tumoral (TNF), as mutações dos fatores V e II, a mutação da MTHFR, assim como a mutação na enzima de conversão da angiotensina (ECA). Estes autores foram os pioneiros em demonstrar a associação existente entre a mutação da MTHFR e o parto prematuro espontâneo, sugerindo que a diminuição dos níveis de folato, ocasionando vasculopatia crônica na decídua, pode contribuir para a gênese do parto prematuro. Embora a associação com a mutação da ECA também tenha sido evidenciada, esta ocorreu principalmente com os casos de prematuridade por rotura prematura de membranas ovulares. As mutações do TNF, assim como dos fatores II e V, não mostraram diferenças significantes.

Num estudo prospectivo realizado por Hartel *et al.* (2005)¹⁰¹, foram avaliados 593 RN_s de muito baixo peso no nascimento e 278 RN_s de termo e suas mães. Foram pesquisadas as mutações dos fatores II e V e outros fatores não estudados habitualmente, tais como o VII e o XIII. De todos os fatores testados, o polimorfismo do fator VII foi mais freqüente entre as mães (26,2% x 17,6%, $p=0,009$) e os RN_s prematuros (29% x 20%, $p = 0,009$). Após regressão multivariada, o parto prematuro prévio ($OR=3,8$; $IC_{95\%}=1.7-$

8.4), as mães portadoras da mutação do fator VII ($OR= 1,7$; $IC_{95\%}=1,2-2,5$), e a menor frequência de RN_s portadores da mutação do fator XIII ($OR=0,53$; $IC_{95\%}= 0,29-0,96$) foram fatores independentes associados ao parto prematuro. Em pacientes com cardiotocografia alterada como indicação do parto prematuro, a frequência do fator V Leiden foi significativamente aumentada comparada a pacientes com cardiotocografia normal (14,1%x 6,1%, $p =0,001$). Estes autores concluem, no entanto, que os polimorfismos genéticos associados ao parto prematuro têm um impacto mais baixo do que o próprio antecedente de prematuridade.

Gibson *et al.* (2006)¹⁰² investigam as associações das trombofilias hereditárias (Fator V Leiden, gene mutante da protrombina e mutação da MTHFR) com as complicações da gestação em 717 RN_s e 609 controles. Em um total de 451 RN_s que nasceram em IG inferior a 37 semanas, a presença do fator V Leiden foi associada ao menor risco de prematuridade abaixo de 32 semanas ($OR=0,55$; $IC_{95\%}= 0,31-0,98$). Além disso, não houve aumento no risco de parto prematuro para as trombofilias pesquisadas. Destes 451 prematuros, observaram-se 82 casos (18%) com RCF. Nestes casos, houve associação da prematuridade abaixo de 28 semanas e RCF com a mutação da protrombina ($OR=5,71$; $IC_{95\%}= 1,49-21,93$). A presença da MTHFR foi associada à diminuição no risco de parto prematuro entre 32 e 36 semanas e RCF ($OR=0,52$; $IC_{95\%}= 0,28-0,92$).

3. *Métodos*

Este estudo foi desenvolvido de maneira prospectiva, envolvendo inicialmente 66 gestantes com história de parto prematuro espontâneo em gestação anterior; acompanhadas no Setor de Baixo Peso Fetal *Método* Obstétrica da FMUSP, foram comparadas com 66 gestantes sem complicações (grupo controle) atendidas no pré-natal geral da mesma Instituição, durante o período compreendido entre julho de 2004 e setembro de 2006.

3.1. Seleção e seguimento das gestantes

Critérios de inclusão

Grupo 1

- Gestantes com história de dois ou mais partos prematuros espontâneos ou um parto prematuro espontâneo com idade gestacional inferior a 32 semanas;
- Gestação única com idade gestacional ≤ 25 semanas;
- Idade gestacional definida pela data da última menstruação concordante com ultra-sonografia realizada até a 12ª semana ou duas ultra-sonografias concordantes até a 20ª semana;
- Pacientes sem história de hipertensão arterial crônica, diabetes mellitus ou fenômenos tromboembólicos prévios.

Grupo 2

- Gestantes saudáveis provenientes do pré-natal de baixo risco, com pelo menos uma gestação anterior;
- Gestação única com idade gestacional ≤ 25 semanas;
- Idade gestacional definida pela data da última menstruação concordante com ultra-sonografia realizada até 12 semanas ou duas ultra-sonografias realizadas até 20 semanas;
- Ausência de abortos, óbitos fetais ou partos prematuros anteriores.

Critérios de exclusão

- Malformações fetais detectadas pela ultra-sonografia ou por avaliação neonatal;
- Abortamento;
- Incompetência cervical;
- Malformações uterinas;
- Execução inadequada dos exames propostos;
- Perda de seguimento da paciente.

Termo de consentimento

As gestantes foram informadas a respeito do estudo e, caso aceitassem dele participar, assinavam o termo de consentimento (anexo A)

segundo as normas da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do HCFMUSP que aprovou o projeto (anexo B).

Coleta de dados do estudo

A coleta de dados foi feita por meio de formulário padronizado (anexo C), sendo que seu preenchimento iniciou-se durante a primeira consulta pré-natal no Ambulatório da Clínica Obstétrica, quando satisfeitos os critérios de inclusão e concordância da paciente, e realizada nas diversas etapas do seguimento médico, abrangendo todas as informações referentes a cada paciente, seus exames, bem como os dados pertinentes ao parto e ao RN.

Os dados referentes ao estudo foram posteriormente transferidos para um banco de dados (Microsoft Access 2003).

Até a 25ª semana, as gestantes foram submetidas à coleta única dos seguintes exames laboratoriais:

- a) Fator V Leiden
- b) Mutação da protrombina
- c) Dosagem da homocisteína plasmática
- d) Anticorpos anticardiolipina IgG e IgM
- e) Anticoagulante lúpico

Foram consideradas hereditárias a mutação do Fator V Leiden, a mutação da protrombina e a hiperhomocisteinemia. Foram consideradas adquiridas quando houve positividade das anticardiolipinas IgG ou IgM ou do anticoagulante lúpico.

Técnica de execução dos exames laboratoriais

- Fator V Leiden

Deteção da mutação Q506 do gene do Fator V, por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR) seguida por digestão com a enzima de restrição Mnl I¹¹⁰.

- Mutação da protrombina

Deteção da mutação G20210A do gene da protrombina por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR), seguida por digestão com a enzima de restrição Hind II¹¹¹.

As amostras de sangue foram colhidas em tubos “vacutainer” com etilenediamina tetra acetato (EDTA), o plasma foi separado por centrifugação e congelado à temperatura de -20° C, procedendo-se à análise após o descongelamento para os seguintes exames:

- Homocisteína

A concentração de homocisteína total no plasma foi medida por método automático de cromatografia líquida com detecção fluorescente (Abbott Diagnostics).

Para a dosagem da homocisteína plasmática foram considerados normais os valores entre 5 e 16 micromol/ml¹¹².

- Anticorpos anticardiolipina IgG e IgM

A detecção dos auto-anticorpos circulantes do tipo IgG ou IgM dirigidos contra a cardiolipina foi obtida por teste de ELISA (enzimaimunoensaio)¹¹³.

O tempo máximo entre as coletas e o descongelamento foi de seis meses. Foi realizada a diluição das amostras em 1/51 (10µl da amostra/ 500 µl do diluente). Foram utilizadas placas com conjugados de IgG e IgM. Às placas, foram adicionados 100 µl de cada amostra. Nas amostras com anticorpos presentes, estes ligavam-se às placas. Estas foram incubadas por 30 minutos em temperatura ambiente (20 a 25°C). Procederam-se quatro lavagens da placa com solução de lavagem e transferiram-se 100 µl de conjugado IgG (anti-anticorpo específico), utilizando pipetador multicanal. As placas foram novamente incubadas por um período de 30 minutos e novamente lavadas. Foram adicionados 100 µl de tetrametil benzeno, substrato que dá cor à reação, a cada cavidade das placas e foram incubadas por mais 10 minutos. Foi adicionado ácido sulfúrico a cada cavidade para a parada da reação enzimática. A leitura foi realizada imediatamente em um leitor de microplacas a 450 nm. A intensidade da cor azul está relacionada à quantidade de anticorpos presentes na amostra. O mesmo procedimento foi realizado para a detecção da anticardiolipina IgM. Os valores considerados normais para as anticardiolipinas são IgG $\leq$ a 10 GPL_s e IgM $\leq$ a 10 MPL_s.

Na análise dos resultados, as anticardiolipinas foram consideradas positivas quando seus títulos estiveram acima de 10 ou 20 GPL_s ou MPL_s.

- Anticoagulante lúpico

Foram estudadas as amostras de plasmas estocados. O *pool* de plasma normal (PN) utilizado nos testes foi constituído do plasma de 20 indivíduos voluntários, que apresentaram resultados negativos para o anticoagulante lúpico, quando testados com o tempo de tromboplastina parcial ativado (TTPA). Os testes foram realizados manualmente e em duplicatas no plasma, no PN e na mistura do plasma do paciente (PP) com o PN, na proporção 1:1. O teste foi realizado diante de um reagente comercial e o procedimento foi feito de acordo com as instruções do fabricante. A mistura (1:1) do PP com o PN foi realizada e o teste repetido no tempo zero e após duas horas de incubação a 37°C. Realizou-se o teste da mistura em todas as amostras. Os resultados do teste TTPA foram considerados anormais quando a razão PP/PN apresentou resultado acima de 1,2¹¹⁴.

Seguimento durante a gestação

Grupo 1

As gestantes com partos prematuros anteriores foram acompanhadas, durante o pré-natal, no Setor de Baixo Peso Fetal da Clínica Obstétrica do HCFMUSP de acordo com o protocolo de prevenção da prematuridade¹¹⁵. Diante do diagnóstico da RCF, foram seguidas conforme o protocolo da Clínica Obstétrica¹¹⁶.

Grupo 2

As gestantes do grupo controle foram selecionadas e acompanhadas no pré-natal geral da Clínica Obstétrica do HCFMUSP e seguiram o pré-

natal de acordo com a padronização da Instituição^{117, 118}. As gestantes com diagnóstico positivo para trombofilias foram encaminhadas ao ambulatório de Baixo Peso Fetal para seguimento da gestação e aquelas com exames laboratoriais normais continuaram o seguimento em pré-natal de baixo risco.

3.2. Variáveis e conceitos

- Idade: expressa em anos;
- Etnia: branca e não branca;
- Número de gestações e paridade;
- Número de partos prematuros anteriores;
- Fator V Leiden;
- Mutação da protrombina;
- Hiperhomocisteinemia;
- Anticorpos anticardiolipina IgM e IgG;
- Anticoagulante lúpico;
- Abortamento: perda embrionária ou fetal em idade gestacional inferior a 20 semanas ou peso inferior a 500g;
- Trabalho de parto prematuro: contrações uterinas regulares a cada cinco minutos, dilatação cervical igual ou superior a 2 cm e esvaecimento do colo de pelo menos 80%, em idade gestacional inferior a 37 semanas completas¹¹⁹.

- Parto prematuro: parto ocorrido antes de 37 semanas completas de gestação.
- Idade gestacional por ocasião do parto;
- Peso do RN: expresso em gramas;
- Restrição do crescimento fetal: o diagnóstico provável da RCF durante o pré-natal foi realizado pela ultra-sonografia. Considerou-se RCF diante do peso fetal abaixo do percentil 10, de acordo com a IG¹²⁰. A sua confirmação era feita após o nascimento, quando o RN era classificado como pequeno para a idade gestacional (PIG) diante do peso inferior ao percentil 10 para a IG correspondente¹²¹.
- Tipo de parto: vaginal (normal ou fórceps) ou cesárea;

3.3. Método estatístico

Cálculo do tamanho da amostra

Para a obtenção do valor amostral foram considerados os resultados de alguns estudos realizados. O percentual esperado para o Fator V Leiden ou mutação da protrombina no grupo de estudo foi de 17%⁷². Sendo a estimativa do percentual de incidência destas trombofilias, na população geral, de 1% a 7%¹¹², adotamos o valor de base de 5%.

A diferença percentual esperada para o Fator V Leiden e a mutação da protrombina entre o grupo de estudo e o grupo controle foi, portanto, de 12%.

Para os anticorpos antifosfolípidos, a positividade esperada no grupo de estudo foi de 30%⁶⁹ e, no grupo controle de 7%⁷⁰. A diferença esperada entre os grupos foi, portanto, de 23%.

Foram realizados cálculos para percentuais de 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 15%, 20% e 25%. O nível de significância adotado foi o de 5%.

Adotando uma diferença percentual de 20% entre os grupos e um poder do teste de 80%, o tamanho amostral determinado foi de 60 pacientes em cada grupo. Para a estimativa de perda de 10% dos casos foi determinada a avaliação de 132 gestantes.

Análise descritiva

Para a caracterização da população do estudo e para a descrição dos resultados encontrados nos exames realizados, as variáveis quantitativas foram expressas em valores médios, mediana, valores máximos e mínimos.

Análise comparativa

Foram calculadas as prevalências das trombofilias nos diferentes grupos com respectivos intervalos de confiança de 95% e os grupos foram comparados com uso de regressões logísticas¹²² para a criação das razões de chance (*odds ratio* - OR) e dos intervalos de confiança para o OR.

Para verificar a associação da presença de trombofilia com os resultados neonatais foram avaliadas todas as gestantes, independente do grupo, e realizadas regressões logísticas para criação do *OR* e respectivos intervalos de confiança.

Os testes foram realizados no nível de significância de 5%.

3.4. Características da população

Participaram inicialmente do estudo 132 gestantes; 66 com antecedente de parto prematuro espontâneo e 66 gestantes (grupo controle). Foram excluídas da análise 8 (6%) gestantes pelos seguintes motivos: abortamento (n=3), diagnóstico de incompetência cervical durante a gestação (n=2), diagnóstico de malformação fetal (n=2), coleta inadequada dos exames (n=1). Dessa maneira, 124 gestantes completaram o estudo, das quais 64 foram incluídas no Grupo 1 e 60 no Grupo 2.

Os dados dos casos analisados encontram-se resumidos no Anexo D.

A idade materna no Grupo 1 variou entre 16 e 43 anos, com média e mediana de 28,1 e 27 anos, respectivamente. O desvio-padrão foi de +/- 6,24 anos.

A idade materna no Grupo 2 variou entre 16 e 40 anos, com média e mediana de 28,4 e 29,5 anos, respectivamente. O desvio-padrão foi de +/- 6,36 anos. Não houve diferenças significantes entre a idade materna em ambos os grupos, conforme a Tabela 1.

Tabela 1. Distribuição das gestantes conforme a idade – HCFMUSP – julho de 2004 a setembro de 2006

Idade materna	Grupo 1	Grupo 2	
≥ 16 anos e ≤ 19 anos	4 (6,25%)	6 (10%)	$p = 0,44$
≥ 20 anos e ≤ 24 anos	19 (29,7%)	12 (20%)	$p = 0,21$
≥ 25 anos e ≤ 29 anos	17 (26,5%)	12 (20%)	$p = 0,39$
≥ 30 anos e ≤ 34 anos	15 (23,4%)	20 (33,3%)	$p = 0,22$
≥ 35 anos e ≤ 39 anos	7 (11%)	9 (15%)	$p = 0,50$
≥ 40 anos	2 (3,1%)	1 (1,7%)	$p = 0,59$

Houve predomínio da etnia branca em ambos os grupos, conforme verifica-se na Figura 1. Não houve diferença significativa entre os grupos em relação ao grupo étnico ($p=0,73$).

Figura 1. Distribuição das gestantes conforme a etnia – HCFMUSP – julho de 2004 a setembro de 2006

Quanto ao estado civil, observamos que no Grupo 1, 42 (65,6%) eram casadas, 16 (25%) amasiadas e 6 (9,4%) solteiras. No Grupo 2, 27 (45%) eram casadas, 27 (45%) amasiadas, 5 (8,3%) solteiras e uma (1,7%) viúva. Não se observaram diferenças significantes quanto ao estado civil entre os grupos ($p=0,9$).

Em nossa casuística, as pacientes do Grupo 1 tiveram 193 gestações anteriores e as do Grupo 2 103 gestações anteriores. No Grupo 1, 10 (15,6%) mencionaram uma gestação anterior, 13 (20,3%) duas gestações, 22 (34,4%) três gestações e 19 (29,7%) quatro ou mais gestações. No Grupo 2, 31 (51,7%) gestantes tiveram uma gestação anterior, 18 (30%) duas, 9 (15%) três e 2 (3,3%) tiveram quatro ou mais, conforme observa-se na Figura 2. Houve diferença estatisticamente significante entre o número de gestações anteriores entre os dois grupos ($p<0,05$).

Figura 2. Distribuição das gestantes segundo o número de gestações anteriores – HCFMUSP – julho de 2004 a setembro de 2006

Quanto à paridade, no Grupo 1 foram registradas 22 (34,4%) primíparas, 20 (31,2%) tiveram dois partos, 15 (23,4%) três partos e 7 (11%) tiveram quatro ou mais partos. No Grupo 2, 31 (51,7%) eram primíparas, 18 (30%) tiveram dois partos, 9 (15%) tiveram três e 2 (3,3%) quatro ou mais partos, conforme observa-se na Figura 3. Também houve diferenças significantes da paridade entre os dois grupos ($p=0,04$).

Figura 3. Distribuição das gestantes conforme a paridade – HCFMUSP – julho de 2004 a setembro de 2006

Avaliando o antecedente obstétrico, entre as pacientes do Grupo 1, 31 (48,4%) apresentavam antecedente de abortamento, das quais 14 (45,2%) evoluíram com um abortamento, 12 (38,7%) com dois, 3 (9,6%) com três abortamentos e duas (6,5%) com quatro ou mais abortamentos. As pacientes do Grupo 1 tiveram 136 gestações viáveis, das quais 127 (93,4%) finalizaram em partos prematuros, conforme mostrado na Figura 4.

Figura 4. Distribuição das gestantes do Grupo 1 conforme a porcentagem de partos prematuros anteriores – HCFMUSP – julho de 2004 a setembro de 2006

Entre os partos prematuros anteriores, 72 (56,7%) RN_s pesaram menos de 1.500g, conforme observa-se na Figura 5.

Figura 5. Distribuição das gestantes do Grupo 1 conforme a porcentagem de recém-nascidos anteriores com peso no nascimento inferior a 1.500g – HCFMUSP – julho de 2004 a setembro de 2006

Na população do estudo em questão, a porcentagem de mulheres tabagistas foi de 3 (4,7%) pacientes no Grupo 1 e 5 (8,3%) no Grupo 2, não havendo diferença significativa ($p=0,45$) entre eles.

4. Resultados

4.1. Resultados do parto e perinatais

Quanto ao tipo de parto, houve predomínio do parto vaginal em ambos os grupos, conforme ilustra a Figura 6 ($p=0,81$). Entre os prematuros, realizou-se cesariana em nove pacientes, e as indicações incluíram o sofrimento fetal intraparto em quatro, a iteratividade em três e a apresentação pélvica em duas pacientes.

Figura 6. Distribuição das gestantes segundo o tipo de parto – HCFMUSP – julho de 2004 a setembro de 2006

No Grupo 1, o peso dos RN_s variou de 780g a 4.340g, com média e desvio - padrão de 2.904g e +/-681g, respectivamente. No Grupo 2, o peso dos RN_s variou de 2.330g a 3.930g, com média e desvio - padrão de 3.087g e +/-374,7g, respectivamente. Não houve diferenças entre as médias dos pesos dos RN_s entre os grupos ($p=0,16$).

A distribuição do peso dos RN_s prematuros encontra-se na Figura 7.

Figura 7. Distribuição dos 19 recém-nascidos prematuros espontâneos segundo o peso de nascimento – HCFMUSP – julho de 2004 a setembro de 2006

Figura 8. Distribuição dos 19 recém-nascidos prematuros espontâneos segundo a idade gestacional no nascimento – HCFMUSP – julho de 2004 a setembro de 2006

A incidência de prematuridade foi significativamente maior no grupo com histórico de prematuridade anterior. Ocorreram 17 (26,5%) partos

prematturos espontâneos neste grupo e 2 (3,3%) no grupo controle ($RR=7,97$; $IC_{95\%} = 1,92 - 33,04$, $p=0,0003$). No grupo com prematuridade anterior, houve 2 (3,1%) partos prematturos eletivos.

A RCF ocorreu em 17 (13,7%) casos. Houve 9 (14%) pacientes no grupo com história de prematuridade anterior e 8 (13,3%) pacientes no grupo controle, não havendo diferença estatística significativa entre os grupos ($p=0,9$). Entre os RN_s prematturos espontâneos, três tinham RCF e entre os 103 RN_s, 13 tinham RCF. Não houve aumento de risco de RCF entre os prematturos espontâneos ($OR= 1,3$; $IC_{95\%} = 0,26 - 5,72$, $p=0,7$).

4.2. Prevalência das alterações nos testes de trombofilias

Inicialmente, foram avaliadas as prevalências das trombofilias hereditárias e adquiridas nas gestantes com histórico de prematuridade anterior (Grupo 1) e nas gestantes do grupo controle (Grupo 2), conforme apresentado na Tabela 2.

A prevalência dos testes alterados de trombofilias nos diferentes grupos foi determinada, avaliando-se cada trombofilia isoladamente e, posteriormente, foram agrupadas, conforme observa-se na Tabela 2.

Tabela 2. Prevalência de trombofilias hereditárias e adquiridas em pacientes com antecedente de prematuridade e grupo controle – HCFMUSP – julho de 2004 a setembro de 2006

Trombofilia	Grupo 1 Antecedente Prematuridade			Grupo 2 Gestantes normais		
	n – Prevalência	IC (95%)		n - Prevalência	IC (95%)	
		Inferior	Superior		Inferior	Superior
FVL	4 (6,3%)	0,3%	12,3%	3 (5,0%)	0,0%	10,5%
MP	1 (1,6%)	0,0%	4,7%	0	#	#
HCT + MTHFR	2 (3,1%)	0,0%	7,3%	0	#	#
ACLúpico	2 (3,1%)	0,0%	7,3%	0	#	#
AcL IgM > 10	22 (34,4%)	22,8%	46,0%	15 (25,0%)	14,0%	36,0%
AcL IgM ≥ 20	11 (17,2%)	8,0%	26,4%	3 (5,0%)	0,0%	10,5%
AcL IgG > 10	24 (37,5%)	25,6%	49,4%	11 (18,4%)	8,6%	28,2%
AcL IgG ≥ 20	8 (12,5%)	4,4%	20,6%	4 (6,7%)	0,4%	13,0%
Qualquer trombofilia (AcL > 10)	40 (62,5%)	50,6%	74,4%	23 (38,3%)	26,0%	50,6%
Qualquer trombofilia (AcL ≥ 20)	25 (39,1 %)	27,1%	51,1%	10 (16,7%)	7,3%	26,1%
Trombofilia hereditária	7 (10,9 %)	3,3%	18,5%	3 (5,0%)	0,0%	10,5%
Trombofilia adquirida (AcL > 10)	34 (53,1%)	40,9%	65,3%	21 (35,0%)	22,9%	47,1%
Trombofilia adquirida (AcL ≥ 20)	18 (28,1%)	17,1%	39,1%	7 (11,7%)	3,6%	19,8%

não foi possível calcular

Foram calculadas as razões de chance (*OR*) das prevalências de trombofilias no grupo com prematuridade anterior e no grupo controle, conforme mostra a Tabela 3.

Tabela 3. Razão de chances (*odds ratio* – *OR*) da prevalência das trombofilias hereditárias e adquiridas em pacientes com antecedente de prematuridade e grupo controle – HCFMUSP – julho de 2004 a setembro de 2006

Trombofilia	Categoria	OR	IC (95%)		p
			Inferior	Superior	
FVL	Ausente	1,0			
	Presente	1,3	0,3	5,9	0,764
MP	Ausente	1,0			
	Presente	#			>0,999
HCT + MTHFR	Ausente	1,0			
	Presente	#			>0,999
ACLúpico	Ausente	1,0			
	Presente	#			>0,999
AcL IgM	<=10	1,0			
	> 10 e < 20	1,0	0,4	2,5	0,969
	>=20	3,9	1,0	15,1	0,046
AcL IgG	<=10	1,0			
	> 10 e < 20	2,8	1,0	7,5	0,040
	>=20	2,5	0,7	8,7	0,167
Qualquer trombofilia (AcL > 10)	Ausente	1,0			
	Presente	2,7	1,3	5,5	0,008
Qualquer trombofilia (AcL ≥ 20)	Ausente	1,0			
	Presente	3,2	1,4	7,5	0,007
Trombofilia hereditária	Ausente	1,0			
	Presente	2,3	0,6	9,5	0,236
Trombofilia adquirida (AcL > 10)	Ausente	1,0			
	Presente	2,1	1,0	4,3	0,044
Trombofilia adquirida (AcL ≥ 20)	Ausente	1,0			
	Presente	3,0	1,1	7,7	0,026

Não foi possível calcular

Entre as pacientes com antecedente de prematuridade, a presença de trombofilias adquiridas e hereditárias foi mais freqüente do que no grupo normal ($OR= 3,2$; $IC_{95\%} = 1,4 - 7,5$, $p=0,007$).

Avaliando separadamente as trombofilias adquiridas, estas foram mais freqüentes no grupo com prematuridade anterior ($OR= 3,0$; $IC_{95\%} = 1,1 - 7,7$, $p=0,026$).

Neste mesmo grupo, observaram-se também, com maior frequência, a AcL IgG em títulos baixos entre 10 e 20 GPL_s ($OR= 2,8$; $IC_{95\%} = 1,0 - 7,5$, $p=0,040$) e IgM em títulos intermediários, quando acima de 20 MPL_s ($OR= 3,9$; $IC_{95\%} = 1,0 - 15,1$, $p=0,046$). A distribuição dos títulos de anticardiolipina, nas gestantes com antecedente de prematuridade e nas gestantes do grupo controle, é mostrada nas Figuras 9 e 10.

Figura 9. Distribuição dos títulos de anticardiolipina IgM, em MPL_s, nas pacientes com antecedente de prematuridade e no grupo controle – HCFMUSP – julho de 2004 a setembro de 2006

Figura 10. Distribuição dos títulos de anticardiolipina IgG, em GPLs, nas pacientes com antecedente de prematuridade e no grupo controle – HCFMUSP – julho de 2004 a setembro de 2006

A presença do anticoagulante lúpico não diferiu entre os grupos.

Analisando apenas as trombofilias hereditárias, não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos.

Após o período mínimo de 40 dias do parto, entre as 34 pacientes do Grupo 1 com testes positivos para trombofilias adquiridas, 15 (44%) repetiram o exame e, destas, 13 (86,6%) mantiveram o teste alterado. Apenas duas pacientes do Grupo 2 repetiram os exames, os quais resultaram negativos.

4.2.1. Prevalência das alterações nos testes de trombofilias na prematuridade atual

Entre as 19 mães de RN_s prematuros espontâneos, 15 (79%) tinham algum tipo de trombofilia. Entre estas, 5 (33,3%) apresentavam anticardiolipinas IgG e IgM positivas, 4 (26,7%) tinham apenas a IgM positiva, 3 (20%) tinham apenas a IgG positiva, 2 (13,3%) tinham presente o FVL e 1 (6,7%) anticoagulante lúpico positivo. Entre os RN_s prematuros, 3 (20%) tiveram RCF, dos quais todos tinham alguma trombofilia.

4.3. Risco de prematuridade espontânea e RCF nas pacientes com testes de trombofilias alterados

4.3.1. Risco de prematuridade espontânea

Avaliando o risco de prematuridade na gestação atual, tendo em conta as gestantes portadoras tanto de trombofilias hereditárias quanto adquiridas, considerando-se positivas as anticardiolipinas com títulos superiores a 10 GPL_s ou MPL_s, observou-se aumento do risco de parto prematuro espontâneo de 4,5 vezes ($OR= 4,5$; $IC_{95\%} = 1,4 - 14,4$, $p=0,012$).

Quando foram consideradas isoladamente as gestantes com positividade em títulos de anticardiolipinas baixos, o resultado também se apresentou significativo ($OR= 3,3$; $IC_{95\%} = 1,2 - 9,3$, $p=0,026$), conforme observa-se nas Tabelas 4 e 5.

Quando avaliadas as gestantes portadoras de trombofilias hereditárias isoladamente ou as gestantes com anticardiolipinas com títulos maiores que 20 GPL_s ou MPL_s, verifica-se que o aumento do risco não foi estatisticamente significativo.

Tabela 4. Incidência de prematuridade espontânea na gestação atual conforme o tipo de trombofilia - HCFMUSP – julho de 2004 a setembro de 2006

Trombofilia	Categoria	Prematuridade espontânea				Total	
		A termo		Pré-termo			
Qualquer trombofilia (AcL > 10)	Negativo	56	93,3%	4	6,7%	60	100%
	Positivo	47	75,8%	15	24,2%	62	100%
Qualquer trombofilia (AcL ≥ 20)	Negativo	77	87,5%	11	12,5%	88	100%
	Positivo	26	76,5%	8	23,5%	34	100%
Trombofilia hereditária	Negativo	95	84,8%	17	15,2%	112	100%
	Positivo	8	80,0%	2	20,0%	10	100%
Trombofilia adquirida (AcL > 10)	Negativo	62	91,2%	6	8,8%	68	100%
	Positivo	41	75,9%	13	24,1%	54	100%
Trombofilia adquirida (AcL ≥ 20)	Negativo	85	86,7%	13	13,3%	98	100%
	Positivo	18	75,0%	6	25,0%	24	100%
Total		103	84,4%	19	15,6%	122	100%

Tabela 5. Razão de chances (*odds ratio* – OR) da prematuridade espontânea na gestação atual conforme o tipo de trombofilia - HCFMUSP – julho de 2004 a setembro de 2006

Trombofilia	Prematuridade espontânea	OR	IC (95%)		p
			Inferior	Superior	
Qualquer trombofilia (AcL > 10)	A termo	1,0			
	Pré-termo	4,5	1,4	14,4	0,012
Qualquer trombofilia (AcL ≥ 20)	A termo	1,0			
	Pré-termo	2,2	0,8	5,9	0,138
Trombofilia hereditária	A termo	1,0			
	Pré-termo	1,4	0,3	7,2	0,688
Trombofilia adquirida (AcL >10)	A termo	1,0			
	Pré-termo	3,3	1,2	9,3	0,026
Trombofilia adquirida (AcL ≥20)	A termo	1,0			
	Pré-termo	2,2	0,7	6,5	0,162

O grupo de gestantes portadoras de trombofilias hereditárias e adquiridas que se associou à prematuridade espontânea foi, posteriormente, inserido em modelo de regressão logística para ajustar possíveis variáveis de confusão. A análise univariada evidenciou que tanto as trombofilias quanto o histórico de prematuridade foram associados ao desfecho da prematuridade espontânea. Na análise multivariada, no entanto, o histórico de prematuridade espontânea esteve 11 vezes mais associado ao parto prematuro espontâneo do que a presença de trombofilias maternas, conforme ilustra a Tabela 6.

Tabela 6. Modelos de regressão logística para a prematuridade espontânea - HCFMUSP – julho de 2004 a setembro de 2006

Variáveis	Categoria	Pré-termo	OR não ajustado	IC (95%)		p	OR ajustado	IC (95%)		p	
				Inferior	Superior			Inferior	Superior		
Faixa etária	< 20	1/10	10,0%	1,00			1,00				
	>= 20 e < 25	3/31	9,7%	0,96	0,09	10,47	0,976	0,63	0,05	7,73	0,721
	>= 25 e < 30	7/28	25,0%	3,00	0,32	28,07	0,336	2,40	0,22	25,64	0,469
	>= 30 e < 35	4/35	11,4%	1,16	0,12	11,74	0,899	1,11	0,10	12,68	0,936
	>= 35 e < 40	3/15	20,0%	2,25	0,20	25,37	0,512	2,58	0,19	34,67	0,474
Etnia	>= 40	1/3	33,3%	4,50	0,19	106,82	0,352	3,16	0,11	95,33	0,508
	Branca	11/84	13,1%	1,00							
Estado civil	Não branca	8/38	21,1%	1,77	0,65	4,84	0,266				
	Casada/Amasiada	16/110	14,5%	1,00							
Tabagismo	Solteira/Viúva	3/12	25,0%	1,96	0,48	8,02	0,350				
	Não	18/114	15,8%	1,00							
Paridade	Sim	1/8	12,5%	0,76	0,09	6,57	0,805				
	≤ 2	11/89	12,4%	1,00							
Grupo	> 2	8/33	24,2%	2,27	0,82	6,27	0,114				
	Controle	2/60	3,3%	1,00				1,00			
Qualquer trombofilia (AcL > 10)	Antecedente de prematuridade	17/62	27,4%	10,96	2,41	49,89	0,002	12,02	2,56	56,40	0,002
	Negativo	4/60	6,7%	1,00							
	Positivo	15/62	24,2%	4,47	1,39	14,38	0,012				
Total		19/122	15,6%								

4.3.2. Risco de restrição do crescimento fetal

Ao avaliar a incidência de RCF em gestantes com trombofilias na gestação atual, observou-se aumento de risco ($OR= 5,7$; $IC_{95\%} = 1,5 - 20,9$, $p=0,009$) naquelas com trombofilias hereditárias e adquiridas, considerando as anticardiolipinas IgG e IgM positivas com títulos acima de 10 GPL_s ou MPL_s, respectivamente, conforme demonstram as Tabelas 7 e 8. O mesmo ocorreu quando foram considerados os títulos moderados de anticardiolipinas, porém com menor risco ($OR= 3,6$; $IC_{95\%} = 1,2 - 10,2$, $p=0,018$).

Tabela 7. Classificação do peso fetal na gestação atual conforme o tipo de trombofilia - HCFMUSP – julho de 2004 a setembro de 2006

Trombofilia	Categoria	Classificação de peso do RN						Total	
		PIG		AIG		GIG			
Qualquer trombofilia (AcL > 10)	Negativo	3	4,9%	57	93,4%	1	1,6%	61	100%
	Positivo	14	22,2%	47	74,6%	2	3,2%	63	100%
Qualquer trombofilia (AcL > 20)	Negativo	8	9,0%	79	88,8%	2	2,2%	89	100%
	Positivo	9	25,7%	25	71,4%	1	2,9%	35	100%
Trombofilia hereditária	Negativo	14	12,3%	97	85,1%	3	2,6%	114	100%
	Positivo	3	30,0%	7	70,0%	0	0,0%	10	100%
Trombofilia adquirida (AcL > 10)	Negativo	6	8,7%	62	89,9%	1	1,4%	69	100%
	Positivo	11	20,0%	42	76,4%	2	3,6%	55	100%
Trombofilia adquirida (AcL ≥ 20)	Negativo	11	11,1%	86	86,9%	2	2,0%	99	100%
	Positivo	6	24,0%	18	72,0%	1	4,0%	25	100%
Total		17	13,7%	104	83,9%	3	2,4%	124	100%

Quando foram avaliadas, separadamente, as pacientes com trombofilias hereditárias e adquiridas, não se obteve significância estatística para a ocorrência de RCF, conforme verificado na Tabela 8.

Tabela 8. Razão de chances (*odds ratio* – *OR*) da prevalência da classificação do peso do recém-nascido na gestação atual conforme o tipo de trombofilia - HCFMUSP – julho de 2004 a setembro de 2006

Trombofilia	Classe do recém-nascido	OR	IC (95%)		p
			Inferior	Superior	
Qualquer trombofilia (AcL > 10)	AIG	1,0			
	PIG	5,7	1,5	20,9	0,009
	GIG	2,4	0,2	27,6	0,475
Qualquer trombofilia (AcL > 20)	AIG	1,0			
	PIG	3,6	1,2	10,2	0,018
	GIG	1,6	0,1	18,2	0,714
Trombofilia hereditária	AIG	1,0			
	PIG	3,0	0,7	12,8	0,145
	GIG	#			0,999
Trombofilia adquirida (AcL > 10)	AIG	1,0			
	PIG	2,7	0,9	7,9	0,068
	GIG	3,0	0,3	33,6	0,383
Trombofilia adquirida (AcL > 20)	AIG	1,0			
	PIG	2,6	0,9	8,0	0,093
	GIG	2,4	0,2	27,8	0,487

Não foi possível calcular

O grupo de trombofilias hereditárias e adquiridas, considerando as anticardiolipinas em títulos maiores ou iguais a 20 GPL_s ou MPL_s, que se associaram à RCF foi, posteriormente, inserido em modelo de regressão logística para ajustar as possíveis variáveis de confusão. As análises univariada e multivariada comprovaram associação entre a RCF e as trombofilias, independente do risco obstétrico de prematuridade, conforme ilustra a Tabela 9.

Tabela 9. Modelos de regressão logística para a restrição do crescimento fetal - HCFMUSP – julho de 2004 a setembro de 2006

Variáveis	Categoria	Pré-termo	OR não ajustado	IC (95%)		p	OR ajustado	IC (95%)		p	
				Inferior	Superior			Inferior	Superior		
Faixa etária	< 20	2/10	20,0%	1,00			1,00				
	>= 20 e < 25	2/31	6,5%	0,28	0,03	2,28	0,232	0,29	0,03	2,52	0,262
	>= 25 e < 30	3/29	10,3%	0,46	0,07	3,27	0,439	0,46	0,06	3,42	0,448
	>= 30 e < 35	5/35	14,3%	0,67	0,11	4,10	0,662	0,67	0,10	4,30	0,669
	>= 35 e < 40	5/16	31,3%	1,82	0,28	11,87	0,532	1,72	0,25	11,91	0,585
	>= 40	0/3	0,0%	0,00	0,00	#	0,999	0,00	0,00	#	0,999
Cor	Branca	8/85	9,4%	1,00							
	Não branca	9/39	23,1%	2,89	1,02	8,18	0,046				
Estado civil	Casada/Amasiada	14/112	12,5%	1,00							
	Solteira/Viúva	3/12	25,0%	2,33	0,56	9,67	0,243				
Tabagismo	Não	14/116	12,1%	1,00							
	Sim	3/8	37,5%	4,37	0,94	20,32	0,060				
Paridade	≤ 2	13/91	14,3%	1,00							
	> 2	4/33	12,1%	0,83	0,25	2,75	0,757				
Grupo	Controle	8/60	13,3%	1,00							
	Antecedente de prematuridade	9/64	14,1%	1,06	0,38	2,97	0,906				
Qualquer trombofilia (AcL ≥ 20)	Negativo	8/89	9,0%	1,00				1,00			
	Positivo	9/35	25,7%	3,51	1,23	10,01	0,019	3,32	1,13	9,80	0,029
Total		17/124	13,7%								

não foi possível calcular

5. *Discussão*

Não obstante os avanços da Perinatologia nos últimos anos, a prematuridade continua sendo a principal causa de morbimortalidade neonatal, representando um dos maiores desafios para a Obstetrícia atual^{2, 27, 41}.

A incidência de prematuridade tem-se elevado nos últimos anos, com exceção de alguns países, tais como França, Finlândia e Suécia²⁰⁻²². Apesar de etiologia multifatorial e dificuldade na prevenção primária do parto prematuro espontâneo, as medidas adotadas para a sua prevenção secundária parecem ter colaborado para o controle de sua incidência em alguns locais^{35, 123, 124}. Por outro lado, essa incidência ainda assim é alta e, mesmo afastando e tratando as causas classicamente conhecidas, tais como as infecções, a incompetência cervical e a gestação múltipla, o parto prematuro ocorre em 40 a 50% das vezes sem nenhuma causa identificável³⁸.

Neste estudo, a incidência de prematuridade espontânea no grupo de risco foi de 26,5%. No ano de 2004, a incidência no Setor de Baixo Peso Fetal era de 18,5%. Apesar de aparentemente ter ocorrido elevação da incidência de partos prematuros em relação aos levantamentos anteriores, os motivos para esta ocorrência podem ser justificados pela população de maior risco neste estudo, visto que foram incluídas apenas as pacientes com histórico de prematuridade abaixo de 32 semanas ou com dois prematuros anteriores. As pacientes que tinham histórico de apenas um prematuro, com IG superior a 32 semanas, não foram incluídas, embora tenham sido acompanhadas pelo Setor de Baixo Peso Fetal. A prescrição de

progesterona foi feita para todas as pacientes, todavia algumas não tiveram condições de adquiri-la. De qualquer forma, embora tenha ocorrido maior número de nascimentos prematuros, em 82,3% das vezes, o parto ocorreu em IG $\geq$ 34 semanas. Por outro lado, em 3 (17,7%) casos, abaixo desta IG, houve óbito neonatal, o que muito nos preocupa.

No grupo de gestantes normais, a incidência de prematuridade espontânea foi de apenas 3,3%. Os grupos foram homogêneos, quando comparados os fatores de risco para a prematuridade, tais como a idade materna, a etnia, o estado civil, a escolaridade e o tabagismo. A multiparidade foi significativamente maior no grupo de gestantes de risco, e poderia ser um dos fatores possivelmente associados à expressiva diferença de prematuridade entre os grupos avaliados, já que sabidamente configura fator de risco em mulheres com histórico de prematuridade anterior.

Como foi observado que na prematuridade espontânea, o risco de recorrência é de 40%⁴³, e que o parto prematuro prévio é o melhor preditor da prematuridade, as gestantes com histórico de prematuridade configuram, portanto, o grupo de maior risco. Neste estudo, avaliamos gestantes que apresentavam histórico obstétrico expressivo de prematuridade espontânea, visto que 93,4% de suas gestações viáveis haviam finalizado em partos prematuros e, destes, 56,7% dos RN_s tiveram peso inferior a 1.500g.

Vale ressaltar que, por conta da necessidade de diminuir a incidência do parto prematuro espontâneo, o estudo de novas etiologias para o parto prematuro tem conquistado crescente interesse na literatura médica^{45, 106-109}.

Avaliamos a prevalência das trombofilias tanto hereditárias como adquiridas, em vista de os anticorpos antifosfolipídeos terem sido previamente associados à trombose e aos infartos placentários, representando o mecanismo fisiopatológico envolvido na prematuridade espontânea. Não encontramos, até o momento, nenhum estudo semelhante na literatura médica. Enquanto o comportamento dos anticorpos antifosfolipídicos na gestação foi avaliado em poucos estudos na década de 90, o estudo das trombofilias hereditárias têm sido de recente interesse na literatura médica, porém são escassos os dados de sua correlação com o parto prematuro.

Nas gestantes com prematuridade espontânea anterior, encontramos 53,1% de positividade para os anticorpos antifosfolipídeos, quando consideradas as anticardiolipinas em títulos iguais ou superiores a 10 GPL_s ou MPL_s, e 28,1%, quando considerados os títulos iguais ou superiores a 20 GPL_s ou MPL_s.

A respeito da positividade dos anticorpos antifosfolipídeos em gestantes de risco para o parto prematuro, Lettieri *et al.* (1993)⁶⁹ avaliaram pacientes com parto prematuro espontâneo com falha da tocolise e observaram que os fatores imunológicos, representados pela positividade dos anticorpos anticardiolipina, entre outras alterações, foram positivos em 30% das mulheres. Estes autores afirmaram que, se as pacientes com falha de tocolise fossem investigadas para anticorpos antifosfolipídeos, haveria diminuição da prematuridade “idiopática”, pois quando incluíram estes

exames na investigação, apenas 4% das pacientes permaneceram sem nenhuma causa identificável para o parto prematuro. Em nossa casuística, entre as 19 mulheres que tiveram partos prematuros espontâneos, 13 (68,4%) tiveram algum anticorpo antifosfolípideo positivo durante a gestação. Nestes casos, cinco tiveram AcL IgG e IgM positivas, quatro tiveram apenas AcL IgM positivas, três tiveram apenas AcL IgG positiva, e uma com anticoagulante lúpico positivo. Entre os três casos com óbito neonatal, duas tiveram a AcL IgG positiva e uma teve AcL IgG e AcL IgM positivas. Duas pacientes com parto prematuro espontâneo foram portadoras da mutação do Fator V Leiden. Dessa forma, entre as pacientes que tiveram partos prematuros espontâneos, 79% tiveram algum tipo de alteração nos testes para trombofilia adquirida ou hereditária.

Das 13 pacientes com prematuridade espontânea e antifosfolídeos positivos, apenas cinco repetiram os exames no pós-parto e, destas, todas mantiveram os exames positivos.

No estudo ora em discussão, a taxa de antifosfolídeos positivos no grupo de gestantes normais foi de 35%, quando consideradas como positivas as anticardiolipinas em títulos iguais ou superiores a 10 GPL_s ou MPL_s, e 11,7%, quando foram levadas em consideração as anticardiolipinas em títulos iguais ou superiores a 20 GPL_s ou MPL_s.

A positividade das anticardiolipinas em populações de gestantes normais já foi avaliada em outros relatos. Os estudos com maior casuística, que avaliaram a positividade das anticardiolipinas em gestantes de baixo

risco, evidenciaram resultados divergentes. A positividade variou entre 1 e 7%^{70, 79, 84, 85} em sua maioria, mas atingiu 24,4%, quando também foi considerada a positividade do anticoagulante lúpico⁸³. Preocupa-nos o fato de termos encontrado alta prevalência das anticardiolipinas positivas nas gestantes normais. Os motivos para este achado são incertos, mas provavelmente relacionados à flutuação dos títulos das anticardiolipinas durante a gestação^{83, 86} ou mesmo à maior taxa de falsos-positivos entre os títulos baixos de anticardiolipinas (entre 10 e 20 GPL_s ou MPL_s). Vale ressaltar que as anticardiolipinas em títulos baixos apresentam menor correlação com os eventos clínicos da SAF¹²⁵. Evidenciamos, de todo modo, diferença significativa na positividade das anticardiolipinas entre a população de alto e baixo riscos para prematuridade espontânea. O risco de ter anticardiolipinas positivas no grupo de alto risco em relação ao de baixo risco foi de duas vezes, quando consideradas as anticardiolipinas em títulos iguais ou superiores a 10 GPL_s ou MPL_s e três vezes, quando considerados os títulos iguais ou superiores a 20 GPL_s ou MPL_s.

Quando avaliamos separadamente os títulos das anticardiolipinas, foram estatisticamente significantes as diferenças entre os grupos: a AcL IgG em títulos baixos (entre 10 e 20 GPL_s ou MPL_s) e a AcL IgM em títulos médios ou altos (>20 GPL_s ou MPL_s).

Em contrapartida, a positividade para o anticoagulante lúpico foi baixa, sendo detectada em duas pacientes no grupo de risco e em nenhuma no grupo de baixo risco. Este resultado pode ser explicado, possivelmente, pela

baixa sensibilidade do método empregado. Atualmente recomenda-se que pelo menos dois métodos diferentes devam ser realizados para o teste de triagem do anticoagulante lúpico¹²⁶.

Embora o critério diagnóstico para SAF, derivado de consenso internacional¹²⁷, requeira positividade em dosagens repetidas, não há evidências de que anticorpos antifosfolípídeos positivos transitoriamente sejam menos importantes do que títulos persistentes, segundo revisão sistemática recentemente realizada¹²⁸. Os dois maiores estudos para examinar a importância prognóstica dos anticorpos antifosfolípídeos testaram as pacientes em ocasião única: no momento da trombose¹²⁹ e seis meses após o diagnóstico do tromboembolismo¹³⁰.

Analisando a diferença entre as trombofilias hereditárias, observamos que, embora a prevalência no grupo de risco tenha sido o dobro da encontrada no grupo normal (11% x 5%), esta diferença não foi estatisticamente significativa. Para o cálculo amostral, trabalhamos com uma diferença percentual esperada de 20% entre os grupos, pois consideramos tanto as trombofilias hereditárias, como as adquiridas. Para avaliar apenas as trombofilias hereditárias, a diferença percentual esperada seria de 12%⁷². Para uma diferença percentual encontrada de 6% entre os grupos e, considerando 80% de poder do teste, o tamanho amostral necessário para detectar diferença significativa apenas nas trombofilias hereditárias seria de 6.426 pacientes em cada grupo.

O único estudo que avaliou as trombofilias hereditárias em mulheres com histórico de parto prematuro espontâneo, também não encontrou

diferenças significantes nas taxas do fator V Leiden e protrombina. Da mesma forma, o estudo em questão avaliou 86 mulheres de risco e trabalhou com uma diferença esperada de 8%¹⁰⁰. Um achado interessante, no entanto, foi que a mutação da MTHFR foi prevalente neste grupo de mulheres sendo, portanto, pioneiro dessa observação. A maior prevalência desta mutação, segundo os autores, sugere que o metabolismo do ácido fólico pode ter participação na gênese do parto prematuro e é consistente com a hipótese de que a baixa ingestão de folato associada à mutação da MTHFR contribua para a vasculopatia crônica e resulte em parto prematuro¹³¹.

Em nossa casuística, as pacientes receberam ácido fólico de rotina durante toda a gestação. Apenas duas pacientes no grupo de risco tiveram aumento dos níveis de homocisteína e ambas foram portadoras de mutação heterozigota para MTHFR. As metanálises mais recentes evidenciam que a mutação da MTHFR não representa fator de risco para o tromboembolismo venoso ou doença coronariana^{90, 132}. Por outro lado, quando ocorre hiperhomocisteinemia, maiores são os riscos de vasculopatia placentária¹³³ e algumas complicações da gestação, tais como abortamentos podem ser mais freqüentes¹³⁴.

O estudo com maior casuística realizado até o momento, que avaliou 458 mulheres com partos prematuros espontâneos que ocorreram no mesmo Hospital, também não encontrou maior prevalência do fator V Leiden, porém os autores atribuíram esse resultado à baixa prevalência do

fator V Leiden na população estudada (<1%), embora outro polimorfismo do fator V tenha se associado à prematuridade⁷⁵.

Os poucos estudos referentes às trombofilias hereditárias apresentam desenhos diferentes daqueles realizados por nós e apresentam resultados controversos.

Gopel *et al.* (1999)⁷², embora tenham encontrado maior prevalência de trombofilias hereditárias no parto prematuro, avaliaram apenas os RN_s e não as mães.

Contrariamente, um estudo recente, com resultados conflitantes com a literatura, evidenciou que o fator V Leiden apresenta diminuição no risco de prematuridade e que as outras trombofilias hereditárias estudadas não alteram o risco de prematuridade, a não ser nos casos de prematuridade extrema e RCF associada à mutação da protrombina¹⁰². Embora tenha sido realizado com tamanho amostral maior (717 RN_s prematuros), esse estudo também avaliou as trombofilias apenas nos RN_s e não em suas mães.

Outros autores observaram maior prevalência de Fator V Leiden entre as mães de 50 prematuros comparadas com as mães de 50 RN_s de termo com RCF; todavia não foi especificado se a prematuridade era espontânea ou eletiva⁷³.

Resch *et al.* (2004)⁹⁹ avaliaram as trombofilias hereditárias mais comuns, durante a internação, em mães de RN_s prematuros espontâneos com IG $\leq$ 35 semanas, e não encontraram diferenças significantes, mas apenas 35 pacientes foram analisadas no grupo de estudo.

Em outro estudo, a associação da mutação dos fatores V e II com prematuridade também não foi observada nas mães e nos RN_s; no entanto a maioria das pacientes teve parto prematuro eletivo (67%)¹⁰¹.

Nossa proposição foi avaliar as trombofilias hereditárias em conjunto com as adquiridas. Observamos que as trombofilias hereditárias, embora isoladamente não tenham obtido significância estatística, quando associadas às adquiridas, houve aumento da significância em relação às adquiridas. O risco de ter tanto trombofilias hereditárias quanto adquiridas no grupo de alto risco em relação ao de baixo risco foi aproximadamente de três vezes, tanto quando consideradas as anticardiolipinas em títulos iguais ou superiores a 10 GPL_s ou MPL_s como quando considerados os títulos iguais ou superiores a 20 GPL_s ou MPL_s.

Independente do grupo de risco, ficamos motivados a determinar se a presença de trombofilias aumenta o risco de prematuridade espontânea na gestação, em vista de termos observado anteriormente que, em mulheres com abortos de repetição e anticardiolipinas positivas, mesmo quando tratadas com heparina, havia aumento do risco de prematuridade espontânea⁷⁶.

Observamos que, independente do grupo ao qual pertenciam inicialmente, os anticorpos antifosfolípídeos em títulos baixos, assim como quando associados às trombofilias hereditárias, aumentou o risco de prematuridade espontânea em 3,3 e 4,5 vezes, respectivamente, na análise univariada. O risco de prematuridade espontânea, quando avaliamos os

anticorpos antifosfolipídeos em títulos moderados ou altos, associados ou não às trombofilias hereditárias, embora tenha sido 2,2 vezes maior, não foi estatisticamente significativa. Da mesma forma, embora as trombofilias hereditárias tenham aumentado o risco em 1,4 vezes, este aumento não foi significativo. Na análise multivariada, em que diversos outros parâmetros importantes foram avaliados, o antecedente de prematuridade permaneceu como o maior fator de risco associado à prematuridade na gestação atual.

Poucos estudos avaliaram o risco de prematuridade na presença de anticardiolipinas positivas durante a gestação. Yasuda *et al.* (1995)⁷⁰ observaram que a positividade das anticardiolipinas em gestantes de baixo risco aumentava o risco de parto prematuro; no entanto o tipo de prematuridade não foi especificado. Em outro estudo, não houve associação de anticardiolipinas positivas durante a gestação com o baixo peso do RN⁸³.

Em mulheres com abortos de repetição e trombofilias adquiridas e hereditárias, observamos anteriormente um aumento no risco de prematuridade espontânea, em avaliação prospectiva⁷¹. Em estudo retrospectivo, as mulheres portadoras das mutações do fator V Leiden e protrombina, entre outras, apresentavam maior incidência de prematuridade, entretanto esse estudo não fez a distinção entre a prematuridade espontânea e a eletiva⁷⁴.

Esses achados foram surpreendentes para nós e acreditamos que a avaliação das trombofilias adquiridas e hereditárias pode ter importância clínica nas gestantes de risco.

A análise de maior casuística, no entanto, se faz necessária para que possamos concluir sobre o risco de prematuridade espontânea na existência de anticorpos antifosfolipídeos e/ou trombofilias hereditárias em mulheres de risco para o parto prematuro.

Em vista de recentes achados observando maior taxa de RCF entre os prematuros espontâneos⁵⁸⁻⁶¹, avaliamos o comportamento da RCF em nosso estudo. Entre os RN_s prematuros, no entanto, não houve maior incidência de RCF do que entre os que nasceram a termo. Isso pode ter ocorrido possivelmente pelo pequeno número de RCF que ocorreu em nossa casuística, dificultando o achado de associações significantes. Observamos que houve aumento do risco de RCF para as gestantes portadoras de trombofilias hereditárias e adquiridas, tanto em títulos baixos, como moderados ou altos, na análise univariada; este risco manteve-se embora pouco menor, na análise multivariada. O risco foi significativo quando todas as trombofilias foram avaliadas em conjunto, independente do risco de prematuridade. A associação entre trombofilias maternas e RCF é hoje estabelecida na literatura médica, porém com base em pequeno número de estudos. Embora alguns estudos não tenham encontrado tal associação^{135, 136}, esta foi observada em outros^{64, 66, 70, 137}. Em metanálise recente⁶⁸ verificou-se que esse risco varia entre 1,24 e 2,92, mas não foi incluído o risco associado às anticardiolipinas, em vista deste ter sido avaliado em apenas um estudo⁷⁰.

Em suma, nossos achados, apesar de resultados sugestivos, ainda não permitem concluir, de maneira definitiva, que as alterações dos exames laboratoriais para as trombofilias estejam relacionadas ao parto prematuro espontâneo. Temos a convicção da necessidade de novos estudos, com maior casuística para que possamos assegurar a utilidade desses exames em gestantes de risco para o parto prematuro.

O estudo mais aprofundado do papel das trombofilias nessas gestantes poderá não só diminuir o risco perinatal, mas também permitir a aquisição de novos conhecimentos relacionados aos mecanismos fisiopatológicos que determinam o parto prematuro.

6. *Conclusões*

Este estudo, que avaliou a existência de trombofilias adquiridas e hereditárias em gestantes de risco para o parto prematuro, permite concluir:

1. Quanto às alterações nos testes laboratoriais:

As trombofilias adquiridas e hereditárias foram mais freqüentes no grupo de risco, sendo prevalentes as adquiridas, das quais as anticardiolipinas IgG e IgM foram as mais freqüentemente encontradas.

2. Quanto ao risco de prematuridade na gestação atual:

Foram encontradas trombofilias na maioria das pacientes que evoluíram com partos prematuros espontâneos.

Houve aumento do risco de prematuridade espontânea nas portadoras de trombofilias adquiridas e hereditárias, mas o antecedente de parto prematuro permaneceu como o maior fator de risco na determinação da prematuridade espontânea.

ANEXO A

HOSPITAL DAS CLÍNICAS
DA
FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

TERMO DE CONSENTIMENTO PÓS - INFORMAÇÃO

I - DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME DO PACIENTE:
DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : .M ☐ F ☐
DATA NASCIMENTO:/...../.....
ENDEREÇO: Nº APTO:
BAIRRO: CIDADE:
CEP: TELEFONE: DDD (.....)

2. RESPONSÁVEL LEGAL
NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)
DOCUMENTO DE IDENTIDADE : SEXO: M ☐ F ☐
DATA NASCIMENTO:/...../.....
ENDEREÇO: Nº APTO:
BAIRRO: CIDADE:
CEP: TELEFONE: DDD (.....)

II - DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: **DETECÇÃO DAS TROMBOFILIAS NO ABORTAMENTO HABITUAL E PARTO PREMATURO**

2. PESQUISADOR: ÉRICA RADES

CARGO/FUNÇÃO: PÓS - GRADUAÇÃO

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº: 88102

UNIDADE DO HCFMUSP: OBSTETRÍCIA

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA: RISCO MÍNIMO (probabilidade de que o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo)

4. DURAÇÃO DA PESQUISA : dois anos

III - REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE OU A SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA CONSIGNANDO:

1. justificativa e os objetivos da pesquisa 2. procedimentos que serão utilizados e propósitos, incluindo a identificação dos procedimentos que são experimentais 3. desconfortos e riscos

esperados 4. benefícios que poderão ser obtidos 5. procedimentos alternativos que possam ser vantajosos para o indivíduo.

Estamos convidando você a participar desta pesquisa que está sendo realizada neste Hospital. Gostaríamos de realizar um exame de sangue para verificar algum risco de parto prematuro nesta gravidez. Estamos comparando os exames de gestantes com partos prematuros anteriores com os exames de gestantes normais. Estamos pesquisando se, nas gestantes com partos prematuros, são mais freqüentes algumas doenças do sangue relacionadas à coagulação. Gostaríamos que você colaborasse com essa pesquisa permitindo que façamos esses exames. Os exames não prejudicarão você, nem seu bebê. Caso seja verificada qualquer coisa anormal, você será informada e encaminhada para exames mais detalhados.

Em qualquer momento, você pode ter os resultados dos exames feitos nesta pesquisa e tirar qualquer dúvida que aparecer sobre o tipo de exame e do tratamento que está sendo feito, sobre o risco deste exame e sobre as vantagens e benefícios dos exames. Você também pode desistir a qualquer momento do seu consentimento sem prejudicar o seu atendimento neste hospital. Todos os seus dados e exames vão ser guardados em segredo e o seu nome não aparecerá em nenhum resultado desta pesquisa.

IV - ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA, CONSIGNANDO:

1. O paciente terá acesso, a qualquer tempo, às informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa.
2. O paciente ou seu representante legal terá liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e de deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo à continuidade da assistência.
3. Os pesquisadores responsáveis salvaguardam a confidencialidade, sigilo e privacidade dos dados.
4. Haverá a disponibilidade de assistência para o tratamento pré-natal e pós-natal no Serviço de Obstetrícia do HCFMUSP,
5. Não há previsão de danos à saúde decorrentes da pesquisa, que justifiquem indenização de qualquer tipo.

V - INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.

Pronto Socorro – Hospital das Clínicas - FMUSP

Av. Dr. Éneas de Carvalho Aguiar, s/n.

Fone: 011 – 3069 –6000

VI - CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Declaro que, após convenientemente esclarecida pela Dra. Érica Rades e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa

São Paulo, de de .

assinatura do sujeito da pesquisa ou responsável legal

assinatura do pesquisador
(carimbo ou nome legível)

ANEXO B - APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

DIRETORIA CLÍNICA

Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa**APROVAÇÃO**

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 16.06.04, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **415/04**, intitulado: "Detecção das trombofilias no abortamento habitual e parto prematuro" apresentado pelo Departamento de **OBSTETRÍCIA E GINECOLOGIA**, inclusive o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Pesquisador(a) Responsável: Prof. Dr. Roberto Eduardo Bittar

Pesquisador(a) Executante: Dra. Érica Rades

CAPPesq, 16 de Junho de 2004.

PROF. DR. CLAUDIO LEONE

Vice-Presidente da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa

OBSERVAÇÃO: Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar à CAPPesq, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196, de 10.10.1996, inciso IX.2, letra "c")

ANEXO C

INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS

CLÍNICA OBSTÉTRICA DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FMUSP

Estudo: Investigação de trombofilias em gestantes de risco para o parto prematuro

Responsável: Érica Rades

Nome: _____ Idade: _____ RG: _____
 Endereço: _____ Bairro: _____ CEP: _____
 Estado: _____ Fone: _____ res () com () Falar com: _____
 Estado Civil: _____ Cor: _____
 Escolaridade: _____
 Ocupação: _____

Antecedentes pessoais: _____

Hábitos: Tabagismo: Sim () Não () Etilismo: Sim () Não () Drogas : Sim () Não ()

Antecedente Obstétrico: _____ G _____ P _____ A

IG (DUM) 1ª consulta: _____ IG (USG) 1ª consulta: _____

MPO(natimorto): Sim () Não ()

Prematuro espontâneo anterior: Sim() Não () Quantos: _____ Peso dos RNs: _____

História obstétrica detalhada

IG parto anterior	Tipo parto	Ano	Peso	Causa do parto prematuro

Pesquisa de trombofilias

	Data	IG (semanas)	Resultado	Valor
Fator V Leiden				
MP				
Homocisteína				
AcL IgG				
AcL IgM				
Ac Lúpico				

Consultas pré-natais:

Data	IG	Peso	PA	AU	Toque	Medicação Motivo

Intercorrências clínicas nesta gestação : _____

Intercorrências obstétricas : _____

Motivo da internação: _____

Período de internação : ____ a ____ Total : ____ dias

Ultra-sonografia:

Data	Id.Gest.	DBP	CC	F	CA	Peso est.	percentil	IG USG

Data e motivo da interrupção : _____

IG na interrupção : _____

Sufrimento Fetal : () Sim () Não

Via de parto : () normal () fórcepe () cesárea

Indicação da Cesárea : _____

Anestesia utilizada : _____

Dados do recém-Nascido

Recém nascido : () vivo () morto Apgar : ____ / ____ / ____

Peso : _____ AIG () PIG () GIG ()

Neomorto : Sim () Não () _____ Dias de Vida Causa do óbito : _____

Tempo de internação no berçário : _____ Dias : _____

ANEXO IV – Pacientes estudadas

Pacientes do Grupo 1 – números de 1 a 32

Pacientes	IDADE	PARA	ABORTO	N PPA	PPA: RN < 1500g	HCT	ACL	AcL IgM	AcL IgG	FVL	MP	IG Parto	VIA	Motivo Parto	Peso RN	Classe RN	Neomorto
1	33	2	4	1	1	0	0	0	0	0	0	36,4	C	TPP	2860	AIG	NÃO
2	19	2	0	2	2	0	POS	0	0	0	0	39	V	TP	3030	AIG	NÃO
3	21	2	0	2	0	0	0	25,1	12,3	0	0	37,3	V	TP	2625	AIG	NÃO
4	22	2	1	1	1	0	0	0	0	0	0	39,4	C	Mecônio anteparto DHEG grave/ SF Anteparto	3250	AIG	NÃO
5	35	1	2	1	1	0	0	0	22	0	0	33,4	C		1200	PIG	NÃO
6	37	2	3	2	1	0	0	16	0	0	0	36,4	V	TPP	2230	PIG	NÃO
7	34	3	0	3	1	0	0	16,5	12,9	0	0	34,5	V	TPP	2990	AIG	NÃO
8	39	1	2	1	1	0	0	0	15,4	0	0	37,1	V	RCF	2000	PIG	NÃO
9	22	3	1	3	3	0	0	0	11	0	0	36	V	TPP	2870	AIG	NÃO
10	37	3	4	2	2	0	0	0	0	POS	0	34	C	TPP	2340	AIG	NÃO
11	27	2	2	2	0	0	0	0	27,2	0	0	38,4	V	TP	3110	AIG	NÃO
12	33	4	1	4	1	0	0	0	0	0	0	38,7	C	TP	3020	AIG	NÃO
13	26	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	38	C	TP	3110	AIG	NÃO
14	30	4	0	3	3	0	0	16,5	12,9	POS	0	40	V	Trombofilia e termo DHEG/colo favorável	3820	AIG	NÃO
15	16	1	2	1	1	17	0	0	0	0	0	39	V		3700	AIG	NÃO
16	43	2	1	2	1	0	0	0	0	0	0	35	C	TPP	3070	AIG	NÃO
17	27	2	0	2	2	0	0	0	16,3	0	0	26	V	TPP	780	AIG	SIM
18	22	2	0	2	1	0	0	18,3	16,3	0	0	38	V	TP	3150	AIG	NÃO
19	31	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	37,4	V	RCF	2520	PIG	NÃO
20	34	1	0	1	1	0	0	16,4	22,5	0	0	29,6	C	TPP	1470	AIG	SIM
21	26	2	2	2	2	0	0	39,6	0	0	0	35,1	V	TPP	2700	AIG	NÃO
22	24	3	0	3	2	0	0	21	14,7	0	0	37,5	V	TP	2760	AIG	NÃO
23	18	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	37	V	TP	2770	AIG	NÃO
24	28	3	0	2	1	0	0	0	0	0	0	39	V	TP	3470	AIG	NÃO
25	31	3	0	3	2	0	0	0	12	0	0	40	V	Trombofilia e termo	3380	AIG	NÃO
26	21	2	0	2	1	0	0	0	0	0	0	36	C	TPP	3190	AIG	NÃO
27	23	1	0	1	1	0	0	0	14,1	0	0	40	C	Termo/colo favorável	3210	AIG	NÃO
28	19	2	0	2	2	0	0	0	0	POS	0	36,5	V	TPP	2400	PIG	NÃO
29	28	6	0	6	4	0	POS	0	0	0	0	35,4	V	TPP	2570	AIG	NÃO
30	21	3	0	3	3	0	0	0	14,1	0	0	40	V	TP	4340	GIG	NÃO
31	25	4	0	3	3	0	0	13,5	0	0	0	39,6	V	TP	3615	AIG	NÃO
32	28	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	39,4	V	TP	3130	AIG	NÃO

Pacientes do Grupo 1 – Números de 33 a 64

Pacientes	IDADE	PARA	ABORTO	n PPA	PPA: RN < 1500g	HCT	ACL	AcL IgM	AcL IgG	FVL	MP	IG Parto	VIA	Motivo Parto	Peso RN	Classe RN	Neomorto
33	24	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	38,1	V	TP	3200	AIG	NÃO
34	27	5	0	5	4	0	0	13,2	0	0	0	38,1	V	TP	2930	AIG	NÃO
35	28	2	1	2	1	0	0	0	0	0	0	38	V	TP	3150	AIG	NÃO
36	22	2	0	2	2	0	0	0	0	POS	0	38,6	V	TP	3040	AIG	NÃO
37	22	3	1	2	1	0	0	24	16	0	0	40	C	Termo e colo favorável	4020	GIG	NÃO
38	22	1	2	1	1	0	0	0	0	0	0	40	V	Termo e colo favorável	3315	AIG	NÃO
39	37	1	1	1	1	0	0	26	13	0	0	37,4	V	TP	2830	AIG	NÃO
40	21	1	1	1	1	0	0	45,3	25,9	0	0	38,4	V	TPP	3250	AIG	NÃO
41	30	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	38,1	C	Macrossomia fetal	4070	AIG	NÃO
42	27	3	1	2	0	0	0	0	0	0	0	37,5	C	TP	2890	AIG	NÃO
43	30	3	0	3	0	0	0	0	0	0	0	39,2	V	TP	2630	PIG	NÃO
44	32	1	2	1	0	0	0	25	29,6	0	0	39,6	V	Trombofilia e termo	3640	AIG	NÃO
45	32	1	0	1	0	0	0	0	0	0	POS	39,2	V	TP	3430	AIG	NÃO
46	21	2	1	2	0	0	0	0	0	0	0	37,7	V	TP	2340	PIG	NÃO
47	24	1	1	1	0	0	0	13	19	0	0	37,2	V	TP	3320	AIG	NÃO
48	21	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	37,6	C	TP	3490	AIG	NÃO
49	21	1	0	1	1	0	0	0	39,9	0	0	38,2	V	TP	3200	AIG	NÃO
50	26	3	3	2	2	0	0	11	22	0	0	36,1	C	TPP	2245	PIG	NÃO
51	39	3	0	3	1	0	0	52,4	0	0	0	36	V	TPP	2750	AIG	NÃO
52	42	2	1	1	1	0	0	37	0	0	0	37	V	TP	3270	AIG	NÃO
53	24	1	0	1	1	21	0	0	0	0	0	39	V	TP	2800	PIG	NÃO
54	38	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	38	V	TP	3500	AIG	NÃO
55	24	1	2	1	1	0	0	0	0	0	0	38	V	TP	3200	AIG	NÃO
56	34	3	2	3	0	0	0	17	0	0	0	38,4	V	TP	3280	AIG	NÃO
57	29	2	1	2	0	0	0	0	18,6	0	0	31,5	V	TPP	1610	AIG	SIM
58	32	1	2	1	1	0	0	0	0	0	0	37,6	V	TP	2850	AIG	NÃO
59	28	1	3	1	1	0	0	0	0	0	0	26,4	C	DPP	960	AIG	SIM
60	25	4	0	4	0	0	0	41,3	26,3	0	0	37,5	C	TP	3530	AIG	NÃO
61	32	2	2	2	2	0	0	21	0	0	0	38	C	Termo e iteratividade	2770	AIG	NÃO
62	27	3	0	3	0	0	0	0	0	0	0	35,1	C	TPP	2720	AIG	NÃO
63	25	4	2	3	1	0	0	14,2	11,4	0	0	35	C	TPP	2420	AIG	NÃO
64	31	3	0	3	0	0	0	0	0	0	0	37,3	V	RPM	2540	AIG	NÃO

Pacientes do Grupo 2 – números de 65 a 96

Pacientes	IDADE	PARA	ABORTO	HCT	ACL	AcL IgM	AcL IgG	FVL	MP	IG PARTO	VIA	Motivo	Peso RN	Classe RN	Neomorto
65	38	3	0	0	0	0	20,8	0	0	40,	C	Termo	3220	AIG	NÃO
66	18	1	0	0	0	0	12,8	0	0	37,4	V	TP	2780	AIG	NÃO
67	35	1	0	0	0	0	0	0	0	38,5	V	TP	3100	AIG	NÃO
68	30	1	0	0	0	0	0	0	0	40,2	V	TP	3200	AIG	NÃO
69	28	1	0	0	0	0	0	0	0	37,7	V	TP	2980	AIG	NÃO
70	33	3	0	0	0	0	0	0	0	37,7	V	TP	2800	AIG	NÃO
71	34	3	0	0	0	16,4	0	0	0	37	V	RCF	2380	PIG	NÃO
72	36	3	0	0	0	11,6	13,10	0	0	39	V	TP	2780	PIG	NÃO
73	31	4	0	0	0	0	0	0	0	37,6	V	TP	2750	AIG	NÃO
74	27	2	0	0	0	0	0	0	0	39,6	C	DHEG leve	3460	AIG	NÃO
75	22	1	0	0	0	12,4	13,20	0	0	39,4	V	TP	3050	AIG	NÃO
76	40	1	0	0	0	0	0	0	0	38,1	V	TP	3185	AIG	NÃO
77	32	1	0	0	0	0	0	0	0	38,6	V	TP	3100	AIG	NÃO
78	30	2	0	0	0	18	29,00	0	0	39,2	C	TP	2800	PIG	NÃO
79	31	2	0	0	0	12	0	0	0	40,5	V	Termo e colo favoravel	3930	AIG	NÃO
80	20	1	0	0	0	0	0	0	0	37,1	V	TP	2690	AIG	NÃO
81	23	2	0	0	0	19,6	19,50	0	0	37,4	C	TP	3180	AIG	NÃO
82	35	1	0	0	0	0	0	0	0	40,5	C	TP	3470	AIG	NÃO
83	33	2	0	0	0	20,8	0	0	0	36,1	V	TPP	2400	AIG	NÃO
84	19	1	0	0	0	14	0	0	0	39,7	V	TP	2800	PIG	NÃO
85	38	3	0	0	0	0	0	0	0	38,2	V	TP	2850	AIG	NÃO
86	27	1	0	0	0	17,5	0	0	0	38,5	V	TP	3120	AIG	NÃO
87	34	3	0	0	0	0	0	0	0	39	C	Termo	2890	AIG	NÃO
88	39	2	0	0	0	0	0	0	0	38,4	V	TP	2850	AIG	NÃO
89	17	2	0	0	0	0	0	0	0	38,5	V	TP	2900	AIG	NÃO
90	32	3	0	0	0	0	0	0	0	38,6	C	Termo	3410	AIG	NÃO
91	33	1	0	0	0	0	0	0	0	38,4	V	TP	3870	AIG	NÃO
92	32	1	0	0	0	0	0	0	0	39,4	V	TP	3370	AIG	NÃO
93	34	4	0	0	0	0	15,50	0	0	38,2	V	TP	2980	AIG	NÃO
94	27	1	0	0	0	24	0	0	0	38,7	C	TP	3400	AIG	NÃO
95	26	1	0	0	0	0	0	0	0	39,2	V	RPM	3320	AIG	NÃO
96	25	2	0	0	0	0	0	0	0	37,6	V	TP	3380	AIG	NÃO

Pacientes do Grupo 2 – Números de 97 a 124

Pacientes	IDADE	PARA	ABORTO	HCT	ACL	AcL IgM	AcL IgG	FVL	MP	IG PARTO	VIA	Motivo	Peso RN	Classe RN	Neomorto
97	21	2	0	0	0	0	0	0	0	40,4	V	pielonefrite	3595	AIG	NÃO
98	27	2	0	0	0	0	0	0	0	38,6	C	eletiva	3200	AIG	NÃO
99	20	1	0	0	0	18	18,80	0	0	35,6	C	TPP	2480	AIG	NÃO
100	31	1	0	0	0	12,3	0	POS	0	40	V	termo	3060	AIG	NÃO
101	24	1	0	0	0	0	0	0	0	37,6	C	TP	3250	AIG	NÃO
102	30	2	0	0	0	0	0	0	0	41	V	oligoâmnio	3760	AIG	NÃO
103	25	1	0	0	0	0	0	0	0	38,5	V	DHEG	3220	AIG	NÃO
104	31	2	0	0	0	0	0	0	0	39	C	termo	2910	AIG	NÃO
105	37	3	0	0	0	0	0	0	0	38,2	C	termo	3830	GIG	NÃO
106	23	1	0	0	0	0	0	0	0	37	V	TP	2680	AIG	Não
107	19	2	0	0	0	0	0	0	0	38,6	C	termo	3820	AIG	NÃO
108	17	1	0	0	0	15,5	0	0	0	37,2	V	TP	3010	AIG	NÃO
109	20	1	0	0	0	0	0	0	0	40,5	C	TP	3430	AIG	NÃO
110	31	3	0	0	0	0	0	0	0	39,4	V	TP	3280	AIG	NÃO
111	33	1	0	0	0	0	0	0	0	38	V	TP	3050	AIG	NÃO
112	26	1	0	0	0	0	33,60	0	0	37,4	V	RCF	2330	PIG	NÃO
113	22	1	0	0	0	0	0	0	0	39,5	V	TP	3470	AIG	NÃO
114	28	1	0	0	0	0	0	0	0	39	V	Sd hipertensiva	2830	AIG	NÃO
115	16	2	0	0	0	0	14,40	0	0	39	C	termo	3280	AIG	NÃO
116	28	1	0	0	0	0	41,40	0	0	39,5	V	TP	2415	PIG	NÃO
117	38	2	0	0	0	28,8	0,00	0	0	39,2	V	TP	2700	PIG	NÃO
118	34	1	0	0	0	0	0	POS	0	38,5	C	TP	2690	PIG	NÃO
119	23	2	0	0	0	0	0	0	0	37,6	V	TP	3010	AIG	NÃO
120	24	1	0	0	0	0	0	0	0	40,5	V	RPM	3390	AIG	NÃO
121	20	1	0	0	0	14,8	0	0	0	39,2	C	TP	3010	AIG	NÃO
122	36	2	0	0	0	0	0	0	0	38,6	V	TP	3020	AIG	NÃO
123	29	1	0	0	0	0	0	0	0	37,4	V	TP	3210	AIG	NÃO
124	32	2	0	0	0	0	0	POS	0	37,1	V	RPM	2930	AIG	NÃO

ABREVIATURAS: PARA = paridade; PPA = partos prematuros anteriores; HCT= homocisteína; ACL= anticoagulante lúpico; AcL= anticardiolipina; FVL= fator V Leiden; MP= mutação da protrombina; IG = idade gestacional; POS=positivo; V= vaginal, C= cesárea; SF= sofrimento fetal; RN = recém-nascido.

8. Referências

1. Iams JD, Goldenberg RL, Meis PJ, Mercer BM, Moawad A, Das A, Thom E, McNellis D, Copper RL, Johnson F, Roberts JM. The length of the cervix and the risk of spontaneous premature delivery. National Institute of Child Health and Human Development Maternal Fetal Medicine Unit Network. *N Engl J Med* 1996;334(9):567-72.
2. Cunningham F, Leveno K, Bloom S, Hauth J, Gilstrap III L, Wenstrom K. Preterm Birth. In: *Williams Obstetrics*. 22nd ed. New York: Mc Graw-Hill; 2005. p. 855-80.
3. Villar J, Abalos E, Carroli G, Giordano D, Wojdyla D, Piaggio G, Campodonico L, Gulmezoglu M, Lumbiganon P, Bergsjö P, Ba'aqeel H, Farnot U, Bakketeig L, Al-Mazrou Y, Kramer M. Heterogeneity of perinatal outcomes in the preterm delivery syndrome. *Obstet Gynecol* 2004;104(1):78-87.
4. OMS. Public health of low birth weight. In: *Techn. Rep. Series*.217. Genève; 1961.
5. Morrison JC. Preterm birth: a puzzle worth solving. *Obstet Gynecol* 1990;76(1 Suppl):5S-12S.
6. Worthington D, Davis LE, Grausz JP, Sobocinski K. Factors influencing survival and morbidity with very low birth weight delivery. *Obstet Gynecol* 1983;62(5):550-5.
7. Stevenson DK, Wright LL, Lemons JA, Oh W, Korones SB, Papile LA, Bauer CR, Stoll BJ, Tyson JE, Shankaran S, Fanaroff AA, Donovan EF, Ehrenkranz RA, Verter J. Very low birth weight outcomes of the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network, January 1993 through December 1994. *Am J Obstet Gynecol* 1998;179(6 Pt 1):1632-9.
8. Wood NS, Marlow N, Costeloe K, Gibson AT, Wilkinson AR. Neurologic and developmental disability after extremely preterm birth. EPICure Study Group. *N Engl J Med* 2000;343(6):378-84.
9. Stjernqvist K, Svenningsen NW. Ten-year follow-up of children born before 29 gestational weeks: health, cognitive development, behaviour and school achievement. *Acta Paediatr* 1999;88(5):557-62.
10. Luoma L, Herrgard E, Martikainen A. Neuropsychological analysis of the visuomotor problems in children born preterm at < or = 32 weeks of gestation: a 5-year prospective follow-up. *Dev Med Child Neurol* 1998;40(1):21-30.

11. Botting N, Powls A, Cooke RW, Marlow N. Attention deficit hyperactivity disorders and other psychiatric outcomes in very low birthweight children at 12 years. *J Child Psychol Psychiatry* 1997;38(8):931-41.
12. Vohr BR, Coll CG, Lobato D, Yunis KA, O'Dea C, Oh W. Neurodevelopmental and medical status of low-birthweight survivors of bronchopulmonary dysplasia at 10 to 12 years of age. *Dev Med Child Neurol* 1991;33(8):690-7.
13. Northway WH, Jr., Moss RB, Carlisle KB, Parker BR, Popp RL, Pitlick PT, Eichler I, Lamm RL, Brown BW, Jr. Late pulmonary sequelae of bronchopulmonary dysplasia. *N Engl J Med* 1990;323(26):1793-9.
14. Giacoia GP, Venkataraman PS, West-Wilson KI, Faulkner MJ. Follow-up of school-age children with bronchopulmonary dysplasia. *J Pediatr* 1997;130(3):400-8.
15. Hutton JL, Pharoah PO, Cooke RW, Stevenson RC. Differential effects of preterm birth and small gestational age on cognitive and motor development. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1997;76(2):F75-81.
16. Nicolaides KH. Preterm delivery: incidence and complications, causes and prevention. In: Nicolaides KH, editor. *Preterm Prelabour Amniorrhexis*. London: The Parthenon Publishing Group; 1996.
17. Goffinet F, Maillard F, Fulla Y, Cabrol D. Biochemical markers (without markers of infection) of the risk of preterm delivery. Implications for clinical practice. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2001;94(1):59-68.
18. Hoyme UB, Grosch A, Möller U, Roemer VM, Saling E. Prevention of Prematurity: A Prospective Study. In: Carrera JM, Cabero I, Baraibar R, editors. *The Perinatal Medicine of the New Millenium*. Bologna: Monduzzi Editore; 2001. p. 644-6.
19. Langhoff-Roos J, Kesmodel U, Jacobsson B, Rasmussen S, Vogel I. Spontaneous preterm delivery in primiparous women at low risk in Denmark: population based study. *Bristish medical journal* 2006;332(7547):937-9.
20. Breart G, Blondel B, Tuppin P, Grandjean H, Kaminski M. Did preterm deliveries continue to decrease in France in the 1980s? *Paediatr Perinat Epidemiol* 1995;9(3):296-306.
21. Olsen P, Laara E, Rantakallio P, Jarvelin MR, Sarpola A, Hartikainen AL. Epidemiology of preterm delivery in two birth cohorts with an interval of 20 years. *Am J Epidemiol* 1995;142(11):1184-93.

22. Morken NH, Kallen K, Hagberg H, Jacobsson B. Preterm birth in Sweden 1973-2001: rate, subgroups, and effect of changing patterns in multiple births, maternal age, and smoking. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2005;84(6):558-65.
23. Born too soon and too small in the United States. The Perinatal Data Center at the March of Dimes, New York. 2006 november 19. In: <http://www.marchofdimes.com>.
24. Uma análise dos nascimentos no Brasil e regiões 2000-2004. Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde. 2006 novembro 19. Disponível em: <http://www.saude.gov.br/svs>.
25. Declaração de Nascidos Vivos. Sistema de tabulação dos microdados do registro civil para o Estado de São Paulo, Fundação Sistema Estadual de Análise de Dados (SEADE). 2006 19 de novembro. Disponível em: <http://seade.gov.br/produtos/mrc>.
26. Souza E, Santos JFK, Bancher MM, Bertini AM, Camano L. Considerações sobre a prematuridade eletiva na Universidade Federal de São Paulo Escola Paulista de Medicina. *Rev Bras Gin Obstet* 1995;17(6):583-89.
27. Iams J.D. Preterm Birth. In: Gabbe SG, Niebyl JR, Simpson JL, editors. *Obstetrics: Normal and Problem Pregnancies*. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2002. p. 755-826.
28. Perroni AG, Bittar RE, Fonseca ESB, Messina ML, Marra KC, Zugaib M. Prematuridade eletiva: aspectos obstétricos e perinatais. *Rev Ginec Obstet* 1999;10(2):67-71.
29. Bittar RE, Yamasaki AA, Sasaki S, Zugaib M. Cervical fetal fibronectin in patients at increased risk for preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175(1):178-81.
30. Yamasaki AA, Bittar RE, Fonseca EVB, Martinelli S, Sasaki S, Zugaib M. Prevenção do parto prematuro: emprego do toque vaginal e da ultra-sonografia transvaginal. *Rev Bras Ginecol Obstet* 1998;20:35-56.
31. Fonseca ESB, Bittar RE, Zugaib M. Prevenção do nascimento prematuro: importância da monitorização das contrações uterinas. *Rev Bras Ginecol Obstet* 1999;21(9):509-15.
32. Bittar RE. *Determinação do risco para o parto prematuro por meio da detecção da proteína-1 fosforilada ligada ao fator de crescimento insulina-símile e da medida do colo uterino pela ultra-sonografia transvaginal* [Livre

Docência]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2002.

33. Giffel JM, Saling E. First results and experiences with our prematurity and dysmaturity prevention program (PDP-program). *J Perinat Med* 1974;2(1):45-53.

34. Papiernik E. Proposals for a programmed prevention policy of preterm birth. *Clin Obstet Gynecol* 1984;27(3):614-35.

35. Saling E. Prevention of prematurity. A review of our activities during the last 25 years. *J Perinat Med* 1997;25(5):406-17.

36. Papiernik E. Preventing Premature Births in France. In: Carrera JM, Cabero L, Baraibar R, editors. *The Perinatal Medicine of the New Millennium*. Bologna: Monduzzi Editore; 2001. p. 1290-4.

37. Saling E, Schreiber M, Lüthje J. Prevention of preterm delivery. In: Carrera JM, Cabero L, Baraibar R, editors. *The Perinatal Medicine of the New Millennium*. Bologna: Monduzzi Editore; 2001. p. 627-33.

38. Moutquin JM. Classification and heterogeneity of preterm birth. *Br J Obstet Gynaecol* 2003;110 Suppl 20:30-3.

39. Meis PJ, Michielutte R, Peters TJ, Wells HB, Sands RE, Coles EC, Johns KA. Factors associated with preterm birth in Cardiff, Wales. I. Univariable and multivariable analysis. *Am J Obstet Gynecol* 1995;173(2):590-6.

40. Copper RL, Goldenberg RL, Das A, Elder N, Swain M, Norman G, Ramsey R, Cotroneo P, Collins BA, Johnson F, Jones P, Meier AM. The preterm prediction study: maternal stress is associated with spontaneous preterm birth at less than thirty-five weeks' gestation. National Institute of Child Health and Human Development Maternal-Fetal Medicine Units Network. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175(5):1286-92.

41. Hall MH, Danielian P, Lamont RF. The importance of preterm birth. In: Elder MG, Romero R, Lamont RF, editors. *Preterm Labor*. New York: Churchill Livingstone; 1997. p. 1-28.

42. Mercer BM, Goldenberg RL, Moawad AH, Meis PJ, Iams JD, Das AF, Caritis SN, Miodovnik M, Menard MK, Thurnau GR, Dombrowski MP, Roberts JM, McNellis D. The preterm prediction study: effect of gestational age and cause of preterm birth on subsequent obstetric outcome. National Institute of Child Health and Human Development Maternal-Fetal Medicine Units Network. *Am J Obstet Gynecol* 1999;181(5 Pt 1):1216-21.

43. Keirse MJ, Rush RW, Anderson AB, Turnbull AC. Risk of pre-term delivery in patients with previous pre-term delivery and/or abortion. *Br J Obstet Gynaecol* 1978;85(2):81-5.
44. Lockwood CJ. Predicting premature delivery--no easy task. *N Engl J Med* 2002;346(4):282-4.
45. Giarratano G. Genetic influences on preterm birth. *MCN Am J Matern Child Nurs* 2006;31(3):169-75; quiz 176-7.
46. Naeye RL. Pregnancy hypertension, placental evidences of low uteroplacental blood flow, and spontaneous premature delivery. *Hum Pathol* 1989;20(5):441-4.
47. Arias F, Rodriguez L, Rayne SC, Kraus FT. Maternal placental vasculopathy and infection: two distinct subgroups among patients with preterm labor and preterm ruptured membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1993;168(2):585-91.
48. Tang MY. Pathologic analysis of preterm delivery placentas. *Chin Med J (Engl)* 1990;103(10):856-61.
49. Suska P, Jakubovsky J, Polak S. Premature delivery and placenta. A morphological study. *Czech Med* 1990;13(4):193-212.
50. Ali KZ, Ali ME, Khalid ME. High altitude and spontaneous preterm birth. *Int J Gynaecol Obstet* 1996;54(1):11-5.
51. Salafia CM, Vogel CA, Vintzileos AM, Bantham KF, Pezzullo J, Silberman L. Placental pathologic findings in preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 1991;165(4 Pt 1):934-8.
52. Perroni AG. *Análise histológica comparativa entre placentas de partos espontâneos prematuros e a termo* [Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2004.
53. Salafia CM, Ernst LM, Pezzullo JC, Wolf EJ, Rosenkrantz TS, Vintzileos AM. The very low birthweight infant: maternal complications leading to preterm birth, placental lesions, and intrauterine growth. *Am J Perinatol* 1995;12(2):106-10.
54. Goldenberg RL, Andrews WW, Faye-Petersen O, Cliver S, Goepfert AR, Hauth JC. The Alabama Preterm Birth Project: placental histology in recurrent spontaneous and indicated preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2006;195(3):792-6.

55. Salafia CM, Lopez-Zeno JA, Sherer DM, Whittington SS, Minior VK, Vintzileos AM. Histologic evidence of old intrauterine bleeding is more frequent in prematurity. *Am J Obstet Gynecol* 1995;173(4):1065-70.
56. Sherer DM, Salafia CM, Minior VK, Sanders M, Ernst L, Vintzileos AM. Placental basal plate myometrial fibers: clinical correlations of abnormally deep trophoblast invasion. *Obstet Gynecol* 1996;87(3):444-9.
57. Strigini FA, Lencioni G, De Luca G, Lombardo M, Bianchi F, Genazzani AR. Uterine artery velocimetry and spontaneous preterm delivery. *Obstet Gynecol* 1995;85(3):374-7.
58. Goldenberg RL, Nelson KG, Koski JF, Cutter GR. Low birth weight, intrauterine growth retardation, and preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol* 1985;152(8):980-4.
59. Ott WJ. Intrauterine growth retardation and preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol* 1993;168(6 Pt 1):1710-5; discussion 1715-7.
60. Zeitlin J, Ancel PY, Saurel-Cubizolles MJ, Papiernik E. The relationship between intrauterine growth restriction and preterm delivery: an empirical approach using data from a European case-control study. *Bjog* 2000;107(6):750-8.
61. Bukowski R, Gahn D, Denning J, Saade G. Impairment of growth in fetuses destined to deliver preterm. *Am J Obstet Gynecol* 2001;185(2):463-7.
62. Gardosi JO. Prematurity and fetal growth restriction. *Early Hum Dev* 2005;81(1):43-9.
63. Arias F, Romero R, Joist H, Kraus FT. Thrombophilia: a mechanism of disease in women with adverse pregnancy outcome and thrombotic lesions in the placenta. *J Matern Fetal Med* 1998;7(6):277-86.
64. Kupferminc MJ, Peri H, Zwang E, Yaron Y, Wolman I, Eldor A. High prevalence of the prothrombin gene mutation in women with intrauterine growth retardation, abruptio placentae and second trimester loss. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2000;79(11):963-7.
65. Many A, Schreiber L, Rosner S, Lessing JB, Eldor A, Kupferminc MJ. Pathologic features of the placenta in women with severe pregnancy complications and thrombophilia. *Obstet Gynecol* 2001;98(6):1041-4.
66. Martinelli P, Grandone E, Colaizzo D, Paladini D, Sciannone N, Margaglione M, Di Minno G. Familial thrombophilia and the occurrence of fetal growth restriction. *Haematologica* 2001;86(4):428-31.

67. Howley HE, Walker M, Rodger MA. A systematic review of the association between factor V Leiden or prothrombin gene variant and intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol* 2005;192(3):694-708.
68. Robertson L, Wu O, Langhorne P, Twaddle S, Clark P, Lowe GD, Walker ID, Greaves M, Brenkel I, Regan L, Greer IA. Thrombophilia in pregnancy: a systematic review. *Br J Haematol* 2006;132(2):171-96.
69. Lettieri L, Vintzileos AM, Rodis JF, Albin SM, Salafia CM. Does "idiopathic" preterm labor resulting in preterm birth exist? *Am J Obstet Gynecol* 1993;168(5):1480-5.
70. Yasuda M, Takakuwa K, Tokunaga A, Tanaka K. Prospective studies of the association between anticardiolipin antibody and outcome of pregnancy. *Obstet Gynecol* 1995;86(4 Pt 1):555-9.
71. Brenner B, Mandel H, Lanir N, Younis J, Rothbart H, Ohel G, Blumenfeld Z. Activated protein C resistance can be associated with recurrent fetal loss. *Br J Haematol* 1997;97(3):551-4.
72. Gopel W, Kim D, Gortner L. Prothrombotic mutations as a risk factor for preterm birth. *Lancet* 1999;353(9162):1411-2.
73. Erhardt E, Stankovics J, Molnar D, Adamovich K, Meleg B. High prevalence of factor V Leiden mutation in mothers of premature neonates. *Biol Neonate* 2000;78(2):145-6.
74. Glueck CJ, Phillips H, Cameron D, Wang P, Fontaine RN, Moore SK, Sieve-Smith L, Tracy T. The 4G/4G polymorphism of the hypofibrinolytic plasminogen activator inhibitor type 1 gene: an independent risk factor for serious pregnancy complications. *Metabolism* 2000;49(7):845-52.
75. Hao K, Wang X, Niu T, Xu X, Li A, Chang W, Wang L, Li G, Laird N, Xu X. A candidate gene association study on preterm delivery: application of high-throughput genotyping technology and advanced statistical methods. *Hum Mol Genet* 2004;13(7):683-91.
76. Rades E, Bittar R, Carvalho M, Martinelli S, Amorim A, Zugaib M. Trombofilias e aborto habitual: resultados perinatais. *Anais do X Congresso Paulista de Obstetrícia e Ginecologia* 2005.
77. Paidas MJ, Ku DH, Lee MJ, Manish S, Thurston A, Lockwood CJ, Arkel YS. Protein Z, protein S levels are lower in patients with thrombophilia and subsequent pregnancy complications. *J Thromb Haemost* 2005;3(3):497-501.

78. Petri M, Golbus M, Anderson R, Whiting-O'Keefe Q, Corash L, Hellmann D. Antinuclear antibody, lupus anticoagulant, and anticardiolipin antibody in women with idiopathic habitual abortion. A controlled, prospective study of forty-four women. *Arthritis Rheum* 1987;30(6):601-6.
79. Lockwood CJ, Romero R, Feinberg RF, Clyne LP, Coster B, Hobbins JC. The prevalence and biologic significance of lupus anticoagulant and anticardiolipin antibodies in a general obstetric population. *Am J Obstet Gynecol* 1989;161(2):369-73.
80. Infante-Rivard C, David M, Gauthier R, Rivard GE. Lupus anticoagulants, anticardiolipin antibodies, and fetal loss. A case-control study. *N Engl J Med* 1991;325(15):1063-6.
81. Harris EN, Spinnato JA. Should anticardiolipin tests be performed in otherwise healthy pregnant women? *Am J Obstet Gynecol* 1991;165(5 Pt 1):1272-7.
82. Parke AL, Wilson D, Maier D. The prevalence of antiphospholipid antibodies in women with recurrent spontaneous abortion, women with successful pregnancies, and women who have never been pregnant. *Arthritis Rheum* 1991;34(10):1231-5.
83. Lynch A, Marlar R, Murphy J, Davila G, Santos M, Rutledge J, Emlen W. Antiphospholipid antibodies in predicting adverse pregnancy outcome. A prospective study. *Ann Intern Med* 1994;120(6):470-5.
84. Kutteh WH. Antiphospholipid antibodies and reproduction. *J Reprod Immunol* 1997;35(2):151-71.
85. Pattison NS, Chamley LW, McKay EJ, Liggins GC, Butler WS. Antiphospholipid antibodies in pregnancy: prevalence and clinical associations. *Br J Obstet Gynaecol* 1993;100(10):909-13.
86. Out HJ, Bruinse HW, Christiaens GC, van Vliet M, de Groot PG, Nieuwenhuis HK, Derksen RH. A prospective, controlled multicenter study on the obstetric risks of pregnant women with antiphospholipid antibodies. *Am J Obstet Gynecol* 1992;167(1):26-32.
87. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, Derksen RH, PG DEG, Koike T, Meroni PL, Reber G, Shoenfeld Y, Tincani A, Vlachoyiannopoulos PG, Krilis SA. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost* 2006;4(2):295-306.

88. Ridker PM, Miletich JP, Hennekens CH, Buring JE. Ethnic distribution of factor V Leiden in 4047 men and women. Implications for venous thromboembolism screening. *Jama* 1997;277(16):1305-7.
89. Gerhardt A, Scharf RE, Beckmann MW, Struve S, Bender HG, Pillny M, Sandmann W, Zotz RB. Prothrombin and factor V mutations in women with a history of thrombosis during pregnancy and the puerperium. *N Engl J Med* 2000;342(6):374-80.
90. Ray JG, Shmorgun D, Chan WS. Common C677T polymorphism of the methylenetetrahydrofolate reductase gene and the risk of venous thromboembolism: meta-analysis of 31 studies. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2002;32(2):51-8.
91. Gandrille S, Borgel D, Sala N, Espinosa-Parrilla Y, Simmonds R, Rezende S, Lind B, Mannhalter C, Pabinger I, Reitsma PH, Formstone C, Cooper DN, Saito H, Suzuki K, Bernardi F, Aiach M. Protein S deficiency: a database of mutations--summary of the first update. *Thromb Haemost* 2000;84(5):918.
92. Dykes AC, Walker ID, McMahon AD, Islam SI, Tait RC. A study of Protein S antigen levels in 3788 healthy volunteers: influence of age, sex and hormone use, and estimate for prevalence of deficiency state. *Br J Haematol* 2001;113(3):636-41.
93. Tait RC, Walker ID, Reitsma PH, Islam SI, McCall F, Poort SR, Conkie JA, Bertina RM. Prevalence of protein C deficiency in the healthy population. *Thromb Haemost* 1995;73(1):87-93.
94. Sakata T, Kario K, Katayama Y, Matsuyama T, Kato H, Miyata T. Studies on congenital protein C deficiency in Japanese: prevalence, genetic analysis, and relevance to the onset of arterial occlusive diseases. *Semin Thromb Hemost* 2000;26(1):11-6.
95. Lane DA, Bayston T, Olds RJ, Fitches AC, Cooper DN, Millar DS, Jochmans K, Perry DJ, Okajima K, Thein SL, Emmerich J. 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.
96. Demers C, Ginsberg JS, Hirsh J, Henderson P, Blajchman MA. Thrombosis in antithrombin-III-deficient persons. Report of a large kindred and literature review. *Ann Intern Med* 1992;116(9):754-61.

97. Heijboer H, Brandjes DP, Buller HR, Sturk A, ten Cate JW. Deficiencies of coagulation-inhibiting and fibrinolytic proteins in outpatients with deep-vein thrombosis. *N Engl J Med* 1990;323(22):1512-6.
98. Kupferminc MJ, Eldor A, Steinman N, Many A, Bar-Am A, Jaffa A, Fait G, Lessing JB. Increased frequency of genetic thrombophilia in women with complications of pregnancy. *N Engl J Med* 1999;340(1):9-13.
99. Resch B, Gallistl S, Kutschera J, Mannhalter C, Muntean W, Mueller WD. Thrombophilic polymorphisms--factor V Leiden, prothrombin G20210A, and methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutations--and preterm birth. *Wien Klin Wochenschr* 2004;116(17-18):622-6.
100. Valdez LL, Quintero A, Garcia E, Olivares N, Celis A, Rivas F, Jr., Rivas F. Thrombophilic polymorphisms in preterm delivery. *Blood Cells Mol Dis* 2004;33(1):51-6.
101. Hartel C, von Otte S, Koch J, Ahrens P, Kattner E, Segerer H, Moller J, Diedrich K, Gopel W. Polymorphisms of haemostasis genes as risk factors for preterm delivery. *Thromb Haemost* 2005;94(1):88-92.
102. Gibson CS, MacLennan AH, Janssen NG, Kist WJ, Hague WM, Haan EA, Goldwater PN, Priest K, Dekker GA. Associations between fetal inherited thrombophilia and adverse pregnancy outcomes. *Am J Obstet Gynecol* 2006;194(4):947 e1-10.
103. Porter TF, Fraser AM, Hunter CY, Ward RH, Varner MW. The risk of preterm birth across generations. *Obstet Gynecol* 1997;90(1):63-7.
104. Ward K. Genetic factors in preterm birth. *BJOG* 2003;110 Suppl 20:117.
105. Lea DH. A Clinician's primer in human genetics: what nurses need to know. *Nurs Clin North Am* 2000;35(3):583-614.
106. Romero R, Chaiworapongsa T, Kuivaniemi H, Tromp G. Bacterial vaginosis, the inflammatory response and the risk of preterm birth: a role for genetic epidemiology in the prevention of preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2004;190(6):1509-19.
107. Simhan HN, Krohn MA, Zeevi A, Daftary A, Harger G, Caritis SN. Tumor necrosis factor-alpha promoter gene polymorphism -308 and chorioamnionitis. *Obstet Gynecol* 2003;102(1):162-6.
108. Wang X, Zuckerman B, Kaufman G, Wise P, Hill M, Niu T, Ryan L, Wu D, Xu X. Molecular epidemiology of preterm delivery: methodology and challenges. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2001;15 Suppl 2:63-77.

109. Germain AM, Carvajal J, Sanchez M, Valenzuela GJ, Tsunekawa H, Chuaqui B. Preterm labor: placental pathology and clinical correlation. *Obstet Gynecol* 1999;94(2):284-9.
110. Mandel H, Brenner B, Berant M, Rosenberg N, Lanir N, Jakobs C, Fowler B, Seligsohn U. Coexistence of hereditary homocystinuria and factor V Leiden--effect on thrombosis. *N Engl J Med* 1996;334(12):763-8.
111. Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH, Bertina RM. A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood* 1996;88(10):3698-703.
112. Lockwood CJ. Inherited thrombophilias in pregnant patients: detection and treatment paradigm. *Obstet Gynecol* 2002;99(2):333-41.
113. Canoso RT, de Oliveira RM, Nixon RA. Neuroleptic-associated autoantibodies. A prevalence study. *Biol Psychiatry* 1990;27(8):863-70.
114. Ferro D, Saliola M, Quintarelli C, Valesini G, Basili S, Grandilli AM, Bonavita MS, Violi F. Methods for detecting lupus anticoagulants and their relation to thrombosis and miscarriage in patients with systemic lupus erythematosus. *J Clin Pathol* 1992;45(4):332-8.
115. Bittar RE. Prematuridade: aspectos preventivos. In: Zugaib M, Bittar RE, editors. *Protocolos assistenciais: Clínica Obstétrica; FMUSP*. 2a ed. São Paulo: Editora Atheneu; 2003. p. 311-15.
116. Bittar RE. Restrição do crescimento fetal. In: Zugaib M, Bittar RE, editors. *Protocolos assistenciais: Clínica Obstétrica; FMUSP*. 2a ed. São Paulo: Editora Atheneu; 2003. p. 305-10.
117. Ruocco RMSA. Exames laboratoriais de rotina. In: Zugaib M, Bittar RE, editors. *Protocolos assistenciais: Clínica Obstétrica; FMUSP*. 2a ed. São Paulo: Editora Atheneu; 2003. p. 23-27.
118. Okumura M. Ultra-sonografia. In: Zugaib M, Bittar RE, editors. *Protocolos assistenciais: Clínica Obstétrica; FMUSP*. 2a ed. São Paulo: Editora Atheneu; 2003. p. 28-31.
119. Herron MA, Katz M, Creasy RK. Evaluation of a preterm birth prevention program: preliminary report. *Obstet Gynecol* 1982;59(4):452-6.
120. Hadlock FP, Harist RB, Martinez-Poyer J. In utero analysis of fetal growth: a sonographic weight standard. *Radiology* 1991;181(1):129-33.

121. Alexander GR, Himes JH, Kaufman RB, Mor J, Kogan M. A United States national reference for fetal growth. *Obstet Gynecol* 1996;87(2):163-8.
122. Neter J, Kutner MH, Nachtsheim CJ, Wasserman W. *Applied linear statistical models*. 4th ed. Illinois: Richard D Irwing; 1996.
123. Rozenberg P, Gillet A, Ville Y. Transvaginal sonographic examination of the cervix in asymptomatic pregnant women: review of the literature. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2002;19(3):302-11.
124. da Fonseca EB, Bittar RE, Carvalho MH, Zugaib M. Prophylactic administration of progesterone by vaginal suppository to reduce the incidence of spontaneous preterm birth in women at increased risk: a randomized placebo-controlled double-blind study. *Am J Obstet Gynecol* 2003;188(2):419-24.
125. Silver RM, Porter TF, van Leeuwen I, Jeng G, Scott JR, Branch DW. Anticardiolipin antibodies: clinical consequences of "low titers". *Obstet Gynecol* 1996;87(4):494-500.
126. Brandt JT, Triplett DA, Alving B, Scharrer I. Criteria for the diagnosis of lupus anticoagulants: an update. On behalf of the Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibody of the Scientific and Standardisation Committee of the ISTH. *Thromb Haemost* 1995;74(4):1185-90.
127. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC, Brey R, Derksen R, Harris EN, Hughes GR, Triplett DA, Khamashta MA. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. *Arthritis Rheum* 1999;42(7):1309-11.
128. Lim W, Crowther MA, Eikelboom JW. Management of antiphospholipid antibody syndrome: a systematic review. *Jama* 2006;295(9):1050-7.
129. Levine SR, Brey RL, Tilley BC, Thompson JL, Sacco RL, Sciacca RR, Murphy A, Lu Y, Costigan TM, Rhine C, Levin B, Triplett DA, Mohr JP. Antiphospholipid antibodies and subsequent thrombo-occlusive events in patients with ischemic stroke. *Jama* 2004;291(5):576-84.
130. Schulman S, Svenungsson E, Granqvist S. Anticardiolipin antibodies predict early recurrence of thromboembolism and death among patients with venous thromboembolism following anticoagulant therapy. Duration of Anticoagulation Study Group. *Am J Med* 1998;104(4):332-8.
131. Kramer MS, Goulet L, Lydon J, Seguin L, McNamara H, Dassa C, Platt RW, Chen MF, Gauthier H, Genest J, Kahn S, Libman M, Rozen R, Masse A, Miner L, Asselin G, Benjamin A, Klein J, Koren G. Socio-economic disparities

in preterm birth: causal pathways and mechanisms. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2001;15 Suppl 2:104-23.

132. Klerk M, Verhoef P, Clarke R, Blom HJ, Kok FJ, Schouten EG. MTHFR 677C-->T polymorphism and risk of coronary heart disease: a meta-analysis. *Jama* 2002;288(16):2023-31.

133. van der Molen EF, Arends GE, Nelen WL, van der Put NJ, Heil SG, Eskes TK, Blom HJ. A common mutation in the 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase gene as a new risk factor for placental vasculopathy. *Am J Obstet Gynecol* 2000;182(5):1258-63.

134. Nelen WL, Blom HJ, Steegers EA, den Heijer M, Eskes TK. Hyperhomocysteinemia and recurrent early pregnancy loss: a meta-analysis. *Fertil Steril* 2000;74(6):1196-9.

135. Infante-Rivard C, Rivard GE, Yotov WV, Genin E, Guiguet M, Weinberg C, Gauthier R, Feoli-Fonseca JC. Absence of association of thrombophilia polymorphisms with intrauterine growth restriction. *N Engl J Med* 2002;347(1):19-25.

136. Franchi F, Cetin I, Todros T, Antonazzo P, Nobile de Santis MS, Cardaropoli S, Bucciarelli P, Biguzzi E. Intrauterine growth restriction and genetic predisposition to thrombophilia. *Haematologica* 2004;89(4):444-9.

137. Agorastos T, Karavida A, Lambropoulos A, Constantinidis T, Tzitzimikas S, Chrisafi S, Saravelos H, Vavilis D, Kotsis A, Bontis J. Factor V Leiden and prothrombin G20210A mutations in pregnancies with adverse outcome. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2002;12(4):267-73.