Valore predittivo degli anticorpi anti-annessina V nell'aborto. Risultati di uno studio prospettico su oltre 1.000 gravidanze

N. Bizzaro[a], A. Antico[b], M. Musso[c], S. Platzgummer[d], L. Camogliano[e], R. Tozzoli[f], R. De Luca[g], D. Villalta[g].

[a] *Laboratorio di Patologia Clinica, Ospedale di Tolmezzo-Gemona*
[b] *Laboratorio Analisi, Ospedale di Cittadella*
[c] *Laboratorio Analisi, Ospedale di Cuneo*
[d] *Laboratorio Analisi, Ospedale di Merano*
[e] *Laboratorio Analisi, Ospedale di Novi Ligure*
[f] *Laboratorio di Chimica-clinica e Microbiologia, Ospedale di Latisana*
[g] *Servizio di Immunologia Clinica e Virologia, Az. Osp. S. Maria degli Angeli, Pordenone*

Riassunto

Premessa. **All'incirca il 50% degli aborti che si verificano dopo la 8ª settimana di gestazione riconosce una causa immunologica. Oltre agli anticorpi anticardiolipina e all'anticoagulante lupico, altri anticorpi sono probabilmente coinvolti, e tra questi gli anticorpi anti-annessina V sono quelli che si associano con maggior frequenza ad aborto e ad aborto ricorrente. Il loro significato patogenetico e il loro valore predittivo sono però sconosciuti. Noi abbiamo effettuato uno studio prospettico valutando il rapporto tra presenza e concentrazione degli anticorpi anti-annessina V ed esito della gravidanza.**

Metodi. **Un campione di siero è stato prelevato a 1.038 donne consecutive all'inizio di gravidanza. Di ciascuna paziente sono stati registrati l'età, la settimana di gestazione in occasione del prelievo (tra la 5ª e la 8ª settimana) e la parità. I criteri di esclusione erano la gravidanza oltre la 8ª settimana, la presenza di malattie autoimmuni (sistemiche o d'organo) o una storia di precedenti eventi tromboembolici.**

La determinazione degli anticorpi anti-annessina V è stata eseguita con un metodo ELISA (Orgentec Diagnostika, Mainz, Germania) che utilizza antigene purificato umano. Il cut-off è stato posto a 5 U/mL sia per le IgG che per le IgM. Al termine del follow-up, sugli stessi campioni di siero conservati congelati a –80 °C, nelle donne con aborto e in un numero equivalente di donne di pari età e parità che avevano condotto a termine la gravidanza, sono state testate le IgG e le IgM aCL e anti-b_2GPI, gli anticorpi anti-nucleo e gli anticorpi anti-tiroide.

Risultati. **116 donne su 1.038 (11.4%) hanno abortito entro la 22ª settimana; 6 hanno avuto un parto prematuro e 896 hanno condotto a termine la gravidanza. 10 donne hanno effettuato un'interruzione volontaria di gravidanza e 10 sono uscite dallo studio per trasferimento in altra città.**

L'esito in aborto è risultato correlato in maniera indipendente sia all'età (P = .002) che alla parità (P = .008). Gli anticorpi anti-annessina V IgG sono risultati presenti nel 25% delle donne con aborto e nel 23% di quelle che hanno partorito a termine e le IgM nel 27% e nel 28% (differenze non significative). Anche la concentrazione anticorpale non è risultata significativamente differente tra i due gruppi: IgG 4.2 vs 4.4 U/mL (P = .56), IgM 3.7 vs 3.5 U/mL (P = .27). Nessuno degli altri anticorpi indagati è risultato rappresentare un possibile fattore di rischio per aborto.

Conclusioni. **Benchè studi retrospettivi abbiano evidenziato un'associazione tra abortività e anticorpi anti-annessina V, un loro ruolo predittivo positivo in donne sane non è emerso da questo studio prospettico. E' dunque possibile che gli anticorpi anti-annessina V possano comparire in seguito ad uno o più aborti e rappresentare perciò un epifenomeno immunologico dell'aborto. Al momento non sembra perciò utile la determinazione di questo nuovo parametro anticorpale per la valutazione del rischio di aborto all'inizio di gravidanza.**

Abstract

A prospective study of 1,038 pregnancies on the predictive value of anti-Annexin V antibodies for fetal loss.

Background. Retrospective studies have demonstrated that anti-annexin V antibodies (anti-Anx V) are linked to miscarriage. Their predictive value is, however, unknown. We have carried out a prospective study to evaluate the relationship between anti-Anx V antibodies and the pregnancy outcome.

Methods. A serum sample was taken from 1,038 consecutive healthy women at the beginning of pregnancy. IgG and IgM anti-Anx V antibodies were measured by a commercial ELISA method (Orgentec Diagnostika, Mainz,

Corrispondenza: Nicola Bizzaro, Laboratorio di Patologia Clinica, Ospedale Civile, via Morgagni, 18, 33028 Tolmezzo (UD)
tel. 0433-488261 - fax 0433-488264 - e-mail: nbizzaro@ass3.sanita.fvg.it

Germany). The cut-off value was set at 5 units/mL for both IgG and IgM. At the end of the follow-up, IgG and IgM anti-cardiolipin and anti-β_2GPI, anti-nuclear and anti-thyroid antibodies were also measured in the sera of the women with miscarriage and in an equal number of women who gave birth.

Results. 116 women out of 1,038 (11.4%) had a miscarriage by the 22nd week; 10 were lost to follow-up, 10 had an induced abortion, 6 had a pre-term delivery, and 896 carried their pregnancy through to term. An adverse outcome of the pregnancy proved to be directly related to the number of previous miscarriages (P = .008) and the age of the woman (P = .002).

IgG and IgM anti-Anx V were present in 25% and in 27% of the women who miscarried, and in 23% (P = .7) and in 28% (P = .51) of those who gave birth (mean antibody concentration IgG, 4.2 vs 4.4 U/ml, P = .56; IgM, 3.7 vs 3.5 U/ml, P = .27). The prevalence or level of the other antibodies tested (aCL, anti-β_2GPI, ANA and anti-thyroid) were also not useful to discriminate between the risk of miscarriage and term delivery.

Conclusions. This large-scale prospective study demonstrates that the presence of IgG and IgM anti-Anx V antibodies, when measured in healthy women, does not give a positive predictive lead towards the possibility of a miscarriage and it is not useful in evaluating the risk of miscarriage at the beginning of pregnancy.

Key words: *A*nnexin V, pregnancy outcome, miscarriage, prospective study

Introduzione

L'aborto occasionale è la più frequente complicanza della gravidanza, con un'incidenza che varia dall'8 al 25%, a seconda delle popolazioni studiate e della modalità di raccolta dei dati [1].

Attualmente molti sono i fattori ritenuti potenzialmente in grado di determinare un'interruzione di gravidanza: alterazioni cromosomiche, anomalie uterine, squilibri ormonali, difetti coagulativi, cause infettive e immunologiche. In generale, si ritiene però che al di sotto della 8ª settimana di gestazione siano nettamente prevalenti le alterazioni cromosomiche [2,3] e che invece un'elevata percentuale di aborti che si verificano dopo la 8ª settimana di gestazione possa riconoscere una causa immunologica [4,5]. La presenza di anticorpi anti-cardiolipina (aCL) β_2-glicoproteina I (β_2GPI)-dipendenti a medio-alto livello o di anticoagulante lupico (LAC) ha un ruolo ben preciso nella genesi di trombosi placentari e di aborto [6-11]. Ambedue gli anticorpi costituiscono infatti uno dei criteri fondamentali per la diagnosi di sindrome da anti-fosfolipidi (APS), malattia che si estrinseca con tromboembolismo arterioso o venoso e aborto [12]. Tuttavia, oltre agli aCL e al LAC, altri anticorpi anti-fosfolipidi o anti-proteine che legano i fosfolipidi sono probabilmente coinvolti, e tra questi gli anticorpi anti-annessina V sono quelli che con maggior frequenza sono risultati associati ad aborto occasionale e ad aborto ricorrente in studi retrospettivi [13-15]. L'annessina V è una glicoproteina ad elevata affinità per i fosfolipidi anionici, espressa dai trofoblasti e dalle cellule endoteliali, la cui attività anticoagulante naturale è legata alla capacità di agire competitivamente con i fattori della coagulazione per i siti di legame fosfolipidici, impedendone l'attivazione. Anticorpi monoclonali anti-annessina V si sono dimostrati in grado di distogliere l'annessina dalle superficie delle cellule trofoblastiche, favorendo l'effetto procoagulante [16]. In un precedente studio retrospettivo noi avevamo osservato che tra i vari anticorpi anti-fosfolipidi e anti-proteine che legano i fosfolipidi, gli anticorpi anti-annessina V erano gli unici che si associavano significativamente ad aborto ricorrente [17]. E' tuttavia intuitivo che l'associazione tra un evento clinico e la successiva rilevazione di anticorpi può semplicemente rappresentare un epifenomeno conseguente all'evento stesso. Per verificare se gli anticorpi anti-annessina V non solo possono associarsi ad aborto ma hanno anche valore predittivo, abbiamo effettuato uno studio prospettico su donne sane senza precedenti tromboembolici e senza malattie autoimmuni, valutando il rapporto tra presenza e concentrazione degli anticorpi anti-annessina V all'inizio di gravidanza e l'esito della gravidanza.

Materiali e metodi

Pazienti

Mille e trentotto donne di età compresa tra i 16 e i 45 anni, all'inizio di gravidanza, con β-hCG o con ecografia positiva, sono state arruolate consecutivamente in 6 ospedali del Nord Italia, nel periodo settembre 2001 - giugno 2002. Di ciascuna paziente sono stati registrati l'età, la settimana di gestazione in occasione del prelievo (tra la 5ª e la 8ª settimana) e la parità. I criteri di esclusione erano la gravidanza oltre la 8ª settimana, la presenza di malattie autoimmuni (sistemiche o d'organo) o una storia di precedenti eventi tromboembolici. Nessuna paziente ha rifiutato l'arruolamento nello studio e tutte hanno fornito un consenso informato scritto, dichiarando di essere sane e accettando l'esecuzione dei test e di essere seguite fino al termine della gravidanza.

Anticorpi anti-annessina V

In tutti i sieri gli anticorpi anti-annessina V di classe IgG e IgM sono stati misurati all'inizio della gravidanza. I test sono stati effettuati con un metodo immunoenzimatico in fase solida (ELISA) (Orgentec Diagnostika GmbH, Mainz, Germania) che utilizza come substrato antigenico annessina V umana purificata. La concentrazione anticorpale è stata calcolata utilizzando una curva di calibrazione a 6 punti e i risultati sono stati espressi in unità (U)/mL. I tests sono stati effettuati in un unico laboratorio e da un unico operatore, secondo le istruzioni fornite dal produttore del kit. Tutte le serie analitiche sono state validate includendo un controllo positivo e un controllo negativo; calibratori e controlli sono stati eseguiti in duplicato e i campioni delle pazienti in singolo. I livelli ottimali di cut-off sono stati scelti mediante analisi delle curve ROC (receiver operating characteristic) sulla base dei risultati ottenuti in uno studio precedente[17] e posti a 5 U/mL sia per le IgG che per le IgM.

Altri autoanticorpi

Al termine del follow-up, sugli stessi campioni di siero conservati congelati a –80 °C, nelle donne con aborto e in un numero equivalente di donne di pari età e parità selezionate in modo random, che avevano condotto a termine la gravidanza, sono stati misurati gli anticorpi aCL e anti-β_2GPI IgG e IgM con metodo ELISA (Orgentec), gli anticorpi anti-nucleo (ANA) con metodo di immunofluorescenza indiretta (Inova Diagnostics, S. Diego, CA) alla diluizione di partenza di 1:40 in tampone fosfato, e gli anticorpi anti-tireoperossidasi (TPO) e anti-tireoglobulina (Tg) con metodo ELISA (Varelisa Pharmacia, Freiburg, Germania). Le determinazioni e il calcolo dei risultati sono stati eseguiti in un unico laboratorio da personale ignaro del esito della gravidanza, seguendo le istruzioni fornite dai diversi produttori.

Come per gli anticorpi anti-annessina V, anche i livelli ottimali di cut-off per gli aCL e gli anti-β_2GPI IgG e IgM sono stati determinati in un precedente studio mediante l'impiego di curve ROC[17], e posti a 13.3 GPL e 10.6 MPL per gli aCL, e a 13.6 U/mL per le IgG e a 11.9 U/mL per le IgM anti-β_2GPI. Come cut-off per gli anti-TPO (56 U/mL) e per gli anti-Tg (62 U/mL) sono stati adottati quelli relativi al 97.5%ile dei valori ottenuti in un gruppo di 120 pazienti di sesso femminile clinicamente non affette da malattie autoimmuni della tiroide.

Lo studio è stato approvato dal Comitato Etico dell'Ospedale di S.Donà di Piave.

Analisi statistica

L'associazione tra le variabili dicotomiche (pregresso aborto e positività anticorpale) e l'esito è stata valutata mediante il chi-square test. L'associazione tra l'età e l'esito è stata valutata mediante il t-test. Data la distribuzione non simmetrica degli anticorpi (IgG e IgM) anti-anessina l'ipotesi di una associazione tra esito e concentrazione anticorpale è stata verificata tramite il test di Mann-Whitney. Le variabili che all'analisi bivariata erano associate all'outcome con $P \leq .1$ sono state inserite in un modello di regressione logistica binomiale multipla. L'analisi statistica è stata eseguita con il sistema Stata SE package per Windows (StataCorp, College Station, Texas). Valori di *P* a due code inferiori a .05 sono stati considerati significativi.

Risultati

Su 1.038 donne arruolate, 1.028 hanno completato il follow-up e 10 sono uscite dallo studio perchè trasferitesi in altre città. Nessuna assumeva farmaci o era affetta da malattie infettive al momento del prelievo. 126 hanno avuto un aborto come esito della gravidanza: 10 hanno effettuato un'interruzione volontaria di gravidanza (1 per trisomia 21 accertata con analisi citogenetica e 9 per motivi personali) e 116 (11.4%) hanno avuto un aborto spontaneo. In nessun caso sono state rilevate anomalie anatomiche a carico dell'utero ma in 5 casi la causa è stata accertata: 2 per malformazioni fetali, 2 per incontinenza cervicale e 1 per insufficienza ormonale. Tra le rimanenti 111, 16 hanno abortito entro la 8ª settimana, 76 tra la 9ª e la 12ª settimana e 19 tra la 13ª e la 22ª settimana. Tra le 902 (87.7%) donne che hanno partorito, 6 hanno avuto un parto prematuro tra la 22ª e la 33ª settimana di gestazione (1 deceduto tre settimane dopo la nascita) e 896 hanno condotto regolarmente a termine la gravidanza. In un caso il bambino è deceduto dopo 8 mesi dalla nascita per malformazioni cardiache.

Due pazienti alle quali è stata diagnosticata una tiroidite di Hashimoto durante la gravidanza, hanno partorito a termine.

Incidenza di aborto rispetto all'età e alla parità.

L'età media delle donne che hanno abortito era 32.8 ±5.1 anni e 31.4 ±4.6 anni quella delle donne che hanno partorito (*P* = .002). Tra le 1.018 donne valutate (escluse le 10 donne con interruzione volontaria di gravidanza e le 10 perse al follow-up), 499 erano alla prima gravidanza, 336 avevano avuto precedenti gravidanze a termine (da 1 a 5), 93 avevano avuto sia aborti che nati vivi e 90 solo una storia di abortività (da 1 a 5 aborti precedenti). In questi 4 gruppi, la percentuale di aborti registrati in questo studio è stato rispettivamente del 7.4%, 13.1%, 18.2% e 20%. Inoltre, il 30.1% (35/116) delle donne con aborto aveva una storia di pregressi aborti rispetto al 19.5% delle donne con gravidanza a termine (175/896) [Odds Ratio (OR), 1.78; intervallo di confidenza al 95% (95%CI), 1.16-2.72; *P* = .008]. Pertanto, l'esito in aborto è risultato essere direttamente associato sia al numero di aborti precedenti che all'età della donna. La stratificazione dell'esito della gravidanza in rapporto alla parità è indicata in tabella I.

Anticorpi anti-annessina V

Gli anticorpi anti-annessina V di classe IgG sono risultati presenti in 29 donne con aborto (25%) e in 211 (23.5%) di

Tabella I. Distribuzione dell'esito della gravidanza e degli anticorpi anti-annessina V in rapporto alla storia ostetrica (non sono comprese nell'analisi 10 donne con interruzione volontaria di gravidanza e 10 perse al follow-up).

anamnesi ostetrica	*n. di donne*	*età media*	*esito della gravidanza*		*% di positività anti-annessina V*	
			nascita	aborto	IgG	IgM
primigravide	499	30.0	462	37 (7.4%)	20.6	26.8
solo nati vivi	336	32.9	292	44 (13.1%)	26.8	29.2
sia nati che aborti	93	34.9	75	17 (18.2%)	27.9	29.0
solo aborti	90	31.7	73	18 (20.0%)	23.3	26.7
Totale	1.018	31.5	902	116 (11.4%)	23.6	27.8

quelle che hanno partorito a termine (OR, 1.08; 95%CI, 0.69-1.69; *P* = .7). Gli anticorpi anti-annessina V IgM sono risultati presenti in 32 (27.5%) delle donne con aborto e in 251 (28%) di quelle che hanno partorito a termine (OR, 0.97; 95%CI, 0.63-1.50; *P* = .51). Nessuna delle 6 donne con parto prematuro è risultata positiva per IgG anti-annessina V e solo due per IgM a bassa concentrazione.
La concentrazione anticorpale media non è risultata significativamente differente tra i due gruppi: 4.2 U/mL nel gruppo con aborto e 4.4 U/mL nel gruppo che ha partorito per gli anti-annessina IgG (*P* = .56), e 3.7 U/mL nel gruppo con aborto e 3.5 U/mL nel gruppo che ha partorito per gli anti-annessina IgM (*P* = .27). Il rischio di aborto non è pertanto risultato correlato né alla presenza di anticorpi anti-annessina né al titolo anticorpale.
Prendendo in considerazione i 4 diversi gruppi di pazienti suddivise in rapporto alla storia ostetrica, le percentuali di positività anticorpali di ciascun gruppo non sono risultate significativamente diverse (Tab. I).

Anticorpi aCL e anti-b_2GPI

Gli anticorpi aCL e anti-β_2GPI sono stati misurati nelle 116 donne che hanno abortito e in un campione di numerosità equivalente di donne che hanno partorito. aCL sono risultati presenti, sempre a basso titolo e senza significatività statistica, in 6 donne con aborto (5 IgG, *P* = .09 e 1 IgM, *P* = .31) e in una sola donna che ha partorito. Gli anticorpi anti-β_2GPI sono risultati positivi anch'essi a basso titolo, in 2 sole donne che hanno partorito (1 IgG e 1 IgM) e in nessuna paziente con aborto.

ANA e anticorpi anti-tiroide

Anche gli ANA e gli anticorpi anti-tiroide sono stati misurati nelle 116 donne che hanno abortito e in un campione equivalente di donne che hanno partorito. Si sono osservati 3 positivi (titolo 1:40 – 1:80) per ANA tra le pazienti con aborto e 2 (titolo 1:40 e 1:160) nel gruppo che ha partorito, senza significatività statistica (*P* = .65; 95%CI, 0.24-9.22). Nella paziente con un titolo ANA di 1:160 la successiva ricerca di anticorpi anti-antigeni nucleari specifici e anti-dsDNA ha dato esito negativo.
Gli anticorpi anti-TPO e anti-Tg sono risultati presenti esattamente nello stesso numero di pazienti: in 21 (18.1%) delle donne con aborto e in 19 (16.3%) delle donne che hanno partorito (anti-TPO, *P* = .72; anti-Tg, *P* = .72). I due anticorpi sono risultati contemporaneamente presenti in 13 donne sia nel gruppo con aborto che in quello che ha partorito.

Discussione

In donne gravide non selezionate, la causa più comune di aborto spontaneo nel periodo pre-embrionale o embrionale (dal concepimento fino alla 8ª settimana di gestazione) è rappresentata dalle anomalie cromosomiche [3]. Nelle epoche successive, la causa cromosomica diminuisce drasticamente di frequenza e prevalgono altre cause, tra cui quella immunologica sembra avere un'incidenza elevata, stimata attorno al 50% dei casi [18]. L'aborto, in particolare quando si verifica nel secondo trimestre, è uno dei segni caratteristici di APS, malattia che si caratterizza per la presenza di aCL e/o di LAC. In questi casi, l'esame istologico della placenta rileva spesso la presenza di infarti multipli e di trombosi dei vasi placentari. Tuttavia, alcune donne con livelli elevati e persistenti di aCL o di LAC e storia di trombosi non hanno complicazioni fetali, così come in molti casi, abortività ripetute, in assenza di cause riconoscibili, si verificano in donne senza aCL o LAC. In effetti, è stato dimostrato che numerosi autoanticorpi diversi dagli aCL e dal LAC possono essere coinvolti nella patogenesi dell'aborto [5] e, tra questi, un ruolo rilevante sembrano avere gli anticorpi anti-annessina V.
In modelli animali, la presenza di annessina V è necessaria per mantenere l'integrità della struttura placentare e la proteina esercita probabilmente una funzione tromboregolatoria a livello dell'interface materno-fetale [19]. A conferma di ciò, è stata osservata una marcata riduzione del contenuto di annessina V nelle placente di donne con APS [20,21] e in cellule trofoblastiche in coltura dopo aggiunta di anticorpi anti-fosfolipidi [22]. Recentemente è stato dimostrato che l'attività anticoagulante dell'annessina V è notevolmente ridotta e il suo legame con i fosfolipidi inibito in presenza di plasma di pazienti affetti da APS, mentre tali alterazioni non si osservano quando viene utilizzato plasma di soggetti sani o di pazienti con tromboembolismo ma senza anticorpi anti-fosfolipidi [23]. Sulla base di queste osservazioni, è stato proposto che l'annessina V funga da scudo protettivo attorno ai fosfolipidi di membrana impedendone la partecipazione nei processi coagulativi e che il legame con anticorpi anti-annessina V ad alta affinità, comprometta l'azione antitrombotica della proteina contribuendo alla patogenesi dell'aborto [24,25]. Inoltre, anticorpi monoclonali anti-annessina V sono in grado di bloccare la maturazione del sinciziotrofoblasto, evidenziando così un altro possibile meccanismo patogenetico degli anticorpi anti-annessina [26].
L'associazione tra aborto e anticorpi anti-annessina V è già stata descritta in numerosi studi retrospettivi, sia in donne con aborto ricorrente [14,15,27] che in donne con LES [13,28,29]. Anche noi in un precedente studio avevamo trovato che gli anticorpi anti-annessina V erano presenti nel 17% dei soggetti con aborto ricorrente ed erano l'unico marcatore immunologico tra aCL, anti-β_2GPI e anticorpi anti-protrombina che correlava, anche se in misura moderata (*P* = .02), con l'occorrenza di aborto [17]. Viceversa, Arnold pur evidenziando la presenza di anticorpi anti-annessina V nel 35% delle donne con aborto aCL positive e nel 19% di quelle aCL negative, non ha trovato che gli anti-annessina V costituissero un fattore di rischio per aborto [30], così come Ogawa non ha trovato associazione tra annessina V e aborto in pazienti con APS [31]. Queste osservazioni tra loro contraddittorie ma basate tutte su studi retrospettivi, ci hanno indotto a progettare questo studio prospettico su oltre 1.000 donne gravide.
I risultati di questo studio, confermando quelli di altri studi precedenti [32,33], evidenziano che le primigravide e le donne con precedenti esiti ostetrici favorevoli hanno una incidenza di aborto significativamente inferiore rispetto a quelle che nella propria anamnesi ostetrica hanno solo eventi abortivi o in cui gli aborti si sono alternati a gravidanze normali e che il rischio di ricorrenza cresce cumulativamente in relazione al numero di aborti precedenti.
Anche l'associazione tra aborto ed età materna è ben do-

cumentata in letteratura; secondo Bulletti [34], la frequenza di aborto aumenterebbe dal 12% a 20 anni al 26% oltre i 40 anni di età. Benchè anche nel nostro studio la differenza nell'età media delle donne che hanno abortito rispetto a quella delle donne che hanno partorito sia risultata statisticamente significativa, esiste una tale sovrapposizione che il dato non riveste nessuna utilità clinica.

Al di là di questi dati, questo studio dimostra che gli anticorpi anti-annessina V di classe IgG o IgM misurati all'inizio di gravidanza in donne sane, non sono predittivi dell'esito della gravidanza. Infatti, nelle donne con aborto e in quelle che hanno partorito abbiamo registrato percentuali di positività anticorpale simili sia per le IgG (25 vs 23%) che per le IgM (27 vs 28%) e concentrazioni anticorpali non significativamente differenti tra i due gruppi.

Inoltre, non abbiamo osservato un aumento della prevalenza di aCL, anti-β_2GPI o di ANA nelle donne con aborto rispetto a quelle del gruppo di controllo, confermando ancora una volta i risultati ottenuti da altri ricercatori [35,36]. Anche se gli anticorpi anti-tiroide sono risultati relativamente frequenti, la loro percentuale di positività era uguale nei due gruppi e perciò di nessuna utilità pratica. Inoltre, la loro prevalenza è simile a quella che si riscontra nella popolazione generale femminile (12-17%) [37].

In conclusione, benchè studi retrospettivi abbiano evidenziato un'associazione tra abortività e anticorpi anti-annessina V, questo ampio studio prospettico non ha confermato che tali anticorpi abbiano significato prognostico nel predire l'aborto in donne sane. E' tuttavia possibile che gli anticorpi anti-annessina V possano essere predittivi del rischio abortivo in donne con APS o con patologie autoimmuni, non incluse nel presente studio. E' inoltre possibile che altri anticorpi diretti contro altre proteine della famiglia delle annessine possano essere in causa e avere un ruolo patogenetico [38] oppure che gli anticorpi anti-annessina V possano comparire in seguito ad uno o più aborti e rappresentare perciò un epifenomeno immunologico dell'aborto. Al momento non sembra perciò utile la determinazione di questo nuovo parametro anticorpale per la valutazione del rischio di aborto all'inizio di gravidanza in donne sane.

Bibliografia

1) Regan L, Rai R. Epidemiology and the medical causes of miscarriage. Bailliere's Clin Obstet Gynaecol 2000; 14:839-54.
2) Simpson JL. Genes, chromosomes and reproductive failure. Fertil Steril 1980; 33:107-16.
3) Be C, Velasquez P, Youlton R. Spontaneous abortion: cytogenetic study of 609 cases. Rev Med Chil 1997; 125:317-22.
4) Maier DB, Parke A. Subclinical autoimmunity in recurrent aborters. Fertil Steril 1989; 51:280-5.
5) Shoenfeld Y, Blank M. Autoantibodies associated with reproductive failure. Lupus 2004; 13:643-8.
6) Lee RM, Emlen W, Scott JR, Branch DW, Silver RM. Anti-beta2-glycoprotein-I antibodies in women with recurrent spontaneous abortion, unexplained fetal death, and antiphospholipid syndrome. Am J Obstet Gynecol 1999; 181:642-8.
7) Out HJ, Kooijman CD, Bruins HW, Derksen RHWM. Histo-pathological findings from patients with intrauterine fetal death and antiphospholipid antibodies. Eur J Obstet Gynecol 1991; 41:179-86.
8) Blank M, Cohen I, Toder V, Shoenfeld Y. Induction of anti-phospholipid syndrome in naïve mice with mouse lupus monoclonal and human polyclonal anti-cardiolipin antibodies. Proc Natl Acad Sci USA 1991; 88:3069-73.
9) Piona A, La Rosa L, Tincani A, Faden D, Magro G, Grasso S, et al. Placental thrombosis and fetal loss after passive transfer of mouse lupus monoclonal or human polyclonal anti-cardiolipin antibodies in pregnant naive BALB/c mice. Scand J Immunol 1995; 41:427-32.
10) George J, Blank M, Levy Y, Meroni PL, Damianovich M, Tincani A, et al. Differential effects of anti-beta2-glycoprotein I antibodies on endothelial cells and on the manifestations of experimental antiphospholipid syndrome. Circulation 1998; 97:900-6.
11) Lynch A, Marlar R, Murphy J, Davila G, Santos M, Rutledge J, et al. Antiphospholipid antibodies in predicting adverse pregnancy outcome. A prospective study. Ann Intern Med 1994; 120:470-5.
12) Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JCP, et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome. Arthritis Rheum 1999; 42:1309-11.
13) Nojima J, Kuratsune H, Suehisa E, Futsukaichi Y, Yamanishi H, Machii T, et al. Association between the prevalence of antibodies to β_2-glycoprotein I, prothrombin, protein C, protein S, and annexin V in patients with systemic lupus erythematosus and thrombotic and thrombocytopenic complications. Clin Chem 2001; 47:1008-15.
14) Matsuda J, Gotoh M, Saitoh N, Gohchi K, Tsukamoto M, Yamamoto T. Anti-annexin antibody in the sera of patients with habitual fetal loss or preeclampsia. Thrombosis Res 1994; 75:105-6.
15) Matsubayashi H, Arai T, Izumi S, Sugi T, McIntyre JA, Makino T. Anti-annexin V antibodies in patients with early pregnancy loss or implantation failure. Fertil Steril 2001; 76:964-9.
16) Rand JH. Effects of antiphospholipid antibodies upon the morphology and anticoagulant function of annexin-V [abstract]. Lupus 2002; 11:571.
17) Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D, Tampoia M, Tozzoli R. Prevalence and clinical correlation of antiphospholipid-binding protein antibodies in anticardiolipin-negative patients with systemic lupus erythematosus and women with unexplained recurrent miscarriages. Arch Pathol Lab Med 2005; 129:61-8.
18) Goldstein S. Embryonic death in early pregnancy: a new look at the first trimester. Obstet Gynecol 1994; 84:294-7.
19) Wang X, Campos B, Kaetzel MA, Dedman JR. Annexin V is critical in the maintenance of murine placental integrity. Am J Obstet Gynecol 1999; 180:1008-16.
20) Rand JH, Wu X, Guller S, Gil J, Scher J, Lockwood CJ. Reduction of annexin-V (placental anticoagulant protein I) on placental villi of women with antiphospholipid antibodies and recurrent spontaneous

abortion. Am J Obstet Gynecol 1994; 171:1566-72.
21) Krikun G, Lockwood CJ, Wu XX, Zhou XD, Guller S, Calandri C, et al. The expression of the placental anticoagulant protein, Annexin-V, by villous trophoblasts: immunolocalization and in vitro regulation. Placenta 1994; 15:601-12.
22) Rand JH, Wu X, Andree HAM, Lockwood CJ, Guller S, Scher J, et al. Pregnancy loss in the antiphospholipid antibody syndrome – a possible thrombogenic mechanism. N Engl J Med 1997; 337:154-60.
23) Rand JH, Wu XX, Lapinski R, van Heerde WL, Reutelinsperger CP, Chen PP, et al. Detection of antibody-mediated reduction of annexin A5 anticoagulant activity in plasmas of patients with the antiphospholipid syndrome. Blood 2004; 104:2783-90.
24) Rand JH, Wu X, Guller S, Scher J, Andree HAM, Lockwood CJ. Antiphospholipid immunoglobulin G antibodies reduce annexin V levels on syncitiotrophoblast atipical membranes and in culture media of placental villi. Am J Obstet Gynecol 1997; 177:918-23.
25) Rand JH. "Annexinopathies". A new class of diseases. N Engl J Med 1999; 340:1035-6.
26) Rote NS, Kumar N, Chang SH, Liln L, Xu B, Kent MN. Monoclonal antibody against annexin V prevents intertrophoblast fusion [abstract]. Lupus 2002; 11:564.
27) Gris JC, Quéré I, Sanmarco M, Boutiere B, Mercier E, Amiral J, et al. Antiphospholipid and antiprotein syndromes in non-thrombotic, non-autoimmune women with unexplained recurrent primary early foetal loss. Thromb Haemost 2000; 84:228-36.
28) Kaburaki J, Kuwana M, Yamamoto M, Kawai S, Ikeda Y. Clinical significance of anti-annexin V antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. Am J Hematol 1997; 54:209-13.
29) Lakos G, Kiss E, Regeczy N, Tarjan P, Soltesz P, Zeher M, et al. Anti-prothrombin and anti-annexin V antibodies imply risk of thrombosis in patients with systemic autoimmune diseases. J Rheumatol 2000; 27:924-9.
30) Arnold J, Holems Z, Pickering W, Farmer C, Regan L, Cohen H. Anti-beta 2 glycoprotein 1 and anti-annexin V antibodies in women with recurrent miscarriage. Br J Haematol 2001; 113:911-4.
31) Ogawa H, Zhao D, Dlott JS, Cameron GS, Yamazaki M, Hata T, et al. Elevated anti-annexin V antibody levels in antiphospholipid syndrome and their involvement in antiphospholipid antibody specificities. Am J Clin Pathol 2000; 114:619-28.
32) Knudsen UB, Hansen V, Juul S, Secher NJ. Prognosis of a new pregnancy following previous spontaneous abortions. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 1991; 39:31-6.
33) Regan L, Braude PB, Trembath PL. Influence of past reproductive performance on risk of spontaneous abortion. Br Med J 1989; 299:541-5.
34) Bulletti C, Flamigni C, Giacomucci E. Reproductive failure due to spontaneous abortion and recurrent abortion. Hum Reprod Update 1996; 2:118-35.
35) Ailus K, Tulppala M, Palosuo T, Ylikorkala O, Vaarala O. Antibodies to beta 2 glycoprotein I and prothrombin in habitual abortion. Fertil Steril 1996; 66:937-41.
36) Forastiero RR, Martinuzzo ME, Cerrato GS, Kordich LC, Carreras LO. Relationship of anti-beta2-glycoprotein I and anti-prothrombin antibodies to thrombosis and pregnancy loss in patients with anti-phospholipid antibodies. Thromb Haemost 1997; 78:967-8.
37) Hollowell JG, Staehling NW, Hannon WH, Flanders WD, Gunter EW, Spencer CA, et al. Serum thyrotropin, thyroxine and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): NHANES III. J Clin Endocrinol Metab 2002; 87:489-99.
38) Rand JH, Wu XX. Antibody-mediated interference with annexins in the antiphospholipid syndrome. Thrombosis Res 2004; 114:383-9.