

**ASSOCIAÇÃO ENTRE ANTICORPOS ANTICARDIOLIPINA E PRÉ-
ECLÂMPSIA: REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA E METANÁLISE**

Aline Defaveri do Prado

Porto Alegre, 2010

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA E CIÊNCIAS DA SAÚDE
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: CLÍNICA MÉDICA**

FACULDADE DE MEDICINA

**ASSOCIAÇÃO ENTRE ANTICORPOS ANTICARDIOLIPINA E PRÉ-
ECLÂMPSIA: REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA E METANÁLISE**

AUTORA: ALINE DEFAVERI DO PRADO

ORIENTADOR: PROF. DR. HENRIQUE LUIZ STAUB

CO-ORIENTADOR: PROF. DR. BERNARDO LESSA HORTA

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, para obtenção do título de Mestre em Medicina

Porto Alegre, Fevereiro de 2010

LISTA DE ABREVIATURAS

SAF – Síndrome antifosfolípídica

aCL – anticardiolipina

LES –lúpus eritematoso sistêmico

AAF – anticorpos antifosfolípides

PE – pré-eclâmpsia

RS – revisão sistemática

OR – odds ratio

IC – intervalo de confiança

IC95% – intervalo de confiança 95%

RO – razão de odds

Sumário

1	INTRODUÇÃO.....	7
1.1	Síndrome Antifosfolípídica e Anticorpos Anticardiolipina.....	8
1.2	Definições de Pré-Eclâmpsia	10
1.3	Anticorpos Anticardiolipina e Pré Eclâmpsia.....	12
1.4	Revisão Sistemática e Metanálise	14
1.5	Metanálise de Estudos Epidemiológicos	16
1.6	Interpretação do Gráfico da Metanálise.....	20
1.7	Heterogeneidade e Metarregressão	21
1.8	Viés de Publicação	24
1.9	Objetivo	26
1.10	Hipótese Operacional	26
1.11	Hipótese Conceitual.....	26
1.12	Referências bibliográficas.....	27
2	ARTIGO EM PORTUGUÊS	32
2.1	ANEXOS	56
2.1.1	Anexo 1 – Lista de autores e especialistas em síndrome antifosfolípídica contactados por <i>email</i> :	57
2.1.2	Anexo 2 – Fluxograma da busca de estudos	59

Anexo 3 – Critérios Modificados de Downs and Black	60
2.2 TABELAS.....	65
2.2.1 Tabela 1 – Características dos estudos primários.....	66
2.2.2 Tabela 2 – Pressão arterial, valores de proteinúria e classificação de gravidade utilizados nas definições de PE dos estudos primários	67
2.2.3 Tabela 3 – Metanálise em subgrupo de estudos de acordo com o tamanho amostral.....	68
2.2.4 Tabela 4 – Metarregressão para as variáveis delineamento, qualidade e tamanho do estudo.....	69
2.2.5 Tabela 5 – Metanálise do subgrupo de estudos com delineamento caso-controle	69
2.2.6 Tabela 6 – Metanálise do subgrupo de estudos com delineamento coorte	70
2.3 GRÁFICOS.....	71
2.3.1 Gráfico 1– Todos os estudos: qualquer gravidade de PE	72
2.3.2 Gráfico 2 – Estudos com PE leve	73
2.3.3 Gráfico 3 – Estudos com PE grave.....	73
2.3.4 Gráfico 4 – Funnel Plot para todos os estudos	74
3 VERSÕES EM LÍNGUA INGLESA	75
3.1 ARTIGO TRADUZIDO PARA A LÍNGUA INGLESA.....	76
3.2 ARTIGO SUBMETIDO PARA PUBLICAÇÃO	98
3.3 ATTACHMENTS	119
3.3.1 Attachment 1 – Authors and antiphospholipid syndrome experts contacted by email:	120
3.3.2 Attachment 2 – Search strategy flow chart	122
3.3.3 Attachment 3 – Modified Downs and Black Criteria	123
3.4 TABLES	126
3.4.1 Table 1 – Primary studies characteristics.....	127

3.4.2	Table 2 – Blood arterial pressure, proteinuria and severity according to primary studies PE definitions	128
3.4.3	Table 3 – Subgroup metanalysis according to study size	129
3.4.4	Table 4 – Variables study design, study quality and study size metaregression analysis.....	130
3.4.5	Table 5 – Case-control studies metanalysis	130
3.4.6	Table 6 –Cohort studies metanalysis	130
3.5	FIGURES.....	131
3.5.1	Figure 1 – All studies: any severity of PE	132
3.5.2	Figure 2 – Mild PE	133
3.5.3	Figure 3 – Severe PE	133
3.5.4	Figure 4 – Funnel Plot – all studies.....	134

1 INTRODUÇÃO

1.1 Síndrome Antifosfolípídica e Anticorpos Anticardiolipina

A síndrome antifosfolípídica (SAF) caracteriza-se por eventos tromboembólicos arteriais e venosos associados a anticorpos anticardiolipina (aCL), anticoagulante lúpico ou anticorpos anti-beta2-glicoproteína I. A SAF é uma doença auto-imune descrita na década de 80, primária ou associada ao lúpus eritematoso sistêmico (LES) ¹, cujo diagnóstico é baseado em um conjunto de critérios clínicos e laboratoriais recentemente revisados ². Um dos critérios clínicos diagnósticos atuais desta entidade é a ocorrência de nascimento prematuro de neonato morfologicamente normal devido à eclâmpsia, pré-eclâmpsia grave ou insuficiência placentária (2).

Os anticorpos antifosfolípidos (AAF) compreendem um grupo heterogêneo e complexo de autoanticorpos cujos alvos são os fosfolípidos (cardiolipina, fosfatidilserina, fosfatidilinositol) da cascata da coagulação e de membranas celulares, principalmente as de plaquetas e células endoteliais ³. A cardiolipina é um fosfolípídeo de carga negativa que está presente com pouca expressão na membrana celular, mas que se encontra preferencialmente na membrana interna mitocondrial ⁴. Por ser facilmente obtida do coração bovino, a cardiolipina foi padronizada como fosfolípídeo em ensaios de fase sólida ^{3,5,6}.

Apesar de o ensaio imunoenzimático ELISA para detecção de anticorpos aCL IgG e IgM ter sido padronizado desde o primeiro simpósio sobre AAF em 1987, os ensaios laboratoriais para detecção desses anticorpos nas publicações nem sempre seguem tal protocolo. Frente a essa variabilidade – e impossibilidade de comparação, portanto, dos resultados entre os estudos – desenvolveu-se recomendações para uniformização dos métodos de testagem e de expressão dos resultados. Atualmente, a

investigação de anticorpos aCL deve ser feita através de ELISA e os valores devem ser expressos em unidades GPL ou MPL ^{5, 7, 8}. Não se recomenda expressar os resultados em média e desvio padrão, pois os valores de anticorpos aCL seguem uma distribuição assimétrica, e não Gausseana. Assim, testes não-paramétricos são os apropriados para a definição dos valores de referência ^{9, 10}.

Acredita-se que os fenômenos vaso oclusivos na SAF sejam provenientes da indução de trombose pelos aCL/AAF. O mecanismo exato pelo qual os aCL/AAF estimulam a trombogênese, no entanto, não é completamente conhecido. Atualmente, se aceita que a proteína plasmática de ligação fosfolipídica beta2-glicoproteína I seja o principal alvo antigênico para os aCL/AAF, desempenhando papel central na fisiopatogenia desta doença ¹¹⁻¹⁴. Apesar de haver consenso sobre o potencial patogênico dos aCL/AAF, é sabido que esses anticorpos surgem em hiper estimulação imunológica no contexto de infecções e neoplasias ¹⁵ e podem estar presentes em indivíduos normais, sendo descritos em baixas freqüências e titulação, incluindo gestantes e idosos ¹⁶⁻¹⁸.

1.2 Definições de Pré-Eclâmpsia

Pré-eclâmpsia (PE) é uma síndrome de hipertensão e proteinúria que inicia após as primeiras 20 semanas de gestação. Especificamente, considera-se diagnóstico de PE para a gestante previamente normotensa que apresentar pressão arterial sistólica (PAS) igual ou acima de 140 mmHg e/ou pressão arterial diastólica (PAD) igual ou acima de 90 mmHg após 20 semanas de idade gestacional, acompanhada de proteinúria de, no mínimo, 300 mg em coleta de urina de 24 horas ^{19, 20}.

A classificação de PE entre as patologias hipertensivas da gestação, no entanto, não é homogênea. Diversos grupos de especialistas publicaram consensos para, entre outros objetivos, estabelecer a nomenclatura e a diferenciação entre hipertensão crônica, hipertensão gestacional, pré-eclâmpsia/eclâmpsia e pré-eclâmpsia sobreposta em hipertensão crônica ¹⁹⁻²⁴. As classificações propostas pelos grupos *Canadian Hypertensive Society (CHS)* ²¹, *National High Blood Pressure Education Program Working Group (NHBPEPWG)* ¹⁹, Organização Mundial da Saúde (OMS) ²⁴, *Australasian Society for the Study of Hypertension (ASSH)* ²², *International Society for the Study of Hypertension (ISSH)* ²³ e *American College of Obstetrics and Gynecologists (ACOG)* ²⁰ estão descritas na tabela 1, que foi reproduzida de Comparsi e colaboradores ²⁵.

Como não há padronização universalmente aceita na definição das doenças hipertensivas gestacionais, observam-se publicações onde os autores não utilizam nenhuma das propostas descritas acima para definição da síndrome hipertensiva de interesse. Dessa forma, conceitos outros de PE - que provavelmente refletem as convicções pessoais dos autores - são amplamente usados nas publicações científicas e incluem variados pontos de corte para a pressão arterial sistólica, diastólica e para a

quantificação da proteinúria. A divergência conceitual e classificatória sobre as síndromes gestacionais hipertensivas e, em especial, sobre a definição de PE, implica em diferenças nas populações em estudo dos artigos científicos^{25,26}.

A PE é um dos principais motivos de morbimortalidade materna e fetal e sua prevalência é estimada em aproximadamente 8% de todas as gestações. Nos Estados Unidos, é a *causa mortis* materna em 16,1% de todos os óbitos na gestação, enquanto, na América Latina, é responsável por 25,7% dos casos²⁷. Sendo uma patologia frequente e grave, esforços têm sido feitos para identificar testes laboratoriais ou de imagem que sirvam como rastreamento para PE. Duas recentes revisões sistemáticas com metanálise encontraram pouca evidência de testes adequados para predição de PE^{28,29}. Os estudos identificados demonstraram testes de baixa sensibilidade e, aqueles testes que atingiram sensibilidade acima de 90% - dosagem de alfafetoproteína, fibronectina, índice de massa corporal e ecografia Doppler de artérias uterinas - apresentavam problemas metodológicos e avaliações pobres de qualidade²⁸.

1.3 Anticorpos Anticardiolipina e Pré Eclâmpsia

Fatores de risco clássicos para PE – nuliparidade, resistência à insulina, história prévia de PE, história familiar de PE, hiperhomocistemia, diabetes pré-gestacional, hipertensão crônica, obesidade, extremos de idade reprodutiva, gestação múltipla, infecções maternas, anomalias congênitas e cromossômicas, mola hidatiforme, doenças renais, trombofilias e doenças reumatológicas auto-imunes, como lúpus eritematoso sistêmico e síndrome antifosfolipídica – são conhecidos, aceitos e descritos^{30, 31}. Novos fatores de risco, agora relacionados à paternidade e inseminação artificial também têm sido identificados³²⁻³⁴.

O papel dos anticorpos aCL como fatores de risco para PE, de modo isolado e fora do contexto de doença autoimune é alvo de diversas pesquisas nas últimas duas décadas. Estudos clínicos – com delineamentos caso-controle ou coortes prospectivos, em sua maioria – foram publicados a fim de investigar essa relação³⁵⁻⁵⁴. Essas pesquisas, no entanto, mostram resultados controversos, ora a favor, ora contra a associação entre aCL e PE.

Uma revisão sistemática publicada sobre testes de rastreamento para PE na população geral incluiu a pesquisa de anticorpos aCL⁵⁵. Tal estudo buscou publicações com delineamentos de coorte ou transversais que analisassem qualquer teste (não especificamente os anticorpos aCL), laboratorial ou de imagem, realizado durante a gravidez com o objetivo de prever PE. Concluiu-se que não havia nenhum teste disponível até 2004 cuja capacidade de predição de PE fosse adequada, sendo necessário o desenvolvimento de estudos longitudinais específicos. Outra revisão sistemática, desta vez delineada para buscar associação entre diversas variáveis maternas (idade, número de gestações, história familiar, doenças crônicas, índice de

massa corporal, entre outras) e PE incluiu a busca de anticorpos aCL e anticoagulante lúpico. Cinco estudos foram analisados, demonstrando-se risco relativo de 9.72 (IC 4.34 – 21.75) na metanálise de dois estudos com delineamento de coorte ⁵⁶. Todavia, considerando que as revisões não foram organizadas de modo específico para estudo dos anticorpos aCL, não há menção sobre o ponto de corte para positividade dos anticorpos aCL, bem como o método laboratorial usado para sua detecção na inclusão dos artigos. Dessa forma, a real associação entre as variáveis aCL e PE permanece indefinida.

1.4 Revisão Sistemática e Metanálise

Revisão sistemática (RS) é um tipo de estudo onde os sujeitos da pesquisa são os estudos primários. Considera-se estudo primário os ensaios clínicos randomizados, estudos de coorte, caso-controle e transversais. A RS, juntamente com as pesquisas de análise econômica (custo-minimização, custo-efetividade, custo-benefício e custo-utilidade) caracteriza-se por ser um estudo secundário, um “estudo de estudos”⁵⁷.

De acordo com Egger e Smith, as revisões sistemáticas devem ser entendidas como estudos observacionais da evidência⁵⁸, cuja metodologia deve ser minuciosamente documentada, seguindo um protocolo de identificação dos estudos que seja sistemático e reproduzível com o objetivo de minimizar vieses⁵⁹. A RS é um tipo de pesquisa delineada para responder a uma pergunta claramente formulada. Utilizando métodos explícitos e rigorosos, a RS busca identificar, selecionar, avaliar criticamente, coletar e analisar dados de estudos primários relevantes⁶⁰. O desenvolvimento da RS envolve a estruturação de um projeto de pesquisa, com definição da questão de pesquisa, elaboração de critérios de elegibilidade dos estudos, definição da estratégia de busca dos artigos nas bases de dados (que deve ser a mais ampla possível, para evitar que estudos sejam perdidos), seleção dos estudos de acordo com os critérios de elegibilidade, avaliação da qualidade dos artigos selecionados, extração dos dados, análise e interpretação dos resultados^{57,60}.

As revisões sistemáticas são relevantes porque conseguem sumarizar um grande volume de dados provenientes de estudos individuais. Servem como instrumentos para transformar informação em conhecimento⁵⁷ e permitem extrapolar achados de estudos independentes, avaliar a consistência entre os estudos e explicar as possíveis inconsistências e divergências⁶¹. Quando desenvolvidas, compreendidas e utilizadas de

modo adequado, as revisões sistemáticas configuram um importante alicerce para a prática da medicina baseada em evidências, organização de diretrizes para a prática clínica e formulação de políticas de saúde. Além de poder identificar o *status* corrente do conhecimento sobre um tema específico, a RS tem o poder de sinalizar o que ainda não se conhece e apontar caminhos necessários para responder à questão de pesquisa.

Após a conclusão da RS, deve ser realizada uma metanálise, quando apropriado. A metanálise é a aplicação de um método estatístico para combinar os resultados dos estudos primários.

1.5 Metanálise de Estudos Epidemiológicos

Por excelência, metanálises são utilizadas para sumarizar o efeito de tratamentos oriundos de ensaios clínicos randomizados. No entanto, também é possível utilizar a técnica da RS e metanálise para sumarizar evidência sobre testes diagnósticos, testes de rastreamento, prognóstico e etiologia de doenças, custo-efetividade ⁶⁰. Revisões sistemáticas de ensaios clínicos nível 1, coortes prospectivas nível 1 e coortes de fase clínica inicial nível 1 são os estudos de maior grau de evidência científica, ou seja, evidência nível 1A ⁶².

A análise de dados de estudos observacionais tem seu papel, por exemplo, na resposta a questões de pesquisa envolvendo investigação de causalidade, etiologia ou associações entre variável e desfecho. Em situações em que a magnitude de risco em estudos primários é pequena ou quando os resultados de estudos individuais são discordantes, a metanálise de estudos observacionais pode trazer uma resposta precisa sobre uma associação ⁶³, além de explicitar as razões para as diferenças nos resultados dos estudos primários. No entanto, as peculiaridades da metanálise de estudos não experimentais devem ser consideradas, em especial no que concerne o erro sistemático.

É importante diferenciar metanálises de ensaios clínicos de metanálises de estudos observacionais. Como os experimentos são protegidos pela randomização, o potencial de viés metodológico se torna infinitamente menor em comparação aos estudos de caso-controle, coortes ou transversais. A metanálise de ensaios clínicos baseia-se na suposição de que cada *trial* contenha uma estimativa livre de viés do efeito de um determinado tratamento. Os estudos observacionais, por outro lado, produzem estimativas de associação que podem se desviar da realidade devido à presença de fatores confundidores e de erros ⁶³. Nesses casos, mesmo após o ajuste para fatores de

confusão ter sido realizado na análise dos dados, ainda existe a possibilidade de haver confundimento residual ⁶⁴. Além disso, os estudos observacionais são suscetíveis a viés de seleção e de informação e que muitas vezes são importante fonte de heterogeneidade entre os estudos ⁶³. Dessa forma, recomenda-se que a simples combinação estatística dos resultados individuais não seja o componente proeminente na metanálise de estudos observacionais. Deve-se procurar na RS as diferenças e similaridades entre os resultados, as populações estudadas e os cenários clínicos dos estudos primários. Na existência de heterogeneidade entre os estudos, se deve tentar identificar as principais fontes, contribuindo assim para o delineamento de próximos estudos ⁶³. As metanálises de estudos observacionais já produziram importantes evidências para a tomada de decisão em políticas públicas de saúde, principalmente para exposições onde a realização de estudos randomizados seria extremamente difícil, como no caso da amamentação⁶⁵.

Definição de Metanálise, Testes Estatísticos e Interpretação

O agrupamento de resultados em uma metanálise não é adequado como tarefa final para todas as revisões sistemáticas, se os estudos selecionados ao final da RS forem extremamente heterogêneos no que diz respeito aos participantes do estudo, grupo-controle, definição do desfecho e exposição ou intervenção ⁵⁷.

Para a realização da metanálise, é necessário, inicialmente, obter medidas individuais dos estudos primários. Para cada um é necessário, no caso de estudos observacionais, obter a medida de associação (odds ratio ou risco relativo) e o erro padrão dessa medida. Para desfechos clínicos dicotômicos (como é o caso do desenvolvimento ou não de PE na presença dos anticorpos aCL), é necessário obter o número de eventos e o tamanho da amostra de cada grupo. Os pesos são calculados para refletir a quantidade de informação que cada estudo contém. Na prática, o peso é o inverso da variância, que se correlaciona com o tamanho da amostra ⁶⁶. Conseqüentemente, os estudos com maior tamanho da amostra terão maior peso na obtenção da estimativa combinada.

O resultado final da metanálise será uma média ponderada dos valores das medidas de associação de cada estudo. Seguindo o exemplo da revisão sistemática proposta nesta dissertação, obtêm-se as estatísticas sumárias (odds ratio, erro padrão) e os pesos de cada estudo através da combinação das variáveis abaixo em fórmulas matemáticas bem estabelecidas ⁶⁶.

1. Número de pacientes com aCL positivas e PE
2. Número de pacientes sem aCL positivas e PE

3. Número de pacientes com aCL positivas e sem PE
4. Número de pacientes sem aCL positivas e sem PE
5. Número total de cada grupo de pacientes (aCl positivas, aCL negativas, com PE, sem PE).

Após a obtenção das estatísticas sumárias de cada estudo, aplica-se um método estatístico para combinar os resultados individuais. Existem vários métodos para a obtenção da estimativa combinada (Método do Inverso da Variância, Métodos de Mantel-Haenszel, Método de Odds Ratio de Peto, Modelo de Efeito Randômico de DerSimonian e Laird, Método Bayesiano) ⁶⁶. Essas técnicas estatísticas podem ser classificadas resumidamente em dois modelos – efeito fixo e efeito randômico – sendo a diferença central a maneira como a variabilidade entre os estudos é abordada. O modelo de efeito fixo considera que a variabilidade entre os estudos é exclusivamente devida ao acaso, ou seja, existe um “efeito verdadeiro” e os estudos se distribuem aleatoriamente ao redor deste efeito. O modelo de efeito randômico assume que há fontes adicionais de variabilidade além do acaso, considerando a variância de cada estudo primário. Neste caso não existe um “único efeito verdadeiro”, mas *n* efeitos verdadeiros ^{58, 66}. Diferenças substanciais na metanálise - calculada através de modelos de efeitos fixo e randômico - somente serão vistas se houver grande heterogeneidade entre os estudos primários ⁵⁸.

As estatísticas sumárias bem como a metanálise e o gráfico completo podem ser geradas através de programas estatísticos como STATA e RevMan.

1.6 Interpretação do Gráfico da Metanálise

A combinação das medidas de efeito individuais dos estudos primários é representada graficamente através do gráfico da floresta, ou *forest plot*. Neste gráfico, as linhas horizontais representam os intervalos de confiança de cada estudo primário. Se a linha horizontal ultrapassar a linha vertical central do gráfico, isto significa que não há diferença estatística na intervenção ou associação avaliada no estudo em questão^{57, 59}.

O ponto central de cada linha horizontal representa o *odds ratio* (OR) do estudo. Se o ponto central estiver à esquerda da linha central do gráfico, significa que o efeito medido é de proteção. Se estiver à direita da linha central do gráfico, significa que o efeito é de aumento de risco. O tamanho do ponto central indica o peso relativo de cada estudo no resultado final^{57, 59}.

O losango localizado na parte inferior do gráfico indica o resultado final da combinação dos efeitos dos estudos, ou seja, representa a metanálise. O ponto central do losango representa o OR e seu tamanho representa o intervalo de confiança (IC)^{57, 59}.

1.7 Heterogeneidade e Metarregressão

O resultado da medida de efeito observado em cada estudo primário é uma estimativa do efeito verdadeiro mensurada com certo grau de imprecisão. A heterogeneidade estatística engloba o conceito de que o efeito verdadeiro de uma intervenção ou associação não é idêntico entre os estudos. A heterogeneidade clínica e metodológica entre os estudos incluídos na metanálise necessariamente leva à heterogeneidade estatística ⁶⁷. Para o amplo entendimento do resultado da metanálise, é essencial analisar a presença de heterogeneidade entre os estudos ⁶⁸.

De acordo com Higgins ⁶⁹ revisões sistemáticas de estudos sobre um mesmo tema irão fatalmente unir informações que contém elementos de diversidade, pois os estudos primários poderão diferir no desenho, condução, características dos participantes, intervenções, exposições e desfechos avaliados. Tal diversidade é comumente referida como heterogeneidade metodológica, podendo ocasionar diferenças nos resultados dos estudos. Estatisticamente, detecta-se heterogeneidade quando a variação entre os resultados dos estudos primários encontra-se acima da variação explicada pelo acaso ⁶⁹. Considerando-se a imensa possibilidade de cenários em que os estudos são planejados e executados (heterogeneidade clínica e metodológica), a presença de heterogeneidade estatística é esperada nas metanálises ⁷⁰.

Um teste para heterogeneidade testa a hipótese nula de que todos os estudos estão avaliando o mesmo efeito, ou seja, que existe homogeneidade. Dois métodos para investigação de heterogeneidade são comumente usados nas metanálises: o teste Q (teste X^2 de Cochran) ⁷¹ e o teste I^2 ⁶⁸.

O teste Q identifica a presença de heterogeneidade estatisticamente significante ou sua ausência através do valor de P . Possui pouco poder para detectar

heterogeneidade verdadeira quando há poucos estudos na metanálise. Apresenta, ainda, poder excessivo quando há uma grande quantidade de estudos com tamanho amostral expressivo na metanálise, detectando frequentemente heterogeneidade - claramente sem significado - nessa situação ^{68,69}.

O teste I^2 , desenvolvido por Higgins e colaboradores ⁶⁸, tem a habilidade de medir a consistência entre os estudos incluídos na metanálise, avaliando em que extensão a heterogeneidade afeta a conclusão da metanálise. O teste I^2 descreve um valor percentual da variação entre os estudos que ocorre devido à heterogeneidade e não em razão do acaso. Valores de 0% indicam ausência de heterogeneidade. Valores acima de zero indicam valores crescentes de heterogeneidade. A interpretação de, por exemplo, um teste $I^2 = 55%$ em uma metanálise é a de que 55% da variabilidade entre os estudos primários ocorre devido à heterogeneidade e não ao acaso. Os autores do teste consideram valores de 25% como baixa heterogeneidade, 50% como moderada heterogeneidade e 75% como alta heterogeneidade. O teste I^2 pode ser usado para análise de subgrupos, para investigação de causas de heterogeneidade e para comparação entre metanálises diferentes.

A fim de investigar as causas para a heterogeneidade quantificada com os testes descritos acima, é possível aplicar a técnica de metarregressão, baseada em análise de regressão ponderada, onde se objetiva relacionar o tamanho do efeito encontrado na metanálise a uma ou mais variáveis dos estudos primários ⁶⁷. Este método permite investigar o quanto uma variável ou característica particular de um estudo primário influencia o resultado final da metanálise, como também, qual o percentual da heterogeneidade que é devido a esta variável.

Os métodos estatísticos utilizados na metarregressão levam em conta o peso de cada estudo, a variância intraestudo, a variância entre estudos e a presença de heterogeneidade residual. Como a variância entre os estudos é considerada na técnica estatística, utiliza-se análise de efeito randômico, mas à medida que a heterogeneidade é reduzida, o componente da variância entre os estudos é reduzido. Nos casos em que toda a heterogeneidade é explicada pelas covariáveis incluídas no modelo, este se transforma em modelo fixo. A estatística τ^2 estima a variância entre os estudos. Recomenda-se que o valor de τ^2 seja calculado através da estimativa de máxima *likelihood* restrita (REML – *restricted maximum likelihood estimate*). O software STATA disponibiliza o programa estatístico para a análise de metarregressão ⁷².

É importante ressaltar que a metarregressão pode trazer conclusões falso positivas. Isso ocorre especialmente porque a metarregressão é uma análise *post hoc*, ou seja, feita após a observação de padrões nos resultados dos estudos primários. Também, porque múltiplas análises podem ser realizadas (múltiplas variáveis dos estudos podem ser usadas) nos poucos estudos incluídos na metanálise ⁶⁷. Recomenda-se limitar o número de variáveis utilizadas e, idealmente, estipular na concepção da revisão sistemática e metanálise, quais características dos estudos primários serão testadas na metarregressão ⁶⁷.

1.8 Viés de Publicação

Sabe-se que uma proporção substancial dos projetos de pesquisa não alcança a publicação em revistas indexadas ⁷³. Infelizmente, a publicação não é um processo randômico, sendo influenciada pela natureza e direção dos resultados ⁷⁴. Estudos com resultados positivos têm maior probabilidade de ser publicados, de ser publicados rapidamente, de ser publicados em inglês e de ser citados por outros autores ⁷⁴. Portanto, apresentam, também, maior probabilidade de ser encontrados na busca eletrônica durante a RS.

O viés de publicação na RS pode se tornar evidente através da associação entre o tamanho do efeito e o tamanho de cada estudo primário, e pode ser examinado gráfica e estatisticamente.

O gráfico em funil, ou *funnel plot*, é a representação gráfica do viés de publicação. No *funnel plot*, o efeito do tratamento (ou da associação) - o *odds ratio* - de cada estudo que compõe a metanálise é representado no eixo horizontal, e o erro padrão do estudo, no eixo vertical ⁷⁵. A escala logarítmica é utilizada para garantir que efeitos de mesma magnitude, mas de direções diferentes (OR de 0.5 e 2, por exemplo) fiquem equidistantes de 1 ⁷⁶. Os estudos com tamanhos amostrais pequenos ficam dispostos na parte inferior do gráfico, pois a precisão em estimar uma medida de associação, ou o efeito de um tratamento (erro padrão), é proporcional ao número de participantes ⁷⁵. Na ausência de viés, espera-se que os estudos primários fiquem dispostos no gráfico de maneira simétrica, assemelhando-se a um funil invertido ⁷⁵. Assim, deve haver estudos demonstrando resultados positivos e negativos, de tamanhos pequenos e grandes, em proporção similar.

Apesar de a assimetria no *funnel plot* ser caracteristicamente associada ao viés de publicação, é importante ressaltar que existem outras razões para explicá-la. Heterogeneidade, baixa qualidade de estudos pequenos, análise inadequada, escolha errônea da medida de associação, fraude e, ainda, o acaso, são fatores que podem explicar a assimetria gráfica ⁷⁶.

Existem métodos bem estabelecidos que traduzem, do ponto de vista estatístico, a informação do *funnel plot* através da associação entre a medida de efeito e o tamanho do estudo: o modelo de Begg e Mazumdar ⁷⁷ e o teste de Egger ⁷⁸. O primeiro consiste em um teste de correlação entre a estimativa de efeito e o erro padrão. O teste de Egger usa regressão logística linear, baseando-se no desvio padrão e na precisão dos estudos, e parece ser mais sensível do que o modelo de correlação ^{76, 78}. Quando estatisticamente significantes, os testes indicam a presença de viés de publicação. Ambos os testes estão disponíveis no programa STATA.

1.9 Objetivo

Revisar sistematicamente as evidências sobre a associação entre anticorpos aCL e pré-eclâmpsia.

1.10 Hipótese Operacional

Não há associação entre presença de anticorpos aCL e pré-eclâmpsia demonstrável através de revisão sistemática e metanálise.

1.11 Hipótese Conceitual

Há associação entre presença de anticorpos aCL pré-eclâmpsia demonstrável através da revisão sistemática e metanálise.

1.12 Referências bibliográficas

1. HUGHES GR, HARRIS NN, GHARAVI AE. The anticardiolipin syndrome. *J Rheumatol* 1986;13:486-9.
2. MIYAKIS S, LOCKSHIN MD, ATSUMI T, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost* 2006;4:295-306.
3. LOVE PE SA. Antiphospholipid antibodies: anticardiolipin and the lupus anticoagulant in systemic lupus erythematosus (SLE) and in non-SLE disorders. *Ann Intern Med* 1990;112:682-98.
4. BRANCH DW, ROTE NS, DOSTAL DA, SCOTT JR. Association of lupus anticoagulant with antibody against phosphatidylserine. *Clin Immunol Immunopathol* 1987;42:63-75.
5. E. N. HARRIS MLB, C. G. MACKWORTH-YOUNG, A. E. GHARAVI, B. M. PATEL, S. LOIZOU, G. R. V. HUGHES. Anticardiolipin antibodies: detection by radioimmunoassay and association with thrombosis in systemic lupus erythematosus. *Lancet* 1983;322:1211-4
6. GHARAVI AE HE, ASHERSON RA, ET AL. Anticardiolipin antibodies: isotype distribution and phospholipid specificity. *Ann Rheum Dis* 1987:1-6.
7. TINCANI A, ALLEGRI F, SANMARCO M, et al. Anticardiolipin antibody assay: a methodological analysis for a better consensus in routine determinations--a cooperative project of the European Antiphospholipid Forum. *Thromb Haemost* 2001;86:575-83.
8. HARRIS EN, HUGHES GR. Standardising the anti-cardiolipin antibody test. *Lancet* 1987;1:277.
9. PETRI M. Epidemiology of the antiphospholipid antibody syndrome. *J Autoimmun* 2000;15:145-51.
10. PETRI M, RHEINSCHMIDT M, WHITING-O'KEEFE Q, HELLMANN D, CORASH L. The frequency of lupus anticoagulant in systemic lupus erythematosus. A study of sixty consecutive patients by activated partial thromboplastin time, Russell viper venom time, and anticardiolipin antibody level. *Ann Intern Med* 1987;106:524-31.
11. MATSUURA E, IGARASHI Y, FUJIMOTO M, ICHIKAWA K, KOIKE T. Anticardiolipin cofactor(s) and differential diagnosis of autoimmune disease. *Lancet* 1990;336:177-8.
12. MCNEIL HP, SIMPSON RJ, CHESTERMAN CN, KRILIS SA. Anti-phospholipid antibodies are directed against a complex antigen that includes a lipid-binding inhibitor of coagulation: beta 2-glycoprotein I (apolipoprotein H). *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990;87:4120-4.
13. MATSUURA E, IGARASHI Y, FUJIMOTO M, et al. Heterogeneity of anticardiolipin antibodies defined by the anticardiolipin cofactor. *J Immunol* 1992;148:3885-91.
14. MATSUURA E, IGARASHI Y, YASUDA T, TRIPLETT DA, KOIKE T. Anticardiolipin antibodies recognize beta 2-glycoprotein I structure altered by interacting with an oxygen modified solid phase surface. *J Exp Med* 1994;179:457-62.
15. VAARALA O, PALOSUO T, KLEEMOLA M, AHO K. Anticardiolipin response in acute infections. *Clin Immunol Immunopathol* 1986;41:8-15.

16. EL-ROEIY A, GLEICHER N. Definition of normal autoantibody levels in an apparently healthy population. *Obstet Gynecol* 1988;72:596-602.
17. FIELDS RA, TOUBBEH H, SEARLES RP, BANKHURST AD. The prevalence of anticardiolipin antibodies in a healthy elderly population and its association with antinuclear antibodies. *J Rheumatol* 1989;16:623-5.
18. LOCKWOOD CJ, ROMERO R, FEINBERG RF, CLYNE LP, COSTER B, HOBBS JC. The prevalence and biologic significance of lupus anticoagulant and anticardiolipin antibodies in a general obstetric population. *Am J Obstet Gynecol* 1989;161:369-73.
19. Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:S1-S22.
20. ACOG practice bulletin. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. Number 33, January 2002. *Obstet Gynecol* 2002;99:159-67.
21. HELEWA ME, BURROWS RF, SMITH J, WILLIAMS K, BRAIN P, RABKIN SW. Report of the Canadian Hypertension Society Consensus Conference: 1. Definitions, evaluation and classification of hypertensive disorders in pregnancy. *Cmaj* 1997;157:715-25.
22. BROWN MA, HAGUE WM, HIGGINS J, et al. The detection, investigation and management of hypertension in pregnancy: full consensus statement. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2000;40:139-55.
23. DAVEY DA, MACGILLIVRAY I. The classification and definition of the hypertensive disorders of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1988;158:892-8.
24. AKINKUGBE A GN, KINKAID-SMITH P ET AL. The hypertensive disorders of pregnancy; Report of a WHO Study Group. World Health Organization 1987.
25. COMPARI AB, PDCB, POLI DE FIGUEIREDO CE, PAULA LG. Pré-eclâmpsia: diagnóstico e tratamento. *ACTA Médica* 2001;22:293-309.
26. HARLOW FH, BROWN MA. The diversity of diagnoses of preeclampsia. *Hypertens Pregnancy* 2001;20:57-67.
27. KHAN KS, WOJDYLA D, SAY L, GULMEZOGLU AM, VAN LOOK PF. WHO analysis of causes of maternal death: a systematic review. *Lancet* 2006;367:1066-74.
28. CNOSSEN JS, TER RIET G, MOL BW, et al. Are tests for predicting pre-eclampsia good enough to make screening viable? A review of reviews and critical appraisal. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2009;88:758-65.
29. MEADS CA, CNOSSEN JS, MEHER S, et al. Methods of prediction and prevention of pre-eclampsia: systematic reviews of accuracy and effectiveness literature with economic modelling. *Health Technol Assess* 2008;12:iii-iv, 1-270.
30. ODEGARD RA, VATTEN LJ, NILSEN ST, SALVESEN KA, AUSTGULEN R. Risk factors and clinical manifestations of pre-eclampsia. *Bjog* 2000;107:1410-6.
31. SIBAI B, DEKKER G, KUPFERMINC M. Pre-eclampsia. *Lancet* 2005;365:785-99.
32. SAFTLAS AF, LEVINE RJ, KLEBANOFF MA, et al. Abortion, changed paternity, and risk of preeclampsia in nulliparous women. *Am J Epidemiol* 2003;157:1108-14.
33. EINARSSON JI, SANGI-HAGHPEYKAR H, GARDNER MO. Sperm exposure and development of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2003;188:1241-3.
34. DEKKER G, ROBILLARD PY. The birth interval hypothesis-does it really indicate the end of the primipaternity hypothesis. *J Reprod Immunol* 2003;59:245-51.
35. DEKKER GA, DE VRIES JI, DOELITZSCH PM, et al. Underlying disorders associated with severe early-onset preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1995;173:1042-8.

36. BRANCH DW, ANDRES R, DIGRE KB, ROTE NS, SCOTT JR. The association of antiphospholipid antibodies with severe preeclampsia. *Obstet Gynecol* 1989;73:541-5.
37. GANZEVOORT W, REP A, DE VRIES JI, BONSEL GJ, WOLF H, PETRA-INVESTIGATORS FT. Relationship between thrombophilic disorders and type of severe early-onset hypertensive disorder of pregnancy. *Hypertens Pregnancy* 2007;26:433-45.
38. YASUDA M, TAKAKUWA K, TOKUNAGA A, TANAKA K. Prospective studies of the association between anticardiolipin antibody and outcome of pregnancy. *Obstet Gynecol* 1995;86:555-9.
39. BRIONES-GARDUNO JC, DIAZ DE LEON-PONCE M, BARRIOS-PRIETO E, SALAZAR-EXAIRE JD. [IgM antiphospholipical antibodies in preeclampsia-eclampsia]. *Cir Cir* 2003;71:449-54.
40. LEE RM, BROWN MA, BRANCH DW, WARD K, SILVER RM. Anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein-I antibodies in preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2003;102:294-300.
41. BRANCH DW, PORTER TF, RITTENHOUSE L, et al. Antiphospholipid antibodies in women at risk for preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2001;184:825-32; discussion 832-4.
42. VALDES-MACHO E, CABIEDES J, VILLA AR, CABRAL AR, ALARCON-SEGOVIA D. Anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein-I antibodies in hypertensive disorders of pregnancy. *Arch Med Res* 2002;33:460-5.
43. VON TEMPELHOFF GF, HEILMANN L, SPANUTH E, KUNZMANN E, HOMMEL G. Incidence of the factor V Leiden-mutation, coagulation inhibitor deficiency, and elevated antiphospholipid-antibodies in patients with preeclampsia or HELLP-syndrome. Hemolysis, elevated liver-enzymes, low platelets. *Thromb Res* 2000;100:363-5.
44. HEILMANN L, SCHNEIDER DM, VON TEMPELHOFF GF, KUSE S. Antiphospholipid-antibodies and other thrombophilic defects in patients with a history of early onset severe preeclampsia or HELLP-syndrome. *Geburtshilfe Und Frauenheilkunde* 2000;60:95-100.
45. DREYFUS M, HEDELIN G, KUTNAHORSKY R, et al. Antiphospholipid antibodies and preeclampsia: a case-control study. *Obstet Gynecol* 2001;97:29-34.
46. NESTOROWICZ B, OSTANEK L, RONIN-WALKNOWSKA E, et al. [Antiphospholipid antibodies in high-risk pregnancy]. *Ginekol Pol* 2000;71:500-8.
47. MARTINEZ-ABUNDIS E, GONZALEZ-ORTIZ M, CORTES-LLAMAS V, SALAZAR-PARAMO M. Anticardiolipin antibodies and the severity of preeclampsia-eclampsia. *Gynecol Obstet Invest* 1999;48:168-71.
48. FIALOVA L, KALOUSOVA M, SOUKUPOVA J, et al. Markers of inflammation in preeclampsia. *Prague Med Rep* 2004;105:301-10.
49. KURKI T, AILUS K, PALOSUO T, YLIKORKALA O. Antibodies to oxidized low-density lipoprotein, cardiolipin, and phosphatidyl serine fail, to predict the risk of preeclampsia. *Hypertension in Pregnancy* 1996;15:251-256.
50. TAYLOR PV, SKERROW SM, REDMAN CW. Pre-eclampsia and anti-phospholipid antibody. *Br J Obstet Gynaecol* 1991;98:604-6.
51. D'ANNA R, SCILIPOTI A, LEONARDI J, SCUDERI M, JASONNI VM, LEONARDI R. Anticardiolipin antibodies in pre-eclampsia and intrauterine growth retardation. *Clin Exp Obstet Gynecol* 1997;24:135-7.
52. ALLEN JY, TAPIA-SANTIAGO C, KUTTEH WH. Antiphospholipid antibodies in patients with preeclampsia. *Am J Reprod Immunol* 1996;36:81-5.

53. FACCHINETTI F, MAROZIO L, FRUSCA T, et al. Maternal thrombophilia and the risk of recurrence of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2009;200:46 e1-5.
54. MELLO G, PARRETI E, MAROZIO L, et al. Thrombophilia is significantly associated with severe preeclampsia: results of a large-scale, case-controlled study. *Hypertension* 2005;46:1270-4.
55. CONDE-AGUDELO A, VILLAR J, LINDHEIMER M. World Health Organization systematic review of screening tests for preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2004;104:1367-91.
56. DUCKITT K, HARRINGTON D. Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review of controlled studies. *Bmj* 2005;330:565.
57. CASTRO AA SH, GUIDUGLI F, CLARK OAC. Curso de revisão sistemática e metanálise [Online]. São Paulo: LED-DIS/UNIFESP; 2002. Disponível em: URL: <http://www.virtual.epm.br/cursos/metanalise>, 2002.
58. EGGER M, SMITH GD, PHILLIPS AN. Meta-analysis: principles and procedures. *Bmj* 1997;315:1533-7.
59. EGGER M, SMITH GD. Meta-Analysis. Potentials and promise. *Bmj* 1997;315:1371-4.
60. HAYNES B. Conducting Systematic Reviews. *Clinical Epidemiology: How to Do Clinical Practice Research*: Lippincott Williams & Wilkins, 2006 (vol 1).
61. MULROW CD. Rationale for systematic reviews. *Bmj* 1994;309:597-9.
62. BOB PHILLIPS CB, DAVE SACKETT, DOUG BADENOCH, SHARON STRAUS, BRIAN HAYNES, MARTIN DAWES. *Levels of Evidence* (March 2009): University of Oxford, 2009.
63. EGGER M, SCHNEIDER M, DAVEY SMITH G. Spurious precision? Meta-analysis of observational studies. *Bmj* 1998;316:140-4.
64. SMITH GD, PHILLIPS AN. Confounding in epidemiological studies: why "independent" effects may not be all they seem. *Bmj* 1992;305:757-9.
65. HORTA BL, BAHL R, MARTINES JC, VICTORA CG. Evidence on the long-term effect of breastfeeding. *Systematic Review and Meta-analyses*. In: Organization WH, ed. *Maternal and Child Health*. Geneva: World Health Organization, 2007.
66. DEEKS JJ AG, BRADBURN MJ. Statistical methods for examining heterogeneity and combining results from several studies in meta-analysis. In: Egger M SG, Altman GD, ed. *Systematic Reviews in Health Care. Meta-analysis in context: BMJ books*, 2001 (vol 1).
67. THOMPSON SG, HIGGINS JP. How should meta-regression analyses be undertaken and interpreted? *Stat Med* 2002;21:1559-73.
68. HIGGINS JP, THOMPSON SG, DEEKS JJ, ALTMAN DG. Measuring inconsistency in meta-analyses. *Bmj* 2003;327:557-60.
69. HIGGINS JP, THOMPSON SG. Quantifying heterogeneity in a meta-analysis. *Stat Med* 2002;21:1539-58.
70. HIGGINS JP. Commentary: Heterogeneity in meta-analysis should be expected and appropriately quantified. *Int J Epidemiol* 2008;37:1158-60.
71. WHITEHEAD A, WHITEHEAD J. A general parametric approach to the meta-analysis of randomized clinical trials. *Stat Med* 1991;10:1665-77.
72. THOMPSON S. Why and how sources of heterogeneity should be investigated. In: Matthias Egger, George Davey Smith, Douglas Altman, eds. *Systematic Reviews in Health Care. Meta-analysis in context*. London: BMJ Books, 2001.
73. DICKERSIN K. The existence of publication bias and risk factors for its occurrence. *Jama* 1990;263:1385-9.

74. EGGER M, DICKERSIN K, SMITH GD. Problems and limitations in conducting systematic reviews. In: Egger M, Smith GD, Altman D, eds. Systematic Reviews in Health Care. Meta-analysis in context. London: BMJ Books, 2001.
75. STERNE JA, EGGER M, SMITH GD. Systematic reviews in health care: Investigating and dealing with publication and other biases in meta-analysis. *Bmj* 2001;323:101-5.
76. STERNE JAC, M.; E, SMITH GD. Investigating and dealing with publication and other biases. In: Egger M, Smith GD, Altman D, eds. Systematic Reviews in Health Care. Meta-analysis in context. London: BMJ Books, 2001.
77. BEGG CB, MAZUMDAR M. Operating characteristics of a rank correlation test for publication bias. *Biometrics* 1994;50:1088-101.
78. EGGER M, DAVEY SMITH G, SCHNEIDER M, MINDER C. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. *Bmj* 1997;315:629-34.

2 ARTIGO EM PORTUGUÊS

ASSOCIAÇÃO ENTRE ANTICORPOS ANTICARDIOLIPINA E PRÉ-ECLÂMPsia: REVISÃO SISTEMÁTICA E METANÁLISE

Association of anticardiolipin antibodies with preeclampsia: systematic review and metanalysis

Aline Defaveri do Prado, Bernardo Lessa Horta, Deise Marcela Piovesan,
Henrique Luiz Staub

Serviço de Reumatologia do Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Centro de Pesquisas Epidemiológicas da Universidade Federal de Pelotas

*Endereço para correspondência:
Aline Defaveri do Prado
Serviço de Reumatologia
Hospital São Lucas da PUCRS
Av. Ipiranga 6690, sala 220
CEP 90610-000 – Porto Alegre – Brasil
e-mail: adprado@gmail.com*

Resumo

Objetivo: O presente estudo teve por objetivo revisar sistematicamente as evidências da literatura acerca da associação entre anticorpos aCL e PE isolada. **Métodos:** Os autores procederam busca computadorizada nos bancos de dados *PUBMED* e *LILACS* até junho de 2009, busca por citações dos artigos selecionados através da base de dados *ISI Web of Science*, revisão de livros-texto especializados, revisão da lista de referências dos artigos e contato com autores especializados em síndrome antifosfolípida. Foram incluídos estudos que apresentassem delineamento caso-controle, coorte ou transversal controlado; grupo-controle de gestantes saudáveis; casos e controles sem doença autoimune concomitante; dosagem de anticorpos aCL por ensaio imunoenzimático com ponto de corte ≥ 20 unidades para IgG e/ou IgM (níveis moderados ou altos); desfecho pré-eclâmpsia sem restrição de definição e gravidade; dados suficientes para cálculo de risco relativo ou odds ratio (OR). **Resultados:** Foram identificados 68528 publicações e 64 artigos foram selecionados para a análise final. Doze estudos foram incluídos na metanálise. O *pooled* OR para a associação entre anticorpos aCL e PE foi de 2,86 (IC95% 1,37-5,98). Houve forte associação entre anticorpos aCL e PE grave (*pooled* OR 11,15 IC95% 2,66-46,75) com evidência de moderada heterogeneidade (I^2 70,2%). O *funnel plot* identificou um discreto viés de publicação, com a falta de estudos negativos com tamanho amostral pequeno; no entanto o teste de Egger foi não significativo ($P = 0,359$). Entre estudos com tamanho amostral inferior a 200 pacientes, o *pooled* OR foi 1,99 (IC 95% 0,58-6,82). Entre estudos com 201 ou mais pacientes, o *pooled* OR foi 3,86 (IC95% 1,36-10,93). A metarregressão identificou as variáveis delineamento e tamanho do estudo como associadas à heterogeneidade; a proporção da variância entre os estudos explicada por essas variáveis foi de 59,83% e 38,83%, respectivamente. Entre as coortes, houve associação mais significativa entre anticorpos aCL e PE (*pooled* OR 10,18 IC95% 2,42-42,80), com baixa heterogeneidade (I^2 39,9% e teste Q não significativo), do que nos estudos de caso-controle (*pooled* OR 1,68 (IC95% 0,92-3,08), também com baixa heterogeneidade (I^2 44% e teste Q não significativo). **Conclusão:** os dados desta revisão sistemática com metanálise indicam que níveis moderados ou altos de anticorpos aCL se associam com a ocorrência de PE isolada.

Palavras chave: anticorpos anticardiolipina, pré-eclâmpsia, metanálise

INTRODUÇÃO

A síndrome antifosfolipídica (SAF), descrita na década de 80 ¹, é uma diátese trombótica típica do adulto jovem. Caracteriza-se por eventos tromboembólicos arteriais e venosos associados a anticorpos antifosfolípides (AAF) “clássicos”, nomeadamente anticorpos anticardiolipina (aCL), anti-beta2-glicoproteína I e anticoagulante lúpico ². A pré-eclâmpsia (PE) compreende uma das morbidades gestacionais vistas na SAF ². Os fenômenos isquêmicos observados na SAF, incluindo trombose placentária, são atribuídos à ação dos AAF; os mecanismos intrínsecos que desencadeiam esta trombofilia auto-imune ainda não são claros, entretanto ^{3, 4}. Sabe-se que aproximadamente 50% das gestantes com diagnóstico de SAF desenvolvem PE ⁵.

Os AAF são um grupo heterogêneo e complexo de autoanticorpos. Os alvos são fosfolípidos (cardiolipina, fosfatidilserina, fosfatidilinositol) ou cofatores fosfolipídicos (beta2-glicoproteína I) da cascata da coagulação e de membranas celulares, principalmente as de plaquetas e células endoteliais ⁶. Embora o ensaio imunoenzimático para detecção de anticorpos IgG e IgM aCL esteja padronizado desde 1987 ⁷, nem todos os estudos obedecem estas orientações metodológicas. No intuito de se evitar heterogeneidade na detecção de autoanticorpos aCL, atualmente se recomenda a expressão dos resultados em unidades GPL ou MPL ⁸⁻¹⁰.

A pré-eclâmpsia (PE) é uma das principais causas de morbimortalidade materno-fetal, e sua prevalência aproximada é de 8% do total de gestações. Nos Estados Unidos, é responsável por 16,1% de todos os óbitos maternos, enquanto na América Latina é responsável por 25,7% dos casos ¹¹. Sendo uma afecção freqüente e grave, esforços têm

vido efetuados para identificar testes laboratoriais ou de imagem que sirvam como rastreamento para PE.

A classificação da doença hipertensiva da gestação não é matéria de aceitação uniforme. Diversas tentativas de consensos visando estabelecer a diferenciação entre hipertensão crônica, hipertensão gestacional, PE/eclâmpsia e PE sobreposta à hipertensão crônica foram publicadas ¹²⁻¹⁷. Estes dados foram recentemente agrupados por Comparsi et al ¹⁸.

Nas últimas duas décadas, o papel dos autoanticorpos aCL como fatores de risco para PE isolada foi averiguado em diversos estudos, principalmente coortes e de caso-controle ¹⁹⁻³⁸. Uma eventual associação entre positividade para anticorpos aCL e ocorrência de PE isolada permanece controversa. O presente estudo teve por objetivo revisar sistematicamente as evidências sobre a associação entre anticorpos aCL e PE isolada.

MATERIAL E MÉTODOS

Estratégias de Busca

As seguintes estratégias de busca de artigos foram utilizadas na revisão sistemática da literatura: busca computadorizada nos banco de dados *PUBMED* e *LILACS*, busca por citações dos artigos selecionados na base de dados *ISI Web of Science*, revisão de livros-texto especializados, revisão da lista de referências dos artigos, contato com autores e especialistas em SAF (anexo1). Detalhes de cada estratégia de busca serão explicitados a seguir e no fluxograma de busca de artigos (anexo 2).

A busca de artigos foi realizada nas bases de dados *PUBMED* e *LILACS*, para artigos publicados até junho de 2009, utilizando os seguintes unitermos (1) *antiphospholipid syndrome*, (2) *Hughes' syndrome*, (3) *anticardiolipin antibodies*, (4) *antiphospholipid antibodies*, (5) *anti-cardiolipin*, (6) *preeclampsia*, (7) *pre-eclampsia*.

Inicialmente, os resumos foram revisados pela primeira autora (do Prado, AD) e selecionados para leitura do texto completo se preenchessem os seguintes critérios: delineamento de coorte, caso-controle ou transversal controlado; grupo-controle com gestantes saudáveis; casos e controles sem diagnóstico de doença autoimune sistêmica concomitante; dosagem de anticorpos aCL IgG e/ou IgM através do método ELISA com ponto de corte ≥ 20 unidades GPL ou MPL²; desfecho PE sem restrição de definição ou estratificação de gravidade. Informações acerca de definição e de classificação da gravidade de PE foram coletadas de cada artigo, quando presentes. Caso a leitura do resumo não fornecesse dados suficientes para a aplicação dos critérios acima, a referência era selecionada para leitura do texto completo. Os motivos de não-

seleção dos artigos, além do preenchimento dos critérios de inclusão, foram: temas não-relacionados ao binômio anticorpos aCL-PE; artigos de revisões narrativas ou diretrizes; relatos de caso ou séries de casos; experimentos em pesquisa básica. Após o término da busca de todos os unitermos nas bases de dados, procedeu-se à pesquisa de citações na base de dados *ISI Web of Knowledge* para todos os artigos identificados inicialmente, inclusive os artigos de revisões e diretrizes. Finalmente, quarenta autoridades na área de SAF foram contatados via email e solicitados a informar sobre estudos relevantes não-publicados e em andamento (anexo 1).

A seguir, o texto completo das publicações selecionadas ao final da busca foi revisado de maneira independente por duas autoras (do Prado AD e Piovesan DM), e incluídos na metanálise se continuassem a preencher os critérios descritos previamente. Divergências foram resolvidas em consenso e discussão com terceiro e quarto autores (Horta BL e Staub HL). Os autores dos artigos foram contatados por *email* para esclarecimentos no caso de falta de informações.

Extração dos Dados

A extração dos dados dos artigos foi feita através de um protocolo previamente definido por três autores (do Prado AD, Staub HL e Horta BL). Os dados extraídos de cada estudo foram: revista, nome do primeiro autor, ano de publicação, nível de qualidade, tipo de delineamento, definição de PE utilizada, gravidade de PE dos pacientes e controles, momento de dosagem dos anticorpos aCL em relação ao diagnóstico de PE, número de pacientes com diagnóstico de PE, número de pacientes sem diagnóstico de PE, número de pacientes com anticorpos aCL positivos e com PE, número de pacientes sem anticorpos aCL e com PE, número de pacientes com

anticorpos aCL e sem PE, número de pacientes sem anticorpos aCL e sem PE, *odds ratio* (OR) ou risco relativo e intervalo de confiança 95% (IC95%). Os autores dos estudos incluídos na metanálise foram contatados por *email* no caso de ausência ou impossibilidade de obtenção de alguma das informações acima a partir dos dados informados na publicação.

Os dados dos artigos incluídos na metanálise foram extraídos de maneira independente por duas autoras (do Prado AD e Piovesan DM), criando-se um banco de dados. O banco de dados foi revisado pela primeira autora (do Prado AD). Discrepâncias foram resolvidas pelo terceiro autor (Horta BL).

A avaliação da qualidade dos artigos foi realizada pelas autoras do Prado AD e Piovesan DM através da aplicação de critérios definidos *a priori* a partir da modificação dos critérios de Downs and Black³⁹ (anexo 3). Foram utilizados 16 dos 26 itens originais; os 10 itens que não foram utilizados referiam-se exclusivamente à metodologia de ensaios clínicos randomizados, e não eram aplicáveis aos estudos observacionais. O escore de qualidade obtido em cada estudo equivale à soma da pontuação de cada item que compõe o instrumento. Divergências na avaliação foram resolvidas pelo terceiro autor (Horta BL).

Análise dos Dados

A análise dos dados foi feita no programa STATA 11.0 (Stata Corp, College Station Tex).

A estimativa de efeito conjunta (*pooled effect estimate*) foi o *odds ratio* (*pooled OR*) para a associação entre anticorpos aCL e PE. A interpretação dos valores de OR se

fundamentou na escala de Hopkins, onde um OR de 1-15 foi considerado trivial; entre 1,5-3,5 como discreto; entre 3,5-9 como moderado; e acima de 9 como elevado ⁴⁰.

O teste Q foi utilizado para avaliar a heterogeneidade entre os estudos primários ⁴¹, e um valor de $P < 0.05$ foi usado para definir a existência de heterogeneidade. Na existência de heterogeneidade, se utilizou o modelo de efeito randômico de DerSimonian e Laird ⁴² para cálculo do *pooled* OR e IC 95%.

A avaliação do viés de publicação foi feita através do *funnel plot* e do teste de Egger ⁴³. Ainda, foi realizada a estratificação da análise de acordo com o tamanho do estudo (estudos com número total de pacientes até 200 e estudos com número total de pacientes acima de 201) a fim de avaliar o possível impacto de viés de publicação na estimativa conjunta de efeito (*pooled* OR).

A análise de metarregressão (comando METAREG no programa STATA) foi utilizada para avaliar a associação entre o *pooled* OR e as variáveis individuais dos estudos primários, como também para avaliar a contribuição de diferentes aspectos dos estudos para a heterogeneidade ⁴⁴. As variáveis individuais dos estudos primários incluídas na metarregressão foram: delineamento, qualidade e tamanho do estudo. Não foi possível utilizar a variável definição de PE, pois alguns estudos utilizavam mais de uma definição e outros não informavam a definição utilizada.

RESULTADOS

Após a leitura do texto completo de 57 artigos identificados na base de dados PUBMED e de sete artigos na base de dados LILACS, 12 estudos foram incluídos na metanálise^{20, 22, 24, 29, 36-38, 45-49}. Foram excluídos 52 artigos. Quarenta e cinco foram excluídos^{19, 21, 23, 25-28, 30, 32, 33, 50-83} pelos seguintes motivos: impossibilidade de cálculo da medida de associação (10 estudos); desfecho outro que não pré-eclâmpsia (nove estudos); valores de anticorpos aCL com ponto de corte inferior a 20 unidades ou dosado através de método outro que não ELISA (30 estudos); ausência de grupo-controle gestação saudável (nove estudos); e delineamento outro que não caso-controle, coorte ou transversal controlado (três estudos). Alguns artigos apresentaram mais de um motivo para exclusão e, por isso, a soma é superior a 45. Cinco artigos demonstraram resultados nulos, ou seja, ausência de aCL positivas (acima de 20 GPL ou MPL) nos grupos com e sem PE^{31, 34, 35, 84, 85}. Portanto, não foram incluídos na metanálise. Dois artigos não foram encontrados para análise do texto completo^{86, 87}.

As características dos estudos incluídos na metanálise estão descritas na tabela 1. Observa-se que oito estudos são de delineamento caso-controle e quatro são coortes. O tamanho da amostra variou de 50 (Bowen, 2002⁴⁶) a 1210 pacientes (Harris, 1991⁴⁷). O menor escore de qualidade foi 10 (Bowen, 2002⁴⁶) e o maior foi 17 (Mello, 2005³⁸).

Os valores para pressão arterial e proteinúria na definição de PE, bem como a classificação da gravidade da PE extraídos dos estudos primários estão sumarizados na tabela 2. A diretriz do Colégio Americano de Obstetrícia e Ginecologia de 2002¹² foi a mais utilizada para definir PE, sendo citada em seis estudos.

O gráfico 1 apresenta os resultados dos estudos com os seus intervalos de confiança. É possível observar que houve heterogeneidade entre os estudos. Nove estudos demonstraram que a presença de anticorpos aCL aumentava a chance de desenvolvimento de PE. Quatro estudos relataram associações estatisticamente significativas e cinco, estatisticamente não-significativas. Três estudos documentaram um pequeno e não-significativo efeito protetor dos anticorpos aCL. O *pooled OR*, usando o modelo de efeito randômico de DerSimonian e Laird ⁴², para a associação entre anticorpos aCL e PE entre todos os estudos foi de 2,86 (IC 95% 1,37-5,98).

Os estudos de Mello ³⁸, Lee ²⁴ e Yasuda ²² estratificaram os casos de PE em leve e grave e forneceram dados para cálculo da medida de associação entre anticorpos aCL e PE para ambas as gravidades. As publicações de Branch ²⁰ e Kupfermirc ⁴⁸ incluíram apenas casos de PE grave. Os demais estudos ^{29, 36, 37, 45-47, 49} incluíram casos de PE de qualquer gravidade (leve ou grave) ou a gravidade não foi informada no texto. Entre os estudos que avaliaram apenas casos de PE leve, não se identificou associação entre anticorpos aCL e PE (gráfico 2). Por outro lado, entre os estudos que avaliaram apenas casos de PE grave, demonstrou-se forte associação entre anticorpos aCL e PE (gráfico 3).

O gráfico 4 apresenta o *funnel plot* para todos os estudos e é possível observar distribuição levemente assimétrica, dada à baixa quantidade de estudos pequenos com resultados negativos para a associação avaliada. Gráficamente, essa assimetria aponta para um discreto viés de publicação, onde estudos de tamanho amostral pequeno com achados negativos para a associação entre anticorpos aCL e PE provavelmente não tenham sido publicados. No entanto, o teste de Egger foi não-significativo ($P = 0,359$) na identificação estatística de viés de publicação. Conforme demonstrado na tabela 3, observa-se que, ao analisar o subgrupo de estudos com tamanho amostral pequeno (200

pacientes ou menos), não houve associação estatisticamente significativa (OR 1,99 IC95% 0,58-6,82). Entre os estudos de tamanho amostral maior (201 ou mais pacientes), houve importante associação entre anticorpos aCL e PE e o valor do OR foi maior em relação aos estudos pequenos (OR 3,86 IC95% 1,32-10,93).

A tabela 4 apresenta os resultados da análise de metarregressão. As variáveis metodológicas delineamento, qualidade e tamanho do estudo foram avaliadas como possíveis características relacionadas com a heterogeneidade entre os estudos. A estimativa de variância entre os estudos (τ^2) diminuiu de 1,295 (todos os estudos) para 0,520 quando a variável delineamento foi incluída no modelo, ou seja, 59,8% da heterogeneidade entre os estudos é decorrente de diferenças nos delineamentos utilizados. A variável qualidade, por outro lado, não se mostrou importante em explicar a heterogeneidade. A variável tamanho do estudo reduziu a estimativa de variância entre os estudos (τ^2) para 0,792, provavelmente explicando 38,83% da heterogeneidade.

A tabela 5 mostra a metanálise para o subgrupo de oito estudos com delineamento caso-controle. Quatro estudos evidenciaram associação positiva, porém não estatisticamente significativa; dois estudos mostraram associação estatisticamente significativa e dois estudos evidenciaram associação protetora, mas não significativa. O *pooled* OR e IC 95% neste subgrupo mostrou associação entre anticorpos aCL e PE mais fraca e não estatisticamente significativa em relação às coortes. Observou-se, ainda, heterogeneidade, embora neste subgrupo seja considerada baixa e sem significância pelo teste Q.

A tabela 6 mostra a metanálise para o subgrupo de quatro estudos com delineamento coorte. Um estudo evidenciou discreta associação protetora e não significativa. Três estudos evidenciaram associação positiva, mas somente dois foram

estatisticamente significativos. Observou-se associação mais relevante de anticorpos aCL e PE em relação aos estudos de caso-controle. Houve heterogeneidade baixa pelo teste I^2 , sendo não significativo no teste Q.

DISCUSSÃO

Esta revisão sistemática incluiu um grande número de entradas nas bases de dados no seu início (68528 resumos), foi finalizada com apenas 64 artigos para análise do texto completo e com um número ainda menor – 12 estudos – na metanálise. A pequena quantidade final de estudos, também observada em metanálise sobre o tema anticorpos aCL e risco de abortamentos ⁸⁸, é provavelmente explicada pelas poucas décadas de conhecimento sobre SAF e os AAF, bem como a menor prevalência de SAF em relação a outras afecções autoimunes. Nota-se que metanálises de estudos observacionais que versam sobre outros temas envolvem número maior de estudos finais. Tal foi visto, como exemplo, na metanálise sobre prevalência do déficit de atenção e hiperatividade, que incluiu 102 estudos primários ⁸⁹.

Percebemos que houve um número substancial de estudos nulos, ou seja, com ausência de anticorpos aCL em gestantes com PE e em gestantes saudáveis ^{31, 34, 35, 84, 85} e que, por esse motivo, não foram incluídos na metanálise. Estes estudos envolveram pequeno tamanho amostral, variando de 20 a 52 pacientes por grupo. O achado é provavelmente decorrente das baixas incidências de pré-eclampsia e de anticorpos aCL nas populações envolvidas nesses estudos .

Apesar das recomendações internacionais para dosagem de anticorpos aCL por ELISA e veiculação de resultados em unidades GPL ou MPL ^{9, 10, 90}, este foi o motivo mais frequente de exclusão dos artigos. A grande variabilidade nas técnicas de dosagem dos autoanticorpos aCL, nas unidades de que expressam resultados e no ponto de corte para teste positivo impediu a inclusão de 30 estudos na metanálise. Somente estudos que reportassem níveis no mínimo moderados de anticorpos aCL foram considerados

em nossa análise. Assim, foi possível evitar que estudos com níveis baixos desses autoanticorpos, sabidamente frequentes e sem significado clínico ², fossem incluídos na metanálise.

A avaliação da qualidade dos estudos é um passo essencial na revisão sistemática. No entanto, não há consenso sobre qual o instrumento de melhor aplicabilidade, além de não haver métodos de avaliação específicos para estudos observacionais ⁹¹. Também não há consenso se a avaliação de qualidade deve ser baseada no valor do escore total para cada estudo, ou se os escores obtidos em cada item devem ser considerados ⁹¹. No presente estudo, essa avaliação foi efetuada através de um instrumento não-validado, criado pelos autores a partir dos critérios de Downs and Black ³⁹ para atender às necessidades específicas desta revisão.

A grande variabilidade nas definições de PE usadas nos estudos primários reflete a falta de padronização da classificação e dos critérios diagnósticos dos distúrbios hipertensivos da gravidez. Como já constatado por outros autores ¹⁸, o uso de definições distintas de PE torna possível que diferentes grupos de pesquisa estejam avaliando pacientes com manifestações distintas desta síndrome ⁹².

Não há na literatura outra revisão sistemática exclusiva sobre o tema anticorpos aCL e PE. Uma revisão sistemática sobre testes de rastreamento para PE na população geral incluiu a pesquisa de anticorpos aCL ⁹³ e concluiu que não havia testes adequados até 2004, sendo necessário o desenvolvimento de estudos longitudinais. Outra revisão sistemática avaliou diversas variáveis maternas de risco para o deflagramento de PE, incluindo a pesquisa de anticorpos aCL e do anticoagulante lúpico ⁹⁴. Foram selecionados cinco estudos e a metanálise de duas coortes revelou risco relativo de 9,73 (IC95% 4,34-21,75) para anticorpos aCL. Todavia, tais revisões não foram organizadas

de modo específico para estes autoanticorpos. Portanto, não há menção sobre o ponto de corte para positividade dos anticorpos, bem como sobre métodos laboratoriais utilizados na sua detecção nos estudos primários, aspectos estes essenciais na interpretação do teste ².

Esta revisão sistemática e metanálise de estudos observacionais documentou associação entre presença de anticorpos aCL e PE em mulheres sem doenças autoimunes. O *pooled* OR indicou que a presença de anticorpos aCL aumentou a chance de PE em 2,86 (IC 95% 1.37-5.98) vezes. Entre os estudos que avaliaram apenas o risco de PE leve, não se observou essa associação, apontando para a existência de uma relação de dose-resposta e reforçando a possibilidade de que esta associação seja causal.

No que diz respeito ao viés de publicação, o *funnel plot* mostrou que os estudos com pequeno tamanho amostral e resultado negativo tiveram menor probabilidade de ser publicados. O dado sugere um discreto viés de publicação. Por outro lado, o teste de Egger não foi estatisticamente significativo, indicando que a possibilidade de existência deste viés é baixa. Além disso, ao se estratificar a análise pelo tamanho dos estudos, nota-se que o *pooled* OR se mantém estatisticamente significativo para estudos com mais de 201 pacientes. Como entre os estudos com maior tamanho amostral – menos suscetíveis ao viés de publicação – a associação entre anticorpos aCL e PE foi mantida, no caso de haver esse viés, ele não pode ser considerado como responsável pela associação (*pooled* OR) observada nesta metanálise. A ausência de associação vista entre os estudos com 200 pacientes ou menos aponta para a necessidade de grandes tamanhos amostrais ao se pesquisar o tema.

A análise de metarregressão mostrou que o delineamento é responsável por uma parcela importante da heterogeneidade entre os estudos. A razão de *odds* (RO)

combinada foi significativamente maior entre os estudos de coorte (RO 10,18 IC 95% 2,42; 42,80) do que entre os estudos de caso-controle. Esta diferença pode ser decorrente da menor suscetibilidade dos estudos de coorte para viés de informação, que tende a subestimar as medidas de efeito. O ponto negativo dos delineamentos de coorte é a necessidade de manter o acompanhamento de maior número de gestantes por determinado período de tempo, até o surgimento do desfecho em estudo. Tendo em vista a baixa incidência de anticorpos aCL em níveis moderados ou altos na população geral, a avaliação desta associação em uma coorte de gestantes necessitaria de um grande tamanho amostral. Isto poderia ser contornado, se fossem estudadas populações com maior risco de desenvolver PE, especialmente forma grave, como por exemplo, pacientes com história de PE, obesidade, gestação gemelar, e outros fatores de risco tradicionais para síndromes hipertensivas gestacionais^{95,96}.

Considerando o pequeno número de estudos finais desta revisão, bem como o pequeno tamanho amostral e restrito número de pacientes aCL-positivos nos estudos primários, os dados aqui relatados devem ser interpretados com cautela. Ainda, a contextualização dos resultados desta revisão se atrela às limitações das metanálises de estudos observacionais.

CONCLUSÃO

Esta revisão sistemática com metanálise de estudos observacionais demonstrou associação entre presença de níveis moderados ou altos de anticorpos aCL e PE em gestantes sem doenças autoimunes. Essa associação pareceu ser mais robusta quando consideramos particularmente os estudos de coorte, tanto na magnitude da medida de associação, quanto na menor heterogeneidade da metanálise. Não houve evidência estatística de presença de viés de publicação neste estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. HUGHES GR, HARRIS NN, GHARAVI AE. The anticardiolipin syndrome. *J Rheumatol* 1986;13:486-9.
2. MIYAKIS S, LOCKSHIN MD, ATSUMI T, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost* 2006;4:295-306.
3. MATSUURA E, IGARASHI Y, FUJIMOTO M, ICHIKAWA K, KOIKE T. Anticardiolipin cofactor(s) and differential diagnosis of autoimmune disease. *Lancet* 1990;336:177-8.
4. MCNEIL HP, SIMPSON RJ, CHESTERMAN CN, KRILIS SA. Anti-phospholipid antibodies are directed against a complex antigen that includes a lipid-binding inhibitor of coagulation: beta 2-glycoprotein I (apolipoprotein H). *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990;87:4120-4.
5. BRANCH DW, SILVER RM, BLACKWELL JL, READING JC, SCOTT JR. Outcome of treated pregnancies in women with antiphospholipid syndrome: an update of the Utah experience. *Obstet Gynecol* 1992;80:614-20.
6. LOVE PE SA. Antiphospholipid antibodies: anticardiolipin and the lupus anticoagulant in systemic lupus erythematosus (SLE) and in non-SLE disorders. *Ann Intern Med* 1990;112:682-98.
7. GHARAVI AE, HARRIS EN, ASHERSON RA, HUGHES GR. Anticardiolipin antibodies: isotype distribution and phospholipid specificity. *Ann Rheum Dis* 1987;46:1-6.
8. TINCANI A, ALLEGRI F, SANMARCO M, et al. Anticardiolipin antibody assay: a methodological analysis for a better consensus in routine determinations--a cooperative project of the European Antiphospholipid Forum. *Thromb Haemost* 2001;86:575-83.
9. E. N. HARRIS MLB, C. G. MACKWORTH-YOUNG, A. E. GHARAVI, B. M. PATEL, S. LOIZOU, G. R. V. HUGHES. Anticardiolipin antibodies: detection by radioimmunoassay and association with thrombosis in systemic lupus erythematosus. *Lancet* 1983;322:1211-4
10. HARRIS EN, HUGHES GR. Standardising the anti-cardiolipin antibody test. *Lancet* 1987;1:277.
11. KHAN KS, WOJDYLA D, SAY L, GULMEZOGLU AM, VAN LOOK PF. WHO analysis of causes of maternal death: a systematic review. *Lancet* 2006;367:1066-74.
12. ACOG practice bulletin. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. Number 33, January 2002. *Obstet Gynecol* 2002;99:159-67.
13. HELEWA ME, BURROWS RF, SMITH J, WILLIAMS K, BRAIN P, RABKIN SW. Report of the Canadian Hypertension Society Consensus Conference: 1. Definitions, evaluation and classification of hypertensive disorders in pregnancy. *Cmaj* 1997;157:715-25.
14. Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:S1-S22.

15. BROWN MA, HAGUE WM, HIGGINS J, et al. The detection, investigation and management of hypertension in pregnancy: full consensus statement. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2000;40:139-55.
16. DAVEY DA, MACGILLIVRAY I. The classification and definition of the hypertensive disorders of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1988;158:892-8.
17. AKINKUGBE A GN, KINKAID-SMITH P ET AL. The hipertensive disorders of pregnancy; Report of a WHO Study Group. World Health Organization 1987.
18. COMPARSI AB PdCB, POLI DE FIGUEIREDO CE, PAULA LG. Pré-eclâmpsia: diagnóstico e tratamento. *ACTA Médica* 2001;22:293-309.
19. DEKKER GA, DE VRIES JI, DOELITZSCH PM, et al. Underlying disorders associated with severe early-onset preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1995;173:1042-8.
20. BRANCH DW, ANDRES R, DIGRE KB, ROTE NS, SCOTT JR. The association of antiphospholipid antibodies with severe preeclampsia. *Obstet Gynecol* 1989;73:541-5.
21. GANZEVOORT W, REP A, DE VRIES JI, BONSEL GJ, WOLF H, PETRA-INVESTIGATORS FT. Relationship between thrombophilic disorders and type of severe early-onset hypertensive disorder of pregnancy. *Hypertens Pregnancy* 2007;26:433-45.
22. YASUDA M, TAKAKUWA K, TOKUNAGA A, TANAKA K. Prospective studies of the association between anticardiolipin antibody and outcome of pregnancy. *Obstet Gynecol* 1995;86:555-9.
23. BRIONES-GARDUNO JC, DIAZ DE LEON-PONCE M, BARRIOS-PRIETO E, SALAZAR-EXAIRE JD. [IgM antiphospholipical antibodies in preeclampsia-eclampsia]. *Cir Cir* 2003;71:449-54.
24. LEE RM, BROWN MA, BRANCH DW, WARD K, SILVER RM. Anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein-I antibodies in preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2003;102:294-300.
25. BRANCH DW, PORTER TF, RITTENHOUSE L, et al. Antiphospholipid antibodies in women at risk for preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2001;184:825-32; discussion 832-4.
26. VALDES-MACHO E, CABIEDES J, VILLA AR, CABRAL AR, ALARCON-SEGOVIA D. Anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein-I antibodies in hypertensive disorders of pregnancy. *Arch Med Res* 2002;33:460-5.
27. VON TEMPELHOFF GF, HEILMANN L, SPANUTH E, KUNZMANN E, HOMMEL G. Incidence of the factor V Leiden-mutation, coagulation inhibitor deficiency, and elevated antiphospholipid-antibodies in patients with preeclampsia or HELLP-syndrome. Hemolysis, elevated liver-enzymes, low platelets. *Thromb Res* 2000;100:363-5.
28. HEILMANN L, SCHNEIDER DM, VON TEMPELHOFF GF, KUSE S. Antiphospholipid-antibodies and other thrombophilic defects in patients with a history of early onset severe preeclampsia or HELLP-syndrome. *Geburtshilfe Und Frauenheilkunde* 2000;60:95-100.
29. DREYFUS M, HEDELIN G, KUTNAHORSKY R, et al. Antiphospholipid antibodies and preeclampsia: a case-control study. *Obstet Gynecol* 2001;97:29-34.
30. NESTOROWICZ B, OSTANEK L, RONIN-WALKNOWSKA E, et al. [Antiphospholipid antibodies in high-risk pregnancy]. *Ginekol Pol* 2000;71:500-8.
31. MARTINEZ-ABUNDIS E, GONZALEZ-ORTIZ M, CORTES-LLAMAS V, SALAZAR-PARAMO M. Anticardiolipin antibodies and the severity of preeclampsia-eclampsia. *Gynecol Obstet Invest* 1999;48:168-71.

32. FIALOVA L, KALOUSOVA M, SOUKUPOVA J, et al. Markers of inflammation in preeclampsia. *Prague Med Rep* 2004;105:301-10.
33. KURKI T, AILUS K, PALOSUO T, YLIKORKALA O. Antibodies to oxidized low-density lipoprotein, cardiolipin, and phosphatidyl serine fail, to predict the risk of preeclampsia. *Hypertension in Pregnancy* 1996;15:251-256.
34. TAYLOR PV, SKERROW SM, REDMAN CW. Pre-eclampsia and anti-phospholipid antibody. *Br J Obstet Gynaecol* 1991;98:604-6.
35. D'ANNA R, SCILIPOTI A, LEONARDI J, SCUDERI M, JASONNI VM, LEONARDI R. Anticardiolipin antibodies in pre-eclampsia and intrauterine growth retardation. *Clin Exp Obstet Gynecol* 1997;24:135-7.
36. ALLEN JY, TAPIA-SANTIAGO C, KUTTEH WH. Antiphospholipid antibodies in patients with preeclampsia. *Am J Reprod Immunol* 1996;36:81-5.
37. FACCHINETTI F, MAROZIO L, FRUSCA T, et al. Maternal thrombophilia and the risk of recurrence of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2009;200:46 e1-5.
38. MELLO G, PARRETTI E, MAROZIO L, et al. Thrombophilia is significantly associated with severe preeclampsia: results of a large-scale, case-controlled study. *Hypertension* 2005;46:1270-4.
39. DOWNS SH BN. The feasibility of creating a checklist for the assessment of the methodological quality both of randomized and non-randomized studies of health care interventions. *J Epidemiol Community Health* 1998;52:377-384.
40. HOPKINS WG. *A new view of statistics.* (vol 2002).
41. NORMAND S. Meta-analysis: formulating, evaluating, combining, and reporting. *Statistics in Medicine* 1999;18:321-59.
42. DERSIMONIAN R LN. Meta-analysis in clinical trials. *Controlled Clinical Trials* 1986;7:177-88.
43. EGGER M, DAVEY SMITH G, SCHNEIDER M, MINDER C. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. *Bmj* 1997;315:629-34.
44. THOMPSON SG, HIGGINS JP. How should meta-regression analyses be undertaken and interpreted? *Stat Med* 2002;21:1559-73.
45. FADEN D, TINCANI A, TANZI P, et al. Anti-beta 2 glycoprotein I antibodies in a general obstetric population: preliminary results on the prevalence and correlation with pregnancy outcome. Anti-beta2 glycoprotein I antibodies are associated with some obstetrical complications, mainly preeclampsia-eclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1997;73:37-42.
46. BOWEN RS, MOODLEY J, DUTTON MF, FICKL H. Antibodies to oxidised low-density lipoproteins and cardiolipin in pre-eclampsia and eclampsia. *J Obstet Gynaecol* 2002;22:123-6.
47. HARRIS EN, SPINNATO JA. Should anticardiolipin tests be performed in otherwise healthy pregnant women? *Am J Obstet Gynecol* 1991;165:1272-7.
48. KUPFERMINE MJ, FAIT G, MANY A, GORDON D, ELDOR A, LESSING JB. Severe preeclampsia and high frequency of genetic thrombophilic mutations. *Obstet Gynecol* 2000;96:45-9.
49. PATTISON NS, CHAMLEY LW, MCKAY EJ, LIGGINS GC, BUTLER WS. Antiphospholipid antibodies in pregnancy: prevalence and clinical associations. *Br J Obstet Gynaecol* 1993;100:909-13.
50. BENDON RW, HAYDEN LE, HURTUBISE PE, et al. Prenatal screening for anticardiolipin antibody. *Am J Perinatol* 1990;7:245-50.
51. ANDELOVA K, SULA K, VELEBIL P. [Importance of anticardiolipin antibody screening in pregnancy]. *Ceska Gynekol* 1998;63:446-9.

52. FIGUEIRO-FILHO EA, OLIVEIRA VM. Association of recurrent abortion, fetal loss and severe pre-eclampsia with hereditary thrombophilias and antiphospholipid antibodies in pregnant women of central Brazil. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia* 2007;29:561-567.
53. GOMEZ JIMENEZ JM, GARCIA HI, GALLEGO JG, GALEANO AQ, RESTREPO CM, AGUIRRE N. Asociacion entre anticardiolipina y anti b2 glicoproteina I con preeclampsia antes de las 35 semanas de gestacion. *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecologia* 2001;52:60-66.
54. BRIONES-GARDUNO JC, AL E. Anticuerpos anticardiolipina en la preeclampsia/eclampsia. *Revista de la Asociacion Mexicana de Medicina Critica y Terapia Intensiva* 1997;11:194-196.
55. ALFIREVIC Z, MOUSA HA, MARTLEW V, BRISCOE L, PEREZ-CASAL M, TOH CH. Postnatal screening for thrombophilia in women with severe pregnancy complications. *Obstet Gynecol* 2001;97:753-9.
56. BARBARINO-MONNIER P, GOBERT B, RIBON AM, SCHWEITZER M, FAURE GC, BENE MC. [Isotypic surveillance of anti-cardiolipin antibodies and high risk pregnancies]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)* 1997;26:164-5.
57. RUEDA MERLANO ML. Anticuerpos antifosfolipideos y su relacion con la hipertension inducida por el embarazo preeclampsiaPostgrado *Ginecologia y Obstetricia*. Santafe de Bogota: Escuela Colombiana de Medicina - Faculta de Medicina, 1995 (vol Grau de Postgrado en Ginecologia y Obstetricia).
58. BIRDSALL M, PATTISON N, CHAMLEY L. Antiphospholipid antibodies in pregnancy. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 1992;32:328-30.
59. EL-ROEIY A, MYERS SA, GLEICHER N. The relationship between autoantibodies and intrauterine growth retardation in hypertensive disorders of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1991;164:1253-61.
60. HOSSAIN N, SHAMSI T, SOOMRO N. Frequency of thrombophilia in patients with adverse pregnancy outcome. *J Pak Med Assoc* 2005;55:245-7.
61. KALELI B, KALELI I, AKTAN E, TURAN C, AKSIT F. Antiphospholipid antibodies in eclamptic women. *Gynecol Obstet Invest* 1998;45:81-4.
62. KARPOV N, BARANOV AA, SHILKINA NP, et al. [Cardiolipin antibodies in pregnancy of high risk]. *Klin Med (Mosk)* 1999;77:19-22.
63. KATANO K, AOKI A, SASA H, OGASAWARA M, MATSUURA E, YAGAMI Y. beta 2-Glycoprotein I-dependent anticardiolipin antibodies as a predictor of adverse pregnancy outcomes in healthy pregnant women. *Hum Reprod* 1996;11:509-12.
64. KOUASSI D, DIAFOUKA F, SAWADOGO GD, et al. [Antiphospholipid antibodies in African women presenting obstetrical complications]. *Ann Biol Clin (Paris)* 2004;62:213-5.
65. KUPFERMINC MJ, ELDOR A, STEINMAN N, et al. Increased frequency of genetic thrombophilia in women with complications of pregnancy. *N Engl J Med* 1999;340:9-13.
66. LYNCH A, BYERS T, EMLLEN W, RYNES D, SHETTERLY SM, HAMMAN RF. Association of antibodies to beta2-glycoprotein 1 with pregnancy loss and pregnancy-induced hypertension: a prospective study in low-risk pregnancy. *Obstet Gynecol* 1999;93:193-8.
67. MATTHIESEN LS, BERG G, ERNERUDH J, SKOGH T. A prospective study on the occurrence of autoantibodies in low-risk pregnancies. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1999;83:21-6.

68. MOODLEY J, BHOOLA V, DUURSMA J, PUDIFIN D, BYRNE S, KENOYER DG. The association of antiphospholipid antibodies with severe early-onset pre-eclampsia. *S Afr Med J* 1995;85:105-7.
69. OGUNYEMI D, KU W, ARKEL Y. The association between inherited thrombophilia, antiphospholipid antibodies and lipoprotein A levels with obstetrical complications in pregnancy. *J Thromb Thrombolysis* 2002;14:157-62.
70. PARRY S, MACONES GA, ROTH NW, DESPERITO TJ, MARZULLO A, MORGAN MA. Antiphospholipid antibodies in chronic hypertension: the value of screening during pregnancy. *Am J Perinatol* 1998;15:527-31.
71. NODLER J, MOOLAMALLA SR, LEDGER EM, NUWAYHID BS, MULLA ZD. Elevated antiphospholipid antibody titers and adverse pregnancy outcomes: analysis of a population-based hospital dataset. *BMC Pregnancy Childbirth* 2009;9:11.
72. QUEYREL V, DUCLOY-BOUTHORS AS, MICHON-PASTUREL U, et al. [Antiphospholipid antibodies in HELLP syndrome: clinical and biological study in 68 women]. *Rev Med Interne* 2003;24:158-64.
73. RAJEWSKI M, SKRZYPCZAK J. [Frequency of antiphospholipid antibodies and factor V (G1691A), prothrombin (G20210A) gene polymorphism among women with pregnancy complications]. *Pol Arch Med Wewn* 2006;115:417-25.
74. RAO AA, ANANTHAKRISHNA NC. Anticardiolipin antibodies in eclampsia. *Int J Gynaecol Obstet* 1992;38:37-40.
75. SCOTT RA. Anti-cardiolipin antibodies and pre-eclampsia. *Br J Obstet Gynaecol* 1987;94:604-5.
76. STUART RA, KORNMAN LH, MCHUGH NJ. A prospective study of pregnancy outcome in women screened at a routine antenatal clinic for anticardiolipin antibodies. *Br J Obstet Gynaecol* 1993;100:599-600.
77. ULCOVA-GALLOVA Z, BOUSE V, KRIZANOVSKA K, BALVIN M, ROKYTA Z, NETRVALOVA L. Beta 2-glycoprotein I is a good indicator of certain adverse pregnancy conditions. *Int J Fertil Womens Med* 2001;46:304-8.
78. UNCU G, OZAN H, KUCUKERDOGAN I, CENGIZ C. Anticardiolipin antibodies in pregnancy induced hypertension. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1996;70:97-100.
79. YAMADA H, ATSUMI T, KOBASHI G, et al. Antiphospholipid antibodies increase the risk of pregnancy-induced hypertension and adverse pregnancy outcomes. *J Reprod Immunol* 2009;79:188-95.
80. YAMAMOTO T, YOSHIMURA S, GESHI Y, et al. Measurement of antiphospholipid antibody by ELISA using purified beta 2-glycoprotein I in preeclampsia. *Clin Exp Immunol* 1993;94:196-200.
81. ZEEMAN GG, ALEXANDER JM, MCINTIRE DD, LEVENO KJ. The significance of antiphospholipid antibodies in pregnant women with chronic hypertension. *Am J Perinatol* 2004;21:275-9.
82. ZENDEJAS CERVANTES LH, ROMERO ROMERO H, LECHUGA MARTIN DEL CAMPO A, et al. [Preeclampsia-eclampsia: a change in utero-placental microcirculation. Immunologic, histologic, and biochemical features]. *Rev Alerg Mex* 2002;49:80-6.
83. RAJAH SB, MOODLEY J, PUDIFIN D, DUURSMA J. Anticardiolipin Antibodies in Hypertensive Emergencies in Pregnancy. *Clinical and Experimental Hypertension Part B-Hypertension in Pregnancy* 1990;9:267-271.

84. BAPTISTA-GONZALEZ HA, ROSENFELD-MANN F, SAAVEDRA-TREJO MR, CASTRO-LOPEZ JL, PENUELA-OLAYA MA. [Changes in the thrombophilic status in patients with pre-eclampsia]. *Ginecol Obstet Mex* 1999;67:176-82.
85. VASQUEZ D SD, DE ZUBIRIA A, HENAO S, MARTINEZ K. Relacion existente entre anticuerpos antifosfolipideos y preeclampsia. *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecologia* 1996;47:181-184.
86. ANDRADE M, ALVARO R, SEKLER E. Anticuerpos fosfolipídeos: frecuencia en preeclampsia y otros estados hipertensivos del embarazo. *Medicina Interna (Caracas)* 1997;13:219-26.
87. DA SILVA MA, MENDEZ MM. Preeclampsia y anticuerpos anticardiolipina. Comisión de Estudios de Postgrado para obtenção do grau de Especialista. Caracas: Universidad Central de Venezuela, 1998 (vol Postgrado).
88. OPATRYN L, DAVID M, KAHN SR, SHRIER I, REY E. Association between antiphospholipid antibodies and recurrent fetal loss in women without autoimmune disease: a metaanalysis. *J Rheumatol* 2006;33:2214-21.
89. POLANCZYK G, DE LIMA MS, HORTA BL, BIEDERMAN J, ROHDE LA. The worldwide prevalence of ADHD: a systematic review and metaregression analysis. *Am J Psychiatry* 2007;164:942-8.
90. PETRI M. Epidemiology of the antiphospholipid antibody syndrome. *J Autoimmun* 2000;15:145-51.
91. JÜNI P, ALTMAN D, EGGER M. Assessing the quality of randomized controlled trials. In: Egger M, Smith GD, Altman D, eds. *Systematic Reviews in Health Care. Metanalysis in context*. London: BMJ Books, 2001.
92. HARLOW FH, BROWN MA. The diversity of diagnoses of preeclampsia. *Hypertens Pregnancy* 2001;20:57-67.
93. CONDE-AGUDELO A, VILLAR J, LINDHEIMER M. World Health Organization systematic review of screening tests for preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2004;104:1367-91.
94. DUCKITT K, HARRINGTON D. Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review of controlled studies. *Bmj* 2005;330:565.
95. SIBAI B, DEKKER G, KUPFERMINC M. Pre-eclampsia. *Lancet* 2005;365:785-99.
96. ODEGARD RA, VATTEN LJ, NILSEN ST, SALVESEN KA, AUSTGULEN R. Risk factors and clinical manifestations of pre-eclampsia. *Bjog* 2000;107:1410-6.
97. PRITCHARD JA, MACDONALD PC, GANT NF. *Williams Obstetrics*. Norwalk, Connecticut: Appleton-Century-Crofts, 1985.
98. ACOG technical bulletin. Hypertension in pregnancy. Number 219--January 1996 (replaces no. 91, February 1986). Committee on Technical Bulletins of the American College of Obstetricians and Gynecologists. *Int J Gynaecol Obstet* 1996;53:175-83.

2.1 ANEXOS

2.1.1 Anexo 1 - Lista de autores e especialistas em síndrome antifosfolípídica contactados por *email*:

S. Krilis
S. Miyakis
Michael Lochshin
T. Atsumi
Ware Branch
Robin L. Brey
Ricard Cervera
R.H.W.M. Derksen
Philip G. de Groot
T. Koike
Pierluigi L. Meroni
G. Reber
Yehuda Shoenfeld
A. Tincani
Michelle Petri
Paul Fortin
Carl Laskin
P.G. Vlachoyiannopoulos
Marie-Claire Boffa
Jane Salmon
Benjamin Brenner
Joab Chapman
Philippe de Moerloose
Doruk Erkan
Thomas Exner
Ricardo R. Forastiero
Monica Galli
E. Nigel Harris
Thomas Lecompte
Steven R. Levine
Gabriella Moroni

Silvia Pierangeli
Jacob H. Rand
Joyce Rauch
Veronique Regnault
Robert A. S. Roubey
Marielle Sanmarco
Yaniv Sherer
Maria Tektonidou
Pierre Youinou

2.1.2 Anexo 2 - Fluxograma da busca de estudos

Passo 1: Abstracts revisados por 1 autor (do Prado AD) e selecionados pelos seguintes critérios: delineamento coorte, caso-controle ou transversal; grupo controle gestação saudável; dosagem aCL por ELISA com ponto de corte ≥ 20 ; desfecho pré-eclâmpsia sem restrição de gravidade ou definição; dados suficientes para cálculo da medida de associação.

Unitermos: 1 antiphospholipid syndrome; 2 Hughes' syndrome; 3 anticardiolipin antibodies; 4 antiphospholipid antibodies; 5 anticardiolipin; 6 preeclampsia; 7 preeclampsia

*Motivos de exclusão (todos os unitermos PUBMED e LILACS): critérios descritos no Passo 1 e os seguintes: estudos sobre temas não relacionados à associação entre pré-eclâmpsia e anticorpos anticardiolipina, revisões ou diretrizes, relatos ou série de casos, experimentos em pesquisa básica.

Passo 2: 57 estudos PUBMED e 7 estudos LILACS com texto completo revisados por 2 autores (do Prado e Piovesan DM). Incluídos na metanálise de acordo com os critérios descritos no Passo 1. Divergências resolvidas após consenso entre os dois autores e discussão com terceiro e quarto autores (Horta BL e Staub HL).

Passo 3: Extração dos dados dos estudos incluídos na metanálise por dois autores (do Prado AD e Piovesan DM).

Passo 4: Avaliação da qualidade dos estudos (autores do Prado AD e Piovesan DM) que foram incluídos na metanálise através dos critérios de Downs and Black modificados. Divergências na avaliação resolvidas por terceiro autor (Horta BL).

Unitermo PUBMED	Abstracts outubro 2008	Abstracts atualização junho 2009	Excluídos*	Selecionados para leitura texto completo
1	6223	616	6828	11
2	1948	0	1947	1
3	4196	216	4360	52
4	6313	517	6798	32
5	621	44	661	4
6	22385	1601	23946	40
7	20285	1129	21387	27

Unitermo LILACS	Abstracts março 2009	Excluídos*	Selecionados para leitura texto completo
1	261	261	0
2	13	13	0
3	112	108	4
4	229	226	3
5	0	0	0
6	1000	993	7
7	819	812	7

Total de abstracts (PUBMED outubro 2008 + atualização junho 2009 + LILACS) = 68528 abstracts

Total de selecionados para a metanálise: 12 estudos

Após cruzamentos entre todos os unitermos PUBMED: total de 76 selecionados para leitura do texto completo

Excluídos: 21 estudos (temas NR), 5 estudos (revisões) e 1 publicação dupla

Após cruzamentos entre todos os unitermos LILACS: total de 7 selecionados para leitura do texto completo

53 PUBMED 07 LILACS

Busca de Citações ISI Web of Knowledge (nos artigos selecionados PUBMED e nos estudos excluídos por serem de Revisão ou Diretrizes):

29 estudos encontrados (de 1282 artigos; 1200 temas não relacionados; 50 revisões; 3 relatos de caso)

Após cruzamento com os 53 previamente selecionados, surgiram 3 estudos novos

Contato com *experts*: 1 estudo novo

Total: 57 PUBMED 07 LILACS para leitura texto completo

52 estudos excluídos**:

10 - dados insuficientes para cálculo da medida de associação
 9 - desfecho não era PE
 30 - valores de aCL com ponto de corte < 20 unidades e/ou dosagem não foi feita por ELISA
 9 - ausência de grupo controle de gestantes saudáveis
 3 - delineamento do estudo não era caso-controle, coorte ou transversal controlado
 2 - artigos não encontrados para análise do texto completo
 5 - estudos nulos (ausência de aCL positivas nos casos e controles)

**Alguns estudos apresentavam mais de um motivo para exclusão.

Anexo 3 - Critérios Modificados de Downs and Black

A pontuação máxima possível é 17 pontos em 16 itens. As perguntas criadas por Downs and Black utilizadas para avaliação da qualidade dos estudos nesta metanálise foram as seguintes:

1. Os objetivos do estudo estão claramente descritos?

Sim = 1 Não = 0

2. Os defechos principais a serem medidos são claramente descritos em Material e Métodos? *Se os defechos principais forem mencionados pela primeira vez em Resultados, a resposta deve ser não.*

Sim = 1 Não = 0

3. As características dos pacientes incluídos no estudo estão claramente descritas? *Em estudos de coorte e ensaios clínicos, critérios de inclusão/exclusão devem ser informados. Em estudos de caso-controle, a definição de casos e a fonte dos controles devem ser informados.*

Sim = 1 Não = 0

5. A distribuição dos principais fatores confundidores em cada grupo de sujeitos está claramente descrita? Uma lista dos principais confundidores é fornecida.

Sim = 1 Parcialmente = 1 Não = 0

6. Os principais achados do estudo estão claramente descritos? *Dados de desfecho (numeradores e denominadores) para os principais achados devem ser fornecidos para que o leitor possa conferir os principais resultados e conclusões.*

Sim = 1 Não = 0

7. O estudo fornece estimativas de variabilidade randômica dos dados para os resultados dos desfechos principais? *Em dados de distribuição não normal a variação interquartil dos resultados deve ser relatada. Em dados de distribuição normal o erro padrão, o desvio padrão ou o intervalo de confiança devem ser reportados. Se a distribuição dos dados não é descrita, deve-se assumir que a estimativa usada foi apropriada e a pergunta deve ser respondida como sim.*

Sim = 1 Não = 0

9. As características dos pacientes que perderam o acompanhamento foram descritas? *A resposta deve ser sim quando não há perdas ou quando as perdas foram tão pequenas que sua inclusão não afetaria o resultado final. A resposta deve ser não se o estudo não reporta o número de pacientes que perderam acompanhamento.*

Sim = 1 Não = 0

10. Os valores reais de probabilidade foram reportados para os resultados principais (por exemplo, 0,035 ao invés de $p < 0,05$), a não ser quando os valores de probabilidade são inferiores a 0,001?

Sim = 1 Não = 0

11. Os sujeitos da pesquisa eram representativos de toda a população de onde foram recrutados? *O estudo deve identificar a população de origem dos pacientes e descrever como foram selecionados. Pacientes serão representativos se: consistirem toda a população fonte, procederem de amostra não selecionada de pacientes consecutivos, ou de amostragem por sorteio. Amostragem por sorteio só é possível quando existe uma lista de todos os membros da população relevante para o estudo. Quando um estudo*

não reporta a proporção da população fonte da qual os pacientes provém, a questão deve ser respondida como incapaz de determinar.

Sim = 1 Não = 0 Incapaz de determinar = 0

16. Caso algum dos resultados do estudo tenha sido baseado em “*data dredging*”, houve descrição clara no texto desta situação? *Qualquer análise que não tenha sido planejada no projeto do estudo deve ser claramente indicada. Se nenhuma análise de subgrupo retrospectiva não planejada foi reportada, então responda sim.*

Sim = 1 Não = 0 Incapaz de determinar = 0

17. Em ensaios clínicos e coortes, a análise foi ajustada para diferentes tempos de seguimento ou, em estudos de caso-controle, o período de intervenção e desfecho foi o mesmo para casos e controles? *Quando o seguimento foi o mesmo para todos os sujeitos do estudo, a resposta deve ser sim. Se diferenças no tempo de seguimento foram ajustadas por, por exemplo, análise de sobrevivência, a resposta deve ser sim. Estudos onde as diferenças no tempo de acompanhamento foram ignoradas, a resposta deve ser não.*

Sim = 1 Não = 0 Incapaz de determinar = 0

18. Os testes estatísticos usados foram apropriados? *As técnicas estatísticas utilizadas devem ser apropriadas para os dados. Por exemplo, métodos não-paramétricos devem ser usados para amostras pequenas. Quando pouca análise estatística foi feita, mas não há evidência de viés, a questão deve ser respondida sim. Se a distribuição dos dados (normal ou não) não foi descrita, assume-se que as técnicas estatísticas foram apropriadas e a resposta deve ser sim.*

Sim = 1 Não = 0 Incapaz de determinar = 0

20. As medidas dos principais desfechos têm acurácia (são válidas e confiáveis)? *Para estudos onde as medidas dos desfechos são claramente descritas, a resposta deve ser sim. Para estudos que se referem a outro trabalho ou que demonstram que as medidas dos desfechos são acuradas, a resposta deve ser sim.*

Sim = 1 Não = 0 Incapaz de determinar = 0

21. Os pacientes de diferentes grupos de intervenção (em ensaios clínicos e coortes) ou os casos e controles (em estudos de caso-controle) foram recrutados a partir da mesma população? *Por exemplo, pacientes para todos os grupos de comparação devem ser selecionados do mesmo hospital. A questão deve ser respondida como incapaz de determinar em coortes e caso-controle onde não há informação sobre a fonte dos pacientes incluídos no estudo.*

Sim = 1 Não = 0 Incapaz de determinar = 0

22. Os pacientes de diferentes grupos de intervenção (em ensaios clínicos e coortes) ou os casos e controles (em estudos de caso-controle) foram recrutados no mesmo período de tempo? *Para estudos que não descrevem o período de tempo em que os pacientes foram recrutados, a resposta deve ser incapaz de determinar.*

Sim = 1 Não = 0 Incapaz de determinar = 0

25. Houve ajuste adequado para fatores de confusão na análise da qual os principais achados foram retirados? *Esta pergunta deve ser respondida não para ensaios clínicos se: as conclusões principais do estudo foram baseadas em análise de tratamento ao invés de intenção de tratar; a distribuição dos confundidores conhecidos nos diferentes grupos de tratamento não foi descrita; ou a distribuição de confundidores conhecidos diferiu entre os grupos de tratamento, mas não foi levado em consideração na análise. Em estudos não randomizados, se o efeito dos principais confundidores não foi*

investigado ou fatores de confusão foram demonstrados mas não houve ajuste na análise final, a resposta deve ser não.

Sim = 1 Não = 0 Incapaz de determinar = 0

2.2 TABELAS

2.2.1 Tabela 1 – Características dos estudos primários

Ano/Autor	País	Qualidade*	Delineamento**	N total***	
1996	Allen	EUA	14	2	200
2005	Mello ¹	Italia	17	2	804
2005	Mello ¹	Italia	17	2	812
1989	Branch	EUA	13	2	143
1991	Harris	EUA	11	3	1210
2009	Facchinetti	Italia	16	2	172
1997	Faden	Italia	14	3	484
2000	Kupferminc	Israel	16	2	189
2003	Lee ²	EUA	15	2	234
2003	Lee ²	EUA	15	2	209
1995	Yasuda ³	Japão	13	3	795
1995	Yasuda ³	Japão	13	3	789
1995	Yasuda ³	Japão	13	3	903
2001	Dreyfus	França	13	2	540
1993	Pattison	N Zelandia	16	3	941
2002	Bowen	Africa do Sul	10	2	50

*Avaliação de qualidade pelos critérios modificados de Downs and Black. Pontuação máxima de 17 pontos

** Delineamento de caso controle = 2. Delineamento de coorte = 3

***N total = número total de pacientes no estudo, incluindo casos e controles

1, 2 = artigos citados na tabela duas vezes pois há divisão do grupo de pacientes em PE leve e PE grave

3 = artigo citado na tabela três vezes pois o grupo de pacientes foi dividido em PE leve, PE grave e PE total (leve + grave).

2.2.2 Tabela 2 - Pressão arterial, valores de proteinúria e classificação de gravidade utilizados nas definições de PE dos estudos primários

Ano/Autor	Definições de PE
1996, Allen	Pressão arterial 140/90 mmHg ou aumento pressão arterial sistólica > 30 mmHg e/ou pressão arterial diastólica acima de 15 mmHg; proteinúria ≥ 100 mg/24h. Não define gravidade
2005, Mello	ACOG* <u>PE leve</u> : pressão arterial $\geq 140/90$ até 160/110; proteinúria em <i>dipstick</i> +1 a ++2 ou em urina de 24h 300 a 5000 mg/24h <u>PE grave</u> : pressão arterial > 160/110; proteinúria em <i>dipstick</i> +3 a +4 ou em urina de 24h > 5000 mg/24h
1989, Branch	<u>PE grave</u> : pressão arterial diastólica ≥ 110 ; proteinúria ≥ 2 ++ **
1991, Harris	Não informa definição Não define gravidade
1997, Faden	NHBEPWG*** Não define gravidade
2000, Kupfermirc	ACOG 1996**** <u>PE grave</u> : pressão arterial $\geq 160/110$; proteinúria > 5g/24h
2003, Lee	ACOG* <u>PE leve</u> : pressão arterial $\geq 140/90$ até 160/110; proteinúria em <i>dipstick</i> +1 a ++2 ou em urina de 24h 300 a 5000 mg/24h <u>PE grave</u> : pressão arterial > 160/110; proteinúria em <i>dipstick</i> +3 a +4 ou em urina de 24h > 5000 mg/24h
2001, Dreyfus	ACOG* Não define gravidade
1995, Yasuda	ISSH ***** <u>Hipertensão grave em PE</u> : pressão diastólica ≥ 120 mmHg em 1 ocasião ou 110 mmHg em 2 ocasiões com 4h de intervalo <u>Proteinúria grave em PE</u> : proteinúria ≥ 3 g/24h
1993, Pattison	ACOG* Não define gravidade
2002, Bowen	ACOG* Não define gravidade
2009, Facchinetti	ACOG* Não define gravidade

*ACOG – American College of Obstetricians and Gynecologists ¹²

** Williams Obstetrics – ⁹⁷

*** NHBEPWG – National High Blood Pressure Education Program Working Group ¹⁴

**** ACOG 1996 – 1996 American College of Obstetricians and Gynecologists ⁹⁸

*****ISSH – International Society for the Study of Hypertension ¹⁶

2.2.3 Tabela 3 – Metanálise em subgrupo de estudos de acordo com o tamanho amostral

Estudos com 200 ou menos pacientes	Odds Ratio	Intervalo de Confiança 95%	Peso (%)
Allen	2,348	0,785 – 7,026	26,73
Branch	41,301	2,301 – 741,411	11,82
Facchinetti	0,654	0,170 – 2,517	24,12
Kupfermirc	10,285	0,486 – 217,512	10,98
Bowen	0,609	0,196 – 1,891	26,35
Pooled Odds Ratio*	1,996	0,584 – 6,826	100,00
Estudo com 201 ou mais pacientes	Odds Ratio	Intervalo de Confiança 95%	Peso (%)
Mello	1,876	1,233 – 2,854	23,47
Harris	0,867	0,050 – 14,973	8,64
Faden	11,815	0,551 – 253,411	7,84
Lee	1,029	0,196 – 5,396	15,09
Yasuda	16,100	5,969 – 43,426	19,98
Dreyfus	2,705	0,599 – 12,216	16,14
Pattinson	30,300	1,851 – 496,069	8,85
Pooled Odds Ratio**	3,860	1,362 – 10,938	100,00

* Método de efeito randômico de DerSimonian e Laird; Heterogeneidade $X^2 = 11,61$ (d.f. = 4) $P = 0,020$
 I^2 (variação atribuída à heterogeneidade) = 65,6%; Estimativa da variância entre estudos $\tau^2 = 1,1598$

**Método de efeito randômico de DerSimonian e Laird; Heterogeneidade $X^2 = 21,89$ (d.f. = 6) $p = 0,001$; I^2 (variação atribuída à heterogeneidade) = 72,6%; Estimativa da variância entre estudos $\tau^2 = 1,1571$

2.2.4 Tabela 4 – Metarregressão para as variáveis delineamento, qualidade e tamanho do estudo

Variáveis	τ^2	Adj R ²
Todos os estudos	1,295	-
Delineamento	0,520	59,83%
Qualidade	1,441	-11,23%
Tamanho do estudo	0,792	38,83%

τ^2 = estimativa da variância entre os estudos

Adj R² = proporção da variância entre os estudos explicada pela variável

2.2.5 Tabela 5 – Metanálise do subgrupo de estudos com delineamento caso-controle

Estudo	Odds Ratio	IC 95%	Peso
Allen	2,348	0,785 – 7,026	15,86
Mello	1,876	1,233 - 2,854	28,65
Branch	41,301	2,301 - 741,411	3,86
Facchinetti	0,654	0,170 - 2,517	12,52
Kupferminc	10,285	0,486 - 217,512	3,50
Lee	1,029	0,196 - 5,396	9,49
Dreyfus	2,705	0,599 - 12,216	10,81
Bowen	0,609	0,196 - 1,891	15,32
<i>Pooled OR*</i>	1,686	0,922 3,082	100,00

* Método de efeito randômico de DerSimonian e Laird

Heterogeneidade $X^2 = 12,50$ (d.f. = 7) $P = 0,085$

I^2 (variação atribuída à heterogeneidade) = 44%

Estimativa da variância entre estudos $\tau^2 = 0,285$

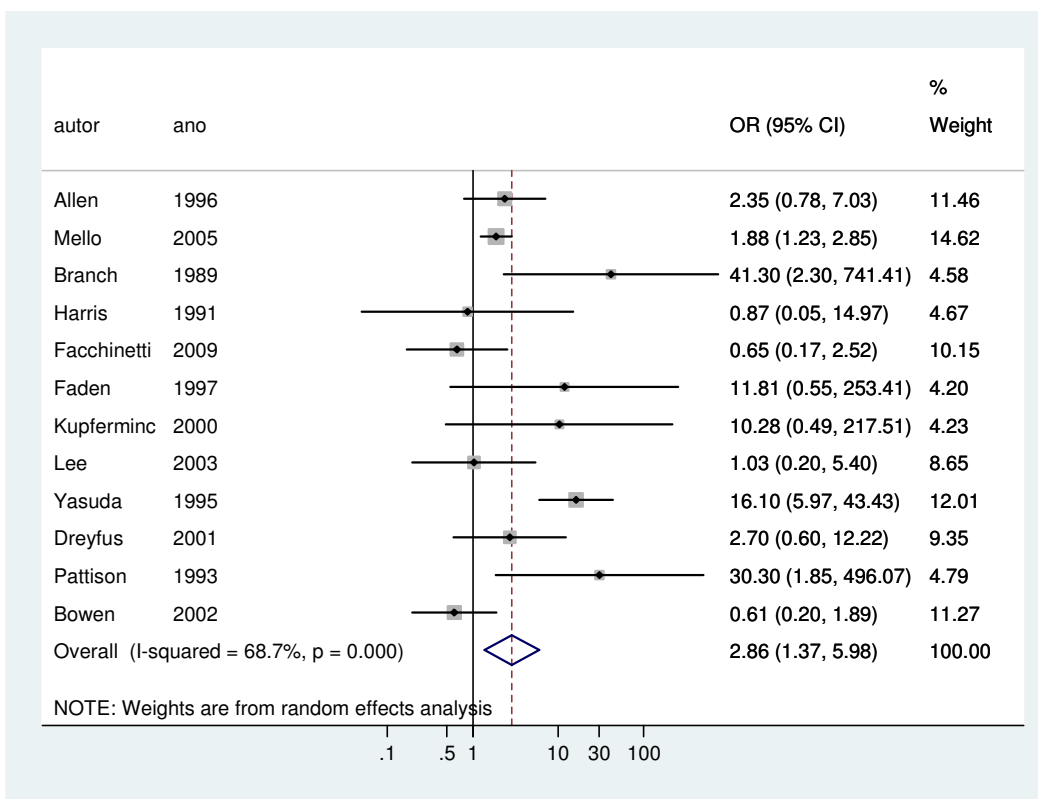
2.2.6 Tabela 6 - Metanálise do subgrupo de estudos com delineamento coorte

Estudo	Odds Ratio	IC 95%	Peso
Harris	0,867	0,050 - 14,973	17,97
Faden	11,815	0,551 - 253,411	16,16
Yasuda	16,100	5,969 - 43,426	47,42
Pattison	30,300	1,851 - 496,069	18,45
<i>Pooled OR*</i>	10,182	2,422 - 42,807	100,00

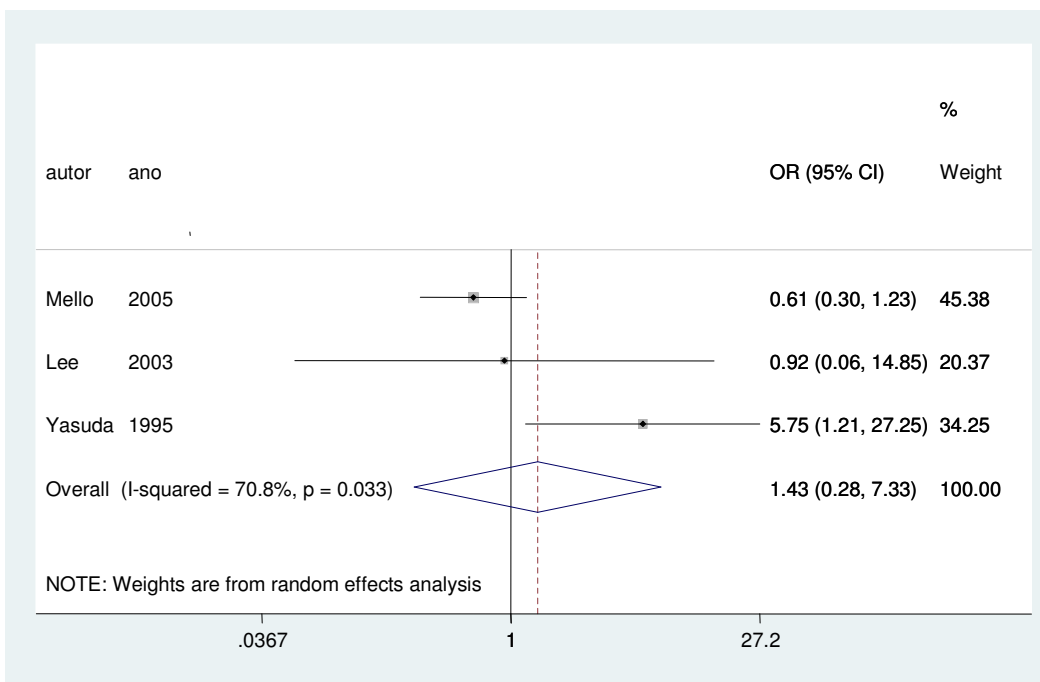
* Método de efeito randômico de DerSimonian e Laird
 Heterogeneidade $X^2 = 4,99$ (d.f. = 3) $P = 0,173$
 I^2 (variação atribuída à heterogeneidade) = 39,9%
 Estimativa da variância entre estudos $\tau^2 = 0,876$

2.3 GRÁFICOS

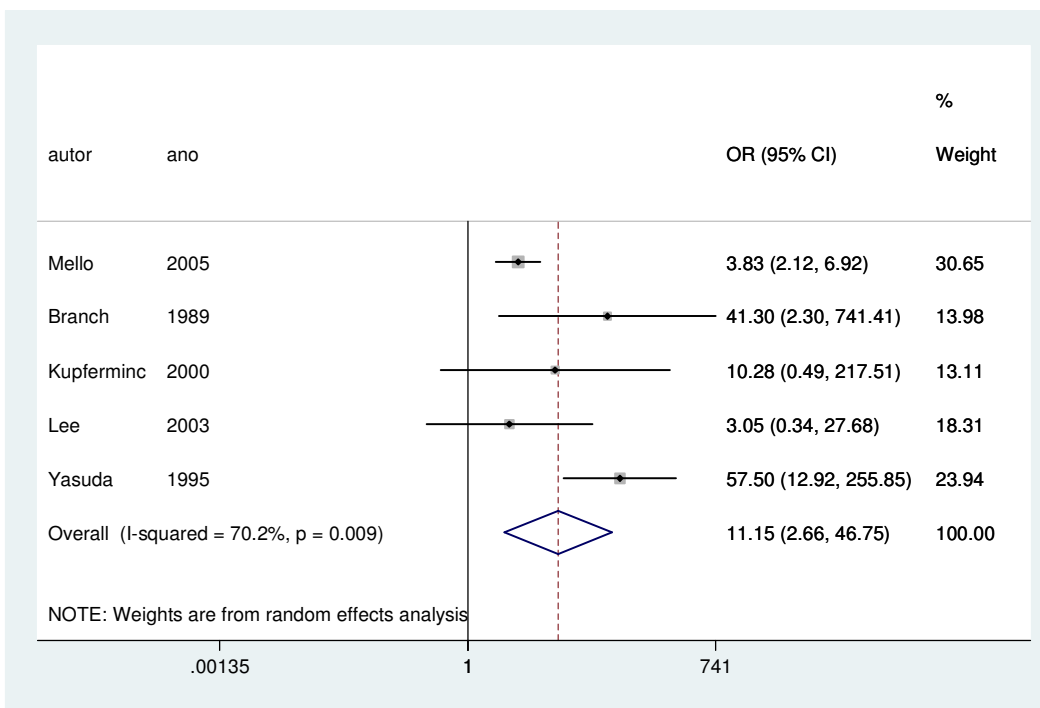
2.3.1 Gráfico 1- Todos os estudos: qualquer gravidade de PE



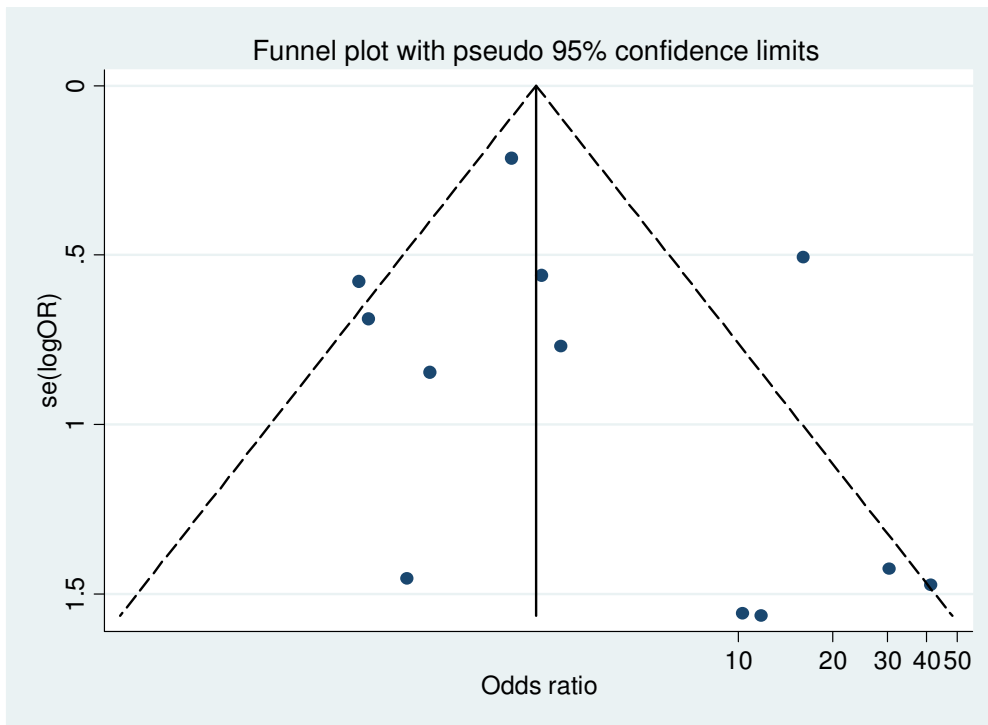
2.3.2 Gráfico 2 - Estudos com PE leve



2.3.3 Gráfico 3 - Estudos com PE grave



2.3.4 Gráfico 4 - Funnel Plot para todos os estudos



3 VERSÕES EM LÍNGUA INGLESA

3.1 ARTIGO TRADUZIDO PARA A LÍNGUA INGLESA

**ASSOCIATION OF ANTICARDIOLIPIN ANTIBODIES WITH
PREECLAMPSIA: SYSTEMATIC REVIEW AND METANALYSIS**

Aline Defaveri do Prado, Bernardo Lessa Horta, Deise Marcela Piovesan,
Henrique Luiz Staub

*Rheumatology Department, São Lucas Hospital, Pontifical Catholic University
of Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brazil; Post Graduate Program
in Epidemiology, Federal University of Pelotas, Pelotas, Brazil.*

*Correspondence to:
Aline Defaveri do Prado
Serviço de Reumatologia
Hospital São Lucas da PUCRS
Av. Ipiranga 6690, sala 220
CEP 90610-000 – Porto Alegre – Brasil
e-mail: adprado@gmail.com*

Abstract

Objective: This study was aimed at systematically reviewing the evidence of the association of anticardiolipin (aCL) antibodies with preeclampsia (PE). **Methods:** PUBMED and LILACS were perused up to June 2009, citations were searched on ISI Web of Knowledge database, textbooks and reference lists were reviewed, and experts were contacted. Articles were included if they were cohorts, case-control or controlled cross-sectional studies; had healthy pregnant women as the control group; cases and controls were free from autoimmune diseases; ELISA immunoassay IgM and/or IgG aCL antibody testing cut-off ≥ 20 units (moderate or high levels); endpoint PE without restriction on definition or severity; and demonstrated enough data to calculate relative risk or odds ratio (OR). **Results:** The search generated 68,528 entries. A total of 64 full-text articles were reviewed and 12 studies were included in the metaanalysis. Pooled OR for association of aCL antibodies with PE was 2.86 (95%CI 1.37-5.98). There was strong association between aCL antibodies and severe PE (pooled OR 11.15 95%CI 2.66-46.75) with moderate heterogeneity (I^2 70.2%). Funnel plot identified a possible discrete publication bias for negative small studies; however, Egger's test was not significant ($P= 0.359$). Pooled OR among studies with sample size inferior to 200 patients was 1.99 (95%CI 0.58-6.82) Pooled OR among studies with sample size equal or superior to 201 was 3.86 (95%CI 1.36-10.93). Metaregression identified study design and study size as related to heterogeneity; proportion of between-study variance explained by these variables was respectively 59.83% e 38.83%. Association of aCL antibodies and PE was more significant among cohorts (pooled OR 10.18 95%CI 2.42-42.80) than case-control studies (pooled OR 1.68 (95%CI 0.92-3.08). Q test was not significant and heterogeneity was low for both study designs (I^2 39.9% for cohorts and 44% for case-controls). **Conclusion:** Data from this systematic review and metaanalysis of observational studies indicates that moderate or high levels of aCL antibodies are associated with PE.

Keywords: anticardiolipin antibodies, preeclampsia, metaanalysis.

INTRODUCTION

Antiphospholipid syndrome (APS) is a young adult's thrombotic disorder first described during the 1980 decade ¹. It is characteristically defined by presence of venous and arterial thromboembolic events associated with classic antiphospholipid antibodies (APAs), named anticardiolipin (aCL), anti-beta2-glycoprotein I and lupic anticoagulant ². Preeclampsia (PE) is one of the gestational complications that can occur on APS ². APS thrombotic phenomena, including placental thrombosis, are attributed to APAs action even though their exact pathological mechanism is only partially understood ^{3,4}. The frequency of PE in pregnant women with APS is about 50% ⁵.

APAs are a heterogeneous and complex group of autoantibodies. Their targets are the coagulation cascade and cell membranes phospholipids (cardiolipin, phosphatidylserine, phosphatidylinositol), or phospholipid cofactors (beta2-glycoprotein I), mainly the ones found on platelets and endothelial cells ⁶. In spite of IgG and IgM aCL antibody detection standardization since 1987 ⁷, not all studies respect these methodological instructions. In order to avoid variability on testing and reporting, it is recommended to use ELISA immunoassay for aCL antibody detection, as well as to report the results on GPL or MPL units ⁸⁻¹⁰.

Preeclampsia (PE) is one of the most important causes of maternal and fetal mortality and morbidity, and its prevalence is approximately 8%. In the United States, PE is the reason for maternal death in 16.1% of pregnancies, while in Latin America it causes 25.7% of all maternal deaths ¹¹. Since PE is a severe and frequent syndrome, laboratory and imaging screening tests have always been important matters of research.

Hypertensive gestational disease classification is not homogeneous among experts. Many scientific societies published guidelines to establish differentiation among chronic hypertension, gestational hypertension, preeclampsia/eclampsia and superimposed preeclampsia on chronic hypertension¹²⁻¹⁷. This data has been recently summarized by Comparsione¹⁸.

aCL antibody role as a risk factor for PE in women with no evidence of autoimmune diseases has been the focus of many studies during the last two decades, mainly cohort and case-control studies¹⁹⁻³⁸. However, association of positive aCL antibodies with PE remains controversial. The objective of this work is to systematically review current evidence about association of aCL antibodies with PE.

MATERIALS AND METHODS

Data sources

The following five search strategies were used in the systematic review of literature: *PUBMED* and *LILACS* databases computer search, *ISI Web of Science* database citation search, specialized textbooks review, reference list review, contact with authors and APS experts (attachment 1). Each search strategy is detailed below and on search strategy flow chart (attachment 2).

The following keywords were used to search *PUBMED* and *LILACS* until June 2009: (1) *antiphospholipid syndrome*, (2) *Hughes' syndrome*, (3) *anticardiolipin antibodies*, (4) *antiphospholipid antibodies*, (5) *anti-cardiolipin*, (6) *preeclampsia* and (7) *pre-eclampsia*.

Initially, abstracts were reviewed by the first author (do Prado AD) and selected for further reading if they fulfilled the following criteria: cohort, case-control or controlled cross-sectional studies; control group of healthy pregnant women; absence of autoimmune diseases in cases and controls; IgG and/or IgM aCL antibody ELISA cutoff ≥ 20 GPL or MPL units²; endpoint PE with no restriction of definition or stratification of severity. Detailed data about PE definition and classification were collected from the studies, when available. If a criterion was not met because of insufficient information, the abstract was set aside for further evaluation and full-text analysis. Other reasons for the exclusion of articles were: studies about issues not related to the association between aCL antibodies and PE, narrative reviews or guidelines, case reports or case series, and experimental research. After finalization of keyword database computer search, *ISI Web of Knowledge* citation search was performed on all *PUBMED* studies selected for full-

text review, as well as *PUBMED* guidelines and reviews. Finally, forty APS scientific authorities were contacted via email and asked about unpublished and ongoing studies that could meet inclusion criteria. Full-text studies selected at the end of the search were retrieved and independently reviewed by two of the authors (do Prado AD and Piovesan DM). They were included in the metanalysis if they continued to meet criteria previously described. Disagreements were resolved on consensus and discussion with a third and fourth author (Horta BL and Staub HL). Authors were contacted via e-mail if data were missing.

Data extraction

A protocol for data extraction was defined and evaluated by three of the authors (do Prado AD, Staub HL and Horta BL). The following information was extracted from every paper: journal, first author's name, year of publication, quality score, study design, PE definition, PE severity, timing of aCL antibody levels in relation to diagnosis of PE, number of patients with diagnosis of PE, number of patients without diagnosis of PE, number of patients with positive aCL antibodies and PE, number of patients without aCL antibodies and with diagnosis of PE, number of patients with positive aCL antibodies and without diagnosis of PE, number of patients without aCL antibodies and without PE, odds ratio (OR) or relative risk, and 95% confidence interval (95%CI). Authors were contacted if important information was missing.

Data from selected studies were extracted independently by two of the authors (do Prado AD and Piovesan DM) and a database was created. The database was reviewed by the first author (do Prado AD). Disagreements were discussed with a third author (Horta BL).

The authors do Prado AD and Piovesan DM performed quality assessment of the studies included in the metaanalysis. Quality assessment criteria were defined *a priori* based on a modification of Downs and Black criteria³⁹ (attachment 3). Sixteen of the twenty-six original questions were used; ten excluded items were only applicable to randomized clinical trials. The total score of study quality was the sum of each individual question score. Disagreements were discussed with a third author (Horta BL).

Data analysis

Data analysis was performed with STATA 11.0 software (Stata Corp, College Station, TX).

Pooled effect estimate was the pooled OR for association of aCL antibodies with PE. OR values interpretation was based on Hopkins scale, where OR 1-1.5 is low, 1.5-3.5 is discrete, 3.5-9 is moderate, and above 9 is high⁴⁰.

The Q test was used to evaluate heterogeneity among the primary studies⁴¹, and a P value < 0.05 was used to define the presence of heterogeneity. Once heterogeneity was confirmed, the DerSimonian and Laird random effect model⁴² was used to pool the OR and 95% CI.

A funnel plot and Egger's test⁴³ were used to assess publication bias. Furthermore, stratified analysis according to study size (studies with total number of participants being 200 or less and 201 or more) was used to assess the impact of publication bias on pooled OR.

Metaregression (METAREG command in STATA software) was used to evaluate the association of pooled OR with individual primary study variables, as well as to evaluate the contribution of each variable to heterogeneity⁴⁴. Primary study variables used in the metaregression model were: study design, study quality and study size. It was not possible to add PE definition to the model, because some primary studies utilized more than one PE definition, while others did not report a definition of PE at all.

RESULTS

After full text analysis of 57 *PUBMED* and 7 *LILACS* studies, 12 primary studies were included in the metanalysis^{20, 22, 24, 29, 36-38, 45-49}. A total of 52 studies were excluded. Forty-five papers were excluded^{19, 21, 23, 25-28, 30, 32, 33, 50-83} due to the following reasons: not possible to calculate measure of effect (10 studies); outcome other than PE (nine studies); aCL antibodies not tested by ELISA and/or aCL antibody cutoff lower than 20 GPL or MPL units (30 studies); absence of a normal pregnancy control group (nine studies); and study design other than cohort, case-control or controlled cross-sectional (three studies). The total sum was more than 45 because some studies fulfilled more than one exclusion criteria. Five papers had null results, in other words, they showed no aCL antibodies above 20 GPL or MPL in pregnant women with and without PE^{31, 34, 35, 84, 85}. Therefore, these null studies were not included in the metanalysis. Two full-text studies were not found for complete review^{86, 87}.

Table 1 describes the characteristics of the studies. Eight studies were cohorts and four were case-controls. Sample size varied from 50 (Bowen, 2002⁴⁶) to 1210 patients (Harris, 1991⁴⁷). The lowest quality score was 10 (Bowen, 2002⁴⁶) and the highest was 17 (Mello, 2005³⁸).

Table 2 presents the definitions of PE used in every study, as well as the criteria used to define PE severity. The most frequently used guideline for PE classification was the 2002 ACOG practice bulletin¹², cited in six studies.

Figure 1 presents the OR and 95%CI of every study. There was heterogeneity among the studies; nine studies demonstrated that aCL antibodies increased the chance of PE development; four studies reported statistically significant associations, whereas

five studies did not report statistically significant associations. Three studies documented a small and not significant protective effect of aCL antibodies. The heterogeneity among studies was significant ($I^2= 68.7\%$), and therefore, the DerSimonian and Laird random effect model⁴² was used to pool the effect estimates (pooled OR 2.86, 95%CI 1.37-5.98).

The Mello³⁸, Lee²⁴ and Yasuda²² studies divided PE cases into mild and severe groups, and the three studies provided enough information to separately estimate the effect of aCL antibodies on mild and severe PE. The Branch²⁰ and Kupfermirc⁴⁸ included only cases of severe PE. The remaining studies^{29, 36, 37, 45-47, 49} worked with any severity of PE or severity was not specified in the narrative. Among mild PE studies, association of aCL antibodies with PE was not found (figure 2). On the other hand, a strong association of aCL antibodies with PE was demonstrated among studies that included only severe cases of PE (figure 3).

A funnel plot showed that the distribution of studies was slightly asymmetric, due to the small number of small-size negative studies. This asymmetry suggested that small-size studies with negative results for association of aCL antibodies with PE were less likely to be published. However, Egger's test was not significant ($P = 0.359$). According to table 3, pooled OR for studies with 200 or less subjects was not significant (1.99; 95%CI 0.58 – 6.82). Among studies with 201 or more participants, there was a strong association between aCL antibodies and PE (pooled OR 3.86; 95%CI 1.32 – 10.93), and pooled OR value was higher than for small studies.

Table 4 shows metaregression analysis results. Estimate of between-study variance (τ^2) decreased from 1.295 to 0.520 when the variable study design was included in the metaregression model. Therefore, 59.8% of heterogeneity among studies

was caused by differences in study design among the primary studies. Study quality, on the other hand, was not important in explaining heterogeneity. Study size decreased the estimate of between-study variance (τ^2) to 0.792, probably explaining 38.83% of heterogeneity.

Table 5 shows the metaanalysis for the eight case-control studies. Four studies found a positive but not statistically significant association. Two studies showed a statistically significant association and two demonstrated a protective association, although not significant. Pooled OR estimate and 95% CI indicated a weaker and non-significant association of aCL antibodies with PE, compared to cohorts. There was low heterogeneity and the Q test was not significant.

Table 6 shows the metaanalysis for the four cohort studies. One study demonstrated a slightly protective and non-significant association. Three studies showed a positive association, but only two of them were statistically significant. Association of aCL antibodies with PE was higher among cohorts than case-controls. The I^2 test found low heterogeneity and the Q test was not significant.

DISCUSSION

This systematic review disclosed a great number of database entries (68,528 abstracts) at the beginning of the search. However, this number went down to 64 studies for full-text review and to only 12 studies for inclusion in a metanalysis. A small number of final studies were also seen in a metanalysis of aCL antibodies and fetal loss risk⁸⁸. Limited knowledge of APS (few decades worth) and its low prevalence in comparison to other disorders are possible explanations for this finding. On the other hand, systematic reviews and metanalysis of observational studies of other issues have gathered a substantial number of publications. A metanalysis of the prevalence of attention deficit hyperactivity disorder included 102 primary studies, for example⁸⁹.

There was a substantial number of null studies^{31, 34, 35, 84, 85} and, since no positive aCL antibodies were found in either healthy pregnancy or PE patients, they were not included in our metanalysis. These null studies were of small size, ranging from 20 to 52 subjects per group. Low PE incidence and low frequency of aCL antibodies in these studies can account for these null results.

Despite clear experts recommendations on ELISA immunoassay aCL dosing and reporting in GPL and MPL units^{9, 10, 90}, this was the most frequent reason for excluding papers. Great variability in aCL antibody assays, cut-off values and reporting of results prevented the inclusion of 30 studies in the metanalysis. Only studies that displayed at least moderate levels of aCL antibodies were considered in our systematic review, avoiding irrelevant autoantibody levels² in the final analysis.

Quality assessment is a very important step in systematic review process. However, there is no consensus on the best instrument to be applied, and no specific

methods of evaluation for observational research are available ⁹¹. Also, there is no agreement on whether quality assessment should be performed with scales or its components ⁹¹. To fulfill the needs of this systematic review, quality was assessed with an instrument modified from Downs and Black feasibility checklist ³⁹.

PE definitions were heterogeneous in the primary studies, reflecting the lack of consensus in the classification of gestational hypertensive disorders. As already recognized by other authors ¹⁸, the use of distinct criteria for PE by different research groups introduces difficulties in reviewing the issue ⁹².

To date, no other systematic review exclusively of the association of aCL antibodies with PE has been published. A systematic review of screening tests for PE in the general population included aCL antibodies in the search strategy ⁹³. It concluded that there were no suitable tests for this purpose until 2004, and specific longitudinal research was necessary. Another systematic review on many maternal risk factors for PE included aCL antibody and lupus anticoagulant ⁹⁴. Five studies were selected, and metanalysis of two cohorts found a relative risk of 9.73 (95%CI 4.34-21.75). Nevertheless, these studies were not particularly directed at aCL antibody evaluation, and essential information such as assays and cutoff values was not available².

This systematic review and metanalysis of observational studies documented an association of aCL antibodies with PE in women without autoimmune diseases. Pooled OR demonstrates that the presence of aCL antibodies increases the odds of PE 2.86 times (95%CI 1.37-5.98). In studies involving patients with mild PE, this association was weaker, indicating the existence of a dose-response relationship and reinforcing the possibility of a causal association.

Funnel plot graphic analysis suggested that small negative studies were less likely to be published. This finding points to a publication bias. On the other hand, Egger's test was not significant, indicating a low possibility of true bias. Besides, when studies were analyzed according to their size, the pooled OR remained statistically significant for studies with more than 200 individuals. Thus, an association between aCL antibodies and PE remained among large studies. Considering their decreased susceptibility to publication bias, if such bias exists, we do not believe that the pooled odds ratio determined here resulted from a publication bias. The lack of association among studies with 200 subjects or fewer supports the need for large sample sizes when examining this topic.

Metaregression indicated study design as the main source of heterogeneity among studies. Pooled odds ratio was significantly higher among cohorts (OR 10.18 95%CI 2.42 – 42.80) than case-control studies. This finding can be due to decreased vulnerability of cohorts to information bias, which tends to underestimate effect measures. A disadvantage of a cohort study is the need for a long period of follow up. Since there is low incidence of moderate or high levels aCL antibodies in the general population, a large sample size would be necessary to evaluate their association with PE in a cohort. This problem could be solved by evaluating a high-risk population for PE, for example, women with recurrent PE, twin pregnancy, obesity and other traditional risk factors^{95,96}.

Considering the small number of final studies, small study size and limited number of aCL-positive subjects in primary studies, results from this study should be cautiously interpreted. Their understanding is connected to the concepts and limitations of metaanalysis of observational studies.

CONCLUSION

This systematic review and metaanalysis of observational studies demonstrated an association of moderate to high levels of aCL antibodies with PE in pregnant women without autoimmune diseases. This association seemed to be more important among cohort studies. There was no statistical evidence for publication bias in this work.

REFERENCES

1. HUGHES GR, HARRIS NN, GHARAVI AE. The anticardiolipin syndrome. *J Rheumatol* 1986;13:486-9.
2. MIYAKIS S, LOCKSHIN MD, ATSUMI T, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost* 2006;4:295-306.
3. MATSUURA E, IGARASHI Y, FUJIMOTO M, ICHIKAWA K, KOIKE T. Anticardiolipin cofactor(s) and differential diagnosis of autoimmune disease. *Lancet* 1990;336:177-8.
4. MCNEIL HP, SIMPSON RJ, CHESTERMAN CN, KRILIS SA. Anti-phospholipid antibodies are directed against a complex antigen that includes a lipid-binding inhibitor of coagulation: beta 2-glycoprotein I (apolipoprotein H). *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990;87:4120-4.
5. BRANCH DW, SILVER RM, BLACKWELL JL, READING JC, SCOTT JR. Outcome of treated pregnancies in women with antiphospholipid syndrome: an update of the Utah experience. *Obstet Gynecol* 1992;80:614-20.
6. LOVE PE SA. Antiphospholipid antibodies: anticardiolipin and the lupus anticoagulant in systemic lupus erythematosus (SLE) and in non-SLE disorders. *Ann Intern Med* 1990;112:682-98.
7. GHARAVI AE, HARRIS EN, ASHERSON RA, HUGHES GR. Anticardiolipin antibodies: isotype distribution and phospholipid specificity. *Ann Rheum Dis* 1987;46:1-6.
8. TINCANI A, ALLEGRI F, SANMARCO M, et al. Anticardiolipin antibody assay: a methodological analysis for a better consensus in routine determinations--a cooperative project of the European Antiphospholipid Forum. *Thromb Haemost* 2001;86:575-83.
9. E. N. HARRIS MLB, C. G. MACKWORTH-YOUNG, A. E. GHARAVI, B. M. PATEL, S. LOIZOU, G. R. V. HUGHES. Anticardiolipin antibodies: detection by radioimmunoassay and association with thrombosis in systemic lupus erythematosus. *Lancet* 1983;322:1211-4
10. HARRIS EN, HUGHES GR. Standardising the anti-cardiolipin antibody test. *Lancet* 1987;1:277.
11. KHAN KS, WOJDYLA D, SAY L, GULMEZOGLU AM, VAN LOOK PF. WHO analysis of causes of maternal death: a systematic review. *Lancet* 2006;367:1066-74.
12. ACOG practice bulletin. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. Number 33, January 2002. *Obstet Gynecol* 2002;99:159-67.
13. HELEWA ME, BURROWS RF, SMITH J, WILLIAMS K, BRAIN P, RABKIN SW. Report of the Canadian Hypertension Society Consensus Conference: 1. Definitions, evaluation and classification of hypertensive disorders in pregnancy. *Cmaj* 1997;157:715-25.
14. Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:S1-S22.

15. BROWN MA, HAGUE WM, HIGGINS J, et al. The detection, investigation and management of hypertension in pregnancy: full consensus statement. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2000;40:139-55.
16. DAVEY DA, MACGILLIVRAY I. The classification and definition of the hypertensive disorders of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1988;158:892-8.
17. AKINKUGBE A GN, KINKAID-SMITH P ET AL. The hipertensive disorders of pregnancy; Report of a WHO Study Group. World Health Organization 1987.
18. COMPARSI AB PdCB, POLI DE FIGUEIREDO CE, PAULA LG. Pré-eclâmpsia: diagnóstico e tratamento. *ACTA Médica* 2001;22:293-309.
19. DEKKER GA, DE VRIES JI, DOELITZSCH PM, et al. Underlying disorders associated with severe early-onset preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1995;173:1042-8.
20. BRANCH DW, ANDRES R, DIGRE KB, ROTE NS, SCOTT JR. The association of antiphospholipid antibodies with severe preeclampsia. *Obstet Gynecol* 1989;73:541-5.
21. GANZEVOORT W, REP A, DE VRIES JI, BONSEL GJ, WOLF H, PETRA-INVESTIGATORS FT. Relationship between thrombophilic disorders and type of severe early-onset hypertensive disorder of pregnancy. *Hypertens Pregnancy* 2007;26:433-45.
22. YASUDA M, TAKAKUWA K, TOKUNAGA A, TANAKA K. Prospective studies of the association between anticardiolipin antibody and outcome of pregnancy. *Obstet Gynecol* 1995;86:555-9.
23. BRIONES-GARDUNO JC, DIAZ DE LEON-PONCE M, BARRIOS-PRIETO E, SALAZAR-EXAIRE JD. [IgM antiphospholipical antibodies in preeclampsia-eclampsia]. *Cir Cir* 2003;71:449-54.
24. LEE RM, BROWN MA, BRANCH DW, WARD K, SILVER RM. Anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein-I antibodies in preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2003;102:294-300.
25. BRANCH DW, PORTER TF, RITTENHOUSE L, et al. Antiphospholipid antibodies in women at risk for preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2001;184:825-32; discussion 832-4.
26. VALDES-MACHO E, CABIEDES J, VILLA AR, CABRAL AR, ALARCON-SEGOVIA D. Anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein-I antibodies in hypertensive disorders of pregnancy. *Arch Med Res* 2002;33:460-5.
27. VON TEMPELHOFF GF, HEILMANN L, SPANUTH E, KUNZMANN E, HOMMEL G. Incidence of the factor V Leiden-mutation, coagulation inhibitor deficiency, and elevated antiphospholipid-antibodies in patients with preeclampsia or HELLP-syndrome. Hemolysis, elevated liver-enzymes, low platelets. *Thromb Res* 2000;100:363-5.
28. HEILMANN L, SCHNEIDER DM, VON TEMPELHOFF GF, KUSE S. Antiphospholipid-antibodies and other thrombophilic defects in patients with a history of early onset severe preeclampsia or HELLP-syndrome. *Geburtshilfe Und Frauenheilkunde* 2000;60:95-100.
29. DREYFUS M, HEDELIN G, KUTNAHORSKY R, et al. Antiphospholipid antibodies and preeclampsia: a case-control study. *Obstet Gynecol* 2001;97:29-34.
30. NESTOROWICZ B, OSTANEK L, RONIN-WALKNOWSKA E, et al. [Antiphospholipid antibodies in high-risk pregnancy]. *Ginekol Pol* 2000;71:500-8.
31. MARTINEZ-ABUNDIS E, GONZALEZ-ORTIZ M, CORTES-LLAMAS V, SALAZAR-PARAMO M. Anticardiolipin antibodies and the severity of preeclampsia-eclampsia. *Gynecol Obstet Invest* 1999;48:168-71.

32. FIALOVA L, KALOUSOVA M, SOUKUPOVA J, et al. Markers of inflammation in preeclampsia. *Prague Med Rep* 2004;105:301-10.
33. KURKI T, AILUS K, PALOSUO T, YLIKORKALA O. Antibodies to oxidized low-density lipoprotein, cardiolipin, and phosphatidyl serine fail, to predict the risk of preeclampsia. *Hypertension in Pregnancy* 1996;15:251-256.
34. TAYLOR PV, SKERROW SM, REDMAN CW. Pre-eclampsia and anti-phospholipid antibody. *Br J Obstet Gynaecol* 1991;98:604-6.
35. D'ANNA R, SCILIPOTI A, LEONARDI J, SCUDERI M, JASONNI VM, LEONARDI R. Anticardiolipin antibodies in pre-eclampsia and intrauterine growth retardation. *Clin Exp Obstet Gynecol* 1997;24:135-7.
36. ALLEN JY, TAPIA-SANTIAGO C, KUTTEH WH. Antiphospholipid antibodies in patients with preeclampsia. *Am J Reprod Immunol* 1996;36:81-5.
37. FACCHINETTI F, MAROZIO L, FRUSCA T, et al. Maternal thrombophilia and the risk of recurrence of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2009;200:46 e1-5.
38. MELLO G, PARRETTI E, MAROZIO L, et al. Thrombophilia is significantly associated with severe preeclampsia: results of a large-scale, case-controlled study. *Hypertension* 2005;46:1270-4.
39. DOWNS SH BN. The feasibility of creating a checklist for the assessment of the methodological quality both of randomized and non-randomized studies of health care interventions. *J Epidemiol Community Health* 1998;52:377-384.
40. HOPKINS WG. A new view of statistics. (vol 2002).
41. NORMAND S. Meta-analysis: formulating, evaluating, combining, and reporting. *Statistics in Medicine* 1999;18:321-59.
42. DERSIMONIAN R LN. Meta-analysis in clinical trials. *Controlled Clinical Trials* 1986;7:177-88.
43. EGGER M, DAVEY SMITH G, SCHNEIDER M, MINDER C. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. *Bmj* 1997;315:629-34.
44. THOMPSON SG, HIGGINS JP. How should meta-regression analyses be undertaken and interpreted? *Stat Med* 2002;21:1559-73.
45. FADEN D, TINCANI A, TANZI P, et al. Anti-beta 2 glycoprotein I antibodies in a general obstetric population: preliminary results on the prevalence and correlation with pregnancy outcome. Anti-beta2 glycoprotein I antibodies are associated with some obstetrical complications, mainly preeclampsia-eclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1997;73:37-42.
46. BOWEN RS, MOODLEY J, DUTTON MF, FICKL H. Antibodies to oxidised low-density lipoproteins and cardiolipin in pre-eclampsia and eclampsia. *J Obstet Gynaecol* 2002;22:123-6.
47. HARRIS EN, SPINNATO JA. Should anticardiolipin tests be performed in otherwise healthy pregnant women? *Am J Obstet Gynecol* 1991;165:1272-7.
48. KUPFERMINE MJ, FAIT G, MANY A, GORDON D, ELDOR A, LESSING JB. Severe preeclampsia and high frequency of genetic thrombophilic mutations. *Obstet Gynecol* 2000;96:45-9.
49. PATTISON NS, CHAMLEY LW, MCKAY EJ, LIGGINS GC, BUTLER WS. Antiphospholipid antibodies in pregnancy: prevalence and clinical associations. *Br J Obstet Gynaecol* 1993;100:909-13.
50. BENDON RW, HAYDEN LE, HURTUBISE PE, et al. Prenatal screening for anticardiolipin antibody. *Am J Perinatol* 1990;7:245-50.
51. ANDELOVA K, SULA K, VELEBIL P. [Importance of anticardiolipin antibody screening in pregnancy]. *Ceska Gynekol* 1998;63:446-9.

52. FIGUEIRO-FILHO EA, OLIVEIRA VM. Association of recurrent abortion, fetal loss and severe pre-eclampsia with hereditary thrombophilias and antiphospholipid antibodies in pregnant women of central Brazil. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia* 2007;29:561-567.
53. GOMEZ JIMENEZ JM, GARCIA HI, GALLEGO JG, GALEANO AQ, RESTREPO CM, AGUIRRE N. Asociacion entre anticardiolipina y anti b2 glicoproteina I con preeclampsia antes de las 35 semanas de gestacion. *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecologia* 2001;52:60-66.
54. BRIONES-GARDUNO JC, AL E. Anticuerpos anticardiolipina en la preeclampsia/eclampsia. *Revista de la Asociacion Mexicana de Medicina Critica y Terapia Intensiva* 1997;11:194-196.
55. ALFIREVIC Z, MOUSA HA, MARTLEW V, BRISCOE L, PEREZ-CASAL M, TOH CH. Postnatal screening for thrombophilia in women with severe pregnancy complications. *Obstet Gynecol* 2001;97:753-9.
56. BARBARINO-MONNIER P, GOBERT B, RIBON AM, SCHWEITZER M, FAURE GC, BENE MC. [Isotypic surveillance of anti-cardiolipin antibodies and high risk pregnancies]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)* 1997;26:164-5.
57. RUEDA MERLANO ML. Anticuerpos antifosfolipideos y su relacion con la hipertension inducida por el embarazo preeclampsiaPostgrado *Ginecologia y Obstetricia*. Santafe de Bogota: Escuela Colombiana de Medicina - Faculta de Medicina, 1995 (vol Grau de Postgrado en Ginecologia y Obstetricia).
58. BIRDSALL M, PATTISON N, CHAMLEY L. Antiphospholipid antibodies in pregnancy. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 1992;32:328-30.
59. EL-ROEIY A, MYERS SA, GLEICHER N. The relationship between autoantibodies and intrauterine growth retardation in hypertensive disorders of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1991;164:1253-61.
60. HOSSAIN N, SHAMSI T, SOOMRO N. Frequency of thrombophilia in patients with adverse pregnancy outcome. *J Pak Med Assoc* 2005;55:245-7.
61. KALELI B, KALELI I, AKTAN E, TURAN C, AKSIT F. Antiphospholipid antibodies in eclamptic women. *Gynecol Obstet Invest* 1998;45:81-4.
62. KARPOV N, BARANOV AA, SHILKINA NP, et al. [Cardiolipin antibodies in pregnancy of high risk]. *Klin Med (Mosk)* 1999;77:19-22.
63. KATANO K, AOKI A, SASA H, OGASAWARA M, MATSUURA E, YAGAMI Y. beta 2-Glycoprotein I-dependent anticardiolipin antibodies as a predictor of adverse pregnancy outcomes in healthy pregnant women. *Hum Reprod* 1996;11:509-12.
64. KOUASSI D, DIAFOUKA F, SAWADOGO GD, et al. [Antiphospholipid antibodies in African women presenting obstetrical complications]. *Ann Biol Clin (Paris)* 2004;62:213-5.
65. KUPFERMINC MJ, ELDOR A, STEINMAN N, et al. Increased frequency of genetic thrombophilia in women with complications of pregnancy. *N Engl J Med* 1999;340:9-13.
66. LYNCH A, BYERS T, EMLLEN W, RYNES D, SHETTERLY SM, HAMMAN RF. Association of antibodies to beta2-glycoprotein 1 with pregnancy loss and pregnancy-induced hypertension: a prospective study in low-risk pregnancy. *Obstet Gynecol* 1999;93:193-8.
67. MATTHIESEN LS, BERG G, ERNERUDH J, SKOGH T. A prospective study on the occurrence of autoantibodies in low-risk pregnancies. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1999;83:21-6.

68. MOODLEY J, BHOOLA V, DUURSMA J, PUDIFIN D, BYRNE S, KENOYER DG. The association of antiphospholipid antibodies with severe early-onset pre-eclampsia. *S Afr Med J* 1995;85:105-7.
69. OGUNYEMI D, KU W, ARKEL Y. The association between inherited thrombophilia, antiphospholipid antibodies and lipoprotein A levels with obstetrical complications in pregnancy. *J Thromb Thrombolysis* 2002;14:157-62.
70. PARRY S, MACONES GA, ROTH NW, DESPERITO TJ, MARZULLO A, MORGAN MA. Antiphospholipid antibodies in chronic hypertension: the value of screening during pregnancy. *Am J Perinatol* 1998;15:527-31.
71. NODLER J, MOOLAMALLA SR, LEDGER EM, NUWAYHID BS, MULLA ZD. Elevated antiphospholipid antibody titers and adverse pregnancy outcomes: analysis of a population-based hospital dataset. *BMC Pregnancy Childbirth* 2009;9:11.
72. QUEYREL V, DUCLOY-BOUTHORS AS, MICHON-PASTUREL U, et al. [Antiphospholipid antibodies in HELLP syndrome: clinical and biological study in 68 women]. *Rev Med Interne* 2003;24:158-64.
73. RAJEWSKI M, SKRZYPCZAK J. [Frequency of antiphospholipid antibodies and factor V (G1691A), prothrombin (G20210A) gene polymorphism among women with pregnancy complications]. *Pol Arch Med Wewn* 2006;115:417-25.
74. RAO AA, ANANTHAKRISHNA NC. Anticardiolipin antibodies in eclampsia. *Int J Gynaecol Obstet* 1992;38:37-40.
75. SCOTT RA. Anti-cardiolipin antibodies and pre-eclampsia. *Br J Obstet Gynaecol* 1987;94:604-5.
76. STUART RA, KORNMAN LH, MCHUGH NJ. A prospective study of pregnancy outcome in women screened at a routine antenatal clinic for anticardiolipin antibodies. *Br J Obstet Gynaecol* 1993;100:599-600.
77. ULCOVA-GALLOVA Z, BOUSE V, KRIZANOVSKA K, BALVIN M, ROKYTA Z, NETRVALOVA L. Beta 2-glycoprotein I is a good indicator of certain adverse pregnancy conditions. *Int J Fertil Womens Med* 2001;46:304-8.
78. UNCU G, OZAN H, KUCUKERDOGAN I, CENGIZ C. Anticardiolipin antibodies in pregnancy induced hypertension. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1996;70:97-100.
79. YAMADA H, ATSUMI T, KOBASHI G, et al. Antiphospholipid antibodies increase the risk of pregnancy-induced hypertension and adverse pregnancy outcomes. *J Reprod Immunol* 2009;79:188-95.
80. YAMAMOTO T, YOSHIMURA S, GESHI Y, et al. Measurement of antiphospholipid antibody by ELISA using purified beta 2-glycoprotein I in preeclampsia. *Clin Exp Immunol* 1993;94:196-200.
81. ZEEMAN GG, ALEXANDER JM, MCINTIRE DD, LEVENO KJ. The significance of antiphospholipid antibodies in pregnant women with chronic hypertension. *Am J Perinatol* 2004;21:275-9.
82. ZENDEJAS CERVANTES LH, ROMERO ROMERO H, LECHUGA MARTIN DEL CAMPO A, et al. [Preeclampsia-eclampsia: a change in utero-placental microcirculation. Immunologic, histologic, and biochemical features]. *Rev Alerg Mex* 2002;49:80-6.
83. RAJAH SB, MOODLEY J, PUDIFIN D, DUURSMA J. Anticardiolipin Antibodies in Hypertensive Emergencies in Pregnancy. *Clinical and Experimental Hypertension Part B-Hypertension in Pregnancy* 1990;9:267-271.

84. BAPTISTA-GONZALEZ HA, ROSENFELD-MANN F, SAAVEDRA-TREJO MR, CASTRO-LOPEZ JL, PENUELA-OLAYA MA. [Changes in the thrombophilic status in patients with pre-eclampsia]. *Ginecol Obstet Mex* 1999;67:176-82.
85. VASQUEZ D SD, DE ZUBIRIA A, HENAO S, MARTINEZ K. Relacion existente entre anticuerpos antifosfolipideos y preeclampsia. *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecologia* 1996;47:181-184.
86. ANDRADE M, ALVARO R, SEKLER E. Anticuerpos fosfolipídeos: frecuencia en preeclampsia y otros estados hipertensivos del embarazo. *Medicina Interna (Caracas)* 1997;13:219-26.
87. DA SILVA MA, MENDEZ MM. Preeclampsia y anticuerpos anticardiolipina. Comisión de Estudios de Postgrado para obtenção do grau de Especialista. Caracas: Universidad Central de Venezuela, 1998 (vol Postgrado).
88. OPATRYN L, DAVID M, KAHN SR, SHRIER I, REY E. Association between antiphospholipid antibodies and recurrent fetal loss in women without autoimmune disease: a metaanalysis. *J Rheumatol* 2006;33:2214-21.
89. POLANCZYK G, DE LIMA MS, HORTA BL, BIEDERMAN J, ROHDE LA. The worldwide prevalence of ADHD: a systematic review and metaregression analysis. *Am J Psychiatry* 2007;164:942-8.
90. PETRI M. Epidemiology of the antiphospholipid antibody syndrome. *J Autoimmun* 2000;15:145-51.
91. JÜNI P, ALTMAN D, EGGER M. Assessing the quality of randomized controlled trials. In: Egger M, Smith GD, Altman D, eds. *Systematic Reviews in Health Care. Metanalysis in context*. London: BMJ Books, 2001.
92. HARLOW FH, BROWN MA. The diversity of diagnoses of preeclampsia. *Hypertens Pregnancy* 2001;20:57-67.
93. CONDE-AGUDELO A, VILLAR J, LINDHEIMER M. World Health Organization systematic review of screening tests for preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2004;104:1367-91.
94. CNOSSEN JS, TER RIET G, MOL BW, et al. Are tests for predicting pre-eclampsia good enough to make screening viable? A review of reviews and critical appraisal. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2009;88:758-65.
95. SIBAI B, DEKKER G, KUPFERMINC M. Pre-eclampsia. *Lancet* 2005;365:785-99.
96. ODEGARD RA, VATTEN LJ, NILSEN ST, SALVESEN KA, AUSTGULEN R. Risk factors and clinical manifestations of pre-eclampsia. *Bjog* 2000;107:1410-6.
97. PRITCHARD JA, MACDONALD PC, GANT NF. *Williams Obstetrics*. Norwalk, Connecticut: Appleton-Century-Crofts, 1985.
98. ACOG technical bulletin. Hypertension in pregnancy. Number 219--January 1996 (replaces no. 91, February 1986). Committee on Technical Bulletins of the American College of Obstetricians and Gynecologists. *Int J Gynaecol Obstet* 1996;53:175-83.

3.2 ARTIGO SUBMETIDO PARA PUBLICAÇÃO

**ASSOCIATION OF ANTICARDIOLIPIN ANTIBODIES WITH
PREECLAMPSIA: SYSTEMATIC REVIEW AND METANALYSIS**

Aline Defaveri do Prado, Bernardo Lessa Horta, Deise Marcela Piovesan,
Henrique Luiz Staub

*Rheumatology Department, São Lucas Hospital, Pontifical Catholic University
of Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brazil; Post Graduate Program
in Epidemiology, Federal University of Pelotas, Pelotas, Brazil.*

*Correspondence to:
Aline Defaveri do Prado
Serviço de Reumatologia
Hospital São Lucas da PUCRS
Av. Ipiranga 6690, sala 220
CEP 90610-000 – Porto Alegre – Brasil
e-mail: adprado@gmail.com*

Abstract

Objective: This study was aimed at systematically reviewing the evidence of the association of anticardiolipin (aCL) antibodies with preeclampsia (PE). **Methods:** PUBMED and LILACS were perused up to June 2009, citations were searched on ISI Web of Knowledge database, textbooks and reference lists were reviewed, and experts were contacted. Inclusion criteria: cohorts, case-controls or controlled cross-sectional studies; healthy pregnancy as controls; no autoimmune diseases; IgG and/or IgM aCL antibody ≥ 20 units by ELISA; endpoint PE. **Results:** The search generated 68,528 entries. A total of 64 full-text articles were reviewed and 12 studies were included in the metaanalysis. Pooled odds ratio (OR) for association of aCL antibodies with PE was 2.86 (95%CI 1.37-5.98). Pooled OR for aCL antibodies and severe PE was 11.15 (95%CI 2.66-46.75). A funnel plot showed minor asymmetry, while Egger's test was not significant ($P= 0.359$). Metaregression identified study design and size as related to heterogeneity; proportion of between-study variance explained by these variables was respectively 59.83% and 38.83%. **Conclusion:** Moderate to high levels of aCL antibodies are associated with occurrence of PE.

Keywords: anticardiolipin antibodies, preeclampsia, metaanalysis.

INTRODUCTION

Anticardiolipin (aCL) antibodies have been linked to so-called antiphospholipid syndrome (APS), a thrombotic diathesis in young adults¹. Preeclampsia (PE) comprises one of the pregnancy morbidities seen in APS². The frequency of PE in pregnant women with APS is about 50%³. The incidence of aCL antibodies in patients with PE can reach 16%, according to a narrative review⁴.

Preeclampsia (PE) occurs in approximately 8% of pregnancies. In the United States, PE is the reason for maternal death in 16.1% of pregnancies, while in Latin America it causes 25.7% of all maternal deaths⁵.

The role of aCL antibodies as a risk factor for PE in women with no evidence of autoimmune diseases has been the focus of many studies for the last decades, mainly cohort and case-control studies⁶⁻²⁵.

Even though IgG and IgM aCL ELISA was standardized in 1987²⁶, not all studies in this research have complied with these recommendations. Different cutoffs and arbitrary stratification of aCL titers make clinical associations somewhat difficult. The relationship of aCL antibodies with PE remains controversial. The objective of this study was to systematically review current evidence on the association of moderate to high aCL levels with PE.

METHODS

Data sources

The following search strategies were used: *PUBMED* and *LILACS* databases were perused; *ISI Web of Science* database citation was searched for papers citing the articles identified; specialized textbooks and the reference list of identified papers were reviewed, and authors and APS experts were contacted (attachment 1). Each search strategy is detailed below and in the search strategy flow chart (attachment 2).

The following keywords were used to search *PUBMED* and *LILACS* databases up to June 2009: (1) *antiphospholipid syndrome*, (2) *Hughes' syndrome*, (3) *anticardiolipin antibodies*, (4) *antiphospholipid antibodies*, (5) *anti-cardiolipin*, (6) *preeclampsia* and (7) *pre-eclampsia*.

Initially, abstracts were reviewed by the first author (do Prado AD) and selected for further reading if they fulfilled the following criteria: cohort, case-control or controlled cross-sectional studies; control group of healthy pregnant women; absence of autoimmune diseases in cases and controls; IgG and/or IgM aCL antibody ELISA cutoff \geq 20 GPL or MPL units²; endpoint PE with no restriction of definition or stratification of severity. Detailed data about PE definition and classification were collected from the studies, when available. If a criterion was not met because of insufficient information, the abstract was set aside for further evaluation and full-text analysis. Other reasons for the exclusion of articles were: studies about issues not related to the association between aCL antibodies and PE, narrative reviews or guidelines, case reports or case series, and experimental research. After finalization of keyword database computer search, *ISI Web*

of Knowledge citation search was performed on all *PUBMED* studies selected for full-text review, as well as *PUBMED* guidelines and reviews. Finally, forty APS scientific authorities were contacted via email and asked about unpublished and ongoing studies that could meet inclusion criteria. Full-text studies selected at the end of the search were retrieved and independently reviewed by two of the authors (do Prado AD and Piovesan DM). They were included in the metanalysis if they continued to meet criteria previously described. Disagreements were resolved on consensus and discussion with a third and fourth author (Horta BL and Staub HL). Authors were contacted via e-mail if data were missing.

Data extraction

A protocol for data extraction was defined and evaluated by three of the authors (do Prado AD, Staub HL and Horta BL). The following information was extracted from every paper: journal, first author's name, year of publication, quality score, study design, PE definition, PE severity, timing of aCL antibody levels in relation to diagnosis of PE, number of patients with diagnosis of PE, number of patients without diagnosis of PE, number of patients with positive aCL antibodies and PE, number of patients without aCL antibodies and with diagnosis of PE, number of patients with positive aCL antibodies and without diagnosis of PE, number of patients without aCL antibodies and without PE, odds ratio (OR) or relative risk, and 95% confidence interval (95%CI). Authors were contacted if important information was missing.

Data from selected studies were extracted independently by two of the authors (do Prado AD and Piovesan DM) and a database was created. The database was reviewed by the first author (do Prado AD). Disagreements were discussed with a third author (Horta BL).

The authors do Prado AD and Piovesan DM performed quality assessment of the studies included in the metanalysis. Quality assessment criteria were defined *a priori* based on a modification of Downs and Black criteria ²⁷ (attachment 3). Sixteen of the twenty-six original questions were used; ten excluded items were only applicable to randomized clinical trials. The total score of study quality was the sum of each individual question score. Disagreements were discussed with a third author (Horta BL).

Data analysis

Data analysis was performed with STATA 11.0 software (Stata Corp, College Station, TX).

The Q test was used to evaluate heterogeneity among the primary studies²⁸, and a P value < 0.05 was used to define the presence of heterogeneity. Once heterogeneity was confirmed, the DerSimonian and Laird random effect model²⁹ was used to pool the OR and 95% CI.

A funnel plot and Egger's test³⁰ were used to assess publication bias. Furthermore, stratified analysis according to study size (studies with total number of participants being 200 or less and 201 or more) was used to assess the impact of publication bias on pooled OR.

Metaregression (METAREG command in STATA software) was used to evaluate the association of pooled OR with individual primary study variables, as well as to evaluate the contribution of each variable to heterogeneity³¹. Primary study variables used in the metaregression model were: study design, study quality and study size. It was not possible to add PE definition to the model, because some primary studies utilized more than one PE definition, while others did not report a definition of PE at all.

RESULTS

After full-text analysis of 57 *PUBMED* and 7 *LILACS* studies, 12 primary studies were included in the metaanalysis^{7, 9, 11, 16, 23-25, 32-36}. A total of 52 studies were excluded. Forty-five papers were excluded^{6, 8, 10, 12-15, 17, 19, 20, 37-70} due to the following reasons: not possible to calculate measure of effect (10 studies); outcome other than PE (nine studies); aCL antibodies not tested by ELISA and/or aCL antibody cutoff lower than 20 GPL or MPL units (30 studies); absence of a normal pregnancy control group (nine studies); and study design other than cohort, case-control or controlled cross-sectional (three studies). The total sum was more than 45 because some studies fulfilled more than one exclusion criteria. Five papers had null results, in other words, they showed no aCL antibodies above 20 GPL or MPL in pregnant women with and without PE^{18, 21, 22, 71, 72}. Therefore, these null studies were not included in the metaanalysis. Two full-text studies were not found for complete review^{73, 74}.

Table 1 describes the characteristics of the studies. Eight studies were cohorts and four were case-controls. Sample size varied from 50 (Bowen, 2002³³) to 1210 patients (Harris, 1991³⁴). The lowest quality score was 10 (Bowen, 2002³³) and the highest was 17 (Mello, 2005²⁵).

Table 2 presents the definitions of PE used in every study, as well as the criteria used to define PE severity. The most frequently used guideline for PE classification was the 2002 ACOG practice bulletin⁷⁵, cited in six studies.

Figure 1 presents the OR and 95%CI of every study. There was heterogeneity among the studies; nine studies demonstrated that aCL antibodies increased the chance of PE development; four studies reported statistically significant associations, whereas

five studies did not report statistically significant associations. Three studies documented a small and not significant protective effect of aCL antibodies. The heterogeneity among studies was significant ($I^2 = 68.7\%$), and therefore, the DerSimonian and Laird random effect model²⁸ was used to pool the effect estimates (pooled OR 2.86, 95%CI 1.37-5.98).

The Mello²⁵, Lee¹¹ and Yasuda⁹ studies divided PE cases into mild and severe groups, and the three studies provided enough information to separately estimate the effect of aCL antibodies on mild and severe PE. The Branch⁷ and Kupferminc³⁵ studies included only cases of severe PE. The remaining studies^{16, 23, 24, 32-34, 36} worked with any severity of PE or severity was not specified in the narrative (figure 2). On the other hand, a strong association of aCL antibodies with PE was demonstrated among studies that included only severe cases of PE (figure 3).

A funnel plot showed that the distribution of studies was slightly asymmetric, due to the small number of small-size negative studies. This asymmetry suggested that small-size studies with negative results for association of aCL antibodies with PE were less likely to be published. However, Egger's test was not significant ($P = 0.359$). According to table 3, pooled OR for studies with 200 or less subjects was not significant (1.99; 95%CI 0.58 – 6.82). Among studies with 201 or more participants, there was a strong association between aCL antibodies and PE (pooled OR 3.86; 95%CI 1.32 – 10.93), and pooled OR value was higher than for small studies.

Table 4 shows metaregression analysis results. Estimate of between-study variance (τ^2) decreased from 1.295 to 0.520 when the variable study design was included in the metaregression model. Therefore, 59.8% of heterogeneity among studies was caused by differences in study design among the primary studies. Study quality, on

the other hand, was not important in explaining heterogeneity. Study size decreased the estimate of between-study variance (τ^2) to 0.792, probably explaining 38.83% of heterogeneity.

Table 5 shows the metaanalysis for the eight case-control studies. Four studies found a positive but not statistically significant association. Two studies showed a statistically significant association and two demonstrated a protective association, although not significant. Pooled OR estimate and 95% CI indicated a weaker and non-significant association of aCL antibodies with PE, compared to cohorts. There was low heterogeneity and the Q test was not significant.

Table 6 shows the metaanalysis for the four cohort studies. One study demonstrated a slightly protective and non-significant association. Three studies showed a positive association, but only two of them were statistically significant. Association of aCL antibodies with PE was higher among cohorts than case-controls. The I^2 test found low heterogeneity and the Q test was not significant.

DISCUSSION

This systematic review disclosed a great number of database entries (68,528 abstracts) at the beginning of the search. However, this number went down to 64 studies for full-text review and to only 12 studies for inclusion in a metanalysis. A small number of final studies were also seen in a metanalysis of aCL antibodies and fetal loss risk⁷⁶. Limited knowledge of APS (few decades worth) and its low prevalence in comparison to other disorders are possible explanations for this finding. On the other hand, systematic reviews and metanalysis of observational studies of other issues have gathered a substantial number of publications. A metanalysis of the prevalence of attention deficit hyperactivity disorder included 102 primary studies, for example⁷⁷.

There were a substantial number of null studies^{18, 21, 22, 71, 72} and, since no positive aCL antibodies were found in either healthy pregnancy or PE patients, they were not included in our metanalysis. These null studies were of small size, ranging from 20 to 52 subjects per group. Low PE incidence and low frequency of aCL antibodies in these studies can account for these null results.

Despite clear expert recommendations on ELISA measurement of aCL and test reporting in GPL and MPL units^{26, 78, 79}, this was the most frequent reason for excluding papers. Great variability in aCL antibody assays, cut-off values and reporting of results prevented the inclusion of 30 studies in the metanalysis. Only studies that displayed at least moderate levels of aCL antibodies were considered in our systematic review, avoiding irrelevant autoantibody levels² in the final analysis.

Quality assessment is a very important step in systematic review process. However, there is no consensus on the best instrument to be applied, and no specific

methods of evaluation for observational research are available⁸⁰. Also, there is no agreement on whether quality assessment should be performed with scales or its components⁸⁰. To fulfill the needs of this systematic review, quality was assessed with an instrument modified from Downs and Black feasibility checklist²⁷.

PE definitions were heterogeneous in the primary studies, reflecting the lack of consensus in the classification of gestational hypertensive disorders. As already recognized by other authors⁸¹, the use of distinct criteria for PE by different research groups introduces difficulties in reviewing the issue⁸².

To date, no other systematic review exclusively of the association of aCL antibodies with PE has been published. A systematic review of screening tests for PE in the general population included aCL antibodies in the search strategy⁸³. It concluded that there were no suitable tests for this purpose until 2004, and specific longitudinal research was necessary. Another systematic review on many maternal risk factors for PE included aCL antibody and lupus anticoagulant⁸⁴. Five studies were selected, and metanalysis of two cohorts found a relative risk of 9.73 (95%CI 4.34-21.75). Nevertheless, these studies were not particularly directed at aCL antibody evaluation, and essential information such as assays and cutoff values was not available².

This systematic review and metanalysis of observational studies documented an association of aCL antibodies with PE in women without autoimmune diseases. Pooled OR demonstrates that the presence of aCL antibodies increases the odds of PE 2.86 times (95%CI 1.37-5.98). In studies involving patients with mild PE, this association was weaker, indicating the existence of a dose-response relationship and reinforcing the possibility of a causal association.

Funnel plot graphic analysis suggested that small negative studies were less likely to be published. This finding points to a publication bias. On the other hand, Egger's test was not significant, indicating a low possibility of true bias. Besides, when studies were analyzed according to their size, the pooled OR remained statistically significant for studies with more than 200 individuals. Thus, an association between aCL antibodies and PE remained among large studies. Considering their decreased susceptibility to publication bias, if such bias exists, we do not believe that the pooled odds ratio determined here resulted from a publication bias. The lack of association among studies with 200 subjects or fewer supports the need for large sample sizes when examining this topic.

Metaregression indicated study design as the main source of heterogeneity among studies. Pooled odds ratio was significantly higher among cohorts (OR 10.18 95%CI 2.42 – 42.80) than case-control studies. This finding can be due to decreased vulnerability of cohorts to information bias, which tends to underestimate effect measures. A disadvantage of a cohort study is the need for a long period of follow up. Since there is low incidence of moderate or high levels aCL antibodies in the general population⁷⁹, a large sample size would be necessary to evaluate their association with PE in a cohort. This problem could be solved by evaluating a high-risk population for PE, for example, women with recurrent PE, twin pregnancy, obesity and other traditional risk factors^{85, 86}.

Considering the small number of final studies, small study size and limited number of aCL-positive subjects in primary studies, results from this study should be cautiously interpreted. Their understanding is connected to the concepts and limitations of metanalysis of observational studies.

CONCLUSION

This systematic review and metaanalysis of observational studies demonstrated an association of moderate to high levels of aCL antibodies with PE in pregnant women without autoimmune diseases. This association seemed to be more important among cohort studies. There was no statistical evidence for publication bias in this work.

REFERENCES

1. HUGHES GR, HARRIS NN, GHARAVI AE. The anticardiolipin syndrome. *J Rheumatol* 1986;13:486-9.
2. MIYAKIS S, LOCKSHIN MD, ATSUMI T, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost* 2006;4:295-306.
3. BRANCH DW, SILVER RM, BLACKWELL JL, READING JC, SCOTT JR. Outcome of treated pregnancies in women with antiphospholipid syndrome: an update of the Utah experience. *Obstet Gynecol* 1992;80:614-20.
4. KUPFERMINEC MJ. Thrombophilia and pregnancy. *Reprod Biol Endocrinol* 2003;1:111.
5. KHAN KS, WOJDYLA D, SAY L, GULMEZOGLU AM, VAN LOOK PF. WHO analysis of causes of maternal death: a systematic review. *Lancet* 2006;367:1066-74.
6. DEKKER GA, DE VRIES JI, DOELITZSCH PM, et al. Underlying disorders associated with severe early-onset preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1995;173:1042-8.
7. BRANCH DW, ANDRES R, DIGRE KB, ROTE NS, SCOTT JR. The association of antiphospholipid antibodies with severe preeclampsia. *Obstet Gynecol* 1989;73:541-5.
8. GANZEVOORT W, REP A, DE VRIES JI, BONSEL GJ, WOLF H, PETRA-INVESTIGATORS FT. Relationship between thrombophilic disorders and type of severe early-onset hypertensive disorder of pregnancy. *Hypertens Pregnancy* 2007;26:433-45.
9. YASUDA M, TAKAKUWA K, TOKUNAGA A, TANAKA K. Prospective studies of the association between anticardiolipin antibody and outcome of pregnancy. *Obstet Gynecol* 1995;86:555-9.
10. BRIONES-GARDUNO JC, DIAZ DE LEON-PONCE M, BARRIOS-PRIETO E, SALAZAR-EXAIRE JD. [IgM antiphospholipid antibodies in preeclampsia-eclampsia]. *Cir Cir* 2003;71:449-54.
11. LEE RM, BROWN MA, BRANCH DW, WARD K, SILVER RM. Anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein-I antibodies in preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2003;102:294-300.
12. BRANCH DW, PORTER TF, RITTENHOUSE L, et al. Antiphospholipid antibodies in women at risk for preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2001;184:825-32; discussion 832-4.
13. VALDES-MACHO E, CABIEDES J, VILLA AR, CABRAL AR, ALARCON-SEGOVIA D. Anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein-I antibodies in hypertensive disorders of pregnancy. *Arch Med Res* 2002;33:460-5.
14. VON TEMPELHOFF GF, HEILMANN L, SPANUTH E, KUNZMANN E, HOMMEL G. Incidence of the factor V Leiden-mutation, coagulation inhibitor deficiency, and elevated antiphospholipid-antibodies in patients with preeclampsia or HELLP-syndrome. Hemolysis, elevated liver-enzymes, low platelets. *Thromb Res* 2000;100:363-5.
15. HEILMANN L, SCHNEIDER DM, VON TEMPELHOFF GF, KUSE S. Antiphospholipid-antibodies and other thrombophilic defects in patients with a

- history of early onset severe preeclampsia or HELLP-syndrome. *Geburtshilfe Und Frauenheilkunde* 2000;60:95-100.
16. DREYFUS M, HEDELIN G, KUTNAHORSKY R, et al. Antiphospholipid antibodies and preeclampsia: a case-control study. *Obstet Gynecol* 2001;97:29-34.
 17. NESTOROWICZ B, OSTANEK L, RONIN-WALKNOWSKA E, et al. [Antiphospholipid antibodies in high-risk pregnancy]. *Ginekol Pol* 2000;71:500-8.
 18. MARTINEZ-ABUNDIS E, GONZALEZ-ORTIZ M, CORTES-LLAMAS V, SALAZAR-PARAMO M. Anticardiolipin antibodies and the severity of preeclampsia-eclampsia. *Gynecol Obstet Invest* 1999;48:168-71.
 19. FIALOVA L, KALOUSOVA M, SOUKUPOVA J, et al. Markers of inflammation in preeclampsia. *Prague Med Rep* 2004;105:301-10.
 20. KURKI T, AILUS K, PALOSUO T, YLIKORKALA O. Antibodies to oxidized low-density lipoprotein, cardiolipin, and phosphatidyl serine fail, to predict the risk of preeclampsia. *Hypertension in Pregnancy* 1996;15:251-256.
 21. TAYLOR PV, SKERROW SM, REDMAN CW. Pre-eclampsia and anti-phospholipid antibody. *Br J Obstet Gynaecol* 1991;98:604-6.
 22. D'ANNA R, SCILIPOTI A, LEONARDI J, SCUDERI M, JASONNI VM, LEONARDI R. Anticardiolipin antibodies in pre-eclampsia and intrauterine growth retardation. *Clin Exp Obstet Gynecol* 1997;24:135-7.
 23. ALLEN JY, TAPIA-SANTIAGO C, KUTTEH WH. Antiphospholipid antibodies in patients with preeclampsia. *Am J Reprod Immunol* 1996;36:81-5.
 24. FACCHINETTI F, MAROZIO L, FRUSCA T, et al. Maternal thrombophilia and the risk of recurrence of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2009;200:46 e1-5.
 25. MELLO G, PARRETI E, MAROZIO L, et al. Thrombophilia is significantly associated with severe preeclampsia: results of a large-scale, case-controlled study. *Hypertension* 2005;46:1270-4.
 26. HARRIS EN, HUGHES GR. Standardising the anti-cardiolipin antibody test. *Lancet* 1987;1:277.
 27. DOWNS SH BN. The feasibility of creating a checklist for the assessment of the methodological quality both of randomized and non-randomized studies of health care interventions. *J Epidemiol Community Health* 1998;52:377-384.
 28. NORMAND S. Meta-analysis: formulating, evaluating, combining, and reporting. *Statistics in Medicine* 1999;18:321-59.
 29. DERSIMONIAN R LN. Meta-analysis in clinical trials. *Controlled Clinical Trials* 1986;7:177-88.
 30. EGGER M, DAVEY SMITH G, SCHNEIDER M, MINDER C. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. *Bmj* 1997;315:629-34.
 31. THOMPSON SG, HIGGINS JP. How should meta-regression analyses be undertaken and interpreted? *Stat Med* 2002;21:1559-73.
 32. FADEN D, TINCANI A, TANZI P, et al. Anti-beta 2 glycoprotein I antibodies in a general obstetric population: preliminary results on the prevalence and correlation with pregnancy outcome. Anti-beta2 glycoprotein I antibodies are associated with some obstetrical complications, mainly preeclampsia-eclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1997;73:37-42.
 33. BOWEN RS, MOODLEY J, DUTTON MF, FICKL H. Antibodies to oxidised low-density lipoproteins and cardiolipin in pre-eclampsia and eclampsia. *J Obstet Gynaecol* 2002;22:123-6.
 34. HARRIS EN, SPINNATO JA. Should anticardiolipin tests be performed in otherwise healthy pregnant women? *Am J Obstet Gynecol* 1991;165:1272-7.

35. KUPFERMINC MJ, FAIT G, MANY A, GORDON D, ELDOR A, LESSING JB. Severe preeclampsia and high frequency of genetic thrombophilic mutations. *Obstet Gynecol* 2000;96:45-9.
36. PATTISON NS, CHAMLEY LW, MCKAY EJ, LIGGINS GC, BUTLER WS. Antiphospholipid antibodies in pregnancy: prevalence and clinical associations. *Br J Obstet Gynaecol* 1993;100:909-13.
37. BENDON RW, HAYDEN LE, HURTUBISE PE, et al. Prenatal screening for anticardiolipin antibody. *Am J Perinatol* 1990;7:245-50.
38. ANDELOVA K, SULA K, VELEBIL P. [Importance of anticardiolipin antibody screening in pregnancy]. *Ceska Gynekol* 1998;63:446-9.
39. FIGUEIRO-FILHO EA, OLIVEIRA VM. Association of recurrent abortion, fetal loss and severe pre-eclampsia with hereditary thrombophilias and antiphospholipid antibodies in pregnant women of central Brazil. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia* 2007;29:561-567.
40. GOMEZ JIMENEZ JM, GARCIA HI, GALLEGO JG, GALEANO AQ, RESTREPO CM, AGUIRRE N. Asociacion entre anticardiolipina y anti b2 glicoproteina I con preeclampsia antes de las 35 semanas de gestacion. *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecologia* 2001;52:60-66.
41. BRIONES-GARDUNO JC, AL E. Anticuerpos anticardiolipina en la preeclampsia/eclampsia. *Revista de la Asociacion Mexicana de Medicina Critica y Terapia Intensiva* 1997;11:194-196.
42. ALFIREVIC Z, MOUSA HA, MARTLEW V, BRISCOE L, PEREZ-CASAL M, TOH CH. Postnatal screening for thrombophilia in women with severe pregnancy complications. *Obstet Gynecol* 2001;97:753-9.
43. BARBARINO-MONNIER P, GOBERT B, RIBON AM, SCHWEITZER M, FAURE GC, BENE MC. [Isotypic surveillance of anti-cardiolipin antibodies and high risk pregnancies]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)* 1997;26:164-5.
44. RUEDA MERLANO ML. Anticuerpos antifosfolipideos y su relacion con la hipertension inducida por el embarzo preeclampsia. *Postgrado Ginecologia y Obstetricia. Santafe de Bogota: Escuela Colombiana de Medicina - Faculta de Medicina, 1995 (vol Grau de Postgrado en Ginecologia y Obstetricia).*
45. BIRDSALL M, PATTISON N, CHAMLEY L. Antiphospholipid antibodies in pregnancy. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 1992;32:328-30.
46. EL-ROEY A, MYERS SA, GLEICHER N. The relationship between autoantibodies and intrauterine growth retardation in hypertensive disorders of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1991;164:1253-61.
47. HOSSAIN N, SHAMSI T, SOOMRO N. Frequency of thrombophilia in patients with adverse pregnancy outcome. *J Pak Med Assoc* 2005;55:245-7.
48. KALELI B, KALELI I, AKTAN E, TURAN C, AKSIT F. Antiphospholipid antibodies in eclamptic women. *Gynecol Obstet Invest* 1998;45:81-4.
49. KARPOV N, BARANOV AA, SHILKINA NP, et al. [Cardiolipin antibodies in pregnancy of high risk]. *Klin Med (Mosk)* 1999;77:19-22.
50. KATANO K, AOKI A, SASA H, OGASAWARA M, MATSUURA E, YAGAMI Y. beta 2-Glycoprotein I-dependent anticardiolipin antibodies as a predictor of adverse pregnancy outcomes in healthy pregnant women. *Hum Reprod* 1996;11:509-12.
51. KOUASSI D, DIAFOUKA F, SAWADOGO GD, et al. [Antiphospholipid antibodies in African women presenting obstetrical complications]. *Ann Biol Clin (Paris)* 2004;62:213-5.

52. KUPFERMINC MJ, ELDOR A, STEINMAN N, et al. Increased frequency of genetic thrombophilia in women with complications of pregnancy. *N Engl J Med* 1999;340:9-13.
53. LYNCH A, BYERS T, EMLLEN W, RYNES D, SHETTERLY SM, HAMMAN RF. Association of antibodies to beta2-glycoprotein 1 with pregnancy loss and pregnancy-induced hypertension: a prospective study in low-risk pregnancy. *Obstet Gynecol* 1999;93:193-8.
54. MATTHIESEN LS, BERG G, ERNERUDH J, SKOGH T. A prospective study on the occurrence of autoantibodies in low-risk pregnancies. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1999;83:21-6.
55. MOODLEY J, BHOOLA V, DUURSMA J, PUDIFIN D, BYRNE S, KENOYER DG. The association of antiphospholipid antibodies with severe early-onset pre-eclampsia. *S Afr Med J* 1995;85:105-7.
56. OGUNYEMI D, KU W, ARKEL Y. The association between inherited thrombophilia, antiphospholipid antibodies and lipoprotein A levels with obstetrical complications in pregnancy. *J Thromb Thrombolysis* 2002;14:157-62.
57. PARRY S, MACONES GA, ROTH NW, DESPERITO TJ, MARZULLO A, MORGAN MA. Antiphospholipid antibodies in chronic hypertension: the value of screening during pregnancy. *Am J Perinatol* 1998;15:527-31.
58. NODLER J, MOOLAMALLA SR, LEDGER EM, NUWAYHID BS, MULLA ZD. Elevated antiphospholipid antibody titers and adverse pregnancy outcomes: analysis of a population-based hospital dataset. *BMC Pregnancy Childbirth* 2009;9:11.
59. QUEYREL V, DUCLOY-BOUTHORS AS, MICHON-PASTUREL U, et al. [Antiphospholipid antibodies in HELLP syndrome: clinical and biological study in 68 women]. *Rev Med Interne* 2003;24:158-64.
60. RAJEWSKI M, SKRZYPCZAK J. [Frequency of antiphospholipid antibodies and factor V (G1691A), prothrombin (G20210A) gene polymorphism among women with pregnancy complications]. *Pol Arch Med Wewn* 2006;115:417-25.
61. RAO AA, ANANTHAKRISHNA NC. Anticardiolipin antibodies in eclampsia. *Int J Gynaecol Obstet* 1992;38:37-40.
62. SCOTT RA. Anti-cardiolipin antibodies and pre-eclampsia. *Br J Obstet Gynaecol* 1987;94:604-5.
63. STUART RA, KORNMAN LH, MCHUGH NJ. A prospective study of pregnancy outcome in women screened at a routine antenatal clinic for anticardiolipin antibodies. *Br J Obstet Gynaecol* 1993;100:599-600.
64. ULCOVA-GALLOVA Z, BOUSE V, KRIZANOVSKA K, BALVIN M, ROKYTA Z, NETRVALOVA L. Beta 2-glycoprotein I is a good indicator of certain adverse pregnancy conditions. *Int J Fertil Womens Med* 2001;46:304-8.
65. UNCU G, OZAN H, KUCUKERDOGAN I, CENGIZ C. Anticardiolipin antibodies in pregnancy induced hypertension. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1996;70:97-100.
66. YAMADA H, ATSUMI T, KOBASHI G, et al. Antiphospholipid antibodies increase the risk of pregnancy-induced hypertension and adverse pregnancy outcomes. *J Reprod Immunol* 2009;79:188-95.
67. YAMAMOTO T, YOSHIMURA S, GESHI Y, et al. Measurement of antiphospholipid antibody by ELISA using purified beta 2-glycoprotein I in preeclampsia. *Clin Exp Immunol* 1993;94:196-200.

68. ZEEMAN GG, ALEXANDER JM, McINTIRE DD, LEVENO KJ. The significance of antiphospholipid antibodies in pregnant women with chronic hypertension. *Am J Perinatol* 2004;21:275-9.
69. ZENDEJAS CERVANTES LH, ROMERO ROMERO H, LECHUGA MARTIN DEL CAMPO A, et al. [Preeclampsia-eclampsia: a change in utero-placental microcirculation. Immunologic, histologic, and biochemical features]. *Rev Alerg Mex* 2002;49:80-6.
70. RAJAH SB, MOODLEY J, PUDIFIN D, DUURSMA J. Anticardiolipin Antibodies in Hypertensive Emergencies in Pregnancy. *Clinical and Experimental Hypertension Part B-Hypertension in Pregnancy* 1990;9:267-271.
71. BAPTISTA-GONZALEZ HA, ROSENFELD-MANN F, SAAVEDRA-TREJO MR, CASTRO-LOPEZ JL, PENUELA-OLAYA MA. [Changes in the thrombophilic status in patients with pre-eclampsia]. *Ginecol Obstet Mex* 1999;67:176-82.
72. VASQUEZ D SD, DE ZUBIRIA A, HENAO S, MARTINEZ K. Relacion existente entre anticuerpos antifosfolipideos y preeclampsia. *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecologia* 1996;47:181-184.
73. ANDRADE M, ALVARO R, SEKLER E. Anticuerpos fosfolipídeos: frecuencia en preeclampsia y otros estados hipertensivos del embarazo. *Medicina Interna (Caracas)* 1997;13:219-26.
74. DA SILVA MA, MENDEZ MM. Preeclampsia y anticuerpos anticardiolipina Comisión de Estudios de Postgrado para obtenção do grau de Especialista. Caracas: Universidad Central de Venezuela, 1998 (vol Postgrado).
75. ACOG practice bulletin. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. Number 33, January 2002. *Obstet Gynecol* 2002;99:159-67.
76. OPATRYN L, DAVID M, KAHN SR, SHRIER I, REY E. Association between antiphospholipid antibodies and recurrent fetal loss in women without autoimmune disease: a metaanalysis. *J Rheumatol* 2006;33:2214-21.
77. POLANCZYK G, DE LIMA MS, HORTA BL, BIEDERMAN J, ROHDE LA. The worldwide prevalence of ADHD: a systematic review and metaregression analysis. *Am J Psychiatry* 2007;164:942-8.
78. E. N. HARRIS MLB, C. G. MACKWORTH-YOUNG, A. E. GHARAVI, B. M. PATEL, S. LOIZOU, G. R. V. HUGHES. Anticardiolipin antibodies: detection by radioimmunoassay and association with thrombosis in systemic lupus erythematosus. *Lancet* 1983;322:1211-4
79. PETRI M. Epidemiology of the antiphospholipid antibody syndrome. *J Autoimmun* 2000;15:145-51.
80. JÜNI P, ALTMAN D, EGGER M. Assessing the quality of randomized controlled trials. In: Egger M, Smith GD, Altman D, eds. *Systematic Reviews in Health Care. Metaanalysis in context*. London: BMJ Books, 2001.
81. COMPARSI AB PDCB, POLI DE FIGUEIREDO CE, PAULA LG. Pré-eclâmpsia: diagnóstico e tratamento. *ACTA Médica* 2001;22:293-309.
82. HARLOW FH, BROWN MA. The diversity of diagnoses of preeclampsia. *Hypertens Pregnancy* 2001;20:57-67.
83. CONDE-AGUDELO A, VILLAR J, LINDHEIMER M. World Health Organization systematic review of screening tests for preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2004;104:1367-91.
84. CNOSSEN JS, TER RIET G, MOL BW, et al. Are tests for predicting pre-eclampsia good enough to make screening viable? A review of reviews and critical appraisal. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2009;88:758-65.

85. SIBAI B, DEKKER G, KUPFERMINC M. Pre-eclampsia. *Lancet* 2005;365:785-99.
86. ODEGARD RA, VATTEN LJ, NILSEN ST, SALVESEN KA, AUSTGULEN R. Risk factors and clinical manifestations of pre-eclampsia. *Bjog* 2000;107:1410-6.
87. PRITCHARD JA, MACDONALD PC, GANT NF. *Williams Obstetrics*. Norwalk, Connecticut: Appleton-Century-Crofts, 1985.
88. Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:S1-S22.
89. ACOG technical bulletin. Hypertension in pregnancy. Number 219--January 1996 (replaces no. 91, February 1986). Committee on Technical Bulletins of the American College of Obstetricians and Gynecologists. *Int J Gynaecol Obstet* 1996;53:175-83.
90. DAVEY DA, MACGILLIVRAY I. The classification and definition of the hypertensive disorders of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1986;158:892-8.

3.3 ATTACHMENTS

3.3.1 Attachment 1 - Authors and antiphospholipid syndrome experts contacted by email:

S. Krilis
S. Miyakis
Michael Lochshin
T. Atsumi
Ware Branch
Robin L. Brey
Ricard Cervera
R.H.W.M. Derksen
Philip G. de Groot
T. Koike
Pierluigi L. Meroni
G. Reber
Yehuda Shoenfeld
A. Tincani
Michelle Petri
Paul Fortin
Carl Laskin
P.G. Vlachoyiannopoulos
Marie-Claire Boffa
Jane Salmon
Benjamin Brenner
Joab Chapman
Philippe de Moerloose
Doruk Erkan
Thomas Exner
Ricardo R. Forastiero
Monica Galli
E. Nigel Harris
Thomas Lecompte
Steven R. Levine
Gabriella Moroni
Silvia Pierangeli

Jacob H. Rand

Joyce Rauch

Veronique Regnault

Robert A. S. Roubey

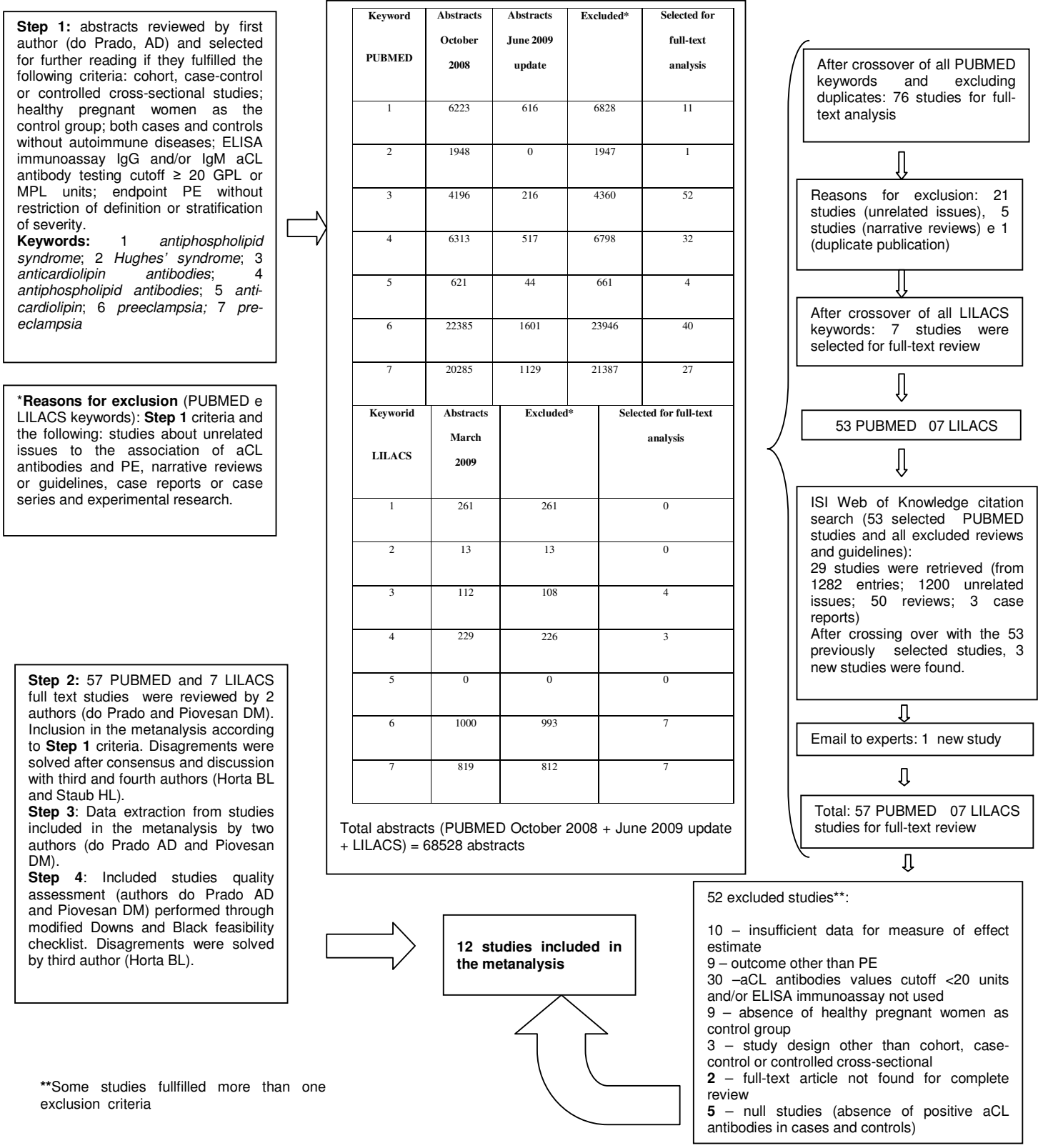
Marielle Sanmarco

Yaniv Sherer

Maria Tektonidou

Pierre Youinou

3.3.2 Attachment 2 – Search strategy flow chart



*Reasons for exclusion (PUBMED e LILACS keywords): **Step 1** criteria and the following: studies about unrelated issues to the association of aCL antibodies and PE, narrative reviews or guidelines, case reports or case series and experimental research.

Step 2: 57 PUBMED and 7 LILACS full text studies were reviewed by 2 authors (do Prado and Piovesan DM). Inclusion in the metanalysis according to **Step 1** criteria. Disagreements were solved after consensus and discussion with third and fourth authors (Horta BL and Staub HL).

Step 3: Data extraction from studies included in the metanalysis by two authors (do Prado AD and Piovesan DM).

Step 4: Included studies quality assessment (authors do Prado AD and Piovesan DM) performed through modified Downs and Black feasibility checklist. Disagreements were solved by third author (Horta BL).

**Some studies fulfilled more than one exclusion criteria

3.3.3 Attachment 3 – Modified Downs and Black Criteria

The maximal possible score is 17. Questions used for quality analysis in this work were as follows:

1. Is the hypothesis/aim/objective of the study clearly described?

Yes = 1 No = 0

2. Are the main outcomes to be measured clearly described in the Introduction or Methods section? *If the main outcomes are first mentioned in the Results section, the question should be answered no.*

Yes = 1 No = 0

3. Are the characteristics of the patients included in the study clearly described? *In cohort studies and trials, inclusion and/or exclusion criteria should be given. In case-control studies, a case-definition and the source for controls should be given.*

Yes = 1 No = 0

5. Are the distributions of principal confounders in each group of subjects to be compared clearly described? *A list of principal confounders is provided.*

Sim = 1 Parcialmente = 1 Não = 0

6. Are the main findings of the study clearly described? *Simple outcome data (including denominators and numerators) should be reported for all major findings so that the reader can check the major analyses and conclusions. (This question does not cover statistical tests which are considered below).*

Yes = 1 No = 0

7. Does the study provide estimates of the random variability in the data for the main outcomes? *In non normally distributed data the inter-quartile range of results should be reported. In normally distributed data the standard error, standard deviation or confidence intervals should be reported. If the distribution of the data is not described, it must be assumed that the estimates used were appropriate and the question should be answered yes.*

Yes = 1

No = 0

9. Have the characteristics of patients lost to follow-up been described? *This should be answered yes where there were no losses to follow-up or where losses to follow-up were so small that findings would be unaffected by their inclusion. This should be answered no where a study does not report the number of patients lost to follow-up.*

Yes = 1

No = 0

10. Have actual probability values been reported(e.g. 0.035 rather than <0.05) for the main outcomes except where the probability value is less than 0.001?

Yes = 1

No = 0

11. Were the subjects asked to participate in the study representative of the entire population from which they were recruited? *The study must identify the source population for patients and describe how the patients were selected. Patients would be representative if they comprised the entire source population, an unselected sample of consecutive patients, or a random sample. Random sampling is only feasible where a list of all members of the relevant population exists. Where a study does not report the proportion of the source population from which the patients are derived, the question should be answered as unable to determine.*

Yes = 1

No = 0

Unable to determine = 0

16. If any of the results of the study were based on “data dredging”, was this made clear? *Any analyses that had not been planned at the outset of the study should be clearly indicated. If no retrospective unplanned subgroup analyses were reported, then answer yes.*

Yes = 1

No = 0

Unable to determine = 0

17. In trials and cohort studies, do the analyses adjust for different lengths of follow-up of patients, or in case-control studies, is the time period between the intervention and outcome the same for cases and controls ? *Where follow-up was the same for all study patients the answer should yes. If different lengths of follow-up were adjusted for by, for example, survival analysis the answer should be yes. Studies where differences in follow-up are ignored should be answered no.*

Yes = 1

No = 0

Unable to determine = 0

18. Were the statistical tests used to assess the main outcomes appropriate? *The statistical techniques used must be appropriate to the data. For example nonparametric*

methods should be used for small sample sizes. Where little statistical analysis has been undertaken but where there is no evidence of bias, the question should be answered yes. If the distribution of the data (normal or not) is not described it must be assumed that the estimates used were appropriate and the question should be answered yes.

Yes = 1

No = 0

Unable to determine = 0

20. Were the main outcome measures used accurate (valid and reliable)? *For studies where the outcome measures are clearly described, the question should be answered yes. For studies which refer to other work or that demonstrates the outcome measures are accurate, the question should be answered as yes.*

Yes = 1

No = 0

Unable to determine = 0

21. Were the patients in different intervention groups (trials and cohort studies) or were the cases and controls (case-control studies) recruited from the same population? *For example, patients for all comparison groups should be selected from the same hospital. The question should be answered unable to determine for cohort and casecontrol studies where there is no information concerning the source of patients included in the study.*

Yes = 1

No = 0

Unable to determine = 0

22. Were study subjects in different intervention groups (trials and cohort studies) or were the cases and controls (case-control studies) recruited over the same period of time? *For a study which does not specify the time period over which patients were recruited, the question should be answered as unable to determine.*

Yes = 1

No = 0

Unable to determine = 0

25. Was there adequate adjustment for confounding in the analyses from which the main findings were drawn? *This question should be answered no for trials if: the main conclusions of the study were based on analyses of treatment rather than intention to treat; the distribution of known confounders in the different treatment groups was not described; or the distribution of known confounders differed between the treatment groups but was not taken into account in the analyses. In nonrandomized studies if the effect of the main confounders was not investigated or confounding was demonstrated but no adjustment was made in the final analyses the question should be answered as no.*

Yes = 1

No = 0

Unable to determine = 0

3.4 TABLES

3.4.1 Table 1 – Primary studies characteristics

Year/Author	Country	Quality*	Study Design**	Study Size***	
1996	Allen	USA	14	2	200
2005	Mello ¹	Italy	17	2	804
2005	Mello ¹	Italy	17	2	812
1989	Branch	USA	13	2	143
1991	Harris	USA	11	3	1210
2009	Facchinetti	Italy	16	2	172
1997	Faden	Italy	14	3	484
2000	Kupferminc	Israel	16	2	189
2003	Lee ²	USA	15	2	234
2003	Lee ²	USA	15	2	209
1995	Yasuda ³	Japan	13	3	795
1995	Yasuda ³	Japan	13	3	789
1995	Yasuda ³	Japan	13	3	903
2001	Dreyfus	France	13	2	540
1993	Pattison	N Zealand	16	3	941
2002	Bowen	South Africa	10	2	50

*Quality assessment through modified Downs and Black criteria. Maximum score = 17

** Case control study design = 2. Cohort study design = 3

***Study size = total number of participants, including cases and controls

1, 2 = articles appear twice because PE was divided in mild and severe

3 = article appears three times because PE was divided in mild, severe and total (mild + severe)

3.4.2 Table 2 – Blood arterial pressure, proteinuria and severity according to primary studies PE definitions

Year/Author	PE Definiton
1996, Allen	Blood pressure 140/90 or increase in systolic blood pressure >30 and/or diastolic blood pressure > 15; proteinuria ≥100 mg/24h PE severity not established
2005, Mello	ACOG* <u>Mild PE</u> : blood pressure from 140/90 to 160/110; dipstick proteinuria +1 a ++2 or 24h urine collection proteinuria from 300 to 5000 mg <u>Severe PE</u> : blood pressure >160/110; dipstick proteinuria +3 to +4 or 24h urine collection proteinuria > 5000 mg
1989, Branch	<u>Severe PE</u> : diastolic blood pressure ≥ 110; proteinuria ≥2 ++ **
1991, Harris	PE definition not established PE severity not established
1997, Faden	NHBEPWG*** PE severity not established
2000, Kupfermirc	ACOG 1996**** <u>Severe PE</u> : blood pressure ≥ 160/110; proteinuria > 5g/24h urine collection
2003, Lee	ACOG* <u>Mild PE</u> : blood pressure from 140/90 to 160/110; dipstick proteinuria +1 a ++2 or 24h urine collection proteinuria from 300 to 5000 mg <u>Severe PE</u> : blood pressure >160/110; dipstick proteinuria +3 to +4 or 24h urine collection proteinuria > 5000 mg
2001, Dreyfus	ACOG* PE severity not established
1995, Yasuda	ISSH ***** <u>PE severe hypertension</u> : diastolic blood pressure ≥ 120 mmHg in 1 occasion or 110 mmHg in 2 occasion 4h apart <u>PE severe proteinuria</u> : proteinuria ≥ 3g/24h urine collection
1993, Pattison	ACOG* PE severity not established
2002, Bowen	ACOG* PE severity not established
2009, Facchinetti	ACOG* PE severity not established

*ACOG – American College of Obstetricians and Gynecologists ¹²

** Williams Obstetrics – Textbook of Obstetrics ⁹⁷

*** NHBEPWG – National High Blood Pressure Education Program Working Group ¹⁴

**** ACOG 1996 – 1996 American College of Obstetricians and Gynecologists ⁹⁸

*****ISSH – International Society for the Study of Hypertension ¹⁶

3.4.3 Table 3 – Subgroup metanalysis according to study size

Studies with fewer than 200 subjects	Odds Ratio	95% Confidence Interval	Weight (%)
Allen	2.348	0.785 – 7.026	26.73
Branch	41.301	2.301 – 741.411	11.82
Facchinetti	0.654	0.170 – 2.517	24.12
Kupferminc	10.285	0.486 – 217.512	10.98
Bowen	0.609	0.196 – 1.891	26.35
Pooled Odds Ratio*	1.996	0.584 – 6.826	100.00
Studies with 201 or more subjects	Odds Ratio	95% Confidence Interval	Weight (%)
Mello	1.876	1.233 – 2.854	23.47
Harris	0.867	0.050 – 14.973	8.64
Faden	11.815	0.551 – 253.411	7.84
Lee	1.029	0.196 – 5.396	15.09
Yasuda	16.100	5.969 – 43.426	19.98
Dreyfus	2.705	0.599 – 12.216	16.14
Pattinson	30.300	1.851 – 496.069	8.85
Pooled Odds Ratio**	3.860	1.362 – 10.938	100.00

* DerSimonian and Laird Random Effect Model; Heterogeneity $X^2 = 11.61$ (d.f. = 4) $P = 0.020$

I^2 (variation due to heterogeneity) = 65.6%; Estimate of between-study variance $\tau^2 = 1.1598$

** DerSimonian and Laird Random Effect Model; Heterogeneity $X^2 = 21.89$ (d.f. = 6) $P = 0.001$; I^2 (variation due to heterogeneity) = 72.6%; Estimate of between-study variance $\tau^2 = 1.1571$

3.4.4 Table 4 – Variables study design, study quality and study size metaregression analysis

Variables	τ^2	Adj R ²
All studies	1.295	-
Study Design	0.520	59.83%
Study Quality	1.441	-11.23%
Study Size	0.792	38.83%

τ^2 = estimate of between-study variance

Adj R² = Proportion of between-study variance explained

3.4.5 Table 5 – Case-control studies metanalysis

Study	Odds Ratio	95% Confidence Interval	Weight
Allen	2.348	0.785 - 7.026	15.86
Mello	1.876	1.233 - 2.854	28.65
Branch	41.301	2.301 - 741.411	3.86
Facchinetti	0.654	0.170 - 2.517	12.52
Kupferminc	10.285	0.486 - 217.512	3.50
Lee	1.029	0.196 - 5.396	9.49
Dreyfus	2.705	0.599 - 12.216	10.81
Bowen	0.609	0.196 - 1.891	15.32
Pooled OR*	1.686	0.922 - 3.082	100.00

* DerSimonian e Laird Random Effect Method

Heterogeneity X² = 12.50 (d.f. = 7) P = 0.085

I² (variation intra study OR attributable to heterogeneity) = 44%

Estimate of between-study variance τ^2 = 0.285

3.4.6 Table 6 – Cohort studies metanalysis

Study	Odds Ratio	95% Confidence Interval	Weight
Harris	0.867	0.050 - 14.973	17.97
Faden	11.815	0.551 - 253.411	16.16
Yasuda	16.100	5.969 - 43.426	47.42
Pattison	30.300	1.851 - 496.069	18.45
Pooled OR*	10.182	2.422 - 42.807	100.00

* DerSimonian e Laird Random Effect Method

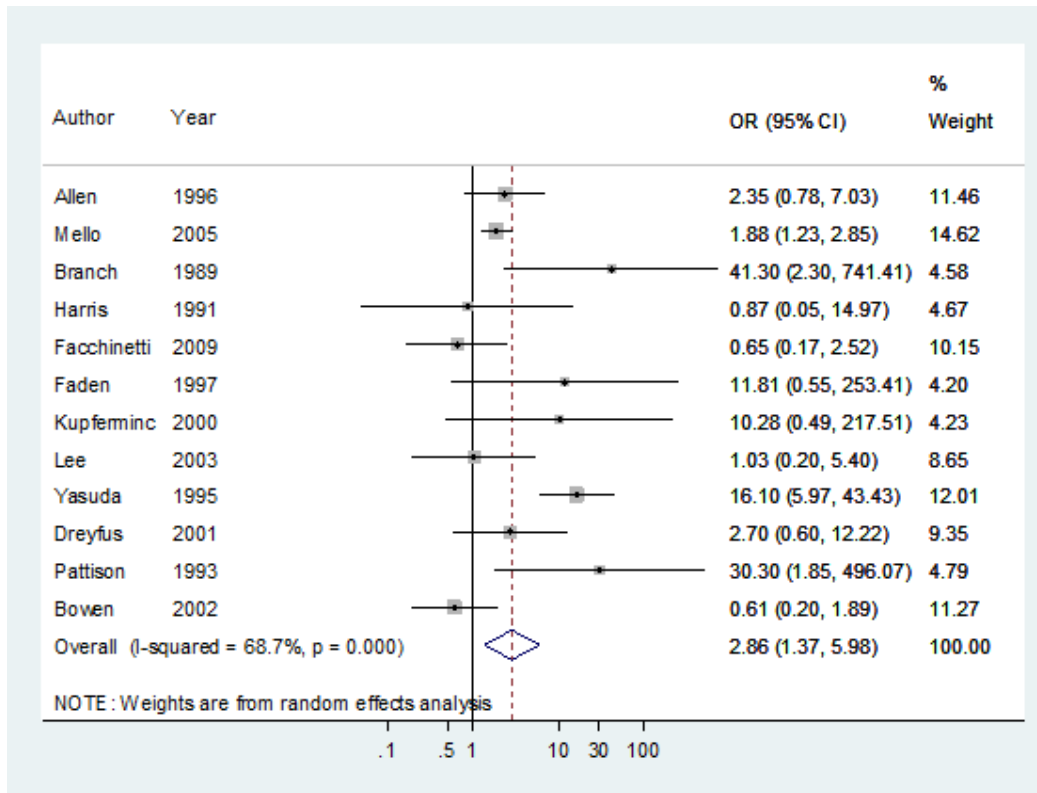
Heterogeneity X² = 4.99 (d.f. = 3) P = 0.173

I² (variation intra study OR attributable to heterogeneity) = 39.9%

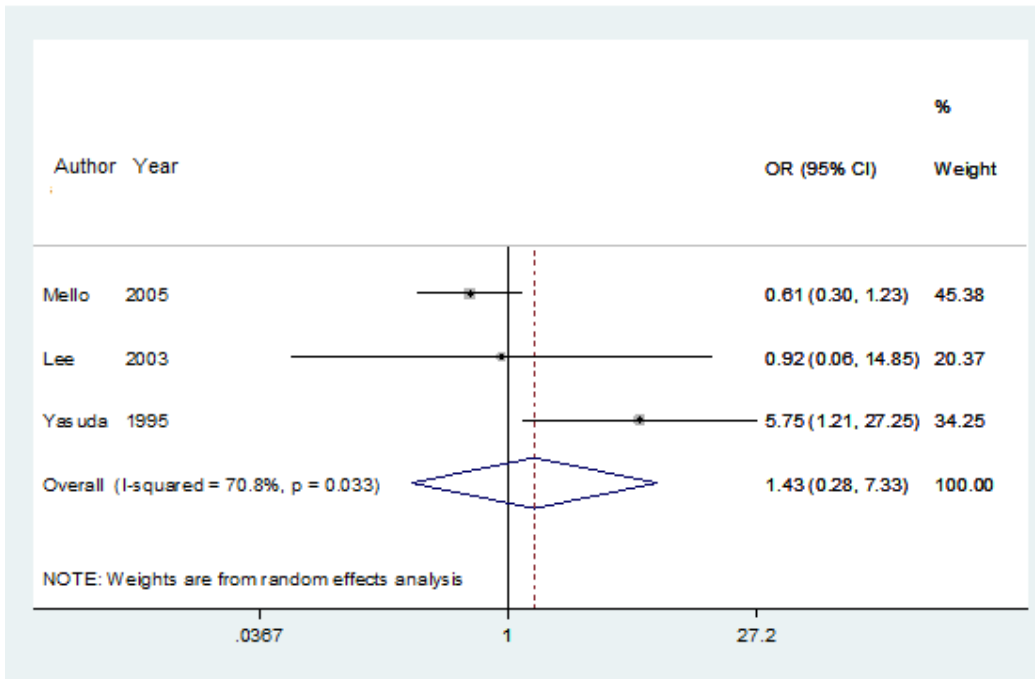
Estimate of between-study variance τ^2 = 0.876

3.5 FIGURES

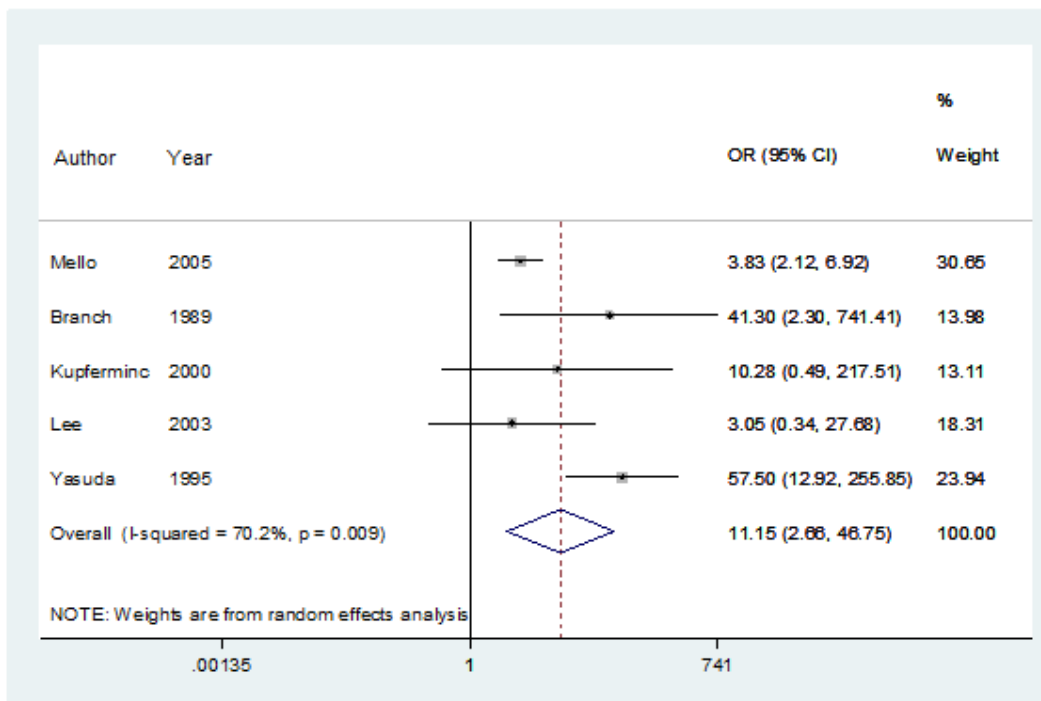
3.5.1 Figure 1 - All studies: any severity of PE



3.5.2 Figure 2 – Mild PE



3.5.3 Figure 3 – Severe PE



3.5.4 Figure 4 - Funnel Plot - all studies

