

D-dímeros ELISA en el control biológico de los tratamientos con heparina de bajo peso molecular del embarazo

Dres. Ana María Otero*, Daniela Lens†, Enrique Pons‡, Ricardo Pou Ferrari§, Lics. Datevig Attarian¶, Nora Motta¶

Centro Especializado en Afecciones de Hemostasis y Trombosis (CEAHT). Departamento de Medicina. Facultad de Medicina, Clínica Ginecotocológica A. Montevideo, Uruguay

Resumen

La situación de las embarazadas con trombofilia y en tratamiento con heparina de bajo peso molecular (HBPM) es muy particular y no existen estudios que valoren los niveles de D-dímeros aceptables en estas pacientes cuando cursan el embarazo sin complicaciones. Se trata de un trabajo retrospectivo cuyos objetivos son: a) mostrar los valores esperados de D-dímeros Elisa en los tres trimestres del embarazo de pacientes que siendo tratadas con HBPM por diferentes causas de trombofilia, cursan su gestación sin complicaciones atribuibles a la misma, obteniendo como producto final un recién nacido vivo; b) mostrar la sensibilidad de los mismos en alertar sobre la aparición de complicaciones obstétricas.

Material y método: se incluyeron 113 pacientes con trombofilia documentada y malos antecedentes obstétricos que cursaron un nuevo embarazo bajo tratamiento con HBPM sin complicaciones y con recién nacido vivo y cuatro pacientes que a pesar del tratamiento presentaron complicaciones obstétricas. Todas fueron controladas con D-dímeros por ELISA en forma mensual.

Los resultados obtenidos muestran que el valor de D-dímero por técnica de ELISA aumenta significativamente a medida que aumenta el embarazo, independientemente del reactivo utilizado. Por otra parte, los valores de corte establecidos en los diferentes "kit" no son muy útiles para evaluar la evolución de la hemostasis en el embarazo, especialmente en el segundo y tercer trimestre, donde un importante porcentaje de mujeres embarazadas tratadas con HBPM pero sin complicaciones superan estos valores de corte. Este trabajo demuestra que es necesario entonces manejar nuevos valores de referencia especiales para esta situación. Se calcularon la mediana y los valores de percentil 10 y 90 para cada reactivo y se realizaron diferentes curvas para conocer la evolución de los valores de D-dímeros durante el embarazo en mujeres tratadas con HBPM. Proponemos utilizar el valor de percentil 90 como valor de corte para cada uno de los reactivos utilizados. Una activación excesiva de la coagulación identificada por los D-dímeros ELISA puede introducir modificaciones terapéuticas que eviten o hagan retroceder una complicación obstétrica como se muestra en cuatro pacientes que excedieron los niveles esperados.

Palabras clave: EMBARAZO.
TROMBOFILIA.
HEPARINA DE BAJO PESO MOLECULAR. TEST DE ELISA.

* Ex Profesor Agregado de Hematología.

† Profesor Agregado del Departamento de Medicina.

‡ Profesor de Ginecología y Obstetricia. Clínica Ginecotocológica A.

§ Ex Profesor Agregado de Ginecología y Obstetricia.

¶ Licenciada en Laboratorio Clínico (CEAHT).

Correspondencia: Dra. Ana María Otero
Chucarro 1277 Ap. 402. Montevideo, Uruguay.
E-mail: amob@netgate.com.uy

Presentado: 9/9/05.

Aceptado: 26/12/05.

Introducción

La asociación, hace más de 20 años, entre síndromes antifosfolípidicos y complicaciones obstétricas, generó un desafío terapéutico, al cual se fue sumando el descubrimiento de otras causas de trombofilia generalmente genéticas⁽¹⁻⁵⁾.

Actualmente, la asociación entre trombofilia adquirida o genética y complicaciones obstétricas es un hecho aceptado en la comunidad científica internacional⁽⁶⁻¹³⁾.

Los tratamientos en base a heparina de bajo peso molecular (HBPM) han logrado resultados estimulantes en pacientes con antecedentes de pérdidas de embarazo o complicaciones obstétricas vinculadas a trombofilia y particularmente en pacientes con síndromes antifosfolípidicos del embarazo (SAFE)^(12,14-17).

Inicialmente los tratamientos con HBPM en el embarazo se controlaban con la determinación de la actividad AntiXa en plasma, con la finalidad de obtener determinado nivel de heparinemia que se consideraba a priori el indicado, extrapolando conocimientos del uso de HBPM en otras situaciones clínicas^(18,19).

Con el paso del tiempo se observó que dosis bajas de HBPM son suficientes para mantener el embarazo sin complicaciones en la mayoría de las paciente con SAFE.

Por lo tanto, las dosis de HBPM que actualmente se emplean en los SAFE, salvo situaciones especiales, no justifican la determinación de la actividad AntiXa en plasma con la finalidad de prevenir riesgo de sangrado⁽²⁰⁾.

Recientemente, el Subcomité de Control de la Anticoagulación del Comité Científico de Estandarización de la Sociedad Internacional de Hemostasis y Trombosis (SSC-ISTH)⁽²¹⁾ estableció claramente las limitaciones del AntiXa en el control de las HBPM:

1. La actividad AntiXa representa la concentración de heparina pero no necesariamente la función antitrombótica del fármaco ya que diferentes concentraciones de heparina pueden tener efectos diferentes en diferentes plasmas.
2. La actividad AntiXa no ha demostrado ser un buen predictor del riesgo de sangrado ni de la eficacia antitrombótica en el uso de las HBPM.

Por lo tanto, no está justificado el uso de esta técnica para valorar el efecto antitrombótico buscado ni para prevenir complicaciones hemorrágicas.

En el control evolutivo de un embarazo de alto riesgo trombótico adquiere particular importancia la determinación de marcadores biológicos que permitan determinar en forma precoz la necesidad de aumentar la dosis de heparina.

Los D-dímeros, marcadores plasmáticos de la fibrinólisis, han probado ser útiles en el diagnóstico inicial de la trombosis⁽²²⁾. Una situación particular es el embarazo, don-

de niveles progresivamente altos de D-dímeros constituyen un hecho fisiológico que acompaña la hipercoagulación progresiva de la gestación, llegando al máximo en el momento del parto^(23,24). En caso de complicaciones vasculares de la placenta o complicaciones trombóticas de la embarazada estos niveles van a sobrepasar los fisiológicamente establecidos⁽²⁵⁾.

La situación de las embarazadas con trombofilia y en tratamiento con HBPM es muy particular y no existen estudios que valoren los niveles de D-dímeros aceptables en estas pacientes cuando cursan el embarazo sin complicaciones, ni los valores por encima de los cuales debe prevenirse o descartarse una complicación trombótica ya sea materna o placentaria.

Objetivo

El objetivo de este estudio es:

- a) Mostrar los valores esperados de D-dímeros Elisa en los tres trimestres del embarazo de pacientes que siendo tratadas con HBPM por diferentes causas de trombofilia, cursaron su gestación sin complicaciones atribuibles a la misma, obteniendo como producto final un recién nacido vivo.
- b) Mostrar la sensibilidad de los mismos para advertir la aparición de complicaciones obstétricas que pueden aparecer aun bajo tratamiento con las dosis comúnmente empleadas de HBPM.

Material y método

Para el primer objetivo se incluyeron 113 pacientes con trombofilia documentada y malos antecedentes obstétricos que cursaron un nuevo embarazo bajo tratamiento con HBPM sin complicaciones y con recién nacido vivo. Todas iniciaron el tratamiento con enoxaparina 40 mg/d por vía subcutánea desde la confirmación del embarazo. Las pacientes fueron seguidas por obstetra y hematólogo en forma mensual como mínimo. El seguimiento del embarazo por parte del obstetra fue clínico y con realización de ecografía y Doppler feto placentario en forma periódica.

Para el segundo objetivo se presentan como ejemplo cuatro pacientes con SAFE y pérdida recurrente de embarazo que cursando un nuevo embarazo con HBPM mostraron una elevación inesperada de los D-dímeros coincidiendo con la aparición de complicaciones obstétricas.

Se realizó determinación mensual de D-dímeros ELISA durante toda la gestación. Se calculó la media de los valores de D-dímeros ELISA para cada trimestre.

Las pacientes que mostraron alguna complicación obstétrica a pesar del tratamiento, como restricción del crecimiento fetal intrauterino (RCFIU), aumentos de presiones en arterias placentarias, signos de resistencia vas-

cular en la placenta (NOTCH), o desprendimiento placentario (DP) fueron analizadas separadamente (total = 4).

Se emplearon tres reactivos comerciales de diferentes procedencia, disponibles en plaza al momento del estudio de cada paciente, para la determinación de los D-dímeros por el método ELISA.

Los reactivos empleados, sus valores de corte y el número de pacientes en cada grupo fueron:

Reactivo 1: Enzygnost D-dímeros (Dade-Behring). Valor de referencia 4-78 ug/L. Total 35 pacientes.

Reactivo 2: Dímer Test Gold EIA (Agen). Valor de referencia <120 ng/mL. Total 39 pacientes.

Reactivo 3: Asserachrom D-Dim (Diagnostica Stago). Valor de corte < 500 ng/mL. Total 35 pacientes.

Para cada paciente se calculó el promedio de los valores en cada trimestre de embarazo.

Resultados

En la tabla 1 y figuras 1 y 2 se resumen los valores de tendencia central y de dispersión obtenidos en cada trimestre para cada uno de los reactivos utilizados. Asimismo se indica el número y el porcentaje de casos en cada trimestre que superan el valor de referencia de cada uno de los reactivos.

Como se muestra en la figura 1, los valores de D-dímeros aumentan durante el transcurso del embarazo en las pacientes tratadas con HBPM, independientemente del reactivo de ELISA utilizado. Estas diferencias fueron altamente significativas cuando se compararon los valores de D-dímeros para cada trimestre estudiado en cada uno de los reactivos ($p < 0,0001$; Kruskal Wallis ANOVA nonparametric test).

Asimismo, cuando se comparó el número de casos que superaron los valores de referencia para cada reactivo, se observó que este número aumentaba significativamente a medida que avanzaba el embarazo con los tres reactivos utilizados. Sin embargo, el porcentaje de casos con D-dímeros por encima del nivel de referencia es mayor cuando se utiliza el reactivo Asserachrom D-dimer que en los otros casos. A modo de ejemplo, en el tercer trimestre 91,2% de los casos superaban el valor de referencia con este reactivo versus 61,5% con el Dimer Test Gold o 45,5% con Enzygnost D-Dimers (tabla 1 y figura 2).

Los resultados obtenidos muestran que el valor de D-dímeros por técnica de ELISA aumenta significativamente a medida que avanza el embarazo, independientemente del reactivo utilizado. Por otra parte, los valores de corte establecidos en el "kit" no son muy útiles para evaluar la evolución de la hemostasis en el embarazo, especialmente en el segundo y tercer trimestre, donde un importante porcentaje de mujeres embarazadas tratadas con HBPM, pero sin complicaciones, superan estos valores de corte. Este

Tabla 1. Evolución trimestral de los D-Dímeros ELISA en 113 pacientes con trombofilia documentada y malos antecedentes obstétricos que cursaron un nuevo embarazo bajo tratamiento con HBPM, sin complicaciones y con recién nacido vivo

| | 1er. trimestre | 2do. trimestre | 3er. trimestre |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|----------------|----------------|
| Enzygnost D-Dimers : valor de ref. 4 -78 ug/L | | | |
| N | 25 | 35 | 33 |
| Media | 27,4 | 46,6 | 84,6 |
| DS | 21,6 | 28,8 | 58,8 |
| Mediana | 22 | 36,5 | 72 |
| P10 | 8 | 21,2 | 29 |
| P90 | 66,6 | 81 | 170 |
| Nº casos > ref * | 1 | 4 | 15 |
| % casos > ref [†] | 4 | 11,4 | 45,5 |
| Dimer test Gold EIA: valor de ref. <120 ng/ml | | | |
| N | 34 | 39 | 39 |
| Media | 35,6 | 94,8 | 181,7 |
| DS | 27,9 | 78,8 | 117,6 |
| Mediana | 30 | 72 | 164 |
| P10 | 11,3 | 29,8 | 64,8 |
| P90 | 61,6 | 192,2 | 309 |
| Nº casos > ref | 1 | 10 | 24 |
| % casos > ref | 2,9 | 25,6 | 61,5 |
| Asserachrom D -Dim: valor de ref. <500 ng/ml | | | |
| N | 29 | 35 | 34 |
| Media | 312,9 | 627 | 964,5 |
| DS | 225,9 | 338,2 | 398,4 |
| Mediana | 280 | 545 | 872,5 |
| P10 | 114 | 328 | 531,5 |
| P90 | 638 | 806 | 1520 |
| Nº casos >ref | 5 | 19 | 31 |
| % casos >ref | 17,2 | 54,3 | 91,2 |
| * Nº casos > ref = número de casos que superan el valor de corte; † % casos > ref = porcentaje de casos que superan el valor de corte con relación al total de casos estudiados | | | |

trabajo demuestra que es necesario entonces manejar nuevos valores de referencia especiales para esta situación. Se calcularon la mediana y los valores de percentil 10 y 90 para cada reactivo y se realizaron diferentes curvas a fin de conocer la evolución de los valores de D-dímeros durante el embarazo en mujeres tratadas con HBPM.

En las cuatro pacientes seleccionadas para mostrar la coincidencia de la elevación de los D-dímeros con compli-

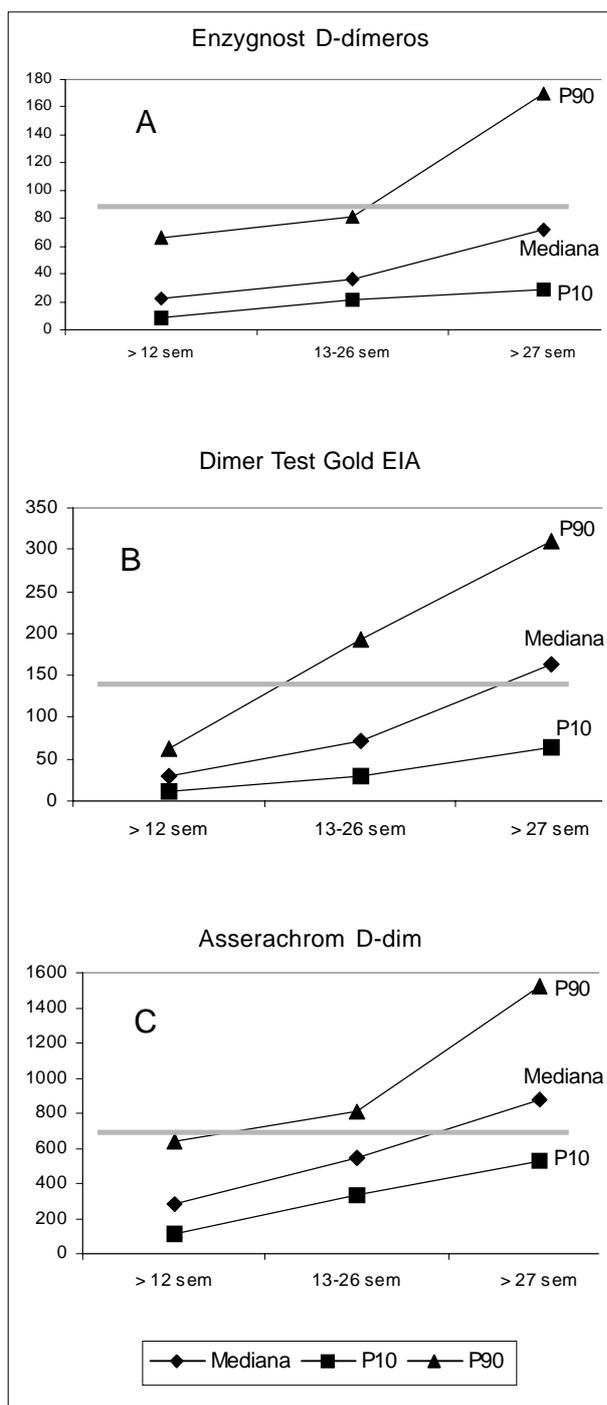


Figura 1. Dosificación de D-Dímeros en 1er., 2do. y 3er. trimestre del embarazo en mujeres tratadas con heparina de bajo peso molecular.
 A. Valores de mediana, percentil 10 y percentil 90 con el reactivo Enzygnost D-Dimers.
 B. Valores de mediana, percentil 10 y percentil 90 con el reactivo Dimer Test Gold.
 C. Valores de mediana, percentil 10 y percentil 90 con el reactivo Asserachrom D-Dimer.
 * La línea gris corresponde al valor de corte del reactivo.

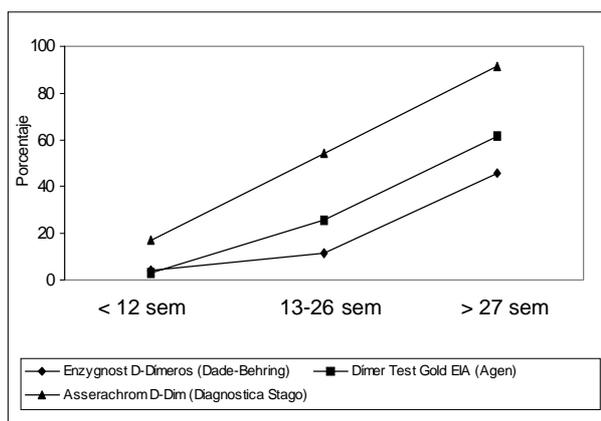


Figura 2. Porcentaje de casos con valores de D-dímeros por encima del valor de referencia según el reactivo utilizado.

caciones del embarazo se observó, primero, la elevación del D-dímeros mensual y ello motivó secundariamente el control ecográfico o de eco Doppler según la edad gestacional de la paciente. Todas presentaban en ese momento imágenes ecográficas de complicaciones que sugerían un tratamiento insuficiente (DP, RCFIU, hipertensión de las arterias uterinas y NOTCH bilateral). El detalle se puede observar en la figura 3.

El aumento de la dosis de HBPM coincidió en todas con un descenso de los D-dímeros y una desaparición o franca mejoría de las complicaciones obstétricas. Estos cuatro casos que se extraen de la población sólo tienen valor de observación y es necesario tener más casos estudiados para que la observación sea considerada adecuada.

Discusión

La vinculación entre pérdida recurrente de embarazo y síndromes antifosfolípidicos abrió un capítulo enorme de la medicina en dos aspectos. Uno, que permitió a través del tratamiento con aspirina a bajas dosis o con HBPM, o ambos, lograr el nacimiento de hijos vivos en mujeres con pérdida recurrente de embarazo. Otro no menos importante permitió la identificación de estados trombofílicos adquiridos o genéticos, o ambos, a edades tempranas de la vida de la mujer, en la cual el embarazo es el primer desafío a su hemostasis.

Posteriormente se identificaron las causas genéticas de trombofilia y se identificaron otras manifestaciones obstétricas vinculadas a la trombofilia como el óbito fetal, la restricción del crecimiento fetal intrauterino, el decolamiento placentario, la pobreza circulatoria de la placenta, la preeclampsia.

Surgieron así varias indicaciones del tratamiento que no es nuestra finalidad definir ni analizar en esta presentación. Lo cierto es que en todo el mundo numerosas muje-

res requieren HBPM durante el embarazo.

En el embarazo se producen profundos cambios en el equilibrio hemostático, como consecuencia de los cuales una tendencia pro coagulante se instala en forma progresiva en la sangre materna. Son muy pocos los estudios que muestran la adaptación de la hemostasis materna en el ámbito de la circulación útero-placentaria, la cual debe desarrollarse en forma fluida y adaptarse a un tiempo de intercambio con la circulación feto-placentaria que debe ser suficiente y eficiente.

Hipotéticamente un exceso patológico de la tendencia pro coagulante materna, como podría darse en mujeres con trombofilia, podría ser causa de trombosis placentarias responsables de las complicaciones obstétricas de estas mujeres^(26,27).

Esta hipótesis explicaría los resultados alentadores del uso de HBPM en mujeres con antecedentes de trombofilia y complicaciones del embarazo como el óbito fetal, la RCFIU, el DP, la preeclampsia y la prematuridad.

Actualmente, el uso de HBPM es recomendado por expertos mundiales para el tratamiento del embarazo en mujeres con SAFE y antecedente de complicaciones obstétricas.

En estas pacientes los partos prematuros y el bajo peso al nacer son más frecuentes que en la población general y en algunos casos aun bajo tratamiento no se logra un nacido vivo.

Siendo el embarazo una situación dinámica y cambiante en los parámetros hemostáticos es posible que para algunas pacientes, en un momento determinado de la gestación, resulte insuficiente la dosis de HBPM que están recibiendo.

El control clínico-biológico de las mujeres en estas circunstancias es muy importante para detectar precoz-

mente y si es posible antes que aparezcan complicaciones, una activación excesiva de la coagulación que justifique aumentar la dosis de HBPM.

De ahí la importancia de disponer en el seguimiento de un test biológico sensible a aumentos desmedidos de la generación de trombina y de conocer cuáles son los valores de D-dímeros aceptables en estas mujeres cuando cursan el embarazo sin complicaciones.

Hemos seleccionado la determinación de D-dímeros por método de ELISA pues sigue siendo considerado el "gold standart". El único aspecto negativo de esta técnica es el tiempo que insume su realización⁽²⁸⁻³⁰⁾. En virtud de ello otras técnicas que requieren menos tiempo se han ido desarrollando y han demostrado ser eficaces para descartar eventos tromboembólicos venosos en la urgencia, incluyendo algunas técnicas automatizadas basadas en inmunturbidimetría. Las técnicas de aglutinación por látex tienden a ser sustituidas por las automatizadas.

El Primer Consenso Uruguayo de Síndromes Antifosfolipídicos del Embarazo 2002, sobre la base de la experiencia clínica acumulada durante años por expertos, recomienda los D-dímeros método de ELISA para el control biológico evolutivo de estas pacientes⁽²⁰⁾.

Proponemos utilizar el valor de percentil 90 como valor de corte para cada uno de los reactivos utilizados.

Una activación excesiva de la coagulación identificada por los D-dímeros ELISA puede introducir modificaciones terapéuticas que eviten o hagan retroceder una complicación obstétrica como se observa en la figura 3.

De esta manera podemos obtener algunas conclusiones y hacer algunas sugerencias:

1. Los D-dímeros ELISA aumentan progresivamente durante todo el embarazo en estas pacientes como sucede en un embarazo normal.

| Caso | Sem | Sem | Sem | Sem | Sem | Sem | Sem | Sem | Sem | 30 días del parto |
|--------------|-----|-----------|-------------------|--------------|--------------|------|------|------|-----|-------------------|
| Antecedentes | 10 | 14 | 18 | 22 | 26 | 30 | 34 | 38 | | |
| 1 SAFE pre | 300 | 350 | 520 | 1400 RCFIU * | 900 | 1200 | 1350 | 1700 | 410 | |
| 2 SAFE pre | 210 | 690 | 1550 RCFIU+ HAU * | 800 | 1100 | 1200 | 1520 | 1600 | 300 | |
| 3 SAFE pre | 440 | 520 | 790 | 1300 | 2200 RCFIU * | 1410 | 1650 | 1900 | 150 | |
| 4 SAFE pre | 290 | 1220 DP * | 540 | 820 | 1500 | 1730 | 1900 | 2100 | 350 | |

Figura 3. D-dímeros ELISA como predictor de complicaciones

En gris la semana en la cual se observa un ascenso rápido de los D-dímeros.

RCFIU: restricción del crecimiento fetal intrauterino; HAU: hipertensión en arterias uterinas y NOTCH; DP: desprendimiento placentario

* aumento de la dosis de heparina de bajo peso molecular

2. La duplicación del valor de los D-dímeros de un mes a otro es sugestiva de una activación excesiva de la coagulación, que deberá valorarse en conjunto con el obstetra. Si en esa valoración no se demuestran complicaciones se pasará a una vigilancia clínica más cercana.
3. La triplicación del valor de los D-dímeros en 30 días es una indicación de aumentar la dosis de HBPM, realizar control de crecimiento fetal y circulación feto placentaria en conjunto con el obstetra.

Summary

The condition of pregnant women with thrombophilia under low molecular weight heparin (HBPM) is special, there are few studies on D-dimer levels in patients cursing pregnancy with no complications.

This retrospective study aims at: a) to show expected levels of D-dimer Elisa in women cursing the first three months of pregnancy under HBPM treatment with no complications and successful pregnancy, and b) to show D-dimer Elisa as warning signs of obstetric complications.

The study included 113 women with proved thrombophile and a risk obstetric history cursing pregnancy under HBPM treatment with no complications and successful pregnancy. They were all monthly controlled with D-dimer ELISA.

Results showed that levels of D-dimer ELISA significantly increased as pregnancy developed. Cut-points for the different "kit" are useful to assess hemostasis, specially during the second and third months when women under HBPM treatment reached those cut-points.

Median and 10 and 90 percentil were calculated for each react, different curves were considered in order to determine D-dimer levels during pregnancy under HBPM treatment.

A 90 percentil cut-point is suggested for each react. D-dimer ELISA high levels might suggest the need of therapeutic measures to prevent obstetric complications as it is seen in four patients discussed in the paper.

Résumé

La situation des femmes enceintes avec thrombophilie et en traitement avec héparine à bas poids moléculaire (HBPM) est très particulière et il n'existe pas d'études qui évaluent les niveaux de D-dimères acceptables chez ces patientes lorsqu'elles ont une grossesse normale. Il s'agit ici d'un travail rétrospectif ayant pour but: a) montrer les valeurs espérées de D-dimères Elisa pendant les trois trimestres de la grossesse de patientes qui, étant traitées avec HBPM pour de différentes causes de thrombophilie, ont leur gestation sans complications attribuables à celle-

là, le produit final étant un nouveau-né vivant. b) montrer leur sensibilité pour alerter sur l'apparition de complications obstétriques.

Méthodologie: 113 patientes avec thrombophilie documentée et de mauvais antécédents obstétriques avec une nouvelle grossesse sous traitement avec HBPM sans complications et avec un nouveau-né vivant et 4 patientes qui, malgré le traitement, ont présenté des complications pré et post partum. Toutes ont été contrôlées mensuellement avec D-dimères Elisa.

Les résultats obtenus montrent que la valeur de D-dimère par Elisa augmente remarquablement au cours de la grossesse, indépendamment du réactif utilisé. Par ailleurs, les valeurs de coupe établies aux différents "kit" sont très utiles afin d'évaluer l'évolution de l'hémostase à la grossesse, surtout pour le 2e et 3e trimestre, où un nombre important de femmes enceintes traitées avec HBPM mais sans complications, surpassent ces valeurs de coupe. Ce travail montre qu'il est donc nécessaire de prévoir de nouvelles valeurs de référence spéciales por cette situation. On calcule la moyenne et les valeurs de percentile 10 et 90 pour chaque réactif.

Une cativation excessive de la coagulation identifiée par les D-dimères ELISA peut introduire des modifications thérapeutiques qui fassent reculer une complication obstétrique tel qu'on montre chez quatre patientes ayant surpassé les valeurs espérées.

Bibliografía

1. **Stirrat GM.** Recurrent miscarriage. *Lancet* 1990; 336 (8717): 673-5.
2. **Bick RL, Madden J, Heller KB.** Recurrent miscarriage: causes, evaluation and treatment. *Medscape Womens Health* 1998; 3(3): 2.
3. **Soulier J, Boffa MC.** Avortements a repetition thromboses et anticoagulant circulant antithromboplastine: Trois observations. *Nouv Press Med* 1980; 9: 859.
4. **Amout J.** Antiphospholipid syndrome: diagnostic aspects of lupus anticoagulant. *Thromb Haemost* 2001; 86(1): 83-91.
5. **Greer IA.** The challenge of thrombophilia in maternal-fetal medicine. *N Engl J Med* 2000; 342(6): 424-5.
6. **Rosove M, Tabsh B, Wasserstrum N, Howard P, Hahn B, Kalunian K.** Heparin therapy for pregnant women with lupus anticoagulant or anticardiolipin antibodies. *Obstet Gynecol* 1990; 75(4): 630-4.
7. **Many A, Pauzner R, Carp H, Langevitz P, Martinowitz U.** Treatment of patients with antiphospholipid antibodies during pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 1992; 28(3-4): 216-8.
8. **Kobayashi S, Tamura N, Tsuda H, Mokuno C, Hashimoto H, Hirose S.** Immunoabsorbent plasmapheresis for a patient with antiphospholipid syndrome during pregnancy. *Ann Rheum Dis* 1992; 51(3): 399-401.
9. **Otero AM, Pou Ferrari R, Dellepiane M, Muxi P, De Lisa E, Attarian D, et al.** Pregnancy outcome in women with recurrent pregnant loss treated with enoxa-parine. *Trombosis and Haemostasis. Suppl.* July 2001. SIN 0340 – 6245).

10. **Biasiutti FD, Strebel JK.** Anticoagulation and antiaggregation during pregnancy. *Thromb Haemostasis* 2003; 60(1): 54-8.
11. **Gebhardt GS, Hall DR.** Inherited and acquired thrombophilias and poor pregnancy outcome: should we be treating with heparin? *Curr Opin Obstet Gynecol* 2003;15(6): 501-6.
12. **Gris JC, Mercier E, Quere I, Lavigne-Lissalde G, Cochery-Nouvellon E, Hoffet M, et al.** Low-molecular-weight heparin versus low-dose aspirin in women with one fetal loss and a constitutional thrombophilic disorder. *Blood* 2004;103(10): 3695-9.
13. **Galli M, Barbui T.** Antiphospholipid antibodies and pregnancy. *Best Pract Clin Haematol* 2003;16(2): 211-25.
14. **Carp H, Dolitzky M, Inbal A.** Thromboprophylaxis improves the live birth rate in women with consecutive recurrent miscarriages and hereditary thrombophilia. *J Thromb Haemost* 2003; 1(3): 433-8.
15. **Alarcon-Segovia D, Boffa MC, Branch W, Cervera R, Gharavi A, Khamashta M, et al.** Prophylaxis of the antiphospholipid syndrome: a consensus report. *Lupus* 2003; 12(7): 499-503.
16. **Copplestone JA, Pavord S, Hunt BJ, The Obstetric Haematology Group of the British Society for Haematology.** Anticoagulation in pregnancy: a survey of current practice. *Br J Haematol* 2004;124(1): 124-5.
17. **Otero AM, Pou Ferrari R, Pons E, Storch E, Alonso J, De Lisa E, et al.** Enoxaparina y aspirina a bajas dosis en el tratamiento de los síndromes antifosfolipídicos del embarazo. Seguridad y utilidad. *Arch Med Int* 2005; 27(2-3): 41-5.
18. **Alhenc-Gélas M, Jestin-Le Guernic C, Vitoux JF, Kher A, Aiach M, Fiessinger JM.** Adjusted versus fixed doses of low molecular weight heparin fragmin in the treatment of deep venous thrombosis. *Fragmin-Study Group. Thromb Haemost* 1994; 71(6): 698-702.
19. **Leizorovicz A, Bara L, Samama MM, Haugh MC.** Factor Xa inhibition: correlation between the plasma levels of anti-Xa activity and occurrence of thrombosis and haemorrhage. *Haemostasis* 1993; 23 Suppl 1: 89-98.
20. **Sociedad de Hematología del Uruguay, Sociedad de Ginecología del Uruguay.** Primer Consenso Uruguayo Sobre Síndromes Antifosfolipídicos del Embarazo. Montevideo: Aventis, 2002.
21. **Greaves M, Control of Anticoagulation Subcommittee of the Scientific and Standardization Committee of the International Society of Thrombosis and Haemostasis.** Limitations of the laboratory monitoring of heparin therapy. *Scientific and Standardization Committee Communications: on behalf of the Control of Anticoagulation Subcommittee of the Scientific and Standardization Committee of the International Society of Thrombosis and Haemostasis. Thromb Haemost* 2002, 87(1): 163-4.
22. **Uchikova EH, Ledjev II.** Changes in haemostasis during normal pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2005; 119(2):185-8.
23. **Holmes VA, Wallace JM.** Haemostasis in normal pregnancy: a balancing act? *Biochem Soc Trans* 2005; 33(Pt 2): 428-32.
24. **Brenner B.** Haemostatic changes in pregnancy. *Thromb Res* 2004; 114(5-6): 409-14.
25. **Nolan TE, Smith RP, Devoe LD.** Maternal plasma D-Dimer levels in normal and complicated pregnancies. *Obstet Gynecol* 1993; 81(2): 235-8.
26. **Aharon A, Brenner B.** Haemostatic mechanisms in human placenta. *Best Pract Clin Haematol* 2003; 16(2):183-95.
27. **O'Riordan MN, Higgins JR.** Haemostasis in normal and abnormal pregnancy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2003; 17(3): 385-96.
28. **Franecalanci I, Comeglio P, Liotta AA, Cellai AP, Fedi S, Parretti E, et al.** D-dimer concentrations during normal pregnancy, as measured by ELISA. *Thromb Res* 1995; 78(5): 399-405.
29. **Kline JA, Williams GW, Hernandez-Nino J.** D-dimer concentrations in normal pregnancy: new diagnostic thresholds are needed. *Clin Chem* 2005 May; 51(5): 825-9.
30. **Chabloz P, Reber G, Boehlen F, Hohlfeld P, de Moerloose P.** TAFI antigen and D-dimer levels during normal pregnancy and at delivery. *Br J Haematol* 2001; 115(1): 150-2.