

Anticorpos contra Beta2-Glicoproteína I, Autoimunidade e Aterosclerose^(*)

Antibodies to Beta2-Glycoprotein I, Autoimmunity and Atherosclerosis

Aline Ranzolin⁽¹⁾, Andrei Lotterman⁽¹⁾, Jussara Bohn⁽¹⁾, Carlos Alberto von Mühlen⁽²⁾ e Henrique Luiz Staub⁽³⁾

RESUMO

A beta2-glicoproteína I (beta2-gpI) é um cofator fosfolipídico com propriedades anticoagulantes. Inúmeras funções biológicas na via da coagulação são atribuíveis a este cofator. Os soros de pacientes com síndrome antifosfolipídica (SAF) freqüentemente reagem contra beta2-gpI em ensaios imunoenzimáticos. Por vezes, pacientes com diátese trombótica apresentam anticorpos anti-beta2-gpI na ausência de outros anticorpos anti-fosfolípidos (AAF). Mais recentemente, comprovou-se a presença da beta2-gpI na placa aterosclerótica. Nesta revisão, abordamos inicialmente as funções fisiológicas da beta2-gpI na via da coagulação. A seguir, revisamos a importância dos anticorpos anti-beta2-gpI em pacientes com SAF, outras diáteses trombóticas, lúpus eritematoso sistêmico (LES) e infecções. Por fim, o papel dos anticorpos anti-beta2-gpI na aterosclerose coronária e cerebral é também abordado.

Palavras-chave: beta2-glicoproteína I, anticorpos anti-beta2-gpI, síndrome antifosfolipídica, aterosclerose.

ABSTRACT

Beta2-glycoprotein I (beta2-gpI) is a phospholipid cofactor with anticoagulant properties. A number of biological functions in the coagulation cascade have been attributed to this cofactor. Sera from patients with antiphospholipid syndrome (APS) frequently react to beta2-gpI in immunoassays. Occasionally, patients with thrombotic diathesis present anti-beta2-gpI antibodies in the absence of other antiphospholipid antibodies (APA). More recently, the presence of beta2-gpI in the atherosclerotic plaque has been proved. In this article, we initially approach the physiological functions of beta2-gpI in the coagulation cascade, and we also review the importance of anti-beta2-gpI antibodies in patients with APS, systemic lupus erythematosus (SLE) and infections. Lastly, we focus the role of anti-beta2-gpI antibodies in coronary and cerebral atherosclerosis.

Keywords: beta2-glycoprotein I, anti-beta2-gpI antibodies, antiphospholipid syndrome, atherosclerosis.

ANTICORPOS ANTIFOSFOLÍPIDES E SÍNDROME ANTIFOSFOLIPÍDICA

Os anticorpos antifosfolípidos (AAF) compreendem um grupo de autoanticorpos de grande complexidade e heterogeneidade⁽¹⁾. Os alvos-chave destes anticorpos são fosfolípidos (FL) e cofatores fosfolipídicos da cascata da coagulação e das membranas celulares. As superfícies plaquetária e endotelial são alvos conhecidos de AAF⁽²⁾.

Os AAF estão associados a infecções, neoplasias, uso de drogas e a uma diátese trombótica conhecida como síndrome antifosfolipídica (SAF)^(2,3). A SAF é atualmente tida como a mais comum das diáteses trombóticas adquiridas do adulto jovem^(1,3). Os mecanismos pelos quais os AAF induzem trombofilia em pacientes com SAF são múltiplos. Estes mecanismos estão sumarizados na Tabela 1.

A caracterização clínico-laboratorial da SAF foi progressivamente aprimorada a partir da descrição original de 1986⁽⁴⁾.

* Serviço de reumatologia da Faculdade de Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, RS. Recebido em 31/3/2003. Aprovado, após revisão, em 12/8/2003.

1. Residente do serviço de reumatologia da Faculdade de Medicina da PUCRS.
2. Doutor em reumatologia, professor de reumatologia da Faculdade de Medicina da PUCRS.
3. Doutor em reumatologia, professor de reumatologia da Faculdade de Medicina da PUCRS e da Universidade Luterana do Brasil (ULBRA), Canoas, RS.

Endereço para correspondência: Henrique Luiz Staub. Serviço de reumatologia da Faculdade de Medicina da PUCRS. Av. Ipiranga 6690, sala 220, Porto Alegre, CEP 90610-000. E-mail: henriquestaub@terra.com.br

TABELA 1
MECANISMOS DE AÇÃO DOS AAF EM PACIENTES COM
TROMBOFILIA ATRIBUÍDA A SAF⁽¹⁻³⁾

1. Bloqueio da ação de FL* no complexo ativador da protrombina
2. Inibição da ação de FL na ativação do fator X
3. Inibição do efeito de FL na geração de proteína C
4. Bloqueio da síntese de proteína S
5. Interferência no efeito da heparina sobre a antitrombina III
6. Ação sobre FL da membrana plaquetária
7. Efeito antiprotrombina na superfície plaquetária
8. Efeito inibitório sobre a ação anticoagulante da beta2-glicoproteína I
9. Inibição da ação anticoagulante da anexina V na placenta e endotélio
10. Diminuição da síntese de prostaciclina pelas células endoteliais

*FL: fosfolípidos

Os critérios atualmente aceitos para classificação da SAF datam do consenso de Saporio de 1999⁽⁵⁾. Tromboses venosas profundas, isquemia de artérias cerebrais e morbidade obstétrica são os achados mais frequentes da doença⁽⁴⁻⁶⁾.

Embora descrita inicialmente em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico (LES)⁽⁴⁾, a forma primária da SAF é reconhecida desde 1989⁽⁶⁾.

Os critérios laboratoriais para o diagnóstico da SAF, de acordo com o consenso de 1999, fundamentam-se em ensaios de coagulação (anticoagulante lúpico) e no imunoenensaio enzimático (ELISA) para anticorpos anticardiolipina (aCL). Enquanto a padronização dos testes para detecção do AL é ainda problemática, o ELISA, que detecta anticorpos IgG/IgM aCL, é internacionalmente aceito desde 1987⁽⁷⁾.

A classificação dos AAF, no entanto, é complexa e inclui uma plethora de anticorpos contra outros FL e contra cofatores fosfolipídicos. Estes anticorpos não fazem parte dos critérios laboratoriais para SAF⁽⁵⁾. Entretanto, são eventualmente encontrados em pacientes com tromboses, associadamente ou não aos AAF “clássicos” (AL e anticorpos aCL)⁽¹⁻³⁾. Neste contexto, devem ser citados os anticorpos contra outros FL aniônicos, contra o FL neutro *fosfatidiletanolamina (FE)* e contra os cofatores *anexina V*, *protrombina* e *beta2-glicoproteína I (beta2-gpI)*.

Nesta revisão, abordaremos os aspectos atinentes aos anticorpos contra o cofator fosfolipídico beta2-gpI. A importância destes anticorpos em pacientes com tromboses é detalhadamente discutida. O papel dos anticorpos anti-beta2-gpI no processo aterosclerótico é também abordado.

BETA2-GPI E ANTICORPOS ANTI-BETA2-GPI

BETA2-GPI. FUNÇÕES BIOLÓGICAS

A proteína plasmática beta2-gpI foi originalmente isolada em 1961⁽⁸⁾. O gene da beta2-gpI humana é codificado no cromossomo 17⁽⁹⁾.

O corrente interesse pelo estudo de anticorpos anti-beta2-gpI decorre das seguintes informações: a) beta2-gpI é alvo de anticorpos aCL⁽⁹⁻¹¹⁾; b) o uso de beta2-gpI como imunógeno em modelos animais gera anticorpos aCL, anticorpos anti-beta2-gpI e SAF^(12,13). Recentemente, tolerância oral com baixas doses de beta2-gpI foi obtida em camundongos BALB/c imunizados com o antígeno⁽¹⁴⁾.

A beta2-gpI (ou apolipoproteína H) é cofator fosfolipídico com características anticoagulantes naturais. É um polipeptídeo de 50 kilodaltons (kDa), altamente glicosilado. Sua cadeia única contém 326 aminoácidos. Cinco domínios, de cerca de 60 aminoácidos cada, podem ser identificados na molécula⁽¹⁵⁾.

A Figura 1 mostra a conformação molecular da beta2-gpI bovina.

A seqüência de aminoácidos CKNKEKCC, localizada no quinto domínio, é o sítio de ligação da beta2-gpI com FL aniônicos. O sítio de ligação de AAF com a beta2-gpI, no entanto, ainda é matéria de discussão⁽¹⁵⁾.

À beta2-gpI é atribuída ação inibitória na ativação do fator XII (ativação por contato) na via da coagulação. A molécula contribui, em paralelo, para a ativação da proteína C da fibrinólise⁽¹⁵⁾ e interage com a heparina⁽¹⁶⁾.

Além disso, a beta2-gpI parece inativar o complexo ativador da protrombina ao interagir com FL de carga negativa, possivelmente na superfície plaquetária. Os efeitos da beta2-gpI sobre a cascata da coagulação são aparentemente desregulados por AAF^(15,17).

A agregação plaquetária e a conversão da protrombina em trombina são também bloqueados na presença de beta2-gpI⁽¹⁸⁾. A beta2-gpI inibe a geração de fator Xa por plaquetas⁽¹⁹⁾.

Segundo Arnout *et al.*, o efeito de AL (aumento dos tempos de coagulação FL-dependentes) atribuído aos anticorpos anti-beta2-gpI é dependente da formação de complexos binários que incluem anticorpos anti-beta2-gpI e antígeno em superfícies contendo FL⁽²⁰⁾.

De interesse, anticorpos anti-beta2-gpI poderiam se ligar, *in vivo*, à beta2-gpI disponível na membrana de células em apoptose. A opsonização de células apoptóticas por anticorpos anti-beta2-gpI facilita a fagocitose dos corpos apoptóticos por macrófagos⁽²¹⁾.

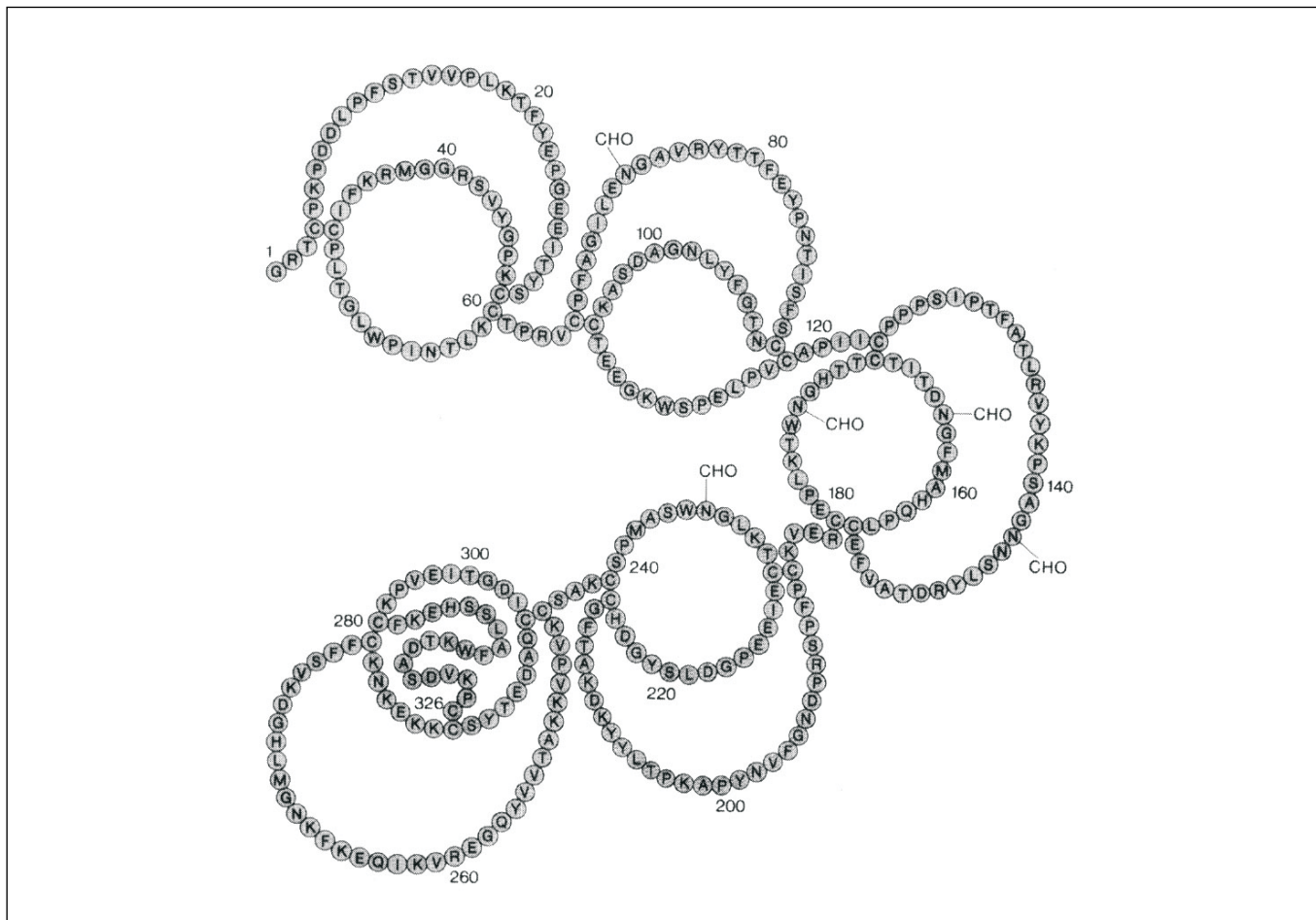


FIGURA 1 – Estrutura molecular da beta2-gpI bovina com seus cinco domínios⁽¹⁵⁾.

O teste do veneno de víbora de Russel (RVVT) compreende um dos testes de coagulação utilizados para confirmação de AL. Anticorpos anti-beta2-gpI são responsáveis pelo prolongamento do RVVT em ensaios de coagulação. De interesse, Galli *et al.*, além de confirmarem o “perfil RVVT” dos anticorpos anti-beta2-gpI, reportaram que os mesmos seriam trombogênicos por induzirem resistência ao efeito da proteína C sobre o fator V⁽²²⁾.

ANTICORPOS ANTI-BETA2-GPI

Os anticorpos contra beta2-gpI reconhecem o alvo fundamentalmente em superfícies celulares ou quando o cofator está ligado a FL. Biasiolo *et al.* comprovaram estes achados como característicos de pacientes com SAF. Os complexos imunes anti-beta2-gpI de pacientes com outras doenças auto-imunes são detectados livremente no plasma⁽²³⁾.

De acordo com Mason *et al.*, soros de pacientes com SAF reagiram em ELISA contra beta2-gpI e anticorpos aCL. Os soros também exibiram reatividade contra um anti-idiotipo obtido de uma IgM monoclonal com atividade aCL. A reação humoral contra este anti-idiotipo foi característica de soros de pacientes com SAF⁽²⁴⁾.

A avidéz dos anticorpos de pacientes com SAF pela cardioplipina (CL) em placas de ELISA é consideravelmente maior quando diluentes que utilizam soro bovino a 10%, fontes de beta2-gpI, são utilizados. É possível que a conformação bioquímica da CL seja modificada pela beta2-gpI, ou que os dois compostos formem um complexo antigênico, ou ainda que a beta2-gpI funcione como um antígeno de forma isolada^(15,16,25).

Sabidamente, anticorpos aCL policlonais ligam-se a beta2-gpI somente em placas de poliestireno irradiadas, onde epítopos “críticos” da beta2-gpI podem ser expostos⁽²⁵⁾.

Nos dias de hoje, admite-se que a interação de beta2-gpI com placas de poliestireno irradiadas, ou com CL, permite a exposição de epitopos fundamentais na molécula de beta2-gpI⁽²⁶⁾.

Os testes de ELISA para detecção de anticorpos anti-beta2-gpI utilizam placas irradiadas contendo beta2-gpI na ausência de FL⁽²⁷⁾. As placas de poliestireno irradiadas contêm superfícies oxidadas, o que facilita a ligação de anticorpos de baixa afinidade com a molécula nativa de beta2-gpI⁽²⁸⁾.

Uma vez que os anticorpos anti-beta2-gpI de pacientes com SAF são de baixa afinidade, a alta densidade de antígeno em placas de ELISA é de crucial importância no ensaio enzimático. A dimerização da beta2-gpI parece aumentar a capacidade de ligação dos anticorpos⁽²⁹⁾.

Enquanto o ELISA para detecção de aCL utiliza beta2-gpI bovina, o ensaio enzimático específico para anti-beta2-gpI usa beta2-gpI humana purificada⁽³⁰⁾.

A forma de apresentação da beta2-gpI influencia fortemente a ligação dos anticorpos, com marcadas variações interindividuais. Anticorpos anti-beta2-gpI de pacientes com SAF podem reagir particularmente contra o antígeno bovino, ou contra ambos beta2-gpI bovina e humana. Os soros que se ligam a ambos os antígenos são mais frequentemente aCL-positivos do que negativos⁽³¹⁾.

Segundo Santiago *et al.*⁽³²⁾, um número apreciável de variáveis pode interferir na acuidade da detecção de anticorpos anti-beta2-gpI. As diversas técnicas de purificação da beta2-gpI originam diferenças qualitativas no antígeno, assim como geram concentrações não uniformes do mesmo.

Por sua vez, placas de poliestireno de origens diversas podem gerar diferenças na aderência do antígeno. Em consequência, a concentração final do antígeno pode não ser homogênea quando se compara diferentes ensaios⁽³³⁾.

A partir de testes realizados em um laboratório em San Diego, EUA, iniciativas para padronização do ELISA para detecção de anticorpos anti-beta2-gpI foram levadas a termo em 1998. Os ensaios para os isotipos IgG/IgM/IgA geraram curvas lineares e de boa precisão. Duzentos e três controles sadios foram utilizados para a geração de intervalos de referência baseados em percentis. Em soros de pacientes com SAF, os três ensaios anti-beta2-gpI se correlacionaram adequadamente com os respectivos ensaios enzimáticos para detecção de aCL⁽³⁴⁾.

De forma alternativa, Cucnik *et al.* sugeriram, em relato recente, que a determinação de anti-beta2-gpI em ELISA seja baseada em concentrações padronizadas de anticorpos monoclonais IgG e IgM. Os pontos de corte, no estudo, foram calculados a partir de resultados obtidos em 434 controles sadios⁽³⁵⁾.

Ichikawa *et al.* produziram uma IgG monoclonal química contendo uma região constante gama 1 de origem humana. O referido anticorpo reagiu contra CL e beta2-gpI de forma similar aos soros-padrões aCL e anti-beta2-gpI-positivos. Os autores sugerem que o referido anticorpo monoclonal possa ser de utilidade em uma padronização internacional do ensaio para IgG anti-beta2-gpI⁽³⁶⁾.

A Tabela 2 apresenta os dados de Roubey *et al.* acerca da sensibilidade e da especificidade de anticorpos IgG anti-beta2-gpI e aCL para o diagnóstico de SAF⁽³⁷⁾.

De acordo com os dados de Roubey *et al.* para pontos de corte de 20 UI, o ensaio para IgG anti-beta2-gpI, embora menos sensível, foi mais específico que IgG aCL para o diagnóstico de SAF⁽³⁷⁾.

Segundo dados de 1995, a soroprevalência de anticorpos anti-beta2-gpI por ELISA em controles sadios é de 0%; em casos de LES sem AAF, é de 12%; em pacientes com LES e AAF, é de 53%; em casos de SAF primária, é de 72%⁽³⁸⁾.

Em estudo mais recente⁽³⁹⁾, Bruce *et al.* avaliaram a prevalência de aCL e IgG/IgM/IgA anti-beta2-gpI em 133 indivíduos com doenças autoimunes e controles. Anticorpos anti-beta2-gpI (qualquer isotipo) foram observados em 34,9% dos casos de LES isolado, em 40,4% dos casos de SAF associada ao LES e em 3% de controles sadios. O valor preditivo positivo (VPP) para SAF foi de 38,8% para anticorpos anti-beta2 e de 50% para IgG aCL. Os autores concluíram que a testagem de anti-beta2-gpI, embora útil em casos isolados, não aumentou a probabilidade do diagnóstico de SAF.

Helbert *et al.* procederam meta-análise para avaliar comparativamente três ensaios comerciais para aCL e um ensaio para anti-beta2-gpI. O estudo confirmou que o ensaio para anti-beta2-gpI é mais específico (embora menos sensível) que aCL para o diagnóstico de SAF. A melhor especificidade do ensaio para anti-beta2-gpI esteve fundamentada em sua performance usualmente positiva em pacientes ateroscleróticos e sua testagem geralmente negativa em infecções⁽⁴⁰⁾.

TABELA 2
SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DE ANTICORPOS IgG ANTI-BETA2-GPI E IgG aCL (ELISA) PARA O DIAGNÓSTICO DE SÍNDROME ANTIFOSFOLIPÍDICA (SAF)⁽³⁷⁾

	Anti-beta2-gpI	aCL
Ponto de corte: 20 UI		
Sensibilidade	22%	35%
Especificidade	94%	79%

UI: unidades internacionais

Outros relatos também favorecem a idéia de que anticorpos anti-beta2-gpI humana detectados por ELISA sejam mais específicos do que aCL em pacientes com quadro clínico de SAF^(41,42).

Diferentemente, não mais que 50% dos pacientes com SAF aCL-positivos apresentaram anticorpos anti-beta2-gpI. Neste mesmo estudo⁽⁴³⁾, uma eventual reação cruzada entre anticorpos anti-beta2-gpI e anticorpos contra LDL (*low-density lipoprotein*), previamente sugerida⁽⁴⁴⁾, não foi confirmada.

Digno de nota, boa parte dos estudos sobre anticorpos contra beta2-gpI em ELISA incluíram IgG mas não outros isotipos de imunoglobulinas⁽⁴¹⁻⁴⁴⁾. Além disso, a falta de padronização dos ensaios de fase sólida que detectam anticorpos contra beta2-gpI tem sido um obstáculo na análise crítica dos estudos clínicos.

ANTICORPOS ANTI-BETA2-GPI E LÚPUS ERMATEMATOSO SISTÊMICO (LES)

Em pacientes com LES, a associação de anticorpos anti-beta2-gpI com trombose tem sido extensivamente estudada. Recentemente, Santiago *et al.* demonstraram ausência de associação entre IgG anti-beta2-gpI e eventos trombóticos ou morbidade obstétrica em pacientes com LES⁽³²⁾.

De interesse, George *et al.* reportaram que a presença de anticorpos anti-beta2-gpI é útil para definir uma subpopulação de pacientes com LES propensa a desenvolver trombocitopenia⁽⁴⁵⁾.

De acordo com um estudo de 1992, anticorpos anti-beta2-gpI e AL ocorreram em 89% de pacientes com LES e trombose, enquanto aCL foi visto em 78% destes pacientes. Entre todos os casos aCL-positivos mas anti-beta2-gpI-negativos, somente 6% tiveram tromboses. Assim, anticorpos anti-beta2-gpI estiveram mais convincentemente associados à trombofilia que outros AAF nesta casuística⁽⁴⁶⁾.

De acordo com Sanfilippo *et al.*, anticorpos anti-beta2-gpI foram mais prevalentes em pacientes com LES e SAF (62%) que nas lúpicas aCL-positivas sem trombose. Os autores sugerem que estes auto-anticorpos funcionam como marcadores de tromboses no LES⁽⁴⁷⁾.

Por outro lado, Tubach *et al.* reportaram que a ocorrência de IgG anti-beta2-gpI em 102 casos de LES, quase tão freqüente quanto a de aCL (18,6% e 23% respectivamente), não aumentou a chance de diagnóstico de SAF. Outros isotipos anti-beta2-gpI não foram estudados. No referido relato, o AL se comportou como o melhor teste na identificação de casos de SAF⁽⁴⁸⁾.

Em 76 pacientes com LES, oriundos da Índia, Shrivastava *et al.* reportaram que IgG anti-beta2-gpI, assim como aCL,

estiveram associados à presença de convulsões mas não a outros eventos compatíveis com SAF⁽⁴⁹⁾.

Aguirre *et al.* relatam, em 126 pacientes chilenos com LES, positividade para aCL (qualquer isotipo) de 30%, enquanto a positividade para anti-beta2-gpI foi de 10%. Embora houvesse uma boa correlação IgG aCL-IgG anti-beta2-gpI, um número não desprezível de casos foi positivo para apenas um dos anticorpos. Nesta casuística, o ensaio para anticorpos anti-beta2-gpI foi mais específico que aCL para o diagnóstico de SAF⁽⁵⁰⁾.

Também digno de nota, Inanc *et al.* avaliaram longitudinalmente pacientes com LES e SAF; aCL, anti-beta2-gpI e antiprotrombina foram estudados. A maior parte dos pacientes com trombose teve teste positivo para IgG anti-beta2-gpI, mas não para anticorpos antiprotrombina. Muitos dos casos positivos para IgG anti-beta2-gpI (predominantemente IgG2) foram negativos para aCL. Os níveis do antígeno beta2-gpI foram aumentados em alguns casos de SAF. Os autores inferem que a testagem de anti-beta2-gpI pode ser útil na investigação de tromboses em casos de LES⁽⁵¹⁾.

Os resultados de Sebastiani *et al.* em 574 casos de LES sugerem que a presença de IgG/IgM anti-beta2-gpI, ou títulos moderados/altos de IgG aCL, são fatores de risco para trombose em LES. Sensibilidade, especificidade e valores preditivos foram similares nos dois ensaios⁽⁵²⁾.

Cucurull *et al.* avaliaram a prevalência, distribuição isotópica e associações clínicas de anticorpos anti-beta2-gpI e aCL em 160 pacientes da Colômbia e em igual número de pacientes espanhóis com LES. Na população colombiana, anticorpos anti-beta2-gpI e IgG aCL se correlacionaram com trombose, perdas fetais e trombocitopenia. Em espanhóis, as associações incluíram livedo reticularis, além de tromboses e morbidade gestacional. Nas duas populações, o ensaio para anti-beta2-gpI foi mais específico que aCL⁽⁵³⁾.

De forma original, Gomez-Pacheco *et al.* avaliaram anticorpos anti-beta2-gpI e aCL antes, durante e depois do episódio trombótico em pacientes com LES. Todos os casos de LES com trombose foram positivos para anti-beta2-gpI, e um significativo decréscimo das titulações do anticorpo foi observado durante o episódio oclusivo⁽⁵⁴⁾.

Com relação ao isotipo IgA anti-beta2-gpI, é digno de nota o estudo de Tsutsumi *et al.* em 124 pacientes nipônicos com LES. Positividade para IgA anti-beta2-gpI foi vista em 25% dos casos. Houve associação significativa deste isotipo com tromboses. Os autores sugerem que IgA anti-beta2-gpI seja incluída na avaliação de risco trombótico em pacientes com LES⁽⁵⁵⁾.

Os mesmos autores relatam, em outro estudo, uma baixa concordância IgA anti-beta2-gpI-aCL-IgA comparativamente ao paralelismo observado nos isotipos IgG/IgM; o achado sugere que IgA aCL e IgA anti-beta2-gpI compõem dois grupos de AAF com diferentes afinidades⁽⁵⁶⁾.

Em relato de 2001, Bertolaccini *et al.* avaliaram, transversalmente, a prevalência de IgG/IgM/IgA anti-beta2-gpI, aCL e antiprotrombina em 134 casos de LES/SAF. Os autores concluíram que a testagem de anti-beta2-gpI e IgA aCL não aumentou a probabilidade do diagnóstico de SAF⁽⁵⁷⁾.

Em 100 pacientes de origem africana com LES, a prevalência de aCL e anti-beta2-gpI foi, respectivamente, de 33% e 28% (dados de Cucurull *et al.*). O isotipo IgA foi o mais freqüente em ambos os ensaios. Uma concordância entre os ensaios foi mais notada para o isotipo IgA. IgG aCL ocorreu em títulos baixos, o que talvez explique a baixa freqüência de trombose⁽⁵⁸⁾.

Outra casuística incluiu 207 pacientes com LES, com testagem para todos os isotipos aCL e anti-beta2-gpI. Trombose arterial foi associada com IgG aCL, e TVP com IgA anti-beta2-gpI em análise multivariada. Houve correlação entre níveis de qualquer isotipo anti-beta2-gpI com IgG aCL. Uma associação entre títulos de IgA anti-beta2-gpI com os outros dois isotipos anti-beta2-gpI foi observada. Os autores concluem que IgA anti-beta2-gpI pode ser de utilidade na identificação de trombozes em casos de LES⁽⁵⁹⁾.

Pacientes com LES, com ou sem trombozes, foram estudados por Lakos *et al.* quanto à prevalência de todos os isotipos anti-beta2-gpI. Houve forte associação de IgA anti-beta2-gpI com trombose venosa, valvulopatias, trombocitopenia, epilepsia e livedo reticularis. O isotipo IgG associou-se com trombozes e AL, enquanto IgM anti-beta2-gpI se associou com valvulopatia e trombocitopenia⁽⁶⁰⁾.

O somatório de achados observados nos diversos relatos acerca do binômio IgA anti-beta2-gpI-trombozes no LES é, no mínimo, intrigante. Novos estudos, preferencialmente controlados e com análise multivariada, poderão definir mais claramente esta associação.

Dektov *et al.* argüem sobre a importância da testagem de IgG/IgM anti-beta2-gpI para a melhor caracterização da SAF. Quarenta e dois casos de SAF e 32 casos de LES sem trombose foram avaliados. Houve correlação positiva entre titulações de aCL e anti-beta2-gpI para ambos os isotipos. A especificidade para SAF foi de 91% para IgG anti-beta2-gpI e de 75% para IgG aCL. Com relação ao isotipo IgM, as especificidades foram de, respectivamente, 87% e 81%. A presença de AL concomitante à aCL e anti-beta2-gpI identificou um grupo de pacientes com SAF

primária severa. Os autores sugerem que o ensaio para anti-beta2-gpI, embora mais específico do que aCL, não deveria substituir o último⁽⁶¹⁾.

Tektonidou *et al.* avaliaram quais possíveis combinações de achados iniciais na SAF teriam valor prognóstico em termos de novos eventos trombóticos. Pacientes que inicialmente cursaram com hemólise e anticorpos anti-beta2-gpI foram os mais propensos à trombofilia futura⁽⁶²⁾.

ANTICORPOS ANTI-BETA2-GPI E MORBIDADE GESTACIONAL

Alguns relatos merecem menção. De forma prospectiva, Faden *et al.* acompanharam 510 gestantes quanto à presença de aCL, anti-beta2-gpI e complicações obstétricas. Anticorpos anti-beta2-gpI e aCL foram detectados em 3,9% e 1,6%, respectivamente. Anticorpos anti-beta2-gpI estiveram associados à preeclâmpsia/eclâmpsia, mesmo na ausência de aCL. Os autores sugerem que anticorpos anti-beta2-gpI sejam testados nestas circunstâncias⁽⁶³⁾.

Em interessante relato onde 90 mulheres com morbidade fetal prévia foram avaliadas, Franklin *et al.* observaram presença de AAF (aCL ou AL) em metade dos casos. Anticorpos anti-beta2-gpI foram observados em não mais que 22,2% dos casos AAF-positivos, e em apenas 2,2% das pacientes AAF-negativas⁽⁶⁴⁾.

Em estudo de caso controle, Gris *et al.* reportaram que a presença de IgG anti-beta2-gpI, assim como a de IgG anti-anexina V, IgM anti-FE e AL, foram associadas com risco significativo de perdas fetais em mulheres sem trombozes prévias. Além disso, estes marcadores se associaram à morbidade gestacional futura⁽⁶⁵⁾.

Em estudo de Lynch *et al.*, anticorpos anti-beta2-gpI, diferentemente de IgG aCL e IgG anti-FS, não foram preditivos para perdas fetais em uma coorte de 325 pacientes⁽⁶⁶⁾.

De interesse, IgA anti-beta2-gpI foi detectada com mais freqüência em mulheres com abortamentos repetidos (mesmo naquelas com teste negativo para IgG aCL/AL) que em controles férteis⁽⁶⁷⁾.

Os achados de Lee *et al.* revelaram associação de ambos aCL e anti-beta2-gpI com SAF, mas a testagem de anti-beta2-gpI não foi vantajosa na identificação de pacientes com abortamentos ou perdas fetais aCL-negativos⁽⁶⁸⁾.

ANTICORPOS ANTI-BETA2-GPI E OUTRAS DOENÇAS TROMBÓTICAS

Em 227 pacientes consecutivos com TVP ou embolia pulmonar (30% dos quais com AAF), anticorpos anti-beta2-gpI foram demonstrados em 8,4% dos casos. De interesse,

a presença destes anticorpos identificou um subgrupo de pacientes consideravelmente propensos a recorrências trombóticas⁽⁶⁹⁾.

Em pacientes sob hemodiálise com trombose de acessos vasculares, a frequência de anticorpos anti-beta2-gpI, diferentemente do que ocorreu com anticorpos contra o fator V bovino, não foi significativa⁽⁷⁰⁾.

A prevalência de AAF em 54 pacientes com hipertensão pulmonar (primária ou secundária) foi recentemente avaliada por Martinuzzo *et al.* AL, níveis moderados/altos de aCL e anticorpos anti-beta2-gpI estiveram relevantemente associados a uma forma crônica, tromboembólica, de hipertensão pulmonar⁽⁷¹⁾.

Liozon *et al.* relataram completa ausência de anticorpos anti-beta2-gpI em 45 casos de arterite de células gigantes comprovados por biópsia; o achado contrasta com a prevalência relevante de aCL (51%) nesta afecção⁽⁷²⁾.

Koutroubakis *et al.* reportaram ocorrência significativa de anticorpos anti-beta2-gpI e de aCL em pacientes com doença inflamatória intestinal (colite ulcerativa e doença de Crohn) com relação aos controles. Não houve associação dos anticorpos com tromboses nestas entidades, entretanto⁽⁷³⁾.

Anticorpos anti-beta2-gpI não foram observados em nenhum caso de doença de Behçet; interessantemente, 25% dos casos foram aCL-positivos. A presença de aCL não se associou à trombofilia nestes pacientes⁽⁷⁴⁾.

ANTICORPOS ANTI-BETA2-GPI E INFECÇÕES

Embora o soro de pacientes com infecções geralmente seja desprovido de atividade anti-beta2-gpI⁽²¹⁾, o assunto é matéria de debate.

Um grupo de autores reportou que soros de pacientes com sífilis, tuberculose e infecção por *Klebsiella*, passíveis de apresentarem aCL circulantes respectivamente em 6%, 5%, e 64% das vezes, geralmente não reagem contra beta2-gpI em ELISA. Os dados reforçam a noção de que AAF em doenças infecciosas são, via de regra, anticorpos aCL desprovidos de atividade anti-beta2-gpI e usualmente não-trombogênicos^(21,96). No entanto, teste positivo para anticorpos anti-beta2-gpI foi reportado em 7,4% dos pacientes HIV-positivos⁽⁷⁵⁾.

Digno de nota, Santiago *et al.* recentemente relataram a presença de anticorpos anti-beta2-gpI em pacientes com leptospirose, sífilis e kala-azar⁽⁷⁶⁾.

Além disso, 57% dos pacientes com hanseníase reagiram fortemente contra beta2-gpI, com grande predomínio de IgM⁽⁷⁷⁾.

ANTÍGENOS DE HISTOCOMPATIBILIDADE E ANTICORPOS ANTI-BETA2-GPI

Alguns haplótipos do sistema de antígenos leucocitários humanos (HLA) parecem predominar em pacientes com anticorpos anti-beta2-gpI. Usando tecnologia molecular, Loannidis *et al.* reportaram, em 67 pacientes gregos com SAF (54 dos quais com anticorpos anti-beta2-gpI), uma prevalência aumentada dos haplótipos HLA DQA1 03 e HLA DRB1*1302-DQB1*0604⁽⁷⁸⁾.

Em uma casuística europeia de 577 casos de LES, a presença de anticorpos anti-beta2-gpI foi associada mais intensamente ao haplótipo HLA DRB1*0402; aCL, além de associados a HLA DR4, o foram também com o haplótipo DR7⁽⁷⁹⁾.

Arnett *et al.*, por sua vez, relataram que o alelo HLA DQB1*0302, tipicamente pesquisado em haplótipos DR4, foi associado com a presença de anticorpos anti-beta2-gpI em LES/SAF, especialmente em indivíduos de origem mexicana. HLA DR53 foi visto com frequência aumentada em americanos de origem mexicana, mas não em caucasóides⁽⁸⁰⁾.

ANTICORPOS ANTI-BETA2-GPI E ATEROSCLEROSE

Na aterosclerose, a infiltração da parede arterial por macrófagos e células musculares lisas é acompanhada da placa ateromatosa, cujo centro necrótico é circundado por deposição de colesterol⁽⁸¹⁾.

A aterosclerose deve ser analisada em contexto multifatorial. Sua patogênese parece se estender de fatores de risco conhecidos (hipertensão arterial, diabetes melito, tabagismo, hipercolesterolemia) até fenômenos de auto-imunidade^(81,82).

A perpetuação de fatores de risco como hipertensão arterial sistêmica (HAS) e hipercolesterolemia parece, de fato, induzir fenômenos de auto-imunidade. O endotélio ativado é capaz de secretar adesinas e proteínas de choque térmico (Hsp). A adesão de macrófagos vacuolizados e a migração de células musculares lisas culminam com a formação de ateromas^(81,82).

Os relatos que associam beta2-gpI, anticorpos anti-beta2-gpI, anticorpos contra lipoproteínas e aterosclerose são dignos de nota. Em 1994, um grupo de autores demonstrou que aCL poderiam reagir cruzadamente com beta2-gpI e LDL oxidado⁽⁴⁴⁾. Estes achados não foram confirmados quatro anos depois, quando ausência de reatividade cruzada entre anticorpos anti-beta2-gpI e anti-LDL oxidado foi reportada em casos de SAF⁽⁴³⁾.

Romero *et al.* estudaram o significado da presença de anticorpos anti-beta2-gpI e anti-LDL oxidado por ELISA em lúpicas com ou sem SAF. Anticorpos IgG anti-beta2-

gpI, mas não anti-LDL oxidado, associaram-se à trombose arterial nesta casuística⁽⁸³⁾.

Alternativamente, Amengual *et al.* reportaram que anticorpos anti-LDL oxidado ocorreram em 22% de 107 casos de SAF, dado significativo com relação aos controles. Houve associação deste marcador com trombozes arteriais, mas não venosas. Não houve correlação entre presença de anticorpos anti-LDL oxidado e anticorpos anti-beta2-gpI/aCL⁽⁸⁴⁾.

A frequência de anticorpos contra uma lipoproteína modificada por malondialdeído (MDA-Lpa) foi recentemente investigada por Romero *et al.* em 104 casos de SAF. A prevalência deste anticorpo foi de 37%; aCL e anti-beta2-gpI foram detectados, respectivamente, em 64% e 46% dos casos. Não houve correlação entre presença de anticorpos contra MDA-Lpa e aCL/anti-beta2-gpI. A presença de anti-MDA-Lpa na SAF sugere um papel para fenômenos oxidativos nesta afecção⁽⁸⁵⁾.

A relação da beta2-gpI com aterosclerose é assunto de grande interesse em anos recentes. George *et al.* reportaram presença abundante de beta2-gpI em placas ateroscleróticas humanas. A transição entre as regiões média e íntima das placas, bem como o subendotélio, foram ricos na expressão da molécula. A contiguidade com linfócitos CD4+ sugere que a beta2-gpI pode ser alvo de reação auto-imune na placa aterosclerótica⁽⁸⁶⁾.

A indução de aterosclerose em camundongos deficientes em receptores de LDL após imunização com beta2-gpI foi recentemente demonstrada. Todos os animais imunizados desenvolveram altos títulos de anticorpos anti-beta2-gpI⁽⁸⁷⁾.

De acordo com Afek *et al.*, camundongos deficientes em apolipoproteína E tiveram o processo aterosclerótico acelerado após imunização com beta2-gpI. O efeito proaterogênico da imunização com beta2-gpI foi mantido independentemente de hipercolesterolemia⁽⁸⁸⁾.

ANTICORPOS ANTI-BETA2-GPI E ATEROSCLEROSE CORONÁRIA

A relação entre AAF e infarto agudo do miocárdio (IAM) tem sido motivo de intenso debate nos últimos anos. Estima-se que, entre os pacientes com SAF definida, a frequência de IAM seja de 4% a 20%(89).

Farsi *et al.* estudaram o binômio cardiopatia isquêmica-anticorpos anti-beta2-gpI. Vinte casos de angina instável, 17 casos de angina aos esforços e 40 controles sadios foram avaliados. Os isotipos IgG e IgM, mas não IgA anti-beta2-gpI, foram testados. Prevalência e titulação dos anticorpos foram mais expressivos no grupo com angina instável que em casos de angina aos esforços⁽⁹⁰⁾.

Em outro estudo, as presenças de IgG anti-beta2-gpI e de aCL não conferiram risco de reestenose coronária após angioplastia, ao contrário do observado com anticorpos anti-LDL oxidado⁽⁹¹⁾.

Limaye *et al.* não relataram diferenças nos níveis de anticorpos anti-beta2-gpI em pacientes com doença coronariana comparativamente a controles sadios⁽⁹²⁾. De forma similar, Brey *et al.* reportaram ausência de associação entre IgG anti-beta2-gpI e IAM⁽⁹³⁾.

Em recente estudo de caso-controles, nosso grupo avaliou a hipótese de que anticorpos anti-beta2-gpI se comportem como fatores de risco para IAM. Após análise multivariada, os dados indicaram que a presença de IgA anti-beta2-gpI conferiu risco independente para o desfecho (razão de chances 3,4)⁽⁹⁴⁾.

ANTICORPOS ANTI-BETA2-GPI, ANORMALIDADES NEUROLÓGICAS E ISQUEMIA CEREBRAL

Em estudos *in vitro* ou em modelos animais, as alterações neurológicas relacionadas com anticorpos anti-beta2-gpI são dignas de referência. Segundo Caronti *et al.*, soros de pacientes com SAF positivos para anti-beta2-gpI, assim como um anticorpo monoclonal anti-beta2-gpI, exibiram reatividade contra células neuronais e astrócitos. A ligação dos anticorpos, confirmada em imunofluorescência indireta, ocorreu independentemente da presença de aCL⁽⁹⁵⁾.

Após imunização com um anticorpo monoclonal aCL, camundongos fêmeas da raça BALB/c, além de apresentarem aCL, anticorpos anti-beta2-gpI, trombocitopenia e reabsorção fetal, cursaram também com hiporreflexia, hiperatividade e incoordenação motora⁽⁹⁶⁾.

A literatura envolvendo anticorpos anti-beta2-gpI e acidente vascular cerebral (AVC) isquêmico é ainda incipiente. De interesse, um anticorpo IgG anti-beta2-gpI (na ausência de aCL e AL) foi recentemente descrito em um adulto com infarto cerebral de origem obscura⁽⁹⁷⁾.

Em um dos raros estudos no assunto, a presença de anticorpos anti-beta2-gpI foi avaliada em 259 pacientes com AVC isquêmico. A frequência de IgG anti-beta2-gpI foi baixa em casos (2,2%) e controles (1,9%), o que não sugere um papel etiopatogênico para estes anticorpos no infarto cerebral⁽⁹³⁾.

Também em 2001, Heinzlef *et al.*⁽⁹⁸⁾ avaliaram a frequência de IgG anti-beta2-gpI e de aCL em 242 idosos internados em consequência de infarto cerebral. Nenhum dos pacientes apresentou teste positivo para IgG anti-beta2-gpI. Outros isotipos anti-beta2-gpI não foram testados. Os dados corroboram uma baixa ou nula frequência de IgG anti-beta2-gpI no infarto cerebral^(89,98).

A possibilidade de que anticorpos anti-beta2-gpI confirmam risco independente para infarto cerebral na fase aguda foi recentemente avaliada⁽⁹⁹⁾. A associação do isotipo IgA anti-beta2-gpI com isquemia cerebral aguda foi consistente em nossa casuística (razão de chances ajustada de 4,6). Infere-se, a partir deste dado, que estes anticorpos funcionem como fatores de risco independentes para AVC isquêmico em fase aguda⁽⁹⁹⁾.

Em suma, IgA anti-beta-gpI são anticorpos dirigidos contra moléculas presentes na placa aterosclerótica. Epifenômenos ou não, estes anticorpos podem ser representativos do binômio auto-imunidade/aterosclerose em pacientes com IAM⁽⁹⁴⁾ ou AVC isquêmico⁽⁹⁹⁾. O acréscimo destes marcadores sorológicos à rotina laboratorial em pacientes com aterosclerose deve ser discutido em estudos futuros.

REFERÊNCIAS

- Harris EN: Antiphospholipid syndrome. In: Klippel JH, Dieppe P, editors. *Rheumatology*. 2nd.ed, St. Louis: Mosby, 1-6, 1998.
- Love PE, Santoro AS: Antiphospholipid antibodies: anticardiolipin and the lupus anticoagulant in systemic lupus erythematosus (SLE) and in non-SLE disorders. *Ann Intern Med* 112: 682-98, 1990.
- Hughes GRV: The antiphospholipid syndrome: ten years on. *Lancet* 342: 341-3, 1993.
- Hughes GRV, Harris EN, Gharavi AE: The anticardiolipin syndrome. *J Rheumatol* 13: 486-9, 1986.
- Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, et al: International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. *Arthritis Rheum* 42: 1309-11, 1999.
- Asherson RA, Khamashta MA, Ordi-Ros J, et al: The "primary" antiphospholipid syndrome: major clinical and serological features. *Medicine* 68: 366-74, 1989.
- Gharavi AE, Harris EN, Asherson RA, et al: Anticardiolipin antibodies: isotype distribution and phospholipid specificity. *Ann Rheum Dis* 46: 1-6, 1987.
- Steinkasserer A, Cockburn DJ, Black DM, et al: Assignment of apolipoprotein H (beta2-gpI) to human chromosome 17q 23-qter determination of the major expression site. *Cytogenet Cell Genet* 60: 31-3, 1992.
- McNeil HP, Simpson RJ, Chesterman CN, et al: Antiphospholipid antibodies are directed against a complex antigen that includes a lipid-binding inhibitor of coagulation beta2-gpI (apolipoprotein H). *Proc Natl Acad Sci* 87: 4120-4, 1990.
- Galli M, Comfurius P, Maassen C: Anticardiolipin antibodies (ACA) direct not to cardiolipin but to a plasma cofactor. *Lancet* 335: 1544-7, 1990.
- Hunt JE, McNeil HP, Morgan GJ, et al: A phospholipid-beta2-gpI complex is an antigen for anticardiolipin antibodies occurring in autoimmune disease but not with infection. *Lupus* 1: 75-81, 1992.
- Gharavi AE, Sammaritano LR, Wen J, et al: Induction of antiphospholipid antibodies by immunization with beta2-gpI (apolipoprotein H). *J Clin Invest* 90: 1105-9, 1992.
- Gharavi AE, Sammaritano LR, Borastro JL, et al: Specificities and characteristics of beta2-gpI-induced antiphospholipid antibodies. *J Clin Lab Med* 125: 775-8, 1995.
- Blank M, George J, Barak V, et al: Oral tolerance to low dose beta2-gpI: immunomodulation of experimental antiphospholipid syndrome. *J Immunol* 161: 5303-12, 1998.
- Kandiah DA, Krilis S: Beta2-gpI. *Lupus* 3: 207-12, 1994.
- Polz E: Isolation of a specific lipid-binding protein from human serum by affinity chromatography using heparin-sepharose. In: Peeter H, editor. *Protides of biological fluids*. Oxford: Pergamon, 817-20, 1979.
- Borchman D, Harris EN, Pierangeli SS, et al: Interactions and molecular structure of cardiolipin and beta-2-gp1. *Clin Exp Immunol* 102: 373-8, 1995.
- Schousboe I: Beta2-gpI: a plasma inhibitor of the contact activation of the intrinsic blood coagulation. *Blood* 66: 1086-91, 1985.
- Nomura S, Fukuhara S, Komiyama Y, et al: Beta2-gpI and anticardiolipin antibody influence factor Xa generation but not factor Xa binding to platelet-derived microparticles [letter]. *Thromb Haemost* 71: 526-7, 1994.
- Arnout J, Wittevrongel C, Vanrusselt M, et al: Beta2-gpI dependent lupus anticoagulants form stable bivalent antibody-beta2-gpI complexes on phospholipid surfaces. *Thromb Haemost* 79: 79-86, 1998.
- Hojnik M, Gilburd, Ziporen L, et al: Anticardiolipin antibodies in infectious are heterogeneous in their dependency on beta2-gpI: analysis of anticardiolipin antibodies in leprosy. *Lupus* 3: 515-8, 1994.
- Galli M, Ruggeri L, Barbui T: Differential effects of anti-beta2-gpI and antiprothrombin antibodies on the anticoagulant activity of activated protein C. *Blood* 91: 1999-2004, 1998.
- Biasiolo A, Rampazzo P, Brocco T, et al: Anti-beta2-gpI-beta2-gpI immune complexes in patients with antiphospholipid syndrome and other immune diseases. *Lupus* 8: 121-6, 1999.
- Mason NA, Harmer IJ, Mageed RA, et al: The BH1 idiotype defines a population of anticardiolipin antibodies closely associated with the antiphospholipid syndrome. *Lupus* 8: 234-9, 1999.
- Pengo V, Biasiolo A, Fior MG: Autoimmune antiphospholipid antibodies are directed against a cryptic epitope expressed when beta2-gpI is bound to a suitable surface. *Thromb Haemost* 73: 29-34, 1995.
- Matsuura E, Igarashi Y, Yasuda T, et al: Anticardiolipin antibodies recognize beta2-gp1 structure altered by interacting with an oxygen modified solid phase surface. *J Exp Med* 179: 457-62, 1994.
- Arvieux J, Roussel B, Jacob MC, et al: Measurement of antiphospholipid antibodies by ELISA using beta2-gpI as antigen. *J Immunol Methods* 143: 223-9, 1991.
- Tincani A, Spatola L, Prati E, et al: The anti-beta2-gpI activity in human antiphospholipid syndrome sera is due to monoreactive low affinity autoantibodies directed to epitopes located on native beta2-gpI and preserved during species evolution. *J Immunol* 157: 5732-8, 1996.
- Sheng Y, Kandiah DA, Krilis AS: Anti-beta2-gpI autoantibodies from patients with the "antiphospholipid" syndrome bind to beta2-gpI with low affinity: dimerization of beta2-gpI induces a significant increase in anti-beta2-gpI antibody affinity. *J Immunol* 161: 2038-43, 1998.
- Tincani A, Spatola L, Cinquini M, et al: Anti-beta2-gp1 antibodies: clinical significance. *Lupus* 7(suppl. 2): S107-9, 1998.

31. Arvieux J, Regnault V, Hachulla E, et al: Heterogeneity and immunochemical properties of anti-beta2-gpI autoantibodies. *Thromb Haemost* 80: 393-8, 1998.
32. Santiago M, Rocha MC, Souza S, et al: Anticorpos anti-beta2-gpI em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico. *Rev Bras Reumatol* 40: 285-90, 2000.
33. Tsutsumi A, Ichikawa K, Matsuura E, et al: Heterogeneous behaviour of anti-beta2gp1 antibodies on various commercially available enzyme immunoassay plates coated with beta2-gp1. *J Rheumatol* 27: 391-6, 2000.
34. Lewis S, Keil LB, Binder WL, et al: Standardized measurement of major immunoglobulin class (IgG, IgM, IgA) antibodies to beta2-gp I in patients with antiphospholipid syndrome. *J Clin Lab Anal* 12: 293-7, 1998.
35. Cucnik S, Ambrozic A, Bozic B, et al: Anti-beta2-gpI ELISA: methodology, determination of cut-off values in 434 healthy Caucasians and evaluation of monoclonal antibodies as possible international standards. *Clin Chem Lab Med* 38: 777-83, 2000.
36. Ichikawa K, Tsutsumi A, Atsumi T, et al: A chimeric antibody with the human gamma 1 constant region as a putative standard for assay to detect IgG beta2-gpI-dependent anticardiolipin and anti-beta2-gpI antibodies. *Arthritis Rheum* 42: 2461-70, 1999.
37. Roubey RAS, Maldonado MA, Byrd SN: Comparison of an enzyme-linked immunosorbent assay for antibodies to beta2-gpI and a conventional anticardiolipin immunoassay. *Arthritis Rheum* 39: 1606-7, 1996.
38. McNally T, Mackie IJ, Machin SJ, et al: Increased levels of beta2-gpI antigen and beta2-gpI binding antibodies are associated with a history of thromboembolic complications in patients with SLE and primary antiphospholipid syndrome. *Br J Rheumatol* 34: 1031-6, 1995.
39. Bruce IN, Clark-Soloninka CA, Spitzer KA, et al: Prevalence of antibodies to beta2-gpI in systemic lupus erythematosus and their association with antiphospholipid antibody syndrome criteria: a single center study and literature review. *J Rheumatol* 27: 2833-7, 2000.
40. Helbert M, Bodger S, Cavenagh J, et al: Optimising testing for phospholipid antibodies. *J Clin Pathol* 54: 693-8, 2001.
41. Balestrieri G, Tincani A, Spatola L, et al: Anti-beta2-gpI: a marker of antiphospholipid syndrome? *Lupus* 4: 122-30, 1995.
42. Arvieux J, Roussel B, Colomb MG: Anticorps antiphospholipides et anti-beta2-gpI. *Ann Biol Clin Paris* 52: 381-5, 1994.
43. Tinahones FJ, Cuadrado MJ, Khamasta MA, et al: Lack of cross-reaction between antibodies to beta2-gp1 and oxidized LDL in patients with antiphospholipid syndrome. *Br J Rheumatol* 37: 746-9, 1998.
44. Matsuura E, Katahira T, Igarashi Y, et al: Beta2-gpI bound to oxidatively modified lipoproteins could be targeted by anticardiolipin antibodies. [abstract] *Lupus* 3: 314, 1994.
45. George G, Gilburd B, Langewitz P, et al: Beta2-gpI containing immunocomplexes in lupus patients: association with thrombocytopenia and lipoprotein (a) levels. *Lupus* 8: 116-20, 1999.
46. Viard JP, Amoura Z, Back JF: Association of anti-beta2-gp1 antibodies with lupus-type circulating anticoagulant and thrombosis in SLE. *Am J Med* 93: 181-6, 1992.
47. Sanfilippo SS, Khamashta MA, Atsumi T, et al: Antibodies to beta2-gpI: a potential marker for clinical features of antiphospholipid antibody syndrome in patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 25: 2131-4, 1998.
48. Tubach F, Hayem G, Marchand JL, et al: IgG anti-beta2-gpI antibodies in adult patients with systemic lupus erythematosus: prevalence and diagnostic value for the antiphospholipid syndrome. *J Rheumatol* 27: 1437-43, 2000.
49. Shrivastava A, Dwivedi S, Aggarwal A, et al: Anticardiolipin and anti-beta2-gpI antibodies in Indian patients with systemic lupus erythematosus: association with the presence of seizures. *Lupus* 10: 45-50, 2001.
50. Aguirre V, Cuchacovich R, Barria L, et al: Prevalence and isotype distribution of antiphospholipid antibodies in Chilean patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus* 10: 75-80, 2001.
51. Inanc M, Donohoe S, Ravirajan CT, et al: Anti-beta2-gpI, anti-prothrombin and anticardiolipin antibodies in a longitudinal study of patients with systemic lupus erythematosus and the antiphospholipid syndrome. *Br J Rheumatol* 37: 1089-94, 1998.
52. Sebastiani GD, Galeazzi M, Tincani A, et al: Anticardiolipin and anti-beta2-gpI antibodies in a large series of European patients with systemic lupus erythematosus. Prevalence and clinical associations. European Concerned Action on the Immunogenetics of SLE. *Scand J Rheumatol* 28: 344-51, 1999.
53. Cucurull E, Espinoza LR, Mendez E, et al: Anticardiolipin and anti-beta2-gpI antibodies in patients with systemic lupus erythematosus: comparisons between Colombians and Spaniards. *Lupus* 8: 134-41, 1999.
54. Gomez-Pacheco L, Villa AR, Drenkard C, et al: Serum anti-beta2-gpI and anticardiolipin antibodies during thrombosis in systemic lupus erythematosus. *Am J Med* 106: 417-23, 1999.
55. Tsutsumi A, Matsuura E, Ichikawa K, et al: IgA class anti-beta2-gpI in patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 25: 74-8, 1998.
56. Tsutsumi A, Matsuura E, Ichikawa K, et al: Antibodies to beta2-gpI and clinical manifestations in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 39: 1466-74, 1996.
57. Bertolaccini ML, Atsumi T, Escudero-Contreras A, et al: The value of IgA antiphospholipid testing for diagnosis of antiphospholipid (Hughes) syndrome in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 28: 2637-43, 2001.
58. Cucurull E, Gharavi AE, Diri E, et al: IgA anticardiolipin and anti-beta2-gpI are the most prevalent isotypes in African American patients with systemic lupus erythematosus. *Am J Med Sci* 318: 55-60, 1999.
59. Lee SS, Cho ML, Joo YS, et al: Isotypes of anti-beta2-gpI antibodies: association with thrombosis in patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 28: 520-4, 2001.
60. Lakos G, Kiss E, Regeczy N, et al: Isotype distribution and clinical relevance of anti-beta2-gpI antibodies: importance of IgA isotype. *Clin Exp Immunol* 117: 547-9, 1999.
61. Detkov, Gil-Aguado A, Lavilla P, et al: Do antibodies to beta2-gpI contribute to better characterization of the antiphospholipid syndrome? *Lupus* 8: 430-8, 1999.
62. Tektonidou MG, Ioannidis JP, Boki KA, et al: Prognostic factors and clustering of serious clinical outcomes in antiphospholipid syndromes. *QJM* 93: 523-30, 2000.
63. Faden D, Tincani A, Tanzi P, et al: Anti-beta2-gpI antibodies in a general obstetric population: preliminary results on the prevalence and correlation with pregnancy outcome. Anti-beta2-gpI antibodies are associated with some obstetric complications, mainly preeclampsia-eclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 73: 37-42, 1997.
64. Franklin RD, Hollier N, Kutteh WH: Beta2-gpI as a marker of antiphospholipid syndrome in women with recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril* 73: 531-5, 2000.

65. Gris JC, Quere I, Sanmarco M, et al: Antiphospholipid and antiprotein syndromes in non-thrombotic, non-autoimmune women with unexplained recurrent primary early foetal loss: The Nimes Obstetricians and Haematologists Study - NOHA. *Thromb Haemos* 84: 228-36, 2000.
66. Lynch A, Byers T, Emlen W, et al: Association of antibodies to beta2-gpI with pregnancy loss and pregnancy-induced hypertension: a prospective study in low-risk pregnancy. *Obstet Gynecol* 93: 193-8, 1999.
67. Lee RM, Branch DW, Silver RM: Immunoglobulin A anti-beta2-gpI antibodies in women who experience unexplained recurrent spontaneous abortion and unexplained fetal death. *Am J Obstet Gynecol* 185: 748-53, 2001.
68. Lee RM, Emlen E, Scott JR, et al: Anti-beta2-gpI antibodies in women with recurrent spontaneous abortion, unexplained fetal death, and antiphospholipid syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 181: 642-8, 1999.
69. Zanon E, Prandoni P, Vianello F, et al: Anti-beta2-gpI antibodies in patients with acute venous thromboembolism: prevalence and association with recurrent thromboembolism. *Thromb Res* 96: 269-74, 1999.
70. Sands JJ, Nudo AS, Moore KD, et al: Antibodies to prothrombin, factor V, and beta2-gpI and vascular access thrombosis. *ASAIO J* 47: 507-10, 2001.
71. Martinuzzo ME, Pombo G, Forastiero RR, et al: Lupus anticoagulant, high levels of anticardiolipin and anti-beta2-gpI antibodies are associated with chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *J Rheumatol* 25: 1313-9, 1998.
72. Liozon E, Roussel V, Roblot P, et al: Absence of anti-beta2-gpI antibodies in giant cell arteritis: a study of 45 biopsy-proven cases. *Br J Rheumatol* 37: 1129-31, 1998.
73. Koutroubakis IE, Petinaki E, Anagnostopoulou E, et al: Anticardiolipin and anti-beta2-gpI antibodies in patients with inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci* 43: 2507-12, 1998.
74. Kang HJ, Lee YW, Han SH, et al: Anticardiolipin and anti-beta2-gpI antibodies in Behçet disease. *J Korean Med Sci* 13: 400-4, 1998.
75. McNally T, Purdy G, Mackie IJ, et al: The use of an anti-beta2-gpI assay for discrimination between anticardiolipin antibodies associated with infection and increased risk for thrombosis. *Br J Haematol* 91: 471-3, 1995.
76. Santiago MB, Martinelli R, Ko A, et al: Anti-beta2-gpI and anticardiolipin antibodies in leptospirosis, syphilis and kala-azar. *Clin Exp Rheumatol* 19: 425-30, 2001.
77. De Larranaga GF, Forastiero RR, Martinuzzo ME, et al: High prevalence of antiphospholipid antibodies in leprosy: evaluation of antigen reactivity. *Lupus* 9: 594-600, 2000.
78. Ioannidis JP, Tektonidou MG, Vlachoyiannopoulos PG, et al: HLA associations of anti-beta2-gpI response in a Greek cohort with antiphospholipid syndrome and meta-analysis of four ethnic groups. *Hum Immunol* 60: 1274-80, 1999.
79. Galeazzi M, Sebastiani GD, Tincani A, et al: HLA class II alleles associations of anticardiolipin and anti-beta2-gpI antibodies in a large series of European patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus* 9: 47-55, 2000.
80. Arnett FC, Thiagarajan P, Ahn C, et al: Associations of anti-beta2-gpI with class II alleles in three ethnic groups. *Arthritis Rheum* 42: 268-74, 1999.
81. Wick G, Xu Q: Atherosclerosis: an autoimmune disease. *Exp Gerontol* 34: 559-66, 1999.
82. Ross R: Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med* 340: 115-26, 1999.
83. Romero FI, Amengual O, Atsumi T, et al: Arterial disease in lupus and secondary antiphospholipid syndrome: association with anti-beta2-gpI antibodies but not with antibodies against oxidized low-density lipoprotein. *Br J Rheumatol* 37: 883-8, 1998.
84. Amengual O, Atsumi K, Khamashta MA, et al: Antibodies against oxidized low-density lipoprotein in antiphospholipid syndrome. *Br J Rheumatol* 36: 964-8, 1997.
85. Romero FI, Atsumi T, Tinahones FJ, et al: Autoantibodies against malondialdehyde-modified lipoprotein (a) in antiphospholipid syndrome. *Arthritis Rheum* 42: 2606-11, 1999.
86. George J, Harats D, Gilburd B, et al: Immunolocalization of beta2-gpI (apolipoprotein H) to human atherosclerotic plaques: potential implications for lesion progression. *Circulation* 99: 2227-30, 1999.
87. George J, Afek A, Gilburd B, et al: Induction of early atherosclerosis in LDL-receptor-deficient mice immunized with beta2-gpI. *Circulation* 98: 1108-15, 1998.
88. Afek A, George J, Shoenfeld Y, et al: Enhancement of atherosclerosis in beta2-gpI-immunized apolipoprotein E-deficient mice. *Pathobiology* 67: 19-25, 1999.
89. O'Vaara: Antiphospholipid antibodies and myocardial infarction. *Lupus* S2 132-34, 1998.
90. Farsi A, Domeneghetti MP, Fedi S, et al: High prevalence of anti-beta2-gpI antibodies in patients with ischemic heart disease. *Autoimmunity* 30: 93-8, 1999.
91. George J, Harats D, Bakshi E, et al: Anti-oxidized low density lipoprotein antibody determination as a predictor of reestenosis following percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Immunol Lett* 68: 263-6, 1999.
92. Limaye V, Beltrame J, Cook R, Gillis D, Pile K: Evaluation of antibodies to b2-glycoprotein 1 in the causation of coronary atherosclerosis as part of the antiphospholipid syndrome. *Aust NZ J Med* 29: 789-93, 1999.
93. Brey RL, Abbott RD, Curb D, Sharp DS, Ross GW: b2-glycoprotein 1-dependent anticardiolipin antibodies and risk of ischemic stroke and myocardial infarction. *Stroke* 32: 1701-06, 2001.
94. Ranzolin A, Norman GL, Manenti E, Bodanese LC, Von Mühlen CA, Staub HL: Antibodies to beta2-glycoprotein I as risk factors for acute myocardial infarction. *Arq Bras Cardiol*, 2003. (In press).
95. Caronti B, Calderaro C, Alessandri C, et al: Serum anti-beta2-gpI antibodies from patients with antiphospholipid antibody syndrome bind central nervous system cells. *J Autoimmun* 11: 425-9, 1998.
96. Ziporen L, Shoenfeld Y, Levy Y, et al: Neurological dysfunction and hyperactive behaviour associated with antiphospholipid antibodies: a mouse model. *J Clin Invest* 100: 613-9, 1997.
97. Chen WH, Liu JS: An unusual increase of blood anti-beta2-gpI antibody but not antiphospholipid antibody in cerebral ischemia: a case report. *Angiology* 52: 149-54, 2001.
98. Heinzlef O, Abuaf N, Cohen A, et al: Recurrent stroke and vascular events in elderly patients with anticardiolipin antibodies: a prospective study. *J Neurol* 248: 373-9, 2001.
99. Staub HL, Norman GL, Crowther T, et al: Antibodies to the atherosclerotic plaque components beta2-glycoprotein and heat-shock proteins as markers of acute cerebral ischemia. *Arq Neuropsiquiatr*, 2003. (In press).