

Determinación de anticuerpos anti- β_2 glicoproteína I en pacientes con síndrome antifosfolípido

ÁNGELA PATRICIA CADAVID JARAMILLO¹, GLORIA PATRICIA GARCÍA OSPINA², MARÍA LEONOR ÁLVAREZ PELÁEZ³, JUAN CARLOS QUINTANA ZAPATA⁴, RUTH BEATRIZ PEÑA ARBOLEDA⁵, JORGE HUMBERTO BOTERO GARCÉS⁶, ÓSCAR URIBE URIBE⁷

RESUMEN

E L OBJETIVO DE ESTE ESTUDIO fue comparar la presencia de anticuerpos anti- β_2 glicoproteína I (anti- β_2 GPI) con las pruebas convencionales de laboratorio de anticuerpos anticardiolipina (aCL) y anticoagulante lúpico, y con las manifestaciones clínicas del síndrome antifosfolípido (SAF).

Se incluyeron en el estudio 80 mujeres con SAF; 35 de ellas de la consulta de Reumatología y las otras 45 con historia de aborto recurrente espontáneo (ARE); 5 mujeres de la consulta de Reumatología sin SAF, 27 mujeres con ARE, sin SAF y un grupo control de 20 mujeres sanas en edad reproductiva. Se investigaron la presencia de anticuerpos IgG e IgM anticardiolipina (aCL) e IgG anti- β_2 GPI por la técnica de ELISA, y el anticoagulante lúpico por la determinación del tiempo parcial

.....

1. Médica, Magíster en Inmunología, Doctora en Ciencias

2. Bacterióloga, Magíster en Ciencias Básicas Biomédicas

3. Bacterióloga, Especialista en Hematología

4. Bacteriólogo, Magíster en Ciencias Básicas Biomédicas

5. Bióloga

6. Médico, Magíster en Inmunología

7. Médico, Especialista en Medicina Interna-Reumatología

Institución: Grupo Reproducción-Biogénesis, Universidad de Antioquia

Servicio de Reumatología, Universidad de Antioquia, Hospital Universitario San Vicente Paúl

Financiado: CODI y Grupo Reproducción-Biogénesis, Universidad de Antioquia

Fecha de recepción: 16 de septiembre de 2004

Fecha de aceptación: 17 de noviembre de 2004

de tromboplastina activado. Adicionalmente, se registraron las manifestaciones clínicas asociadas al SAF.

De las pacientes con SAF, 25.7% del grupo de Reumatología (9/35) y 4.4% de las pacientes con ARE (2/45) fueron positivas para anticuerpos anti- β_2 GPI, mientras que ninguna de las mujeres sin SAF, ni de las mujeres del grupo control, fue positiva. La asociación entre la presencia de anti- β_2 GPI y los anticuerpos IgG e IgM aCL mostró una diferencia significativa en los títulos de 3+ (altamente positivos) en contraste con los individuos negativos para anti- β_2 GPI. La positividad del anticoagulante lúpico también se correlacionó con la presencia de anticuerpos anti- β_2 GPI. No hubo diferencia significativa entre las diversas manifestaciones clínicas del SAF y la presencia de dichos anticuerpos.

En conclusión, la determinación de anticuerpos anti- β_2 GPI tiene una alta especificidad en pacientes con SAF pero no se asoció con ninguna manifestación clínica en particular.

PALABRAS CLAVE

ANTICUERPOS ANTI- β_2 GPI
ANTICUERPOS ANTICARDIOLIPINA
PÉRDIDA RECURRENTE DEL EMBARAZO
SÍNDROME ANTIFOSFOLÍPIDO
TROMBOSIS

INTRODUCCIÓN

EL SÍNDROME ANTIFOSFOLÍPIDO (SAF) se define como la presencia de anticuerpos antifosfolípidos asociada a una o varias manifestaciones clínicas

como pérdida fetal recurrente, trombosis arterial o venosa, anemia hemolítica, trombocitopenia, livedo reticularis y mielitis transversa, entre otras; se plantea el diagnóstico de SAF primario cuando no se acompaña de ninguna enfermedad concomitante principalmente lupus eritematoso sistémico (1). En el Consenso Internacional de Sapporo en 1999, se redefinió el SAF y sólo se incluyeron las manifestaciones clínicas de trombosis y pérdidas fetales y no las manifestaciones dermatológicas o neurológicas diferentes a las resultantes de trombosis (2). Los títulos de anticuerpos anticardiolipina (aCL) y la determinación del anticoagulante lúpico han sido las pruebas de laboratorio más usadas en el diagnóstico del SAF.

Se ha reportado que los anticuerpos anticardiolipina detectados por la técnica de ELISA no reaccionan directamente contra el fosfolípido, sino que están dirigidos contra un cofactor, la β_2 glicoproteína-I (β_2 GPI), o contra el complejo fosfolípido/proteína. Estos anticuerpos reconocen la β_2 GPI unida a los fosfolípidos, por lo que se requieren ambos para formar el epítipo que pueda ser reconocido por los anticuerpos (3,4); la β_2 GPI, al parecer, cambia la conformación del fosfolípido y lo hace antigénico (5). Algunos investigadores han planteado que los aCL no están dirigidos directamente contra la β_2 GPI, sino que reconocen los epítopos conformacionales inducidos por la unión de la β_2 GPI a los fosfolípidos, pero la evidencia de esta unión no excluye que exista un subgrupo de anticuerpos que reaccionan con una porción fosfolípida del complejo β_2 GPI/fosfolípido (5,6).

La trombosis es una de las características definitorias del SAF; puede afectar arterias o venas intracerebrales, viscerales o periféricas, dando origen a las diferentes manifestaciones clínicas ya descritas (7). Se han propuesto varios mecanismos para explicar la trombosis asociada al SAF: el primero implica la activación de células endoteliales

con el aumento en la expresión de moléculas de adherencia, de citoquinas y del metabolismo de las prostaglandinas; el segundo mecanismo se enfoca en el daño del endotelio vascular mediado por oxidantes principalmente por la lipoproteína de baja densidad oxidada que de alguna manera reacciona cruzadamente con los anticuerpos anticardiolipina; el tercer mecanismo tiene que ver con la interacción de los anticuerpos antifosfolípidos con algunas proteínas reguladoras de la cascada de la coagulación como la protrombina, la proteína C, la anexina V y el factor tisular (8).

El SAF se asocia también con diferentes alteraciones de la gestación que llevan a pobres resultados obstétricos como el aborto recurrente espontáneo (ARE), la muerte fetal y la preeclampsia (9-14). En el caso particular del ARE, se ha considerado tradicionalmente que la causa inmediata de muerte fetal en las gestantes con SAF, es la hipoxia debida al insuficiente flujo uteroplacentario de sangre. Estudios histológicos de placentas revelan una vasculopatía inflamatoria no trombótica de las arterias espirales maternas que produce infarto placentario (15); aunque no se conoce el mecanismo específico, se ha encontrado que los anticuerpos antifosfolípidos reducen los niveles de anexina V en las células endoteliales (16). Además se ha descrito otro mecanismo patogénico, no asociado a trombosis, que se define como una falla placentaria por interferencia de los anticuerpos antifosfolípidos (particularmente fosfatidilserina) con la fusión del citotrofoblasto para formar el sincitiotrofoblasto en la interfase materno-fetal (17). Estos anticuerpos afectan además otras funciones trofoblásticas como la producción de la hormona gonadotropina coriónica humana y la invasión del trofoblasto (18). Posteriormente se demostró que también los anticuerpos anti- β_2 GPI pueden unirse a epitopes expresados por el trofoblasto y contribuir a la placentación defectuosa y a fallas en la implantación y el desarrollo (19,20).

Adicionalmente se ha reportado que los anticuerpos aCL asociados con infecciones como sífilis o tuberculosis no están usualmente relacionados con trombosis y no reaccionan con la β_2 GPI, pero sí se unen a la cardiolipina. En contraste, los aCL derivados de pacientes con lupus e historia de trombosis, reconocen directamente la β_2 GPI unida a la cardiolipina. Esto ha permitido sugerir que la medición y la determinación de los subgrupos de anticuerpos antifosfolípidos unidos a la β_2 GPI tienen una relación más directa con los eventos trombóticos (21,22).

Para evaluar la importancia de la determinación de los anticuerpos anti- β_2 GPI como herramienta diagnóstica y pronóstica de complicaciones en pacientes con SAF, se desarrolló este trabajo de investigación con el objetivo específico de comparar la presencia de anticuerpos anti- β_2 GPI con las pruebas de laboratorio convencionales de anticuerpos aCL y anticoagulante lúpico y con las manifestaciones clínicas del síndrome antifosfolípido.

MATERIALES Y MÉTODOS

Pacientes

SE INCLUYERON PACIENTES CON DIAGNÓSTICO de síndrome antifosfolípido definido como la presencia de anticuerpos anticardiolipina y/o de anticoagulante lúpico y los antecedentes de uno o más de los signos y síntomas asociados a dicho síndrome (trombosis arterial o venosa, trombocitopenia, livedo reticularis, anemia hemolítica, mielitis transversa, úlceras crónicas de los miembros inferiores, hipertensión pulmonar, accidente cerebrovascular y pérdidas gestacionales) (1). En este estudio se consideraron cinco categorías de pacientes: a) 35 mujeres de la consulta de Reumatología del Hospital Universitario San Vicente de Paúl (9 con SAF

primario y 26 con SAF secundario a lupus eritematoso sistémico); b) 5 mujeres de la consulta de Reumatología que no tenían positividad de las pruebas de laboratorio para SAF (3 con lupus eritematoso sistémico y 2 con otros diagnósticos); c) 45 pacientes con historia de dos o más ARE remitidas al Grupo Reproducción de la Universidad de Antioquia y que tenían positiva alguna de las pruebas de laboratorio de SAF; d) 27 pacientes con aborto recurrente con las pruebas de laboratorio negativas para SAF y e) un grupo control de 20 mujeres, aparentemente sanas, sin signos ni síntomas asociados al SAF.

A todas las mujeres incluidas en el estudio se les hizo una encuesta con datos generales sobre manifestaciones clínicas asociadas al SAF; además se les preguntó por antecedentes personales de lúes, endocarditis bacteriana, valvulopatías cardíacas no infecciosas, tuberculosis y hepatopatías.

Toma de las muestras

Previo consentimiento informado escrito, se tomaron una muestra de 5 mL de sangre periférica en tubo sin anticoagulante para separar el suero y otra en un tubo con citrato de sodio para obtener plasma.

Determinación de los anticuerpos contra la Beta₂-glicoproteína I

La semicuantificación de la IgG contra β_2 GPI se realizó en el suero por el método de ELISA con el estuche comercial Quanta Lite™ (Inova Diagnostics, San Diego, California). Para el cálculo de los resultados se obtuvo el promedio de la densidad óptica de los duplicados de cada muestra y de los controles de la curva estándar y se analizó mediante una interpolación cúbica (cubic spline).

La curva estándar tenía valores de 150; 75; 37.5; 19 y 9.4 unidades. Se incluyeron los controles de calidad especificados en el estuche comercial. Valores por encima de 20 U se consideraron positivos.

Determinación de anticuerpos IgG e IgM anticardiolipina (aCL)

Estos anticuerpos se midieron en suero utilizando el estuche comercial de ELISA Quanta Lite™ (Inova Diagnostics, San Diego, CA). El cálculo de los resultados se realizó de igual forma que para la β_2 glicoproteína-I y la curva estándar incluyó valores de 150; 75; 37.5; 19; 9.4 y 4.7 unidades.

Para la IgG, los resultados se interpretaron así: negativo (valores por debajo de 15.0 GPL); 1+ (levemente positivos, valores de 15.1 a 20 GPL); 2+ (moderadamente positivos, valores de 20.1 a 80 GPL) y 3+ (altamente positivos, valores por encima de 80 GPL).

La interpretación de los resultados para la IgM se hizo con la siguiente escala: negativo (valores por debajo de 12.5 MPL); 1+ (levemente positivos, valores de 12.5 a 20 MPL); 2+ (moderadamente positivos, valores de 20.1 a 80 MPL) y 3+ (altamente positivos, valores por encima de 80 MPL).

Determinación del anticoagulante lúpico

En el plasma pobre en plaquetas, se determinó el tiempo parcial de tromboplastina activado (TPTa) usando el estuche comercial Simplastin® (Organon Teknika), siguiendo las instrucciones del fabricante.

Análisis estadístico

El porcentaje de positividad de los anticuerpos en los diferentes grupos se comparó por la prueba de chi cuadrado y la asociación entre la positividad de los anticuerpos anti- β_2 GPI y los diferentes grados de positividad de los anticuerpos anticardiolipina, por un chi cuadrado de tendencia.

RESULTADOS

Descripción de la población

Se estudiaron en total 80 pacientes con SAF, todas mujeres, de las cuales 35 tenían enfermedad reumatológica y 45, antecedente de pérdida gestacional a repetición. Las pacientes de Reumatología tenían un promedio de edad de 30 ± 8.13 (con un rango entre 11 y 41 años); el promedio de edad en el grupo de ARE fue de 29 ± 6.25 (de 17 a 41 años). En los otros grupos de estudio el promedio de edad fue de 33.4 ± 14 (de 17 a 50 años) en las 5 pacientes de Reumatología sin SAF y de 30.3 ± 5.4 (de 22 a 43 años) en el grupo de 27 mujeres con ARE sin SAF. El grupo control estaba conformado por 20 mujeres sanas en edad reproductiva con un promedio de edad de 29.9 ± 6.02 (de 22 a 43 años). No se encontró diferencia estadísticamente significativa entre las edades de los diferentes grupos.

Antecedentes clínicos de las pacientes de los diferentes grupos

De acuerdo con los datos obtenidos en la historia clínica y en la encuesta, se presentan los antecedentes clínicos relacionados con el SAF en los diferentes grupos de pacientes (Tabla N°1).

Frecuencia de los diferentes anticuerpos en los grupos de estudio

En la tabla N° 2 se describe la frecuencia de los anticuerpos anti- β_2 GPI, IgG e IgM aCL y TPTa en los grupos con SAF y en el grupo control. En los otros dos grupos, Reumatología y ARE sin SAF, no se encontró ninguna paciente positiva para anticuerpos anti- β_2 GPI; ni, según sus características de inclusión en el estudio, tenían positividad para anticuerpos anticardiolipina ni para el anticoagulante lúpico. Se encontró diferencia estadísticamente significativa entre el grupo de Reumatología y los grupos de ARE y control, en los anticuerpos anti- β_2 GPI, IgM anticardiolipina y el TPTa ($p < 0.05$). Para la IgG anticardiolipina se encontró diferencia significativa entre el grupo de Reumatología y el de ARE pero no entre el grupo de Reumatología y los controles. Se detectó diferencia significativa entre el grupo de ARE y el control para los anticuerpos IgM anticardiolipina, particularmente en los valores de 2+ ($p < 0.01$); para los anticuerpos IgG anti- β_2 GPI, IgG anticardiolipina y TPTa no hubo diferencia significativa entre estos dos últimos grupos.

Tabla Nº 1
ANTECEDENTES CLÍNICOS RELACIONADOS CON EL SAF EN LOS DIFERENTES GRUPOS

Antecedentes	Pacientes Reumatología con SAF+ n= 35	Pacientes ARE con SAF + n= 45	Pacientes Reumatología sin SAF n= 5	Pacientes ARE sin SAF n = 27	Controles n = 20
Trombosis arterial o venosa	7	2	2	0	0
Accidente cerebrovascular	11	0	1	0	0
Livedo reticularis	13	0	2	0	0
Trombocitopenia	15	0	1	0	0
Anemia hemolítica	6	0	1	0	0
Pérdidas gestacionales (2 o más)	7	45	0	27	0
Hipertensión pulmonar	2	0	1	0	0
Úlceras crónicas de miembros inferiores	2	0	0	0	0
Mielitis transversa	1	0	0	0	0

Tabla Nº 2
FRECUENCIA DE ANTICUERPOS ANTI- β_2 GPI Y OTROS ANTICUERPOS DEL SAF EN LAS PACIENTES DE LOS DIFERENTES GRUPOS

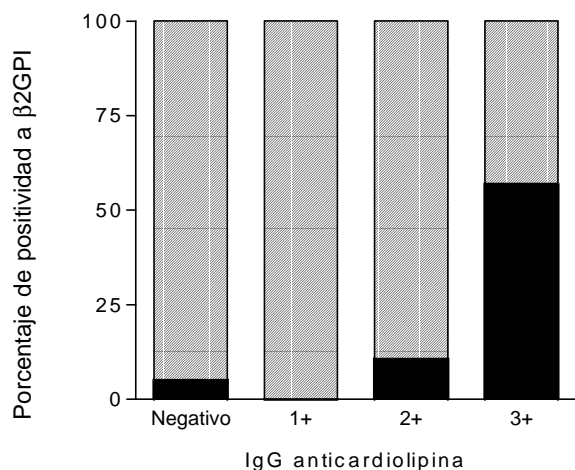
Anticuerpo	Pacientes Reumatología n = 35 (%)		Pacientes con ARE n = 45 (%)		Controles n = 20 (%)	
	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
β_2 GPI	9 (25.7)	26 (74.3)	2 (4.4)	43 (95.6)	0	20 (100.0)
IgG aCL		12 (34.3)		27 (60)		12 (60.0)
1+	2 (5.7)		1 (2.2)		0	
2+	15 (42.9)		16 (35.6)		7 (35.0)	
3+	6 (17.1)		1 (2.2)		1 (5.0)	
IgM aCL		8 (22.9)		(53.3)		15 (80.0)
1+	5 (14.3)		5 (11.1)		3 (15.0)	
2+	15 (42.9)		16 (35.6)		1 (5.0)	
3+	7 (20.0)		0		0	
TPTa	11 (31.4)	24 (68.6)	3 (6.7)	42 (93.3)	0	20 (100.0)

β_2 GPI = IgG Beta2glicoproteína-I; IgG aCL = IgG anticardiolipina cuantitativa; IgM aCL=IgM anticardiolipina cuantitativa; TPTa = tiempo parcial de tromboplastina activado.

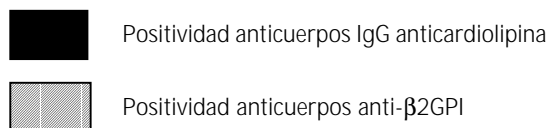
Asociación entre la presencia de los anticuerpos anti- β_2 GPI y los anticardiolipina (IgG e IgM).

Se analizó la asociación entre la presencia de anticuerpos anti- β_2 GPI y los diferentes grados de positividad de los aCL en las 11 pacientes positivas de los grupos de Reumatología y ARE y se encontró que a mayor nivel de anticuerpos anticardiolipina (3+), tanto IgG como IgM, mayor posibilidad de ser positivos los anticuerpos anti- β_2 GPI ($p < 0.05$) (Figuras N° 1 y 2).

Figura N° 1
ASOCIACIÓN ENTRE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS ANTI- β_2 GPI Y EL GRADO DE POSITIVIDAD DE LA IGG ACL



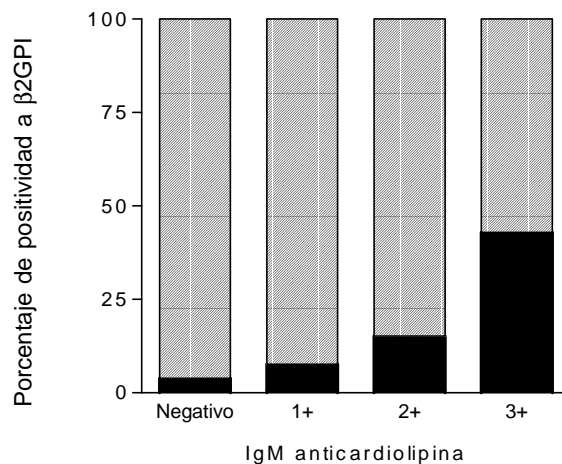
* $p < (0.05)$



Asociación entre la presencia de anticuerpos anti- β_2 GPI y el anticoagulante lúpico.

La positividad del TPTa también se asoció con la presencia de los anticuerpos anti- β_2 GPI ($p < 0.05$) (Figura N° 3).

Figura N° 2
ASOCIACIÓN ENTRE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS ANTI- β_2 GPI Y EL GRADO DE POSITIVIDAD DE LA IGM ACL



* $p < (0.05)$

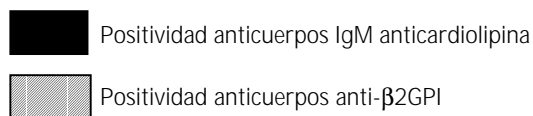
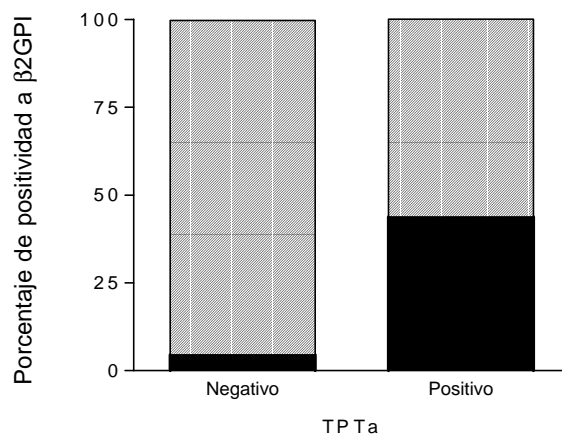
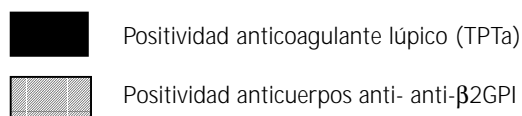


Figura N° 3
ASOCIACIÓN ENTRE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS ANTI- β_2 GPI Y LA POSITIVIDAD DEL ANTICOAGULANTE LÚPICO



* $p < (0.05)$



Distribución de las manifestaciones clínicas en los individuos positivos para anticuerpos anti- β_2 GPI.

No se encontró diferencia significativa entre las diversas manifestaciones clínicas asociadas al síndrome antifosfolípido y la positividad de la β_2 GPI (Tabla N° 3).

Tabla N° 3
MANIFESTACIONES CLÍNICAS DEL SAF Y ESTADO DE POSITIVIDAD DE LOS ANTICUERPOS ANTI- β_2 GPI EN PACIENTES CON SAF

Manifestaciones clínicas	β_2 GPI positivos n = 11	β_2 GPI negativos n = 69
Trombosis arterial o venosa	4 (36.4%)	5 (7.2 %)
Trombocitopenia	3 (27.3%)	12 (17.4%)
Livedo reticularis	4 (36.4%)	9 (13.0%)
Anemia hemolítica	1 (9.1%)	5 (7.2%)
Accidente cerebrovascular	1 (9.1%)	10 (14.5%)
Pérdida gestacional (2 ó +)	4 (36.4%)	48 (69.5%)

DISCUSIÓN

La determinación de los anticuerpos anti- β_2 GPI discriminó a las pacientes de la consulta de Reumatología de las que tenían historia de ARE y del grupo control. La prueba tuvo una baja sensibilidad ya que sólo un 13.8% (11/80) de las pacientes con diagnóstico de SAF, con síntomas clínicos y pruebas de laboratorio, fueron positivas para anticuerpos anti- β_2 GPI, pero esta prueba fue muy específica ya que no se detectó en ninguna de las mujeres del grupo control ni en las mujeres

con ARE o alteraciones reumatológicas sin SAF asociado. Una especificidad similar se encontró para la prueba de anticoagulante lúpico determinada por el TPTa. Por su parte, los anticuerpos anticardiolipina presentaron una especificidad más baja, particularmente la IgG que se encontró positiva en un 40% de las mujeres del grupo control sin diferencia significativa entre los diferentes grupos; excepto la positividad para la IgM anticardiolipina que sí presentó diferencia significativa entre los grupos. Sería importante comparar con otros estuches comerciales para la determinación de IgG anticardiolipina con el fin de descartar problemas con la técnica.

La correlación entre la positividad de los anticuerpos anti- β_2 GPI y la de los anticuerpos aCL y el anticoagulante lúpico en el diagnóstico del SAF también ha sido descrita por otros autores (23-27). Wasmuth y col. (26) sugieren que el uso de una sola de estas pruebas tiene la especificidad satisfactoria para confirmar la presencia del SAF. En pacientes con SAF, Samarkos y col. (25) encontraron que la correlación entre los anticuerpos anti- β_2 GPI y los aCL fue tanto para la IgG como para la IgM pero que en los pacientes con LES fue solo para la IgM.

Dektov y col. (24) encontraron que la determinación de anticuerpos anti- β_2 GPI no identificó más pacientes con SAF que las pruebas convencionales de anticuerpos aCL y anticoagulante lúpico; recomendaron que no sean considerados como un sustituto de estas pruebas pero que su determinación podría ser importante en pacientes con títulos altos de anticuerpos aCL como indicadores de un peor pronóstico de la enfermedad. En una población pediátrica de 110 pacientes, Von Scheven y col. (28) encontraron también que los anticuerpos anti- β_2 GPI no mejoraron el diagnóstico de SAF cuando se los comparó con los ensayos tradicionales y que además eran los menos sensibles.

En un estudio realizado en mujeres con alteraciones obstétricas como ARE o muerte fetal inexplicada, Lee y col. (27) encontraron que la determinación de anticuerpos IgG e IgM anti- β_2 GPI tampoco identificaba pacientes con SAF, además de las que ya habían identificado los aCL. Discutieron los inconvenientes agregados que se pueden presentar en el diagnóstico de SAF al incluir la medición de anticuerpos anti- β_2 GPI, como la menor sensibilidad y el mayor riesgo de resultados falsos positivos con el consecuente incremento en los costos médicos. En una publicación posterior, estos mismos autores reportaron que los anticuerpos del isotipo IgA anti- β_2 GPI sí fueron útiles en el diagnóstico de SAF en este grupo de pacientes (29).

En la literatura se encuentran resultados contradictorios con respecto a la importancia de los anticuerpos anti- β_2 GPI en pacientes con ARE; mientras que algunos autores mostraron una relación entre estos anticuerpos (particularmente IgM o IgA) y las pérdidas recurrentes en mujeres con SAF (30), otros (31-34) no encontraron diferencias en los títulos de anticuerpos anti- β_2 GPI en estas pacientes. Adicionalmente, en las gestantes normales Katano y col. (35) propusieron el uso rutinario de la medición de anticuerpos anti- β_2 GPI, pero Faden y col. (13) sugirieron que estos anticuerpos no se deberían incluir en el seguimiento de los embarazos de bajo riesgo.

Los resultados de nuestro trabajo no mostraron asociación positiva entre la presencia de anticuerpos anti- β_2 GPI y el ARE; solo un 4.4% de las mujeres abortadoras con SAF fueron positivas para estos anticuerpos. En las pacientes con SAF de la consulta de Reumatología no se encontró asociación de estos anticuerpos con ninguna manifestación

clínica en particular, pero sí se determinó su alta especificidad.

SUMMARY

ANTI- β_2 GLYCOPROTEIN ANTIBODIES IN PATIENTS WITH ANTIPHOSPHOLIPID SYNDROME

The objective of this study was to compare the presence of anti- β_2 glycoprotein (anti- β_2 GPI) antibodies with the conventional laboratory tests of anticardiolipin antibodies (aCL) and lupus anticoagulant and with the clinical manifestations of the Antiphospholipid Syndrome (APS).

In this study 80 women with APS (35 from the Rheumatology Service and 45 with a history of recurrent spontaneous abortion, RSA) were included, as well as 5 women with rheumatic diseases but no APS, 27 RSA-women without APS and 20 healthy women in their reproductive age. The presence of IgG and IgM anticardiolipin antibodies (aCL), anti- β_2 GPI antibodies by ELISA method and lupus anticoagulant by the test of activated partial thromboplastin time was investigated. Additionally the clinical manifestations associated to APS were registered.

In the group of women with APS, 25.7% (9/35) of those with rheumatic diseases and 4.4% (2/45) of the ones with RSA were positive for anti- β_2 GPI while none of the women without APS or the controls had such positive reaction. There was a significant association at titers of 3+ (highly positive) between the presence of anti- β_2 GPI antibodies and IgG and IgM aCL in contrast to anti- β_2 GPI-negative individu-

als. The positivity of lupus anticoagulant also correlated with the presence of anti- β_2 GPI antibodies. There was no significant correlation between any specific clinical manifestation and the presence of anti- β_2 GPI antibodies.

In conclusion, the determination of anti- β_2 GPI antibodies was highly specific in patients with APS but did not associate with any clinical manifestation of the syndrome.

KEY WORDS

ANTI- β_2 GLYCOPROTEIN I ANTIBODIES

ANTICARDIOLIPIN ANTIBODIES

ANTIPHOSPHOLIPID SYNDROME

RECURRENT PREGNANCY LOSS

THROMBOSIS

BIBLIOGRAFÍA

1. ALARCON-SEGOVIA D, SANCHEZ-GUERRERO J. Primary antiphospholipid syndrome. *J Rheumatol* 1989;16: 482-488.
2. WILSON WA, GHARAVI AE, KOIKE T, LOCKSHIN MD, BRANCH DW, PIETTE JC, et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. *Arthritis Rheum* 1999; 42:1.309-1.311.
3. HUNT JE, SIMPSON RJ, KRILIS SA. Identification of a region of beta 2 glycoprotein I critical for lipid binding and anti-cardiolipin antibody cofactor activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 2.141-2.145.
4. GHARAVI AE. Antiphospholipid cofactor. *Stroke* 1992; 23 (2 Suppl): I 7-I 10.
5. WAGENKNECHT DR, MCINTYRE JA. Changes in beta 2-glycoprotein I antigenicity induced by phospholipid binding. *Thromb Haemost* 1993; 69: 361-365.
6. ROUBEY RA, EISENBERG RA, HARPER MF, WINFIELD JB. "Anticardiolipin" autoantibodies recognize beta 2-glycoprotein I in the absence of phospholipid. Importance of Ag density and bivalent binding. *J Immunol* 1995; 154: 954-960.
7. GREAVES M. Antiphospholipid antibodies and thrombosis. *Lancet* 1999; 353 (9161): 1.348-1.353.
8. LEVINE JS, BRANCH DW, RAUCH J. The antiphospholipid syndrome. *N Engl J Med* 2002; 346: 752-763.
9. BRANCH DW, SCOTT JR, KOCHENOUR NK, HERSHGOLD E. Obstetric complications associated with the lupus anticoagulant. *N Engl J Med* 1985; 313: 1.322-1.326.
10. LOCKSHIN MD, DRUZIN ML, GOEI S, QAMAR T, MAGID MS, JOVANOVIC L, et al. Antibody to cardiolipin as a predictor of fetal distress or death in pregnant patients with systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 1985; 313:152-156.
11. PARAZZINI F, ACAIA B, FADEN D, LOVOTTI M, MARELLI G, CORTELAZZO S. Antiphospholipid antibodies and recurrent abortion. *Obstet Gynecol* 1991;77: 854-858.
12. CHAMLEY LW. Antiphospholipid antibodies or not? The role of beta 2 glycoprotein 1 in autoantibody-mediated pregnancy loss. *J Reprod Immunol* 1997; 36: 123-142.
13. FADEN D, TINCANI A, TANZI P, SPATOLA L, LOJACONO A, TARANTINI M, et al. Anti-beta 2 glycoprotein I antibodies in a general obstetric population: preliminary results on the prevalence and correlation with pregnancy outcome. Anti-beta 2 glycoprotein I antibodies are associated with some obstetrical complications, mainly preeclampsia-eclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1997; 73: 37-42.
14. BRANCH DW, KHAMASHTA MA. Antiphospholipid syndrome: obstetric diagnosis, management, and controversies. *Obstet Gynecol* 2003;101: 1.333-1.344.
15. ROTE NS, WALTER A, LYDEN TW. Antiphospholipid antibodies—lobsters or red herrings? *Am J Reprod Immunol* 1992; 28: 31-37.
16. RAND JH, WU XX, ANDREE HA, LOCKWOOD CJ, GULLER S, SCHER J, et al. Pregnancy loss in the antiphospholipid-antibody syndrome—a possible thrombogenic mechanism. *N Engl J Med* 1997; 337: 154-160.

17. ROTE NS. Antiphospholipid antibodies and recurrent pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol* 1996; 35: 394-401.
18. KATSURAGAWA H, KANZAKI H, INOUE T, HIRANO T, MORI T, ROTE NS. Monoclonal antibody against phosphatidylserine inhibits in vitro human trophoblastic hormone production and invasion. *Biol Reprod* 1997; 56: 50-58.
19. MERONI PL, DI SIMONE N, TESTONI C, D'ASTA M, ACAIA B, CARUSO A. Antiphospholipid antibodies as cause of pregnancy loss. *Lupus* 2004; 13: 649-652.
20. DI SIMONE N, MERONI PL, DE PAPA N, RASCHI E, CALIANDRO D, DE CAROLIS CS. Antiphospholipid antibodies affect trophoblast gonadotropin secretion and invasiveness by binding directly and through adhered beta 2 glycoprotein I. *Arthritis Rheum* 2000; 43:140-150.
21. REYES H, DEARING L, SHOENFELD Y, PETER JB. Antiphospholipid antibodies: a critique of their heterogeneity and hegemony. *Semin Thromb Hemost* 1994; 20: 89-100.
22. VIARD JP, AMOURA Z, BACH JF. Association of anti-beta 2 glycoprotein I antibodies with lupus-type circulating anticoagulant and thrombosis in systemic lupus erythematosus. *Am J Med* 1992; 93: 181-186.
23. FORASTIERO RR, MARTINUZZO ME, CERRATO GS, KORDICH LC, CARRERAS LO. Relationship of anti beta 2-glycoprotein I and anti-prothrombin antibodies to thrombosis and pregnancy loss in patients with antiphospholipid antibodies. *Thromb Haemost* 1997; 78: 1.008-1.014.
24. DETKOVÁ D, GIL-AGUADO A, LAVILLA P, CUESTA MV, FONTAN G, PASCUAL-SALCEDO D. Do antibodies to beta 2-glycoprotein 1 contribute to the better characterization of the antiphospholipid syndrome? *Lupus* 1999; 8: 430-438.
25. SAMARKOS M, DAVIES KA, GORDON C, WALPORT MJ, LOIZOU S. IgG subclass distribution of antibodies against beta 2-GP1 and cardiolipin in patients with systemic lupus erythematosus and primary antiphospholipid syndrome, and their clinical associations. *Rheumatology (Oxford)* 2001; 40:1.026-1.032.
26. WASMUTH JC, OLIVER Y, MINARRO D, HOMRIGHAUSEN A, LEIFELD L, ROCKSTROH JK, et al. Phospholipid autoantibodies and the antiphospholipid antibody syndrome: diagnostic accuracy of 23 methods studied by variation in ROC curves with number of clinical manifestations. *Clin Chem* 2002; 48: 1.004-1.010.
27. LEE RM, EMLEN W, SCOTT JR, BRANCH DW, SILVER RM. Anti-beta 2 glycoprotein I antibodies in women with recurrent spontaneous abortion, unexplained fetal death, and antiphospholipid syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 181: 642-648.
28. VON SCHEVEN E, GLIDDEN DV, ELDER ME. Anti-beta 2-glycoprotein I antibodies in pediatric systemic lupus erythematosus and antiphospholipid syndrome. *Arthritis Rheum* 2002; 47: 414-420.
29. LEE RM, BRANCH DW, SILVER RM. Immunoglobulin A anti-beta 2 glycoprotein antibodies in women who experience unexplained recurrent spontaneous abortion and unexplained fetal death. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 185: 748-753.
30. FALCON CR, MARTINUZZO ME, FORASTIERO RR, CERRATO GS, CARRERAS LO. Pregnancy loss and autoantibodies against phospholipid binding proteins. *Obstet Gynecol* 1997; 89: 975-980.
31. RAI RS, REGAN L, CLIFFORD K, PICKERING W, DAVE M, MACKIE I, et al. Antiphospholipid antibodies and beta 2-glycoprotein-I in 500 women with recurrent miscarriage: results of a comprehensive screening approach. *Hum Reprod* 1995; 10: 2001-2005.
32. AILUS K, TULPPALA M, PALOSUO T, YLIKORKALA O, VAARALA O. Antibodies to beta 2-glycoprotein I and prothrombin in habitual abortion. *Fertil Steril* 1996; 66: 937-941.
33. MAEJIMA M, FUJII T, OKAI T, KOZUMA S, SHIBATA Y, TAKETANI Y. Beta 2-glycoprotein I-dependent anticardiolipin antibody in early recurrent spontaneous abortion. *Hum Reprod* 1997; 12: 2.140-2.142.
34. FRANKLIN RD, HOLLIER N, KUTTEH WH. Beta 2-glycoprotein 1 as a marker of antiphospholipid syndrome in women with recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril* 2000; 73: 531-535.
35. 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: 509-512.