

## Anticuerpos Anti-β2-glicoproteína I y Síndrome Metabólico

Rodrigo B. Krás Borges<sup>1</sup>, Luis Carlos Bodanese<sup>1</sup>, Carlos Alberto von Mühlen<sup>1</sup>, Giuseppe Repetto<sup>1</sup>, Mario Viehe<sup>1</sup>, Gary L. Norman<sup>2</sup>, Henrique L. Staub<sup>1</sup>

Reumatologia, Cardiologia e Endocrinologia - Departamento da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre - Brasil<sup>1</sup>, INOVA Laboratory, San Diego - United States of America<sup>2</sup>

### Resumen

**Fundamento:** El síndrome metabólico (SM) es una entidad pro-aterogénica. Autoanticuerpos tales como β2-glicoproteína I (β2-GPI) pueden influir en la aparición de ateromas. Estudios previos han confirmado una asociación entre anticuerpos IgA anti-β2-GPI y la isquemia cerebral, infarto de miocardio, enfermedad arterial periférica y enfermedad carotídea.

**Objetivo:** El objetivo de este estudio de caso-control fue evaluar una posible asociación entre los anticuerpos anti-β2-GPI y anticardiolipina (aCL) con SM complicada.

**Métodos:** Se incluyeron en el estudio a los pacientes con SM sin antecedentes de eventos vasculares y los sujetos control, que consiste en pacientes de la Internación de Ortopedia ingresados debido a enfermedades musculoesqueléticas. Edad, sexo, origen étnico caucásico, antecedentes de hipertensión, tabaquismo, hipercolesterolemia y diabetes mellitus fueron evaluados como factores de riesgo en ambos grupos. Anticuerpos IgG, IgM, e IgA anti-β2-GPI y aCL se detectaron a través de inmunoensayos enzimáticos.

**Resultados:** Un total de 68 pacientes con SM y 82 controles se estudiaron. Los pacientes con SM tenían un promedio de edad superior de los controles ( $p = 0,001$ ), mientras que los hombres ( $p = 0,003$ ; OR 0,31; IC95%: 0,15-0,16) y origen étnico caucásica ( $p = 0,004$ ; OR 0,25; IC95%: 0,10-0,60) eran predominantes en los controles. Historia de hipertensión, hipercolesterolemia y diabetes mellitus fue más prevalente en los pacientes con SM que en los controles ( $p < 0,05$ ). La frecuencia de anticuerpos aCL (todos los isotipos) y del IgG e IgM anti-β2 gpl no se distinguió de forma significativa en los pacientes con SM y controles. Anticuerpos IgA anti-β2-gpl fueron significativamente más frecuentes en los pacientes con SM (42,2%) que en los controles (10,9%) ( $p < 0,001$ ). El OR ajustado para anticuerpos IgA anti-β2-gpl fue 3,60 (IC95%: 1,55 a 8,37,  $p = 0,003$ ).

**Conclusión:** El presente estudio muestra que los niveles elevados de autoanticuerpos IgA para β2-gpl pueden estar independientemente asociados con la SM. (Arq Bras Cardiol 2011;96(4):272-276)

**Palabras clave:** Autoanticuerpos, síndrome metabólico, anticuerpos anticardiolipina, aterosclerosis.

### Introducción

El síndrome metabólico (SM) es un grupo de anomalías metabólicas, incluidas la resistencia a la insulina, la dislipidemia y la hipertensión sistémica, en la que la obesidad visceral es acentuada<sup>1</sup>. Inicialmente identificada desde hace sesenta años, el SM es en los días actuales una cuestión de gran interés<sup>2</sup>. Se acepta bien el hecho de que el SM predice la diabetes mellitus (DM)<sup>3</sup> y enfermedades cardiovasculares<sup>3-4</sup>.

En el SM, las partículas de lipoproteínas de baja densidad (LDL) tienen una tendencia a la oxidación<sup>5</sup>. La Hiperglicemia persistente acelera la generación de productos de la glicación avanzada, otro factor desencadenante de inflamación arterial<sup>6</sup>. La acumulación de adipocitos, a su vez, favorece la secreción

del factor de necrosis tumoral (TNF) y reduce los niveles de adiponectina, una adipocina antiaterogénica<sup>7</sup>.

La aterosclerosis es ahora considerada como una condición inmunoinflamatoria. La activación endotelial, un evento primario en la aterogénesis, puede ser una consecuencia de las manifestaciones típicas del SM o efecto del TNF. La célula endotelial activada se caracteriza por la baja producción de trombosmodulina y un fenotipo con una tendencia a hipercoagulabilidad<sup>8</sup>.

La autoinmunidad, particularmente los anticuerpos anticardiolipina o cofactores fosfolípidos tales como β2-glicoproteína I (β2-gpl), pueden influir en el desarrollo de ateroma<sup>9</sup>. Los anticuerpos anticardiolipina (aCL) son clásicamente detectados en el que se denomina síndrome antifosfolípido (SAF), una diátesis trombótica característica de jóvenes adultos<sup>10</sup>. El rol etiopatogénico de los anticuerpos aCL en el SM es todavía desconocido.

La β2-gpl es un cofactor fosfolípido con 50 kilodaltons y 5 dominios, lo que es un anticoagulante natural. En los pacientes

**Correspondencia:** Henrique L. Staub •

Av. Ipiranga 6690/220 - Ipiranga - 90610-000 - Porto Alegre, RS - Brasil  
E-mail: reumatopucrs@gmail.com, henrique Staub@terra.com.br

Artículo recibido el 26/03/10; revisado recibido el 14/07/10; aceptado el 17/09/10.

con SAF, los efectos inhibitorios de la β2-gpl en las vías de coagulación son aparentemente desregulados por anticuerpos antifosfolípidos<sup>11</sup>. La β2-gpl es encontrada en la placa aterosclerótica y puede ser inmunogénica. La inducción de la aterosclerosis en ratones deficientes para el receptor de LDL inmunizados con β2-gpl ha sido relatada<sup>12</sup>. La administración oral de β2-gpl humana en ratones previene la formación de ateroma<sup>13</sup>. Se sabe que la β2-gpl está ligada a partículas de LDL oxidadas; el complejo puede ser internalizado solamente por anticuerpos que ocupan los receptores Fc en la superficie de los macrófagos<sup>14</sup>.

Una posible asociación de autoanticuerpos anti-β2-gpl con SM no-complicada no se evaluó aún. El objetivo de este estudio es verificar la frecuencia de autoanticuerpos aCL y anti-β2-GPI en pacientes con SM y también evaluar la posibilidad de que estos autoanticuerpos estén asociados con la aparición de SM no-complicada.

## Métodos

### Pacientes

Este estudio de caso-control de los casos incidentes incluyó a pacientes con SM en nuestra Clínica de Riesgo Cardiometabólico, no seleccionados por el sexo o el origen étnico. Los pacientes con SM incluidos en este estudio no tenían antecedentes de eventos vasculares isquémicos. El diagnóstico del SM estaba basado en los criterios clásicos del Programa Nacional de Educación en Colesterol (NCEP): circunferencia abdominal > 102 para varones ó > 88 para mujeres; niveles séricos de triglicéridos > 150 mg/dl; presión arterial ≥ 130/85 mmHg; glucemia de ayunas > 110 mg/dl; tres de los criterios como mínimo deberían estar presentes para definir el diagnóstico<sup>15</sup>. Los criterios de exclusión fueron los siguientes: 1) historia de infarto de miocardio (IAM), derrame isquémico u oclusión arterial aguda de los miembros inferiores; 2) endocarditis infecciosa; 3) neoplasmas (actuales o previos); 4) infección por el virus de la inmunodeficiencia humana virus o *treponema pallidum*; 5) presencia de causa hereditaria conocida de trombosis, tal como homocistinuria o mutación del factor V de Leiden; 5) SAF u otro trastorno de tejido conjuntivo (DTC).

El grupo control estaba conformado por pacientes en la Unidad de Internación de Ortopedia, ingresados por fracturas o trastornos músculo-ligamentosos, que no tenían diagnóstico previo del SM. Los criterios de exclusión fueron: 1) osteonecrosis, 2) infecciones e neoplasias actuales, enfermedades hereditarias, SAF, o DTC; 3) historia de IAM, derrame isquémico o la oclusión arterial aguda de las extremidades inferiores.

Los datos clínicos y demográficos se obtuvieron mediante revisión de prontuarios y entrevistas con los pacientes y sus familias después de obtener el consentimiento libre e informado, teniendo en cuenta las siguientes características: 1) edad, sexo, origen étnico, 2) historia de la presión arterial elevada<sup>16</sup>, 3) tabaquismo<sup>17</sup> actual, 4) DM según la historia clínica o tratamiento actual con insulina y/o drogas antidiabéticos<sup>18</sup>, 5) historia hipercolesterolemia<sup>19</sup>.

### Muestras

Las muestras de suero fueron centrifugadas y congeladas dentro de hasta 2 horas después de la recolección y, posterior almacenamiento a -70° C hasta que los análisis de laboratorio de ensayo inmunoenzimático (ELISA) se llevaron a cabo. Anticuerpos aCL IgG, IgM e IgA (INOVA Quantalite Cardioliipin kits, INOVA Diagnostics, Inc., San Diego, EUA)<sup>20</sup> y anticuerpos anti-β2-GPI (INOVA Quantalite β2-gpl kits, INOVA Diagnostics, Inc., San Diego, EUA)<sup>21</sup> se probaron. Los experimentos se evaluaron por espectrofotometría, midiendo y comparando la intensidad del color en las muestras de pacientes con el color de las muestras de los controles. Títulos moderados a altos de anticuerpos aCL y anti-β2-GPI (> 20 unidades para todos los isotipos) se consideraron como positivos<sup>20,21</sup>. Bajos títulos de aCL o anti-β2-gpl (10-20 unidades) no se tuvieron en cuenta. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética local.

### Análisis de datos

La *odds ratio* (OR) con intervalos de confianza del 95% (IC95%) se utilizaron en el análisis univariado. La regresión logística con IC95% se realizó para ajuste de los efectos de la edad, sexo, origen étnico y tabaquismo actual. La escala de Hopkins para OR se utilizó, donde un OR de 1-1,5 se consideró trivial; entre 1,5-3,5, bajo; entre 3,5-9, moderado; entre 9-32, alto; y superior a 32, muy alto<sup>22</sup>. Las pruebas exactas de Fisher y Chi-cuadrado se utilizaron para comparar variables categóricas y la prueba *t* de Student se llevó a cabo para la comparación de variables continuas. Se fijó un nivel de significación del 5% ( $p < 0,05$ ). Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo con el software SPSS para Windows, versión 11.5, Chicago, IL.

## Resultados

Se incluyó a un total de 68 pacientes en el grupo SM y a 82 controles. Los pacientes con SM eran más propensos a ser mayores, mientras que los sujetos del sexo masculino caucásicos predominaron en el grupo control. La hipertensión, la hipercolesterolemia y la DM fueron significativamente más prevalentes en el grupo SM que en el grupo control. El tabaquismo fue más prevalente en el grupo control. Las características clínicas y demográficas de los casos y controles están detalladas en la Tabla 1.

La Tabla 2 categoriza los casos y los controles de acuerdo a los perfiles de aCL y anti-β2-GPI. La frecuencia de anticuerpos aCL (todos los isotipos) y anticuerpos IgG e IgM anti-β2 GPI no fueron significativamente diferentes en los casos y controles. Anticuerpos IgA anti-β2-GPI fueron significativamente más frecuentes en los pacientes con SM que en los controles.

O OR para anticuerpos aCL y anti-β2-GPI ajustados factores de riesgo (edad, sexo, origen étnico y tabaquismo actual) están detallados en la Tabla 3. Anticuerpos IgA anti-β2-GPI, sin embargo no otros, se mostraron independientemente asociados con SM.

## Discusión

El presente estudio evalúa, por primera vez, la frecuencia de anticuerpos aCL y anti-β2-GPI en pacientes con SM. Los casos

fueron seleccionados de una clínica terciaria especializada en el riesgo cardiometabólico. Los pacientes con SM tenían una media de edad más alta, cuando comparados con los controles, mientras que los sujetos del sexo masculino y el origen étnico caucásico predominaron en el grupo control. Estas diferencias se ajustaron por regresión logística, de todos modos. Los factores de riesgo clásicos para la aterosclerosis se evaluaron en ambas poblaciones. Algunas variables (hipertensión, DM) son criterios para SM y previsiblemente, fueron más frecuentes en los casos en comparación con los controles.

Los datos no ajustados muestran que sólo anticuerpos IgA-β2-GPI eran diferentes entre los dos grupos, y significativamente más altos en los pacientes con SM. Curiosamente, el punto de corte utilizado para las pruebas de aCL y anti-β2-GPI siguieron las recomendaciones internacionales, con los títulos solamente de moderados a altos (> 20 unidades) fueron considerados relevantes<sup>20,21</sup>. Los niveles de anticuerpos aCL y anti-β2-GPI no se estratificaron, ya que las implicaciones clínicas para niveles moderados a altos no se distinguen entre sí<sup>10</sup>. De cualquier modo, el punto de corte de los anticuerpos IgM e IgA anti-β2-GPI evidenció resultado positivo en aproximadamente el 10% de los controles, lo que probablemente irá exigir ajustes en el futuro.

Tras el ajuste para sexo, edad, origen étnico y tabaquismo, el OR (3.60) señaló una asociación independiente entre los anticuerpos IgA anti-β2-GPI y SM, con significación estadística convincente (p = 0,003).

**Tabla 1 - Características clínicas y demográficas de los pacientes con síndrome metabólico (casos) y los controles**

	Casos (n = 68)	Controles (n = 82)	p
Media de edad, años (DE†)	58,7 ± 9,2	51,1 ± 17	0,001‡
Sexo masculino	14 (20,6%)	37 (45,1%)	0,003*
Caucásicos	46 (67,7%)	73 (89%)	0,004*
Hipertensión	65 (95,6%)	22 (26,8%)	<0,001*
Tabaquismo	7 (10,3%)	28 (34,1%)	0,001*
Hipercolesterolemia	55 (80,9%)	16 (19,5%)	<0,001*
DM	42 (61,8%)	5 (6,1%)	<0,001*

n - tamaño de la muestra, odds ratio con intervalo de confianza 95%; †: DE - desviación estándar; ‡ prueba t de Student, \* chi-cuadrado, DM - diabetes mellitus.

**Tabla 2 - Frecuencia de anticuerpos aCL y anti-β2-GPI en pacientes con síndrome metabólico (casos) y controles**

	Casos (n = 68)	Controles (n = 82)	OR (95%CI)*	p**
IgG aCL Positivo	3 (4,4%)	1 (1,2%)	3,73 (0,38-36,79)	0,32
IgG aCL Negativo	0	3 (3,7%)	1,86 (1,60-2,16)	0,25
IgG aCL Positivo	0	0	NC	NC
IgG anti-β2-GPI Positivo	2 (2,4%)	4 (4,9%)	0,59 (0,10-3,32)	0,68
IgM anti-β2-GPI Positivo	12 (14,6%)	8 (9,8%)	0,89 (0,29-2,71)	0,34
IgA anti-β2-GPI Positivo	30 (42,2%)	9 (10,9%)	3,84 (1,75-8,39)	<0,001

n - tamaño de la muestra; \* odds ratio con un intervalo de confianza del 95% no ajustado por factores de riesgo, \*\*prueba de chi-cuadrado; NC - no-calculado.

Una posible asociación entre anticuerpos IgG aCL con la SM (OR ajustado de 3,79) no se puede confirmar (p = 0,273). Un eventual efecto protector del anticuerpo IgG anti-β2-GPI para SM (OR ajustado de 0,62) también no se confirmó (p = 0,618). Enfatizamos que las variables hipertensión, hipercolesterolemia y DM no se utilizaron para ajustes, ya que son criterios diagnósticos de SM.

El significado de la asociación entre anticuerpos IgA anti-β2-GPI y SM es aún desconocido para nosotros. Los autoanticuerpos IgA para β2-GPI, de acuerdo con estudios anteriores realizados por nuestro grupo, se asociaron independientemente con la enfermedad cerebro isquémica<sup>23</sup>, infarto agudo de miocardio<sup>24</sup>, enfermedad arterial sintomática<sup>25</sup> y enfermedad de la carótida<sup>26</sup>.

Recientemente, ha sido descrita una asociación relevante entre anticuerpos IgA anti-β2-GPI e IgG anti-fosfatidilserina y derrame isquémico<sup>27</sup>. Es interesante mencionar que anticuerpos IgM anti-β2-GPI estaban relacionados a trastornos tromboticos en mujeres jóvenes sin enfermedad autoinmune, particularmente cuando los factores de riesgo clásicos o SM estaban ausentes; no se ha probado el isotipo IgA en este estudio<sup>28</sup>. Estos datos sugieren que autoanticuerpos IgM anti-β2-GPI pueden comportarse de forma diferente del isotipo IgA con relación a SM.

La prueba de anticuerpos aCL se presentó negativa en la mayoría de estos estudios<sup>23-28</sup> y también en nuestros pacientes con SM. En conjunto, estos hallazgos no demostraron un importante papel de los anticuerpos aCL en pacientes con enfermedad aterosclerótica o SM.

**Tabla 3 - Odds ratio (OR) para los diferentes isotipos de aCL y anti-β2-GPI ajustados por factores de riesgo para SM**

	OR*	IC95%**	p***
IgG aCL	3,79	0,35-41,21	0,273
IgM aCL	NC	NC	NC
IgA aCL	NC	NC	NC
IgG anti-β2-GPI	0,62	0,10-3,99	0,618
IgM anti-β2-GPI	0,90	0,28-2,93	0,864
IgA anti-β2-GPI	3,60	1,55-8,37	0,003

Datos ajustados por edad, sexo, origen étnico y tabaquismo; \* odds ratio ajustado para factores de riesgo, \*\* IC95% intervalo de confianza del 95%, \*\*\* prueba de chi-cuadrado; NC - no-calculado.

Una buena especificidad de anticuerpos anti- $\beta$ 2-GPI en pacientes con aterosclerosis y SAF parece ser diferente<sup>29</sup>. Anticuerpos anti- $\beta$ 2-GPI de pacientes con SAF tiene como blanco el dominio 1 de la molécula<sup>30</sup>. Recientemente, se viene demostrando que anticuerpos IgA de pacientes con aterosclerosis reconocen específicamente el dominio 4 de  $\beta$ 2-GPI<sup>31</sup>. Así, un subgrupo distinto de anticuerpos anti- $\beta$ 2-GPI en pacientes con enfermedad aterosclerótica puede ser postulado.

Se sabe que el complejo  $\beta$ 2-GPI/LDL oxidado es internalizado para el macrófago vía ocupación de receptores Fc para IgG<sup>14,32</sup>. Alternativamente, podríamos tener en cuenta la hipótesis de que anticuerpos IgA anti- $\beta$ 2-GPI (que pueden ligarse al complejo como un todo) también tiene este rol en la superficie del macrófago. De hecho, los receptores Fc para IgA están encontrados en las membranas de macrófagos<sup>33</sup>. Este complejo así internalizado puede generar células espumosas.

Nuestros datos en pacientes con enfermedad aterosclerótica establecida<sup>23-26</sup> y SM parecen ser reproducibles en relación con la frecuencia de anticuerpos IgA anti- $\beta$ 2-GPI. Los datos sobre la SM, no descriptos anteriormente, sugieren que los anticuerpos IgA anti- $\beta$ 2-GPI circulantes pueden preceder a un episodio isquémico.

La razón por la cual el isótopo de IgA está implicado en esta respuesta inmunológica no está aún bien definida, pero la infección crónica puede ser postulada. Es digno de mención el hecho de que el mimetismo molecular de los productos

bacterianos y virales con  $\beta$ 2-GPI ha sido descrito<sup>34</sup>.

Nuestro estudio muestra las limitaciones que se deben mencionar. El diseño de caso-control y un pequeño tamaño muestral y un análisis multivariado limitado no es capaz de definir un tema o controlar todos los factores de riesgo: es muchísimo exploratorio y estudios mayores se hacen necesarios.

En resumen, anticuerpos IgA anti- $\beta$ 2-GPI fueron más frecuentes en pacientes con SM que en los controles. Esta asociación se produjo independientemente de otros factores de riesgo para la enfermedad aterosclerótica. Las implicaciones clínicas resultantes de estos hallazgos deben ser detalladas en el futuro.

### Potencial Conflicto de Intereses

Declaro no haber conflicto de intereses pertinentes.

### Fuentes de Financiación

El presente estudio no tuvo fuentes de financiación externas.

### Vinculación Académica

Este artículo forma parte de Disertación de Maestría de Rodrigo B. Krás Borges, por la *Universidade Católica do Rio Grande do Sul* (PUCRS).

## Referencias

1. Després JP, Lemieux I. Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature*. 2006;444(7121):881-7.
2. Kahn R, Buse J, Ferrannini E, Stern M. American Diabetes Association, European Association for the Study of Diabetes. The metabolic syndrome: time for a critical appraisal: joint statement from the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes Care*. 2005;28(9):2289-304.
3. Juutilainen A, Lehto S, Ronnema T, Pyörälä K, Laakso M. Proteinuria and metabolic syndrome as predictors of cardiovascular death in non-diabetic and type 2 diabetic men and women. *Diabetologia*. 2006;49(1):56-65.
4. Lakka HM, Laaksonen DE, Lakka TA, Niskanen LK, Kumpusalo E, Tuomilehto J, et al. The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men. *JAMA*. 2002;288(21):2709-16.
5. Holvoet P, De Keyser D, Jacobs DR. Oxidized LDL and the metabolic syndrome. *Future Lipidol*. 2008;3(6):637-49.
6. Schmidt AM, Yan SD, Wautier JL, Stern D. Activation of receptor for advanced glycation end products: a mechanism for chronic vascular dysfunction in diabetic vasculopathy and atherosclerosis. *Circ Res*. 1999;84(5):489-97.
7. Matsuzawa Y. The metabolic syndrome and adipocytokines. *FEBS Lett*. 2006;580(12):2917-21.
8. Bécharde D, Scherpereel A, Hammad H, Gentina T, Tsiopoulos A, Aumercier M, et al. Human endothelial-cell specific molecule-1 binds directly to the integrin CD11a/CD18 (LFA-1) and blocks binding to intercellular adhesion molecule-1. *J Immunol*. 2001;167(6):3099-106.
9. Wick G, Xu Q. Atherosclerosis: an autoimmune disease. *Exp Gerontol*. 1999;34(4):559-66.
10. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Cervera R, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite APS. *J Thromb Haemost*. 2006;4(2):295-306.
11. Kandiah DA, Krilis SA. Beta 2-glycoprotein I. *Lupus*. 1994;3(4):207-12.
12. George J, Afek A, Gilburd B, Blank M, Levy Y, Aron-Maor A, et al. Induction of early atherosclerosis in LDL-receptor-deficient mice immunized with beta2-glycoprotein I. *Circulation*. 1998;98(11):1108-15.
13. Harats D, George J. Beta2-glycoprotein I and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol*. 2001;12(5):543-6.
14. Kobayashi K, Kishi M, Atsumi T, Bertolaccini ML, Makino H, Sakairi N, et al. Circulating oxidized LDL forms complexes with beta2-glycoprotein I: implication as atherogenic autoantigen. *J Lipid Res*. 2003;44(4):716-26.
15. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA*. 2001;285(19):2486-97.
16. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL Jr, et al. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *JAMA*. 2003;289(19):2560-72.
17. Filozof C, Fernandez Pinilla MC, Fernández-Cruz A. Smoking cessation and weight gain. *Obes Rev*. 2004;5(2):95-103.
18. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, et al. / American Heart Association; Natural Heart, Lung, and Blood Institute. Diagnosis and management of the metabolic syndrome. *An American Heart*

- Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. Executive summary. *Cardiol Rev*. 2005;13(6):322-7.
19. Donahue RP, Abbott RD, Reed DM, Yano K. Physical activity and coronary heart disease in middle-aged and elderly men: the Honolulu Heart Program. *Am J Public Health*. 1988;78(6):683-5.
  20. Charavi AE, Harris EN, Asherson RA, Hughes GR. Anticardiolipin antibodies: isotype distribution and phospholipid specificity. *Ann Rheum Dis*. 1987;46(1):1-6.
  21. Lewis S, Keil LB, Binder WL, DeBari VA. Standardized measurement of major immunoglobulin class (IgG, IgA, IgM) antibodies to beta2-glycoprotein I in patients with antiphospholipid syndrome. *J Clin Lab Anal*. 1998;12(5):293-7.
  22. Hopkins WG. A new view of statistics. [Accessed on 2004 Apr 11]. Available from: <http://sportsci.org/resource/stats/index.html>
  23. Staub HL, Norman GL, Crowther T, da Cunha VR, Polanczyk A, Bohn JM, et al. Antibodies to the atherosclerotic plaque components beta2-glycoprotein I and heat shock proteins as risk factors for acute cerebral ischemia. *Arq Neuropsiquiatr*. 2003;61(3B):757-63.
  24. Ranzolin A, Bohn JM, Norman GL, Manenti E, Bodanese LC, von Muhlen CA, et al. Anti-beta2-glycoprotein I antibodies as risk factors for acute myocardial infarction. *Arq Bras Cardiol*. 2004;83(2):141-4.
  25. Franck M, Staub HL, Petracco JB, Norman GL, Lassen AJ, Schiavo N, et al. Autoantibodies to the atheroma component beta2-glycoprotein I and risk of symptomatic peripheral artery disease. *Angiology*. 2007;58(3):295-302.
  26. Recuero ML, Silva JB, Norman GL, von Mühlen CA, Staub HL. IgA antibodies to beta2-glycoprotein I and carotid disease. *Isr Med Assoc J*. 2007;9(6):495-6.
  27. Kahles T, Humpich M, Steinmetz H, Sitzer M, Lindhoff-Last E. Phosphatidylserine IgG and beta-2-glycoprotein I IgA antibodies may be a risk factor for ischaemic stroke. *Rheumatology (Oxford)*. 2005;44(9):1161-5.
  28. Salobir B, Sabovic M, Hojnik M, Cucnik S, Kveder T. Anti-beta 2-glycoprotein I antibodies of IgM class are linked to thrombotic disorders in young women without autoimmune disease. *Immunobiology*. 2007;212(3):193-9.
  29. Arvieux J, Regnault V, Hachulla E, Darnige L, Roussel B, Bensa JC. Heterogeneity and immunochemical properties of anti-beta2-gpl autoantibodies. *Thromb Haemost*. 1998;80(3):393-8.
  30. Iverson GM, Victoria EJ, Marquis DM. Anti-beta2 glycoprotein I (beta2GPI) autoantibodies recognize an epitope on the first domain of beta2GPI. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998;95(26):15542-6.
  31. Iverson GM, von Mühlen CA, Staub HL, Lassen AJ, Binder W, Norman GL. Patients with atherosclerotic syndrome, negative in anti-cardiolipin assays, make IgA autoantibodies that preferentially target domain 4 of beta(2)-GPI. *J Autoimmun*. 2006;27(4):266-71.
  32. Matsuura E, Kobayashi K, Koike T, Shoenfeld Y. Autoantibody-mediated atherosclerosis. *Autoimmun Rev*. 2002;1(6):348-53.
  33. Shen L. Receptors for IgA in phagocytic cells. *Immunol Res*. 1992;11(3-4):273-82.
  34. Blank M, Shoenfeld Y. Beta2-glycoprotein I, infections, antiphospholipid syndrome and therapeutic considerations. *Clin Immunol*. 2004;112(2):190-9.