

Polimorfismo de la β_2 -glucoproteína I. Relevancia en el síndrome de antifosfolípidos

G.A. Prieto, A.R. Cabral y J. Cabiedes

Departamento de Inmunología y Reumatología. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. Ciudad de México. México.

Introducción

Desde que Bowie et al describieron un grupo de pacientes con lupus eritematoso generalizado (LEG) y fenómenos trombóticos a pesar de tener anticoagulante lúpico circulante¹, nació el interés sobre esta paradoja. Veinte años después, Harris et al informaron de que los fenómenos trombóticos en pacientes con LEG estaban asociados con anticuerpos anticardiolipina (ACL)². A esta asociación se le denominó inicialmente «síndrome de anticardiolipina»³, pero cuando se supo que esos anticuerpos reconocían también a otros fosfolípidos (AAF), el nombre se amplió a «síndrome de antifosfolípidos» (SAF). A la trombosis se le agregó pérdidas fetales recurrentes, trastornos neurológicos, trombocitopenia, anemia hemolítica y *livedo reticularis* como componentes del SAF. Si éste se asocia a una enfermedad autoinmunitaria, normalmente LEG, se le conoce como SAF secundario⁴ y si ocurre en pacientes sin ninguna enfermedad autoinmunitaria asociada se le llama SAF primario⁵⁻⁷.

En 1990, tres grupos informaron que los AAF de pacientes con SAF requerían de una proteína, identificada como β_2 -glucoproteína-I (β_2 GP-I), para su detección *in vitro*⁸⁻¹⁰. Ésta es una proteína sérica presente en todos los individuos sanos que interviene en algunos procesos de coagulación, aterogénesis y apoptosis. Por ello, el estudio de la β_2 GP-I en la patogenia del SAF ha despertado gran interés.

Aquí revisamos algunos aspectos relacionados con la participación del sistema β_2 GP-I/anti- β_2 GP-I en la patogenia del SAF y como exordio para el análisis del potencial que ofrece el estudio del polimorfismo de la β_2 GP-I, para entender mejor su participación en el desarrollo del síndrome de antifosfolípidos tocamos algunos puntos relevantes de la estructura de la también llamada apolipoproteína H.

Síndrome de antifosfolípidos

El SAF es una enfermedad autoinmunitaria considerada como el resultado de la interacción de factores ambientales, hormonales, inmunorreguladores y genéticos. Actualmente, se utiliza el término «síndrome de antifosfolípidos» para definir la entidad clínica asociada con la presencia de anticuerpos antifosfolípidos (AAF) con trombosis arteriales y/o venosas, abortos de repetición, *livedo reticularis*, trombocitopenia, anemia hemolítica y alteraciones neurológicas¹¹. La asociación de estas manifestaciones clínicas con los AAF fue reportada originalmente en pacientes con LEG; sin embargo, hay pacientes con títulos elevados de AAF y las manifestaciones clínicas anotadas, pero sin datos clínicos ni serológicos de otra enfermedad autoinmunitaria. A esta entidad clínica se la denomina «síndrome de antifosfolípidos primario» (SAFP), para diferenciarla de la que se asocia con otras enfermedades del tejido conjuntivo, principalmente LEG⁴. Existen diferencias entre ambas entidades, debidas principalmente a la presencia de valores más elevados de AAF en el SAFP y a la influencia de LEG en el síndrome de antifosfolípidos secundario (SAFS)⁵.

Anticuerpos antifosfolípidos

Los AAF son una familia de inmunoglobulinas cuyo origen puede estar determinado por los siguientes factores: a) autoanticuerpos naturales^{12,13} presentes en todos los mamíferos a títulos relativamente bajos, codificados por genes de línea germinal; b) resultado de la influencia de factores inmunogenéticos¹⁴; c) desregulación inmunitaria con excesiva producción de autoanticuerpos¹⁵; d) parte de la red de anticuerpos antiidiotipo¹⁶⁻¹⁸; e) inducidos por fármacos (p. ej., clorpromazina)¹⁹, y f) resultado de procesos infecciosos²⁰.

Factores proteicos asociados al SAF

El año 1990 marca un hito en el estudio de los AAF. En ese año, la investigación en el campo de los AAF cambió de rumbo debido a que tres grupos reportaron simultáneamente que los AAF requerían una proteína con afinidad por estructuras aniónicas para su detección *in vitro*, identificada

Correspondencia: Dr. J. Cabiedes.
Departamento de Inmunológica y Reumatología.
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, Vasco de Quiroga, 15.
Tlalpan 14000 México DF. Ciudad de México, México.
Correo electrónico: jcabiedesc@snic.conacyt.mx

Manuscrito recibido el 12-03-2002 y aceptado el 17-04-2002.

como β_2 GP-I⁸⁻¹⁰. Estudios posteriores señalaron que algunos autoanticuerpos contra fosfatidiletanolamina también requieren cofactores proteicos²¹. Recientemente, se ha reportado que los «anticuerpos antifosfolípidos» pueden reaccionar contra una gran variedad de proteínas plasmáticas, como protrombina, proteína C, proteína S, quinínógeno y anti-trombina III, y otras proteínas unidoras de fosfolípidos, como la anexina V²²⁻²⁵.

A partir de la publicación de estos hallazgos, los inexactamente llamados cofactores han tenido un papel protagonista dentro del SAF. La denominación cofactor se acuñó desde los primeros estudios que demostraron la participación de proteínas plasmáticas en el reconocimiento de los AAF; sin embargo, actualmente se acepta que los autoanticuerpos asociados al SAF reconocen epítomos localizados propiamente en las estructuras proteicas nativas o bien asociadas a fosfolípidos; por ello, consideramos que la denominación propuesta en principio es inexacta.

De los factores proteicos asociados al SAF, la β_2 GP-I es el autoantígeno más estudiado y los anticuerpos anti- β_2 GP-I son los que con mayor frecuencia están asociados a este proceso. Uno de los fosfolípidos con el que la β_2 GP-I forma un complejo antigénico es el difosfatidilglicerol, fosfolípido aniónico comúnmente conocido como cardiolipina (CL). De acuerdo con lo expuesto anteriormente, en un ensayo convencional para detectar anticuerpos anti-cardiolipina (ACL), en el que se usa suero bovino fetal (contiene β_2 GP-I) como bloqueador, la unión de los ACL puede atribuirse a epítomos nativos de la β_2 GP-I^{9,11}, al complejo β_2 GP-I-CL⁸, o al reconocimiento de epítomos crípticos en la CL²⁶ y/o en la β_2 GP-I²⁷. Por ejemplo, con espectroscopia infrarroja²⁷ y dicroísmo circular²⁸ se demostró que la interacción de la β_2 GP-I con la CL produce cambios conformacionales importantes en ambas moléculas, generando probablemente una exposición de regiones crípticas. Los resultados de los estudios revelaron que las alteraciones en la molécula fosfolípica restringen la movilidad de las cadenas hidrocarbonadas, mientras que la β_2 GP-I sufre modificaciones en su estructura que disminuyen el porcentaje de arreglos α -hélice y β -plegada, e incrementan la conformación azarosa, aumentando así su potencial antigénico. Estos datos sugieren que los epítomos crípticos detectados por los ACL se encuentran probablemente en la β_2 GP-I modificada por su unión a la cardiolipina. Por otro lado, este neopéptido no sólo puede ser el resultado de la unión con la cardiolipina ya que Matsuura et al demostraron que ese mismo cambio conformacional puede ser inducido cuando la β_2 GP-I entra en contacto con superficies oxigenadas²⁹, es decir, con una densidad electrónica intrínsecamente elevada. Ésta es quizá la razón por la que los ACL y los anti- β_2 GP-I detectados en placas irradiadas tienen un

alto coeficiente de correlación; por ello, actualmente se considera que el ELISA convencional para ACL detecta, además de los AAF verdaderos, los anticuerpos anti- β_2 GP-I. Alternativamente, nuestro grupo ha propuesto que los anti- β_2 GP-I en placas no irradiadas detectan un epítomo diferente presente en la proteína nativa y que estos anticuerpos se asocian con más fuerza al SAF que los mismos ACL¹¹.

Participación de la β_2 GP-I en el SAF

Aunque Galli et al⁹ y Cabral et al³⁰ ya habían informado sobre la existencia de anticuerpos anti- β_2 GP-I libre de fosfolípidos en pacientes con SAF, Viard et al informaron por primera vez de la asociación de trombosis con anti- β_2 GP-I en pacientes con LEG³¹. Posteriormente, Gharavi, en 1992³², indujo SAF experimental mediante la inmunización de ratones con β_2 GP-I. En 1995, Cabiedes et al reportaron que los anti- β_2 GP-I se asocian con mayor fuerza a las manifestaciones trombóticas del SAF y al SAF mismo que los ACL propiamente dichos³³. Un metaanálisis posterior confirmó estos resultados³⁴. Estos y otros reportes confirmatorios han señalado la gran relevancia que tiene el sistema β_2 GP-I/anti- β_2 GP-I en la patogenia del SAF³⁵⁻⁴³.

Bioquímica de la β_2 GP-I

Descrita en 1961⁴⁴, la β_2 GP-I humana, también llamada apolipoproteína H, pues activa la lipasa de lipoproteína^{45,46}, es una proteína presente en el plasma de todas las personas sanas a una concentración aproximada de 200 μ g/ml. Está constituida por una sola cadena polipeptídica de 326 aminoácidos⁴⁷⁻⁴⁹, pesa 50 kD y aproximadamente el 18% de su peso está constituido por carbohidratos. Su gen reside en el cromosoma 17q23-qter⁵⁰. La β_2 GP-I está organizada en cinco dominios homólogos conocidos como segmentos cortos repetidos (*short consensus repeats*, SCR)⁵¹, cada uno tiene aproximadamente 60 aminoácidos con puentes disulfuro inter e intrarregiones⁵². El sitio de unión a fosfolípidos de carga negativa reside en el quinto SCR en la zona que involucra a los aminoácidos 281-288 (CKNKEKKC)^{53, 54}; dado su alto contenido de aminoácido básico lisina (K), a pH fisiológico dicha secuencia es catiónica.

Papel fisiológico y patogénico de la β_2 GP-I

La β_2 GP-I inhibe la activación por contacto de la vía intrínseca de la coagulación⁵⁵, la agregación plaquetaria mediada por ADP⁵⁶, la generación de trombina⁵⁵, la actividad del complejo de la protrombinasa⁵⁶ y la activación del sistema de la proteína C^{57,58}. Por estas propiedades *in vitro* se ha propuesto a la β_2 GP-I como anticoagulante natural.

TABLA 1. Distribución de frecuencias de los alelos Bg*N y Bg*D del polimorfismo cuantitativo de la β_2 -GP-I en diferentes poblaciones

Población/lugar	N	Bg*N	Bg*D
Europa			
Alemania	210	0,953	0,047
Grecia	157	0,924	0,076
Hungría	151	0,940	0,060
Islandia	97	0,940	0,060
Irlanda	107	0,948	0,052
Reino Unido	381	0,941	0,059
Asia			
Irán	141	0,886	0,114
Afganistán	210	0,876	0,124
Pakistán	79	0,949	0,051
India (norte)	108	0,954	0,046
India (este)	964	0,954	0,046
Filipinas	88	0,937	0,063
Corea	105	0,780	0,220
África			
Mozambique	151	0,742	0,258
Sudeste de África	250	0,950	0,050
Sudamérica			
Ecuador	90	0,967	0,033

Bg*N: alelo normal; Bg*D: alelo deficiente.
(Modificada de Roychoudhury y Masatoshi⁶⁵.)

Por la inducción de aterosclerosis experimental y otros hallazgos similares, se ha propuesto que la β_2 -GP-I tiene un papel preponderante en la regulación del metabolismo de los lípidos^{59,60}. De acuerdo con esto, las trombosis de repetición características del SAF inducidas por los anti- β_2 -GP-I pueden ser el resultado de una inhibición de la función de su antígeno o, menos probablemente, una disminución de su concentración plasmática^{61,62}. Otras propuestas son el depósito de complejos inmunitarios en la pared de los vasos, y la activación mediada por células (p. ej., el incremento de la adhesión de monocitos al endotelio)⁶³.

β_2 -GP-I: aspectos genéticos

La estructura molecular de la β_2 -GP-I, como la de todas las proteínas, está determinada genéticamente y hay variantes cuantitativas y cualitativas entre los individuos de los diversos grupos étnicos. La variación cuantitativa es el resultado de la presencia de un alelo nulo (Bg*D) que es codominante con respecto al alelo normal (Bg*N)⁶⁴. La frecuencia del alelo nulo es alta (0,26) en la población negra de Mozambique (tabla 1) y en las poblaciones asiáticas de Irán, Afganistán y Corea (0,11, 0,12 y 0,22, respectivamente) y baja en la población caucásica (aproximadamente de 0,06)⁶⁵. Los individuos homocigotos para el alelo Bg*D presentan valores séricos normales de β_2 -GP-I (160-300 μ g/ml), en tanto que en los heterocigotos sus valores son bajos (60-140 μ g/ml). Es interesante que, los valores plasmáticos de la β_2 -GP-I en los individuos homocigotos

para el alelo deficiente están por debajo de los límites de detección⁶⁶. A pesar de lo anterior, es importante señalar que, además del factor genético, el sexo en los individuos caucásicos también influye en la variación de la concentración de β_2 -GP-I. En este grupo étnico los valores plasmáticos de β_2 -GP-I son menores en mujeres⁶⁷.

Además de la variación cuantitativa, existen diferencias estructurales de la β_2 -GP-I. Kamboh et al estudiaron estas diferencias en la población estadounidense de razas negra y blanca mediante isoelectroenfoque (IEE), seguido de inmunoprecipitación revelada con un antisuero policlonal para identificar la β_2 -GP-I⁶⁶. La investigación demostró que la variación estructural era de dos tipos: intraindividual, también conocida como microheterogeneidad, la cual es el resultado del grado de glucosilación de la proteína, e interindividual, ocasionada por sustituciones de aminoácidos, es decir, determinada genéticamente. De esta última variación ha sido posible detectar cuatro variantes alélicas, designadas como APOH*1, APOH*2, APOH*3 y APOH*4. El alelo APOH*4 se encuentra únicamente en personas de raza negra de los EE.UU., Nigeria y Australia⁶⁸⁻⁷². Los datos obtenidos en el estudio de familias condujeron a establecer que el patrón de herencia seguido por estos alelos es autosómico codominante.

El polimorfismo estructural ha sido estudiado en otras poblaciones de los cinco continentes, en donde se ha encontrado una frecuencia predominante del alelo APOH*2, por lo que es considerado el alelo silvestre. Cabe resaltar que existe una cierta similitud en la distribución de frecuencias entre las diversas poblaciones que pertenecen a la misma raza. En el caso de la raza negra la homogeneidad entre poblaciones evidenció una disminución en la frecuencia del alelo APOH*1. En contraste con esto, en los aborígenes australianos se presentó un incremento importante en la frecuencia del alelo APOH*1 (0,13, tabla 2) y una ausencia del alelo APOH*3⁶³. Por último, en la población de Siberia se encontraron las frecuencias mas bajas de APOH*2 y las más altas de APOH*3⁷³. En la tabla 2 se exponen las frecuencias encontradas hasta 1999^{74,75}.

En 1995 se reportó que el alelo APOH*3 tiene dos variantes: APOH*3^w y APOH*3^B. Lo anterior tiene como sustento el hecho de que la proteína producto de este alelo puede o no ser reconocida por el anticuerpo monoclonal 3D11 anti- β_2 -GP-I⁷⁶. El 3D11 sólo reconoce el producto del alelo APOH*3 y presenta reactividad preferentemente por la proteína de la raza blanca, por lo que al alelo que codifica para la β_2 -GP-I reconocida por este anticuerpo se le denominó APOH*3^w (W, del inglés *white*), mientras que al alelo del producto no reconocido se le llamó APOH*3^B (B, del inglés *black*) por presentarse predominantemente en individuos de raza negra⁷⁶.

TABLA 2. Distribución de frecuencias de los alelos APOH*1, 2, 3 y 4 de la β_2 -GP-I en diferentes poblaciones

Población	N	Alelos				Fuente
		APOH*1	APOH*2	APOH*3	APOH*4	
Blanca						
Alemana	238	0,050	0,891	0,059	0	Richter y Cleve (1988)
Tirolenses	196	0,059	0,882	0,067	0	Richter y Cleve (1988)
Estadounidense	153	0,059	0,882	0,059	0	Kamboh et al (1988)
Estadounidense	445	0,027	0,897	0,076	0	Eichner et al (1989)
Estadounidense	661	0,059	0,868	0,073	0	Sanghera et al (1997)
negra						
Nigeriana	356	0,011	0,897	0,071	0,021	Sepehrnia et al (1989)
Nigeriana	771	0,008	0,879	0,10	0,013	Kamboh et al (1999)
Estadounidense	148	0,017	0,902	0,068	0,013	Kamboh et al (1988)
Estadounidense	45	0,022	0,822	0,156	0	Eichner et al (1989)
Estadounidense	422	0,011	0,921	0,008	0,01	Sanghera et al (1997)
asiática						
China	872	0,031	0,900	0,069	0	Saha et al (1992)
Hindú	179	0,061	0,866	0,073	0	Saha et al (1992)
Filipina	91	0,055	0,923	0,022	0	Saha et al (1992)
Malaya	17	0,088	0,882	0,029	0	Saha et al (1992)
Aborígenes						
australianos	66	0,130	0,870	0	0	Kamboh et al (1991)
Siberianos	113	0,013	0,788	0,199	0	Kamboh et al (1996)
Hispanos	444	0,043	0,915	0,027	0,016	Sanghera et al (1997)

En la tabla 3 se incluye la frecuencia de las variantes del alelo APOH*3 en diferentes poblaciones. Un hallazgo interesante de este estudio es que la β_2 -GP-I de algunos individuos homocigotos para el alelo APOH*3 no une fosfolípidos aniónicos (CL o fosfatidilserina), es decir, no presenta modificaciones estructurales al unirse a superficies aniónicas, lo cual sugirió que este fenómeno es consecuencia de la presencia homocigota del alelo APOH*3^w.

Bases moleculares de los polimorfismos estructurales

Las variaciones cuantitativas y cualitativas de la β_2 -GP-I debidas a la existencia de diferentes alelos presentes en un individuo son el resultado de variaciones en el ADN. En 1998 Yasuda et al reportaron el caso de una paciente de 36 años de edad con deficiencia de β_2 -GP-I⁷⁷. El análisis del gen de la β_2 -GP-I demostró que el exón 4 carecía de la timina correspondiente a la posición 379 del ADN complementario (ADNc). Consecuentemente, se presentaba un corrimiento en el marco de lectura que ocasionaba la aparición de un codón de terminación en el exón 6. Esta mutación en el exón 4 podría ser la base molecular de la presencia del alelo nulo; es decir, la justificación del polimorfismo cuantitativo. De lo anterior puede colegirse que algunas mutaciones puntuales pueden ocasionar variaciones cuantitativas de la β_2 -GP-I. Otras, en cambio, alteran la información del codón correspondiente, resultando en el reemplazo de un aminoácido por otro^{71,78,79}. Los polimorfismos reportados por esta razón se encuentran en las posiciones

Tabla 3. Detección de los alelos APOH*3^w y APOH*3^B por el anticuerpo monoclonal 3D11 en individuos previamente clasificados como portadores del alelo APOH*3 mediante el uso de un antisuero policlonal anti- β_2 -GP-I (fenotipos de APOH: 3-3, 3-2, 1-3, o 3-4)

Población	n	Con APOH*3 ^w (%)	Con APOH*3 ^B (%)
Estadounidense blanca ⁷⁶	66	59 (89)	7 (11)
Estadounidense blanca no hispánica ⁷⁹	85	69 (81)	16 (19)
Estadounidense negra ⁷⁶	54	7 (13)	47 (87)
Estadounidense negra ⁷⁹	46	7 (15)	39 (85)
China ⁷⁶	25	25 (100)	0 (0)
Africana negra ⁷⁹	10	0 (0)	10 (100)
Polinesia ⁷⁶	4	3 (75)	1 (25)
Hispana ⁷⁹	33	23 (70)	10 (30)

88, 247, 306 y 316 de la β_2 -GP-I. En la tabla 4 se indican las posiciones de estas mutaciones y las enzimas de restricción empleadas para detectarlas. Existen datos experimentales que han demostrado que la mutación en la posición 88 es específica para el alelo APOH*1⁷³. Esta mutación, que sustituye serina por asparagina, estuvo presente en todos los portadores del alelo APOH*1 del estudio realizado por Sanghera et al; es decir, parece distinguir el alelo APOH*1 del silvestre APOH*2⁷¹. En este mismo estudio se encontró que la mutación en la posición 316 (triptófano/serina) establece la diferencia entre los alelos APOH*3^w y APOH*2. Es oportuno señalar que, a pesar de los resultados de esta investigación, no se descarta que los alelos APOH*1 y APOH*3^w puedan tener otras mutaciones⁷³.

Tabla 4. Mutaciones puntuales del gen de la β_2 -GP-I

Mutación	Localización	Dominio	Reemplazo de base nitrogenada	Reemplazo de aminoácido	Enzima
1	88 (exón 3)	2°	G-A	Ser-asn	Tsp509-I
2	247 (exón 7)	5°	C-G	Val-leu	Rsa I
3	306 (exón 8)	5°	T-C	Cys-gly	CviI I
4	316 (exón 8)	5°	G-C	Trp-ser	BstB I

Aún no se ha encontrado relación alguna entre el polimorfismo en la posición 247 y los alelos reportados para las variaciones cualitativas, lo que probablemente indica que este polimorfismo es responsable de la presencia de otras variantes^{78,79}. Esta conjetura la basamos en el siguiente razonamiento: el punto isoelectrico depende de los *pka*'s de los aminoácidos que constituyen cada proteína; sin embargo, si se considera que los dos aminoácidos involucrados en el polimorfismo 247 (valina y leucina) sólo difieren estructuralmente en un metileno ($-\text{CH}_2-$), esto nos sugiere que los puntos isoelectricos de las dos posibles variantes fenotípicas son tan cercanos que el IEE es incapaz de distinguirlos. De acuerdo con las mutaciones puntuales reportadas para el gen de la β_2 -GP-I, teóricamente existen 16 polimorfismos proteicos potenciales si consideramos las posibles combinaciones de las cuatro mutaciones. La reclasificación del alelo APOH*3 en dos diferentes alelos y la ausencia de correlación entre las variantes estructurales y el polimorfismo en la posición 247 ponen de manifiesto que la técnica empleada (IEE) en el estudio de las variantes alélicas de la β_2 -GP-I, por su baja resolución, no garantiza la detección de todas las posibilidades reales. Por esta razón, el análisis del polimorfismo de la β_2 -GP-I y sus posibles asociaciones con ciertos procesos patológicos o manifestaciones clínicas es mejor cuando se estudia el ADN⁶⁸⁻⁷².

Relevancia del polimorfismo de la β_2 -GP-I en la patogenia del SAF

El análisis de las familias de pacientes con SAF ha demostrado que el factor genético contribuye a expresar la enfermedad. Por ejemplo, un estudio retrospectivo demostró que el 41% de los pacientes con SAF y el 35% de los pacientes con SAFS tenían uno o más familiares con evidencias de al menos una manifestación clínica del SAF (p. ej., trombosis o pérdida fetal recurrente)⁸⁰. Los familiares afectados fueron principalmente mujeres (madre, abuela, hermana), lo que concuerda con la tendencia de género presente en el SAF. Varios grupos han demostrado que los pacientes con SAF tienen mayor frecuencia de DR7 o DR8, según sea el grupo étnico estudiado^{81,82}.

El quinto dominio de la β_2 -GP-I tiene importancia patogénica pues ahí está el sitio que une fosfolípidos^{53,54,83}. En 1998, se observó que algunas variaciones en el gen de la β_2 -GP-I podían afectar su unión a FL aniónicos (p. ej., CL o fosfatidilserina) y consecuentemente su reactividad con los ACL. Las mutaciones responsables del fenómeno se localizaron en las posiciones 306 (cys-gly) y 316 (trp-ser). La β_2 -GP-I de los individuos homocigotos para cada mutación o los heterocigotos para ambas no unió FL aniónicos⁸⁴, fenómeno que probablemente se debe a que el tipo silvestre codifica para triptófano en la posición 316 y, al parecer, la mutación Ser316 afecta la unión del FL, ya que involucra la inserción de un aminoácido polar (serina) en la secuencia 313-316 (leu-ala-phe-trp) que, posiblemente, interviene en las interacciones no polares entre las dos moléculas. En el caso del polimorfismo 306, el fenómeno puede deberse a una alteración de la configuración normal del quinto dominio de la β_2 -GP-I, debido a que la mutación ocasiona la sustitución de cisteína, el cual forma un puente disulfuro con su homólogo de la posición 281, posición vecina al sitio de unión a FL (281-288).

Según se ha mencionado, la unión de la β_2 -GP-I a los FL aniónicos es esencial para su reactividad con algunos de los ACL presentes en sujetos con SAF; así, la variación genética de la β_2 -GP-I que impide la unión de los FL con la proteína consecuentemente afectará la producción de ACL. Este fenómeno fue examinado en 222 pacientes con LES, comprobándose que la distribución del polimorfismo 316 trp/ser fue significativamente diferente entre los pacientes positivos para ACL de los pacientes sin ACL, lo cual sugiere una probable protección contra la producción de ACL por parte del alelo mutante en la posición 316. A diferencia de esto, la presencia de anti- β_2 -GP-I no se asoció con ningún polimorfismo en pacientes con SAF⁸⁵. Otros estudios⁸⁶⁻⁸⁸ han sugerido que los autoanticuerpos presentes en pacientes con SAF también reaccionan con el dominio I de la proteína. Es decir, hay anti- β_2 -GP-I que reconocen la proteína nativa puesto que la presencia del fosfolípido no modifica su reconocimiento.

Por otro lado, el cuarto dominio también puede contener un epítipo críptico para los ACL⁸⁸⁻⁹¹. Mediante el uso de mutantes de β_2 -GP-I y con el anticuerpo monoclonal ACL EY1C8⁸⁹, dicha región fue localizada en la cara interna del dominio IV, normalmente escondida por el dominio III⁹⁰, la cual puede exponerse al modificar tres interacciones electrostáticas entre el dominio IV y el V⁹¹. Estas interacciones electrostáticas que mantienen unidos a los dos dominios son puentes de hidrógeno entre un aminoácido del dominio IV y un aminoácido localizado en el dominio V⁹². Los puentes de hidrógeno se localizan entre los aminoácidos: D¹⁹³-K²⁴⁶, D²²²-K³¹⁷ y E²²⁸-K³⁰⁸.

Tabla 5. Distribución alélica y genotípica del polimorfismo de la β_2 -GP-I en la posición 247 en diferentes poblaciones

Población	Genotipo			Alelos		Fuente
	VV	VL	LL	V	L	
Caucásica	0,58	0,35	0,06	0,76	0,24	Steinkasserer et al
Caucásica	0,43	0,49	0,08	0,68	0,32	Hirose et al
Caucásica				0,71	0,29	Atsumi et al
Africana americana	0,15	0,61	0,24	0,46	0,54	Hirose et al
Asiática	0,04	0,40	0,56	0,24	0,76	Hirose et al
Mestiza mexicana	0,13	0,52	0,35	0,39	0,61	Cabiedes et al

Hasta la fecha, no se ha identificado ninguna mutación puntual en el cuarto dominio; sin embargo, el polimorfismo de la posición 247 se encuentra entre el sitio unificador de fosfolípidos y la región que expone el epítipo críptico en el dominio IV. Esta condición, sumada a la observación de que la posición 246 establece un puente de hidrógeno con el dominio IV en la estructura terciaria de la β_2 -GP-I, hace suponer que la alteración ocasionada con la sustitución de un aminoácido en la posición vecina provocaría un cambio conformacional posiblemente relevante en el reconocimiento tanto de los ACL como de los anti- β_2 -GP-I, cuyos epítopos se localizarían en los dominios V, III y IV⁹¹.

El polimorfismo en la posición 247 ha sido estudiado en pacientes con SAF de las poblaciones asiáticas⁹³, caucásicas^{93,94}, mestiza mexicana⁹⁵ y negra americana⁹³. Destaca que, a diferencia del polimorfismo estructural, el polimorfismo en la posición 247 tiene una distribución heterogénea entre las distintas poblaciones (tabla 5).

En 1999, un estudio de pacientes asiáticos con SAF y SAFS considerados como una población homogénea determinó que la presencia del alelo valina y el genotipo val/val están asociados significativamente a la presencia de anti- β_2 -GP-I⁹³ ($p = 0,0018$ y $p = 0,0003$, respectivamente). En este mismo estudio, Hirose et al no encontraron asociación alguna con las poblaciones negra y caucásica. Sin embargo, Atsumi et al informaron sobre la existencia de una correlación entre el alelo valina y los pacientes caucásicos con SAF y ACL positivos⁹⁴. En este último estudio también se analizaron los polimorfismos en las posiciones 88 y 316: ambos carecieron de correlación con la enfermedad o la presencia de ACL. Otro dato importante de esta investigación fue el incremento del alelo leucina en el grupo de pacientes con SAFS y ausencia de ACL. El ensayo de ELISA para detectar los ACL en este estudio utilizó placas irradiadas, por lo que es posible que en estos pacientes no fuera posible la detección de otros AAF. Es importante destacar que Hirose et al no analizaron a los pacientes con SAF por separado (SAFP y SAFS), además de que la po-

blación caucásica estudiada correspondía a individuos de Norteamérica, mientras que Atsumi et al realizaron su estudio con una cohorte de población inglesa.

En la población mestiza mexicana no hubo correlación entre el polimorfismo en la posición 247 y el SAF; sin embargo, el genotipo leu/leu estuvo significativamente aumentado en pacientes con SAFS⁹⁵. En resumen, los datos demuestran que en pacientes asiáticos con SAF y caucásicos con SAF el alelo valina se relaciona con la generación de β_2 -GP-I antigénica, por lo que se podría considerar un factor de riesgo en estas poblaciones; mientras que en pacientes mestizos mexicanos con SAFS, la presencia de anti- β_2 -GP-I se asoció con el genotipo leu/leu. Independientemente del polimorfismo de la β_2 -GP-I, su estructura está determinada genéticamente, por ello debería existir una tolerancia inmunológica para cualquier variante individual. Queda entonces por dilucidar por qué la presencia de cualquiera de los dos aminoácidos en la posición 247, así como el posible cambio conformacional que ocasionan, se asocia con una respuesta autoinmunitaria anormal. Por tanto, parece necesaria la participación de otros factores, probablemente relacionados con la reactividad de las células T, que podrían ser críticos en la pérdida de la tolerancia. Posiblemente, en algunos individuos en los que la susceptibilidad genética depende de algún genotipo en particular, la presencia de infecciones permitiría el procesamiento de proteínas exógenas con epítopos similares a los de la β_2 -GP-I, estimulando así a las células T autorreactivas. Este mecanismo ya ha sido documentado en un modelo murino⁹⁶. Además, algunos procesos infecciosos se han asociado con la etiología del SAF⁹⁷⁻¹⁰⁰. Shoenfeld et al, en 1998, informaron de la presencia de secuencias peptídicas de los dominios I, III y IV en virus, bacterias y parásitos⁹⁷. Más aún, algunos péptidos sintéticos análogos al sitio de unión de los fosfolípidos homólogos en algunos virus, al ser inoculados en ratones, han inducido la producción de ACL y anti- β_2 -GP-I⁹⁸.

Conclusiones

El SAF es el resultado de la interacción de factores genéticos, ambientales e inmunológicos. El grado de contribución de cada elemento es aún incierto. Independientemente de esto, el análisis del polimorfismo de la β_2 GP-I ha generado interés porque parece tener cierta relevancia en la generación de los AAF asociados al SAF. Además, su estudio ha permitido una mejor comprensión de la participación de la β_2 GP-I en este proceso patológico. Por ejemplo, hay datos experimentales que sugieren un posible papel protector de los polimorfismos en las posiciones 306 y 316 contra la producción de AAF. Por otro lado, el polimorfismo en la posición 247 de la β_2 GP-I ha sido involucrado en la producción de autoanticuerpos propios del SAF; no obstante, la asociación con un determinado alelo ha dependido de la población estudiada y de la variante de SAF analizada. Es importante considerar que, debido a la complejidad de la enfermedad, la cantidad de pacientes diagnosticados con SAF, el reducido número de estudios en este aspecto y el valor inferencial de éstos, cuyo significado estadístico sólo es válido para cada muestra estudiada, es difícil ponderar con precisión el papel del polimorfismo en la posición 247 de la β_2 GP-I.

Si consideramos la teoría del mimetismo molecular y la posible participación de las infecciones en la etiología del SAF, las diferencias estructurales de la β_2 GP-I, especialmente las referentes al polimorfismo en la posición 247 y sus consecuencias en la producción de los autoanticuerpos presentes en el SAF, adquieren gran relevancia. Finalmente, consideramos que con el estudio del polimorfismo de la β_2 GP-I se obtendrán datos que permitirán aclarar la aún incierta participación de los factores genéticos en la etiología y la patogenia del síndrome de antifosfolípidos.

Agradecimientos

El presente trabajo fue apoyado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, México (Nº 34750-N). El Dr. Cabiedes recibe apoyo económico de la Fundación Teletón México, para el estudio de los anticuerpos antifosfolípidos/cofactores y temas afines. El Dr. Cabral recibe apoyo económico del fondo Beatriz Vázquez Samano para la investigación del síndrome de antifosfolípidos/cofactores.

Bibliografía

- Bowie EJW, Thompson JH, Pascuzzi CA. Thrombosis in systemic lupus erythematosus despite circulating anticoagulants. *J Lab Clin Med* 1963;62:416-20.
- Harris EN, Gharavi AE, Boey ML, Patel BM, Macworth-Young CG, Loizou S, Hughes GRV. Anticardiolipin antibodies: detection by radioimmunoassay and association with thrombosis in systemic lupus erythematosus. *Lancet* 1983;2:1211-4.
- Hughes GRV, Harris EN, Gharavi AE. The anticardiolipin syndrome. *J Rheumatol* 1986;13:486-9.
- Alarcón-Segovia D, Delezé M, Oria CV, Sánchez-Guerrero J, Gómez-Pacheco L, Cabiedes J, et al. Antiphospholipid antibodies and the antiphospholipid syndrome in systemic lupus erythematosus. A prospective analysis of 500 consecutive patients. *Medicine* 1989;68:353-65.
- Alarcón-Segovia D, Sánchez-Guerrero J. Primary antiphospholipid syndrome. *J Rheumatol* 1989;16:482-8.
- Mackworth-Young CG, Loizou S, Walport MJ. Primary antiphospholipid syndrome: features of patients with raised anticardiolipin antibodies and no other disorder. *Ann Rheum Dis* 1989;48:362-7.
- Asherson RA, Khamashta MA, Ordi-Ros J, Derksen RHW, Machin S, Barquinero J, et al. The «primary» antiphospholipid syndrome: major clinical and serological features. *Medicine* 1989;68:366-74.
- McNeil PH, Simpson RJ, Chesterman CN, Kriks SA. Antiphospholipid antibodies are directed against complex antigen that include a lipid binding inhibitor of coagulation: β_2 -glycoprotein I (apolipoprotein H). *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:4120-4.
- Galli M, Comfurius F, Maasen C, Hemker HC, de Baets MH, van Breda-Vriesman PJ, et al. Anticardiolipin antibodies directed not to cardiolipin but to plasma protein cofactor. *Lancet* 1990;335:1544-7.
- Matsuura E, Igarashi Y, Fujimoto M, Ichikawa K, Koike T. Anticardiolipin cofactor(s) and differential diagnosis of autoimmune disease [letter]. *Lancet* 1990;336:177-8.
- Alarcón-Segovia D, Cabral AR. The anti-phospholipid antibody syndrome: clinical and serological aspects. *Baillieres Best Pract Res Clin Rheumatol* 2000;14:139-50.
- Cunningham AJ. Large number of cells in normal mice produce antibody components of isologous erythrocytes. *Nature* 1974;252:749-51.
- Cabiedes J, Cabral AR, López-Mendoza AT, Cordero-Espéron HA, Huerta MT, Alarcón-Segovia D. Characterization of anti-phosphatidylcholine polyreactive natural autoantibodies from normal human subjects [pendiente de publicación].
- Asherson RA, Doherty DG, Vergani D, Khamashta MA, Hughes GRV. Major histocompatibility complex associations with primary antiphospholipid syndrome. *Arthritis Rheum* 1992;35:124-5.
- Alarcón-Segovia D. Pathogenic potential of anti-phospholipid antibodies. *J Rheumatol* 1988;15:890-3.
- Mendlovic S, Segal R, Shoenfeld Y, Mozes E. Anti-DNA isotype and anti-DNA-idiotype T cell responses in patients with systemic lupus erythematosus and their first-degree relatives. *Clin Exp Immunol* 1990;82:504-8.
- Shoenfeld Y, Teplizki HA, Mendlovic S, Blank M, Mozes E, Icenberg DA. The role of human anti-DNA idiotype 16/6 in autoimmunity. *Clin Immunol Immunopathol* 1989;51:313-25.
- Shoenfeld Y, Mozes E. Pathogenic idiotypes of autoantibodies in autoimmunity: lessons from new experimental models of SLE. *FASEB J* 1990;4:2646-51.
- Canoso RT, Sise HS. Chlorpromazine induced lupus anticoagulant in chlorpromazine-patients. *Am J Hematol* 1982;13:121-9.
- Colaco CB, Mackie IJ, Irving W, Machin SJ. Anticardiolipin antibodies in viral infection. *Lancet* 1989;1:622.
- Sugi T, McIntyre JA. Autoantibodies to phosphatidylethanolamine (PE) recognize a kininogen-PE complex. *Blood* 1995;86:3083-9.
- Levy RA, Avvad E, Oliveira J, Porto LC. Placental pathology in antiphospholipid syndrome. *Lupus* 1998;2(Suppl):81-5.
- Saika C, Lambert M, Caron C, Amiral J, Hachulla E, Hattron PY, et al. Low prevalence of anti-annexin V antibodies in antiphospholipid syndrome with fetal loss. *Rev Med Intern* 1999;20:762-5.

24. Rand JH, Wu XX, and Giesen P. A possible solution to the paradox of the «lupus anticoagulant»: antiphospholipid antibodies accelerate thrombin generation by inhibiting annexin-V. *Thromb Haemost* 1999;84:1376-7.
25. Galli M, Barbui T. Antiprothrombin antibodies: detection and clinical significance in the antiphospholipid syndrome. *Blood* 1999;93:2149-57.
26. Harris EN, Pierangeli S. What is the «true» antigen for antiphospholipid antibodies [carta]. *Lancet* 1990;336:1550.
27. Borchman D, Harris EN, Pierangeli SS, Lambda OP. Interactions and molecular structure of cardiolipin and β_2 -glycoprotein I (β_2 GP-I). *Clin Exp Immunol* 1995;102:373-8.
28. Subang R, Levine JS, Janoff AS, Davidson SM, Taraschi TF, Kaike T, et al. Phospholipid-bound β_2 -glycoprotein I induces the production of anti-phospholipid antibodies. *J Autoimm* 2000;15:21-32.
29. Matsuura E, Igarashi Y, Yasuda T, Triplett D, Koike T. Anticardiolipin antibodies recognize β_2 -glycoprotein I structure altered by interacting with an oxygen modified solid phase surface. *J Exp Med* 1994;179:457-62.
30. Cabral AR, Shoenfeld Y, Meroni PL. The beta-2-glycoprotein I and antiphospholipid antibodies. Workshop report. *Clin Exp Rheumatol* 1992;10:205-9.
31. Viard JP, Amoura Z, Bach JP. Association of anti- β_2 -glycoprotein I antibodies with lupus-type circulating anticoagulant and thrombosis in systemic lupus erythematosus. *Am J Med* 1992;93:181-6.
32. Gharavi AE. Antiphospholipid cofactor. *Stroke* 1992;23:17-10.
33. Cabiedes J, Cabral AR, Alarcón-Segovia D. Clinical manifestations of the antiphospholipid syndrome in systemic lupus erythematosus patients associate more strongly with anti- β_2 -glycoprotein I than with antiphospholipid antibodies. *J Rheumatol* 1995;22:2233-7.
34. Najmeh SS, Keil LB, Adib Dyr, DeBari VA. The association of antibodies to β_2 -glycoprotein I with antiphospholipid syndrome: a meta-analysis. *Ann Clin Lab Sci* 1997;27:41-6.
35. Arvieux J, Roussel B, Jacob MC, Colomb MG. Measurement of antiphospholipid antibodies by ELISA using β_2 -glycoprotein I as an antigen. *J Immunol Methods* 1991;143:223-9.
36. Cabral AR, Cabiedes J, Alarcón-Segovia D, Sánchez-Guerrero J. Phospholipid specificity and requirement of β_2 -glycoprotein-I for reactivity of antibodies from patients with primary antiphospholipid syndrome. *J Autoimmunity* 1992;5:787-801.
37. Jones JV, James H, Tan MH, Mansour M. Antiphospholipid antibodies require β_2 -glycoprotein I (apolipoprotein H) as cofactor. *J Rheumatol* 1992;19:1397-402.
38. Valesini G, Shoenfeld Y. A new player in the antiphospholipid syndrome -the beta-2-glycoprotein-I cofactor. *Autoimmunity* 1992;14:105-10.
39. Vlachoyiannopoulos PG, Krilis SA, Hunt JE, Manoussakis MN, Moutsopoulos HM. Patients with anticardiolipin antibodies with and without antiphospholipid syndrome. Their clinical features and beta-2-glycoprotein-I plasma levels. *Eur J Clin Invest* 1992;22:482-7.
40. Matsuda J, Saitoh N, Gohchi K, Gotoh M, Tsukamoto M. Distinguishing β_2 -glycoprotein I dependent (systemic lupus erythematosus type) and independent (syphilis type) anticardiolipin antibody with Tween 20. *Br J Haematol* 1993;85:799-802.
41. Cabiedes J, Cabral AR, Alarcón-Segovia D. Clinical manifestations of the antiphospholipid syndrome in patients with systemic lupus erythematosus associate more strongly with anti- β_2 -glycoprotein-I than with antiphospholipid antibodies. *J Rheumatol* 1995;22:1899-906.
42. El-Kadi HS, Keil LB, DeBari VA. Analytical and clinical relationships between human IgG autoantibodies to β_2 -glycoprotein I and anticardiolipin antibodies. *J Rheumatol* 1995;22:2233-7.
43. McNally T, Purdy G, Mackie J, Isenberg DA. The use of an anti- β_2 -glycoprotein-I assay for discrimination between anticardiolipin antibodies associated with infection and increased risk of thrombosis. *Br J Rheumatol* 1995;91:1471-3.
44. Shultze HE, Heide K, Haupt H. Über einbisher unbekanntes niedermolekulares β_2 -globulin des human serums. *Naturwissenschaften* 1961;48:719.
45. Polz E, Kostner GM. The binding of β_2 -glycoprotein-I to human serum lipoproteins. *FEBS Lett* 1979;102:183-6.
46. Nakaya Y, Schaefer EJ, Brewer HB Jr. Activation of human post heparin lipoprotein lipase by apolipoprotein H (β_2 -glycoprotein-I). *Biochem Biophys Res Commun* 1980;95:1168-72.
47. Lozier J, Takahashi N, Putnam FW. Complete amino acid sequence of human plasma β_2 -glycoprotein-I. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;81:3640-4.
48. Medi H, Jun M, Steel DM, Whitehead AS, Perez M, Walker L, et al. Nucleotide sequence and expression of the human gene encoding apolipoprotein H (β_2 -glycoprotein-I). *Gene* 1991;108:293-8.
49. Steinkasserer A, Estaller C, Weiss EH, Sin RB, Day AJ. Complete nucleotide and deduced amino acid sequence of human β_2 -glycoprotein-I. *Biochem J* 1991;277:387-91.
50. Steinkasserer A, Cockburn DJ, Black DM, Boyd Y, Solomon E, Sin RB. Assignment of apolipoprotein H (APOH: β_2 -glycoprotein-I) to human chromosome 17q23qter; determination of the major expression site. *Cytogenet Cell Genet* 1992;60:31-3.
51. Kato H, Enryoji K. Amino acid sequence and location of the disulfide bonds in bovine β_2 -glycoprotein-I: the presence of five sushi domains. *Biochemistry* 1991;30:11687-94.
52. Bendixen E, Halkier T, Magnusson S, Sottrup-Jensen L, Kristensen T. Complete primary structure of bovine β_2 -glycoprotein-I: location of the disulfide bridges. *Biochemistry* 1992;31:3611-7.
53. Hunt JE, Simpson RJ, Krilis SA. Identification of a region of β_2 -glycoprotein-I critical for the lipid binding and anti-cardiolipin antibody cofactor activity. *Proc Natl Acad Sci* 1993;90:2141-5.
54. Hunt JE, Krilis S. The fifth domain of β_2 -glycoprotein-I contains a phospholipid binding site (cys281-cys288) and a region recognized by anticardiolipin antibodies. *J Immunol* 1994;152:653-9.
55. Schousboe I. β_2 -glycoprotein-I: a plasma inhibitor of the contact activation of the intrinsic blood coagulation pathway. *Blood* 1985;66:1086-91.
56. Nimpf J, Wurm H, Kostner GM. Beta-2-glycoprotein-I (apo-H) inhibits the release reaction of human platelets during ADP-induced aggregation. *Arteriosclerosis* 1987;63:109-14.
57. Angles-Cano E, Guillin MC. Antiphospholipid antibodies and the coagulation cascade. *Rheum Dis Clin North Am* 2001;27:573-86.
58. Nojima J, Kuratsune H, Suehisa E, Futsukaichi Y, Yamanishi HM, Iwatani Y, Kanakura Y. *Clin Chem* 2001;47:985-7.
59. George J, Gilburd B, Levy Y, Blank M, Kopolovic J, Harats D, Shoenfeld Y. Atherosclerosis in LDL-receptor knockout mice is accelerated by immunization with anticardiolipin antibodies. *Lupus* 1997;6:723-9.
60. Afek A, George J, Shoenfeld Y, Gilburd B, Levy Y, Shaish A, et al. Enhancement of atherosclerosis in β_2 -glycoprotein-I-immunized apolipoprotein E-deficient mice. *Pathobiology* 1999;67:19-25.
61. Vlachoyiannopoulos PG, Krilis SA, Hunt JE, Manoussakis MN, Moutsopoulos HM. Patients with anticardiolipin antibodies with and without antiphospholipid syndrome: their clinical features and β_2 -glycoprotein I plasma levels. *Eur J Clin Invest* 1992;22:482-7.
62. Oosting JD, Derksen RHHM, Entjes HTI, Bouma BN, De Groot PG. Lupus anticoagulant activity is frequently dependent on the presence of β_2 -glycoprotein-I. *Thromb Haemost* 1992;67:499-502.
63. Lockshin MD. Pathogenesis of the antiphospholipid antibody syndrome. *Lupus* 1996;5:404-8.
64. Cleve H. Genetics studies on the deficiency of beta-2-glycoprotein-I of human serum. *Humangenetik* 1968;5:294-304.

65. Roychoudhury AK, Masatoshi N. Beta-2-glycoprotein-I, Bg system: BG. In Human polymorphic genes. World distribution. New York: Oxford University, 1988; p. 139-40.
66. Kamboh MI, Ferrell RE, Sepehrnia B. Genetic studies of human apolipoproteins (IV). Structural heterogeneity of apolipoprotein H (β_2 -glycoprotein I). *Am J Hum Genet* 1988;42:452-7.
67. Sepehrnia B, Kamboh MI, Adams-Campbell LL, Bunker C, Nwan M, Majumder PP, et al. Genetic studies of human apolipoproteins (VIII). Role of the apolipoprotein H polymorphism in relation to serum lipoprotein concentrations. *Hum Genet* 1989;82:118-22.
68. Eichner JE, Kuller RE, Ferrell RE, Kamboh MI. Phenotypic effects of apolipoprotein structural variation on lipid profiles (IV). Apolipoprotein polymorphisms in a small group of black women from healthy women study. *Genet Epidemiol* 1989;6:681-9.
69. Sepehrnia B, Kamboh MI, Adams-Campbell LL, et al. Genetic studies of human apolipoproteins (VIII). Role of apolipoprotein H polymorphisms in relation to serum lipoprotein concentrations. *Hum Genet* 1989;82:118-22.
70. Kamboh MI, Bunker CH, Aston CE, Nestlerode CS, McAllister AE, Ukoli FA. Genetic association of five apolipoprotein polymorphisms with serum lipoprotein-lipid levels in african blacks. *Genet Epidemiol* 1999;16:205-22.
71. Sanger DK, Kristensen T, Hamman RF, Hamman RF. Molecular basis of the apolipoprotein H (β_2 -glycoprotein I) protein polymorphism. *Hum Genet* 1997;100:57-62.
72. Kamboh MI, Serjeantson SW, Ferrell RE. Genetic studies of human apolipoproteins. XVIII. Apolipoprotein polymorphisms in Australian aborigines. *Human Biol* 1991;63:179-86.
73. Kamboh MI, Crawford MH, Aston CE, Leonard WR. Population distributions of APOE, APOH, and APOA4 polymorphisms and their relationships with quantitative plasma lipid levels among the Evenki herders of Siberia. *Human Biol* 1996;68:231-43.
74. Richter A, Cleve H. Genetic variations of human β_2 -glycoprotein I demonstrated by isoelectric focusing. *Electrophoresis* 1988;9:317-22.
75. Saha N, Kamboh MI, Kelly LJ, Ferrell RE, Tay JSH. Apolipoprotein H (β_2 -glycoprotein I) polymorphisms in Asians. *Human Biol* 1992;64:617-21.
76. Kamboh MI, Wagenknecht DR, McIntyre JA. Heterogeneity of the apolipoprotein H*3 allele and its role in affecting the binding of apolipoprotein H (β_2 -glycoprotein-I) to anionic phospholipids. *Hum Genet* 1995;95:385-8.
77. Yasuda S, Tsutsumi A, Ichikawa K, et al. analysis of a patient with β_2 -glycoprotein I deficiency [abstract]. 5th Conference of Systemic Lupus Erythematosus. *Lupus* 1998;7:45.
78. Steinkasserer A, Dörner C, Wurzn R, Sim RB. Human β_2 -glycoprotein-I: molecular analysis of DNA and amino acid polymorphism. *Hum Genet* 1993;91:401-2.
79. Sanger DK, Wagenknecht DR, McIntyre JA, Kamboh MI. Identification of structural mutations in the fifth domain of apolipoprotein H (β_2 -glycoprotein-I) which affect phospholipid binding. *Hum Mol Genet* 1997;6:311-6.
80. Weber M, Hayem G, DeBrant M, Palazzo E, Roux S, Kahn MF, et al. The family history of patients with primary or secondary antiphospholipid syndrome (APS). *Lupus* 2000;9:258-63.
81. Granados J, Vargas-Alarcón G, Drenkard C, Andrade F, Melin-Andrade H, Alcocer-Varela J, et al. Relationship of anticardiolipin antibodies and antiphospholipid syndrome to HLA-DR7 in Mexican patients with systemic lupus erythematosus (SLE). *Lupus* 1997;6:57-62.
82. Savi M, Ferraccioli GF, Neri, T.M. HLA-DR antigens and anticardiolipin antibodies in Northern Italy systemic lupus erythematosus patients. *Arthritis Rheum* 1988;31:1568-70.
83. Shen Y, Krilis SA, Sali A. Site-directed mutagenesis of recombinant human β_2 -glycoprotein I. Effect of phospholipid binding and anticardiolipin antibody activity. *Ann NY Acad Sci* 1997;815:331-3.
84. Kamboh MI, Mehdi H. Genetics of apolipoprotein H (β_2 -glycoprotein-I) and anionic phospholipid binding. *Lupus* 1998;(Suppl 2):7:10-3.
85. Kamboh MI, Manzi S, Mehdi H, Fitzgerald S, Sanghera DK, Kuller LH, et al. Genetic variation in apolipoprotein H (β_2 -glycoprotein-I) affects the occurrence of antiphospholipid antibodies and apolipoprotein H concentrations in systemic lupus erythematosus. *Lupus* 1999;8:742-50.
86. Smith EM, Victoria E, Marquis D. Regions in domain 1 of β_2 -GP-I that are important in the binding of anti-cardiolipin autoantibodies [abstract]. *Lupus* 1998;7(Suppl 2):176.
87. Marquis D, Victoria E, Iverson GM. β_2 -GP-I-dependent anticardiolipin autoantibodies recognize an epitope on the first domain of β_2 -GP-I [abstract]. *Lupus* 1998;7(Suppl 2):176.
88. McNeeley PA, Victoria E, Marquis D, Crisologo JF, Tuyay DC, Linnik MD. APS patient sera preferentially recognize the first domain of β_2 -glycoprotein-I [abstract]. *Lupus* 1998;7(Suppl 2):176.
89. Matsuura E, Igarashi Y, Katahira T, Nagae H, Ichikawa K, et al. Molecular studies on phospholipid-binding sites and cryptic epitopes appearing on β_2 -glycoprotein-I structure recognized by anticardiolipin antibodies. *Lupus* 1995;4:S13-7.
90. Kasahara H, Ichikawa K, Tsutsumi A, Matsuura E, Kobayashi S, Koike T. Identification of epitopes of anticardiolipin antibodies by screening phage random peptide [abstract]. 5th Conference of Systemic Lupus Erythematosus. *Lupus* 1998;7:66.
91. Koike T, Ichikawa K, Atsumi T, Tsutsumi A, Matsuura E. Epitopes on β_2 GPI recognized by anticardiolipin antibodies. *Lupus* 1998;7:S14-7.
92. Yamamoto D, Matsuura E, Kaihara K, Koike T. Three dimensional modeling of β_2 -glycoprotein-I and electrostatic interactions between its domains IV and V [abstract]. *Lupus* 1998;7(Suppl 2):174.
93. Hirose N, Williams R, Alberts AR, Furie RA, Chartash EK, Jain RI, et al. A role for the polymorphism at position 247 of the β_2 -glycoprotein-I gene in the generation of anti- β_2 -glycoprotein-I antibodies in the antiphospholipid syndrome. *Arthritis Rheum* 1999;42:1655-61.
94. Atsumi T, Tsutsumi A, Amengual O, Kamashta MA, Hughes GR, Niyoshi Y, et al. Correlation between β_2 -glycoprotein-I valine/leucine247 polymorphism and anti- β_2 -glycoprotein-I antibodies in patients with primary antiphospholipid syndrome. *Rheumatology* 1999; 38:721-3.
95. Cabiedes J, Prieto GA, Cabral AR, Zapata M, Lima G, Alarcón-Segovia D. Estudio del polimorfismo del gen de la β_2 -glucoproteína-I en la posición 247 en pacientes mexicanos con síndromes de antifosfolípido primario o asociado a lupus eritematoso generalizado [abstract]. *Rev Mex Reumatol* 2001;16:20.
96. Mamula MJ, Lin RH, Janeway ChA, Hardin JA. Breakin T cell tolerance with foreign and self co-immunogens. A study of autoimmune B and T cell epitopes of cytochrome c. *J Immunol* 1992;149:789-95.
97. Shoenfeld Y, Gharavi A, Koike T. β_2 -GP-I in the anti phospholipid (Hughes') syndrome -from a cofactor to an autoantigen- from induction to prevention of antiphospholipid syndrome. *Lupus* 1998;7:503-6.
98. Gharavi AE, Tang H, Gharavi E, Wilson WA. Induction of antiphospholipid antibodies by immunization with viral peptides [abstract]. *Arthritis Rheum* 1996;39:S319.
99. Celli CM, Gharavi EE, Vivian W, Chaimovich H, Gharavi AE. Viral peptides are associated to β_2 -glycoprotein-I phospholipid binding site peptide by 3D-conformation and membrane interactions. (Abstract). *Lupus* 1998;7(Suppl 2):177.
100. Chou TNK, Hsu TC, Chen RM, Lin LI, Tsay GJ. Parvovirus B19 infection associated with the production of antineutrophil cytoplasmic antibody (ANCA) and anticardiolipin antibody (ACL). *Lupus* 2000;9:551-4.