

**AUTOANTICORPOS ANTICARDIOLIPINA E ANTI-BETA2-  
GLICOPROTEÍNA I NA SÍNDROME METABÓLICA**

**Rodrigo Bohrer Krás Borges**

**Porto Alegre, 2009**

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA E CIÊNCIAS DA SAÚDE  
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: CLÍNICA MÉDICA**

**FACULDADE DE MEDICINA**

**AUTOANTICORPOS ANTICARDIOLIPINA E ANTI-BETA2-  
GLICOPROTEÍNA I NA SÍNDROME METABÓLICA**

**AUTOR: RODRIGO BOHRER KRÁS BORGES**

ORIENTADOR: PROF. DR. HENRIQUE LUIZ STAUB

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, para obtenção do título de Mestre em Medicina

Porto Alegre, Janeiro de 2009

## FICHA CATALOGRÁFICA:

K89a Krás Borges, Rodrigo Bohrer.  
Autoanticorpos IgA contra Beta2-glicoproteína I e síndrome metabólica / Rodrigo Bohrer Krás Borges ; orient. Henrique Luiz Staub. Porto Alegre: PUCRS, 2009.  
xx f.: tab.

Dissertação(Mestrado)—Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde. Área de Concentração: Clínica Médica.

1. Síndrome Metabólica. 2. Beta 2-Glicoproteína. 3. Anticorpos Anticardiolipina. 4. Auto-anticorpos. 5. Estudo de Casos e Controles. I. Staub, Henrique Luiz. II. Título.

CDD 616.39  
NLM WK 820

## **AGRADECIMENTOS:**

- **Ao Prof. Dr. Henrique Luiz Staub, meu grande mestre e fonte constante de estímulo à qualificação profissional, pela compreensão e inestimável contribuição, não só em minha pós-graduação, como também durante minha residência em Reumatologia.**
- **À minha noiva Ana Paula, pelo apoio e carinho dedicados e pela constante compreensão nos momentos de ausência.**
- **Aos meus pais, por terem me proporcionado uma excelente formação tanto pessoal quanto profissional.**
- **Ao Laboratório Metanalysis, Porto Alegre, pelo auxílio logístico na realização dos testes sorológicos.**
- **À Inova Diagnostics, Inc., San Diego, EUA, pela colaboração nos testes sorológicos.**
- **Ao bioquímico Gary Norman, PhD, San Diego, EUA, pela valorosa ajuda na testagem dos autoanticorpos.**
- **Ao Prof. Dr. Marcus Franck, por ter me inserido no universo de pesquisa voltada para o entendimento dos aspectos imunoinflamatórios envolvidos em aterosclerose.**

- **Aos colegas Mário Wiehe e Cassiane Bonatto, pela grande contribuição através da coordenação do Ambulatório de Risco Cardiometabólico, fonte dos dados de minha dissertação.**
- **Ao Prof. Dr. Mário Wagner pelo valioso auxílio estatístico.**
- **À bibliotecária Sabrina Caimi Silva da Costa, pela elaboração da ficha catalográfica.**
- **Aos estagiários e monitores participantes do Ambulatório de Risco Cardiometabólico, pela fundamental coleta adequada dos dados clínicos.**

## **LISTA DE ABREVIATURAS:**

- **AAF:** anticorpos antifosfolípidos
- **aCL:** anticardiolipina
- **AGEs:** produtos finais da glicação avançada (*advanced glycation endproducts*)
- **Anti:** anticorpo
- **AVC:** acidente vascular cerebral
- **Beta2-gpl:** beta2-glicoproteína I
- **CL:** cardiolipina
- **DM:** diabetes mellitus
- **ELISA:** ensaio de imunoabsorção ligado à enzima
- **FL:** fosfolípidos
- **FS:** fosfatidilserina
- **HAS:** hipertensão arterial sistêmica
- **IAM:** infarto agudo do miocárdio
- **IC:** intervalo de confiança
- **IC 95%:** intervalo de confiança de 95%
- **IgA:** imunoglobulina A
- **IgG:** imunoglobulina G
- **IgM:** imunoglobulina M
- **kDa:** quilodalton
- **LDL:** lipoproteína de baixa densidade (*low density lipoprotein*)

- **LDL-ox:** LDL oxidado
- **LES:** lúpus eritematoso sistêmico
- **M-CSF:** fator estimulador de colônias de macrófagos (*macrophage colony stimulating factor*)
- **N:** número
- **PAI-1:** inibidor-1 ativador de plasminogênio (*plasminogen activator inhibitor-1*)
- **PDGF:** fator de crescimento derivado de plaquetas (*platelet derived growth factor*)
- **RAGE:** receptores para produtos finais da glicação avançada (*receptor for advanced glycation endproducts*)
- **ROS:** espécies oxigênio-reativas (*reactive oxygen species*)
- **SAF:** síndrome antifosfolípida
- **SM:** síndrome metabólica

# ÍNDICE

## PÁGINAS

---

<b>1 – INTRODUÇÃO</b>	<b>8</b>
1.1 - Aterosclerose e inflamação	9
1.2 - Síndrome metabólica	13
1.3 - Anticorpos antifosfolipídicos	15
1.4 - Anticorpos anti-beta2-gpl	17
1.5 - Hipótese operacional	21
1.6 - Hipótese conceitual	21
1.7 - Referências bibliográficas	22
<b>2 – ARTIGO EM PORTUGUÊS</b>	<b>26</b>
<b>3 – ARTIGO EM INGLÊS</b>	<b>44</b>
<b>4 – ANEXOS</b>	<b>61</b>



# 1 - INTRODUÇÃO

## 1.1 - Aterosclerose e Inflamação:

A aterosclerose é reconhecida atualmente como uma doença inflamatória. Elevados níveis plasmáticos de colesterol, especialmente a fração LDL (*low density lipoprotein*) do colesterol, são considerados como um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento desta doença, determinando o acúmulo de lipídios ao longo da parede das artérias.

Entretanto, apesar das inovações terapêuticas vigentes direcionadas para a redução dos níveis de colesterol, as doenças cardiovasculares persistem como uma das principais causas de mortalidade mundial (1). De acordo com relatos da Associação Americana de Cardiologia, a doença cardiovascular é a principal causa de mortalidade nos Estados Unidos da América e responsável por mais da metade dos óbitos em países desenvolvidos (2). As principais manifestações clínicas das doenças cardiovasculares incluem infarto do miocárdio, doença arterial coronariana, acidente vascular cerebral, doença arterial periférica e insuficiência cardíaca. Em muitos casos, estes desfechos clínicos resultam da aterosclerose, uma doença progressiva da parede arterial caracterizada por espessamento focal e obstrução luminal (1).

Novos mecanismos inflamatórios e imunológicos têm emergido como fatores de relevância durante o surgimento e progressão das lesões ateroscleróticas. Em particular, a oxidação do colesterol LDL foi identificada como um precoce evento pró-aterogênico que promove a formação de células espumosas derivadas de macrófagos (3-6).

O processo patogênico envolvido nas lesões ateroscleróticas é complexo e envolve uma série de mecanismos celulares e moleculares altamente específicos. O estágio inicial da lesão aterosclerótica, também denominado estria gordurosa, pode ser observado desde a infância e é considerado como puramente inflamatório, sendo constituído de monócitos e linfócitos T. Em pessoas com hipercolesterolemia, o influxo destas células é precedido pela deposição extracelular de lipídios (1).

A progressão das estrias gordurosas para lesões arteriais complexas requer a infiltração de células inflamatórias e também a proliferação de células musculares lisas produtoras de matriz extracelular, a qual constitui o maior volume do ateroma avançado. Embora a proliferação de células musculares lisas ocorra de forma gradual, pequenas rupturas de placas em formação podem gerar surtos proliferativos desencadeados pela trombina ou pelo PDGF (*platelet derived growth factor*). Os macrófagos também proliferam nas placas de ateroma, e tal proliferação é potencializada por mitógenos e co-mitógenos como o M-CSF (*macrophage colony stimulating factor*) (7).

O aumento da morbidade e mortalidade cardiovasculares recentemente verificado em pacientes com doenças autoimunes sistêmicas é, provavelmente, consequência do acelerado (ou prematuro) desenvolvimento de aterosclerose. Estes achados têm sugerido uma contribuição da autoimunidade no desenvolvimento da aterosclerose.

A síndrome antifosfolipídica (SAF) é caracterizada por complicações tromboembólicas arteriais e venosas associadas com elevados títulos de

anticorpos antifosfolipídicos. A SAF é freqüentemente diagnosticada no contexto de uma doença autoimune (8, 9). O mecanismo exato pelo qual anticorpos anticardiolipina (aCL), anticoagulantes lúpicos e/ou outros anticorpos antifosfolipídicos promovem trombooses não é completamente compreendido. Aceita-se, atualmente, que a beta2-glicoproteína I (beta2-gpl) exerce papel central na SAF, e, de maneira ainda mais importante, representa o principal alvo antigênico para anticorpos antifosfolipídicos (10-14).

LDL oxidado (LDL-ox) é a principal lipoproteína encontrada em lesões ateroscleróticas, co-localizando-se juntamente com a beta2-gp I e linfócitos imunorreativos (15). Recentemente, demonstrou-se que o LDL-ox se liga à beta2-gpl, e que este complexo formado pode ser encontrado na circulação periférica de pacientes com inúmeras doenças inflamatórias crônicas e autoimunes, tais como lúpus eritematoso sistêmico (LES), SAF, doença renal crônica, diabetes mellitus, assim como em alguns pacientes com infarto agudo do miocárdio (16).

Fatores de risco tradicionais para aterosclerose incluem elevados níveis séricos de colesterol, pressão arterial aumentada, diabetes mellitus, obesidade, tabagismo e sedentarismo. Estas características podem contribuir tanto para o início e progressão de lesões ateroscleróticas, quanto para deflagrar uma série de mecanismos regulatórios e inflamatórios ao longo da parede arterial. A relação causal entre colesterol sanguíneo elevado e aterosclerose está estabelecida.

O colesterol que se acumula em células espumosas derivadas de macrófagos é originário de lipoproteínas circulantes, principalmente a partir de LDL pró-aterogênico (4-6). Contudo, o LDL precisa ser modificado antes de sua

captação pelos macrófagos e sua oxidação representa tal processo (1). LDL não-modificado (ou nativo) e, talvez, LDL minimamente modificado, são removidos da circulação pelos receptores de LDL situados nas células endoteliais e monócitos-macrófagos. Muitos estudos têm demonstrado um componente inflamatório na aterosclerose envolvendo a desregulação da homeostase do colesterol por interação aberrante entre mediadores inflamatórios e elementos modulados por lipídeos (17).

O LDL-ox apresenta importante papel patogênico em eventos precoces que conduzem à aterosclerose (5, 18), atuando como agente quimiotático pró-inflamatório para macrófagos e linfócitos T, sendo citotóxico para células endoteliais e estimulando a liberação de mediadores solúveis pró-inflamatórios. Em adição, o LDL-ox tem sido encontrado em lesões ateroscleróticas tanto murinas quanto humanas (19). A oxidação do LDL pode gerar epítopos imunogênicos capazes de produzir autoanticorpos. Estes autoanticorpos têm sido identificados em pacientes com distúrbios autoimunes, tais como LES e SAF (20).

A disfunção endotelial é considerada, atualmente, o evento inicial de uma série de doenças de natureza inflamatória ou imune, como as vasculites e a aterosclerose. O endotélio, como interface entre os elementos circulantes e os tecidos, apresenta a barreira primordial de proteção contra qualquer tipo de agressão. Demonstra múltiplas características que permitem sua participação na regulação fina da resposta imunológica, agindo precoce e eficientemente na sinalização de perigo. Em circunstâncias de lesão ou doença, e sob o efeito de citocinas inflamatórias como a IL-1 e TNF, as células endoteliais passam ao

estado ativado, caracterizado pela perda de heparan-sulfatos na superfície celular, diminuição na produção de trombosmodulina e fator tecidual, e pelo fenótipo permissivo à agregação plaquetária e à coagulação (21).

Quando a superfície endotelial de lesões ateroscleróticas se torna danificada e instável, pode haver a ruptura do ateroma, podendo resultar em oclusão total do vaso sanguíneo e necrose tecidual, o que é verificado tanto no infarto agudo do miocárdio quanto no acidente vascular cerebral isquêmico

## **1.2 - Síndrome Metabólica:**

A síndrome metabólica é um conjunto de anormalidades metabólicas, incluindo resistência à insulina, dislipidemia e hipertensão arterial sistêmica (HAS), sendo a obesidade visceral manifestação característica (22). Outros achados incluem hiperfibrinogenemia, aumento de PAI-1 (*plasminogen activator inhibitor-1*) e estado pró-inflamatório (23, 24).

O aumento na prevalência mundial da síndrome metabólica parece se dever ao aumento de prevalência da obesidade, que, por sua vez, é promovida e agravada pelo sedentarismo. A síndrome metabólica é um poderoso e prevalente preditor de diabetes e eventos cardiovasculares de origem aterosclerótica (25).

O tecido adiposo apresenta papel vital na patogênese da síndrome metabólica, promovendo o desenvolvimento de diabetes mellitus (DM) tipo 2 e

aterosclerose. A gordura abdominal característica é a principal origem do fluxo excessivo de ácidos graxos livres, os quais são responsáveis por afetar a via de transdução de sinal de insulina, induzindo, desta forma, disfunção endotelial por geração de ROS (*reactive oxygen species*) e estresse oxidativo (25). A liberação prolongada de ácidos graxos livres implica o desenvolvimento de DM2, pois promove resistência insulínica e perda da função das células pancreáticas do tipo beta.

A resistência insulínica é, por si só, um fator de risco para doenças cardiovasculares. Ela bloqueia a produção vascular de óxido nítrico, um fator crucial para a resposta vasodilatadora normal e função endotelial (26). A intolerância à glicose e a hiperglicemia facilitam a formação acelerada dos AGEs (*advanced glycation endproducts*), que são um grupo heterogêneo de moléculas formadas a partir de reação não-enzimática de redução de açúcares com aminoácidos livres oriundos de proteínas, lipídeos e ácidos nucléicos. Estas moléculas interagem com RAGE (*receptor for advanced glycation endproducts*), ativando numerosas vias de sinalização envolvidas no processo aterosclerótico (27, 28).

Estudos em pacientes diabéticos demonstraram que AGEs provenientes da dieta aumentam os níveis de marcadores inflamatórios (proteína C reativa, fator de necrose tumoral e células de adesão endotelial), enquanto a restrição alimentar de AGEs conduz à supressão destes mediadores (29).

O aspecto das lesões ateroscleróticas é geralmente semelhante em pacientes com e sem diabetes. Entretanto, pacientes com DM2 apresentam lesões

em estágio mais avançado, e a aterosclerose tende a ser mais difusa e não focal (25).

Na síndrome metabólica, os níveis plasmáticos de colesterol LDL são geralmente pouco alterados; entretanto suas partículas podem sofrer alterações qualitativas que as tornam pequenas e densas, ocasionando uma maior predisposição à oxidação e, portanto, evocando inflamação.

Os baixos níveis de colesterol HDL, que caracteristicamente acompanham a elevação de triglicérides na síndrome metabólica, atuam negativamente sobre mecanismos antiinflamatórios e ateroprotetores de origem endógena (30). Desta maneira, a síndrome metabólica consiste de uma condição pro-aterogênica muito importante.

Identificada primeiramente em 1950, esta síndrome é atualmente fonte de controvérsias (31). Apesar disto, é bem estabelecido que a mesma precede o diabetes e eventos cardiovasculares (32-36).

### **1.3 - Anticorpos Antifosfolipídicos:**

Autoimunidade e, em particular, anticorpos contra cardiolipina e co-fatores fosfolipídicos como a beta2-glicoproteína I, podem ter influência no desenvolvimento do ateroma. Entretanto, o papel destes autoanticorpos na aterogênese é ainda obscuro (37).



Os anticorpos antifosfolípidos (AAF) compreendem um heterogêneo e complexo grupo de autoanticorpos, primordialmente associados à SAF, uma diátese trombótica arterial e venosa típica de adultos jovens (38). Os alvos-chave destes anticorpos são fosfolípidos (FL) da cascata da coagulação e de membranas celulares, principalmente as de plaquetas e células endoteliais (39).

A cardiolipina (CL), embora seja um FL de carga negativa e potencialmente mais antigênico que os FL neutros, não é quantitativamente importante em termos de conteúdo fosfolipídico total da membrana celular (40, 41).

Diferentemente dos outros FL aniônicos de membranas celulares como fosfatidilserina (FS) ou fosfatidilinositol (FI), a CL está particularmente presente na membrana mitocondrial interna (42). Por questões práticas (é obtida com facilidade de coração bovino), a CL foi padronizada como FL em ensaios de fase sólida (9, 38-40).

Digno de nota, FL de carga negativa análogos à CL como FS e FI estão preferencialmente localizados na parte interna da membrana celular, sabidamente bifosfolipídica e proteica (41). FL neutros como fosfatidilcolina (FC) e FE, menos antigênicos, ocupam a parte externa da membrana celular (39, 41).

A ELISA utilizada para detecção de anticorpos aCL IgG e IgM está padronizada desde a realização do primeiro simpósio sobre AAF, em 1987. O estudo original de Gharavi et al evidenciou dados de grande interesse para pacientes com SAF: a) boa correlação entre anticorpos aCL e anticorpos contra outros FL de carga negativa (FS, FI); b) pacientes com SAF geralmente apresentam aCL de mais de um isotipo; c) IgG é o isotipo aCL estatisticamente

mais associado a eventos trombóticos; d) ausência de correlação de títulos IgG-IgM aCL; e) com a exceção dos aCL associados à exposição à fenotiazina, IgM aCL isolada constitui situação rara (40).

De acordo com Subang et al, a interação com beta2-gpl acarreta modificações estruturais na molécula de cardiolipina, possivelmente tornando-a mais antigênica.

Os AAF, marca registrada da SAF, estão associados também a infecções, neoplasias e uso de drogas (43). Ao abranger trombooses arteriais e venosas em sítios variados e também morbidade gestacional (abortos espontâneos, pré-eclâmpsia), a SAF se caracteriza por uma multidisciplinariedade que inclui Reumatologia, Neurologia, Cirurgia Vasculiar e Gineco-Obstetria, entre outras áreas (38, 43).

#### **1.4 - Anticorpos anti-beta2-glicoproteína I:**

A beta2-gpl, proteína plasmática primeiramente descrita em 1961 (44) é, nos dias atuais, assunto de grande interesse nas áreas da coagulação e de AAF. O gen da beta2-gpl humana é codificado no cromossomo 17 (10).

A beta2-gpl, também denominada apolipoproteína H, é uma proteína de ligação fosfolipídica presente no plasma na concentração de 200 microgramas/ml. Possui 5 domínios e 4 sítios de glicosilação, formando uma estrutura



Em virtude de suas propriedades inibitórias sobre a via intrínseca da coagulação, a beta2-gpl pode ser considerada como um anticoagulante natural (48-50).

Anticorpos anti-beta2-gpl aumentam a afinidade da beta2-gpl por FL de carga negativa. Os complexos anticorpo-cofator competem com fatores da coagulação pela ligação com FL. Como decorrência, o fenômeno AL associado à presença de anticorpos anti-beta2-gpl pode ser neutralizado pela adição de FL (51).

Aproximadamente 30% da beta2-gpl plasmática encontra-se na fração lipoprotéica. Ela se liga ao LDL-oxidado, inibindo a captação e a degradação proteolítica do LDL oxidado pelos macrófagos (52). A beta2-gpl aumenta a atividade plasmática da lípase lipoprotéica (53) e contribui para a depuração de triglicerídeos a partir do plasma (54). Por estes mecanismos, a beta2-gpl pode ter propriedades anti-aterogênicas *in vitro*.

Anticorpos anti-beta2-gpl purificados, obtidos de pacientes com SAF, parecem se ligar a células endoteliais e promover síntese de adesinas pelas mesmas. O achado, em última análise, significa que os anticorpos podem causar ativação do endotélio (55).

Na placa aterosclerótica, a beta2-gpl se liga diretamente ao LDL-ox formando o complexo LDL-ox/beta2-gpl que, subseqüentemente, é reconhecido por anticorpos anti-LDL-ox/beta2-gpl. Os complexos LDL-ox/beta2-gpl são estáveis devido a ligações eletrostáticas promovidas pelos ligantes oxLig1 e oxLig2 (56).

O complexo LDL-ox/beta2-gpl é dependente do respectivo anticorpo para que possa ser fagocitado por macrófagos (57). A ligação do anti-LDL-ox/beta2-gpl com macrófagos ocorre através do receptor para porção Fc da IgG. A captação de imunocomplexos contendo LDL-ox através de receptores Fc gama tipo 1 transforma macrófagos em células espumosas e acelera o processo aterosclerótico (56).

De acordo com Afek et al, camundongos deficientes em apolipoproteína E tiveram processo aterosclerótico acelerado após imunização com beta2-gpl. O efeito pró-aterogênico da imunização com beta2-gpl se manteve independente de hipercolesterolemia (58).

Autoanticorpos da classe IgA contra beta2-glicoproteína I foram recentemente detectados como fatores de risco independentes em pacientes com infarto agudo do miocárdio (59), acidente vascular cerebral de origem isquêmica (60, 61), doença arterial periférica de membros inferiores (62) e doença arterial obstrutiva severa de artérias carótidas (63).

Nestes estudos (59, 60, 62, 64), com rara exceção para anticorpos IgA aCL (62), não foram verificadas associações de risco entre os isotipos IgG e IgM anti-beta2-gpl e aCL, e os desfechos envolvidos.

Entretanto, uma eventual associação entre estes autoanticorpos e síndrome metabólica não-complicada ainda não foi abordada na literatura vigente. Neste estudo, analisa-se a frequência de anticorpos aCL e anti-beta2-gpl em pacientes com síndrome metabólica pré-evento vascular e em controles; verifica-se,

também, a possibilidade de que estes autoanticorpos funcionem como fatores de risco independente para síndrome metabólica não-complicada.

### **1.5 - Hipótese operacional:**

Pacientes com síndrome metabólica não apresentam frequência aumentada de teste positivo para anticorpos aCL e anti-beta2-gpl IgG, IgM e IgA em relação a controles; estes autoanticorpos não constituem fator de risco independente para síndrome metabólica não-complicada.

### **1.6 - Hipótese conceitual:**

Pacientes com síndrome metabólica apresentam frequência aumentada de teste positivo para anticorpos aCL e anti-beta2-gpl IgG, IgM e IgA em relação a controles; estes autoanticorpos constituem fator de risco independente para síndrome metabólica não-complicada.

## 1.5 - Referências Bibliográficas:

1. R R. Atherosclerosis – an inflammatory disease. *NEJM*. 1999;340:115-23.
2. Association AH. Heart disease and stroke statistics -- Update. 2004.
3. Steinbrecher UP PS, Leake DS, Witzum JL, Steinberg D. Modification of low-density lipoprotein by endothelial cells involves lipid peroxidation and degradation of low-density lipoprotein phospholipids. *Proc Natl Acad Sci*. 1984;81:3883-87.
4. Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, Khoo JC, Witztum JL. Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med*. 1989 Apr 6;320(14):915-24.
5. Steinberg D. Low density lipoprotein oxidation and its pathobiological significance. *J Biol Chem*. 1997 Aug 22;272(34):20963-6.
6. Heinecke JW. Mechanisms of oxidative damage of low density lipoprotein in human atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol*. 1997 Oct;8(5):268-74.
7. Geng Y-J LP. Progression of Atheroma. A Struggle between death and procreation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:1370-80.
8. Hughes GRV HE, Gharavi AE. The anticardiolipin syndrome. *J Rheumatol*. 1986;13:486-9.
9. Harris EN GA, Boey ML, et al. Anticardiolipin antibodies: detection by radioimmunoassay and association with thrombosis in systemic lupus erythematosus. *Lancet*. 1983(2):1211-4.
10. McNeil HP SR, Chesterman CN, et al. Antiphospholipid antibodies are directed against a complex antigen that includes a lipid-binding inhibitor of coagulation beta2-gpI (apolipoprotein H). *Proc Natl Acad Sci* 1990(87):4120-4.
11. Galli M, Comfurius P, Maassen C, Hemker HC, de Baets MH, van Breda-Vriesman PJ, et al. Anticardiolipin antibodies (ACA) directed not to cardiolipin but to a plasma protein cofactor. *Lancet*. 1990 Jun 30;335(8705):1544-7.
12. Matsuura E, Igarashi Y, Fujimoto M, Ichikawa K, Suzuki T, Sumida T, et al. Heterogeneity of anticardiolipin antibodies defined by the anticardiolipin cofactor. *J Immunol*. 1992 Jun 15;148(12):3885-91.
13. Matsuura E, Igarashi Y, Yasuda T, Triplett DA, Koike T. Anticardiolipin antibodies recognize beta 2-glycoprotein I structure altered by interacting with an oxygen modified solid phase surface. *J Exp Med*. 1994 Feb 1;179(2):457-62.
14. Matsuura E IY, Fujimoto M, Ichikawa K, Koike T. Anticardiolipin cofactor(s) and differential diagnosis of autoimmune disease *Lancet*. 1990;336:177-8.
15. Harats D GJ. Beta2-glycoprotein I and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol*. 2001;12:543-6.
16. Kobayashi K KM, Atsumi T, Bertolaccini ML, Makino H, Sakairi N, et al. Circulating oxidized LDL form complexes with beta2-glycoprotein I: implication as atherogenic autoantigen. *J Lipid Research*. 2003;44:716-26.
17. Steinberg D. Atherogenesis in perspective: hypercholesterolemia and inflammation as partners in crime. *Nat Med* 2002(8):1211-7.
18. Berliner JA HJ. The role of oxidized lipoproteins in atherogenesis *Free Radic Biol Med*. 1996(20):707-27.

19. Yla-Herttuala S PW, Rosenfeld ME, et al. Evidence for presence of oxidatively modified low-density lipoprotein in atherosclerotic lesions of rabbit and man. *J Clin Invest.* 1989;85:1086-95.
20. Vaarala O AG, Jauhiainen M, Leirisalo-Repo M, Aho K, Palosuo T. Crossreaction between antibodies to oxidised low density lipoprotein and to cardiolipin in systemic lupus erythematosus. *Lancet.* 1993;341:923-5.
21. Bechara D SA, Hammad H 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.
22. Despres JPaLL. Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature.* 2006;444(7121):881-7.
23. RM F. *The Pathogenesis of Vascular Disease. Textbook of Angiology.* 1999:787-98.
24. RS R. Assessing risk across the spectrum of patients with metabolic syndrome. *Am J Cardiol.* 2005;96:8E-10E.
25. Mathieu P, Pibarot P, Despres JP. Metabolic syndrome: the danger signal in atherosclerosis. *Vasc Health Risk Manag.* 2006;2(3):285-302.
26. McFarlane SI, Banerji M, Sowers JR. Insulin resistance and cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001 Feb;86(2):713-8.
27. Unoki H, Yamagishi S. Advanced glycation end products and insulin resistance. *Curr Pharm Des.* 2008;14(10):987-9.
28. M. Peppia JU, H. Vlassara. Glucose advanced glycation end products and diabetes complications: what is new and what works. *Clin Diabetes.* (2003);21:186-7.
29. Vlassara H, Cai W, Crandall J, Goldberg T, Oberstein R, Dardaine V, et al. Inflammatory mediators are induced by dietary glycotoxins, a major risk factor for diabetic angiopathy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002 Nov 26;99(24):15596-601.
30. M N. High density lipoprotein associated enzymes: their role in vascular biology. *Curr Opin Lipidol.* 1998;9:449-56.
31. Kahn R, Buse J, Ferrannini E, Stern M. 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 Sep;28(9):2289-304.
32. Juutilainen A, Lehto S, Ronnema T, Pyorala K, Laakso M. Proteinuria and metabolic syndrome as predictors of cardiovascular death in non-diabetic and type 2 diabetic men and women. *Diabetologia.* 2006 Jan;49(1):56-65.
33. 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 Dec 4;288(21):2709-16.
34. Dekker JM, Girman C, Rhodes T, Nijpels G, Stehouwer CD, Bouter LM, et al. Metabolic syndrome and 10-year cardiovascular disease risk in the Hoorn Study. *Circulation.* 2005 Aug 2;112(5):666-73.
35. Wang J, Ruotsalainen S, Moilanen L, Lepisto P, Laakso M, Kuusisto J. The metabolic syndrome predicts cardiovascular mortality: a 13-year follow-up study in elderly non-diabetic Finns. *Eur Heart J.* 2007 Apr;28(7):857-64.
36. St-Pierre J, Lemieux I, Perron P, Brisson D, Santure M, Vohl MC, et al. Relation of the "hypertriglyceridemic waist" phenotype to earlier manifestations of



coronary artery disease in patients with glucose intolerance and type 2 diabetes mellitus. *Am J Cardiol.* 2007 Feb 1;99(3):369-73.

37. Wick G XQ. Atherosclerosis: an autoimmune disease. *Exp Gerontol* 1999; 34:559-66.

38. Harris EN KJ, Dieppe P, editors . . Antiphospholipid syndrome. In: *Rheumatology.* 1998;2nd.ed:1-6.

39. Love PE SA. Antiphospholipid antibodies: anticardiolipin and the lupus anticoagulant in systemic lupus erythematosus (SLE) and in non-SLE disorders. *Ann Intern Med.* 1990;112:682-98.

40. Gharavi AE HE, Asherson RA, et al. Anticardiolipin antibodies: isotype distribution and phospholipid specificity. *Ann Rheum Dis* 1987(46):1-6.

41. Stryer L.. . *Biochemistry.* 1981;2nd.ed.

42. Branch DW RN, Dostal DA, et al. Association of lupus anticoagulant with antibody against phosphatidylserine. *Clin Immunol Immunopathol.* 1987(42):63-75.

43. Conley CL HR. A haemorrhagic disorder caused by circulating anticoagulant in patients with disseminated SLE. *J Clin Invest.* 1952(31):621-2.

44. Steinkasserer A CD, Black DM, et al. Assignment of apolipoprotein H (beta2-gpI) to human chromosome 17q 23-qter determination of the major expression site. *Cytogenet Cell Genet* 1992(60):31-3.

45. Bouma B, de Groot PG, van den Elsen JM, Ravelli RB, Schouten A, Simmelink MJ, et al. Adhesion mechanism of human beta(2)-glycoprotein I to phospholipids based on its crystal structure. *Embo J.* 1999 Oct 1;18(19):5166-74.

46. Schwarzenbacher R, Zeth K, Diederichs K, Gries A, Kostner GM, Laggner P, et al. Crystal structure of human beta2-glycoprotein I: implications for phospholipid binding and the antiphospholipid syndrome. *Embo J.* 1999 Nov 15;18(22):6228-39.

47. Kandiah DA, Krilis SA. Beta 2-glycoprotein I. *Lupus.* 1994 Aug;3(4):207-12.

48. Nimpf J, Bevers EM, Bomans PH, Till U, Wurm H, Kostner GM, et al. Prothrombinase activity of human platelets is inhibited by beta 2-glycoprotein-I. *Biochim Biophys Acta.* 1986 Oct 29;884(1):142-9.

49. Schousboe I, Rasmussen MS. Synchronized inhibition of the phospholipid mediated autoactivation of factor XII in plasma by beta 2-glycoprotein I and anti-beta 2-glycoprotein I. *Thromb Haemost.* 1995 May;73(5):798-804.

50. Nimpf J, Wurm H, Kostner GM. Interaction of beta 2-glycoprotein-I with human blood platelets: influence upon the ADP-induced aggregation. *Thromb Haemost.* 1985 Aug 30;54(2):397-401.

51. Hojnik M G, Ziporen L, et al. Anticardiolipin antibodies in infectious are heterogeneous in their dependency on beta2-gpI: analysis of anticardiolipin antibodies in leprosy. *Lupus.* 1994(3):515-8.

52. Hasunuma Y, Matsuura E, Makita Z, Katahira T, Nishi S, Koike T. Involvement of beta 2-glycoprotein I and anticardiolipin antibodies in oxidatively modified low-density lipoprotein uptake by macrophages. *Clin Exp Immunol.* 1997 Mar;107(3):569-73.

53. Nakaya Y, Schaefer EJ, Brewer HB, Jr. Activation of human post heparin lipoprotein lipase by apolipoprotein H (beta 2-glycoprotein I). *Biochem Biophys Res Commun.* 1980 Aug 14;95(3):1168-72.

54. Wurm H. beta 2-Glycoprotein-I (apolipoprotein H) interactions with phospholipid vesicles. *Int J Biochem.* 1984;16(5):511-5.

55. Del Papa N GL, Spatola L, Bonara P, Borghi MO et al. Relationship between antiphospholipid and anti-endothelial cell antibodies: beta2 mediates binding to endothelial membranes and induces the expression of adhesion molecules. *Clin Exp Rheumatol.* 1995;13:179-85.
56. Matsuura E KK, Koike T, Shoenfeld Y. Autoantibody-mediated atherosclerosis. *Autoimmun Rev.* 2002(1):348-53.
57. Matsuura E, Kobayashi K, Koike T, Shoenfeld Y, Khamashta MA, Hughes GR. Oxidized low-density lipoprotein as a risk factor of thrombosis in antiphospholipid syndrome. *Lupus.* 2003;12(7):550-4.
58. 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 Sep 15;98(11):1108-15.
59. 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 Aug;83(2):141-4; 37-40.
60. Staub HL NG, Crowther T, Cunha VR, Polanczyk A, Bohn JM, Fernandes JG, Chahade W, von Mühlen CA. Antibodies to the atherosclerotic plaque components beta2-glycoprotein and heat shock proteins as risk factors for acute cerebral ischemia. *Arq Neuropsiquiatr.* 2003;61(3-b):757-63.
61. Kahles T, Humpich M, Steinmetz H, Sitzler M, Lindhoff-Last E. Phosphatidylserine IgG and beta-2-glycoprotein I IgA antibodies may be a risk factor for ischaemic stroke. *Rheumatology (Oxford).* 2005 Sep;44(9):1161-5.
62. 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 Jun-Jul;58(3):295-302.
63. MR L. Anticorpos antifosfolípide e antiproteínas de choque térmico na doença obstrutiva severa de artérias carótidas PUCRS. 2006(143g.:tab.).
64. Recuero ML SJ, 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.

## **2 – ARTIGO EM PORTUGUÊS**

# **Autoanticorpos IgA anti-beta2-glicoproteína I e síndrome metabólica**

## ***Autoantibodies IgA anti-beta2-glycoprotein I and metabolic syndrome***

Rodrigo B. Krás Borges, Carlos Alberto von Mühlen, Luis Carlos Bodanese, Giuseppe Repetto, Mario Viehe, Gary L. Norman, Henrique L. Staub.

*Serviços de Reumatologia, Cardiologia e Endocrinologia da Faculdade de Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brasil; Laboratório INOVA, San Diego, Estados Unidos da América.*

*Endereço para correspondência:  
Rodrigo Bohrer Krás Borges  
Serviço de Reumatologia  
Hospital São Lucas da PUCRS  
Av. Ipiranga 6690, sala 220  
CEP 90610-000 – Porto Alegre – Brasil  
e-mail: rkrasb@hotmail.com*

## Resumo

A síndrome metabólica é considerada uma afecção pró-aterogênica. Fenômenos autoimunes, particularmente autoanticorpos contra co-fatores fosfolipídicos como a beta2-glicoproteína I (beta2-gpl), podem ter influência no desenvolvimento do ateroma. Estudos prévios confirmaram uma associação entre IgA anti-beta2-gpl e acidente vascular cerebral isquêmico, infarto agudo do miocárdio, doença arterial periférica e doença carotídea. Este estudo de caso-controle avaliou uma possível associação de anticorpos anti-beta2-gpl e anticardiolipina (aCL) com ocorrência de síndrome metabólica não-complicada. Os casos compreenderam pacientes com síndrome metabólica sem histórico de eventos vasculares; os controles consistiram de pacientes internados em enfermaria ortopédica devido à distúrbios musculoesqueléticos. Idade, sexo, raça, histórico de hipertensão arterial sistêmica (HAS), tabagismo, hipercolesterolemia e diabetes mellitus (DM) foram avaliados como fatores de risco em ambos os grupos. Anticorpos IgG, IgM e IgA anti-beta2-gpl e aCL foram detectados por ensaio imunoenzimático. Para estimar o grau de associação dos anticorpos com síndrome metabólica, foram calculadas razões de chances (*odds ratios*, OR). Regressão logística foi utilizada para ajuste dos fatores de confusão. Sessenta e oito pacientes com síndrome metabólica e 82 indivíduos do grupo-controle foram estudados. O grupo com síndrome metabólica apresentou média de idade superior ao do grupo-controle ( $P = 0,001$ ), enquanto o sexo masculino ( $P = 0.003$ ; OR 0,31; IC95% 1,15-0,16) e a cor branca ( $P = 0.004$ ; OR 0,25; IC95% 0,10-0,60) predominaram nos controles. Histórico de HAS, hipercolesterolemia e DM foram mais prevalentes nos casos do que em controles ( $P < 0.05$ ). Anticorpos IgA anti-beta2-gpl foram significativamente mais frequentes em pacientes com síndrome metabólica do que no grupo-controle ( $P < 0,001$ ). O OR ajustado para anticorpos IgA anti-beta2-gpl foi de 3,6 (IC95% 1,55-8,37;  $P = 0,003$ ). O presente estudo demonstra que níveis elevados de autoanticorpos IgA anti-beta2-gpl podem se constituir em fator de risco independente para síndrome metabólica.

PALAVRAS-CHAVES: anticorpos anti-beta2-gpl, anticorpos anticardiolipina, síndrome metabólica, aterosclerose.

## Abstract

*The metabolic syndrome is considered as a proatherogenic entity. Autoimmune phenomena, particularly autoantibodies to phospholipids cofactors such as beta2-glycoprotein I (beta2-gpl), can influence the atheroma appearance. Previous studies confirmed an association of IgA anti-beta2-gpl antibodies with cerebral ischaemia, myocardial infarction, peripheral artery disease, and carotid disease. This case-control study evaluated a possible association of anti-beta2-gpl and anticardiolipin (aCL) antibodies with the occurrence of non-complicated metabolic syndrome. Cases comprised patients with metabolic syndrome without history of vascular events; controls included individuals of Orthopaedic Infirmary admitted due to musculoskeletal disorders. Age, sex, race, history of hypertension, smoking, hypercholesterolemia and diabetes mellitus were evaluated as risk factors in both groups. IgG, IgM and IgA anti-beta2-gpl and anticardiolipin antibodies were detected by enzymatic immunoassay. To estimate the grade of association of antibodies with metabolic syndrome, odds ratios (OR) were calculated. Logistic regression was utilized for adjustment of confusing factors. Sixty-eight patients with metabolic syndrome and 82 controls were studied. The group of patients with metabolic syndrome showed mean age superior to controls ( $P = 0.001$ ), while males ( $P = 0.003$ ; OR 0.31; 95%CI 0.15-0.16) and the white race ( $P = 0.004$ ; OR 0.25; 95%CI 0.10-0.60) predominated in controls. History of hypertension, hypercholesterolemia and diabetes mellitus were more prevalent in cases than in controls ( $P < 0.05$ ). IgA anti-beta2-gpl antibodies were significantly more frequent in patients with metabolic syndrome than in the control group ( $P < 0.001$ ). The adjusted OR for IgA anti-beta2-gpl antibodies was 3.60 (95%CI 1.55-8.37;  $P = 0.003$ ). The current study shows that elevated levels of IgA autoantibodies to beta2-gpl might constitute an independent risk factor for metabolic syndrome.*

KEY WORDS: anti-beta2-gpl antibodies, metabolic syndrome, atherosclerosis.

## INTRODUÇÃO:

A síndrome metabólica compreende um conjunto de anormalidades que inclui resistência à insulina, dislipidemia e hipertensão arterial sistêmica (HAS); a obesidade visceral é achado característico (1). Identificada primeiramente em 1950, é, nos dias atuais, assunto de grande interesse na comunidade científica (2). É bem estabelecido que a mesma precede o diabetes mellitus (DM) (3) e doenças cardiovasculares (3-7).

Na síndrome metabólica, alterações qualitativas da molécula de LDL predis põem à oxidação. Os baixos níveis de colesterol HDL, que caracteristicamente acompanham a elevação de triglicerídeos, bloqueiam mecanismos antiinflamatórios e ateroprotetores (8). Por sua vez, a glicação acelerada decorrente da hiperglicemia persistente pode deflagrar inflamação na parede arterial (9). O acúmulo de adipócitos gera hipersecreção de fator de necrose tumoral (TNF), um ativador endotelial (8), e diminuição dos níveis de adiponectina, caracterizada como adipocina anti-aterogênica (10). Assim, a síndrome metabólica pode ser considerada como uma condição pró-aterogênica (8-10).

A aterosclerose é reconhecida, nos dias de hoje, como uma afecção imunoinflamatória. A ativação endotelial, evento primário na aterogênese, pode decorrer das alterações típicas da síndrome metabólica ou do efeito do TNF. A célula endotelial ativada se caracteriza pela diminuição da produção de trombomodulina e por um fenótipo permissivo à hipercoagulabilidade (11).

Auto-imunidade e, em particular, anticorpos anticardiolipina (aCL) ou contra cofatores fosfolipídicos como a beta2-glicoproteína I (beta2-gpl), podem ter influência no desenvolvimento do ateroma (12). Anticorpos aCL são classicamente detectados na síndrome antifosfolípida (SAF), diátese trombótica característica do adulto jovem (13). O papel dos anticorpos aCL na etiopatogenia da síndrome metabólica é desconhecido.

A beta2-gpl é um cofator fosfolipídico de 50 quilodaltons, com 5 domínios. Por suas propriedades inibitórias sobre a via intrínseca da coagulação, pode ser considerada um anticoagulante natural (14-16). Os efeitos da beta2-gpl sobre a cascata da coagulação são aparentemente desregulados por anticorpos antifosfolípidos, o que, em pacientes com SAF, resulta em trombogênese (17). Anticorpos anti-beta2-gpl de isotipos IgG e IgM constituem critério laboratorial para SAF em conjunção com anticorpos aCL e anticoagulante lúpico (13, 18).

De interesse, a beta2-gpl pode ser encontrada no ateroma, onde pode ser imunogênica (18). A imunização de ratos deficientes do receptor de LDL com beta2-gpl desencadeia lesões ateroscleróticas (18). A administração oral de beta2-gpl humana em ratos previne a formação do ateroma a partir do bloqueio da resposta celular e da ativação das interleucinas 4 e 10, citocinas anti-aterogênicas (19).

Mais recentemente, reportou-se que o LDL oxidado se acopla a moléculas de beta2-gpl; o complexo não pode ser fagocitado pelo macrófago via receptores “lixeiros”, mas pode ser internalizado via anticorpos que ocupem receptores Fc de superfície celular (20). Níveis elevados de IgG contra o complexo LDL

oxidado/beta2-gpl em pacientes com lupus eritematoso sistêmico e esclerose sistêmica constituem eventual explicação para a aterosclerose precoce vista nestas entidades (21).

Autoanticorpos da classe IgA contra beta2-gpl, de acordo com estudos de nosso grupo, se comportaram como fatores de risco independentes para acidente vascular cerebral de origem isquêmica (22), infarto agudo do miocárdio (23), doença arterial periférica sintomática (24) e doença obstrutiva severa de artérias carótidas (25). Entretanto, uma eventual associação entre estes autoanticorpos e síndrome metabólica “pura” isolada ainda não foi estudada.

O presente estudo verifica a frequência de anticorpos anti-beta2-gpl e aCL em pacientes com síndrome metabólica; avalia, também, a possibilidade de que estes autoanticorpos funcionem como fator de risco independente para ocorrência de síndrome metabólica não-complicada.

## MÉTODOS:

### *População:*

O estudo, de caso-controle de casos incidentes, incluiu indivíduos com síndrome metabólica que atenderam o Ambulatório de Risco Cardiometabólico do Hospital São Lucas da PUCRS, independentemente de sexo ou raça, e mediante consentimento informado próprio ou de parente próximo. Os indivíduos selecionados para o estudo obrigatoriamente eram desprovidos de histórico de eventos vasculares de origem isquêmica. Para diagnóstico de síndrome



metabólica, foram seguidos os critérios clássicos do *National Cholesterol Educational Program (NCEP)*: circunferência abdominal >102 cm se homens ou > 88 cm se mulheres; níveis séricos de triglicerídeos >150 mg/dl; níveis séricos da fração HDL de colesterol < 40 mg/dl se homens ou < 50 mg/dl se mulheres; pressão arterial  $\geq$  130/85 mm-Hg; glicemia de jejum >110 mg/dl; no mínimo 3 destas características deveriam estar presentes (26). Os critérios de exclusão foram: 1) história de infarto agudo do miocárdio, acidente vascular cerebral de origem isquêmica e doença arterial periférica; 2) endocardite infecciosa; 3) neoplasias (vigentes ou no passado); 4) infecção por HIV ou *treponema pallidum*; 5) presença de causas hereditárias conhecidas de trombofilias, como homocistinúria e presença de fator V mutante (*Leiden*); 5) síndrome antifosfolipídica ou doenças do tecido conjuntivo.

O grupo-controle, utilizado em estudos prévios com delineamentos semelhantes, compreendeu indivíduos provenientes do Serviço de Ortopedia do Hospital São Lucas da PUCRS admitidos por fraturas ou outros distúrbios de origem musculoesquelética e que não apresentavam síndrome metabólica. Os critérios de exclusão foram: 1) osteonecrose; 2) neoplasias, infecções vigentes, doenças hereditárias, síndrome antifosfolipídica, ou doenças do tecido conjuntivo; 3) história de infarto agudo do miocárdio, acidente vascular cerebral de origem isquêmica ou oclusão arterial aguda de extremidades.

Dados clínicos e demográficos foram obtidos mediante preenchimento de ficha cadastral durante entrevista com pacientes e seus familiares, sendo consideradas as seguintes características: 1) idade, sexo, raça; 2) história de

hipertensão arterial sistêmica (HAS) (27); 3) tabagismo ativo (28); 4) diabetes mellitus (DM), de acordo com história clínica, ou uso de insulina ou antidiabético oral (29); 5) história de hipercolesterolemia (30).

#### *Amostras:*

Amostras de sangue de veia periférica foram centrifugadas e congeladas até 2 horas após a coleta e subseqüentemente armazenadas à temperatura de – 70 °C para posterior testagem imunoenzimática (ELISA). Foram quantificados anticorpos aCL de isotipos IgG, IgM e IgA (*INOVA Quantalite cardiolipin kits, INOVA diagnostics, Inc., San Diego, USA*) (31) e anticorpos anti-beta2-gpl de classes IgG, IgM e IgA (*INOVA Quantalite beta2-gpl kits, INOVA diagnostics, Inc., San Diego, USA*) (32). As amostras foram avaliadas por espectrofotometria, comparando-se a intensidade de coloração obtida com a cor em tubos controle. Títulos foram considerados positivos quando acima de 20 unidades para todos os isotipos. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital São Lucas da PUCRS.

#### *Análise de Dados:*

Razão de chances (*odds ratios, OR*) com intervalos de confiança de 95% (IC95%) foi utilizada para as análises univariadas. O ajuste de efeitos de sexo, idade, raça e tabagismo ativo sobre os resultados foi efetuado através de regressão logística, obedecendo-se o intervalo de confiança de 95% (IC 95%). A

escala de *Hopkins* para estratificação de OR foi utilizada, considerando-se OR entre 1,0-1,5 como trivial; entre 1,5-3,5 como pequeno; entre 3,5-9,0 como moderado; entre 9-32 como forte; e acima de 32 como muito forte (33). Os testes do qui-quadrado e exato de *Fisher* foram utilizados para comparação de variáveis categóricas, enquanto o teste t de *Student* foi empregado na comparação de variáveis contínuas. Nível de significância de 5% ( $P < 0,05$ ) foi adotado. Para todas as análises, utilizou-se o programa *SPSS* para *Windows*, versão 11.5, *Chicago, IL*.

## RESULTADOS:

Foram arrolados 68 pacientes no grupo em estudo e 82 pacientes no grupo-controle. Pacientes com síndrome metabólica apresentaram média de idade superior a do grupo controle; indivíduos do sexo masculino e caucasóides predominaram no grupo-controle. HAS, hipercolesterolemia e DM foram significativamente mais prevalentes nos pacientes com síndrome metabólica do que nos controles. Tabagismo foi mais frequente no grupo-controle. Estes dados estão sumarizados na Tabela 1.

Tabela 1: Características clínicas e demográficas dos indivíduos com síndrome metabólica e controles.

	Casos (n=68)	Controles (n= 82)	P
Média de idade (DP†)	58,7 ± 9,2	51,1 ± 17	0,001‡
Sexo masculino	14 (20,6%)	37 (45,1%)	0,003*
Raça branca	46 (67,7%)	73 (89%)	0,004*
HAS	65 (95,6%)	22 (26,8%)	<0,001*
Tabagismo	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: número amostral; † DP - Desvio Padrão; ‡ teste *t* de Student; \*teste do qui-quadrado; HAS: hipertensão arterial sistêmica; DM:diabetes mellitus

A tabela 2 categoriza casos e controles de acordo com níveis de anticorpos aCL e anti-beta2 gpl. A frequência de anticorpos aCL e de IgG e IgM anti-beta2-gpl não diferiu estatisticamente entre os grupos. Pacientes com síndrome metabólica apresentaram teste positivo para IgA anti-beta2-gpl com frequência significativamente maior do que os indivíduos do grupo-controle.

Tabela 2. Frequência de anticorpos aCL e anti-beta2-gpl em casos e controles.

	Casos (n= 68)	Controles (n=82)	OR (IC 95%)*	P**
aCL IgG positivos	3 (4,4%)	1 (1,2%)	3,73 (0,38-36,79)	0,32
aCL IgM positivos	0	3 (3,7%)	1,86 (1,60-2,16)	0,25
aCL IgA positivos	0	0	NC	NC
Anti-beta2-gpl IgG positivos	2 (2,4%)	4 (4,9%)	0,59 (0,10-3,32)	0,68
Anti-beta2-gpl IgM positivos	12 (14,6%)	8 (9,8%)	0,89 (0,29-2,71)	0,34
Anti-beta2-gpl IgA positivos	30 (42,2%)	9 (10,9%)	3,84 (1,75-8,39)	<0,001

n:número amostral; \*odds ratios com intervalo de confiança de 95% não ajustados para fatores de risco; \*\*teste do qui-quadrado; NC: não-calculado

Os OR ajustados para sexo, idade, raça e tabagismo para os diferentes isotipos aCL e anti-beta2-gpl são apresentados na tabela 3. A presença de IgA anti-beta2-gpl, mas não dos outros autoanticorpos, constituiu fator de risco independente para ocorrência de síndrome metabólica, com nível de significância estatística satisfatório.

Tabela 3: OR ajustados para fatores de risco para os diferentes isotipos aCL e anti-beta2-gpl.

	OR*	IC 95%**	P***
aCL IgG	3,79	0,35-41,21	0,273
aCL IgM	NC	NC	NC
aCL IgA	NC	NC	NC
Anti-beta2-gpl IgG	0,62	0,10-3,99	0,618
Anti-beta2-gpl IgM	0,90	0,28-2,93	0,864
Anti-beta2-gpl IgA	3,60	1,55-8,37	0,003

\*odds ratios ajustados para sexo, idade, raça e tabagismo; \*\*intervalos de confiança de 95%; \*\*\*teste do qui-quadrado.

## DISCUSSÃO:

O estudo avalia pela primeira vez a frequência de anticorpos aCL e anti-beta2-gpl em pacientes com síndrome metabólica não-complicada. O delineamento de caso-controle com análise multivariada permitiu verificar se a presença dos anticorpos se associou ao desfecho independentemente de outros fatores de risco para doença aterosclerótica.

Os casos foram selecionados de um ambulatório de centro terciário voltado para risco cardiometabólico. Pacientes com síndrome metabólica tiveram média de idade superior a dos controles, enquanto o sexo masculino e a raça branca predominaram no grupo-controle; de importância, estas diferenças foram corrigidas na regressão logística.

Fatores de risco para aterosclerose, com exceção de histórico de eventos cardiovasculares, foram avaliados em ambas as populações. Algumas destas variáveis (HAS, DM) constituem parte dos critérios para síndrome metabólica e, de maneira previsível, foram mais frequentes nos casos do que nos indivíduos do grupo-controle. O hábito tabágico foi mais prevalente no grupo-controle.

As estimativas brutas de frequência dos anticorpos evidenciaram que somente o isotipo IgA anti-beta2-gpl diferiu estatisticamente entre os dois grupos, sendo mais prevalente nos indivíduos com síndrome metabólica. Após ajuste para sexo, idade, raça e tabagismo, o OR obtido (3,60) foi indicativo de associação independente entre IgA anti-beta2-gpl e síndrome metabólica, com significância estatística convincente ( $P = 0.003$ ).

Uma eventual associação entre IgG aCL e síndrome metabólica (OR ajustado 3,79) não foi confirmada estatisticamente ( $P = 0,273$ ). Um papel protetor para síndrome metabólica cabível ao isotipo IgG anti-beta2-gpl (OR ajustado 0,62) também não foi confirmado em termos estatísticos ( $P = 0,618$ ). Enfatizamos que HAS, hipercolesterolemia e DM não foram utilizados no ajuste de fatores de confusão, pois compõem critérios diagnósticos para síndrome metabólica (26).

O significado da associação entre IgA anti-beta2-gpl e presença de síndrome metabólica é ainda desconhecido. Nosso grupo documentou, em anos recentes, uma associação independente do isotipo IgA anti-beta2-gpl com doença aterosclerótica em diferentes grupos de indivíduos. Tanto pacientes com isquemia cerebral (22) ou coronária (23) agudas, como aqueles com doença arterial periférica (24) ou carotídea (25) crônicas, uniformemente apresentaram esta

associação. Mais recentemente, uma positividade relevante para IgA anti-beta2-gpl, assim como para IgG anti-fosfatidilserina, foram descritas por outro grupo de autores em pacientes com acidente vascular cerebral isquêmico (34).

Os dados do corrente estudo em síndrome metabólica, não previamente descritos, sugerem que estes autoanticorpos possam estar circulantes antes de qualquer evento isquêmico. As implicações clínico-epidemiológicas deste achado devem ser esclarecidas no futuro, preferencialmente em estudos de coorte.

A testagem para anticorpos aCL, com raras exceções (24), resultou negativa em grupos de pacientes com aterosclerose sintomática (22, 23, 25, 34), e também no estudo corrente. Desta forma, os dados publicados até o momento não indicam um papel relevante para anticorpos aCL em pacientes com doença aterosclerótica estabelecida (22, 23, 25, 34) ou síndrome metabólica.

A fina especificidade dos anticorpos anti-beta2-gpl em pacientes com aterosclerose ou SAF parece diferir (35). Ainda em 1998, reportou-se que anticorpos anti-beta2-gpl de pacientes com SAF se acoplam ao domínio 1 da molécula (36).

Em anos mais recentes, demonstrou-se, interessante, que anticorpos IgA de pacientes com aterosclerose reconhecem especificamente o domínio 4 da molécula de beta2-gpl (37). Desta forma, admite-se um subgrupo distinto de anticorpos anti-beta2-gpl em pacientes com doença aterosclerótica. Em relação aos dados de nosso estudo, todos os pacientes com síndrome metabólica positivos para IgA anti-beta2-gpl exibiram positividade para o domínio 4 da



molécula em ensaio imunoenzimático paralelo (dados não apresentados, uma vez que esta testagem não foi procedida no grupo-controle).

Sabidamente, o LDL oxidado se acopla à beta2-gpl plasmática através dos ligantes ox-Lig1 e ox-Lig2. O complexo formado, potencialmente antigênico, pode ser encontrado no ateroma (20). Uma vez alvo de anticorpos IgG, o complexo LDL oxidado/beta2-gpl pode ser internalizado para o macrófago via ocupação de receptores Fc para IgG (38).

Uma alternativa para esta hipótese consiste em admitir que anticorpos de classe IgA anti-beta2-gpl (que possivelmente se acoplam ao complexo LDL oxidado/beta2-gpl) desempenhem também a função de ocupação de receptores de superfície no macrófago. De fato, receptores Fc para IgA podem ser encontrados na superfície macrofágica (39). A internalização do complexo para o citoplasma geraria o conhecido fenótipo das células espumosas.

Nossos dados em pacientes com doença aterosclerótica (22-25), bem como os correntes resultados em pacientes com síndrome metabólica, apontam para uma convincente reprodutibilidade no comportamento biológico da IgA anti-beta2-gpl. As razões pelas quais o isotipo IgA está envolvido nesta resposta imunológica ainda não são bem definidas, mas infecção crônica pode ser ao menos postulada. De interesse, mímica molecular de produtos virais e bacterianos com a molécula de beta2-gpl foi reportada (40).

Em resumo, anticorpos IgA anti-beta2-gpl foram mais freqüentes em pacientes com síndrome metabólica do que em controles. A associação deste anticorpo ocorreu independentemente de outros fatores de risco para doença

aterosclerótica, com significância estatística satisfatória. Esta associação, previamente demonstrada em pacientes com doença aterosclerótica estabelecida, é pela primeira vez descrita em pacientes com síndrome metabólica não-complicada. As implicações patogênicas e clínicas deste achado devem ser detalhadas em estudos vindouros.

#### REFERÊNCIAS:

1. Despres JPaLL. Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature*. 2006;444(7121):881-7.
2. Kahn R, Buse J, Ferrannini E, Stern M. 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 Sep;28(9):2289-304.
3. Juutilainen A, Lehto S, Ronnema T, Pyorala K, Laakso M. Proteinuria and metabolic syndrome as predictors of cardiovascular death in non-diabetic and type 2 diabetic men and women. *Diabetologia*. 2006 Jan;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 Dec 4;288(21):2709-16.
5. Dekker JM, Girman C, Rhodes T, Nijpels G, Stehouwer CD, Bouter LM, et al. Metabolic syndrome and 10-year cardiovascular disease risk in the Hoorn Study. *Circulation*. 2005 Aug 2;112(5):666-73.
6. Wang J, Ruotsalainen S, Moilanen L, Lepisto P, Laakso M, Kuusisto J. The metabolic syndrome predicts cardiovascular mortality: a 13-year follow-up study in elderly non-diabetic Finns. *Eur Heart J*. 2007 Apr;28(7):857-64.
7. St-Pierre J, Lemieux I, Perron P, Brisson D, Santure M, Vohl MC, et al. Relation of the "hypertriglyceridemic waist" phenotype to earlier manifestations of coronary artery disease in patients with glucose intolerance and type 2 diabetes mellitus. *Am J Cardiol*. 2007 Feb 1;99(3):369-73.
8. M N. High density lipoprotein associated enzymes: their role in vascular biology. *Curr Opin Lipidol*. 1998;9:449-56.
9. 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 Mar 19;84(5):489-97.

10. Y. M. The metabolic syndrome and adipocytokines. *FEBS Lett.* 2006;580:2917-21.
11. Bechard D SA, Hammad H 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.
12. Wick G XQ. Atherosclerosis: an autoimmune disease. *Exp Gerontol* 1999; 34:559-66.
13. Miyakis S LM, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, et al. Feb;4(2):. . International consensus statement on an update of the classification criteria for definite APS. *J Thromb Haemost.* 2006;4(2):295-306.
14. Nimpf J, Bevers EM, Bomans PH, Till U, Wurm H, Kostner GM, et al. Prothrombinase activity of human platelets is inhibited by beta 2-glycoprotein-I. *Biochim Biophys Acta.* 1986 Oct 29;884(1):142-9.
15. Schousboe I, Rasmussen MS. Synchronized inhibition of the phospholipid mediated autoactivation of factor XII in plasma by beta 2-glycoprotein I and anti-beta 2-glycoprotein I. *Thromb Haemost.* 1995 May;73(5):798-804.
16. Nimpf J, Wurm H, Kostner GM. Interaction of beta 2-glycoprotein-I with human blood platelets: influence upon the ADP-induced aggregation. *Thromb Haemost.* 1985 Aug 30;54(2):397-401.
17. Kandiah DA, Krilis SA. Beta 2-glycoprotein I. *Lupus.* 1994 Aug;3(4):207-12.
18. 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 Sep 15;98(11):1108-15.
19. Harats D GJ. Beta2-glycoprotein I and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol.* 2001;12:543-6.
20. Kobayashi K KM, Atsumi T, Bertolaccini ML, Makino H, Sakairi N, et al. Circulating oxidized LDL form complexes with beta2-glycoprotein I: implication as atherogenic autoantigen. *J Lipid Research.* 2003;44:716-26.
21. Lopez LR SD, Hurley BL, Matsuura E. OxLDL/beta2GPI complexes and autoantibodies in patients with systemic lupus erythematosus, systemic sclerosis, and antiphospholipid syndrome: pathogenic implications for vascular involvement. *Ann N Y Acad Sci.* 2005(1051):313-22.
22. Staub HL NG, Crowther T, Cunha VR, Polanczyk A, Bohn JM, Fernandes JG, Chahade W, von Mühlen CA. Antibodies to the atherosclerotic plaque components beta2-glycoprotein and heat shock proteins as risk factors for acute cerebral ischemia. *Arq Neuropsiquiatr.* 2003;61(3-b):757-63.
23. 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 Aug;83(2):141-4; 37-40.
24. 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 Jun-Jul;58(3):295-302.
25. Recuero ML SJ, 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.
26. III NA. National cholesterol educational program (NCEP), Adult treatment panel (ATP) III 2001.

27. 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 May 21;289(19):2560-72.
28. Filozof C FPM, Fernández-Cruz A. Smoking cessation and weight gain. *Obes Rev*. 2004;5:95-103.
29. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome. An American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. Executive summary. *Cardiol Rev*. 2005 Nov-Dec;13(6):322-7.
30. Donahue RP AR, 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):683-5.
31. Gharavi AE HE, Asherson RA, et al. Anticardiolipin antibodies: isotype distribution and phospholipid specificity. *Ann Rheum Dis* 1987(46):1-6.
32. Lewis S KL, Binder WL, et al. Standardized measurement of major immunoglobulin class (IgG, IgA, IgM) antibodies to beta2-gpI in patients with antiphospholipid syndrome. *J Clin Lab Analysis*. 1998;12:293-7.
33. WG H. A new view of statistics. On line. <http://www.sportsci.org/resource/stats/index>. 2002 Captured April 11, .
34. 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 Sep;44(9):1161-5.
35. Arvieux J RV, Hachulla E, et al. Heterogeneity and immunochemical properties of anti-beta2-gpI autoantibodies. *Thromb Haemost*. 1998;80:393-8.
36. Iverson GM. VEJ, Marquis DM. Anti-beta2 glycoprotein I (beta2GPI) autoantibodies recognize an epitope on the first domain of beta2GPI. *ProcNatlAcadSci USA*. 1998(95):15542-6.
37. Iverson GM vMC, 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;27:266-71.
38. Matsuura E KK, Koike T, Shoenfeld Y. Autoantibody-mediated atherosclerosis. *Autoimmun Rev*. 2002(1):348-53.
39. L. S. Receptors for IgA in phagocytic cells. *Immuno Res*. 1992(11):273-82.
40. Blank M SY. Beta2-glycoprotein I, infections, antiphospholipid syndrome and therapeutic considerations. *Clin Immunol*. 2004;112:190-9.

### **3 – ARTIGO EM INGLÊS:**

# **Autoantibodies IgA anti-beta2-glycoprotein I and metabolic syndrome**

Rodrigo B. Krás Borges, Carlos Alberto von Mühlen, Luis Carlos Bodanese, Giuseppe Repetto, Mario Viehe, Gary L. Norman, Henrique L. Staub.

*Rheumatology, Cardiology e Endocrinology Departments; Medicine University from Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brazil; INOVA Laboratory, San Diego, United States of America.*

*Correspondence:*

*Rodrigo Bohrer Krás Borges*

*Rheumatology Service*

*São Lucas Hospital, PUCRS*

*Av. Ipiranga 6690, sala 220*

*CEP 90610-000 – Porto Alegre – Brasil*

*E-mail: [rkrasb@hotmail.com](mailto:rkrasb@hotmail.com)*

## Abstract

The metabolic syndrome is considered as a proatherogenic entity. Autoimmune phenomena, particularly autoantibodies to phospholipids cofactors such as beta2-glycoprotein I (beta2-gpl), can influence the atheroma appearance. Previous studies confirmed an association of IgA anti-beta2-gpl antibodies with cerebral ischaemia, myocardial infarction, peripheral artery disease, and carotid disease. This case-control study evaluated a possible association of anti-beta2-gpl and anticardiolipin (aCL) antibodies with the occurrence of non-complicated metabolic syndrome. Cases comprised patients with metabolic syndrome without history of vascular events; controls included individuals of Orthopaedic Infirmary admitted due to musculoskeletal disorders. Age, sex, race, history of hypertension, smoking, hypercholesterolemia and diabetes mellitus were evaluated as risk factors in both groups. IgG, IgM and IgA anti-beta2-gpl and anticardiolipin antibodies were detected by enzymatic immunoassay. To estimate the grade of association of antibodies with metabolic syndrome, odds ratios (OR) were calculated. Logistic regression was utilized for adjustment of confusing factors. Sixty-eight patients with metabolic syndrome and 82 controls were studied. The group of patients with metabolic syndrome showed mean age superior to controls ( $P = 0.001$ ), while males ( $P = 0.003$ ; OR 0.31; 95%CI 0.15-0.16) and the white race ( $P = 0.004$ ; OR 0.25; 95%CI 0.10-0.60) predominated in controls. History of hypertension, hypercholesterolemia and diabetes mellitus were more prevalent in cases than in controls ( $P < 0.05$ ). IgA anti-beta2-gpl antibodies were significantly more frequent in patients with metabolic syndrome than in the control group ( $P < 0.001$ ). The adjusted OR for IgA anti-beta2-gpl antibodies was 3.60 (95%CI 1.55-8.37;  $P = 0.003$ ). The current study shows that elevated levels of IgA autoantibodies to beta2-gpl might constitute an independent risk factor for metabolic syndrome.

KEY WORDS: anti-beta2-gpl antibodies, metabolic syndrome, atherosclerosis.

## INTRODUCTION

The metabolic syndrome (MS) is a cluster of metabolic abnormalities, including insulin resistance, dyslipidemia, and systemic hypertension, in which visceral obesity is prominent (1). First identified in late 1950, this syndrome is considered today a source of great interest in scientific community (2). It is well accepted that this syndrome has the ability to predict diabetes (3) and cardiovascular diseases (3-7).

In metabolic syndrome, LDL particles may have qualitative changes, making them particularly prone to oxidation. The low levels of HDL cholesterol that characteristically accompany the elevated triglycerides in MS blunt another endogenous anti-inflammatory, and hence atheroprotective, mechanism (8). Persistent hyperglycaemia in diabetes can accelerate the formation of advanced glycation end products, yet another trigger to arterial inflammation (9). The adipocyte accumulation promotes tumoral necrosis factor (TNF) and endothelial activator hypersecretion (8), and reduction in levels of adiponectin, an anti-atherogenic adipocin (10). Therefore, MS can be considered a pro-atherogenic condition (8-10).

Atherosclerosis is considered actually an immunoinflammatory condition. The endothelial activation, a primary event in atherogenesis, can be a consequence of typical metabolic syndrome manifestations or TNF effect. The activated endothelial cell is characterized by low thrombomodulin production and a permissive phenotype to hypercoagulability (11).

Autoimmunity, in particular antibodies against cardiolipin or phospholipid co-factors like beta2-glycoprotein I (beta2-gpl), can have influence in atheroma's development (12). aCL antibodies are classically detected in antiphospholipid syndrome (APS), a characteristic thrombotic diathesis of young adult (13). The etiopathogenic role of aCL antibodies in metabolic syndrome is unknown.

Beta2-glycoprotein is a phospholipid co-factor with 50 kilodalton and 5 domains. Because negatively charged molecules trigger the intrinsic coagulation pathway, beta2-GPI was proposed to be a natural anticoagulant (14-16). The



beta2-GPI effects in coagulation pathways are apparently disregulated by antiphospholipid antibodies, and, in antiphospholipid syndrome, this results in thrombogenesis (17). IgG and IgM anti-beta2-gpl antibodies are laboratory criteria for APS beyond aCL antibodies and lupic anticoagulant (13, 18).

The beta2-gpl is found in atherosclerotic plaque and can be immunogenic (18). The induction of atherosclerosis in receptor-LDL deficient mice immunized with beta2-gpl has been reported (18). The oral administration of human beta2-gpl in mices prevent atheroma formation from the blockade of celular response and the activation of interleukines 4 and 10, anti-atherogenic citokines (19).

Recently, was reported that oxidized LDL binds to beta2-gpl molecules; this complex cannot be fagocyted by macrofages, but can be internalized by way of antibodies situated in Fc receptors of celular surface (20). Elevated levels of IgG against beta2-gpl/oxidized LDL complex in patients with systemic lupus erythematosus and systemic sclerosis are a possible explanation to early atheromatosis in this conditions (21).

IgA autoantibodies against beta2-gpl, according to previous studies from our group, behaved as independent risk factors for ischemic cerebral vascular accident (22), acute myocardial infarction (23), symptomatic peripheral artery disease (24) and severe carotid obstructive disease (25). However, a possible association between this autoantibodies and non-complicated metabolic MS was not studied until then.

This study verify the frequency of anti-beta2-gpl and aCL in patients with metabolic syndrome; assesses, also, the possibility that this autoantibodies group works as an independent risk factor for non-complicated metabolic syndrome.

## METHODS

### *Subjects:*

This case-control study with incident cases included patients with MS from outpatient department of Cardiometabolic Risk from São Lucas Hospital, not selected by sex or race, through patient or proxy informed consent. The people selected for this study cannot have any history of ischemic vascular events. The diagnosis of MS was based in classic criteria from National Cholesterol Educational Program (NCEP): abdominal circumference >102 cm for men or >88 cm for women; triglycerides serum levels >150 mg/dL; blood pressure  $\geq$  130/85 mm-Hg; fasting glucose >110 mg/dl; at least 3 criteria should be present for the diagnosis (26). The exclusion criteria were as follows: 1) history of acute myocardial infarction, ischemic stroke or peripheral artery disease; 2) infective endocarditis; 3) neoplasms (current or past); 4) infection by human immunodeficiency virus or *treponema pallidum*; 5) presence of known heritable causes thrombosis such, as homocystinuria or factor V (Leiden) mutation; 5) antiphospholipid syndrome or another connective tissue disorder (CTD).

The control group, previously utilized in other similar trials, comprised patients admitted to orthopedic wards due to fractures or muscle-ligament disorders and without previous diagnosis of MS. The exclusion criteria were as follows: 1) osteonecrosis; 2) current infections, neoplasias, hereditary disorders, antiphospholipid syndrome, or CTD; 3) history of acute myocardial infarction, ischemic stroke or acute arterial occlusion from lower limbs.

Clinical and demographic data were obtained from a chart review and interview with patients and family after informed consent, being considered the following features: 1) age, sex, race/ethnicity; 2) history of high blood pressure (27); 3) current cigarette smoking (28); 4) diabetes mellitus (DM), according to clinic history or current treatment with insulin and/or oral antidiabetic oral medication (29); 5) history of hipercholesterolemia (30).

#### *Specimens:*

Serum specimens were centrifuged and frozen within 2 hours of collection and, subsequently, stored at – 70 °C until the laboratory testing with ELISA (enzyme-linked immunoabsorbant assays). The IgG, IgM e IgA anti-beta2 antibodies (*INOVA Quantalite beta2-gpl kits, INOVA diagnostics, Inc., San Diego, USA*) (31) and IgG, IgM e IgA anticardiolipin (*INOVA Quantalite cardiolipin kits, INOVA diagnostics, Inc., San Diego, USA*) (32) were performed. The assay was evaluated by spectrophotometrically measuring and comparing the colour intensity that developed in the patient wells with the colour in the control wells. Titers were

considered positive when above 20 units for all isotypes. The study was approved by the PUCRS ethics committee.

#### *Data Analysis:*

Odds ratios (OR) with 95% confidence intervals (95% IC) were used for univariate analysis. Logistic regression with 95% CI was performed to adjustment of the effects of age, sex, race and current smoking. The Hopkins scale for OR was utilized, whereby an OR 1-1,5 was considered as trivial; between 1,5-3,5 as small; between 3,5-9,0 as moderate; between 9,0-32 as strong; and above 32 as very strong (33). Fisher's exact test and Chi-square analysis were used for comparison of categorical variables, and the Student's t test was used for comparison of continuous variables. A level of 5% ( $p < 0,05$ ) was considered significant. All analyses used procedures of the SPSS for Windows, version 11.5, Chicago, IL.

#### RESULTS:

There were enrolled 68 patients in study group and 82 patients in controls. Patients with MS were more likely to be older, while males and caucasoids predominated in control group. Hypertension, hypercholesterolemia and DM were significantly more prevalent in metabolic syndrome group than in controls.

Cigarette smoking was more prevalent in control group. The demographic and clinical characteristics of cases and controls are shown in table 1.

*Table 1: Clinical and demographic characteristics of patients with metabolic syndrome and controls.*

	Cases (n=68)	Controls (n= 82)	P
Mean age, years (DP†)	58,7 ± 9,2	51,1 ± 17	0,001‡
Males	14 (20,6%)	37 (45,1%)	0,003*
White race	46 (67,7%)	73 (89%)	0,004*
Hypertension	65 (95,6%)	22 (26,8%)	<0,001*
Current smoking	7 (10,3%)	28 (34,1%)	0,001*
Hipercholesterolemia	55 (80,9%)	16 (19,5%)	<0,001*
DM	42 (61,8%%)	5 (6,1%)	<0,001*

n: sample number; ‡: odds ratios 95% with confidence interval; †: DP – standard deviation ; ‡ Student's t test; \* Chi-square test; DM:diabetes mellitus

The table 2 categorizes cases and controls according to aCL and anti-beta2 gpl antibodies. The frequency of IgG and IgM anti-beta2 gpl and anticardiolipin antibodies did not significantly differ in cases and controls, as well as all aCL isotypes. Patients with MS had a positive IgA anti-beta2-gpl test with significantly higher frequency than in control group.

Table 2. Anti-beta2-gpl e aCL antibodies frequency for cases and controls.

	Cases (n= 68)	Controls (n=82)	OR (CI 95%)*	P**
Positive IgG aCL	3 (4,4%)	1 (1,2%)	3,73 (0,38-36,79)	0,32
Positive IgM aCL	0	3 (3,7%)	1,86 (1,60-2,16)	0,25
Positive IgA aCL	0	0	NC	NC
Positive IgG Anti-beta2-gpl	2 (2,4%)	4 (4,9%)	0,59 (0,10-3,32)	0,68
Positive IgM Anti-beta2-gpl	12 (14,6%)	8 (9,8%)	0,89 (0,29-2,71)	0,34
Positive IgA Anti-beta2-gpl	30 (42,2%)	9 (10,9%)	3,84 (1,75-8,39)	<0,001

n:sample number; \*odds ratio with 95% confidence interval non-adjusted for risk factors; \*\*Chi-square test; NC: not calculated

The OR for aCL and anti-beta2-gpl antibodies adjusted for risk factors (age, sex, race, history of hypertension, current smoking, hypercholesterolemia and DM) are seen in table 3. A positive test for IgG anti-beta2-gpl worked as protection factor for metabolic syndrome. The IgA anti-beta2-gpl presence, but not another autoantibodies, was an independent risk factor for MS development, with satisfactory level of statistic significance.

Table 3: OR for different aCL and anti-beta2-gpl isotypes adjusted for risk factors

	OR*	CI 95%**	P***
IgG aCL	3,79	0,35-41,21	0,273
IgM aCL	NC	NC	NC
IgA aCL IgA	NC	NC	NC
IgG anti-beta2-gpl	0,62	0,10-3,99	0,618
IgM anti-beta2-gpl	0,90	0,28-2,93	0,864
IgA anti-beta2-gpl	3,60	1,55-8,37	0,003

Data adjusted to age, sex, race and smoking; \*odds ratio adjusted for risk factors; \*\*95% confidence intervals; \*\*\*chi-square test; NC: not calculated

## DISCUSSION:

The study evaluates, in first time, the frequency of antibodies anti-beta2-gpl and aCL in patients with non-complicated metabolic syndrome. The case-control design with multivariate analysis allowed to check if the presence of this antibodies was associated with the outcome independently from another risk factors for atherosclerotic disease. The cases were selected from a tertiary centre clinic towards to cardiometabolic risc. Patients with metabolic syndrome had mean age higher than control group, while males and white race predominated in control group; of relevance, this differences were corrected by logistic regression.

Atheromatosis risk factors, except for cardiovascular events history, were evaluated in both population. Some variables (hypertension, DM) are criteria for

MS, and, by predictable way, were more frequent in cases than controls. Smoking was more prevalent in control group.

The non-adjusted antibodies frequency showed that only IgA anti-beta2-gpl was different between the groups, being more elevated in patients with metabolic syndrome. After the adjust for sex, age, race and smoking, the OR (3,60) was indicative of independent association between metabolic syndrome and IgA anti-beta2-gpl, with convincing statistic significance ( $P=0,003$ ).

A possible association between IgG aCL and metabolic syndrome (adjusted OR 3,79) was not statistically confirmed ( $P=0,273$ ). A IgG anti-beta2-gpl protector role for metabolic syndrome (adjusted OR 0,62) was not confirmed too in statistics terms ( $P=0,618$ ). We emphasized that hypertension, hipercholesterolemia and DM was not used in confusion factors adjustment because they are diagnostic criteria for metabolic syndrome (26).

The meaning of the IgA anti-beta2-gpl and metabolic syndrome association is unknown. In recent years, our group documented an independent association with this isotype IgA and atherosclerotic disease in different populations. Patients with cerebral (22) and coronary ischemia (23), such as those with chronic periferal (24) or carotid artery disease (25), showed uniformly this association. Recently, a relevant positivity for IgA anti-beta2-gpl, such as for IgG anti-phosphatidilserine, were related by another author's group in patients with ischemic cerebral vascular accident (34)

The results of this study in metabolic syndrome, not previously described, suggested that this autoantibodies could be present in circulation before any



ischemic event. The clinic and epidemiological implications of this results should be clarified in the future, preferably by cohort studies.

The aCL antibodies tests, with rare exceptions (24), was negative in this studies and in current study too (22, 23, 25, 34). By this way, the published data since this moment not show a relevant role for aCL antibodies in patients with atherosclerotic disease or metabolic syndrome (22, 23, 25, 34).

The aCL testing, with rare exceptions, was negative in patient groups with syntomatic atherosclerosis (22, 23, 25, 34) and at this current study. By this way, the published data until this moment not indicate a relevant role of aCL in patients with established atherosclerosis (22, 23, 25, 34) or in metabolic syndrome.

The fine specificity of anti-beta2-gpl antibodies in patients with atherosclerosis or antiphospholipid syndrome seems, in fact, differ (35). In 1998, was reported that anti-beta2-gpl antibodies target domain 1 of the molecule (36).

In recent years, it was shown, interestingly, that IgA antibodies from patients with atherosclerosis recongnize specifically domain 4 on beta2-gpl molecule (37). By this way, there is a distinct subgroup of anti-beta2-gpl antibodies in patients with atherosclerotic disease. With respect to our study, all positive anti-beta2-gpl IgA patients with metabolic syndrome showed domain 4 molecule positivity by ELISA (data not presented in results since control group was not tested).

It is known that oxidized LDL binds to plasmatic beta2-gpl through ox-Lig1 and ox-Lig2 ligands. The complex formed, with antigenic potential, can be found in

atheroma (20). As IgG target, the oxidized LDL/beta2-gpl complex can be internalized to macrophage by Fc receptors for IgG occupation (38).

An alternative to this hypothesis is to accept that IgA anti-beta2-gpl antibodies (that possibly bind to oxidized LDL/beta2-gpl complex) play also this function of macrophage surface receptor occupation. In fact, Fc receptors for IgA can be found on macrophage surface (39). The complex internalization for cytoplasm could cause the known foamy cell phenotype.

Our data in patients with atherosclerotic disease (22-25), as well as in patients with MS, suggest a convincing IgA anti-beta2-gpl reproducibility in biological behavior. The reason why IgA isotype is involved in this immunologic response is not well defined, but chronic infection can at least be postulate. Of interest, molecular mime of viral and bacterial products with beta2-gpl molecule was reported (40).

In summary, IgA anti-beta2-gpl antibodies were more frequent in patients with MS than in controls. This antibody association occurred independently of other risk factors for atherosclerotic disease, with satisfactory statistic significance. This association, previously identified in patients with established atherosclerotic disease, is for the first time described in patients with non-complicated MS. The clinic and pathogenic implications of this feature should be detailed in future trials.

## REFERENCES

1. Despres JPaLL. Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature*. 2006;444(7121):881-7.
2. Kahn R, Buse J, Ferrannini E, Stern M. 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 Sep;28(9):2289-304.
3. Juutilainen A, Lehto S, Ronnema T, Pyorala K, Laakso M. Proteinuria and metabolic syndrome as predictors of cardiovascular death in non-diabetic and type 2 diabetic men and women. *Diabetologia*. 2006 Jan;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 Dec 4;288(21):2709-16.
5. Dekker JM, Girman C, Rhodes T, Nijpels G, Stehouwer CD, Bouter LM, et al. Metabolic syndrome and 10-year cardiovascular disease risk in the Hoorn Study. *Circulation*. 2005 Aug 2;112(5):666-73.
6. Wang J, Ruotsalainen S, Moilanen L, Lepisto P, Laakso M, Kuusisto J. The metabolic syndrome predicts cardiovascular mortality: a 13-year follow-up study in elderly non-diabetic Finns. *Eur Heart J*. 2007 Apr;28(7):857-64.
7. St-Pierre J, Lemieux I, Perron P, Brisson D, Santure M, Vohl MC, et al. Relation of the "hypertriglyceridemic waist" phenotype to earlier manifestations of coronary artery disease in patients with glucose intolerance and type 2 diabetes mellitus. *Am J Cardiol*. 2007 Feb 1;99(3):369-73.
8. M N. High density lipoprotein associated enzymes: their role in vascular biology. *Curr Opin Lipidol*. 1998;9:449-56.
9. 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 Mar 19;84(5):489-97.
10. Y. M. The metabolic syndrome and adipocytokines. *FEBS Lett*. 2006;580:2917-21.
11. Bechar D SA, Hammad H 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.
12. Wick G XQ. Atherosclerosis: an autoimmune disease. *Exp Gerontol* 1999; 34:559-66.
13. Miyakis S LM, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, et al.. Feb;4(2):. . International consensus statement on an update of the classification criteria for definite APS. *J Thromb Haemost*. 2006;4(2):295-306.
14. Nimpf J, Bevers EM, Bomans PH, Till U, Wurm H, Kostner GM, et al. Prothrombinase activity of human platelets is inhibited by beta 2-glycoprotein-I. *Biochim Biophys Acta*. 1986 Oct 29;884(1):142-9.

15. Schousboe I, Rasmussen MS. Synchronized inhibition of the phospholipid mediated autoactivation of factor XII in plasma by beta 2-glycoprotein I and anti-beta 2-glycoprotein I. *Thromb Haemost.* 1995 May;73(5):798-804.
16. Nimpf J, Wurm H, Kostner GM. Interaction of beta 2-glycoprotein-I with human blood platelets: influence upon the ADP-induced aggregation. *Thromb Haemost.* 1985 Aug 30;54(2):397-401.
17. Kandiah DA, Krilis SA. Beta 2-glycoprotein I. *Lupus.* 1994 Aug;3(4):207-12.
18. 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 Sep 15;98(11):1108-15.
19. Harats D GJ. Beta2-glycoprotein I and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol.* 2001;12:543-6.
20. Kobayashi K KM, Atsumi T, Bertolaccini ML, Makino H, Sakairi N, et al. Circulating oxidized LDL form complexes with beta2-glycoprotein I: implication as atherogenic autoantigen. *J Lipid Research.* 2003;44:716-26.
21. Lopez LR SD, Hurley BL, Matsuura E. OxLDL/beta2GPI complexes and autoantibodies in patients with systemic lupus erythematosus, systemic sclerosis, and antiphospholipid syndrome: pathogenic implications for vascular involvement. *Ann N Y Acad Sci.* 2005(1051):313-22.
22. Staub HL NG, Crowther T, Cunha VR, Polanczyk A, Bohn JM, Fernandes JG, Chahade W, von Mühlen CA. Antibodies to the atherosclerotic plaque components beta2-glycoprotein and heat shock proteins as risk factors for acute cerebral ischemia. *Arq Neuropsiquiatr.* 2003;61(3-b):757-63.
23. 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 Aug;83(2):141-4; 37-40.
24. 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 Jun-Jul;58(3):295-302.
25. Recuero ML SJ, 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.
26. III NA. National cholesterol educational program (NCEP), Adult treatment panel (ATP) III 2001.
27. 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 May 21;289(19):2560-72.
28. Filozof C FPM, Fernández-Cruz A. Smoking cessation and weight gain. *Obes Rev.* 2004;5:95-103.
29. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome. An American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. Executive summary. *Cardiol Rev.* 2005 Nov-Dec;13(6):322-7.
30. Donahue RP AR, 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):683-5.

31. Gharavi AE HE, Asherson RA, et al. Anticardiolipin antibodies: isotype distribution and phospholipid specificity. *Ann Rheum Dis* 1987(46):1-6.
32. Lewis S KL, Binder WL, et al. Standardized measurement of major immunoglobulin class (IgG, IgA, IgM) antibodies to beta2-gpI in patients with antiphospholipid syndrome. *J Clin Lab Analysis*. 1998;12:293-7.
33. WG H. A new view of statistics. On line. <http://www.sportsci.org/resource/stats/index>. 2002 Captured April 11, .
34. 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 Sep;44(9):1161-5.
35. Arvieux J RV, Hachulla E, et al. Heterogeneity and immunochemical properties of anti-beta2-gpI autoantibodies. *Thromb Haemost*. 1998;80:393-8.
36. Iverson GM. VEJ, Marquis DM. Anti-beta2 glycoprotein I (beta2GPI) autoantibodies recognize an epitope on the first domain of beta2GPI. *ProcNatlAcadSci USA*. 1998(95):15542-6.
37. Iverson GM vMC, 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;27:266-71.
38. Matsuura E KK, Koike T, Shoenfeld Y. Autoantibody-mediated atherosclerosis. *Autoimmun Rev*. 2002(1):348-53.
39. L. S. Receptors for IgA in phagocytic cells. *Immuno Res*. 1992(11):273-82.
40. Blank M SY. Beta2-glycoprotein I, infections, antiphospholipid syndrome and therapeutic considerations. *Clin Immunol*. 2004;112:190-9.

## **4 - ANEXOS**

## ***TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO***

### **PROJETO**

Autoanticorpos IgA anti-beta2-glicoproteína I e síndrome metabólica

### **POR QUE ESTE ESTUDO ESTÁ SENDO REALIZADO?**

O ambulatório de cardiologia do Hospital São Lucas da PUCRS atende centenas de pacientes portadores de diversos fatores de risco para o desenvolvimento de doenças cardíacas e metabólicas, dentre elas o infarto do miocárdio e o diabetes mellitus.

Este estudo está sendo realizado para verificar se a presença do anticorpo anti-beta2-glicoproteína I confere maiores chances para o desenvolvimento de síndrome metabólica nos pacientes portadores de fatores de risco conhecidos.

### **DE QUE CONSTA O ESTUDO?**

Os prontuários (documento onde todas as consultas são registradas) serão revisados, com o cuidado de manter o nome do paciente e as informações sobre sua doença em sigilo. Será coletada uma amostra de sangue após uma consulta médica rotineira, que será doada para pesquisa. Esta amostra será usada para realizar a dosagem do teste em estudo. Parte da amostra de sangue coletada será armazenada pela equipes dos Serviços de Cardiologia, Endocrinologia e

Reumatologia do Hospital São Lucas da PUCRS para futuras pesquisas, que poderão incluir exames genéticos, imunológicos ou de biologia molecular.

### **QUAIS SÃO AS VANTAGENS EM PARTICIPAR DESTE ESTUDO?**

1. Colaborar para o avanço e progresso do conhecimento sobre o lúpus eritematoso sistêmico.
2. Inexistência de qualquer risco para o paciente, que irá apenas doar parte da amostra de sangue (que habitualmente necessita ser coletada como parte da avaliação de sua doença) para pesquisa.
3. A coleta de sangue será feita durante consulta rotineira no ambulatório de Cardiologia, o que não implica comparecimento adicional ao hospital para participar da pesquisa.

### **QUAIS SÃO AS DESVANTAGENS EM PARTICIPAR DESTE ESTUDO?**

1. Realizar punção venosa para coleta de sangue, que pode causar dor temporária e coleção de sangue na pele (equimose ou hematoma).

### **DADOS RELATIVOS À PROTEÇÃO DO PACIENTE**

- A. Os dados coletados neste estudo são confidenciais, e não serão revelados dados que permitam identificar os pacientes em hipótese alguma.



- B. A adesão ao estudo é voluntária, ou seja, cada paciente é livre para decidir não participar.
- C. A decisão de não participar não interferirá no acompanhamento e tratamento normal dos pacientes no Ambulatório, na Emergência nem na Internação do Hospital São Lucas da PUCRS.
- D. O paciente é livre para desistir em qualquer momento do estudo, sem necessidade de fornecer justificativa.

### ***COMPREENSÃO E AUTORIZAÇÃO***

Tendo compreendido as informações do presente termo de consentimento e concordado com elas, autorizo a revisão do prontuário e a coleta de amostra de sangue para doação à pesquisa e armazenamento pelo Serviço de Reumatologia do Hospital São Lucas da PUCRS.

Paciente: \_\_\_\_\_

Registro: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Pesquisador: \_\_\_\_\_

Assinatura do pesquisador: \_\_\_\_\_

Porto Alegre, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 200\_\_.

Pesquisadores responsáveis:

Dr. Henrique Luiz Staub                      Tel: (051) 33391622 (051) 33203000 –  
ramal 2368

Dr. Rodrigo B. Krás Borges                      Tel: (051) 99897570

Comitê de Ética e Pesquisa                      Tel: (051) 33203345

<b><u>AMBULATÓRIO DE RISCO CARDIOMETABÓLICO</u></b>		
<b><u>PROTOCOLO - AVALIAÇÃO INICIAL</u></b>		
NOME: _____	IDADE: _____	DATA: _____
DN: __/__/19__	SEXO: ( ) M ( ) F	COR: ( ) B ( ) NB
PRONTUÁRIO: _____		
ENDEREÇO: _____		
FONE: _____ CONTATO (fone/nome) _____		
<b>HDA/ MOTIVO DA CONSULTA:</b>		
_____		
_____		
<b>MEDICAÇÕES EM USO: (NOME E DOSE)</b>		
( ) DIURÉTICO: _____		
( ) BETABLOQUEADOR: _____		
( ) IECA: _____		
( ) ACC: _____		
( ) ARA: _____		
( ) ALFA-AGONISTAS: _____		
( ) VASODILATADORES: _____		
( ) METIFORMINA: _____		
( ) GLITAZONAS: _____		
( ) ACARBOSE: _____		
( ) ORLISTAT: _____		
( ) ACOMPLIA (RIMONABANT): _____		
( ) OUTROS: _____		
_____		
<b>REVISÃO SISTEMAS:</b>		
( ) ASTENIA	( ) ALTERAÇÕES DO PESO	( ) CEFALÉIA ( ) EDEMA
( ) ESCOTOMAS	( ) VERTIGENS	( ) EPISTAXE
( ) TOSSE	( ) PALPITAÇÕES	( ) DOR ANGINOSA
( ) DOR ATÍPICA	( ) PIROSE	( ) APNÉIA DO SONO
( ) NÁUSEAS/VÔMITOS	( ) DISFAGIA	( ) POLIFAGIA
( ) POLIDIPSIA	( ) MENOPAUSA	( ) URINA ESCURA
( ) POLIÚRIA	( ) OLIGÚRIA	( ) CORRIMENTO
( ) NOCTÚRIA	( ) PERDA LIBIDO	( ) DISPNEIA
( ) POLACIÚRIA	( ) SUDORESE EXCESSIVA	( ) PERDA VISUAL
( ) IMPOTÊNCIA	( ) ALT MENSTRUAIS	( ) ALTERAÇÕES TGI
( ) OUTROS: _____		
<b>HISTÓRIA PATOLÓGICA PREGRESSA / FATORES DE RISCO:</b>		
( ) HAS: Tempo diagnóstico: _____ Tratamento: ( ) regular ( ) irregular		
( ) TABAGISMO ATUAL: N°cigarros/dia: _____ Tempo/anos: _____		
( ) TABAGISMO PRÉVIO: Tempo de uso: _____ Tempo abandono: _____		
( ) DAC: _____		
( ) ICC: _____		
( ) AVC: _____		
( ) Dç Vasc Perif: _____		
( ) IRC: _____		
( ) DISLIPIDEMIA: _____		

( ) HIPERURICEMIA/GOTA:_____
( ) DPOC:_____
( ) HEPATOPATIA:_____
( ) DOENÇA DA TIREÓIDE (Qual):_____
( ) DOENÇA DA OFTALMOLÓGICA (Qual):_____
( ) INTOLERÂNCIA À GLICOSE:_____
NEOPLASIA (Qual):_____
OUTRAS:_____
<b>HISTÓRIA SOCIAL:</b>
( ) ESCOLARIDADE (anos de estudo):_____
( ) PROFISSÃO:_____
( ) CONSUMO ÁLCOOL: (g/dia)_____
( ) USO DROGAS: Tipo:_____
( ) SEDENTARISMO ( ) ATIVIDADE HABITUAL ( ) ATIVIDADES REGULARES
<b>HISTÓRIA FAMILIAR:</b>
( ) HAS:_____
( ) DAC:_____
( ) AVC:_____
( ) DM – I ( ) DM - II:_____
( ) DISLIPIDEMIA:_____
( ) DOENÇA RENAL:_____
( ) NEOPLASIA:_____
( ) OUTRAS:_____
<b>EXAME FÍSICO: GERAL:</b> _____
PESO:_____ ALT:_____ IMC:_____ FC:_____
CIRC. BRAQUIAL:_____ QUADRIL:_____ CINTURA:_____
PA <sup>1</sup> : ____/____ mmHg PA <sup>2</sup> : ____/____ mmHg
SOPRO CAROTÍDEO: ( ) AUSENTE ( ) DIREITA ( ) ESQUERDA
TIREÓIDE: ( ) NORMAL ( ) BÓCIO ( ) NÓDULO
BULHAS: ( ) BNF ( ) B1HIPO ( ) B2HIPO ( ) B1HIPER ( ) B2HIPER ( ) B3 ( ) B4
RITMO: ( ) REGULAR ( ) IRREGULAR
SOPRO: ( ) SIST ( ) DIAST LOCAL:_____ INTENSIDADE:_____/6+
AP:_____
ABD:_____
SOPRO: ( ) AORTA ( ) RENAL D ( ) RENAL E ( ) FEMORAIS
PULSOS PERIFÉRICOS:_____
EDEMA MEMBROS: ( ) SIM ( ) NÃO ( ) INTENSIDADE:_____/4+
FUNDOSCOPIA (CLASSIFICAÇÃO DE KV - GRAUS)
( 1)ESTREITAMENTO ARTERIOLAR ( 2)CRUZAMENTO A-V PATOLÓGICO
( 3)HEMORRAGIA E/OU EXUDATO RETINA ( 4)PAPILEDEMA
DÉFICIT MOTOR: ( ) SIM ( ) NÃO LOCAL:_____
OUTROS ACHADOS RELEVANTES:_____

<b>IMPRESSÃO GERAL: CRITÉRIOS: N°</b> _____			
( ) HAS ( ) ICHO ( ) HDL ( ) TRIGLICERÍDEOS ( ) CIRC ABD ( ) DM			
<b>CONDUTA MEDICAMENTOSA:</b> _____			
<b>EXAMES:</b> ( ) LABORATÓRIO ( ) ECG ( ) RX TÓRAX ( ) ECOCARDIO			
( ) OUTROS: _____			