

# Autoanticuerpos en Lupus eritematoso sistémico

*Dr. Carlos Huanqui Guerra\**

## GENERACIÓN DE AUTOANTICUERPOS

Existe evidencia considerable que la apoptosis o muerte celular programada incrementada y la defectuosa depuración de los cuerpos apoptóticos por los macrófagos, constituyen la fuente potencial de autoantígenos desencadenantes de autoinmunidad y enfermedad autoinmunitaria. Rosen y colaboradores fueron los primeros en demostrar que un antígeno asociado con enfermedad reumática sistémica podría localizarse en las vesículas de las células apoptóticas (1)

Estímulos como virus, ciertas drogas, radiaciones ultravioleta, etc. condicionan apoptosis celular (2,3), durante el cual antígenos del núcleo o del citosol son degradados y empaquetados en vesículas "blebs", luego liberados denominándose cuerpos apoptóticos, los que normalmente son depurados por los macrófagos a través de sus receptores scavengers ("recogedores de basura"), alteraciones de estos receptores condicionan que autoantígenos queden circulando y sean expuestos a las células del sistema inmune para generar autoanticuerpos antinucleares o autoanticuerpos anticitosol (3). Incrementada cantidad de células apoptóticas, junto con una disminución en el número de macrófagos han sido observados en pacientes con LES (4). La presencia de nucleosomas circulantes libres y Ac antinucleosoma en la circulación de esos pacientes han sido reportados (5).

En circunstancias normales cualquier material antigénico que escapa a la depuración por macrófagos, son depurados rápidamente de la circulación por mecanismos adicionales, tales como la proteína C reactiva (PCR), o el componente del complemento C1q (6) (figura No.1). Ratones C1q knockout, no depuran adecuadamente autoantígenos (7). La administración de PCR a ratones NZBxNZW F1 han mostrado reducir los

niveles de autoanticuerpos y prolongar la sobrevivencia (8). Falta por definir si estos mecanismos son defectuosos en humanos con LES.

Los cuerpos apoptóticos con antígenos nucleares en su interior van a ser entonces captados por células dendríticas interdigitantes, donde son procesados y presentados a linfocitos T helper 2, los que se activan y producen citocinas que activan a los linfocitos B los que producen Ac antinucleares (figura No 2) (9).

Estudios en keratinocitos humanos expuestos a la luz ultravioleta, demuestran inducir apoptosis de keratinocitos; partículas del núcleo y del citoplasma son empaquetadas en los blebs, algunos blebs contienen el antígeno Ro/SSA, que desencadenan la producción de Ac anti-Ro/SSA, que están asociados con rash en pacientes con lupus cutáneo subagudo, y neonatos con lupus (9, 10),

No obstante en la tercera edad existe una apoptosis celular incrementada, con mayor formación de cuerpos apoptóticos y fallo en la depuración de éstos, con ello se generan autoanticuerpos en gran proporción, entre 10-20% de adultos los tienen (11), pero la enfermedad autoinmune es rara a esta edad, debido a que probablemente el fondo poligenético para que la enfermedad se dé, está ausente.

De otro lado la mayoría de sujetos normales tienen Ac IgM séricos contra el DNAs, los que pertenecen al repertorio de Ac naturales de baja afinidad para el DNAs y para varios otros antígenos, tal como tiroglobulina y miosina (11, 12). Los autoAc naturales suelen ser de tipo IgM y polireactivos o sea que reconocen diversos antígenos propios, particularmente aquellos que se han conservado a través de la evolución lo que sugiere un origen ancestral, son también de baja afinidad, es decir que no se unen fuertemente al antígeno, todos los individuos los tenemos con fines fisiológicos.

## Autoanticuerpos: patogenicidad

Las características de los Ac que contribuyen a su patogenicidad son (9, 13, 14) :

- Isotipo de Ig, la IgG1, y la IgG3 son los que tienen mayor capacidad de fijar el complemento y causar inflamación.
- La carga (principalmente catiónica) de la molécula del Ac o del complejo inmune que lo contiene.
- La afinidad por el DNA y otros antígenos que reaccionan cruzadamente.

## ANTICUERPOS ANTINUCLEARES (ANA)

Son Igs principalmente IgG dirigido contra antígenos nucleares DNA, nucleosoma, cromatina, etc y también contra antígenos citoplasmáticos. Para su detección por inmunofluorescencia indirecta (IFI) se utilizan como sustratos células de hígado de rata. Es muy sensible y poco específica para el diagnóstico de enfermedades difusas del tejido conectivo, constituye un marcador de enfermedad autoinmune no específica de LES, dada por su alta sensibilidad: 95-98%, pero baja especificidad:67% (15). Existen 4 patrones cada cual reconocen distintos antígenos que orientan hacia determinadas enfermedades (cuadro No 1).

Cuadro No.1: Anticuerpos antinucleares (técnica IFI): patrones		
PATRON	ANA (Antígeno)	Enfermedad
1. Homogéneo	DNAss	LES:70%, otras EDTC
	Histonas	LES-inducido por drogas: 95%
2.- Periférico	DNA ds	LES: 40-70%
3.- Moteado	Sm	LES: 25%
	RNPn-U1 RNPr	EMTC: 100%, LES: 35% LES neuropsiquiátrico
	RO (SSA)	LES neonatal:90%, SS:90-96%, LCSA.
	LA (SSB)	SS: 70-87%. LCSA
4.- Nucleolar	ARN nucleolar	Esclerodermia

DNAss: DNA de simple cadena.

RNPn: ribonucleoproteína nuclear

ARN nucleolar: ácido ribonucleico nucleolar.

EMTC: enfermedad mixta del tejido conjuntivo.

DNAds: DNA de doble cadena

Sm: Smith

RNPr: ribonucleoproteína ribosomal

SS: síndrome de Sjögren

LCSA: lupus cutáneo subagudo.

Actualmente se utiliza como sustrato las células Hep-2, que es una línea celular de cáncer laríngeo humano, son células más grandes, en reproducción con mayor expresión de antígenos nucleares, incrementando la sensibilidad de los ANAs a prácticamente el 100%, con ello el 2 a 5 % de ANAs negativo con sustrato de hígado de rata han sido superados, el caso se da principalmente para el antígeno RO(SS/A) que se positiviza con el sustrato Hep-2 (16).

### ANA: Búsqueda de antígenos específicos

Test para autoAc en la búsqueda de antígenos específicos para determinadas enfermedades autoinmunes, es preferible realizarlos basados en sospechas clínicas específicas. Las técnicas a emplearse son IFI, ELISA, etc.

1. Ac anti DNA.- Constituye un marcador diagnóstico para LES, su positividad va del 60-83%, evaluados

por la prueba Farr, crithidia llucillae (la más utilizable), ELISA (17,18), sus títulos altos se correlacionan con LES activo, y con glomerulonefritis (19,20,21)

2. Otros Ac específicos son: Ac anti RO/SSA, marcador de lupus neonatal; Ac anti Smith, marcador de LES; Ac anti Scl-70, marcador de ESP; Ac anti-Jo, marcador de polimiositis con compromiso pulmonar; Ac anticentrómero, marcador de S. de Crest; Ac anti fodrina, marcador de S.Sjögren's (22).

### DNA-Histona-Nucleosoma-Cromatina (figura No 3)

Los ácidos nucleicos están constituidos por:

1. La molécula de ácido desoxirribonucleoproteína (DNA).
2. 4 pares de proteínas Histonas H2A(ricos en arginina), H2B,H3,H4.

3. Nucleosoma, es un segmento de DNA mas las 8 proteínas histona, que se repiten a lo largo de la cadena de DNA. Fuera del nucleosoma se encuentra la histona H1 (ricos en lisina).
4. Cromatina, es el conjunto de nucleosomas a lo largo de la cadena del DNA.

La arginina y lisina son aminoácidos básicos cargados positivamente, lo que favorece su interacción con cargas negativas del DNA. La capacidad de producir auto Ac anti DNA, histonas, nucleosoma y cromatina depende de la susceptibilidad genética Ej. la región 1q41-42 del cromosoma 1 contienen genes predisponentes a producir Ac anticromatina (23). Muchos estudios han determinado la mayor sensibilidad, especificidad, asociación con la actividad y la glomerulonefritis lúpica de estos tipos de antígenos, siendo los resultados muy similares (24, 25, 26, 27, 28, 29,30 ) (Cuadro No.2).

Marcador Dx específico	Sensibilidad %	Especificidad %	Actividad	Glomerulonefritis
Anti-DNA	60	98	++	+
Anti-histona H1	45	98	+	-
Anti-nucleosoma	64	98	+	+
Anti-cromatina	69	92	+	+
Anti-proteína P r	20-60	98	+	+

## ROL PATOGENICO DE LOS ANTICUERPOS

### Anticuerpos anti DNA en la glomerulonefritis lúpica

Ac anti-DNA cumplen rol patogénico en la glomerulonefritis en base a determinadas características como el isotipo IgG1, IgG3 que fijan eficientemente el complemento, su carga catiónica permite unirse a moléculas aniónicas en la membrana basal glomerular (31,32). Los inmunocomplejos Ac anti-DNA séricos también pueden ser atrapados en el glomérulo y desencadenar la enfermedad (9). También el depósito de nucleosomas (histonas y DNA) en la membrana basal glomerular induce glomerulonefritis (33) (Figura No.4).

### Auto Ac y compromiso neuropsiquiatrico en LES (LES-NP)

El diagnóstico del LES-NP, es difícil de establecer, no hay un solo test diagnóstico, los test serológicos inmunes y test por neuroimágenes se combinan para el diagnóstico (34)

El Ac anti-proteína P ribosomal han sido asociados a compromiso NP-LES, estudios recientes no demuestran esta asociación, y mas lo asocian como un marcador diagnóstico en LES (28, 35). Ac anti-neurona, Ac-anti-proteína P ribosomal y citocinas han sido implicados

en la patogénesis de síntomas neuropsiquiátricos difusos, en tanto los síntomas neurológicos focales como consecuencia del depósito de inmunocomplejos, vasculitis, microtrombos vasculares secundarios al síndrome antifosfolípido (36)

### Autoanticuerpos en enfermedades endocrinas asociadas a LES:

#### a) Ac anti-tiroglobulina y anti-microsomales en LES ( 37)

La prevalencia de estos auto Ac según diversos estudios varían del 14-51%, y es mas alto que en la población general,; sin embargo, la prevalencia de la enfermedad tiroidea autoinmune va del 3.9% al 24% la mayor parte asociada a hipotiroidismo (T: Hashimoto), en menor proporción a hipertiroidismo. De estos estudios se concluye que no todos los auto Ac desarrollan enfermedad tiroidea.

#### b) Ac anti-insulina y Ac anti-receptor de insulina

El síndrome autoinmune antinsulina por Ac anti-insulina ha sido reportado (38).El síndrome de resistencia a la insulina por Ac anti-receptor de insulina también han sido reportado (39) (figura No.5)

### Ac asociados con citopenias en LES.

#### a) Anemia hemolítica autoinmune (AHA).-

Los test de de Coombs directo e indirecto son comúnmente positivos en LES; sin embargo, la evidencia de hemólisis activa no es común (40).

La AHA es caracterizada por hemólisis asociada con la presencia de Igs, IgG, IgM, y/o componentes del complemento sobre la membrana de los eritrocitos, también se ha descrito mediada por IgA (41) Una complicación de la AHA es el tromboembolismo venoso, un estudio del Dr Pullarkat, determinó que la presencia del anticoagulante lúpico en pacientes con AHA esta asociado con riesgo incrementado para esta complicación (42).

Ac anti eritropoyetina (EPO) se han reportado en el 21% de pacientes con LES, bloqueando su unión a sus receptores a nivel de las células eritroides progenitoras de los eritrocitos en la médula ósea, siendo una causa mas del síndrome de resistencia a la eritropoyetina (43), citocinas como el factor de necrosis tumoral, IL-1b, d-IFN también son causantes de este síndrome al suprimir la producción de EPO e interferir con la capacidad

de las células progenitoras eritroides de responder a EPO (figura No.6)

### b) Púrpura trombocitopénica autoinmune (PTI)

La glicoproteína Ib, IIb/IIIa y Ib/IX han sido identificados como antígenos potenciales causantes de los Ac anti-plaquetas (44,45), que serían los mismos al la PTI asociada a LES; sin embargo, existe alguna evidencia de que no serían los mismos (46). La destrucción de plaquetas en la PTI se dá a nivel bazo por los macrófagos mediado por sus receptores Fc $\gamma$ RIIa, Fc $\gamma$ RIIIa, se ha demostrado que existe un poliformismo genético de estos receptores en la PTI (45) (figura No 7)

### Auto Ac en lupus neonatal

Los Ac IgG anti-Ro/SSA y anti-La/SSB de madres gestantes con LES, pasan a través de la placenta al feto a partir de la sexta semana de gestación ( 47), ( también pueden pasar Ac anti-dna, anti-Smith, anti-RNP), estos Ac han sido implicados directamente en el daño de la piel y el corazón dado que los queratinocitos y los miositos expresan mayor número de antígenos Ro y La. (48). Los Ac anti-RO bloquearían las proteínas de los canales de calcio en el corazón, por la cual puede causar bloqueo cardiaco completo y muerte neonatal (49,50).

### Auto Ac condicionantes de infección en LES

Diversos auto Ac contra antígenos propios que intervienen en la defensa del huésped se producen en el LES, algunos de ellos son:

1. Ac anti-receptor 1 del complemento (CR1 o CD35) sobre los eritrocitos ha sido encontrado en 46% de pacientes con LES (51). CR1 interviene en la depuración de inmunocomplejos que contienen agentes infecciosos.
2. Ac anti-interferón tipo I se ha encontrado en el

56% de 100 pacientes con LES, y Ac anti-interferón tipo II en el 36% (52).

3. Ac anti-C3 convertasa-enzima C3bBb (factor nefritogénico), esta presente en pocos pacientes con LES (53).

### Anticuerpos asociados a aterosclerosis en LES y síndrome antifosfolípido (SAF)

La presencia de Ac anti-LDL oxidada en pacientes con LES han mostrado ser un factor de riesgo independiente en la progresión de aterosclerosis carotídea (54), en adición Ac anti-proteína de shock caliente 60/65, Ac anti-B2 glicoproteína, han sido postulados tener un rol en la patogenia de la lesión aterosclerótica (55).

De interés es la reactividad cruzada entre Ac anti-cardiolipina (aCL) con Ac anti LDL-oxidada, y Ac anti-B2 glicoproteína (56), y de aCL con Ac anti HDL-colesterol, Ac anti-lipoproteína-A en pacientes con LES y SAF (57). En todos estos casos existirían epítopes compartidos entre la cardiolipina, LDL-oxidada, B2 glicoproteína, HDL-colesterol, lipoproteína A (figura No 8).

### Anticuerpos antinucleares: utilidad clínica.

Permiten clasificar a enfermedades autoinmunes en subpoblaciones específicas.

De marcador diagnóstico específico para algunas enfermedades autoinmunes.

De marcador de riesgo de compromiso orgánico.

Servir como indicador de actividad de la enfermedad. Permiten determinar si cumplen rol patogénico o son un epifenómeno.

### Autoanticuerpos patogénicos:

- Ac anti-DNA (glomerulonefritis),
- Ac anti-RO/SSA (lupus neonatal, y lupus cutáneo subagudo)
- Ac anti-hematies (AHA), Ac anti-plaquetas (PTA).
- Ac anti-fosfolípido (S. Antifosfolípido).

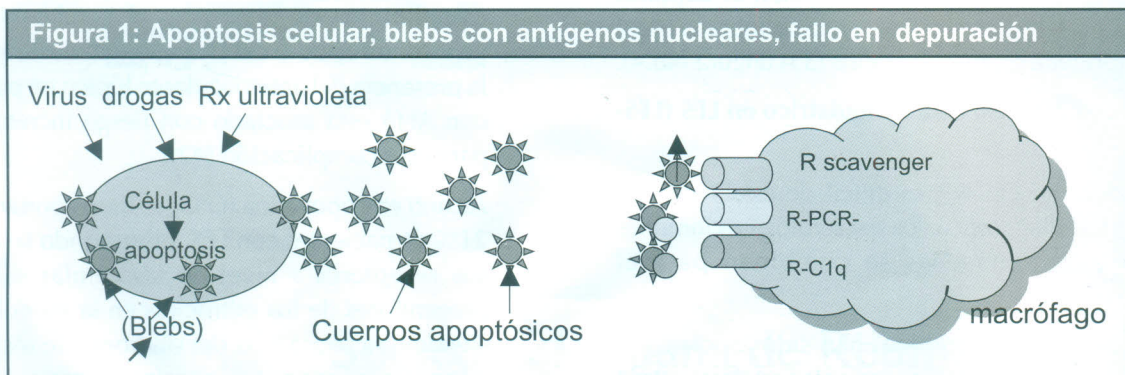


Figura No. 2: Cuerpos apoptóticos: generación de autoanticuerpos

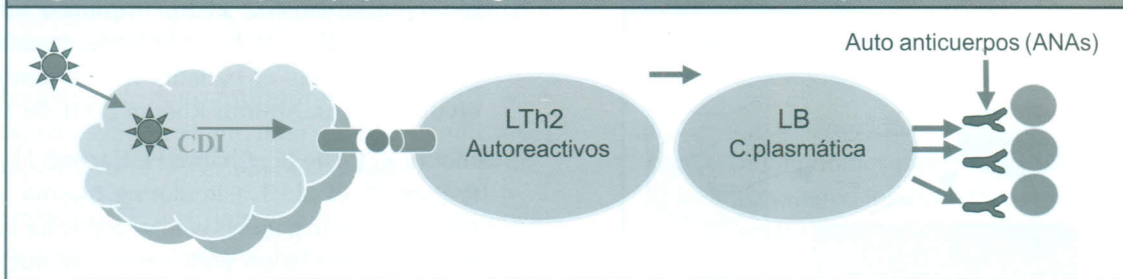


Figura No.3: DNA, histona, nucleosoma, cromatina

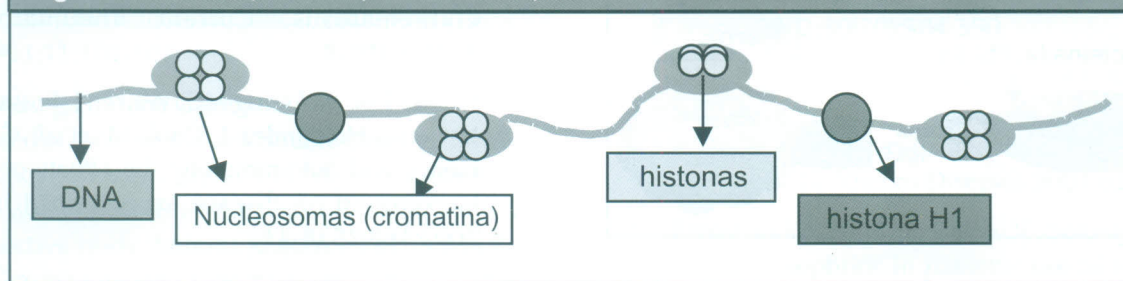


Fig No. 4: Patogenicidad de Ac anti-DNA, Ac-DNA, nucleosomas en la Gnefritis

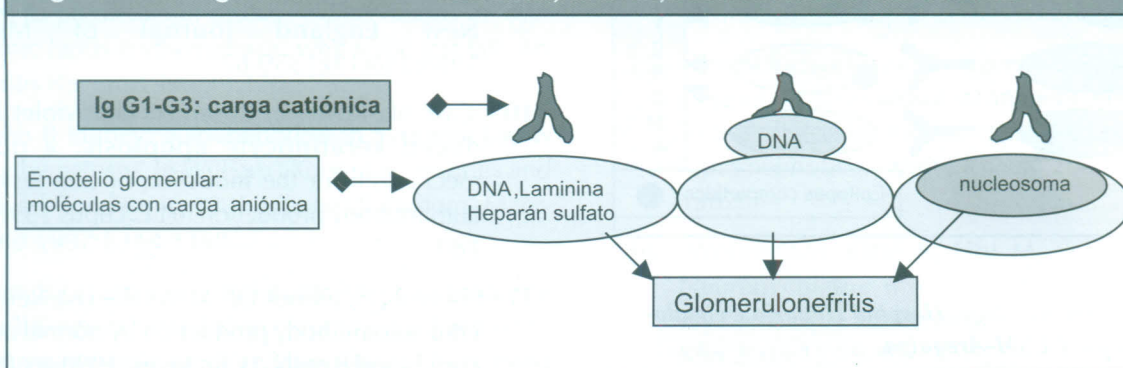
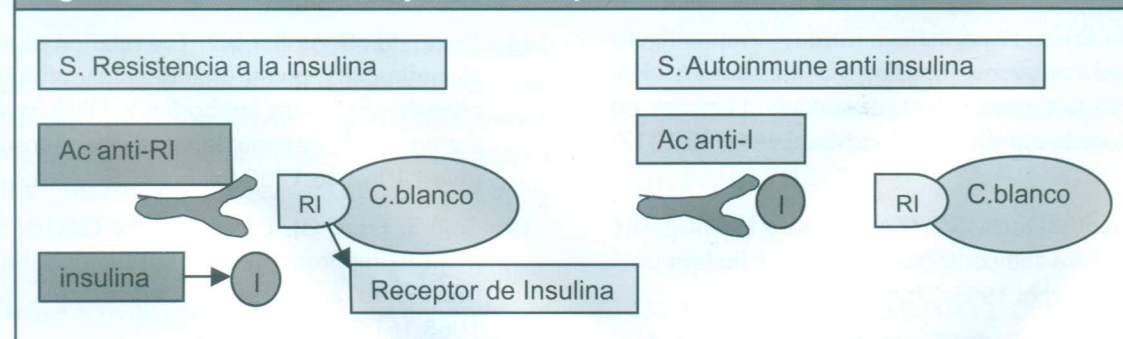
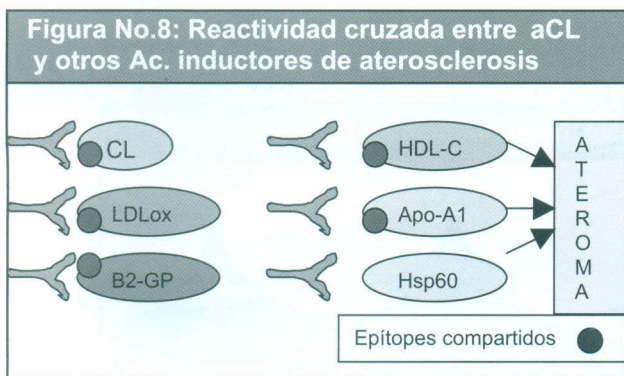
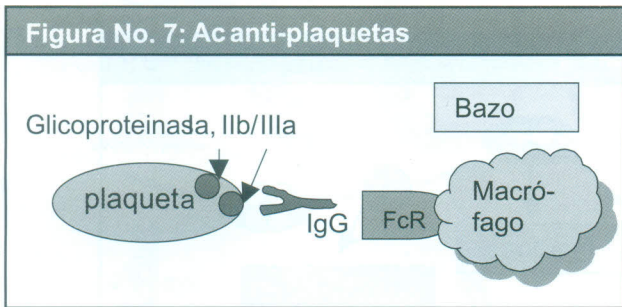
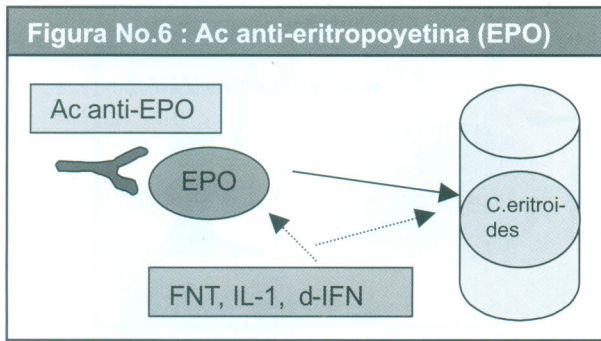


Figura No.5: Ac anti-insulina y Ac-antireceptor de insulina





\* **Médico reumatólogo. Hospital Honorio Delgado-Arequipa. UCSM-Arequipa.**

**Mail: carloshg@mixmail.com**

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1.- Casciola-Rosen LA, Anhalt G, Rosen A. Autoantigens targeted in systemic lupus erythematosis are clustered in two populations of surface structures on apoptotic keratinocytes. *J Exp Med* 1994;179:1317-30.
- 2.- Mohan C, Datta SK. Lupus: Key pathogenic mechanisms and contributing factors. *Clin Immunol Immunopathol* 1995;77:209-220.
- 3.- Charles PJ. Defective waste disposal: does it induce autoantibodies in SLE. *Ann Rheum Dis* 2003;62:1-3.
- 4.- Baumann I, Kolowos W, Voll RE, Manger B, Gaip U, Neuhuber WL, et al. Impaired uptake of apoptotic cells into tingible body macrophages in germinal centers of patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2001;46:191-201.
- 5.- Amoura Z, Piette JC, Chabre H, Cacoub H, Cacoub P, Papo T, et al. B. Circulating plasma levels of nucleosomes in patients with systemic lupus erythematosus: correlation with serum antinucleosome antibody titers and absence of clear association with disease activity. *Arthritis Rheum* 1997;40:2217-25.
- 6.- Navratil JS, Ahearn JM. Apoptosis, clearance mechanism, and the development of systemic lupus erythematosus. *Current Rheumatol Rep* 2001;3:191-8.
- 7.- Mitchell DA, Pickering MC, Warren J, Fossati-Jimac L, Cortes-Hernandez J, Cook M, et al. C1q deficiency and autoimmunity: the effects of genetic background on disease expression. *J Immunol* 2002;168:2538-43.
- 8.- Du Clos TW, Zlock LT, Hicks PS, Mold C. Decreased autoantibody levels and enhanced survival of (NZBxNZW) mice treated with C reactive protein. *Clin Immunol Immunopathol* 1994;70:22-7.
- 9.- Franklin H, Epstein MD. Antibodies to DNA. *The New England Journal of Medicine* 1998;338(19):1359-67.
- 10.- Casciola-Rosen L, Rosen A. Ultraviolet light-induced keratinocyte apoptosis: a potential mechanism for the induction of skin lesions and autoantibody production in LE. *Lupus* 1997;6:175-180.
- 11.- Pisetsky DS, Jelinek DF, McAnally LM, Reich CF. In vitro autoantibody production by normal adult and cord blood B cells. *J Clin Invest* 1990;85:899-903.
- 12.- Taki S, Hirose S, Kinoshita K, et al. Somatic mutation of IgG anti-DNA antibody clonally related to germ-line encoded IgM anti-DNA antibody. *Eur J Immunol* 1992;22:987-92.
- 13.- Rothfield NF, Stollar BD. The relation of immunoglobulin class, pattern of antinuclear antibody, and complement-fixing antibodies to DNA in sera from patients with systemic lupus erythematosus. *J Clin Invest* 1967;46:1785-94.
- 14.- Tojo T, Friou GJ. Lupus nephritis: varying complement-fixing properties of immunoglobulin G antibodies to antigens of cell nuclei. *Science* 1968;161:904-6.
- 15.- Perez-Gutthann S, Petri M, Hochberg MC. Com-

- parison of different methods of classifying patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 1991;18:1176-79.
- 16.- Miyawoki J. Autoantibodies in patients with Sjögren's syndrome and their clinical significance. *Nippon Rinsho*, 1995;53:2422-2428.
  - 17.- Quismorio FP Jr. Clinical application of serologic abnormalities in systemic lupus erythematosus. In: Wallace DJ, Hahn BH, eds. *Dubois' lupus erythematosus*. 5<sup>th</sup> ed. Baltimore:Williams Wilkins, 1997:925-42.
  - 18.- Smeenk RJ, van den Brink HG. Anti dsDNA: choice of assay in relation to clinical value *Rheumatol Int* 1991;11:101-107.
  - 19.- Ter Borg EJ, Horst G, Hummel EJ, Limburg PC: Measured of increased in anti double-stranded DNA antibody levels as a predictor of disease exacerbation in systemic lupus erythematosus: a long term, prospective study. *Arthritis Rheum* 1990;33:634-643.
  - 20.- Bootsma H, Spronk P, Derksen R, et al. Prevention of relapses in systemic lupus erythematosus. *Lancet* 1995;345:1595-1599.
  - 21.- Esdaile JM, Abrahamowicz M, Joseph L. Laboratory test as predictors of disease exacerbations in systemic lupus erythematosus: why some test fail. *Arthritis Rheum* 1996;39:370-378.
  - 22.- John B Hurley: autoantibodies in Systemic Lupus Erythematosus. In William J Koopman: *Arthritis and Allied Conditions*, 13 th Edition. Baltimore, Maryland 1997:1347-1360.
  - 23.- Tsao BP, Cantor RM, Kaluniam KC. et al. Evidence for linkage of a candidate chromosome 1 region to human systemic lupus erythematosus. *J Clin Invest* 1997;99:725-731.
  - 24.- Jan YJ, Stollar BD. Anti-DNA antibodies: aspects of structure and pathogenicity. *Cell Mol Life Sci*. 2003;60(2):309-20.
  - 25.- Schett G, Smole J, Zimmermann C. The autoimmune response to chromatin antigens in systemic lupus erythematosus: autoantibodies against histone H1 are a highly specific marker for SLE associated with increased disease activity. *Lupus* 2002;11(11):704-715.
  - 26.- Benucci M, Gobbi FL, Del Rosso A, Cesaretti S. Disease activity and antinucleosome antibodies in systemic lupus erythematosus. *Scand J Rheumatol* 2003;32:42-45.
  - 27.- Cervera R, Viñas O, Ramos Casals M, Font J. Anti-chromatin antibodies in systemic lupus erythematosus: a useful marker for lupus nephropathy. *Annals of the Rheumatic diseases* 2003;62:431-434
  - 28.- Desbos A, Gonzalo P, Monier JC, Tebib J, Reboud JP. Autoantibodies directed against ribosomal protein in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis: a comparative study. *Autoimmunity* 2002;35(7):427-434.
  - 29.- Lepers S, Hachulla E, Leleux E, Hatron Py. Relevance of anti-nucleosome antibodies detected by enzyme-based immunoassays in lupus diagnosis. Comparative analysis of four commercial kits. *Pathol Biol (Paris)* 2002;50(10):584-590.
  - 30.- Alba P, Bento L, Cuadrado LJ, Karim Y. Anti-dsDNA, anti-Sm antibodies, and the lupus anticoagulant: significant factors associated with lupus nephritis. *Annals of the Rheum Diseases* 2003;62:556-560.
  31. Bernstein KA, Kahl LE, Balow JE. Serologic markers of lupus nephritis in patients: use of tissue-based ELISA as evidence for immunopathogenic heterogeneity. *Clin Exp Immunol* 1994;98:60-65.
  32. Mageed RA, Zack DJ. Cross reactivity and pathogenicity of anti-DNA autoantibodies in systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2002;11(12):783-6.
  - 33.- Grootsholten C, van Bruggen MC, van der Pijl JW. Deposition of nucleosomal antigens (histone, DNA) in the epidermal basement membrane in human lupus nephritis). *Arthritis Rheum*.2003;48(5):1355-1362.
  - 34.- Weiner SM, Otte A, Uhl M, Schumacher M. Neuropsychiatric involvement in systemic lupus erythematosus. Part 2: diagnostic and therapy. *Med Klin* 2003;15:79-90.
  - 35.- Gerly R, Capón L, Tincani A, Scorza R, et al. Clinical and serological association of ribosomal P autoantibodies in systemic lupus erythematosus: prospective evaluation in a large cohort of Italian patients. *Rheumatology*.2002;41(12):1357-66.
  - 36.- Weiner SM, Peter HH. Neuropsychiatric involvement in systemic lupus erythematosus. Part 1: clinical presentation and pathogenesis. *Med Klin*. 2002;15 (12):730-7.
  - 37.- Wyne D, Isenberg DA. Autoimmune thyroid disease in systemic lupus. *Ann Rheum Dis*.2002;61:70-72.
  - 38.- Rouabhia S, Ramanoelina J, Godmer P, Reach G, Dutel JL. Insulin autoimmune syndrome revealing systemic lupus erythematosus. *Ann Med Interne*

- (Paris). 2003;154(1):59-60.
- 39.- Gehi A, Webb A, Nolte M, Davis J. Treatment of systemic lupus erythematosus-associated type B insulin resistance syndrome with cyclophosphamide and mycophenolato mofetil. *Arthritis Rheum.* 2003; 48(4):1067-70.
- 40.- Mongan ES, Leddy JP. Direct antiglobulin (Coombs) reaction in patients with connective tissue diseases. *Arthritis Rheum* 1967;10:502-508.
- 41.- Bardill B, Mengis C, Tschopp, Wuillemin. Severe IgA-mediated auto-immune haemolytic anaemia in a 48-yr-old woman. *Eur J Haematol.* 2003;70(1):60-63.
- 42.- Pullarkat V, Ngo M, Iqbal S, Espina B, Liebman HA. Detection of lupus anticoagulant identifies patients with autoimmune haemolytic anaemia at increased risk for venous thromboembolism. *Br J Haematol.* 2002;11(4):1166-9.
- 43.- Voulgarelis M, Kokori S, Ioannidis J. Anaemia in systemic lupus erythematosus: aetiological profile and the role of erythropoietin. *Ann Rheum Dis.* 2000;59:217-222.
- 44.- Alimardani G, Guichard J, Fichelson S, Cramer EM. Pathogenic effects of anti-glycoprotein Ib antibodies on megakariocytes and platelets. *Thromb Haemost.* 2002 ;88:1039-46
- 45.- Carcao MD, Blanchette VS, Wakefield CD, Stephens D. Fc-gamma receptor IIa and IIIa polymorphisms in childhood immune thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol.* 2003 Jan;120:135-141
- 46.- Lynch DM. Platelet antibody binding in systemic lupus erythematosus. *J Journal* 1987;14:482-486.
- 47.- Patarín J, Crawford SA. Six month-old baby with neonatal lupus cardiac enlargement. *Ann of Allergy Asthma and Immun* 1999;83:292-298.
- 48.- Tseng C, Miranda E, Di Donato F. MRNA and protein expression of SSA/Ro and SSB/La in human fetal cardiac myocytes cultured using a novel application of the Langerdorff procedure. *Pediatr Res* 1999;45:260-269.
- 49.- Fraire V, Herrera E. Ontogeny of Ro hYRNAs in human Herat. *Scand J Rheumatol* 199;28:100-105.
- 50.- Buyon JP, Winchester RJ, Sledge SG. Identification of mothers at risk for congenital heart block and other neonatal lupus syndromes in their children. Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay and immunoblot for measurement anti-SSA/Ro and anti-SSB/La antibodies 1993;36:1263-73.
- 51.- Sadallaah S, Hess C; Trendelenburg M, Vedeler C, Lopez-Trascasa. Autoantibodies against complement receptor 1 (CD35) in SLE, liver cirrhosis and HIV-infected patients. *Clin Exp Immunol.* 2003;131(1):174-81
- 52.- Slavikova M, Schmeisser H, Kontsekova E, Mateicka F. Incidence of Autoantibodies against type I and type II interferons : Cohort of Systemic Lupus Erythematosus Patients in Slovakia. *J Interferon Cytokine Res.* 2003;23(3):143-7.
- 53.- Mark J, Walport. Complement. *New Engl Med.* 2001;344(14):1058-1066.
- 54.- Salonen JT, Nyssonen K, Salonen R, et al. Lipoprotein oxidation and progression of carotid atherosclerosis. *Circulation.* 1997;95:840-845.
- 55.- Shoenfield Y, Sherer Y, George J, et al. Autoantibodies associated with atherosclerosis. *Ann Med.* 2000;32 (suppl 1):37-40.
- 56.- Horkko S, Olee T, Mo L,, et al. Anticardiolipin antibodies from patients with the antiphospholipid antibody syndrome recognize epitopes in both B2-glycoprotein 1 and oxidized low-density lipoprotein. *Circulation.* 2001;103:941-946.
- 57.- Delgado AJ, Kumar S, Isemberg DA. Cross-reactivity between anti-cardiolipin, anti-high-density lipoprotein and anti-lipoprotein A-I IgG antibodies in patients with systemic lupus erythematosus and primary antiphospholipid syndrome. *Rheumatology (Oxford)* 2003;42 (7): 893-899.