

Artikelen

Nieuwe inzichten in β_2 -glycoproteïne I en het antifosfolipidensyndroom

Ç. AĞAR¹, P.G. de GROOT² en J.C.M. MEIJERS³

Het antifosfolipidensyndroom is een auto-immuunziekte die gekenmerkt wordt door trombotische complicaties of foetale verliezen en serologisch door de aanwezigheid van antistoffen tegen eiwitten die aan fosfolipiden binden. Tegenwoordig is het alom geaccepteerd dat het belangrijkste antigeen voor de auto-antistoffen β_2 -glycoproteïne I is. De diagnose antifosfolipidensyndroom wordt gesteld wanneer bij een patiënt met trombotische of zwangerschap gerelateerde complicaties tweemaal antifosfolipiden antistoffen worden gemeten met een tussenperiode van minstens 12 weken. Recentelijk is een nieuwe functie ontdekt voor β_2 -glycoproteïne I, tot dusver een plasma-eiwit zonder bekende functie. De expressie van de functie bleek samen te vallen met majeure structuurveranderingen in het eiwit. De nieuwe inzichten in de structuur en functie van de β_2 -glycoproteïne I hebben ons begrip over de pathofysiologie van het antifosfolipidensyndroom verdiept en mogelijkheden gecreëerd voor de ontwikkeling van aanvullende en verbeterde assays, hetgeen een sprong voorwaarts zou betekenen voor de diagnose en behandeling van het antifosfolipidensyndroom.

Het antifosfolipidensyndroom (APS) is een auto-immuunziekte die gekenmerkt wordt door de aanwezigheid van antifosfolipiden antistoffen in bloed van patiënten in combinatie met trombotische complicaties in arteriën of venen, of met zwangerschap gerelateerde complicaties (1). Een trombosebeen is de meest voorkomende veneuze complicatie, terwijl een beroerte het meest voorkomt als arteriële trombose. Bij zwangere vrouwen leidt APS tot zowel vroege miskramen (<12 weken) als tot zeer late miskramen (>34 weken). Naast deze complicaties worden ook vaak placenta infarcten, vroeg- en doodgeboortes gerapporteerd (2). De voor de APS kenmerkende antifosfolipiden antistoffen zijn te vinden in ~1% van de bevolking, maar nemen

toe met de leeftijd en het bestaan van een chronische ziekte (3). APS komt vooral voor bij jonge mensen en veel meer bij vrouwen dan bij mannen; 8 op de 10 patiënten is vrouw. De antistoffen die worden gevonden bij personen ouder dan 50 jaar zijn klinisch veel minder relevant. Bij patiënten met systemische lupus erythematoses, of lupus, stijgt de prevalentie van anti-cardiolipine antistoffen en lupus anticoagulans tot 40% (3). Het is tegenwoordig alom geaccepteerd dat de relevante auto-antistoffen die gevonden worden in het antifosfolipidensyndroom niet gericht zijn tegen fosfolipiden, maar tegen eiwitten gebonden aan deze fosfolipiden (4, 5). Eén van deze fosfolipiden bindende eiwitten is β_2 -glycoproteïne I (β_2 GPI). β_2 GPI heeft een relatief lage affiniteit voor negatief geladen fosfolipiden, maar de affiniteit verhonderdvoudigt wanneer APS antistoffen binden aan het eiwit (6). De interesse in het β_2 GPI eiwit nam snel toe toen in 1990 ontdekt werd dat β_2 GPI een belangrijk antigeen in APS was (4, 5). Vele studies hebben uitgewezen dat van de vele verschillende auto-antistoffen die gevonden kunnen worden bij deze patiënten, auto-antistoffen tegen β_2 GPI klinisch het meest relevant zijn (6).

Thans zijn er drie testen beschikbaar om de aanwezigheid van antifosfolipiden antistoffen te meten: (i) de anti-cardiolipine ELISA detecteert de aanwezigheid van auto-antistoffen tegen cardiolipine en β_2 GPI, (ii) de anti- β_2 GPI antistof ELISA detecteert auto-antistoffen tegen β_2 GPI, terwijl (iii) de lupus anticoagulans test de aanwezigheid van 'functionele' anti- β_2 GPI antistoffen en anti-protrombine antistoffen meet. Het is te verwachten dat een ELISA die gebruik maakt van gezuiverd β_2 GPI om deze antistoffen te detecteren zeer goed zou correleren met de waargenomen klinische verschijnselen. Echter, dit is niet het geval, lupus anticoagulans is de test die het beste correleert met de klinische manifestaties (7). Mogelijk worden met de lupus anticoagulans test alleen de hoger affiene antistoffen gedetecteerd. Daarnaast zijn alleen antistoffen tegen bepaalde delen van β_2 GPI klinisch relevant en deze subpopulatie van auto-antistoffen is verantwoordelijk voor de lupus anticoagulans verschijnselen. De uitdaging bij de diagnose APS is de uitvoering van de verscheidene testen die worden gebruikt om de aanwezigheid van antifosfolipiden antistoffen in plasma aan te tonen. Geen van de testen voldoet aan de normen van *Good Laboratory Practice*. Studies laten zien dat er grote verschillen zijn in uitslagen van verschillende

Laboratorium Algemene Klinische Chemie, Academisch Medisch Centrum Amsterdam¹; Laboratorium Klinische Chemie en Haematologie, Universitair Medisch Centrum Utrecht² en Experimentele Vasculaire Geneeskunde, Academisch Medisch Centrum Amsterdam, Universiteit van Amsterdam³

E-mail: c.agar@amc.uva.nl

laboratoria op een rondzending van dezelfde monsters, in het bijzonder bij plasma's met laag affiene antistoffen (8-10). De invoering van aanbevelingen en richtlijnen hoe de verschillende tests uitgevoerd dienen te worden, hebben een verbetering van de onderlinge resultaten teweeg gebracht, maar de prestaties van deze assays blijven ontoereikend voor een nauwkeurige diagnose (11-13). Meer kennis over het β_2 GPI eiwit, de antilichamen en hun gedrag in de diagnostische testen die gebruikt worden in klinisch chemische laboratoria zou kunnen leiden tot een beter inzicht in (de diagnose van) het APS.

Geschiedenis en biochemie van β_2 -glycoproteïne I

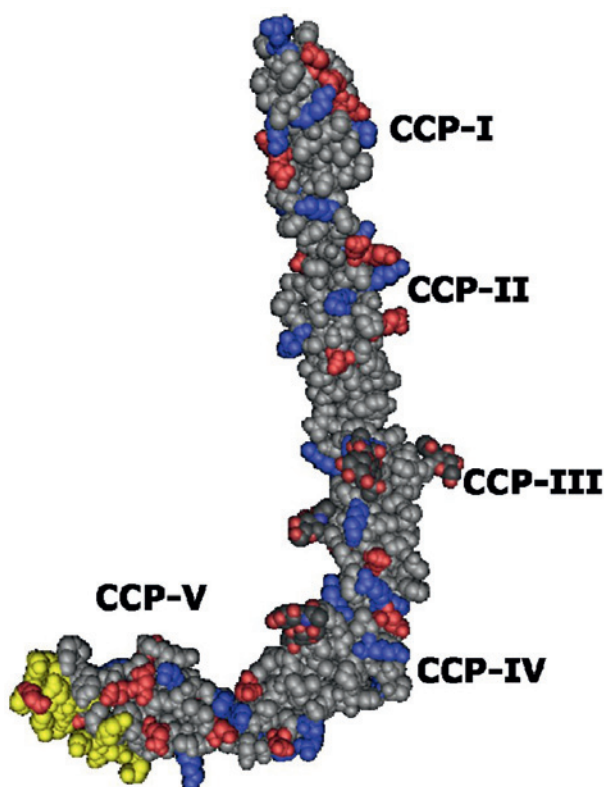
β_2 -Glycoproteïne I (β_2 GPI) werd voor het eerst in de literatuur beschreven in 1961 (14) en zeven jaar later werd de eerste β_2 GPI-deficiënte, schijnbaar gezonde persoon geïdentificeerd (15). β_2 GPI's alternatieve naam, apolipoproteïne H, suggereert een functie in vetmetabolisme, maar dit was gebaseerd op één enkele publicatie uit 1979, waarin werd aangetoond dat β_2 GPI over de verschillende humane lipoproteïnen was verdeeld (16). Vanaf 1983 werden de namen β_2 GPI en apolipoproteïne H naast elkaar gebruikt voor hetzelfde eiwit en werd APOH de officiële benaming voor het β_2 GPI gen (17).

β_2 GPI is een 43 kDa eiwit bestaande uit 326 amino-

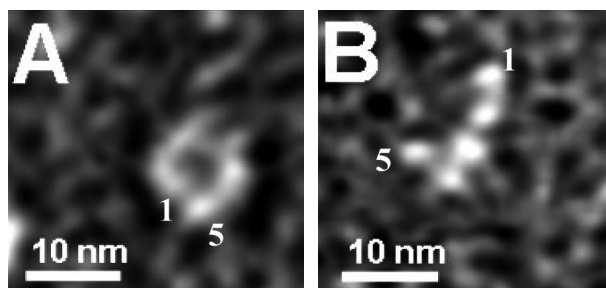
zuren (figuur 1). Het wordt gesynthetiseerd in de lever en circuleert in bloed in hoge concentraties; ongeveer 4-5 μ M (18). β_2 GPI is een glycoproteïne dat kan binden aan negatief geladen fosfolipiden en is opgebouwd uit vijf homologe complement controle eiwitdomeinen (CCP-I tot en met CCP-V) (19, 20). Deze CCP's worden over het algemeen gevonden in eiwitten van het complement systeem en zijn verantwoordelijk voor de binding van complement factoren aan virussen en bacteriën (21, 22). In 1999 werd de kristalstructuur van β_2 GPI opgehelderd door twee groepen. Het molecuul bleek een structuur vergelijkbaar met een hockeystick te hebben (19, 20). De eerste 4 domeinen lagen in elkaars verlengde en het 5^{de} domein vormde de krul van de stick (figuur 1). De eerste 4 CCP domeinen bevatten ieder 60 aminozuren, terwijl het vijfde domein een extra 6 aminozuur insertie heeft met een additionele 19 aminozuur verlenging. Deze extra aminozuren zorgen voor een positief geladen regio in het 5^{de} domein (23) die de bindingsplaats vormt voor negatief geladen fosfolipiden (figuur 1).

β_2 -Glycoproteïne I en lupus anticoagulans

Om aan de diagnose APS te voldoen moet een patiënt voldoen aan twee voorwaarden: (i) de aanwezigheid van 'persistente' antifosfolipiden antistoffen in plasma, aangetoond door het hebben van anti- β_2 GPI of anti-cardiolipine antistoffen of een positieve anticoagulans, met de voorwaarde dat deze minimaal twee keer met een tussenperiode van 12 weken zijn waargenomen en (ii) een geschiedenis van trombose of zwangerschap morbiditeit van de foetus (24). Tijdens het ontwikkelen van een betere test voor de detectie van auto-antistoffen tegen APS, werd ontdekt dat verschillende batches van gezuiverd β_2 GPI anders aceteerden in een aPTT gebaseerde stoltest. Na het toevoegen van één van de batches van β_2 GPI aan β_2 GPI deficiënt plasma was er met een lupus anticoagulans vergelijkbare activiteit waar te nemen in afwezigheid van auto-antistoffen. Een verklaring hiervoor werd gevonden in de conformatie van β_2 GPI. Naast de al meer dan 10 jaar bekende hockeystick vorm werd een tweede conformatie ontdekt voor β_2 GPI (25). Met be-



Figuur 1. Kristalstructuur van β_2 GPI. De vijf complement controle eiwit domeinen 1 tot en met 5 (CCP-I tot CCP-V) zijn weergegeven. In blauw de negatief en in rood de positief geladen aminozuren. In geel een groot positief geladen regio in het vijfde domein van β_2 GPI, wat een bindingsplek vormt voor negatief geladen fosfolipiden. De figuur is gemaakt met Cn3D versie 4.1 programmatuur, geproduceerd door the National Center for Biotechnology Information ([http:// www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)).



Figuur 2. Elektronenmicroscopische opnamen van β_2 GPI.

A. β_2 GPI gezuiverd uit humaan plasma laat een gesloten ronde conformatie zien met een interactie tussen domein 1 en 5. B. De open hockeystickachtige conformatie van β_2 GPI, waarbij domein 5 in een hoek zit ten opzichte van domein 4. Deze figuur is aangepast van een eerdere versie die gepubliceerd was in het tijdschrift *Blood*. Agar C, et al. β_2 -Glycoprotein I can exist in 2 conformations: implications for our understanding of the antiphospholipid syndrome. *Blood* 2010; 116(8): 1336-1343. © The American Society of Hematology.

hulp van elektronenmicroscopie bleek dat gezuiverd β_2 GPI uit vers humaan plasma niet een open hockey-stickachtige conformatie, maar juist een gesloten circulaire conformatie heeft (figuur 2) (25). In deze gesloten conformatie was er interactie tussen het antistof bindende domein 1 en fosfolipiden bindende domein 5. Deze observaties suggereerden dat plasma β_2 GPI circuleert in een ronde, gesloten conformatie. Na interactie met fosfolipiden ondergaat β_2 GPI een verandering naar een open structuur, waarbij het domein voor binding van auto-antistoffen, dat eerst opgeborgen zat in het gesloten molecuul, wordt geëxposeerd (figuur 2) (25). Wanneer gesloten natief β_2 GPI werd toegevoegd aan β_2 GPI deficiënt plasma, werd geen effect gezien op de stoltijd (figuur 3). Daarentegen, wanneer open β_2 GPI werd toegevoegd aan β_2 GPI deficiënt plasma was er een met een lupus anticoagulans vergelijkbaar effect waar te nemen. Toevoeging van antistoffen tegen β_2 GPI bleek een additioneel effect op het anticoagulante effect van open β_2 GPI te hebben (figuur 3). Hiermee werd een verklaring gevonden voor de oorspronkelijke waarneming dat verschillende batches van β_2 GPI verschillend acteren in een stolttest.

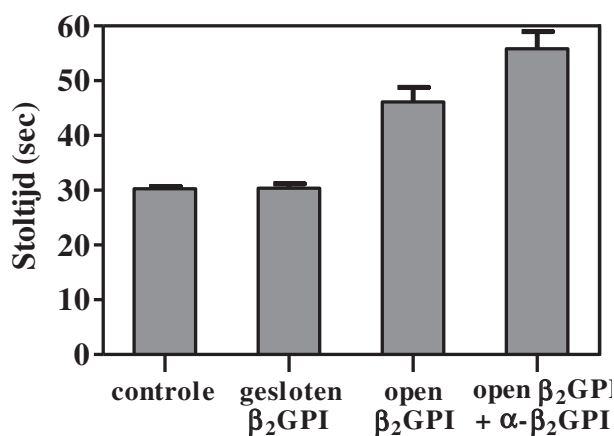
Een nieuwe functie voor β_2 -glycoproteïne I

In de halve eeuw waarin we het eiwit β_2 GPI kennen is er tot op heden geen overtuigende functie aan het eiwit toegeschreven. Functies in de stolling via binding aan factor XI of XII werden geopperd door verscheidene groepen (26-29). Daarnaast werden er ook functies toegeschreven aan β_2 GPI als regulator van plaatjes protrombinase activiteit en ADP-gemedieerde plaatjes aggregatie (30, 31). Vooralsnog hebben geen van deze mogelijkheden kunnen overtuigen als dé fysiologische functie van β_2 GPI. Onlangs is er een publicatie verschenen waarin een nieuwe functie geclaimd wordt voor β_2 GPI, niet in de stolling, maar in de afweer (32). *In vitro* en *in vivo* werd bevestigd dat β_2 GPI een lipopolysaccharide (LPS, de membraancomponent van Gram-negatieve bacteriën die onder andere

de ontstekingsreactie initieert) bindend, neutraliserend en opruimend eiwit is. Wanneer gesloten natief β_2 GPI en LPS samen worden geïncubeerd, bindt β_2 GPI aan LPS en ondergaat een conformatie verandering naar de open structuur. Dit β_2 GPI-LPS complex kan dan aan receptoren op monocytten en macrofagen binden, waarna het complex wordt opgenomen en waarschijnlijk afgebroken in de monocytten. Hierdoor worden de schadelijke effecten van LPS geremd (32). Uit bindingsstudies bleek dat het bindende deel van β_2 GPI aan LPS een 7 aminozuur tellende sequentie is, die gelokaliseerd is in domein CCP-V (33). Binding van LPS aan deze regio in domein CCP-V veroorzaakte een structurele verandering van gesloten β_2 GPI, waarbij de interactie tussen domein CCP-I en CCP-V verbroken werd en β_2 GPI een open structuur kreeg (32). Verder onderzoek in het genoom van 40 zoogdieren toonde aan dat het LPS bindend gedeelte in β_2 GPI evolutionair 100% geconserveerd is in alle zoogdieren (32). Er zijn een aantal publicaties die de rol van β_2 GPI als een 'stofzuiger' in onze bloedsomloop ondersteunen. β_2 GPI bindt aan apoptotische cellen, micropartikels, geoxideerd LDL en stikstofoxide radicalen en kan dus zo een rol spelen in de neutralisatie en klaring van deze ongewenste componenten (34-38). Het wegvangen van deze toxische componenten en cellulair afval is een fundamenteel proces in de bescherming van ons lichaam tegen infecties. Het is dan ook niet verwonderlijk dat er verschillende mechanismen betrokken zijn bij dit proces. Een tekort aan β_2 GPI zal daarom ook niet onmiddellijk resulteren in een ziekte. Dit verklaart waarom β_2 GPI deficiënte personen ogenschijnlijk gezond zijn (15). Het is wel van belang om te onderzoeken of mensen die een tekort aan dit eiwit hebben, meer vatbaar zijn voor allerlei infecties.

Wat betekent dit voor de klinische chemie?

De ontdekking dat open β_2 GPI een lupus anticoagulans effect laat zien onafhankelijk van de aanwezigheid van antistoffen tegen β_2 GPI geeft nieuwe mogelijkheden voor de bepaling van lupus anticoagulans in laboratoria wereldwijd (25). Hier volgt meteen ook de eerste belangrijke vraag: "Kijken we nu naar geopend β_2 GPI, antistoffen tegen β_2 GPI (die bekend staan om hun lupus anticoagulans) of een gecombineerd effect van β_2 GPI en anti- β_2 GPI?" Onderzoek in onze laboratoria laat zien dat bij 35% van de bepalingen die een positieve lupus anticoagulans laten zien, er geen antistoffen tegen β_2 GPI of cardiolipine te vinden zijn. Dit betekent dat we enerzijds naar het effect kijken van antilichamen tegen protrombine die ook lupus anticoagulans kunnen geven (39) of anderzijds naar door infecties geïnduceerd open β_2 GPI. Zoals vermeld, verandert β_2 GPI van de gesloten vorm naar de open vorm na binding aan LPS (32). Dit zou betekenen dat een individu met een ontsteking, infectie of bacteriëmie in potentie een positieve lupus anticoagulans test kan laten zien. De mogelijkheid bestaat dat op basis van een infectie een individu als potentiële APS patiënt aangemerkt kan worden. Het is daarom van belang om bij een eerste positieve lupus anticoagulans ook te kijken naar een eventuele onderliggende infectie. Pas na behandeling van de infectie zou opnieuw gekeken



Figuur 3. Effect van β_2 GPI op de stoltijd in een aPTT. Wanneer gesloten natief β_2 GPI wordt toegevoegd aan β_2 GPI deficiënt plasma is er geen effect te zien op de stolling in een aPTT. Wanneer open β_2 GPI wordt toegevoegd aan de assay wordt een verlenging van de stoltijd waargenomen, met een extra verlenging na toevoeging van antistoffen tegen β_2 GPI.

moeten worden naar een mogelijke lupus anticoagulans. Het is echter nog niet bekend of open β_2 GPI in afwezigheid van antistoffen al een risico voor trombose of zwangerschapscomplicaties is.

Uit de recente ontwikkelingen op het antifosfolipiden gebied valt op te maken dat we nog niet de juiste assays hebben om met een grote zekerheid te kunnen concluderen of iemand op basis van de dubbel positieve testen een juiste diagnose krijgt. Er zijn steeds meer aanwijzingen dat de auto-antistoffen tegen β_2 GPI tijdelijk worden aangemaakt door ziekteverwekkers die een conformationele verandering in β_2 GPI kunnen verwezenlijken. Het mechanisme dat verantwoordelijk is voor de omzetting van auto-antistoffen van voorbijgaande aard in persistente auto-antistoffen is onbekend. Klinisch chemische laboratoria in combinatie met onderzoekslaboratoria zouden nieuwe assays moeten ontwikkelen die de verschillende conformaties van β_2 GPI kunnen onderscheiden als aanvulling dan wel vervanging van de bestaande anti- β_2 GPI assays. Hierdoor kunnen onjuiste diagnoses worden voorkomen, en de nodige onkosten worden bespaard.

Referenties

- Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, Derksen H, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost.* 2006; 4: 295-306.
- de Groot PG & Meijers JC. $\beta(2)$ -Glycoprotein I: evolution, structure and function. *J Thromb Haemost.* 2011; 9: 1275-84.
- Gezer S. Antiphospholipid syndrome. *Dis Mon.* 2003; 49: 696-741.
- McNeil HP, Simpson RJ, Chesterman CN, Krilis SA. Antiphospholipid antibodies are directed against a complex antigen that includes a lipid-binding inhibitor of coagulation: beta 2-glycoprotein I (apolipoprotein H). *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1990; 87: 4120-24.
- Galli M, Comfurius P, Maassen C, Hemker HC, de Baets MH, van Breda-Vriesman PJ, Barbui T, et al. Anticardiolipin antibodies (ACA) directed not to cardiolipin but to a plasma protein cofactor. *Lancet.* 1990; 335: 1544-47.
- Willems GM, Janssen MP, Pelsers MM, Comfurius P, Galli M, Zwaal RF, Bevers EM. Role of divalency in the high-affinity binding of anticardiolipin antibody-beta 2-glycoprotein I complexes to lipid membranes. *Biochemistry.* 1996; 35: 13833-42.
- de Laat HB, Derksen RHW, Urbanus RT, Roest M, de Groot PG. b2-Glycoprotein I dependent lupus anticoagulant highly correlates with thrombosis in the antiphospholipid syndrome. *Blood.* 2004; 104: 3598-3602.
- Jennings I, Greaves M, Mackie IJ, Kitchen S, Woods TA, Preston FE. UK National External Quality Assessment Scheme for Blood Coagulation. Lupus anticoagulant testing: improvements in performance in a UK NEQAS proficiency testing exercise after dissemination of national guidelines on laboratory methods. *Br J Haematol.* 2002; 119: 364-69.
- Favaloro EJ, Silvestrini R. Assessing the usefulness of anticardiolipin antibody assays: a cautious approach is suggested by high variation and limited consensus in multi-laboratory testing. *Am J Clin Pathol.* 2002; 118: 548-57.
- Pengo V, Biasiolo A, Bison E, Chantarangkul V, Tripodi A. Italian Federation of Anticoagulation Clinics (FCSA). Antiphospholipid antibody ELISAs: survey on the performance of clinical laboratories assessed by using lyophilized affinity-purified IgG. *Thromb Res.* 2007; 120: 127-33.
- Reber G, Tincani A, Sanmarco M, de Moerloose P, Boffa MC. Proposals for the measurement of anti-beta2-glycoprotein I antibodies. Standardization group of the European Forum on Antiphospholipid Antibodies. *J Thromb Haemost.* 2004; 2: 1860-62.
- Pengo V, Tripodi A, Reber G, et al. Official communication of the scientific and standardization committee on lupus anticoagulant / phospholipid-dependent antibodies: update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. *J Thromb Haemost.* 2009; 7: 1737-40.
- Moffat KA, Ledford-Kraemer MR, Plumhoff EA, McKay H, Nichols WL, Meijer P, Hayward CP. Are laboratories following published recommendations for lupus anticoagulant testing? An international evaluation of practices. *Thromb Haemost.* 2009; 101: 178-84.
- Schultze HE, Heid K, and Haupt H. Über ein bisher unbekannt niedermolekularis β_2 -Globulin des Humanse-rums. *Naturwissenschaften* 1961; 48: 719.
- Haupt H, Schwick HG, Störko K. On a hereditary beta-2-glycoprotein I deficiency. *Humangenetik.* 1968; 5: 291-3.
- Polz E, Kostner GM. The binding of beta 2-glycoprotein-I to human serum lipoproteins: distribution among density fractions. *FEBS Lett.* 1979; 102: 183-6.
- Lee NS, Brewer HB Jr, Osborne JC Jr. beta 2-Glycoprotein I. Molecular properties of an unusual apolipoprotein, apolipoprotein H. *J Biol Chem.* 1983; 258: 4765-70.
- Rioche M, Masseyeff R. Synthesis of plasma beta 2 glycoprotein I by human hepatoma cells in tissue culture. *Bio-medicine.* 1974; 21: 420-3.
- Bouma B, de Groot PG, van den Elsen JM, Ravelli RB, Schouten A, Simmelink MJ, Derksen RH, et al. Adhesion mechanism of human beta(2)-glycoprotein I to phospholipids based on its crystal structure. *EMBO J.* 1999; 18: 5166-74.
- Schwarzenbacher R, Zeth K, Diederichs K, Gries A, Kostner GM, Laggner P, Prassl R. Crystal structure of human beta2-glycoprotein I: implications for phospholipid binding and the antiphospholipid syndrome. *EMBO J.* 1999; 18: 6228-39.
- Brier AM, Snyderman R, Mergenhagen SE, Notkins AL. Inflammation and herpes simplex virus: release of a chemotaxis-generating factor from infected cells. *Science.* 1970; 170: 1104-06.
- Pangburn MK, Rawal N. Structure and function of complement C5 convertase enzymes. *Biochem Soc Trans.* 2002; 30: 1006-10.
- Hunt JE, Simpson RJ, Krilis SA. Identification of a region of beta 2-glycoprotein I critical for lipid binding and anticardiolipin antibody cofactor activity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993; 90: 2141-45.
- Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC, Brey R, et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. *Arthritis Rheum.* 1999; 42: 1309-11.
- Agar C, van Os GM, Mörgelin M, Sprenger RR, Marquart JA, Urbanus RT, Derksen RH, et al. Beta2-glycoprotein I can exist in 2 conformations: implications for our understanding of the antiphospholipid syndrome. *Blood.* 2010; 116: 1336-43.
- 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; 73: 798-804.
- Brighton TA, Hogg PJ, Dai YP, Murray BH, Chong BH, Chesterman CN. Beta 2-glycoprotein I in thrombosis: evidence for a role as a natural anticoagulant. *Br J Haematol.* 1996; 93: 185-194.
- Mori T, Takeya H, Nishioka J, Gabazza EC, Suzuki K. Beta 2-Glycoprotein I modulates the anticoagulant activity of activated protein C on the phospholipid surface. *Thromb*

- Haemost. 1996; 75: 49-55.
29. Shi T, Iverson GM, Qi JC, Cockerill KA, Linnik MD, Konecny P, Krilis SA. Beta 2-Glycoprotein I binds factor XI and inhibits its activation by thrombin and factor XIIa: loss of inhibition by clipped beta 2-glycoprotein I. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004; 101: 3939-44.
 30. 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; 54: 397-401
 31. Nimpf J, Bevers EM, Bomans PH, et al. Prothrombinase activity of human platelets is inhibited by beta 2-glycoprotein-I. *Biochim Biophys Acta*. 1986; 884: 142-9.
 32. Ağar C, de Groot PG, Mörgelin M, Monk SD, van Os G, Levels JH, de Laat B, et al. β_2 -glycoprotein I: a novel component of innate immunity. *Blood*. 2011; 117: 6939-47.
 33. Ağar C, de Groot PG, Marquart JA, Meijers JC. Evolutionary conservation of the lipopolysaccharide binding site of β_2 -glycoprotein I. *Thromb Haemost*. 2011; 106: 1069-75.
 34. Balasubramanian K & Schroit AJ. Characterization of phosphatidylserine-dependent beta2-glycoprotein I macrophage interactions. Implications for apoptotic cell clearance by phagocytes. *J Biol Chem*. 1998; 273: 29272-77.
 35. Lin KY, Wang HH, Lai ST, Pan JP, Chiang AN. beta(2)-glycoprotein I protects J774A.1 macrophages and human coronary artery smooth muscle cells against apoptosis. *J Cell Biochem*. 2005; 94: 485-96.
 36. Abdel-Monem H, Dasgupta SK, Le A, Prakasam A, Thiagarajan P. Phagocytosis of platelet microvesicles and beta2-glycoprotein I. *Thromb Haem*. 2010; 104: 335-41.
 37. Matsuura E, Kobayashi K, Matsunami Y, Lopez LR. The immunology of atherothrombosis in the antiphospholipid syndrome: antigen presentation and lipid intracellular accumulation. *Autoimmun Rev*. 2009; 8: 500-5.
 38. Passam FH, Giannakopoulos B, Mirarabshahi P, Krilis SA. Molecular pathophysiology of the antiphospholipid syndrome: the role of oxidative post-translational modifications of beta2-glycoprotein I. *J Thromb Haem*. 2011; 9, suppl 1: 275-82.
 39. Arvieux J, Darnige L, Caron C, Reber G, Bensa JC, Colomb MG. Development of an ELISA for auto-antibodies to prothrombin showing their prevalence in patients with lupus anticoagulants. *Thromb Haemost*. 1995; 74: 1120-25.

Summary

Ağar C, de Groot PG, Meijers JCM. New insights in b2-glycoprotein I and the antiphospholipid syndrome. *Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk* 2012; 37; 176-180.

The antiphospholipid syndrome is an autoimmune disease that is clinically characterized by thrombotic events or foetal loss and serologically by the presence of antibodies against phospholipid binding proteins. The antiphospholipid syndrome is diagnosed when there is persistent presence of circulating antiphospholipid antibodies in plasma and a history of thrombosis or pregnancy morbidity. Nowadays, it is widely accepted that β_2 -glycoprotein I is the major antigen for antiphospholipid antibodies. Recently, besides the existence of two completely different conformations, which give different results in blood clotting tests, a new function has been discovered for a thus far functionless protein. The progress on the structure and function of the β_2 -glycoprotein I have given new insights into the pathophysiology of the antiphospholipid syndrome and thereby created new opportunities for the development of alternative assays for the existing ones. A novel assay that discriminates between the conformations of β_2 -glycoprotein I will most likely be a breakthrough for the diagnosis and treatment of the antiphospholipid syndrome.