

INVESTIGACIÓN ORIGINAL

Lós valores persistentemente positivos de anticuerpos antifosfolipídicos están relacionados con la aparición de trombosis durante el seguimiento de pacientes con síndrome antifosfolipídico

Gerardo Quintana L.^{1, 2*}, Gerard Espinosa², Silvia Bucciarelli², Dolors Tàssies², Albert Bové², Joan Plaza², Joan Carles Reverter³, Ricard Cervera²

Resumen

Objetivo: determinar si la presencia de valores persistentemente positivos de anticuerpos antifosfolipídicos (AAF) está relacionada con trombosis recurrente en el seguimiento de pacientes con síndrome antifosfolipídico (SAF).

Métodos: se analizaron 141 pacientes con SAF (criterios de Sapporo). Los valores de anticoagulante lúpico (AL) y anticuerpos anticardiolipina (AAC) fueron definidos como persistentemente positivos cuando más del 75% de las determinaciones fueron positivas durante el seguimiento (los AAF fueron medidos en cinco o más ocasiones). La trombosis en el seguimiento fue definida como una trombosis recurrente en pacientes con episodios tromboticos previos o nuevos episodios en aquellos pacientes con pérdidas fetales previas.

Resultados: ochenta y nueve pacientes presentaban SAF primario, 34 asociado a lupus eritematoso sistémico (LES), 14 con síndrome similar al lupus, 3 con síndrome de Sjögren y 1 con enfermedad de Behçet. Setenta y nueve (56%) tenían antecedentes de trombosis, 41 (29%) de pérdida fetal, y 21 (15%) tanto trombosis como pérdida fetal. El tiempo medio de seguimiento y entre el diagnóstico y la última determinación de AAF fue de 68 y 65 meses (9-180), respectivamente. El promedio de determinaciones por paciente fue 8 (5-27). Treinta y un (22%) pacientes sufrieron trombosis en el seguimiento, 28 de éstos en forma de trombosis recurrente. Cincuenta y ocho (41%) pacientes tenían AAF persistentemente positivos durante el seguimiento, según la siguiente distribución: 23 (39,65%) AAC IgG y AL, 12 (20,7%) AL, 8 (13,8%) AAC IgG, 5 (8,6%) AAC IgM, AAC IgG y AL, 4 (6,9%) AAC IgM, 3 (5,1%) AAC IgG y AAC IgM y 3 (5,1%) AAC IgM y AL, respectivamente. El riesgo para trombosis recurrente

1 Departamento de Medicina Interna, Facultad de Medicina. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia.

2 Servicio de Enfermedades Autoinmunes, Hospital Clinic. Barcelona, España.

3 Servicio de Hemoterapia y Hemostasia, Hospital Clinic, Barcelona, España.

* G. Quintana fue apoyado con una beca de la Fundación Carolina de España.

Recibido para publicación: septiembre 17/2007
Aceptado en forma revisada: noviembre 27/2007

durante el seguimiento estuvo aumentado en pacientes con AAF persistentemente positivos (OR 3,53; IC 95% 1,53 – 8,16; $p=0,003$) comparado con pacientes con AAF positivos transitoriamente. Este mayor riesgo fue atribuido a AL (OR 3,87; IC 95% 1,68-8,91; $p=0,002$) y AAC IgG (OR 2,91; IC 95% 1,25-6,75; $p=0,02$) persistentemente positivos. El perfil de AAF persistentemente positivos relacionado con la aparición de trombosis durante el seguimiento fue la combinación de AL y AAC IgG (OR 3,51; IC 95% 1,36-9,09; $p=0,01$).

Conclusiones: el riesgo de trombosis durante el seguimiento de pacientes con AAF persistentemente positivos está incrementado, especialmente en aquellos pacientes con AL, AAC IgG o la combinación de éstos.

Palabras clave: síndrome antifosfolipídico, anticuerpos antifosfolipídico, anticoagulante lúpico, anticardiolipina, trombosis recurrente.

Summary

Objective: to determine if the presence of persistently positive values of antiphospholipid (aPL) antibodies is related with recurrent thrombosis in the follow-up of patient with antiphospholipid syndrome (APS).

Patients and Methods: 141 patients with APS (Sapporo's criteria) were analyzed. Lupus anticoagulant (LAC) values and anticardiolipin antibodies (aCL) were defined as persistently positive when more than 75% of determinations were positive during the follow-up (aPL were measured on 5 or more occasions). Thrombosis in the follow-up was defined as a recurrent thrombosis in patient with previous thrombotic events or new events in those patients with previous fetal losses.

Results: 89 patients suffered from primary APS, 34 associated to systemic lupus erythematosus (SLE), 14 to SLE-like, 3 to Sjögren's syndrome, and 1 to Behçet's disease. 56% had a history of thrombosis, 29% of fetal losses, and 15% both thrombosis and fetal losses. Median time of follow-up and between the diagnosis and the last aPL determination was 68 months and 65 months (9-180), respectively. Median of determinations by patient was 8 (5-27). 31 patients suffered from

thrombosis in the follow-up, 28 of them in form of recurrent thrombosis. 58 (41%) patients had persistently positive aPL during follow-up, thus: 23 (39,65%) aCL IgG y LAC, 12 (20,7%) LAC, 8 (13,8%) aCL IgG, 5 (8,6%) aCL IgM, aCL IgG y LAC, 4 (6,9%) aCL IgM, 3 (5,1%) aCL IgG y aCL IgM y 3 (5,1%) aCL IgM y LAC, respectively. Risk for recurrent thrombosis during follow-up was increased in persistently positive aPL patients (OR 3,53; 95% CI 1,53-8,16; $p=0,003$) compared with transiently positive aPL patients. This higher risk was attributable to persistently positive LA (OR 3,87; 95% CI 1,68-8,91; $p=0,002$) and persistently positive aCL IgG (OR 2,91; 95% CI 1,25-6,75; $p=0,02$). The profile of persistently positive aPL related with the appearance of thrombosis during follow-up was the combination of IgG aCL & LA (OR 3,51; 95% CI 1,36-9,09; $p=0,01$).

Conclusions: the risk of thrombosis during follow-up is increased in patients with persistently positive aPL, specially in those with the combination of IgG aCL & LA.

Key words: antiphospholipid syndrome, antiphospholipid antibodies, lupus anticoagulant, anticardiolipin, recurrent thrombosis.

Introducción

El síndrome antifosfolipídico (SAF) se caracteriza por la presencia de anticuerpos anticardiolipina (AAC) y anticoagulante lúpico (AL), los cuales están fuertemente asociados con trombosis arterial y venosa, pérdida fetal recurrente y trombocitopenia¹⁻³. Está bien establecido que la existencia de AAC y/o AL en el plasma de pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES) se relaciona con el desarrollo de trombosis arteriales y/o venosas^{1,2,4-6}. Más recientemente, la β 2-glicoproteína I (β 2-GPI)⁷⁻¹⁰ y la protrombina^{11, 12} se han identificado como epítopes reconocidos por estos anticuerpos antifosfolipídicos (AAF), y la presencia de anticuerpos anti β 2-GPI de isotipo IgG se ha asociado con tromboembolismo venoso¹³. Sin embargo, los mecanismos involucrados en el desarrollo de trombosis no se conocen con exactitud.

Se han descrito dos formas de SAF: un síndrome "primario", cuando no hay evidencia de enferme-

dad subyacente¹⁴ y un síndrome asociado, principalmente en el contexto del LES¹⁵. Los episodios tromboembólicos son informados aproximadamente en un tercio de los pacientes con AAF. Los criterios clínicos y de laboratorio para la clasificación de SAF han sido definidos y tenemos un lenguaje universal para catalogar a determinado paciente con el diagnóstico de la enfermedad¹⁶.

Diversos estudios han tratado de definir los factores de riesgos para la aparición de episodios trombóticos recurrentes, pero las diferencias en diseños metodológicos, criterios de elegibilidad y la diversidad de AAF en términos de tipos, isotipos, procesamiento en diferentes laboratorios clínicos, puntos de corte e inadecuada e incompleta estandarización de las pruebas de laboratorio no han permitido aclarar los perfiles de AAF, solos o combinados, que se acompañan de trombosis recurrente. Finazzi y colaboradores¹⁷ en un estudio prospectivo indicaron que una trombosis previa y un título de AAC IgG > 40 unidades de fosfolípido IgG (U-FLG) fueron predictores independientes de nuevos episodios trombóticos en una cohorte de pacientes no seleccionados con AAF, y Turiel y colaboradores¹⁸ encontraron una potencial fuente embólica con títulos AAC > 40 U-FLG en pacientes con SAF primario. Galli y colaboradores¹⁹, en una revisión sistemática, determinaron que el AL es más fuerte factor de riesgo para trombosis que los AAC en el SAF asociados al LES pero sin determinar si estos episodios de trombosis eran el primer episodio o episodios recurrentes por el tipo de estudio y la falta de criterios de elegibilidad en los estudios primarios incluidos.

El objetivo del estudio fue determinar si la presencia de valores persistentemente positivos de AAF está relacionada con trombosis recurrente en el seguimiento de pacientes con SAF.

Pacientes, materiales y métodos

Pacientes: se analizaron 141 pacientes con SAF²⁰ y un total de 1496 determinaciones fueron realizadas. La información procedía de la base de datos del Servicio de Enfermedades Autoinmunes del Hospital Clinic de Barcelona (España). Los pacientes fueron valorados en el Servicio cada 6 a

12 meses como pacientes ambulatorios. Cada visita incluía evaluación clínica y de laboratorio y, si era necesario, pruebas de imagenología. El diseño del estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Institución.

Ensayos: los niveles de AAC fueron medidos por medio de un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima y expresado en unidades de fosfolípidos para IgG o IgM (U-FLG y U-FLM). Una unidad equivale a 1 mg de inmunoglobulina G (IgG para FLG) o IgM (para FLM) de AAC purificada de 1 mL de suero²¹.

La determinación de AL se basó en pruebas de coagulación repletadas de plaquetas o repletadas de fosfolípidos, tales como el tiempo de kaolin, tiempo de veneno de víbora de Russell, prueba de inhibición de tromboplastina tisular y tiempo parcial de tromboplastina activada.

Tanto el diagnóstico de AL como el de AAC se efectuaron siguiendo las recomendaciones del Comité para la Estandarización de Anticoagulantes Lúpicos de la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasis y los talleres internacionales (revisado por Pierangeli y colaboradores)^{21,22}.

Los valores de AL y AAC fueron definidos como persistentemente positivos cuando más del 75% de las determinaciones fueron positivas durante el seguimiento (los AAF fueron medidos en cinco o más ocasiones) y con valores moderada a altamente positivos (> 40 U-FLG o U-FLM).

Diagnóstico de los episodios trombóticos: la trombosis en el seguimiento fue definida como una trombosis recurrente en pacientes con episodios trombóticos previos o nuevos episodios en aquellos pacientes con pérdidas fetales previas. Todas las nuevas manifestaciones de la enfermedad diferentes a la trombocitopenia durante el período de estudio fueron consideradas como episodios recurrentes (nuevos). Los episodios obstétricos con lesiones histopatológicas de la decidua o tejido placentario típicas del SAF (infarto, depósito de fibrina intravascular, depósito sincitial anudada y fibrosis) fueron considerados como relacionados con AAF y las pacientes tenían el diagnóstico de SAF aun en ausencia de episodios trombóticos arteriales y/o venosos previos.

Los métodos diagnósticos usados para detectar trombosis durante el seguimiento fueron ecografía para trombosis venosa profunda, gammagrafía o angiografía para embolismo pulmonar, electrocardiograma y enzimas cardíacas para episodio coronario agudo, arteriografía para oclusiones arteriales periféricas y tomografía computarizada (TC) o angiografía para trombosis cerebral.

El diagnóstico de accidente cerebral isquémico transitorio fue definido como un déficit neurológico focal resuelto en las primeras 24 horas y la exclusión por TC de hemorragia cerebral. Los episodios clínicos ocurridos durante el seguimiento fueron clasificados así: trombosis venosa (miembros inferiores, embolismo pulmonar y trombosis retiniana, mesentérica y cerebral); trombosis arterial (arteria cerebral, coronaria, renal, retiniana, periférica, mesentérica; episodios obstétricos (aborto espontáneo antes de la semana 20, pérdidas fetales después de la semana 20, incluyendo aborto causado por una indicación relacionada con SAF); o episodios catastróficos (evidencia clínica de compromiso de múltiples órganos en un corto período de tiempo)²³.

Análisis estadístico: los datos fueron recolectados en el Servicio de Enfermedades Autoinmunes del Hospital Clinic de Barcelona. Los datos fueron manejados y analizados usando los programas SPSS (V14 para Windows, Chicago, IL) y Stata (Stata Corporation V8, Texas, EUA). El riesgo fue calculado con el uso de Odds Ratios (OR) y fue informado con intervalos de confianza del 95% derivado de una prueba de X^2 . Un valor de p menor de 0,05 fue considerado como significativo y los valores de p fueron calculados a dos colas.

Resultados

La tabla 1 muestra las principales características de los pacientes estudiados. La distribución por enfermedades fue la siguiente: 89 pacientes presentaban SAF primario, 34 asociado a LES, 14 con síndrome similar al lupus, 3 con síndrome de Sjögren y 1 con enfermedad de Behçet. Para el momento del diagnóstico, el 56% tenía antecedentes de trombosis, 29% de pérdida fetal y 15% tanto trombosis como pérdida fetal.

El tiempo medio de seguimiento y entre el diagnóstico y la última determinación de AAF fue de 68 y 65

Tabla 1. Características principales de los pacientes

Condición	N (%)
Edad media, años	39,46 ± 14,97
Género	
Mujer	115 (81,56)
Hombre	26 (18,43)
Manifestación clínica	
Compromiso neurológico	46 (32,6)
Compromiso cardíaco	17 (12,1)
Compromiso pulmonar	15 (10,6)
Compromiso cutáneo	14 (9,9)
Compromiso hematológico	38 (27)
Compromiso renal	3 (2,1)
Otros	9 (6,4)
Episodio en el diagnóstico	
Trombosis	79 (56,02)
Aborto	41 (29,07)
Trombosis y aborto	21 (14,89)

meses (9-180), respectivamente. El promedio de determinaciones por paciente fue 8⁵⁻²⁷. Treinta y un (22 %) pacientes sufrieron de trombosis en el seguimiento, 28 de éstos en forma de trombosis recurrente.

De los pacientes analizados, 58 (41%) tenían AAF persistentemente positivos durante el seguimiento, distribuidos así: 23 (39,65%) AAC IgG y AL, 12 (20,7%) AL, 8 (13,8%) AAC IgG, 5 (8,6%) AAC IgM, AAC IgG y AL, 4 (6,9%) AAC IgM, 3 (5,1%) AAC IgG y AAC IgM y 3 (5,1%) AAC IgM y AL, respectivamente (Tabla 2).

El riesgo para trombosis recurrente durante el seguimiento estuvo aumentado en pacientes con AAF persistentemente positivos (OR 3,53; IC 95% 1,53 - 8,16; p=0,003) comparado con pacientes con AAF positivos transitoriamente. Este mayor riesgo fue atribuido a AL (OR 3,87; IC 95% 1,68-8,91; p=0,002) y AAC IgG (OR 2,91; IC 95% 1,25-6,75; p=0,02) persistentemente positivos. El perfil de AAF

Tabla 2. Perfil AAF persistente positivo

Perfil de AAF	n (%)
AL	12 (20,68)
AAC IgG	8 (13,8)
AAC IgM	4 (6,9)
AL + AAC IgG	23 (39,65)
AL + AAC IgM	3 (5,17)
AAC IgG + AAC IgM	3 (5,17)
AL + AAC IgG + AAC IgM	5 (8,62)

AAF: anticuerpos antifosfolipídicos, AL: anticoagulante lúpico, AAC: anticuerpos anticardiolipina.

persistentemente positivos relacionado con la aparición de trombosis durante el seguimiento fue la combinación de AL y AAC IgG (OR 3,51; IC 95% 1,36-9,09; $p=0,01$).

Discusión

En este estudio hemos analizado el papel de valores persistentemente positivos de AAF con títulos moderados a altos y su asociación con trombosis recurrente durante el seguimiento de pacientes con SAF. A pesar de la existencia de estudios que pretenden determinar la asociación de trombosis con la presencia de AAF, muy pocas publicaciones se han realizado con trombosis recurrente en el seguimiento.

Las diferencias vistas en análisis anteriores relacionadas con patrones específicos de AAF y trombosis se relacionan con varias situaciones, como las diferencias en diseños metodológicos, criterios de elegibilidad y por la diversidad de AAF en términos de tipos, isotipos, procesamiento en diferentes laboratorios clínicos (propia de varios sistemas de salud en el mundo), puntos de corte e inadecuada e incompleta estandarización de las pruebas de laboratorio.

Hemos encontrado la presencia de asociación entre varios perfiles de AAF con trombosis recurrente, tanto para el perfil general de AAF, como para perfiles más específicos. La presencia de AL es la más fuerte asociada con el desarrollo de trombosis recu-

rrente, seguida de AAC del tipo IgG. De manera similar encontramos que el perfil combinado de AL y AAC IgG también demuestra una asociación importante.

Estos resultados mantienen la tendencia de asociar la presencia del AL y/o AAC IgG con el desenlace de trombosis recurrente. Sólo unos pocos estudios han evaluado la presencia de trombosis recurrente con perfiles específicos de AAF. La mayoría de estudios no discriminan entre un primer episodio y la recurrencia de episodios trombóticos. Para la presencia de trombosis venosa profunda recurrente se describió por parte de Rance y colaboradores²⁴ una asociación significativa con AL pero no con AAC IgG. Otros estudios sólo han analizado de manera aislada la presencia de AAF sin incluir análisis comparativos entre AAC y AL. En este aspecto, Prandoni y colaboradores²⁵ encontraron asociación significativa de AL con trombosis venosa profunda recurrente. Zuckerman y colaboradores²⁶ encontraron recurrencia en infarto de miocardio con AAC IgG e IgM; este estudio hace la diferenciación entre primer episodio y recurrencia, encontrando asociación para ambos perfiles de manera significativa pero los autores consideraron valores positivos de AAC a partir de títulos 20 U (IgG o IgM). En episodios isquémicos recurrentes, Levine y colaboradores²⁷ observaron asociación significativa con la presencia de IgG a títulos altamente positivos (> 100 unidades). Finalmente, para la presencia de trombosis venosa profunda y AAC IgG, Schulman y colaboradores²⁸ con títulos mayores de 35 unidades encontraron un OR de 3,9 pero sin ser significativa ($p > 0,05$).

Para episodios trombóticos recurrentes de diferente localización sólo se encontró el estudio de Turiel y colaboradores²⁹, quienes informaron que a partir de 40 unidades de AAC IgG se tiene un factor independiente de predicción para nuevos episodios trombóticos.

Otro factor importante a considerar es la presencia del tratamiento que puede alterar los títulos de AAF y/o las manifestaciones clínicas de trombosis. Aunque McCarthy y colaboradores³⁰ observaron que los títulos de AAF disminuyen en pacientes tratados con hidroxycloquina (200 mg dos veces al día) y aspirina (81 mg al día), otros estudios no han encontrado tal situación³¹ y, en nuestro estudio, todos

los pacientes estaban recibiendo anticoagulantes orales, situación que impide determinar asociaciones y para otros medicamentos tampoco encontramos asociaciones en lo relacionado con la disminución de títulos y la consiguiente manifestación clínica de trombosis.

Podemos concluir que la presencia de AAF con valores persistentemente positivos a títulos moderados o altos está asociada con la presencia de trombosis recurrente en el seguimiento de pacientes con SAF principalmente con los perfiles de AL, AAC IgG o la combinación de éstos. Por lo tanto, es importante realizar un seguimiento más estrecho a este grupo de pacientes y, seguramente, resultados como éstos propondrán cambios en los esquemas terapéuticos de tales pacientes. También es importante emprender estudios para determinar los factores predictores para este grupo específico de perfiles de AAF.

Declaración de conflictos

Declaramos no tener ningún conflicto de interés en la realización de este estudio de investigación.

Referencias

1. Cervera R, Piette JC, Font J, Khamashta MA, Shoenfeld Y, Camps MT, et al. Antiphospholipid syndrome: clinical and immunologic manifestations and patterns of disease expression in a cohort of 1,000 patients. *Arthritis Rheum.* 2002; 46(4): 1019-1027.
2. Harris EN, Gharavi AE, Boey ML, Patel BM, Mackworth-Young CG, Loizou S and Hughes GRV. Anticardiolipin antibodies: detection by radioimmunoassay and association with thrombosis in systemic lupus erythematosus. *Lancet* 1983; ii: 1211-1214.
3. McNeil HP, Chesterman CN & Krilis SA. Immunology and clinical importance of antiphospholipid antibodies. *Advances in Immunology* 1991; 49: 193-280.
4. Lechner K. *Lupus Anticoagulants and Thrombosis*. International Society on Thrombosis and Leuven University Press 1987; 525-547.
5. Galli M, Comfurius P, Maassen C, Hemker HC, De Baets MH, van Breda-Vriesman, et al. Anticardiolipin antibodies (ACA) directed not to cardiolipin but to a plasma protein cofactor. *Lancet* 1990; 335: 1544-1547.
6. Hughes, G. The antiphospholipid syndrome: 10 years on *Lancet* 1993; 342: 341-344.
7. McNeil HP, Simpson RJ, Chesterman CN & Krilis SA. Antiphospholipid antibodies are directed against a complex antigen that includes a lipid-binding inhibitor of coagulation; b2-glycoprotein I (apolipoprotein H). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1990; 87: 4120-4124.
8. Koike T & Matsuura E. What is the "true" antigen for anticardiolipin antibodies? *Lancet* 1991; 337: 671.
9. Keeling DM, Wilson ALG, Mackie IJ, Machin SJ & Isenberg DA. Some antiphospholipid antibodies bind to b2-glycoprotein I in the absence of phospholipid. *British Journal of Haematology* 1992; 82: 571-574.
10. Matsuura E, Igarashi Y, Yasuda T, Koike T. & Triplett DA. Anticardiolipin antibodies recognize b2-glycoprotein I structure altered by interacting with an oxygen modified solid phase surface. *Journal of Experimental Medicine* 1994; 179: 457-462.
11. Bevers EM, Galli M, Barbui T, Comfurius P & Zwaal RFA. Lupus anticoagulant IgGs (LA) are not directed to phospholipids only, but to a complex of lipid-bound prothrombin. *Thrombosis and Haemostasis* 1991; 66: 629-632.
12. Oosting JD, Derksen RHW, Bobbink IWG, Hackeng TM, Bouma BN & De Groot PG. Antiphospholipid antibodies directed against a combination of phospholipid with prothrombin, protein C, or protein S: an explanation for their pathogenic mechanism? *Blood* 1993; 81: 2618-2625.
13. Martinuzzo ME, Forastiero RR & Carreras LO. Anti b2-glycoprotein I antibodies: detection and association with thrombosis. *British Journal of Haematology* 1995; 89: 397-402.
14. Asherson RA, Khamashta MA, Ordi-Ros J. The "primary" antiphospholipid syndrome; major clinical and serological features. *Medicine* 1989; 68: 366-374.
15. Alarcon-Segovia D, Deleze M, Oria CV, Sanchez-Guerrero J, Gomez-Pacheco L. Antiphospholipid antibodies and the antiphospholipid syndrome in SLE. A prospective analysis of 500 consecutive patients. *Medicine* 1989; 68: 353-365.
16. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 1309-1311.
17. Finazzi G, Brancaccio V, Moia M, Ciaverella N, Mazzucconi MG, Schinco PC, et al. Natural history and risk factors for thrombosis in 360 patients with antiphospholipid antibodies: a four-year prospective study from the Italian registry. *Am J Med.* 1996; 100: 530-536.
18. Turiel M, Muzzupappa S, Gottardi B, Crema C, Sarzi-Puttini P, Rossi E. Evaluation of cardiac abnormalities and embolic sources in primary antiphospholipid syndrome by transesophageal echocardiography. *Lupus* 2000; 9: 406-412.
19. Galli M, Luciani D, Bertolini G, Barbui T. Lupus anticoagulants are stronger risk factors for thrombosis than anticardiolipin antibodies in the antiphospholipid syndrome: a systematic review of the literature. *Blood* 2003; 101: 1827-1832.
20. Camerlingo M, Casto L, Drago G. Anticardiolipin antibodies in acute non-hemorrhagic stroke seen within six hours after onset. *Acta Neurol Scand* 1995; 92: 69-71.
21. Pierangeli SS, Gharavi AE, Harris EN. Anticardiolipin testing. In: Khamashta MA (ed). *Hughes Syndrome. Antiphospholipid Syndrome*. London, England: Springer; 2000; 205-213.
22. Brandt JT, Triplett DA, Alving B, Scharrer I. Criteria for the diagnosis of lupus anticoagulants: an update. On behalf of the Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibody of the Scientific and Standardisation Committee of the ISTH. *Thromb Haemost.* 1995; 74: 1185-1190.
23. Krnic-Barrie S, O'Connor CR, Looney SW, Pierangeli S, Harris EN. A retrospective review of 61 patients with

- antiphospholipid syndrome. Analysis of factors influencing recurrent thrombosis. *Arch Intern Med* 1997; 157: 2101-2108.
24. Rance A, Emmerich J, Fiessinger J-N. Anticardiolipin antibodies and recurrent thromboembolism [letter]. *Thromb Haemost* 1997; 77: 221.
25. Prandoni P, Simioni P, Girolami A. Antiphospholipid antibodies, recurrent thromboembolism, and intensity of warfarin anticoagulation [letter]. *Thromb Haemost* 1996; 75: 859.
26. Zuckerman E, Toubi E, Shiran A, et al. Anticardiolipin antibodies and acute myocardial infarction in non-systemic lupus erythematosus patients: a controlled prospective study. *Am J Med*. 1996; 171: 381-386.
27. Levine SR, Brey RL, Sawaya KL, et al. Recurrent stroke and thrombo-occlusive events in the antiphospholipid syndrome. *Ann Neurol*. 1995; 38: 119-124.
28. Schulman S, Svenungsson E, Granqvist S. Anticardiolipin antibodies predict early recurrence of thromboembolism and death among patients with venous thromboembolism following anticoagulant therapy. Duration of Anticoagulation Study Group. *Am J Med* 1998; 104: 332-338.
29. Turiel M, Sarzi-Puttini P, Peretti R, Rossi E, Atzeni F, Parsons W et al. Thrombotic Risk Factors In Primary Antiphospholipid Syndrome A 5-Year Prospective Study. *Stroke* 2005; 36: 1490-1494.
30. McCarty GA, Cason TE. Use of hydroxychloroquine in antiphospholipid antibody syndrome at three academic rheumatology units over two years: improvement in antibody titer and symptom management [abstract]. Seventh International Congress on SLE and related conditions abstract book, 2004: M17A.
31. Erkan D, Derksen W J M, Kaplan V, Sammaritano L, Pierangeli S S, Roubey R et al. Real world experience with antiphospholipid antibody tests: how stable are results over time? *Ann Rheum Dis* 2005; 64: 1321-1325.