

# ***Agrupación diagnóstica del síndrome antifosfolípido con base en los niveles séricos de IgG anticardiolipina***

Octavio Martínez, Cilia Rojas, José Félix Restrepo, Antonio Iglesias · Bogotá, D.C.

Dr. Octavio Martínez: Profesor Asociado, Unidad de Hematología; Lic. Cilia Rojas: Bacterióloga, Unidad de Reumatología, Hospital San Juan de Dios; Dr. José Félix Restrepo: Profesor Asociado, Unidad de Reumatología; Dr. Antonio Iglesias: Profesor Titular, Unidad de Reumatología, Facultad de Medicina. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, D.C.

Objetivo: proponer, mediante métodos matemáticos de agrupamiento, límites para la clasificación diagnóstica del síndrome antifosfolípido (SAF), en pacientes con trombosis venosa o arterial, en relación con los niveles séricos de anticuerpos IgG anticardiolipina (anti-cLP), única variable continua capaz de discriminar el diagnóstico de SAF.

Tipo de estudio: estudio descriptivo prospectivo.

Lugar y tiempo de estudio: Unidades de Hematología y Reumatología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia con sede en el Hospital San Juan de Dios de Bogotá, entre el 5 de enero de 1998 y el 12 de julio de 2000.

Material y métodos: se incluyeron todos los pacientes con edad igual o mayor a 17 años, con eventos incidentes que cumplieran con la definición operacional de evento oclusivo vascular, arterial o venoso. Fueron evaluados en total 42 pacientes, a quienes se les documentó edad, sexo, diagnóstico de lupus eritematoso sistémico y se les cuantificó en unidades GPL, mediante técnica de micro ELISA, los niveles séricos de anticuerpos IgG anti-cLP. Se realizó un análisis de conglomerados, combinando un análisis jerárquico aglomerante inicial con un análisis ulterior no jerárquico (de "K-medias"). La matriz de proximidad del análisis jerárquico aglomerante empleó el cálculo de distancias euclidianas para todos los pares de casos, con base en una única variable estandarizada (IgG anti-cLP). La regla de agrupamiento utilizada fue el promedio entre grupos. Se emplearon la media, la mediana y los valores mínimos y máximos de la variable analizada, para describir las medidas de resumen que determinaron las diferencias entre los grupos.

Resultados: la relación mujer: hombre del total de 42 pacientes incluidos, fue 3.7: 1. La interpretación del dendograma elaborado a partir de la matriz de los diferentes coeficientes de aglomeración, indicó que podrían ser tres los conglomerados a formar. Los valores mínimos y máximos de unidades GPL de IgG anti-cLP para cada uno de los tres conglomerados formados fueron: Grupo 1, 7.5 y 49.8; Grupo 2, 61.7 y 109; Grupo 3, 174 y 190.

Discusión: se propone el diagnóstico de SAF inequívoco en pacientes con trombosis vascular con niveles séricos de anticuerpos IgG anti-cLP iguales o superiores a 50 unidades GPL y considerar otros diagnósticos para títulos inferiores, o bien, complementar el estudio con pruebas para la detección de "anticoagulante lúpico" u otras pruebas antigénicas específicas para autoanticuerpos presentes en SAF. (*Acta Med Colomb* 2001; 26:267-272).

Palabras clave: *síndrome antifosfolípido inequívoco, IgG anticardiolipina.*

## **Introducción**

Para el diagnóstico de síndrome antifosfolípido (SAF) se requiere la presencia de trombosis vascular o pérdidas fetales recurrentes, además de pruebas biológicas para detección de anticuerpos antifosfolípido. Debido a la heterogeneidad de los anticuerpos antifosfolípidos, la caracterización biológica de laboratorio para el diagnóstico de SAF requiere pruebas de coagulación para la detección del anticoagulante lúpico y pruebas en fase sólida para anticuerpos anticardiolipina (anti-cLP), las cuales son cada vez más numerosas (1).

Puesto que la incertidumbre diagnóstica de SAF aumenta a medida que aparecen cada vez más pruebas para la detección de autoanticuerpos anti-cLP y dado que, a pesar de conocerse el potencial riesgo trombotogénico de dichos anticuerpos su mecanismo de acción necesita mayor claridad, hace carrera la utilización del término SAF "equivoco" para caracterizar un nuevo subgrupo del síndrome que refleja las variadas circunstancias en las que no se está seguro del diagnóstico (2).

Hay un número grande de circunstancias en las cuales el diagnóstico de SAF puede ser equivoco. Los pacientes más frecuentes de este subgrupo son aquellos con hallazgos clínicos del síndrome trombosis venosa o arterial o pérdidas fetales recurrentes con bajos títulos de anticuerpos anti-cLP (<20 unidades GPL o MPL) -y pruebas de anticoagulante lúpico negativo. Puesto que la variación inherente a las pruebas de anti-cLP es relativamente grande justo en los rangos bajos, un resultado de la prueba a estos títulos puede ser considerado positivo o negativo (2).

El Octavo Simposio Internacional sobre anticuerpos antifosfolípidos celebrado en 1998 en la ciudad de Sapporo, Japón, aunque elabora criterios de ayuda diagnóstica del SAF cuando los eventos clínicos y los hallazgos de laboratorio son los "clásicos" del síndrome, desconoce hallazgos "no clásicos" que bien podrían formar parte de él, dado que las fronteras clínicas y de laboratorio de este trastorno aún se desconocen (2, 3). El SAF se ha constituido en una entidad nosológica siempre cambiante, lo que implica que la tarea de elaborar sus criterios diagnósticos ha de ser siempre perfectible por inacabada. Lo único que parece cierto es que la trombosis arterial y venosa asociada al criterio biológico de anticuerpos IgG anti-cLP a títulos altos, es un criterio mayor de SAF (4), pero es incierto el diagnóstico del síndrome a títulos bajos.

Fue el grupo de Londres para el estudio de SAF primario y secundario el que primero propuso puntos de corte para positividad diagnóstica de los anticuerpos anti-cLP, tanto IgG como IgM, estableciendo como rango normal menos de 5 unidades GPL o MPL, positivo bajo el intervalo entre 5 y 20 unidades, positivo moderado entre 20 y 80, y positivo alto mayor de 80 unidades (5, 6), límites que por consenso ratificó el Octavo Simposio Internacional para la clasificación de SAF, último en su género (3).

El empleo que hasta ahora se ha hecho de términos cualificadores para el diagnóstico de SAF según recomendaciones normadas internacionalmente por consenso, debe dar paso a recomendaciones sustentadas en métodos matemáticos de agrupación. Es el propósito de este estudio, mediante análisis univariante de conglomerados, proponer límites de rangos cualificadores del SAF, en pacientes con trombosis venosa o arterial, en relación con los niveles séricos de anticuerpos IgG anti-cLP, única variable numérica continua que es capaz de discriminar el diagnóstico de SAF (4).

## Material y métodos

Entre enero de 1998 y julio de 2000, se realizó un estudio descriptivo prospectivo, mediante la inclusión de todos los casos incidentes de eventos oclusivos vasculares en pacientes con edad igual o mayor a 17 años, asistidos en el Hospital San Juan de Dios de Bogotá conjuntamente por las Unidades de Hematología y Reumatología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia.

La definición operacional de evento oclusivo vascular fue el diagnóstico inequívoco por parte del médico tratante, de:

Compromiso de perfusión arterial de extremidades, sin alteraciones electrocardiográficas del ritmo cardíaco.

Déficit neurológico cerebral definitivo, motor y/o sensitivo, asociado o no a convulsiones, con documentación por neuroimágenes de evento oclusivo arterial o venoso.

Tromboflebitis venosa profunda de extremidades y casos de alta probabilidad de tromboembolismo pulmonar por gamagrafía de perfusión asociados o no con diagnóstico de trombosis venosa profunda.

A todos los pacientes se les cuantificó IgG anti-cLP mediante técnica de micro ELISA (*enzyme linked immunosorbent assays*), siguiendo las recomendaciones especificadas para el reactivo comercial de la casa INOVA. Los resultados se leyeron en un microlector ELISA (DIAMEDIX BP-96) a 450 nm y se informaron en unidades GPL. Cada unidad tiene la actividad de unión de 1 mg/ mL de anticuerpo anti-cLP purificado.

## Métodos estadísticos

El análisis estadístico se realizó mediante el programa de computadora SPSS versión 8.0. Con la intención de obtener el mayor aprovechamiento del análisis de conglomerados, se combinaron un análisis jerárquico inicial con un análisis ulterior no jerárquico (de "K-medias"). El análisis jerárquico se realizó con la finalidad de obtener, mediante la interpretación del árbol gráfico de agrupación (dendograma), el número posible de agrupaciones a realizar y para calcular los promedios de la variable estandarizada para cada uno de los conglomerados, los cuales sirvieran de "nidos" o centros para el análisis no jerárquico. El análisis jerárquico aglomerante se inició con la formación de la matriz de proximidad, mediante el cálculo de distancias euclidianas para todos los pares de casos, con base en una única variable estandarizada (IgG anti-cLP). La regla de agrupamiento (*linked together o linkage*) utilizada, fue el promedio entre grupos (*between-groups linkage*). Se emplearon la media, la mediana y los valores mínimos y máximos de la variable analizada, para describir las medidas de resumen que determinaron las diferencias entre los grupos (7-11).

La descripción de la distribución de frecuencias por edad para los diferentes grupos se realizó mediante la mediana y los límites inferior y superior del rango intercuartil.

La descripción de los eventos trombóticos discriminados por territorios vasculares y su relación con el diagnóstico de lupus eritematoso sistémico (LES) y por conglomerados se realizó mediante una tabla de frecuencias.

## Resultados

Se incluyeron un total de 42 pacientes, 33 mujeres y 9 hombres, dando una relación mujer: hombre de 3.7: 1. Se inició el análisis jerárquico de aglomeración, obteniendo la matriz de coeficientes de distancias euclidianas para cada par de pacientes y las puntuaciones estandarizadas de los niveles de IgG anti-cL para cada paciente (no mostrados).

Una vez calculados los coeficientes de distancia, se formaron los diferentes grupos mediante el cálculo de los respectivos coeficientes de aglomeración para cada estadio, que van desde cero para los primeros tres estadios hasta 149.68 para el último. En el dendograma de la Figura 1, se muestra el proceso de agrupamiento de los 42 pacientes en la medida que el coeficiente de aglomeración aumenta (distancia reescalada de 0 a 25 en la parte superior de la figura). Se escogió como punto de corte del dendograma para determinar el número ideal de grupos a estudio (distancia reescalada límite de diferenciación), el valor reescalado de 10 sobre la línea de distancias, ya que a ese nivel se observa una clara separación entre tres conglomerados que discurren distancias prolongadas.

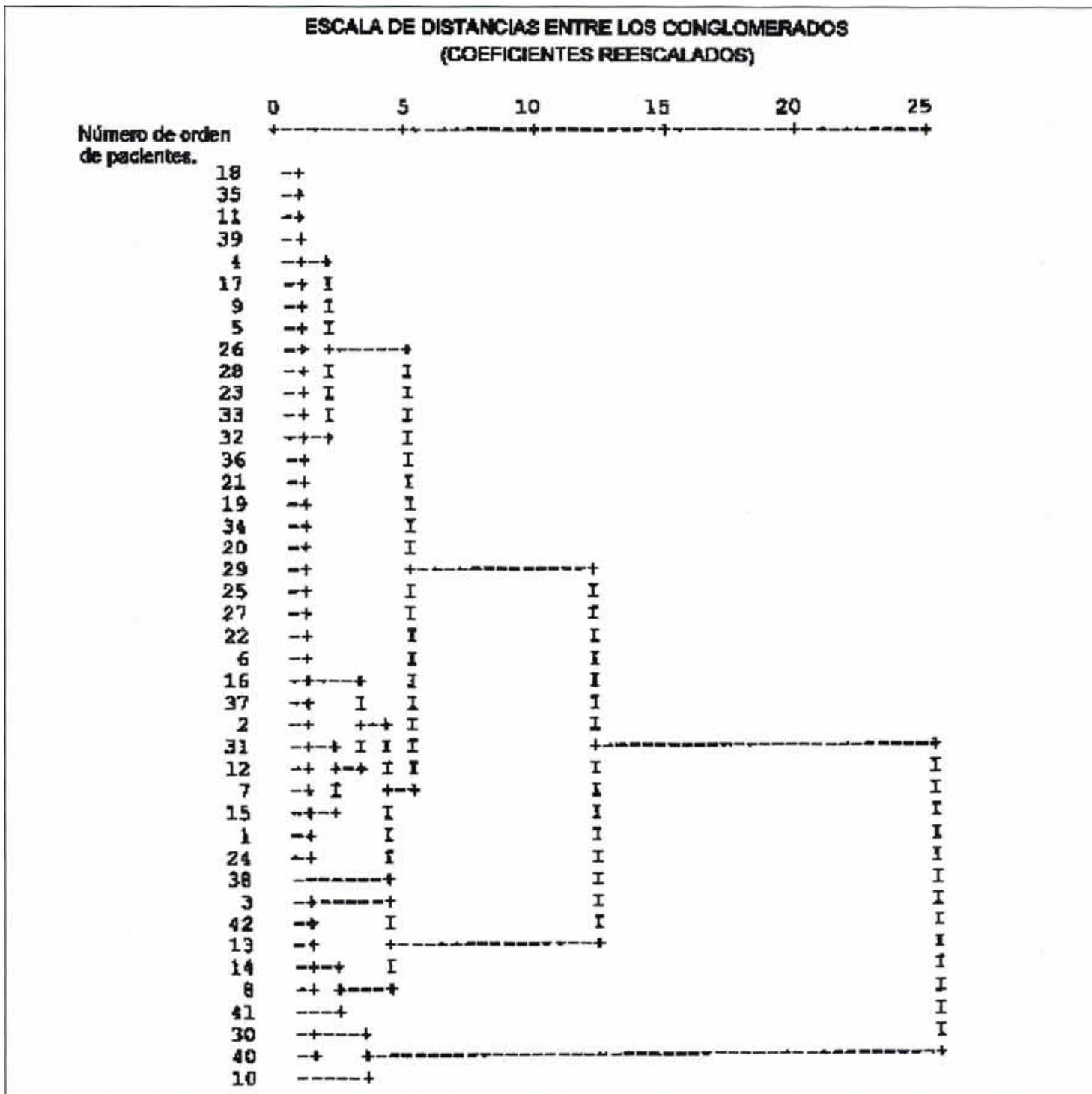


Figura 1. Arbol gráfico (dendograma) que muestra el proceso de agrupación de 42 pacientes con trombosis vascular según niveles de IgG anti-cLP. Regla de agrupamiento: promedio entre grupos (between-groups linkage).

Así pues, la interpretación del dendograma indica que podrían ser tres los conglomerados a formar. Las medias estandarizadas para cada grupo o conglomerado, que constituyeron los "nidos" o centros del análisis no jerárquico así como las distancias finales entre los grupos se muestran en la Tabla 1. La Tabla 2 informa el total de pacientes incluidos en cada grupo o conglomerado con los valores grupales de media, mediana, mínimo y máximo de las mediciones de IgG anti-cLP en unidades GPL. En la Tabla 3 se muestra la distribución de frecuencias por edad para cada grupo.

Tabla 1. Medias estandarizadas de IgG anti-cLP iniciales y finales de los diferentes grupos en el análisis de conglomerados no jerárquico de "K-medias" y distancias entre los centros de los conglomerados al final del análisis.

Centros iniciales de los grupos			
IgG anti-cLP	Grupos		
	1	2	3
Puntuación Z	-0,44651	1,01050	2,89058
Centros finales de los grupos			
Puntuación Z	-0,47152	0,91672	2,89058
Distancias finales entre los centros de los grupos			
Grupo 1		1,388	3,362
Grupo 2	1,388		1,974
Grupo 3	3,362	1,974	

Tabla 2. Medidas de resumen de los valores de IgG anti-cLP distribuidas para cada conglomerado.

GRUPO	IgG anti-cLP (unidades GPL)				
	Casos	Media	Mediana	Mínimo	Máximo
1	32	22.00	18.00	7.50	49.80
2	7	88.75	89.40	61.70	109.00
3	3	183.67	187.00	174.00	190.00

Tabla 3. Distribución de frecuencias por edad (años) para cada conglomerado.

Grupo	Casos	Mediana (años)	Límites del RIC*	
			Inferior	Superior
1	32	33.5	26.2	37.8
2	7	33.0	22.0	41.0
3	3	41.0	40.5	49.0

\* rango intercuartil.

La distribución de frecuencias en relación con el diagnóstico de oclusión vascular y su relación con el diagnóstico de LES y por conglomerados, se muestra en la Tabla 4.

Tabla 4. Distribución de frecuencias en relación con el diagnóstico de oclusión vascular y su relación con el diagnóstico de lupus eritematoso sistémico y por conglomerados.

Diagnóstico	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Total
Lupus + ACV*	6	3	2	11
Lupus + Trombosis arterial o venosa.	7	1	0	8
Trombosis venosa y/o TEP*	10	1	1	12
Trombosis arterial periférica	4	1	0	5
ACV*	5	1	0	6
<b>Total</b>	<b>32</b>	<b>7</b>	<b>3</b>	<b>42</b>

\* accidente cerebrovascular.    + tromboembolismo pulmonar.

## Discusión

En 1983, Graham Hughes llamó la atención sobre el SAF, siendo 1985 el año en que se acuñó su nombre. Desde entonces, se viene reconociendo cada vez mayor número de pacientes con esta entidad nosológica, pero persisten las dudas de si se están empleando los criterios correctos para su diagnóstico. En la medida en que más pacientes son examinados y varios miles de sueros son tamizados con pruebas para detectar anticuerpos anti-cLP, surge la fuerte convicción que se está ante un síndrome relativamente distintivo pero que probablemente ocurre menos frecuentemente de lo que el creciente número de informes en la literatura médica hace suponer (12, 13).

Aunque con excepciones, los informes de estudios muestran que la mayoría de pacientes con manifestaciones clínicas particulares del síndrome tienen títulos moderados a altos de IgG anti-cLP, constituyéndose en el marcador biológico de mayor capacidad diagnóstica discriminativa.

Al valorar pacientes individuales, ha hecho carrera la cualificación del diagnóstico con términos tales como "posible" y "probable", y se lee insistentemente la necesidad de adecuar el término de SAF "equivoco". Con base en los resultados del presente estudio, se propone el diagnóstico de SAF inequívoco en pacientes con trombosis vascular con niveles séricos de anticuerpos IgG anti-cLP iguales o superiores a 50 unidades GPL y considerar otros diagnósticos para títulos inferiores o bien, complementar el estudio con pruebas de detección de anticoagulante lúpico (AL). El empleo de títulos altos de IgG anti-cLP ofrecerá una mayor especificidad en el diagnóstico de SAF, y disminuirá la frecuencia de potenciales "falsos positivos" a títulos "bajos positivos", adoptados por consenso (14).

Es claro que el SAF ocurre en pacientes con síndromes clínicos parecidos al LES (*lupus-like*), pacientes con lupus "atípico" y, como es de esperarse, en pacientes sin lupus.

La distinción entre SAF "primario" y SAF asociado a LES se convierte en ocasiones en verdadero enigma para el clínico. El término "SAF primario" fue propuesto por Asherson (15) para "pacientes que no tienen ninguna manifestación de lupus". Posteriormente se evidenció que los criterios del *American College of Rheumatology (ACR)* para la clasificación del LES, actualmente empleados para el diagnóstico a pesar de haber sido elaborados como discriminantes entre el LES y la artritis reumatoidea, no son relevantes en la discusión diagnóstica del SAF primario.

Los pacientes con "verdadero SAF primario" pueden satisfacer varios de los criterios del *ACR*, debido a la presencia de compromiso orgánico inducido posiblemente por trombosis, tales como derrame pleural o pericárdico, proteinuria, y aun convulsiones, y de anomalías biológicas tales como falsos reactivos de pruebas serológicas para lúes (VDRL), trombocitopenia de leve a moderada, anemia hemolítica, linfopenia leve y títulos en rango medio por ELISA de anticuerpos antinucleares y/o anti-DNA de doble cadena (16).

Es posible reconocer con base en diferencias de presentación clínica y perfil serológico de autoinmunidad, subgrupos homogéneos de LES con diferentes patrones de expresión de la enfermedad. Así, los anticuerpos antifosfolípidicos distinguen subgrupos adicionales homogéneos de LES. Se ha informado aumento de la prevalencia de trombosis en LES con presencia de IgG anti-cLP y anti-La (SSB) y baja prevalencia en LES con anti-DNA de doble cadena (17). Además, en pacientes con SAF relacionado con LES, la presencia concomitante de anticuerpos anti-cLP y AL se asocia con trombosis arterial en 84% de los pacientes, comparado con 16% de frecuencia de trombosis arterial en aquellos que únicamente tienen IgG anti-cLP. Así pues, parecería ser que el mayor riesgo de trombosis en SAF relacionado con LES depende de la presencia de variadas proteínas que actuarían como cofactores fisiopatológicos (18-20)

En este estudio sólo se midió el isotipo IgG de los anticLP. Los resultados en pacientes con LES (Tabla 4) sugieren que los anticuerpos IgG anti-cLP aisladamente de otros anticuerpos antifosfolípidicos, son de valor limitado en el diagnóstico de SAF asociado a LES, o que el SAF puede no estar asociado con isquemia cerebral en todos los grupos de pacientes con LES, o bien que la frecuencia de SAF es baja en relación con otras potenciales causas de isquemia cerebral en el LES (cardioembolismo, estado hipercoagulable, enfermedad aterosclerótica o combinación de ellas).

La frecuencia de trombosis periféricas no asociadas al SAF supera a la de trombosis asociada al SAF, independientemente de la presencia del LES (Tabla 4). A diferencia del anticuerpo anti-cLP, cuya sensibilidad en pacientes con SAF llega hasta 80-90%, la presencia de AL es menos frecuentemente positiva (10-20%), pero aun así se la considera como más específica para el diagnóstico. Su especificidad, aunque incompleta, radica en que se la encuentra positiva mucho menos frecuentemente en trombosis no asociada al SAF (14).

Para el diagnóstico más confiable del SAF se necesita que la prueba a emplear además de específica, sea igualmente sensible, siendo dos las preparaciones antigénicas candidatas para este propósito. La primera y más extensamente estudiada, la  $\beta$ 2-glicoproteína 1 ( $\beta$ 2GPI), parece ser un antígeno relativamente específico para autoanticuerpos presentes en SAF. Su sensibilidad diagnóstica oscila entre 40% y 90% y su especificidad es de 82%, dependiendo de la selección de los pacientes y de la técnica utilizada. El segundo antígeno es la mezcla de fosfolípidos *AphL*<sup>R</sup>, preparado como un estuche comercial por *Louisiana APL Diagnostics (AphL®ELISA Kit)*, que ha mostrado sensibilidad de 98% y especificidad de 99%, el de mayor rendimiento diagnóstico en el SAF (14, 21-23).

Un diagnóstico de SAF puede hacerse con confianza en un paciente que presenta hallazgos clínicos bien documentados de trombosis venosa o arterial, y títulos de IgG anti-cLP iguales o mayores a 50 unidades GPL o una prueba positiva de AL. Sin embargo, existen situaciones en las cuales debe utilizarse anti- $\beta$ 2GPI o el *AphL*<sup>R</sup>ELISA Kit para confirmar el diagnóstico. Tales situaciones pueden resumirse en (2, 14):

1. Pacientes con trombosis venosa o arterial con títulos de IgG anti-cLP inferiores a 50 unidades GPL, o únicamente IgM o IgA anti-cLP.
2. Pacientes con hallazgos clínicos "no clásicos" de SAF o cuando los eventos oclusivos vasculares puedan ser atribuidos a otros factores diferentes al SAF.
3. Pacientes con hallazgos clínicos que son muy sugestivos de SAF, pero con anti-cLP y AL negativos.
4. Pacientes con SAF pueden igualmente tener anticuerpos dirigidos contra otras proteínas, tales como proteínas C y S de la coagulación, protrombina y anexinas. Si solamente son positivos estos anticuerpos, no debe diagnosticarse SAF.

## Summary

**Objective.** To propose, through mathematical methods of cluster analysis and in relation with sera levels of IgG anti-cardiolipin (anti-cLP) antibodies, classificatory limits to diagnose antiphospholipid syndrome (SAF), in patients with venous or arterial thrombosis.

**Design.** Descriptive and prospective study.

**Place and time of study.** Hematology and Rheumatology Units of the Faculty of Medicine, Universidad Nacional de Colombia and San Juan de Dios Hospital, in Bogotá, between January 5, 1998 and July 12, 2000.

**Patients and methods.** All patients 17 years old or older, with incident events that fulfill the operational definition of vascular occlusive event, arterial or venous, were included. Forty two patients were evaluated. Age, sex and diagnosis of Systemic Lupus Erythematosus disease were recorded and sera levels of IgG anti-cLP antibodies, in GPL units, were determined by micro-ELISA method.

At first, the cluster analysis performed, was an agglomerative hierarchical clustering method, followed up by a nonhierarchical method. Initially, Euclidean distances were employed to construct the distance matrix between each pair of cases, rested upon a single standardized variable (IgG anti-cLP). The between-groups linkage was the linkage algorithm employed. Mean, median, minimum and maximum values of IgG anti-cLP, were the summary measures used to characterize the differences between groups.

**Results.** In 42 patients included, the female: male ratio was 3.7: 1. Analysing the dendogram, constructed with the agglomerative coefficients matrix, it should be possible to consider just three groups, with the following minimum and maximum values of IgG anti-cLP, in GPL units: Group 1, 7.5 and 49.8; Group 2, 61.7 and 109; Group 3, 174 and 190.

**Discussion.** In patients with vascular thrombosis, a diagnosis of unequivocal SAF may be done with sera levels of IgG anti-cLP antibodies equal or greater than 50 GPL units. Other diagnostics have to be considered with lower levels or perform complementary studies with tests to detect "lupus anticoagulant" or other specific autoantibodies present in SAF.

**Key words.** *Unequivocal antiphospholipid syndrome, IgG anti-cardiolipin.*

## Referencias

1. Carreras LO, Forastiero RR, Martinuzzo ME. Which are the Best Biological Markers of the Antiphospholipid Syndrome? *Journal of Autoimmunity* 2000; 15: 163-172.
2. Harris EN, Pierangeli SS. "Equivocal" Antiphospholipid Syndrome. *Journal of Autoimmunity* 2000; 15: 81-85.
3. Wilson WA, Gharavi AE, Koike Y, et al. International Consensus Statement on Preliminary Classification for Definite Antiphospholipid Syndrome. Report of an International Workshop, *Arthritis Rheum* 1999; 42:1309-1311.
4. Iglesias A, Martínez O, Rojas C, et al. Evaluación de la capacidad de discriminación de marcadores clínicos y biológicos para el diagnóstico de trombosis por síndrome antifosfolípido. *Acta Med Colomb* 2000; 25: 68-74.
5. Harris EN, Baguley E, Asherson RA, Hughes GRV. Clinical and serological features of the "antiphospholipid syndrome". *Br J Rheumatol* 1987; 26 (Suppl 2): 19.

6. Asherson RA, Khamashta MA, Ordi-Ros J, et al. The "Primary" Antiphospholipid Syndrome: Major Clinical and Serological Features. *Medicine* 1989; 68: 366-374.
7. Everit B, Dunn G. Cluster Analysis. In: Everit B, Dunn G., eds. *Applied Multivariate Data Analysis*. London: Edward Arnold; 1991: 99-126.
8. Everit B. Cluster Analysis. In: Everit B. *Statistical methods for medical investigations* 2nd. ed. London: Edward Arnold; 1994: 149-163.
9. Ferrán M. Análisis de conglomerados. In: Ferrán M., ed. *SPSS para Windows. Programación y análisis estadístico*. Madrid: McGraw Hill/Interamericana; 1996: 395-419.
10. Hair J, Anderson R, Tathan R, Black W. Cluster Analysis. In: Hair J, Anderson R, Tathan R, Black W. *Multivariate data analysis*. Fourth Ed. New Jersey: Prentice Hall; 1995: 420-483.
11. Visauta B. Cluster análisis. In: Visauta B., ed. *Análisis estadístico con SPSS para Windows. Estadística multivariante*. Madrid: McGraw Hill/Inteamericana 1998: 167-217.
12. Harris EN. A Reassessment of the Antiphospholipid Syndrome. *J Rheum* 1990; 17: 733-735.
13. Hughes GRV. Hughes' syndrome: The antiphospholipid syndrome. A historical view. *Lupus* 1998; 7 (Suppl 2): S1-S4.
14. Harris EN, Pierangeli SS, Gharavi AE. Diagnosis of the antiphospholipid syndrome: A proposal for use of laboratory tests. *Lupus* 1998; 7 (Suppl 2): S144- S148.
15. Asherson RA. A "primary" antiphospholipid syndrome? *J Rheumatol* 1988; 15: 1742-1746.
16. Piette JC. 1996 diagnostic and classification criteria for the antiphospholipid/ cofactors syndrome: a "mission imposible"? *Lupus* 1996; 5: 354-363.
17. Cervera R, Khamashta MA, Font J, et al. The European Working Party on Systemic Lupus Erythematosus. Systemic Lupus Erythematosus: Clinical and Immunologic Patterns of Disease Expression in a Cohort of 1,000 Patients. *Medicine* 1993; 72: 113-124.
18. Brey RL, Escalante A. Neurological manifestations of antiphospholipid antibody syndrome. *Lupus* 1998; 7 (Suppl 2): S67-S74.
19. Nojima J, Suehisa E, Akita N, et al. Risk of arterial thrombosis in patients with anticardiolipin antibodies and lupus anticoagulant. *Br J Haematol* 1997; 96: 447- 450.
20. Levine SR, Brey RL. Neurological aspects of antiphospholipid antibody syndrome. *Lupus* 1996; 5: 347-353.
21. Kandiah DA, Krilis SA. Immunology and Methods of Detection of Antiphospholipid Antibodies. In: Asherson RA, Cervera R, Piette JC, Shoenfeld Y., eds. *The Antiphospholipid Syndrome*. Boca Raton: CRC Press; 1996: 29-48.
22. Tsutsumi A, Ichikawa K, Matsura E, Koike T. Anti- $\beta$ 2-glicoprotein 1 antibodies. *Lupus* 1998; 7 (Suppl 2): S98-S 102.
23. Tincani A, Spatola L, Cinquini M, et al. Anti- $\beta$ 2-glicoprotein 1 antibodies: clinical significance. *Lupus* 1998; 7 (Suppl 2): S107-S 109.