

Inhibidor lúpico en pacientes sin complicaciones trombóticas u obstétricas

Lupus anticoagulant in patients without thrombotic or obstetric complications

Remotti L⁽¹⁾, Grosso SH⁽¹⁾, Ingratti MF⁽¹⁾, Vera Morandini MP⁽¹⁾, Woods AI⁽²⁾, Bermejo EI⁽¹⁾, Sánchez-Luceros A⁽¹⁻²⁾, Meschengieser SS⁽¹⁾, Lazzari MA⁽²⁾, Blanco AN⁽¹⁾.

⁽¹⁾ Departamento de Hemostasia y Trombosis, Instituto de Investigaciones Hematológicas "Mariano R. Castex", Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires, Argentina.

⁽²⁾ Laboratorio de Hemostasia y Trombosis, IMEX-CONICET, Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires, Argentina.

lremotti@hematologia.anm.edu.ar

Fecha de recepción: 04/04/2016
Fecha de aprobación: 01/07/2016



ARTÍCULO ORIGINAL

HEMATOLOGÍA
Volumen 20 n° 2: 174 - 181
Mayo - Agosto 2016

VER COMENTARIO EDITORIAL EN PÁGINA 201

Palabras clave: Inhibidor lúpico, No-síndrome antifosfolípido, Hemorragia.

Keywords: Lupus coagulation inhibitor, No-antiphospholipid syndrome, Hemorrhage.

Resumen

El inhibidor lúpico (IL) es un criterio de laboratorio para síndrome antifosfolípido (SAF); sin embargo, puede detectarse en individuos asintomáticos o estar asociado a otras situaciones clínicas.

Presentamos un análisis retrospectivo de 2000 exámenes consecutivos para IL (TTPA, DRVVT), de los cuales 499 casos no presentaban criterios clínicos de SAF (trombosis o complicaciones obstétricas). Aplicando los criterios SSC-ISTH, hallamos IL+ en 27,3% (410/1501) y 43,3% (216/499) de los casos con y sin clínica de SAF respectivamente,

analizándose en los casos no-SAF las características clínicas y de laboratorio.

Contexto clínico de casos IL+ no-SAF: 18,0% asintomáticos, 34,3% sangrado (epistaxis, gingivorragia, equimosis, hematomas espontáneos) y 47,7% otras manifestaciones (infertilidad, insuficiencia renal crónica, desórdenes autoinmunes, cardiopatía isquémica, trombocitopenia inmune, entre otras).

Otras alteraciones de laboratorio en casos IL+ no-SAF, con síntomas de sangrado: alteraciones plaquetarias, descenso de VWF:RCo y/o VWF:Ag, dis-

minución de FVIII, FII, FV, FVII, FXI o fibrinógeno (sólo o sumado a disminución de plaquetas o FX), inhibidor a-FV o hiperfibrinolisis fueron detectadas en el 55,4% de los casos.

El análisis mostró IL+ en un número importante de estudios (216/2000) sin criterios de SAF (1,95% en individuos asintomáticos, 3,70% en pacientes con síntomas de sangrado y 5,15% en casos con otro

contexto clínico). Los casos con IL+ y sangrado representan un desafío particular, al requerir evaluar otros posibles defectos subyacentes, que pudiesen justificar el comportamiento clínico. La detección e identificación de defectos combinados requiere de un análisis minucioso, a fin de alcanzar un diagnóstico correcto, esencial para tomar decisiones terapéuticas adecuadas.

Abstract

Despite lupus anticoagulant (LA) is a laboratory criterion for antiphospholipid syndrome (APS), it can be present in asymptomatic subjects or it can be associated with other clinical settings.

We present a retrospective analysis of 2000 consecutive LA assays (APTT, DRVVT), 499 of them were performed in patients without APS clinical criteria (thrombosis or obstetric complications). According to SSC-ISTH criteria, LA+ was found in 27.3% (410/1501) and 43.3% (216/499) of cases with or without APS criteria respectively; in no-APS group, the analysis of clinical background and laboratory features was done.

Clinical background of LA+ cases no-APS: 18.0% asymptomatic, 34.3% bleeding symptoms (epistaxis, gingivorrhagia, bruising, spontaneous hematomas) and 47.7% other clinical settings (infertility, chronic kidney disease, autoimmune disorders, ischemic heart disease, idiopathic thrombocytopenic

purpura, among others).

Other abnormal laboratory tests in LA+ cases no-APS with bleeding symptoms: platelet dysfunction; low VWF:RCo and/or VWF:Ag; decrease of FVIII, FII, FV, FVII, FXI or fibrinogen (alone or with low platelet count or low FX), a-FV inhibitor and hyperfibrinolysis were found in the 55.4% of the cases.

The analysis showed LA+ in an important number of cases (216/2000) without APS criteria (1.95% in asymptomatic cases, 3.70% in patients with bleeding symptoms and 5.15% in cases with other clinical settings). Those LA+ cases with bleeding symptoms represent a particular challenge because other possible underlying defects have to be analysed in order to explain the clinical behaviour. The detection and identifications of combined defects required a careful analysis in order to achieve an accurate diagnosis, essential for therapeutic decisions.

Introducción

El inhibidor lúpico (IL) ha sido reportado en pacientes con síndrome antifosfolípido (SAF) y es reconocido como uno de los criterios de laboratorio para definir este síndrome⁽¹⁾. Sin embargo, puede detectarse como un hallazgo de laboratorio en individuos asintomáticos o estar presente asociado a otras situaciones clínicas, como desórdenes autoinmunes (LES⁽²⁾, síndrome de Sjögren⁽³⁾), enfermedades hematológicas (mieloma múltiple⁽⁴⁾, macroglobulinemia de Waldenström⁽⁵⁾), defectos congénitos o adquiridos de la hemostasia (hemofilia^(6,7), VWD⁽⁸⁾) e infecciones⁽⁹⁾. En niños se detecta frecuentemente IL al investigar valores prolongados de tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPA) pre-cirugía; el efecto suele ser transitorio, asociado a infecciones⁽¹⁰⁾.

Dado que el IL no se asocia *per se* a sangrado, en aquellos pacientes con clínica hemorrágica se debe sospechar otro defecto subyacente, como déficit de factores, otro inhibidor o alteraciones plaquetarias. En estos casos, el IL puede dificultar la detección del defecto y/o el seguimiento del tratamiento⁽⁷⁾, de allí la importancia de un adecuado diagnóstico y caracterización del inhibidor⁽⁶⁾. Es factible la coexistencia de IL con otros anticuerpos o inhibidores específicos de factores de la coagulación, que puede combinarse además con déficit de factor/es, complicando aún más el diagnóstico⁽⁶⁾. Como ejemplo podemos citar la concomitancia de IL y aFVIII asociada a mieloma múltiple o gammapatías monoclonales de significado incierto (MGUS)⁽¹¹⁾; así como la concomitancia de IL

y aFVIII en hemofílicos A^(6,7). Además, el IL puede asociarse a hipoprotrombinemia adquirida, en el marco de enfermedades autoinmunes o enfermedades hematológicas^(12,13).

De lo expuesto surge que el IL puede presentarse en un contexto clínico diferente al del SAF y coexistir con otras alteraciones de la hemostasia; además, puede interferir en la identificación de otros desórdenes, con la consiguiente implicancia en la toma de decisiones clínicas.

Con el objetivo de evidenciar cuán frecuente es la presentación de IL positivo en un contexto clínico diferente del SAF, nos propusimos evaluar una cohorte de estudios consecutivos de IL. Analizamos retrospectivamente las características clínicas y de laboratorio de aquellos casos con pruebas positivas para IL, a fin de describir la expresión clínica observada y otras eventuales alteraciones de laboratorio, además de constatar si el patrón de pruebas para IL mostraba diferencias entre los casos con o sin clínica de SAF.

Materiales y Métodos

Muestra analizada: Se evaluaron retrospectivamente los resultados de 2000 exámenes consecutivos de IL, realizados en la Institución en un periodo de dos años. La inclusión en el análisis fue independiente de las manifestaciones clínicas asociadas o del motivo de consulta, tampoco hubo restricción etaria. La solicitud del estudio estuvo relacionada a dos situaciones diferentes: a) la condición clínica del paciente justificaba la investigación de IL o b) el hallazgo de TTPA prolongado, sin corrección en mezcla con plasma normal, en el contexto de un estudio de hemostasia solicitado en base a la clínica del paciente. Las muestras analizadas provienen de individuos registrados y evaluados clínicamente en la Institución, quienes firmaron el consentimiento informado para la realización de los estudios. El proyecto de investigación contó con la aprobación del Comité de Ética del IIHEMA, conforme a las normas éticas de la declaración de Helsinki 1975.

Muestras: COAGULACIÓN: sangre recogida en citrato de sodio 3,13% (9:1); obtención de plasma pobre en plaquetas (PPP) por doble centrifugación (15 minutos a 2000-2500g); una alícuota se utilizó para determinar las pruebas globales y los factores de coagulación; el resto se almacenó a -20°C o -70°C para

posterior realización de otras pruebas.

FIBRINOLISIS: sangre obtenida en citrato ácido de sodio (9:1); PPP obtenido también por doble centrifugación.

FUNCIONALIDAD PLAQUETARIA: sangre obtenida en citrato de sodio 3,8% (9:1); plasma rico en plaquetas obtenido por centrifugación durante 5 min a 100g.

Laboratorio: Además de las pruebas recomendadas internacionalmente para IL, se realizaron pruebas básicas de coagulación; en algunos casos se realizaron además otros estudios de hemostasia (factor von Willebrand, función plaquetaria, fibrinólisis), acorde a las necesidades diagnósticas particulares.

PRUEBAS BÁSICAS DE COAGULACIÓN: en todos los casos se efectuaron las determinaciones de TP, TTPA y TT, según las técnicas habituales⁽¹⁴⁾.

DETECCIÓN DE IL: se realizaron las pruebas de TTPA-reactivo sensible y tiempo de veneno de víbora Russell diluido (DRVVT), seguidos de estudios de mezcla con normal para verificar el criterio de no corrección y neutralización del defecto con fosfolípidos, para confirmar la dependencia de los mismos, aplicando las recomendaciones y criterios establecidos por el SSC-ISTH^(15,16). En algunos estudios en los cuales el IL fue un hallazgo, se realizó exclusivamente la prueba del TTPA.

DETERMINACIÓN DE FACTORES: fibrinógeno funcional (método de Clauss)⁽¹⁷⁾ e inmunológico (método de Laurell)⁽¹⁷⁾ y actividad de otros factores (técnicas coagulométricas en una etapa)⁽¹⁸⁾.

CURVAS DE DILUCIÓN: determinación de la actividad coagulante de los factores en diluciones progresivas⁽¹⁹⁾.

TIEMPO DE SANGRÍA: método de Ivy⁽²⁰⁾.

ADHESIVIDAD PLAQUETARIA: método de HELLEM II⁽²¹⁾.

AGREGACIÓN PLAQUETARIA: inducida por diferentes agentes según el método de Born⁽²²⁾.

ANTÍGENO DE VON WILLEBRAND (VWF:Ag): técnica de ELISA⁽²³⁾.

ACTIVIDAD DE COFACTOR DE RISTOCETINA (VWF:RCO): agregometría⁽²⁴⁾.

TIEMPO DE LISIS DE EUGLOBULINAS: método de Kowalski y col.⁽²⁵⁾.

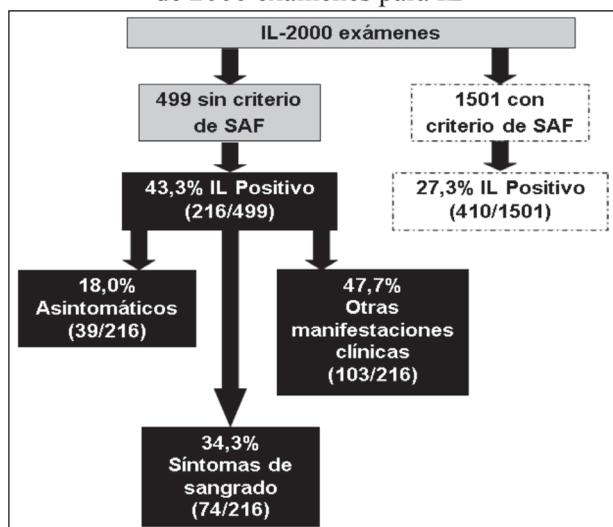
Estadística. Los resultados de laboratorio y los datos clínicos fueron volcados en una base de datos, estimándose la frecuencia de IL positivo en los di-

ferentes grupos mediante el software de Microsoft Excel. La comparación del patrón de las pruebas positivas para IL (TTPA y/o DRVVT) en los estudios de individuos con o sin SAF, se realizó mediante la prueba no paramétrica de Chi cuadrado. Se consideraron estadísticamente significativas aquellas diferencias con $p < 0,05$.

Resultados

Los datos se dividieron según correspondiesen a individuos con o sin criterios clínicos de SAF. De los 2000 exámenes consecutivos para IL, 499 correspondieron a individuos sin criterios de SAF (425 mujeres y 74 hombres; edad: 2 - 79 años) y 1501 a individuos con clínica de SAF (1301 mujeres y 200 hombres; edad: 1 - 86 años). Hallamos al menos una prueba positiva para IL en 43,3% (216/499) de los casos sin SAF y 27,3% (410/1501) de aquellos con SAF (**Figura 1**); lo que corresponde a 10,8% (216/2000) y 20,5% (410/2000), respectivamente, de todos los estudios realizados.

Figura 1 Diagrama del análisis de los resultados de 2000 exámenes para IL



El análisis retrospectivo mostró 499 estudios realizados en individuos sin criterios clínicos de SAF, de los cuales el 43,3% fue positivo; el contexto clínico fue: 18,0% asintomáticos, 34,3% síntomas de sangrado y 47,7% otras manifestaciones clínicas. El 27,3% de los 1501 estudios realizados en individuos con clínica de SAF, fue positivo. IL: inhibidor lúpico; SAF: síndrome antifosfolipídico.

En aquellos estudios IL positivos que contaban con la realización de ambas pruebas (TTPA y DRVVT) se analizó el patrón de positividad en los estudios

de individuos con (n=410) o sin (n=144) SAF, no observándose diferencias significativas ($p = 0,1264$) entre los grupos. En ambos casos se observó que la mayoría presentaba sólo DRVVT positivo (SAF: 65,1%; no-SAF: 56,2%) y en menor proporción ambas pruebas positivas (SAF: 21,5%; no-SAF: 29,2%) o sólo TTPA (SAF: 13,4%; no-SAF: 14,6%).

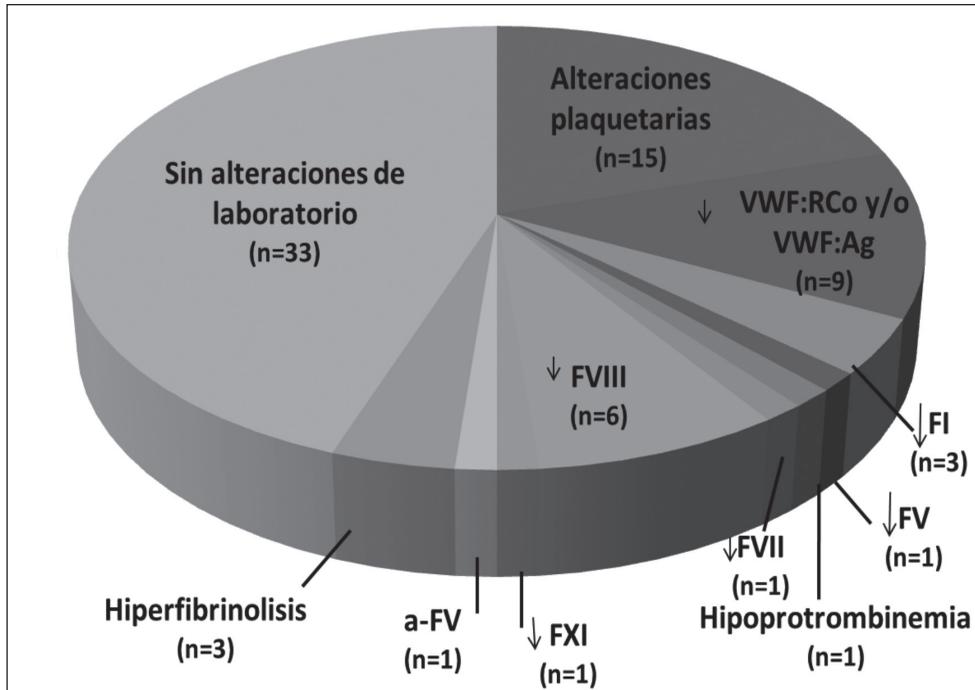
El análisis del contexto clínico en el grupo sin criterios clínicos de SAF e IL positivo mostró (**Figura 1**) que el 18,0% (39/216) de los casos eran asintomáticos; el 34,3% (74/216) presentaban síntomas de sangrado (epistaxis, gingivorragia, equimosis, hematomas espontáneos) y el 47,7% (103/216) tenían otras manifestaciones clínicas; lo que corresponde a 1,95% (asintomáticos), 3,70% (sangrado) y 5,15% (otros), respectivamente, del total de estudios analizados. El grupo identificado como “otras manifestaciones clínicas” incluía infertilidad (n=47), insuficiencia renal crónica (n=32), desórdenes autoinmunes (n=9), cardiopatía isquémica (n=4), trombocitopenia inmune (n=3), enfermedades hematológicas (n=2), enfermedades infecciosas/inflamatorias (n=2), parestesia (n=2), alteración neuronal (n=1) y edema de pulmón (n=1).

La evaluación de los resultados de laboratorio complementarios en el grupo sin criterios clínicos de SAF, mostró que el IL se encontraba asociado a otras alteraciones en el 55,4% (41/74) de los estudios de pacientes con síntomas de sangrado. La figura 2 resume las alteraciones detectadas. Se observaron desórdenes plaquetarios como adhesividad disminuida o ausente (n=9), tiempo de sangría prolongado (n=3), recuento plaquetario disminuido (n=2) o alteración de la agregación con ADP, colágeno y adrenalina (n=1). En 9 casos se halló disminución del VWF:RCo (no detectable-50 UI/dL) y/o del VWF:Ag (9-50 UI/dL). Los niveles de VWF:RCo eran no detectables en 4 de ellos; un caso tenía enfermedad de von Willebrand (VWD) severa y los restantes mostraron efecto inhibitorio contra el VWF:RCo, asumiéndose síndrome de von Willebrand adquirido (AVWS) asociado a: MGUS, MGUS y anticuerpos anti-plaquetas o macroglobulinemia de Waldenström. En relación a los factores de coagulación, observamos niveles bajos de FVIII (20-50 UI/dL) (n=6), hipoprotrombinemia (37 UI/dL) (n=1), descenso de FV (50 UI/dL) (n=1), FVII (66 UI/dL) (n=1) o FXI (28 UI/dL) (n=1). Tres casos mostraron baja actividad funcional del fibrinó-

geno (78-130 mg/dL) y niveles normales de antígeno (200-430 mg/dL); uno de ellos con disminución concomitante del recuento plaquetario (98000/ μ L) y otro con descenso de FX (40 UI/dL). Además se de-

teció inhibidor a-FV en un caso con mieloma múltiple. La actividad fibrinolítica estaba aumentada en tres casos (uno de ellos con valores de VWF:Ag y de VWF:RCo en límite normal).

Figura 2. Resultados complementarios en individuos con síntomas de sangrado e IL+.



El gráfico muestra la distribución de las diferentes alteraciones de laboratorio detectadas. Desórdenes plaquetarios: adhesividad disminuida o ausente (n=9), tiempo de sangría prolongado (n=3), recuento plaquetario disminuido (n=2), alteración de la agregación con ADP, colágeno y adrenalina (n=1). Disminución de VWF:RCo (no detectable-50 UI/dL) y/o VWF:Ag (9-50 UI/dL), sumada a efecto inhibitorio (AVWS) en 3 casos asociado a MGUS o macroglobulinemia de Waldenström. Factores de coagulación disminuidos: FVIII (20-50 UI/dL), FXI (28 UI/dL), FVII (66 UI/dL), FV (50 UI/dL) e hipoprotrombinemia (37 UI/dL). Baja actividad funcional de fibrinógeno (FI) con niveles normales de antígeno (un caso con disminución concomitante del recuento plaquetario y otro con descenso de FX). Inhibidor anti-FV, en un caso con mieloma múltiple. Actividad fibrinolítica aumentada (un caso con valores de VWF:Ag y VWF:RCo en límite normal).

VWF:RCo: actividad de cofactor de ristocetina; VWF:Ag: antígeno de factor von Willebrand; AVWS: síndrome de von Willebrand adquirido; MGUS: gammapatía monoclonal de significado incierto; FXI: factor XI; FVIII: factor VIII; FVII: factor VII; FV: factor V; a-FV: inhibidor anti-factor V.

Discusión

En el presente estudio reportamos presencia de IL en individuos asintomáticos o en situaciones clínicas diferentes al SAF⁽¹⁹⁾. La existencia de IL en contextos semejantes a los encontrados en este análisis, como desórdenes autoinmunes (LES⁽²⁾, síndrome de Sjögren⁽³⁾), enfermedades hematológicas (mieloma múltiple⁽⁴⁾, macroglobulinemia de Waldenström⁽⁵⁾), defectos congénitos o adquiridos de la hemostasia

(hemofilia^(6,7), VWD⁽⁸⁾, AVWS⁽²⁶⁾, hipoprotrombinemia^(12,13), aFVIII⁽¹¹⁾, aFV⁽²⁷⁾) o asociado a infecciones^(9,28), como el efecto transitorio observado en niños⁽¹⁰⁾, ha sido previamente descrita. Sin embargo no hay registros, al menos en nuestro conocimiento, de la frecuencia con la cual se dan estas asociaciones. Los resultados del análisis retrospectivo de 2000 estudios consecutivos, realizado en nuestra Institución,

muestran que se detectó la presencia de IL en el 31,3% (626/2000) de los estudios. En aproximadamente un tercio de ellos (10,8%), el IL no estaba asociado a SAF, sino a diversas situaciones clínicas, presentando en algunos casos coexistencia con otras alteraciones de la hemostasia. A pesar de las diferencias clínicas, el patrón de pruebas positivas para IL observado fue semejante en los estudios de casos con o sin SAF.

Podemos decir entonces que detectamos un número importante de estudios (216/2000) IL positivos en muestras de individuos sin SAF (asintomáticos: 1,95%; síntomas de sangrado: 3,70%; otro contexto clínico: 5,15%). Al analizar los resultados completos de laboratorio en los estudios de casos con clínica hemorrágica, observamos que en más de la mitad (55,4%) de ellos se habían detectado otras alteraciones concomitantes como déficit de factores, otro inhibidor, hiperfibrinólisis o alteraciones plaquetarias. A semejanza de lo que ocurre en individuos sin IL, en una alta proporción de casos no pudo evidenciarse ninguna alteración asociada a sangrado. La coexistencia de IL con otros anticuerpos o inhibidores específicos de factores de la coagulación y/o déficit de factor/es no es frecuente, pero es una situación que dificulta el diagnóstico y/o el seguimiento del tratamiento⁽⁷⁾, de allí la importancia de una adecuada caracterización de los defectos^(6,19).

Según los resultados mostrados en este estudio, el IL puede ser detectado en diferentes situaciones clínicas y coexistir con otras alteraciones de la hemostasia. Los casos con clínica hemorrágica representan un desafío particular, dado que requieren investigar la presencia de otro defecto subyacente que pudiera justificar el comportamiento clínico. Dada la posibilidad de defectos concomitantes, la detección e identificación de los mismos requiere un análisis cuidadoso de los resultados de laboratorio, a fin de alcanzar un diagnóstico correcto, esencial para tomar decisiones terapéuticas adecuadas.

Declaración de conflictos de interés:

Los autores declaran que no poseen conflictos de interés.

Bibliografía

1. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, y col. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost* 2006; 4: 295-306.
2. Petri M. Update on anti-phospholipid antibodies in SLE: the Hopkins' Lupus Cohort. *Lupus* 2010; 19: 419-423.
3. Pasoto SG, Chakkour HP, Natalino RR y col. Lupus anticoagulant: a marker for stroke and venous thrombosis in primary Sjögren's syndrome. *Clin Rheumatol* 2012; 31: 1331-1338.
4. Alyanakian MA, Okada H, Bachelot-Loza C, Tournoux P, Varet B, Lasne D. Concomitant lupus anticoagulant and monoclonal IgMκ antibody in a patient with bleeding tendency: a case report and literature review. *Am J Hematol* 2011; 86: 868-871.
5. Tait RC, Oogarah PK, Houghton JB, Farrand SE, Haeney MR. Waldenström's macroglobulinaemia secreting a paraprotein with lupus anticoagulant activity: possible association with gastrointestinal tract disease and malabsorption. *J Clin Pathol* 1993; 46: 678-680.
6. Blanco AN, Lazzari MA. Simultaneous occurrence of lupus anticoagulant and factor VIII inhibitors in hemophilia. *Am J Hematol* 1998; 58: 248.
7. Blanco AN, Cardozo MA, Candela M, Santarelli MT, Pérez Bianco R, Lazzari MA. Anti-factor VIII inhibitors and lupus anticoagulants in haemophilia A patients. *Thromb Haemost* 1997; 77: 656-659.
8. Casais P, Meschengieser SS, Gennari LC y col. Morbidity of lupus anticoagulants in children: a single institution experience. *Thromb Res* 2004; 114: 245-249.
9. Shimura H, Imai Y, Ieko M y col. Transient lupus anticoagulant with a prolonged activated partial thromboplastin time secondary to cytomegalovirus-related infectious mononucleosis. *Ann Hematol* 2013; 92: 143-144.
10. Male C, Lechner K, Eichinger S y col. Clinical significance of lupus anticoagulants in child. *Lupus* 2000; 9: 594-600.

11. Taher A, Abiad R, Uthman I. Coexistence of lupus anticoagulant and acquired haemophilia in a patient with monoclonal gammopathy of unknown significance. *Lupus* 2003; 12: 854-856.
12. Mazodier K, Arnaud L, Mathian A, y col. Lupus anticoagulant-hypoprothrombinemia syndrome: report of 8 cases and review of the literature. *Medicine (Baltimore)* 2012; 91: 251-260.
13. Hara Y, Makita M, Ishikawa T y col. Lupus anticoagulant hypoprothrombinemia syndrome in Bence-Jones protein κ -type multiple myeloma patient with phosphatidylserine-dependent antiprothrombin antibody. *Ann Hematol* 2013; 92: 563-564.
14. Duboscq C. Pruebas globales de orientación. Coagulación. Pruebas globales y determinación de factores. Fundamentos para el manejo práctico en el laboratorio de hemostasia. Grupo Cooperativo Argentino de Hemostasia y Trombosis. Blanco A, Kordich L, Bermejo E, Forastiero R, Lauricella AM, Pieroni G, Quintana I, Scazziota A, 2013, p249-261, Segunda edición. Impreso: Federación Bioquímica de la Provincia de Buenos Aires, La Plata.
15. Brandt JT, Triplett DA, Alving B, Scharrer I. Criteria for the diagnosis of lupus anticoagulants: an update. *Thromb Haemost* 1995; 74:1185-1190.
16. Pengo V, Tripodi A, Reber G y col. Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibody of the Scientific and Standardisation Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. *J Thromb Haemost* 2009; 7: 1737-1740.
17. Lauricella AM, Quintana I. Factor I (Fibrinógeno). Determinación de factores. Coagulación. Pruebas globales y determinación de factores. Fundamentos para el manejo práctico en el laboratorio de hemostasia. Grupo Cooperativo Argentino de Hemostasia y Trombosis. Blanco A, Kordich L, Bermejo E, Forastiero R, Lauricella AM, Pieroni G, Quintana I, Scazziota A, 2013, p269-276, Segunda edición. Impreso: Federación Bioquímica de la Provincia de Buenos Aires, La Plata.
18. García D, Pieroni G, Díaz de Amaya EI, Fornasiero L, Grosso S, Blanco A, Ouviaña S. Determinación de Factores. Coagulación. Pruebas globales y determinación de factores. Fundamentos para el manejo práctico en el laboratorio de hemostasia. Grupo Cooperativo Argentino de Hemostasia y Trombosis. Blanco A, Kordich L, Bermejo E, Forastiero R, Lauricella AM, Pieroni G, Quintana I, Scazziota A, 2013, p276-325, Segunda edición. Impreso: Federación Bioquímica de la Provincia de Buenos Aires, La Plata.
19. Blanco A, Grosso S. Introducción e Inhibidores específicos neutralizantes. Inhibidores adquiridos de la coagulación y otros desórdenes inmunológicos. Fundamentos para el manejo práctico en el laboratorio de hemostasia. Grupo Cooperativo Argentino de Hemostasia y Trombosis. Blanco A, Kordich L, Bermejo E, Forastiero R, Lauricella AM, Pieroni G, Quintana I, Scazziota A, 2013, p517-551, Segunda edición. Impreso: Federación Bioquímica de la Provincia de Buenos Aires, La Plata.
20. Alberto MF. Tiempo de sangría. Metodologías para evaluar la función plaquetaria. Fundamentos para el manejo práctico en el laboratorio de hemostasia. Grupo Cooperativo Argentino de Hemostasia y Trombosis. Blanco A, Kordich L, Bermejo E, Forastiero R, Lauricella AM, Pieroni G, Quintana I, Scazziota A, p192-194, Segunda edición. Impreso: Federación Bioquímica de la Provincia de Buenos Aires, La Plata.
21. Bermejo E. Técnica de Hellem II. Metodologías para evaluar la función plaquetaria. Fundamentos para el manejo práctico en el laboratorio de hemostasia. Grupo Cooperativo Argentino de Hemostasia y Trombosis. Blanco A, Kordich L, Bermejo E, Forastiero R, Lauricella AM, Pieroni G, Quintana I, Scazziota A, 2013, p197-199, Segunda edición. Impreso: Federación Bioquímica de la Provincia de Buenos Aires, La Plata.
22. Scazziota A, Bermejo E, Vizcargüénaga MI. Agregación plaquetaria. Metodologías para evaluar la función plaquetaria. Fundamentos

- para el manejo práctico en el laboratorio de hemostasia. Grupo Cooperativo Argentino de Hemostasia y Trombosis. Blanco A, Kordich L, Bermejo E, Forastiero R, Lauricella AM, Pieroni G, Quintana I, Scazziota A, 2013, p199-207, Segunda edición. Impreso: Federación Bioquímica de la Provincia de Buenos Aires, La Plata.
23. Kempfer AC, Grosso S. ELISA. Antígeno del factor von Willebrand (VWF:Ag). Factor von Willebrand. Fundamentos para el manejo práctico en el laboratorio de hemostasia. Grupo Cooperativo Argentino de Hemostasia y Trombosis. Blanco A, Kordich L, Bermejo E, Forastiero R, Lauricella AM, Pieroni G, Quintana I, Scazziota A, 2013, p405-407, Segunda edición. Impreso: Federación Bioquímica de la Provincia de Buenos Aires, La Plata.
24. Woods A. Agregometría. Actividad de cofactor de ristocetina (VWF:RCo). Factor von Willebrand. Fundamentos para el manejo práctico en el laboratorio de hemostasia. Grupo Cooperativo Argentino de Hemostasia y Trombosis. Blanco A, Kordich L, Bermejo E, Forastiero R, Lauricella AM, Pieroni G, Quintana I, Scazziota A, 2013, p411-414, Segunda edición. Impreso: Federación Bioquímica de la Provincia de Buenos Aires, La Plata.
25. Blanco A, Nadal MV, Salviú MJ. Tiempo de lisis de euglobulinas. Fibrinólisis. Metodología de estudio. Fundamentos para el manejo práctico en el laboratorio de hemostasia. Grupo Cooperativo Argentino de Hemostasia y Trombosis. Blanco A, Kordich L, Bermejo E, Forastiero R, Lauricella AM, Pieroni G, Quintana I, Scazziota A, 2013, p597-599, Segunda edición. Impreso: Federación Bioquímica de la Provincia de Buenos Aires, La Plata.
26. Hanley D, Arkel YS, Lynch J, Kamiyama M. Acquired von Willebrand's syndrome in association with a lupus-like anticoagulant corrected by intravenous immunoglobulin. *Am J Hematol* 1994; 46: 141-146.
27. Miesbach W, Voigt J, Peetz D, Scharrer I. Massive bleeding symptoms in two patients with factor V inhibitor and antiphospholipid antibodies after treatment with ciprofloxacin. *Med Klin (Munich)* 2003; 98: 339-343.
28. de Larrañaga GF, Forastiero RR, Martinuzzo ME, y col. High prevalence of antiphospholipid antibodies in leprosy: evaluation of antigen reactivity. *Lupus* 2000; 9: 594-600.