

Utilidad de un perfil básico de estudio para la certeza diagnóstica en la hemofilia A.

RAÚL AMBRIZ-FERNÁNDEZ

AGUSTÍN AVILÉS-MIRANDA

MARÍA P. REYNA-FREGOSO

LETICIA BALLESTEROS-TÉLLEZ y

JAVIER PIZZUTO-CHÁVEZ*

Se revaloró la certeza del diagnóstico en 22 pacientes clasificados con hemofilia A. En estos casos fue 100% útil la prueba de escrutinio del TTPa con diluciones en solución salina y correcciones con plasma normal. Resultaron indispensables las determinaciones del factor VIII procoagulante bajo y el factor VIII antigénico normal o aumentado. En todos los pacientes el inhibidor del factor VIII procoagulante fue negativo, y en cada caso siempre fue necesario revalorar la forma de transmisión genética. Con todo lo anterior se confirmó la hemofilia A en 19 casos, y en los otros 3 se consideró que eran candidatos a la investigación de la enfermedad de von Willebrand. Se discute en la hemofilia clásica, la utilidad de contar con un perfil básico de estudios para su diagnóstico.

CLAVES: HEMOFILIA A, ENFERMEDAD DE VON WILLEBRAND, FACTOR VIII PROCOAGULANTE (VIII:C), FACTOR VIII ANTIGÉNICO (VIII:AG).

Recibido: 30 de mayo de 1983.

Aceptado: 7 de septiembre de 1983.

* Académico numerario.

Todos los autores. Servicio de Hematología. Hospital General. Centro Médico Nacional. Instituto Mexicano del Seguro Social.

Cerca del 95 por ciento de las enfermedades hereditarias de la coagulación plasmática se conocen como hemofilias. La hemofilia más común es secundaria a la deficiencia del factor VIII de la coagulación: el caso de la hemofilia A o clásica; la coagulopatía más antigua que se conozca.¹⁻³

La importancia de la hemofilia A se ejemplifica por su incidencia en la población general: aproximadamente de 1 en 10,000. Como la enfermedad habitualmente sólo ocurre en los varones, es posible que como mínimo se pueda observar en 2 de cada 10,000 hombres.¹⁻³ La hemofilia A es una deficiencia determinada por la alteración específica de una parte del complejo macromolecular del factor VIII, lo que en el laboratorio se expresa con resultados que exhiben un patrón

característico.¹⁻³ El propósito de este trabajo es informar los resultados de un perfil básico de estudio de coagulación y de inmunoelectroforesis, los cuales fueron obtenidos en un grupo de pacientes previamente conocidos con hemofilia A, y con relación a ello se discute la utilidad de estas determinaciones.

Material y métodos

Después de que se les explicó el motivo del estudio, éste se efectuó en 26 sujetos control del sexo masculino y 22 pacientes, que aparentemente tuvieron historia personal y familiar característica de la hemofilia clásica;¹⁻³ la mayoría de ellos, clasificados en esa forma desde hacía diez años. La edad de estos casos, tanto de los controles normales como en los afectos de hemofilia A, fue de 16 a 40 años. Se tuvo especial cuidado en que ninguno de estos pacientes tuviera alguna otra enfermedad diferente a la coagulopatía hereditaria.⁴⁻⁶ Tanto los casos control como los pacientes, tenían más de un mes sin tomar drogas capaces de alterar los valores del factor VIII, ó alguna otra prueba de la hemostasis.⁷⁻⁸

Se efectuaron los siguientes estudios: el tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPa): del que se comparó sus resultados con los que se obtuvieron de una mezcla de plasmas de seis donadores normales, y además se hicieron mezclas del plasma del paciente con plasma normal en una proporción 1:2, 1:4 y 1:8, así como la dilución de ambos plasmas en solución salina en una proporción 1:2 y 1:4. Todo esto último, con el objeto de establecer si el resultado de los tiempos de coagulación fue por deficiencia de factores o debido a la existencia de un inhibidor circulante.⁹⁻¹² El estudio del factor VIII procoagulante (abreviatura internacional VIII:C;^{1,3} la actividad del plasma normal que tiene la capacidad de corregir el defecto de la coagulación en el plasma hemofílico), se efectuó por medio de la prueba de una etapa.¹³ La determinación del inhibidor del VIII:C por medio de la prueba descrita por Kasper y col.¹⁴ y la del factor VIII antigénico (abreviatura internacional VIII:Ag;^{1,3} se hizo por medio del método de inmunoelectroforesis cuantitativa descrito por Laurell,¹⁵ con la aplicación específica para la hemostasis dada por Zimmerman y col.¹⁶ También se efectuaron las determinaciones de los factores coagulantes IX, XI y XII.¹³ La relación de la actividad VIII:C/VIII:Ag se expresó por medio de los resultados obtenidos con un índice de análisis discriminatorio.¹⁷

Resultados

Escrutinio inicial. En el cuadro 1 se muestra que con los estudios basales de escrutinio del TTPa, los tiempos de coagulación de todos los casos con aparente hemofilia A resultaron prolongados, en relación con los valores obtenidos en el mismo es-

tudio en el testigo normal correspondiente. Estos resultados de los estudios basales del TTPa en los casos problema, generalmente tuvieron relación con la cantidad del VIII:C correspondiente a cada caso (cuadro 2): muy prolongado en todos aquellos con VIII:C de 12 U/dl o menor.^{18,19} Por otro lado, fue interesante corroborar con el estudio del TTPa, el patrón de resultados que ha sido ilustrado por diversos autores:¹⁸⁻²⁰ los casos problema con VIII:C de 31 a 37 U/dl (núm. 16, 17, 18 y 22 en los cuadros 1 y 2), tuvieron el valor basal del TTPa cercano al del testigo normal, por lo que si estos casos en el escrutinio inicial, se hubieran analizado sólo con este último estudio, sin compararlo con el testigo correspondiente, cabría la posibilidad de que hubieran pasado por "normales". Por lo mismo, fue importante que tanto en estos casos mencionados al final, como en el resto de pacientes con aparente hemofilia A, los estudios del TTPa en dilución salina evidenciaron mejor la deficiencia en la coagulación plasmática: debido a que sus tiempos de coagulación tuvieron mayor prolongación que el testigo que fue procesado en la misma forma. También hay que hacer notar, que en todos los casos problema el mencionado defecto del TTPa basal se pudo corregir con la adición de plasma normal, con una buena proporción a la intensidad de la deficiencia de VIII:C (cuadros 1 y 2).

Todo este patrón de resultados obtenido en estos casos con el estudio del TTPa en diluciones salinas, y con las correcciones con plasma normal, es el que se ha considerado característico de una deficiencia de factores de la coagulación plasmática.^{9,11} Por lo expuesto en las líneas anteriores, con los diversos estudios del TTPa ninguno de los casos problema mostró la existencia de un anticoagulante endógeno;⁹ lo que estuvo reforzado porque en todos los casos fue negativa la determinación del inhibidor de VIII:C.^{11,21} (cuadro 2).

Perfil básico para caracterizar a la hemofilia A. Cuando en estos casos se completó esta investigación con los estudios propuestos en el perfil básico de coagulación y de inmunoelectroforesis, se encontró que los siguientes hechos tuvieron importancia (cuadro 2):

1. De los 22 casos problema diagnosticados como hemofilia clásica durante los últimos diez años, 18 (81%) fácilmente conservaron ese diagnóstico, lo que se debió a que tuvieron los niveles de VIII:C, en valores característicos de esta deficiencia: 2.3 a 36 U/dl (casos núm. 1 a 18), y sobre todo, porque los mencionados pacientes tuvieron la dosificación de VIII:Ag con los dos patrones factibles en casos de hemofilia A:^{1-3,18,21,22} el primero de ellos, estuvo caracterizado por una determinación de VIII:Ag claramente aumentada en seis casos (núm. 1, 2, 3, 4, 7 y 18). El segundo, porque en los doce casos restantes, el valor de VIII:Ag fue normal.

2. Sorprendentemente, se pudo concluir con los

Cuadro 1. Resultados del TTPa en el escrutinio de 22 casos con aparente hemofilia A.

Caso No.	Basal*	Diluciones con solución salina*		Correcciones con plasma normal*		
		1:2	1:4	1:2	1:4	1:8
1	90/35	134/50	180/79	72	59	**
2	110/36	170/52	**	55	42	37
3	121/37	156/47	190/76	47	41	40
4	62/39	93/52	128/92	46	45	**
5	89/39	112/52	172/79	49	45	42
6	90/37	**	**	52	42	37
7	58/39	84/52	120/80	42		
8	114/36	166/45	180/81	52	41	39
9	97/40	114/54	160/88	47	45	43
10	62/39	78/54	120/84	54	52	45
11	78/32	132/40	180/53	47	44	42
12	96/39	116/45	170/82	79	59	53
13	71/38	83/53	121/88	45	43	42
14	60/38	**	**	**	**	**
15	63/36	79/47	119/73	45	40	39
16	48/39	61/51	91/81	42	41	
17	47/37	79/47	139/79	40	39	
18	39/32	87/40	110/53	48	42	
19	67/36	94/48	143/65	39	37	
20	72/40	**	**	42		
21	87/40	**	**	45	41	
22	45/39	72/48	140/82	40		

* Segundos. Problema / Testigo.
 Todos los resultados son el promedio de dos determinaciones como mínimo.
 ** No efectuado.

Cuadro 2. Perfil básico en estudios de 22 casos con aparente hemofilia A.

Caso No.	VIII:C*	VIII:Ag*	VIII:C/VIII:Ag Índice	IX*	XI*	XII*	INHIBIDOR VIII:C
1	2.3	175	0.013				Negativo
2	2.5	280	0.008				
3	3.9	270	0.014				"
4	4.4	280	0.015				"
5	4.5	105	0.042				"
6	5.4	155	0.034				"
7	5.5	385	0.014	55	150	76	"
8	6.0	70	0.085				"
9	6.4	130	0.049				"
10	6.8	130	0.052				"
11	6.8	140	0.048	78	94	125	"
12	8.0	140	0.057				"
13	8.0	125	0.064	60	80	53	"
14	10.0	125	0.080				"
15	12.0	150	0.080				"
16	31.0	140	0.221				"
17	33.0	100	0.330	75	90	46	"
18	36.0	320	0.112				"
19	8.6	57**	0.15	53	60	94	"
20	12.5	40**	0.31	100	150	70	"
21	7.8	41**	0.19	115	200	100	"
22	37.0	38**	0.97	66	100	100	"
Promedio	86	111	0.77	87	97	104	
Desviación estándar	16	41		17	17	26	

RESULTADOS DE 26 CASOS CONTROL DEL SEXO MASCULINO

*U/dl. Cada resultado es el promedio de dos determinaciones como mínimo.

** Casos no hemofílicos.

resultados de este perfil básico, que el diagnóstico de hemofilia A aparentemente no había sido el correcto en cuatro de estos casos (núm. 19, 20, 21 y 22). Lo más importante, en que esta nueva caracterización se basó, consistió en que estos cuatro casos tuvieron el valor de VIII:Ag por debajo del nivel de los controles normales y del obtenido en los 18 casos con clara hemofilia A ($p < 0.005$). Con ese resultado se pudo identificar que los citados cuatro casos "no hemofílicos", deberían incluirse en una investigación de la enfermedad de von Willebrand;^{1,3,4,16} entidad en la que el nivel de VIII:Ag bajo es una característica bastante específica.

3. Con la investigación discriminatoria del índice VIII:C/VIII:Ag, también fue interesante observar que hubo dos patrones diferentes de resultados: a) En el primero, el de la mayoría de los casos, fácilmente se les pudo distinguir como afectados de hemofilia A a los primeros quince (cuadro 2), debido a que tuvieron dicho valor del índice por debajo de 0.099, muy diferente ($p < 0.005$) al obtenido en los controles normales que en promedio fue de 0.77. Los resultados de este índice en los casos mencionados, estuvieron relacionados con los valores de VIII:C más bajos y con los de VIII:Ag normales o aumentados. b) En cambio, con el segundo patrón que fue obtenido en los casos 16 a 22, este índice aparentemente no podía diferenciar a los casos hemofílicos (núm. 16, 17 y 18), de los probablemente "no hemofílicos" (núm. 19 a 22). Sin embargo la valoración cuidadosa de estos resultados, indicó que la forma de evaluación para encontrar esa diferencia requería de la comparación de los casos con similares niveles de VIII:C: los casos 19 a 21 comparados con los comprendidos del 1 a 15, y el caso núm. 22 comparado con los núm. 16 a 18 (cuadro 2). De esta manera los pacientes núm. 19 a 22 volvieron a diferenciarse como probablemente "no hemofílicos".

4. Respecto a los estudios de otros factores de la vía intrínseca de la coagulación, se observó que dos casos con hemofilia A tuvieron el factor IX ligeramente bajo, lo que también ocurrió con el factor XII en cuatro pacientes, de los cuales en dos fue tan poco, que se puede considerar hasta como posiblemente normal (núm. 6 y 20) (cuadro 2).

5. Debido a los resultados antes mencionados, tanto del VIII:C como del VIII:Ag, se emprendió un estudio acerca de la forma de transmisión familiar de la coagulopatía en estos casos: en el mismo, se encontró que 13 de los 18 hemofílicos, tuvieron la historia clásica de la hemofilia A de transmisión ligada al sexo; en los cinco casos restantes, aparentemente se trató de mutantes.¹⁻³ Por otro lado, de los últimos cuatro casos que con los diversos procedimientos de coagulación e inmunoelectroforesis fueron considerados como "probable-

mente no hemofílicos", como una nueva sorpresa resultó que el núm. 19 sí tuvo historia familiar de transmisión ligada al sexo, por lo que este caso finalmente se consideró que efectivamente correspondía a uno con hemofilia clásica, y que su nivel de VIII:Ag (57 U/dl) probablemente representa el límite bajo de la normalidad: el valor más bajo aceptable de VIII:Ag encontrado por otros autores es de 50 U/dl.^{1-3,22}

En los casos 20 y 21, el estudio familiar no demostró la existencia de otros casos afectos, por lo que ambos pacientes fueron considerados como probables casos mutantes de la enfermedad de von Willebrand, y en el caso núm. 22, fue posible que existiera una historia de transmisión autosómica en familiares de un sitio lejano, por lo que este caso fue el más característico de la enfermedad de von Willebrand.¹⁻³

Comentarios

En la actualidad se encuentra bien definido que el factor VIII del plasma está constituido por un complejo macromolecular integrado por dos componentes: el factor VIII procoagulante (VIII:C) y el factor VIII antigénico (VIII:Ag); cada uno con dos funciones distintas y diferentes propiedades bioquímicas, inmunológicas o de control genético.¹⁻⁴

En el caso del VIII:C existen las siguientes características de interés: su peso molecular es de 285 000; se trata de una glicoproteína que se sintetiza en cantidad importante en el hígado y que también se ha identificado por medio de neutralización con antifactor VIII humano (VIII:CAG). El factor VIII:C actúa en la hemostasis, en presencia del factor IXa, fosfolípidos y calcio, como un cofactor en la reacción que determina la activación enzimática del factor X.¹⁻³ La deficiencia aislada de VIII:C es lo que caracteriza a la hemofilia clásica o A, que es una coagulopatía que se transmite como carácter ligado al sexo, por lo que en estos casos el gene defectuoso se localiza en el cromosoma X, y como a los hombres les falta el alelo normal de este cromosoma, dicha alteración es lo que determina que los afectados por la hemofilia A padezcan las manifestaciones hemorrágicas propias de esta deficiencia.²

El factor VIII antigénico (VIII:Ag) es el segundo componente de la molécula en cuestión. Se encuentra integrado por los multímeros de una glicoproteína con peso molecular de 850 000, que probablemente se sintetiza en los endotelios vasculares. Se identifica por medio de la técnica de inmunoelectroforesis cuantitativa de Laurell^{15,16} con antisuero heterólogo de conejo. El factor VIII antigénico, tiene una actividad que se requiere para la función plaquetaria normal: la cual habitualmente se designa como factor von Willebrand y cuya deficiencia tanto cualitativa como cuantitativa, es lo que caracteriza a la enfermedad de von Willebrand; padecimiento hemorrágico que a diferencia de la hemofilia A, generalmente se

transmite con carácter autosómico, por lo que se manifiesta clínicamente tanto en los varones como en las mujeres.^{1,3}

En ambas deficiencias de la hemostasis, la hemofilia A y la enfermedad de von Willebrand, habitualmente resulta característico que exista disminución del VIII:C; por lo que con relación a su forma de transmisión genética, cuando se observa esa deficiencia en una mujer, resulta muy fácil presuponer que seguramente se trata de la segunda entidad mencionada. En esos casos del sexo femenino cuando se han descartado problemas adquiridos, además existe otra rara probabilidad: la existencia de una verdadera hemofilia; lo que ocurre cuando el defecto se localiza en los dos alelos del cromosoma X (homocigota), o también de que dicho caso se trate de una heterocigota con lyonización extrema.¹⁻³ En el caso del hombre con deficiencia de VIII:C, la situación resulta muy diferente, puesto que si no existe una forma clara que defina su transmisión genética, es muy fácil que por inercia, su conocimiento y que se considere su mayor incidencia, ese caso masculino se clasifique como el de un hemofílico. Esta dificultad diagnóstica en los varones es imposible de salvar en los casos "nuevos", es decir los de mutaciones sin historia familiar específica de la coagulopatía. A mayor abundamiento, de las diversas dificultades que existen para establecer el diagnóstico correcto de hemofilia A por medio de su forma de transmisión genética, se encuentra el hecho de que existen informes que apoyan que la hemofilia A se puede transmitir en forma autosómica, aunque diversos autores consideran que esto no es posible.^{1-3,22,23}

Por otro lado, es importante que en México existen pocos trabajos que recientemente hayan analizado la hemofilia A^{20,24-27} y que en nuestro medio no se había intentado definir la trascendencia de los estudios indispensables para su correcta caracterización; todo lo cual han sido los objetivos de este trabajo:

Ante todo, cuando se emprende una investigación de este tipo, es necesario tener en cuenta que existen diversos factores que pueden afectar la biosíntesis del complejo macromolecular del factor VIII, los cuales pueden ocurrir tanto en los sujetos que sirven de control como en algunos casos de hemofilia A y de enfermedad de von Willebrand. Son importantes: el ejercicio, la estimulación adrenérgica, padecimientos renales o hepáticos o el uso de drogas.⁴⁻⁶ Por esta razón, cuando coexisten estas condiciones en un estudio que intenta definir la utilidad de un perfil básico de laboratorio en la hemofilia A, los resultados deben de interpretarse con cautela. Los casos con esas características fueron excluidos del presente estudio.

Con los resultados obtenidos en este trabajo es muy fácil concluir, que cuando los pacientes con aparente hemofilia A se diagnostican en esa forma sólo con base en valores disminuidos de VIII:C, sus resultados posiblemente induzcan a graves errores en algunos casos, condición que

puede persistir durante varios años. Por lo tanto, para caracterizar correctamente a estos casos, resulta indispensable efectuar la determinación de VIII:R:Ag, que cuando resulta normal o algo aumentada, y se acompaña del VIII:C en un nivel bajo, con toda seguridad corresponde al caso de una hemofilia A. Cuando el VIII:R:Ag resulta por debajo del nivel extremo normal, en ese caso existe la obligación de emprender una investigación más amplia, para determinar si ese caso en particular corresponde al de la enfermedad de von Willebrand.^{1-3,28,29}

En forma simplista se podría pensar, que con otra prueba como el tiempo de sangrado, sería posible establecer esta diferencia con mayor facilidad, debido a que esa prueba resulta accesible y de poca dificultad técnica. El problema aquí radica, en que con el tiempo de sangrado no es posible establecer una sólida diferencia entre la hemofilia A y la enfermedad de von Willebrand: el tiempo de sangrado efectivamente se puede encontrar prolongado en la mayoría de los casos de la enfermedad de von Willebrand, pero en esta condición tal estudio también puede resultar normal; y por si lo antes mencionado fuera poco, hay que hacer notar que cierto porcentaje de casos con hemofilia A bien caracterizada tienen el tiempo de sangrado más prolongado que el normal.^{1-3,30,31} Por estas razones el tiempo de sangrado como prueba aislada no es útil para establecer el diagnóstico diferencial entre hemofilia A y enfermedad de von Willebrand.

Cuando se hace una investigación de escrutinio en la hemofilia A resulta necesario contar con alguna prueba simple y por lo tanto accesible, que oriente hacia la deficiencia del factor coagulante, y que al mismo tiempo ese estudio pueda identificar a los anticoagulantes endógenos que tanto en forma hereditaria como adquirida se pueden encontrar asociados con la deficiencia del factor VIII.^{20,32} Este es el caso del TTPa con diluciones en solución salina y las correcciones con plasma normal;^{9-12,20} y además, para que los resultados de estos casos con aparente hemofilia A se puedan interpretar correctamente, como se efectuó en nuestros casos, es necesario contar con la determinación del inhibidor específico de VIII:C, pues cuando esa anomalía, resultado de las transfusiones, existe en un hemofílico, ocurren alteraciones cuantitativas y cualitativas del factor VIII:R:Ag que podrían hacer difícil su interpretación y llevar a un diagnóstico incorrecto de enfermedad de von Willebrand.²¹

Por otra parte, también dentro de estos estudios hay que tener en cuenta que algunos casos de hemofilia A pueden tener asociada otra deficiencia de la hemostasis, especialmente en la coagulación plasmática,^{33,34} por lo que en esos casos, para la correcta valoración de las causas de un TTPa prolongado con su patrón de deficiencia,^{9,11} resulta necesario contar con la dosificación de la mayoría de los otros factores que determinan la actividad de esta prueba en la vía intrínseca de la coagulación, como se ha demostrado tanto

en los presentes casos, como en los de otros estudios de la literatura.³³

Como conclusiones se debe enfatizar: que en la investigación de un caso con aparente hemofilia A se requiere conocer las variables en sus características de transmisión genética; su escrutinio con un estudio sensible y accesible como el TTPa con diluciones y correcciones; también de su confirmación con estudios más específicos como la dosificación de los factores coagulantes de la vía intrínseca, y que es necesario contar con la determinación de VIII:C baja y la de su inhibidor respectivo. En todos los casos, la prueba indispensable y prácticamente definitiva para poder caracterizar a esos casos como afectos de hemofilia A es la determinación por inmunoelectroforesis cuantitativa de VIII:Ag, que debe estar en un nivel normal o aumentado, junto con la de VIII:C disminuida.

REFERENCIAS

- Mammen, E. F.: *Factor VIII abnormalities*. Semin. Thrombos. Hemostas. 9:22, 1983.
- Buchanan, G. R.: *Hemophilia*. Pediatr. Clin. North Am. 27:309, 1980.
- Hoyer, L. W.: *The factor VIII complex: structure and function*. Blood 58:1, 1981.
- Castillo, R.; Maragall, S.; Rodó, J.; Clemente, C.; Proffits, J. y Ordinas, A.: *Increased factor VIII complex and defective ristocetin-induced platelet aggregation in liver disease*. Thromb. Res. 11:899, 1977.
- Ruggeri, Z. M.; Ponticelli, C. y Manucci, P. M.: *Factor VIII and chronic renal failure*. Brit. Med. J. 1:1085, 1977.
- Bennet, B. y Ratnoff, O. D.: *Changes in antihemophilic factor (AHF), factor VIII procoagulant activity and AHF-like antigen in normal pregnancy and following exercise and pneumoencephalography*. J. Lab. Clin. Med. 80:256, 1978.
- Manucci, P. M.; Canciani, M. T. y Rota, L.: *Response of factor VIII/von Willebrand factor to DDAVP in healthy subjects and patients with hemophilia A and von Willebrand's disease*. Br. J. Haematol. 47:283, 1981.
- Forbes, C. D. y Davidson, J. F.: *Management of coagulation defects*. Clin. Hematol. 2:101, 1973.
- Reyna, P. M.: *Pruebas de laboratorio accesibles en el estudio de las enfermedades hemorrágicas*. En: Ciclos sobre el avance continuo de la medicina. Progresos recientes en Hematología. IMSS. México, Instituto Mexicano del Seguro Social. 1978, p. 119.
- Pizzuto, J.; García, M. S.; Reyna, M. P.; Morales, M. R.; Avilés, A.; Zavala, B. y Gaos, C.: *Thrombin time dilution test: a simple method for control of heparin therapy*. Thromb. Haemost. 42:1276, 1979.
- Ambríz, R.; Sinco, A.; Conte, G.; Loera, S.; Morales, M.; Avilés, A. y Pizzuto, J.: *Diátesis hemorrágica autoinmunitaria*. Rev. Méd. IMSS (Méx.) 20:279, 1982.
- Morales, M.; Ambríz, R.; Reyna, M.; Avilés, A.; Conte, G. y Pizzuto, J.: *Coexistencia de trombosis retinianas, anticoagulante antitromboplastina circulante y trombopatía adquirida*. Rev. Méd. IMSS (Méx.) 17:173, 1978.
- Grupo CLAH: *Técnicas de hemostasia y trombosis*. Ed. Miguel Pavlovsky, Buenos Aires, 1975.
- Kasper, C. K.; Aledort, L. M.; Counts, R. B.; Edson, J.; Frattantonio, J.; Green, D.; Hampton, J.; Hilgartner, M. W.; Lasatzen, J.; Levine, P. H.; McMillan, C. W.; Pool, J. G.; Shapiro, S. S.; Schulman, N. R. y van Eys, J.: *A more uniform measurement of factor VIII inhibitors*. Thromb. Diath. Haemorr. 34:869, 1975.
- Laurell, C. B.: *Quantitative estimation of proteins by electrophoresis in agarose gels containing antibodies*. Anal. Biochem. 15:45, 1966.
- Zimmerman, T. S.; Hoyer, L. W.; Dickson, L. y Edington, T. S.: *Determination of von Willebrand's antigen (factor VIII related antigen) in plasma by quantitative immunoelectrophoresis*. J. Lab. Clin. Med. 86:152, 1975.
- Barrow, E. S.: *Genetic counselling in haemophilia by discriminant analysis*. J. Med. Genet. 19:26, 1982.
- Ingram, G. I.; O'Brien, P. F. y North, W. R.: *The ICT/WFH study of the partial thromboplastin time in mild haemophilia*. Scand. J. Haematol. 25:64, 1980.
- Barrowcliffe, T. W. y Gray, E.: *Studies of phospholipid reagents used in coagulation. I: some general properties and their sensitivity to factor VIII*. Thromb. Haemost. 46:629, 1981.
- Pizzuto, J.; Diaz-Maqueo, J.; Morales, M.; Reyna, M. y Tufiño, A.: *Uso de crioprecipitados en cirugía mayor del hemofílico*. Gac. Méd. Méx. 112:133, 1976.
- Ballard, J. O.; Sanders, J. C. y Eyster, M. E.: *Altered serum factor VIII-related antigen (VIII:AGN), von Willebrand factor (VIII:vWF) in haemophiliacs with inhibitors to factor VIII procoagulant activity (VIII:C)*. Thromb. Haemost. 45:68, 1981.
- Gastaldi, G.; Rasori, Q. A.; Galletti, A.; Campanella, A.; Barone, E. y Manucci, P. M.: *Coexistence of hemophilia A and von Willebrand's disease in the same kindred*. Scand. J. Haematol. 20:423, 1978.
- Veltkamp, J. J. y Tillburg, H. H. V.: *"Autosomal haemophilia" a variant of von Willebrand's disease*. Brit. J. Haematol. 26:141, 1974.
- Conte, G.; Avelar, F.; Pizzuto, J.; Avilés, A.; Ambríz, R. y Sinco, A.: *Ultrasonografía en el diagnóstico del hematoma retroperitoneal en el paciente hemofílico*. Rev. Méd. Chile 110:255, 1982.
- Sinco, A.; Conte, G.; Ambríz, R.; Morales, M. y Pizzuto, J.: *Cimetidina y neutropenia transitoria en un paciente con hemofilia*. Rev. Invest. Clín. (Méx.) 33:169, 1981.
- Pefialosa Santillán, J. A.; Arias, J. y Resano Pérez, F.: *Dosificación del factor deficiente en los pacientes hemofílicos*. Bol. méd. Hosp. infant. (Méx.) 32:51, 1975.
- Alaniz, C. F. y Lozano, E.: *Pseudotumor hemofílico tratado con radiación*. Rev. Invest. Clín. (Méx.) 33:281, 1981.
- Bowie, E. J. y Fass, D. N.: *Factor VIII-related antigen (VIII:Ag) in hemophilic patients and carriers*. Lancet ii:1049, 1979.
- Pizzuto, J.; Ambríz, R.; Reyna, M.; Monroy, L. M.; Morales, M. R.; Avilés, A.; Conte, G. y Enríquez, R.: *Acquired von Willebrand's syndrome during autoimmune disorder*. Thromb. Haemost. 42:1523, 1980.
- Buchanan, G. R. y Holtkamp, C. A.: *Prolonged bleeding time in children and young adults with hemophilia*. Pediatrics 66:951, 1980.
- Eyster, M. E.; Gordon, R. A. y Ballard, J. O.: *The bleeding time is longer than normal in hemophilia*. Blood 58:719, 1981.
- Diez, E. M.; Chung, Y. L. E.; Uáñez, R.; Deykin, D. y Harkness, D. R.: *Circulating anticoagulant in a family with prolonged bleeding time and factor VIII deficiency*. Blood 49:799, 1977.
- Ponari, O.; Civardi, E.; Megha, A.; Pini, M.; Poti, R. y Dettori, A. G.: *Inherited platelet abnormalities associated with low factor VIII activity in same family*. Acta Haematol. 57:225, 1977.
- Mammen, E. F.: *Combined congenital clotting factor abnormalities*. Semin. Thromb. Hemostas. 9:55, 1983.