

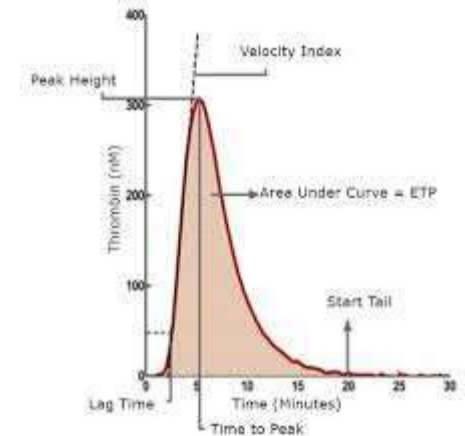
# Test de generación de trombina: experiencia en pacientes con anticoagulante lúpico.

*Dr. Diego Velasco Rodríguez*

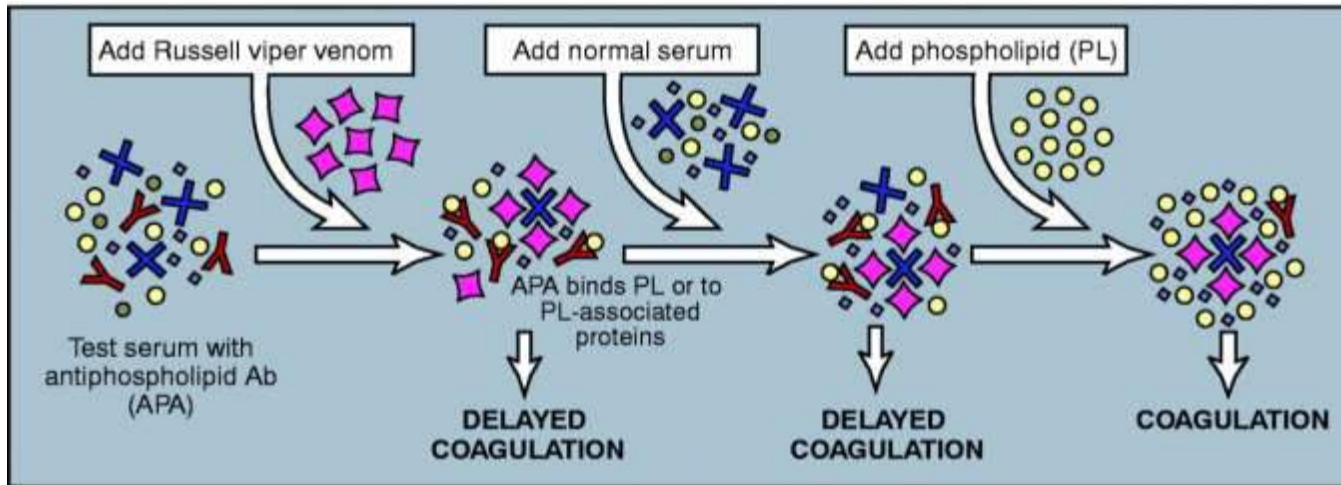
*Fundación Jiménez Díaz*

# Experiencia de FJD con ST-Genesisii

- Inicio febrero 2018
- STG-ThromboScreen – TM y + TM
- 289 muestras procesadas
  - 251 pacientes
  - 38 controles sanos
- Aplicaciones:
  - Investigación (95%)
    - Polimorfismo C46T del gen *F12*
    - Anticoagulante lúpico
  - Asistencia (5%)



# Anticoagulante lúpico



- No existe un *gold standard* actualmente disponible.
- Variabilidad en la sensibilidad de los análisis y reactivos
- Variabilidad significativa en la detección de AL débil.
- Elevadas tasas de falsos negativos y falsos positivos.
- No hay criterio establecido para definir y distinguir la positividad débil, moderada y fuerte.
- ¿“AL fuerte” representa mayor factor de riesgo trombótico frente a “AL débil”?
- Falta de estandarización



“What’s the opposite of ‘Eureka!’??”



# Anticoagulante lúpico

Entre los AAF, el **AL** está considerado como el de **mayor riesgo trombótico**. *Galli M et al. Blood 2003;101:1827–32.*

Sin embargo, parece que el incremento en el riesgo es **a expensas de asociarse a la positividad de otros AAF**, mientras que un AL positivo aislado no aumenta tanto el riesgo.

*Pengo V et al. Thromb Res. 2015 Jan; 135(1):46-9.*

*Mok CC et al. Arthritis Rheum 2005;52:2774–82.*

Muchos de los AL positivos no se confirman en determinaciones sucesivas, y que una positividad leve o borderline no debe ser tomada en cuenta como factor de riesgo.

*Pengo V et al. Thromb Haemost 2013;11:1–5.*



Full Length Article

## Lupus anticoagulant identifies two distinct groups of patients with different antibody patterns

V. Pengo<sup>a,\*</sup>, T. Del Ross<sup>b</sup>, A. Ruffatti<sup>b</sup>, E. Bison<sup>a</sup>, M.G. Cattini<sup>a</sup>, E. Pontara<sup>a</sup>, S. Testa<sup>c</sup>, C. Legnani<sup>d</sup>, N. Pozzi<sup>e</sup>, D. Peterle<sup>f</sup>, L. Acquasaliente<sup>e,f</sup>, V. De Filippis<sup>f</sup>, G. Denas<sup>a</sup>

### Comparison between LA +/a $\beta$ 2GPI- and LA +/a $\beta$ 2GPI+ patients.

	LA +/a $\beta$ 2GPI- N = 25	LA +/a $\beta$ 2GPI+ N = 33	p
Age (yrs) mean $\pm$ SD	59.5 $\pm$ 19	50.8 $\pm$ 12.3	0.04
Sex (F) %	76	76	-
Autoimmune diseases n (%)	11 (44)	13 (39)	-
Thrombosis n (%)	1 (4)	28 (85) <sup>a</sup>	< 0.01
Pregnancy loss n (%)	3 (16)	6 (24)	-
dRVVT mixing ratio	1.7 $\pm$ 0.4	2.3 $\pm$ 1.0	0.01

<sup>a</sup> Site of thrombosis: 10 were arterial, 7 were venous, and 11 were both arterial and venous.

100% positivos para Ac. Anti-PS/PT

**AL + Ac. Anti- $\beta$ <sub>2</sub>GPI + Ac. Anti-PS/PT: el mayor riesgo trombótico**

# Síndrome Antifosfolípido



- Uno o más episodios de trombosis arterial o venosa.
- 3 o más abortos (<10 sem) espontáneos, consecutivos y no justificados
- Muerte fetal ( $\geq 1$ ) con feto normal  $\geq 10$  sem
- Nacimientos prematuros (<34 sem) por preeclampsia o insuficiencia placentaria



- Anticoagulante lúpico.
- Ac. Anti-cardiolipina IgM o IgG
- Ac. Anti- $\beta_2$ -glicoproteína IgM o IgG

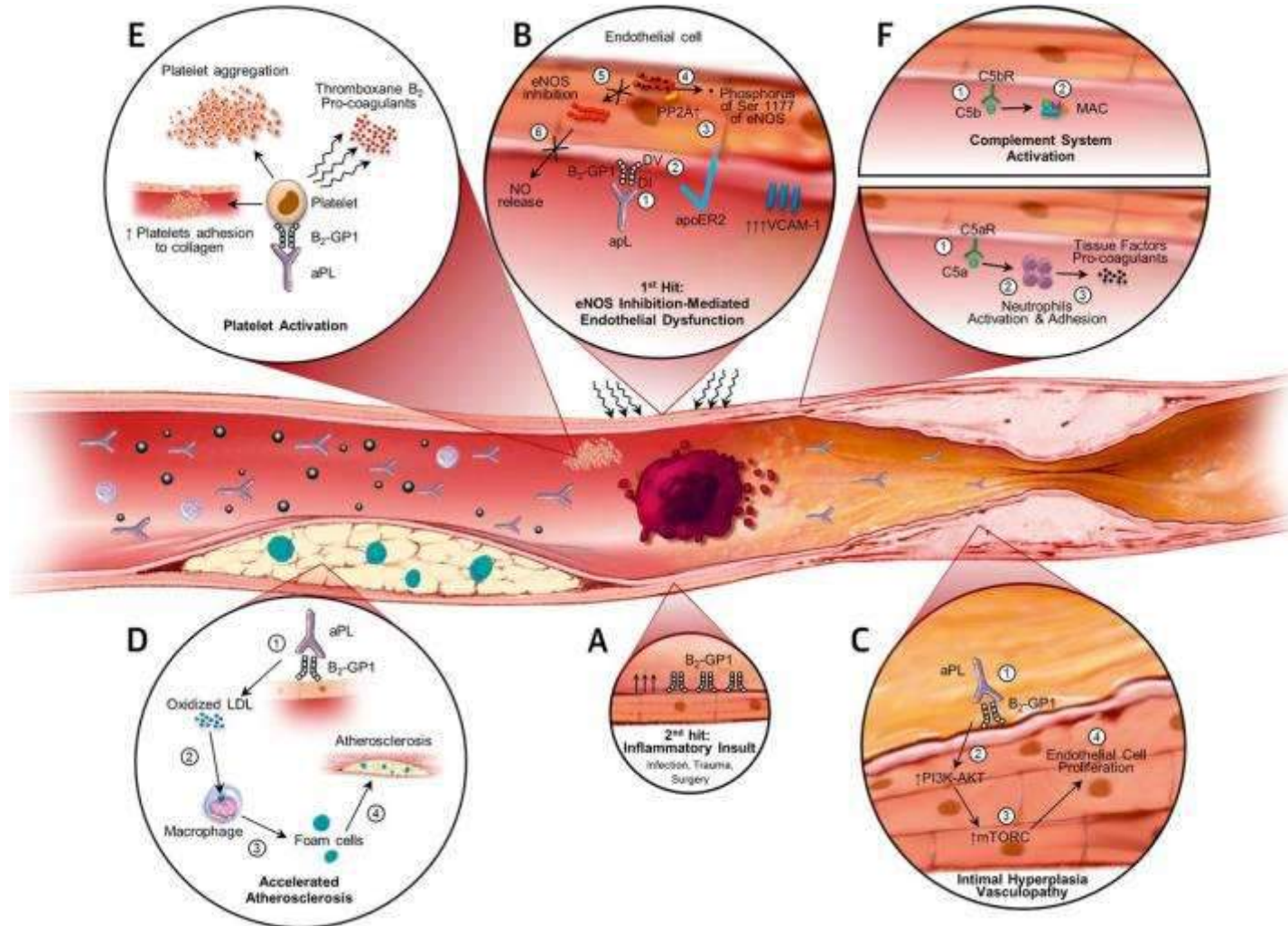
Miyakis et al. *J Thromb Haemost.* 2006;4:295-306.

Otros AAF de interés no incluidos en los criterios diagnósticos: Ac. Anti-dominio 1  
Ac. Anti-PS/PT

...



# Síndrome Antifosfolípido



# TGT y Anticoagulante lúpico

	Pacientes	Controles	Anticoag	TGT	Hallazgos
<b>Ferro et al.</b> <i>Blood.</i> 1994 Jun 1;81(11):2958-63.	45 LES	30	NO	F1+2 por ELISA	Mayor F1+2 en los AL+
<b>Regnault et al.</b> <i>Thromb Haemost.</i> 2003; 89(2):208-212.	3 SAF 5 AL incid.	NO	NO	CAT	LT más alargado, PH menor, ETP similar al control normal. Menos sensible a TM
<b>Liestøl S et al.</b> <i>J Thromb Haemost.</i> 2007; 5(11):2204-10.	52 SAF 29 AL incid.	53	34/52 SAF	CAT	ETP en AL < que en controles %ETPinhib en AL < controles
<b>Devreese K et al.</b> <i>Thromb Haemost.</i> 2009;101(1):185-196.	38 SAF 21 AL incid.	25	NO	Autom.	PH/LT de controles > PH/LT en AL incid > PH/LT en SAF
<b>Zuily S et al.</b> <i>Lupus.</i> 2012;21(7):758-760.	48 SAF	39	¿?	CAT	Más resistencia a prot C activada en SAF primario y LES
<b>Boeer K et al.</b> <i>Thromb J.</i> 2013 Nov 12; 11(1):24.	19 SAF 20 AL incid.	24	NO	Bio-Tek FLx800	PH y ETP: contr > AL incid > SAF LT y TTP: controles > AL incid > SAF
<b>Zuily S et al.</b> <i>Thromb Res.</i> 2013;132(1):e1-e7.	92 LES, SAF 15 AL incid.	NO	NO	CAT	Resist a prot C activada predice trombosis en análisis univariante
<b>Kremers RMW et al.</b> <i>Blood Adv.</i> 2018 Jun 12; 2(11):1315-24.	80 SAF	Sí (Nº??)	62.5%	CAT	SAF (sin AVK) vs controles: mayor LT, sin diferencias en PH, ETP y TTP. SAF: menos sensible a TM (<%ETPinh)



Ferro et al  
Blood. 1994 Jun

Regnault et al  
Thromb Haemostasis. 2012.

Liestøl S et al  
J Thromb Haemostasis. 2010.

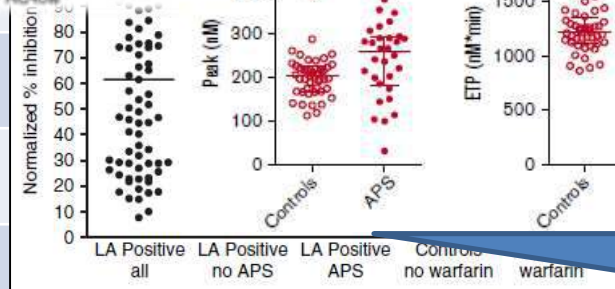
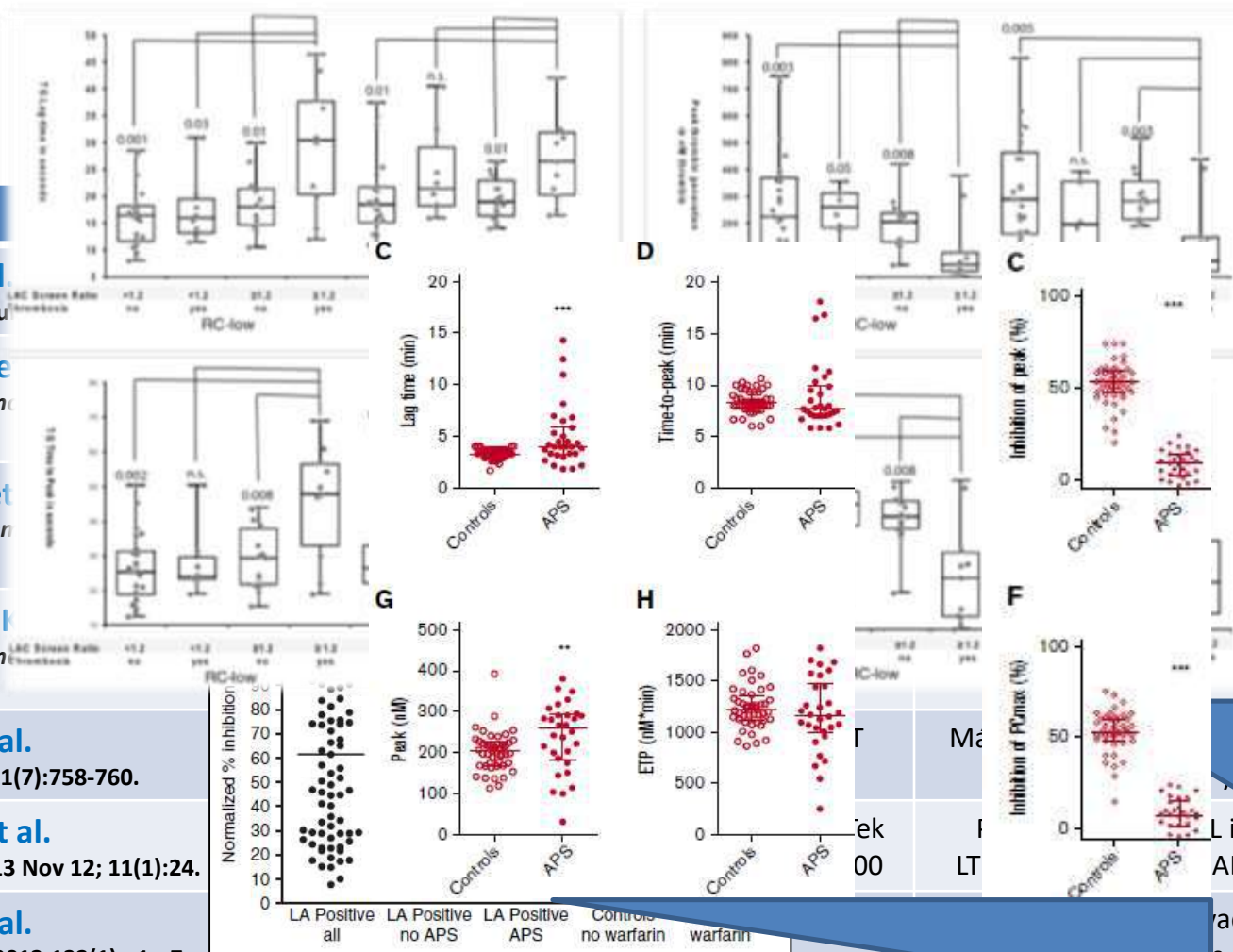
Devreese K et al  
Thromb Haemostasis. 1996.

Zuily S et al.  
Lupus. 2012;21(7):758-760.

Boer K et al.  
Thromb J. 2013 Nov 12; 11(1):24.

Zuily S et al.  
Thromb Res. 2013;132(1):e1-e7.

Kremers RMW et al.  
Blood Adv. 2018 Jun 12; 2(11):1315-24.



15 AL incid.	80 SAF	Sí (Nº??)	62.5%	CAT
--------------	--------	-----------	-------	-----

SAF (sin AVK) vs controles: mayor LT, sin diferencias en PH, ETP y TTP. SAF: menos sensible a TM (<ETPinh)

AL+

enor, ETP  
al. Menos

controles  
controles

T en AL incid  
F

activada en  
ES

L incid > SAF  
AL incid > SAF

ada predice  
s univariante

# TGT y Anticoagulante lúpico

En resumen.....

- Pocos estudios
- Tamaño muestral no muy grande
- Mayoría de SAF

En comparación con controles:

- Lag time más alargado
- ETP menor
- Menor pico máximo
- Más tiempo hasta el pico
- Resistencia a prot C activ.



**NUESTRO ESTUDIO:**

**¿Qué pasa con el AL incidental?**

**¿Qué factores pueden influir en la GT de estos pacientes?**

**Intensidad del AL**  
**Dobles y triples positividades**  
**AAF no clásicos**  
**Tratamientos: antiagregantes, estatinas...**

# Nuestro proyecto “Valoración de la generación de trombina en pacientes con anticoagulante lúpico”

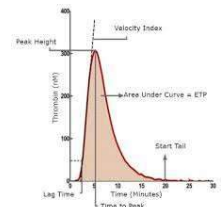
Estudio caso-control, prospectivo, comparativo y transversal.  
Casos: **AL sin antecedente de trombosis**  
Controles: donantes sanos  
Estudio de trombofilia hereditaria negativo en todos ellos



Anticoagulante lúpico (dRVVT y Silica clotting time).  
Positivo débil <1,5; moderado 1,5-1,9; fuerte  $\geq 2$   
AAF clásicos  
Anti-PS/PT  
Antiagregantes? Estatinas?



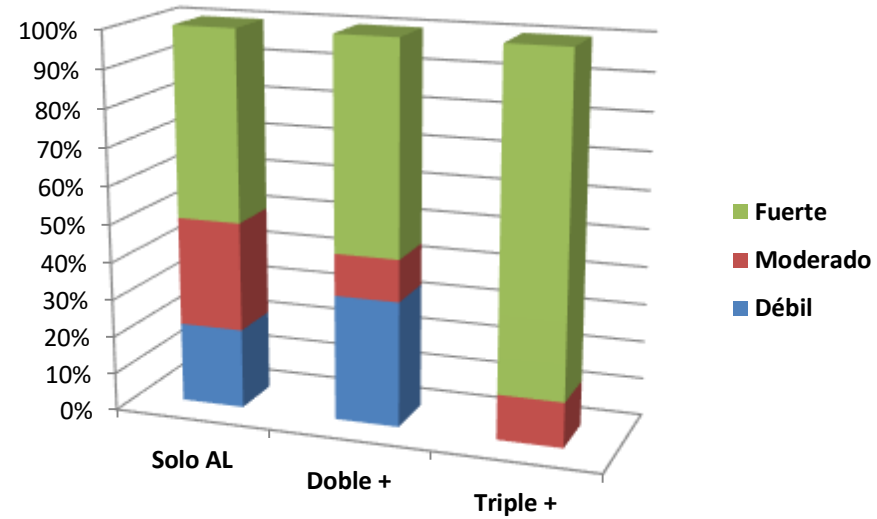
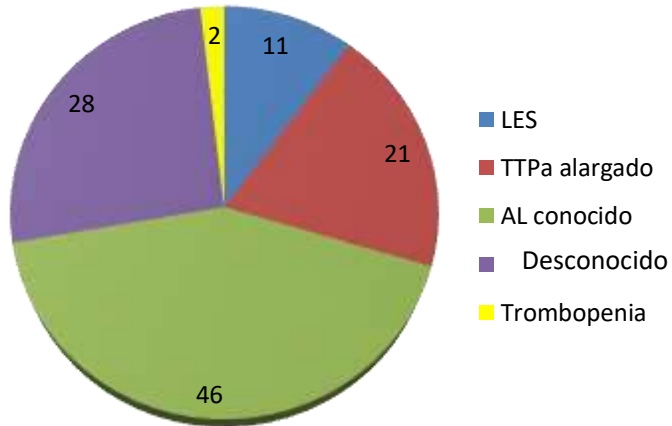
TGT en el analizador ST-Genesiia  
Lag time, peak height, velocity index, time to peak, ETP,  
%inhETP



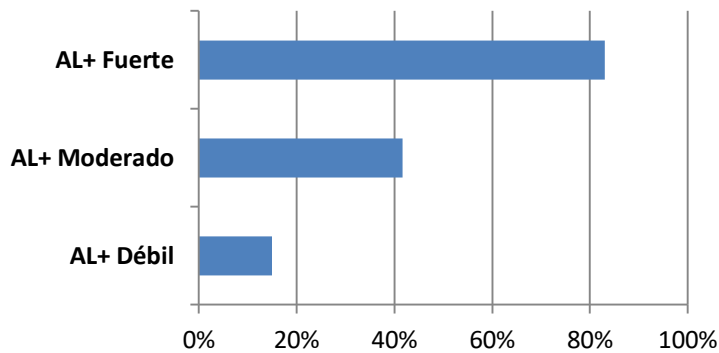
Aprobado por CEIC de FJD el 9 de octubre de 2018

# 109 pacientes con AL sin antecedente trombótico

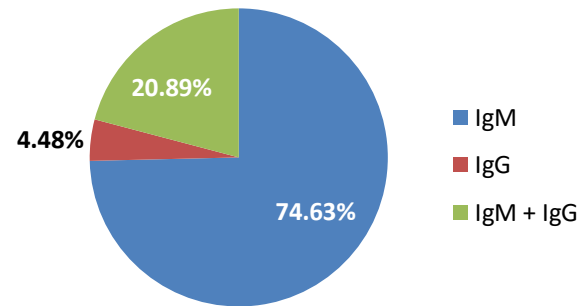
Motivo petición de AL



Anti-PS/PT +

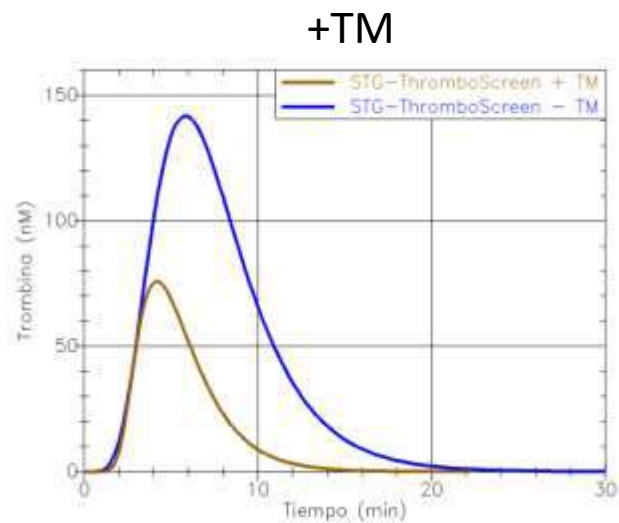
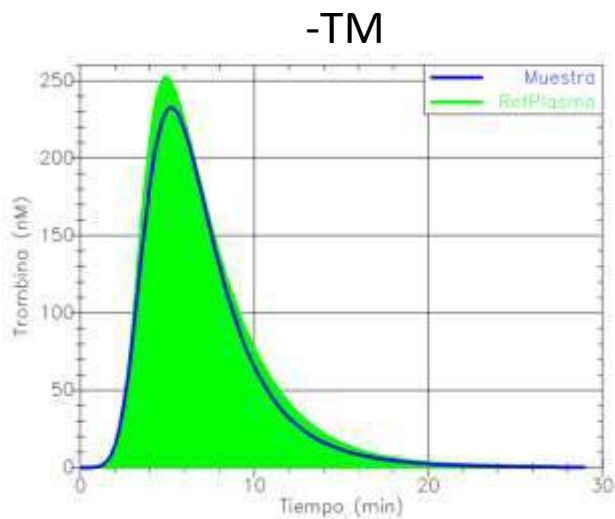


Anti-PS/PT +

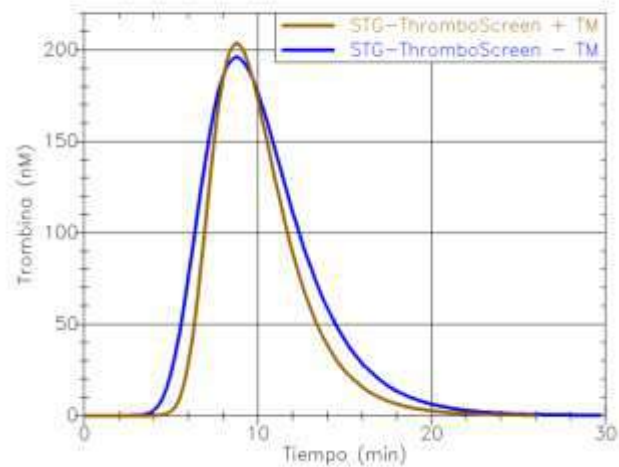
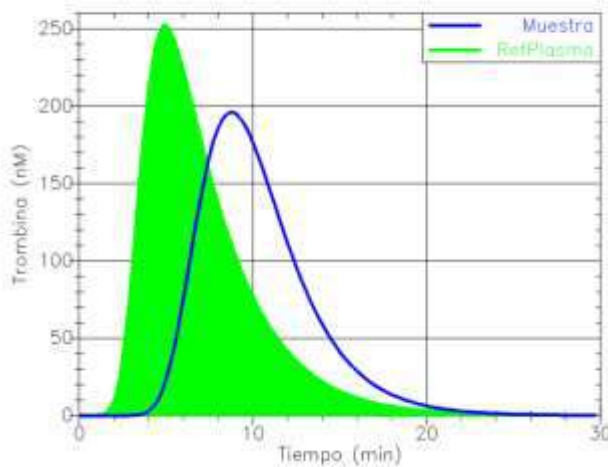


Resultados preliminares. Datos no publicados

**Control**



**AL**



Resultados preliminares. Datos no publicados

## Controles y AL+ SIN positividad para AAF clásicos

	<b>Grupo Control</b> n= 14	<b>AL+ débil</b> n= 12	<b>AL+ moderado</b> n= 18	<b>AL+ fuerte</b> n= 32	<b>p</b> ANOVA
<b>Lag time</b>	2,33 ± 0,30	3,05 ± 0,75	3,18 ± 0,90	4,14 ± 1,05	<0,001
<b>Peak height</b>	193,72 ± 59,62	201,27 ± 69,98	247,13 ± 87,68	216,22 ± 46,69	NS
<b>Time to peak</b>	5,21 ± 1,02	6,08 ± 1,11	5,77 ± 1,43	6,91 ± 1,35	0,013
<b>ETP</b>	1180,79 ± 240,22	1229,94 ± 316,49	1303,33 ± 401,71	1218,04 ± 193,31	NS
<b>Vel. index</b>	102,16 ± 55,66	96,85 ± 53,49	136,58 ± 73,03	107,26 ± 42,99	NS
<b>Start tail</b>	19,22 ± 3,38	19,71 ± 3,63	17,64 ± 3,76	19,26 ± 3,07	NS
<b>ETP %inh</b>	50,61 ± 18,94	57,11 ± 18,94	47,18 ± 22,80	36,69 ± 18,33	0,014

Resultados preliminares. Datos no publicados



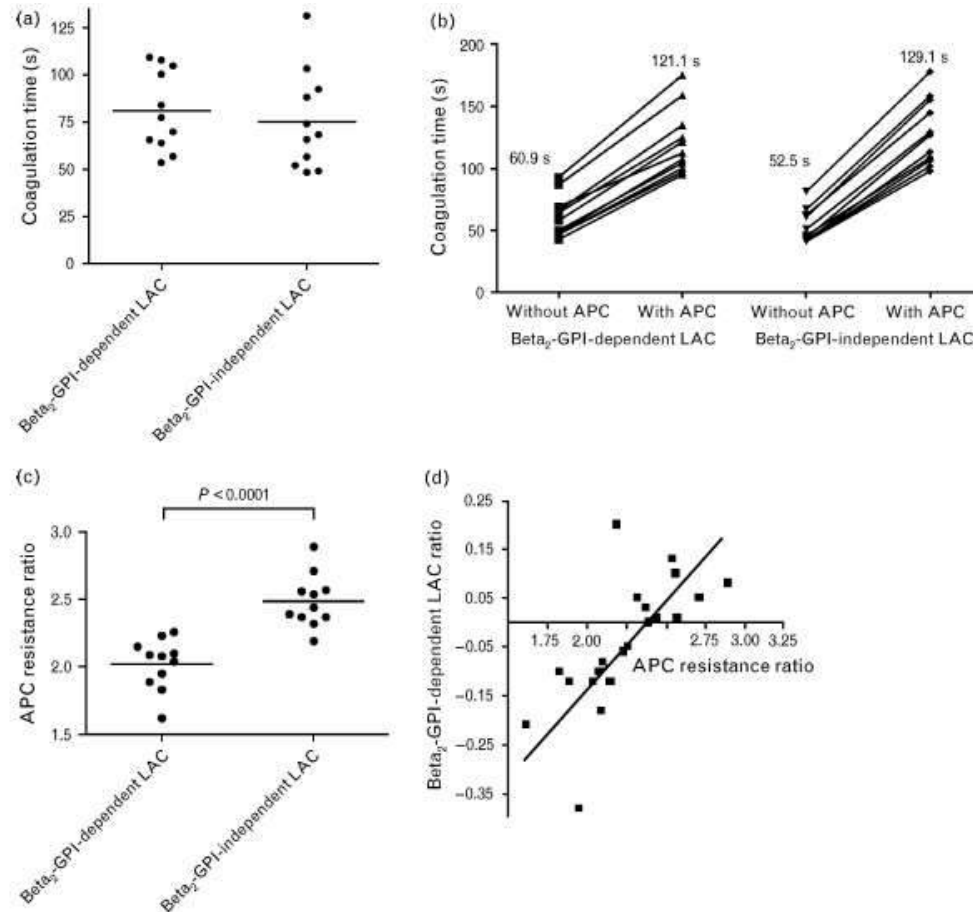
	Anti- $\beta_2$ GPI + n= 21	Anti- $\beta_2$ GPI - n= 66	p
Edad	56,19 $\pm$ 14,65	56,51 $\pm$ 16,12	NS
Ratio dRVVT	1,75 $\pm$ 0,57	1,45 $\pm$ 0,42	<b>0,012</b>
Lag time	4,84 $\pm$ 1,64	4,29 $\pm$ 1,68	NS
Peak height	234,95 $\pm$ 64,55	229,71 $\pm$ 60,36	NS
Time to peak	7,45 $\pm$ 1,91	6,95 $\pm$ 1,87	NS
ETP	1231,67 $\pm$ 174,59	1253,98 $\pm$ 272,19	NS
Vel. index	126,22 $\pm$ 60,41	118,30 $\pm$ 51,62	NS
Start tail	19,34 $\pm$ 3,71	19,02 $\pm$ 3,21	NS
ETP %inh	28,36 $\pm$ 17,68	37,16 $\pm$ 20,18	0,084

AL+/Anti- $\beta_2$ GPI + presentan ratio dRVVT significativamente mayor

Sin diferencias estadísticamente significativas en parámetros de TGT.  
Tendencia a la significación estadística en ETP %inh

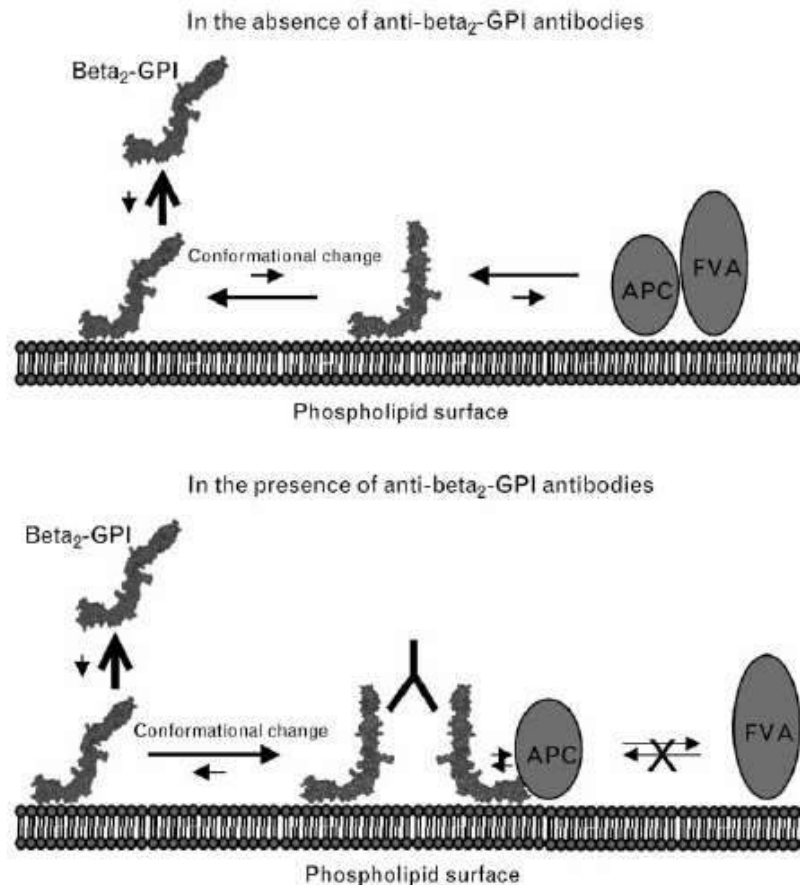
# Correlation between the potency of a beta<sub>2</sub>-glycoprotein I-dependent lupus anticoagulant and the level of resistance to activated protein C

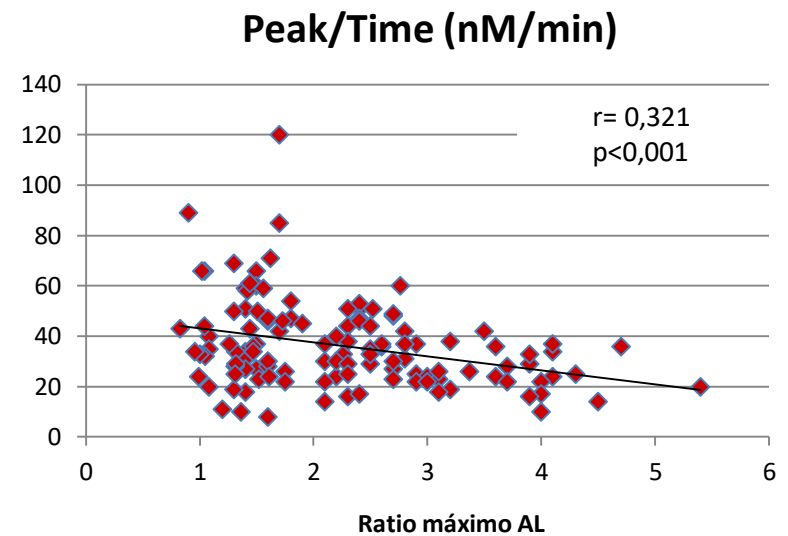
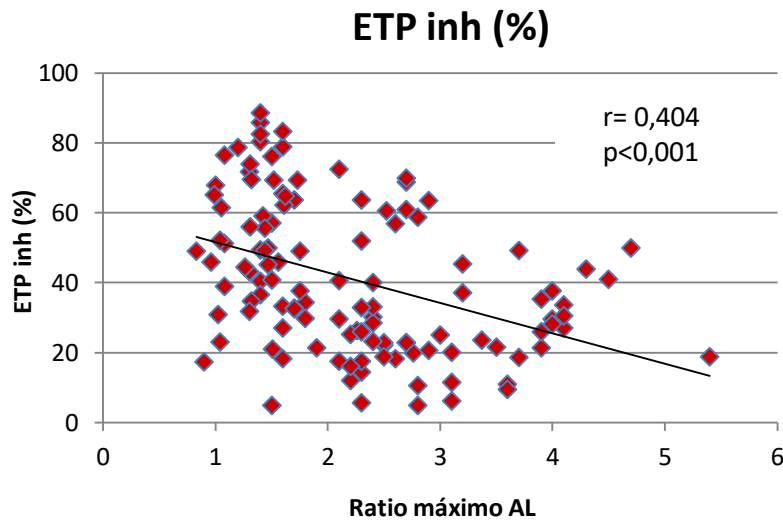
Bas de Laat<sup>a,b</sup>, Carel M. Eckmann<sup>a</sup>, Marlies van Schagen<sup>a</sup>,  
Alexander B. Meijer<sup>b</sup>, Koen Mertens<sup>b,c</sup> and Jan A. van Mourik<sup>a,b,d</sup>



## Correlation between the potency of a beta<sub>2</sub>-glycoprotein I-dependent lupus anticoagulant and the level of resistance to activated protein C

Bas de Laat<sup>a,b</sup>, Carel M. Eckmann<sup>a</sup>, Marlies van Schagen<sup>a</sup>,  
Alexander B. Meijer<sup>b</sup>, Koen Mertens<sup>b,c</sup> and Jan A. van Mourik<sup>a,b,d</sup>





**Aunque estadísticamente significativa, se observa una correlación baja entre la intensidad del AL y la velocidad de formación de trombina y resistencia a la proteína C activada**

# The Effects of Phosphatidylserine-Dependent Antiprothrombin Antibody on Thrombin Generation

Yoshie Sakai,<sup>1</sup> Tatsuya Atsumi,<sup>1</sup> Masahiro Ieko,<sup>2</sup> Olga Amengual,<sup>1</sup> Shin Furukawa,<sup>1</sup>  
Akira Furusaki,<sup>1</sup> Miyuki Bohgaki,<sup>1</sup> Hiroshi Kataoka,<sup>1</sup> Tetsuya Horita,<sup>1</sup>  
Shinsuke Yasuda,<sup>1</sup> and Takao Koike<sup>1</sup>

**Table 1.** Prevalence of markers of increased thrombin/plasmin generation in patients and healthy controls\*

	All patients	Anti-PS/PT+ patients		Healthy controls
		aCL+	aCL-	
Prothrombin fragment F <sub>1+2</sub>	10/28 (36)	1/7 (14)	9/21 (43)	3/60 (5)
Thrombin-antithrombin III complex	10/36 (28)	2/14 (14)	8/22 (36)	7/73 (10)
Soluble fibrin antigen	16/36 (44)	8/14 (57)	8/22 (36)	6/127 (5)
D-dimer	18/36 (50)	8/14 (57)	10/22 (45)	1/73 (1)
Fibrin/fibrinogen degradation products	10/36 (28)	6/14 (43)	4/22 (18)	3/74 (4)

\* Values are the number positive/total number tested (%). All values were statistically significant as compared with those in the controls ( $P < 0.05$ ).

Niveles plasmáticos de marcadores de generación de trombina y fibrinolisis elevados en pacientes con SAF y anti-PS/PT, independientemente de la coexistencia de otros AAF, respecto a controles sanos.

# Impacto de los Ac. Anti-PS/PT en la generación de trombina

	Sólo AL		
Anti-PS/PT	NEG n= 11	POS n= 37	p
Lag time	2,77 ± 0,75	3,89 ± 0,96	0,001
Peak height	242,34 ± 85,49	226,90 ± 61,09	NS
Time to peak	5,39 ± 0,94	6,57 ± 1,35	0,009
ETP	1336,5 ± 409,1	1241,14 ± 268,1	NS
Vel. index	127,94 ± 71,99	119,28 ± 54,69	NS
Start tail	17,47 ± 2,55	18,80 ± 3,32	NS
ETP %inh	57,55 ± 16,95	38,83 ± 20,41	0,009

Resultados preliminares. Datos no publicados



# Impacto de los Ac. Anti-PS/PT en la generación de trombina

Anti-PS/PT	Sólo AL			Dobles positivos			Triples positivos		
	NEG n= 11	POS n= 37	p	NEG n= 2	POS n= 11	p	NEG n= 1	POS n= 18	p
Lag time	2,77 ± 0,75	3,89 ± 0,96	0,001	2,45 ± 0,02	4,84 ± 1,74	0,088	2,14	5,20 ± 1,49	–
Peak height	242,34 ± 85,49	226,90 ± 61,09	NS	259,45 ± 67,38	218,14 ± 52,84	NS	260,6	234,04 ± 42,11	–
Time to peak	5,39 ± 0,94	6,57 ± 1,35	0,009	4,93 ± 0,11	7,42 ± 1,91	0,103	4,35	7,83 ± 1,92	–
ETP	1336,5 ± 409,1	1241,14 ± 268,1	NS	1372,01 ± 345,07	1197,04 ± 267,98	NS	1279	1280,85 ± 178,87	–
Vel. index	127,94 ± 71,99	119,28 ± 54,69	NS	132,80 ± 28,14	110,70 ± 42,08	NS	151,7	121,53 ± 42,02	–
Start tail	17,47 ± 2,55	18,80 ± 3,32	NS	16,38 ± 0,37	19,48 ± 2,46	NS	15,42	19,98 ± 3,40	–
ETP %inh	57,55 ± 16,95	38,83 ± 20,41	0,009	52,44 ± 4,43	33,91 ± 14,81	0,117	45,96	23,75 ± 12,22	–

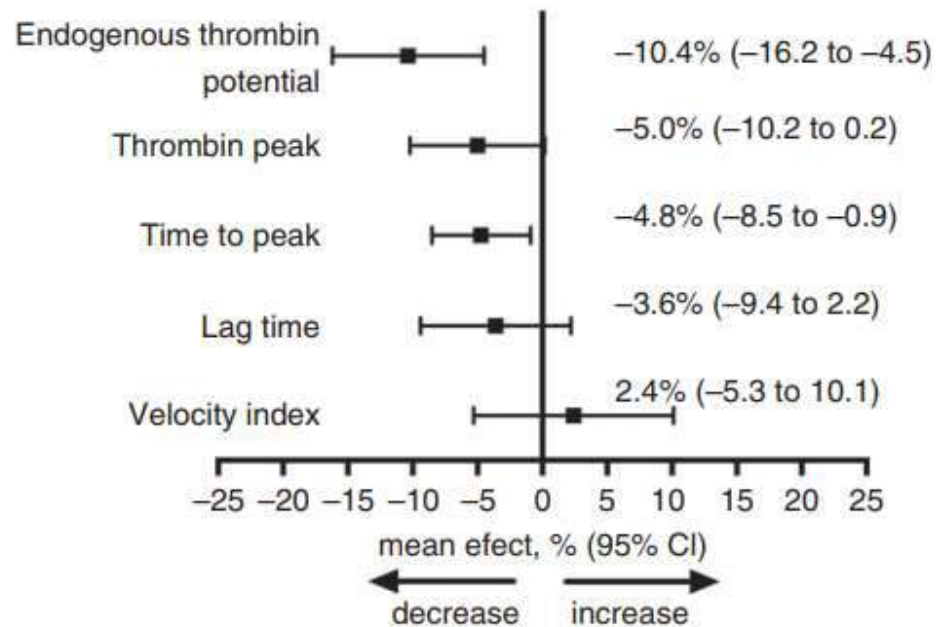
Resultados preliminares. Datos no publicados

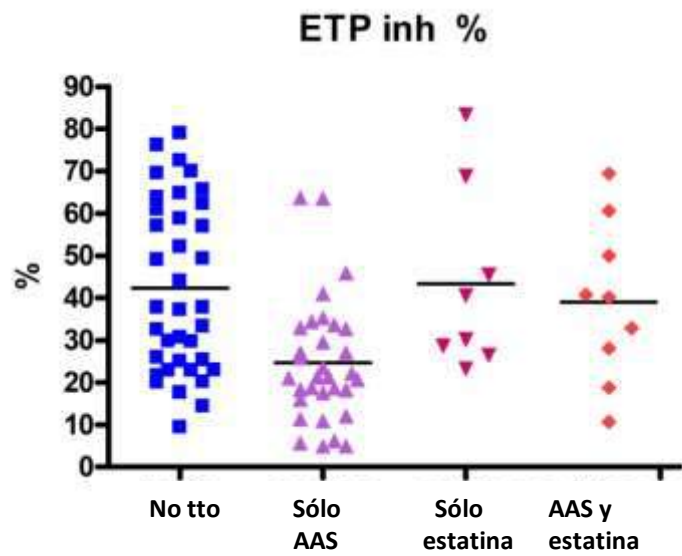
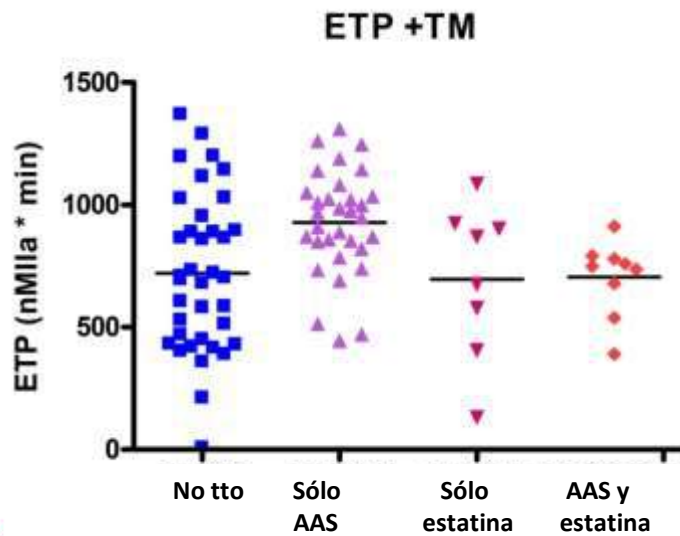
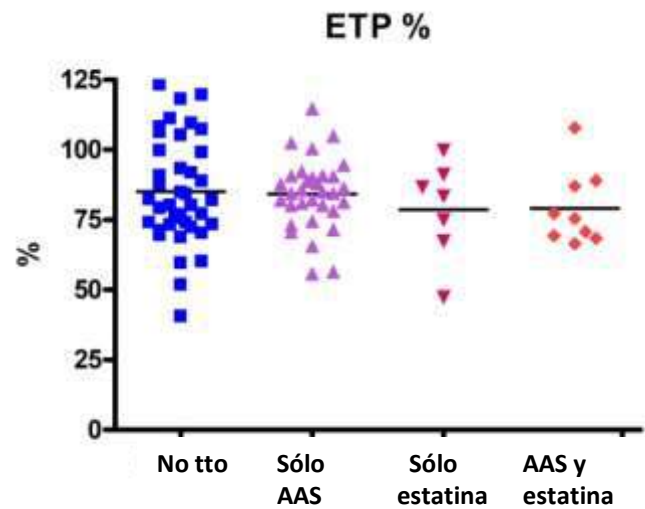
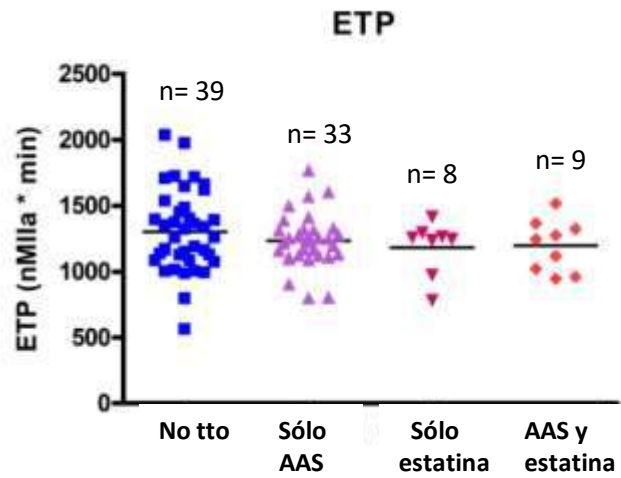
## Markers of hypercoagulability in CAD patients. Effects of single aspirin and clopidogrel treatment

	ASPIRIN (n = 145)			CLOPIDOGREL (n = 131)			$\Delta p$
	Baseline	12 months	p1	Baseline	12 months	p2	
F1+2 (pmol/L)	216 (157, 282)	196 (142, 261)	0.029	201 (149, 279)	205 (158, 340)	0.298	0.023
D-dimer (ng/ml)	424 (271, 642)	434 (309, 661)	0.189	399 (284, 603)	409 (277, 583)	0.405	0.129
ETP (nM·min)	1502 (1308, 1626)	1397 (1148, 1571)	0.003	1492 (1281, 1676)	1366 (1165, 1584)	<0.001	0.687
sTF (pg/ml)	139 (91, 191)	143 (95, 206)	0.029	158* (120, 218)	154 (118, 222)	0.384	0.042†
TFPI (free) (ng/ml)	15.3 (12.3, 17.9)	16.7 (13.0, 20.6)	<0.001	14.4 (11.4, 18.1)	15.3 (11.7, 18.6)	0.035	0.163
TFPI (total) (ng/ml)	68.4 (58.7, 76.6)	66.4 (58.6, 74.4)	0.190	66.1 (58.1, 76.6)	65.1 (57.9, 75.0)	0.130	0.864

1. Tratamiento a largo plazo con antiagregantes disminuye el ETP en pacientes con cardiopatía isquémica estable.
2. Disminución más marcada en el grupo de AAS que en el de Clopidogrel

## Rosuvastatin use reduces thrombin generation potential in patients with venous thromboembolism: a randomized controlled trial





Resultados preliminares. Datos no publicados

## CONCLUSIONES

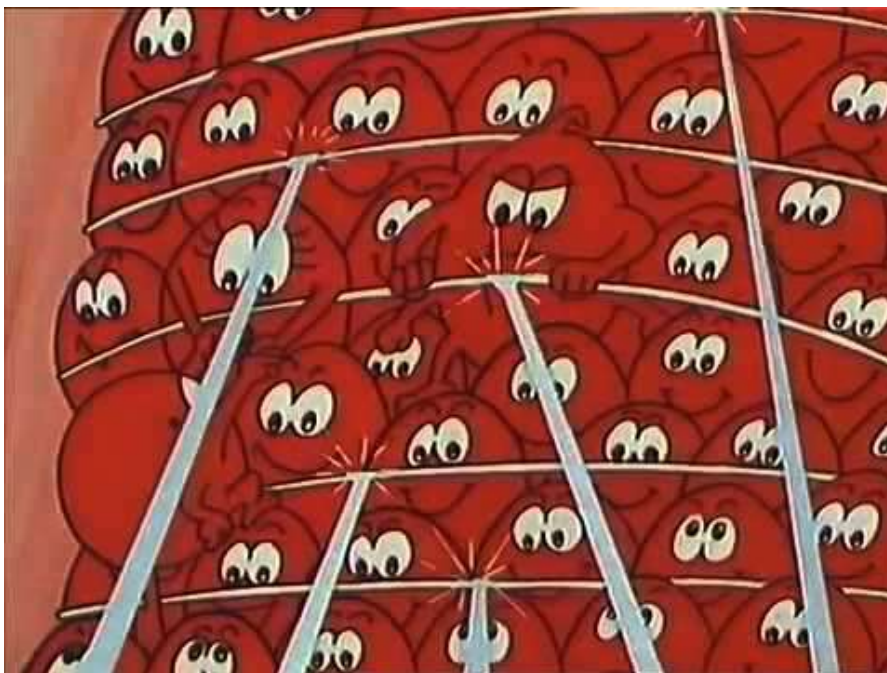
1. Aunque se trata de datos preliminares, parecen confirmarse en pacientes con AL las alteraciones en parámetros de generación de trombina ya descritas previamente: alargamiento del lag time, menor ETP y una menor inhibición del sistema trombomodulina/proteína C activada.
2. La intensidad del AL parece influir especialmente en el lag time y en el ETP inh%.
3. El incremento en el riesgo trombótico descrito previamente en pacientes AL+/Anti- $\beta$ 2GPI + podría estar en relación con un incremento de la resistencia a la proteína C activada.
4. La presencia de Ac. Anti-PS/PT podría contribuir al alargamiento del lag time, time to peak y ETP inh%, aunque es necesario un mayor número de casos para corroborarlo.
5. A falta de analizar un mayor número de pacientes, no se ha confirmado la disminución significativa del ETP al tomar antiagregantes y/o estatinas descrita previamente. La toma de AAS sí afecta al ETP inh%, disminuyéndolo.





IV Foro de Usuarios Stago Academy





**MUCHAS  
GRACIAS  
POR LA  
ATENCIÓN**