

VI Foro Stago Academy



# Diagnóstico de laboratorio de inhibidores de la coagulación

**Dra. Nuria Fernández Mosteirín**  
Hospital Universitario Miguel Servet  
Zaragoza



# INTRODUCCIÓN

## *Definición y Características generales*

- **Inhibidor adquirido**: Anticuerpo que neutraliza, parcial o completamente, la activación o función de un factor de específico de coagulación

### *AUTOANTICUERPOS*

- FVIII (**Hemofilia A adquirida**)
- FvW (**Sdr. von Willebrand Adquirido**)
- Fibrinógeno, FII, **FV**, FVII, FIX, FX, FXI, FXII y FXIII
- **IgG4** >>> IgM o IgA
- Cinética **exponencial** o segundo orden (factor residual - infraestimación)

### *ALOANTICUERPOS*

- **FVIII** y FIX (pacientes con deficiencia congénita y tratamiento sustitutivo)
- FV y FII (exposición a trombina bovina y reacción cruzada)
- **IgG4** >>> IgM o IgA
- Cinética **lineal** o primer orden (exceso de factor - neutralización)

# AUTOANTICUERPOS

## Hemofilia A adquirida: Mecanismos y factores de riesgo

Patología subyacente	
Idiopática	Ausencia de patología subyacente (50%)
Tumores sólidos y hemopatías	Pulmón, próstata, colon, síndromes linfoproliferativos, SMD, mielofibrosis
Patología autoinmune	LES, artritis reumatoide, colitis ulcerosa, AHAI, Sdr. Sjögren, miastenia gravis
Gestación y puerperio	Menos frecuente en gestación, 1-4 meses postparto
Fármacos	Antibióticos, fenitoína, metildopa, interferón, fludarabina, clopidogrel
Patología dermatológica	Pénfigo, psoriasis
Otros	Infección aguda VHB/VHC, EPOC, asma

- **Incidencia 1-6 casos por millón/año**
- **6ª-7ª década (2º pico mujer edad fértil)**
- **Clínica hemorrágica variable (asintomáticos >>> hemorragia grave)**
- **Mortalidad > 15-47% (infección y hemorragia)**
- **Pérdida de tolerancia al FVIII autólogo:**
  - **IgG4** >> IgM o IgA
  - 60% frente a dominio **A2 o C2** (no simulátenos)
  - Dependientes de **tiempo** y **Tª**
  - No fijan complemento (no daño tisular por ICs)

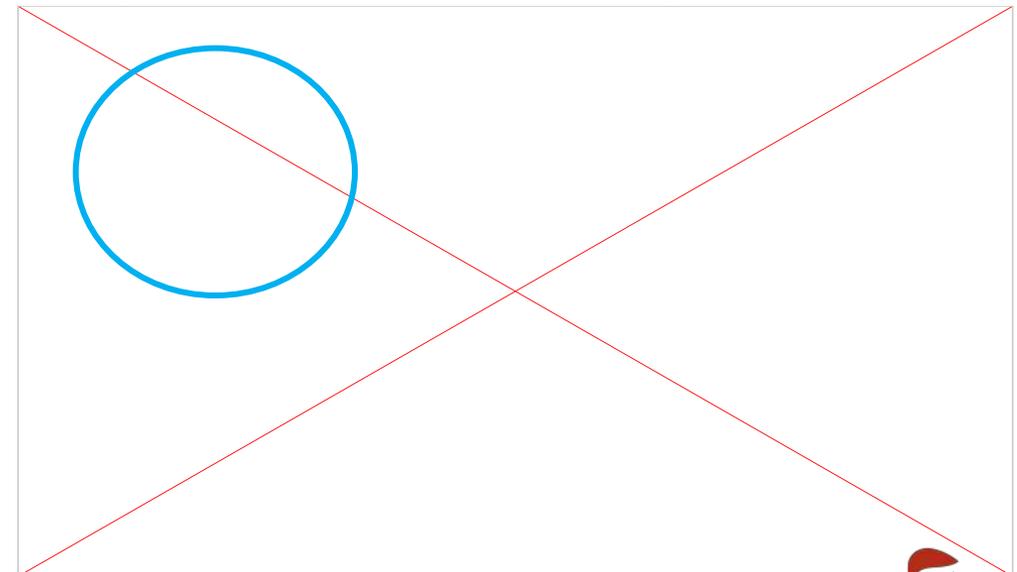
○ **Cinética tipo 2**

# AUTOANTICUERPOS

## Sdr. von Willebrand adquirido (SvWA): Mecanismos y factores de riesgo

Mecanismo patogénico	Patología asociada
Aumento aclaramiento	Sdr. linfoproliferativo, patología inmune, neoplasias
Adsorción superficie celular	Sdr. linfoproliferativos y mieloproliferativos, T. Wilms
Degradación proteolítica en situaciones de alto estrés circulatorio	Cardiopatía congénita, estenosis aórtica (Sdr. Heyde), endocarditis,
Reducción síntesis	Hipotiroidismo
Aumento proteólisis por proteasas específicas	Sdr. mieloproliferativos, uremia y ciprofloxacino
Aumento proteólisis por proteasas no específicas	Hiperfibrinólisis primaria y secundaria, tratamiento fibrinolítico
Idiopático	Ác. Valproico, amiloidosis, infecciones virales

- **Incidencia infraestimada**
- **Inmunocomplejos (poco frecuente) >> gravedad clínica**
- **Sangrado cutáneo-mucoso leve-moderado, grave en el contexto de cirugía**



## **AUTOANTICUERPOS**

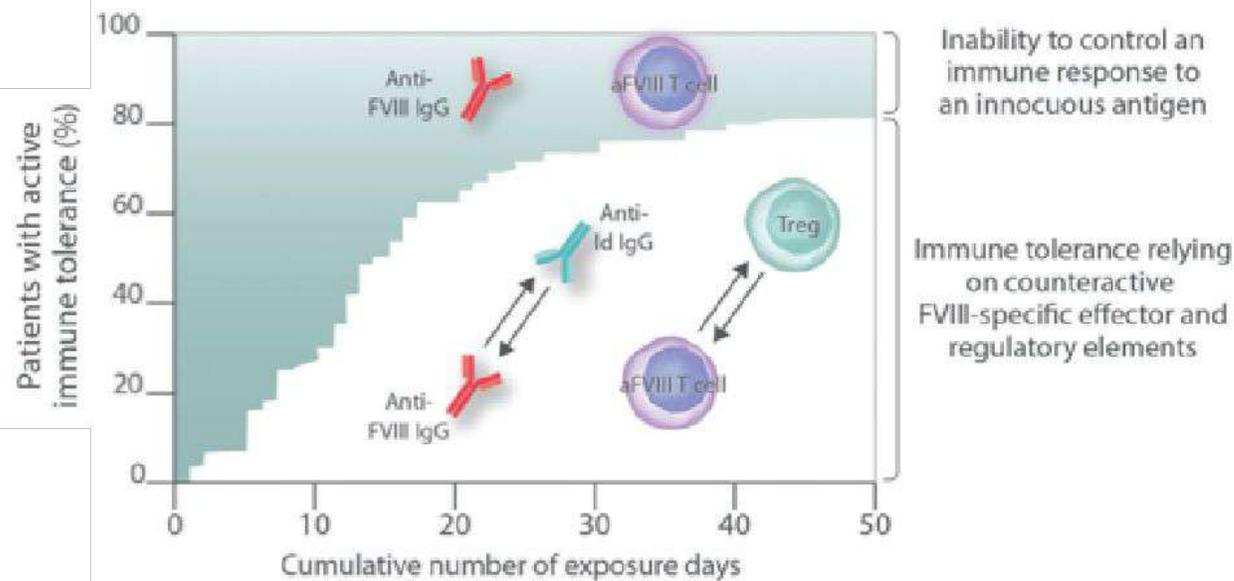
### ***Otros inhibidores de factores de coagulación: Características y factores de riesgo***

#### **AUTOANTICUERPOS**

- **Menos frecuente (incidencia real desconocida)**
- **Inhibidor **FV**: más frecuente**
- **Inhibidor **FXIII**: mayor expresión clínica (HIC, cicatrización y abortos)**
- **Inhibidor **FX**: infección respiratoria**

# ALOANTICUERPOS

## Inhibidores en Hemofilia congénita: Mecanismos y factores de riesgo



### FACTORES DE RIESGO



- **Clínica hemorrágica de difícil control. Hemofilia B: *síndrome nefrótico y anafilaxia***
- **Frecuencia **30%** HAG (3-13% HAM/HAL) y **5%** en HBG.**
- **Periodo de riesgo **50 DE** (10-20 DE)**
- **Principalmente IgG4 (título alto > 5 UB) o IgG1 (título bajo < 5 UB, transitorios)**

Varthaman A and Lacroix-Desmazes S. Haematologica 2019; 104(2): 236-244. Lemos Jardim L et al. Res Pract Thromb Haemost 2020; 4: 752-760.

# DIAGNÓSTICO

- Clínica hemorrágica reciente
- Antecedentes hemorrágicos personales y/o familiares

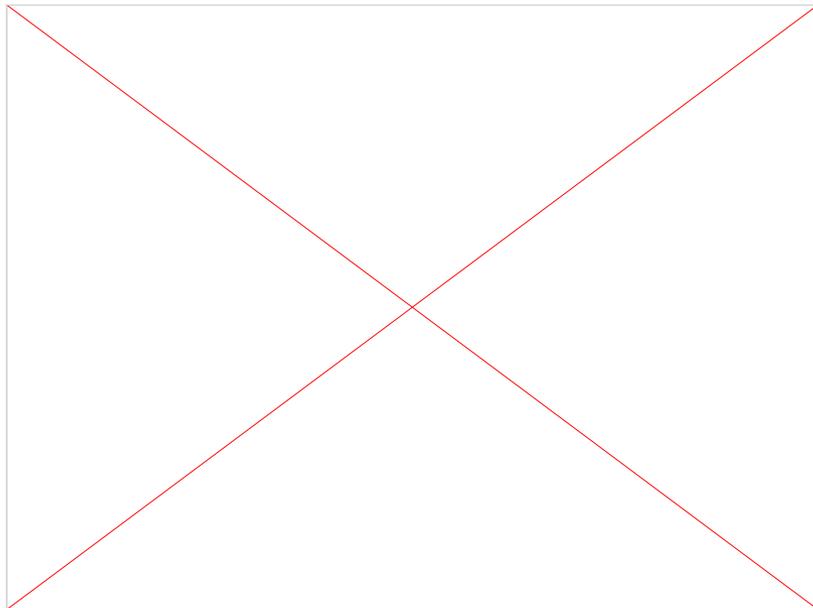
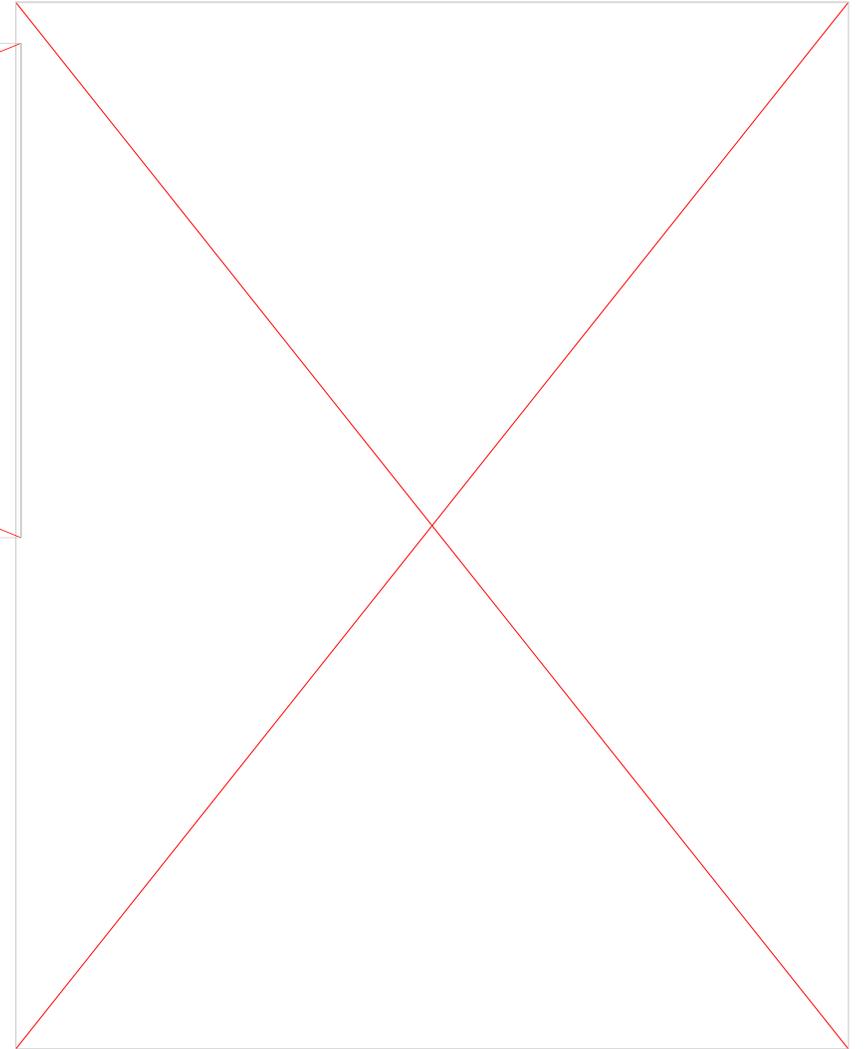
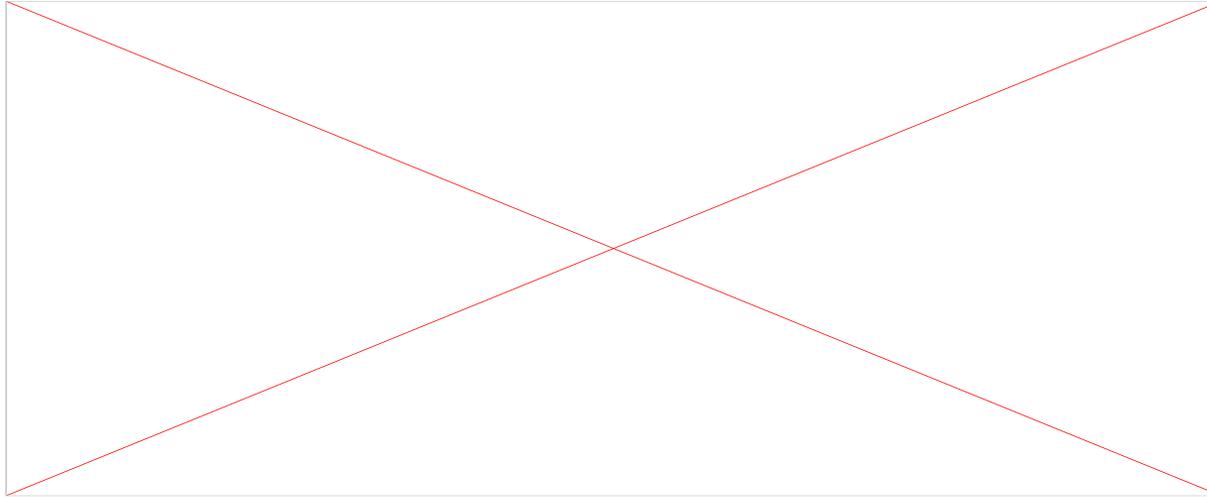
Test	Sensible	Usos	Limitaciones
TP	AVK, deficiencia o inhibidor frente a FII, V, VII, X y fibrinógeno, ACOD (rivaroxabán, dabigatrán)	Monitorización AVK, CID, hepatopatía, estado basal de la hemostasia	Reactivos con diferentes sensibilidades, normalidad no excluye deficiencia, alargamiento no implica riesgo hemorrágico
TTPa	HNF, deficiencia o inhibidor frente a fibrinógeno, FII, V, VIII, IX, X, XI y XII, AVK, ACOD (dabigatrán), anticoagulante lúpico	Monitorización HNF, CID, hepatopatía, estado basal de la hemostasia, algoritmo diagnóstico anticoagulante lúpico	Reactivos con diferentes sensibilidades, normalidad no excluye deficiencia, alargamiento no implica riesgo hemorrágico
TT	HNF, inhibidores directos trombina (dabigatrán), deficiencia o inhibidor frente a fibrinógeno, Dímero D/PDFs	CID, hepatopatía, despistaje presencia de HNF, despistaje presencia dabigatrán	Reactivos con diferentes sensibilidades

ACOD: anticoagulantes orales de acción directa, AVK: antivitamina K, CID: coagulación intravascular diseminada, HNF: heparina no fraccionada, PDFs: Productos de degradación del fibrinógeno

# DIAGNÓSTICO

Test	Principio	Características	Limitaciones
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sal</li> <li>• Au</li> <li>• trat</li> </ul> <p>Método Coagulativo Una Etapa <i>One Stage Assay (OSA)</i></p>	<p>Mide la capacidad del factor presente en el plasma problema de acortar el <b>TP</b> o el <b>TTPa</b> en un <b>plasma deficiente</b> en el factor a estudio en presencia de un activador y fosfolípidos</p>	<p>CLIS recomiendan</p>	<p>Reactivos diferentes con diferente composición de fosfolípidos, múltiples lotes, influencia de concentración de FvW y</p>
<p>Método Cromogénico</p>	<p>Mide la actividad del FVIIIa como cofactor para generar <b>FXa</b> en dos etapas</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <u>1ª etapa</u>: mezcla plasma problema con FX, FIXa, fosfolípidos y calcio (complejo tenasa)</li> <li>- <u>2ª etapa</u>: se añade un <b>sustrato cromogénico</b> que es <b>hidrolizado por el FXa</b> generado liberando color (proporcional actividad de FVIII muestra)</li> </ul>	<p>Serial dilutions of test plasma (1/10, 1/20, 1/40, etc) → aPTT assay performed → Stage 1 for FVIII</p> <p>Limitaciones activación de trombina o unión FIXa)</p>	

# DIAGNÓSTICO



Demostrar  
**DÉFICIT**  
O  
**INHIBIDOR**

## Pool de Plasma Normal

- Mínimo **20 individuos** (50% V/50% M):  
> **80 U/dL** de **cada factor** de coagulación
- Recuento **plaquetas** de cada plasma y del pool  
<  **$10 \times 10^9/L$**
- Anticoagulante **lúpico ausente**
- Congelado o liofilizado (conservación PPN  
comerciales según especificaciones)
- Diferentes mezclas (más frecuente **1:1**)
- Diferentes **métodos** identificar corrección:
  - Corrección dentro del Intervalo Normal  
de Referencia (**INR**)
  - Índice de Anticoagulante Circulante (**ICA**)
  - % de **Corrección**

# TEST DE MEZCLAS: MÉTODOS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

## INTERVALO NORMAL DE REFERENCIA (INR)

**INHIBIDOR: No INR**

- **Fundamento:** Mezcla 1:1 PP:PPN resultado de TP / TTPa dentro de rango de normalidad
- **Limitaciones:** **Falsos negativos:** Normalización por **efecto dilucional** del inhibidor (Realizar solo si alargamiento TP > 2 seg y/o TTPa > 5 seg)

## INDICE DE ANTICOAGULANTE CIRCULANTE (ICA)

**INHIBIDOR > 10-15%**

- **Fundamento:** (*l. de Rosner*) desarrollado para la detección de anticoagulante lúpico

$$\text{ICA} = (\text{Mezcla 1:1} - \text{PPN} / \text{PP}) \times 100$$

**< 10-15%**

- **Desventaja:** Requiere establecer nuevos puntos de corte

## PORCENTAJE DE CORRECCIÓN (%)

**INHIBIDOR < 65-80%**

- **Fundamento:** (*Método de Chang*) Mide el grado de corrección de la mezcla 1:1 (o 4:1)

$$\% \text{ Corrección} = (\text{PP} - \text{Mezcla 1:1} / (\text{PP} - \text{PPN}) \times 100$$

**65-80%**

- **Desventaja:** Requiere establecer nuevos puntos de corte

# TEST DE MEZCLAS: TIEMPO Y Tª DEPENDIENTES



- Inhibidores con **Cinética tipo 1**: Mezcla 1:1 se mantiene evidente ≈ 50 % del efecto inhibitorio (“**corrección parcial**”)
- Inhibidores con **Cinética tipo 2**: Falsa corrección en test de Mezclas 1:1 inmediato (Ac antiFVIII y otros **Tiempo y Tª dependientes**)

- **NO RUTINA:**
  - **Hemofilia** y sospecha de **autoanticuerpos**
  - **Clínica hemorrágica** sin AAPP y sospecha de **aloanticuerpos**
- No disponible dosificación de factores
- **Decidir** realizar **cuantificación** del inhibidor

# DIAGNÓSTICO

## Rescapitulando ....

- Clínica hemorrágica reciente
- Antecedentes hemorrágicos personales y/o familiares

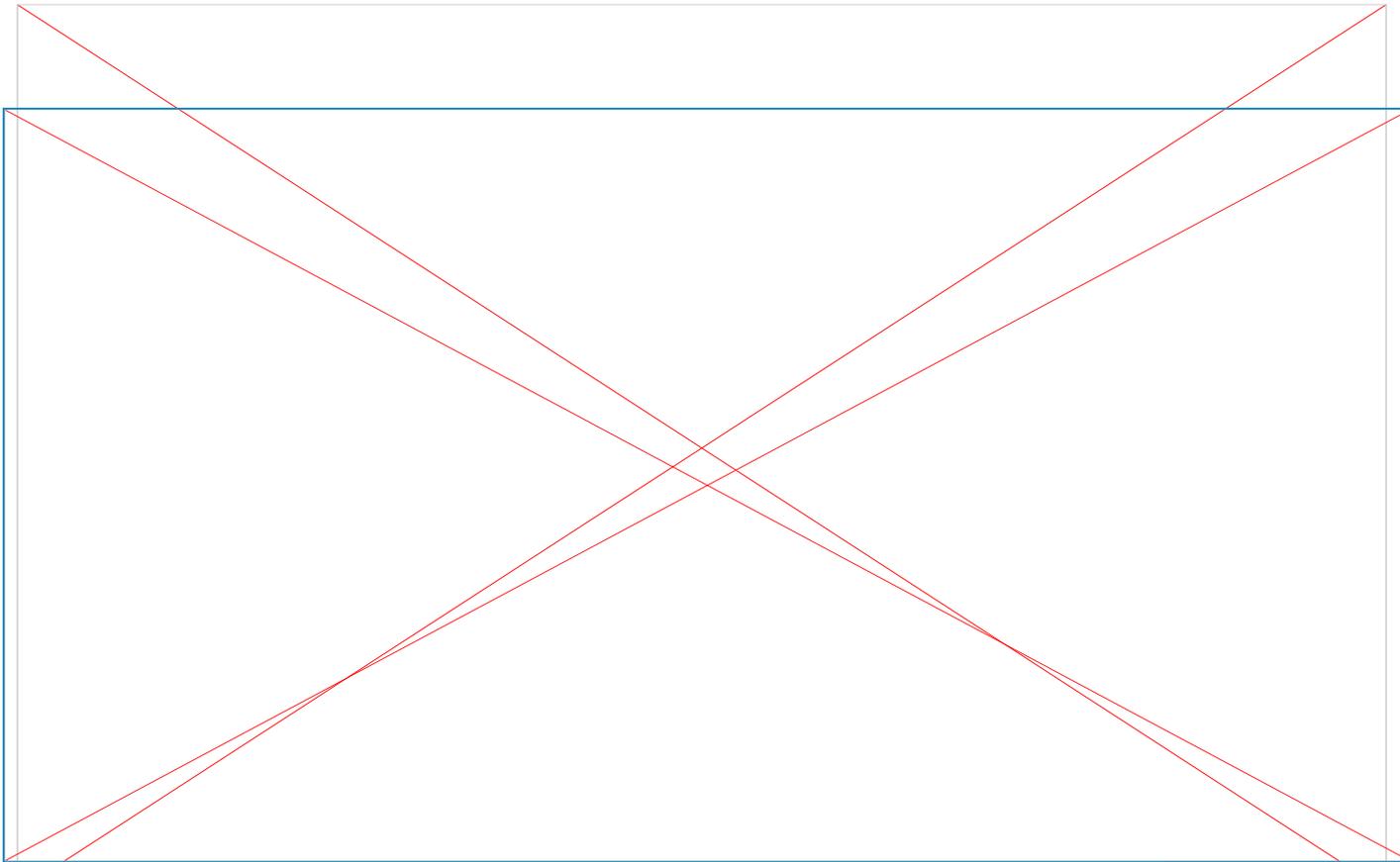
**AUSENCIA CORRECCIÓN**

**NO PARALELISMO**

**SOSPECHA INHIBIDOR ESPECÍFICO vs  
ANTICOAGULANTE LÚPICO**

## SOSPECHA INHIBIDOR ESPECÍFICO vs ANTICOAGULANTE LÚPICO

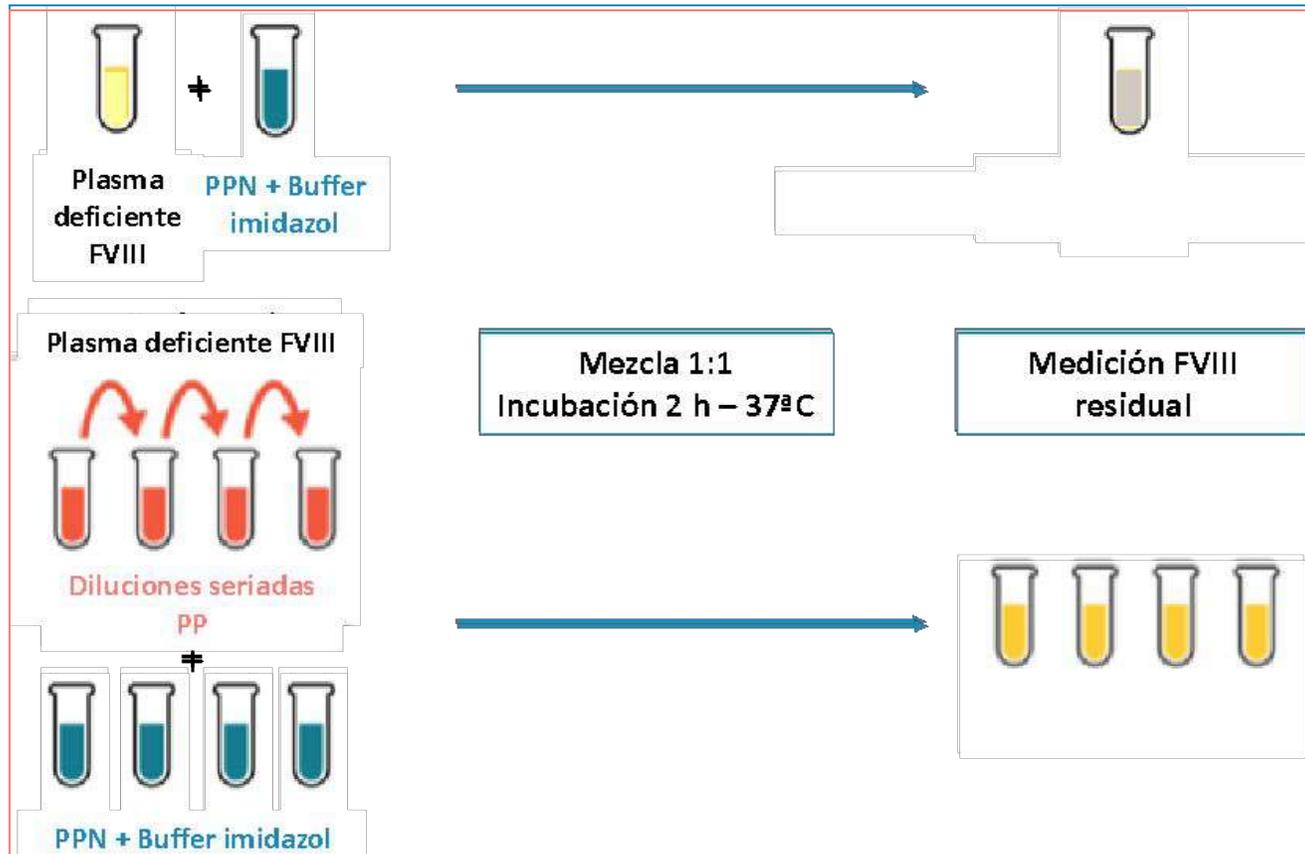
### ESTUDIO CUALITATIVO (TEST DE KASPER): TEST DE MEZCLAS INCUBADO



- **Inhibidor específico:**  
**Ratio TTPa Mezcla Control / TTPa Mezcla Incubada < 0,85**
  - TTPa Mezcla Incubada >>> TTPa Mezcla control (**Tiempo** y **T<sup>a</sup>** dependiente: **FVIII** y **FV**)
- **Anticoagulante lúpico:**  
**Ratio TTPa Mezcla Control / TTPa Mezcla Incubada ≈ 1**
  - TTPa Mezcla Incubada = TTPa Mezcla control (**Tiempo** y **T<sup>a</sup>** independiente)

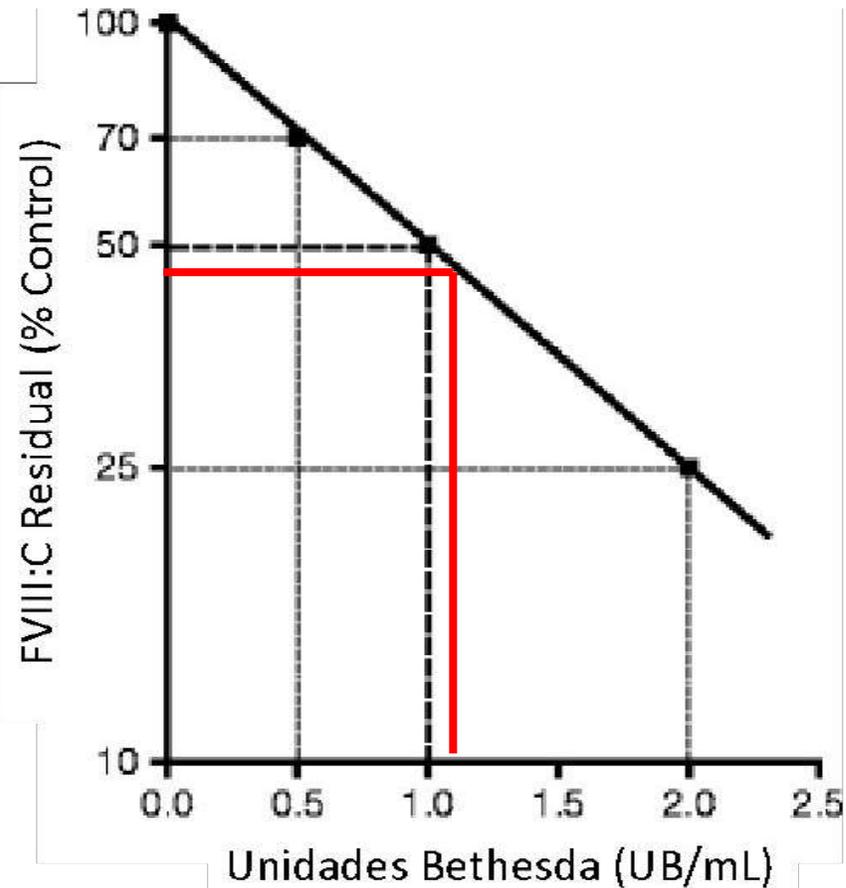
## ESTUDIO CUANTITATIVO: ENSAYO NIJMEGEN-BETHESDA

### ¿QUÉ CANTIDAD DE INHIBIDOR HAY EN LA MUESTRA?



- **Fundamento:** **FVIII exógeno** añadido a diluciones seriadas de PP (incubación) es **progresivamente neutralizado**. FVIII residual es inversamente proporcional a la cantidad de inhibidor presente
- **Unidad Bethesda (UB):** cantidad de inhibidor que neutraliza el 50% de 1 UI de FVIII:C en PN tras incubación 2 h-37°C
- **Nijmegen:** **FVIII inmunodeplecionado** y **buffer de imidazol 0,1 M/pH 7,4** en la mezcla de PN (recomendaciones **ISTH**: punto corte  $\geq 0,6$  UB confirmado 4 semanas)

## ESTUDIO CUANTITATIVO: ENSAYO NIJMEGEN-BETHESDA



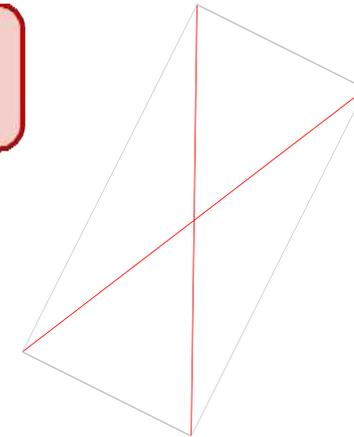
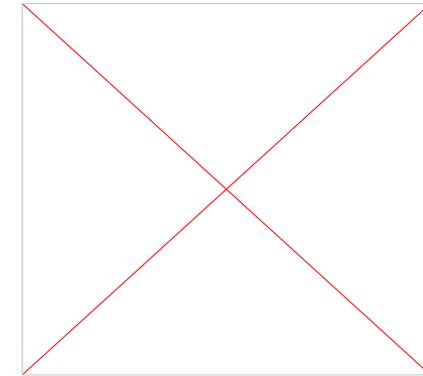
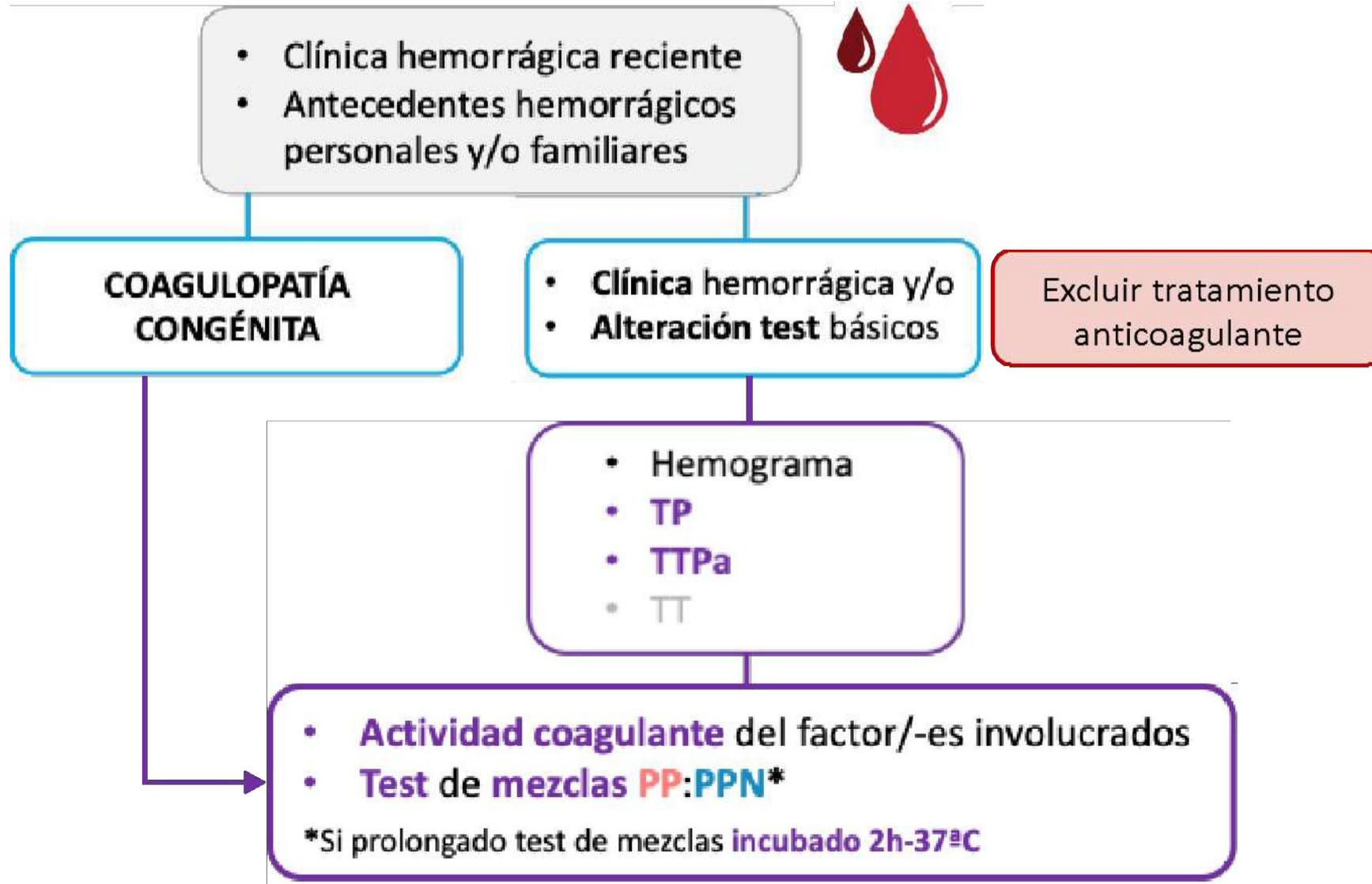
- **Título de inhibidor (UB):** Actividad residual(AR) FVIII:C (Y) y Unidades de Inhibidor (X)

• **Cálculo dilución del PP que muestra una actividad**

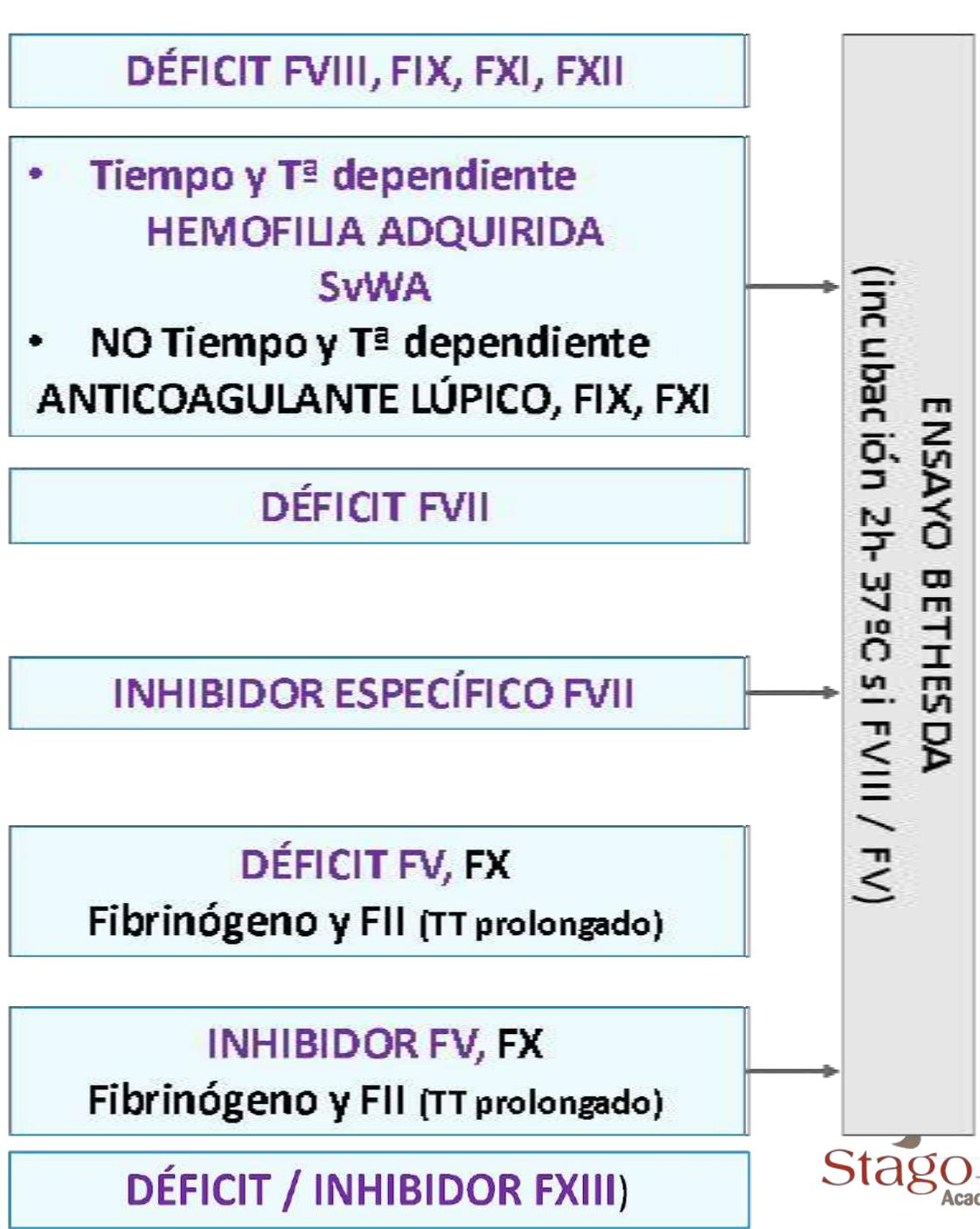
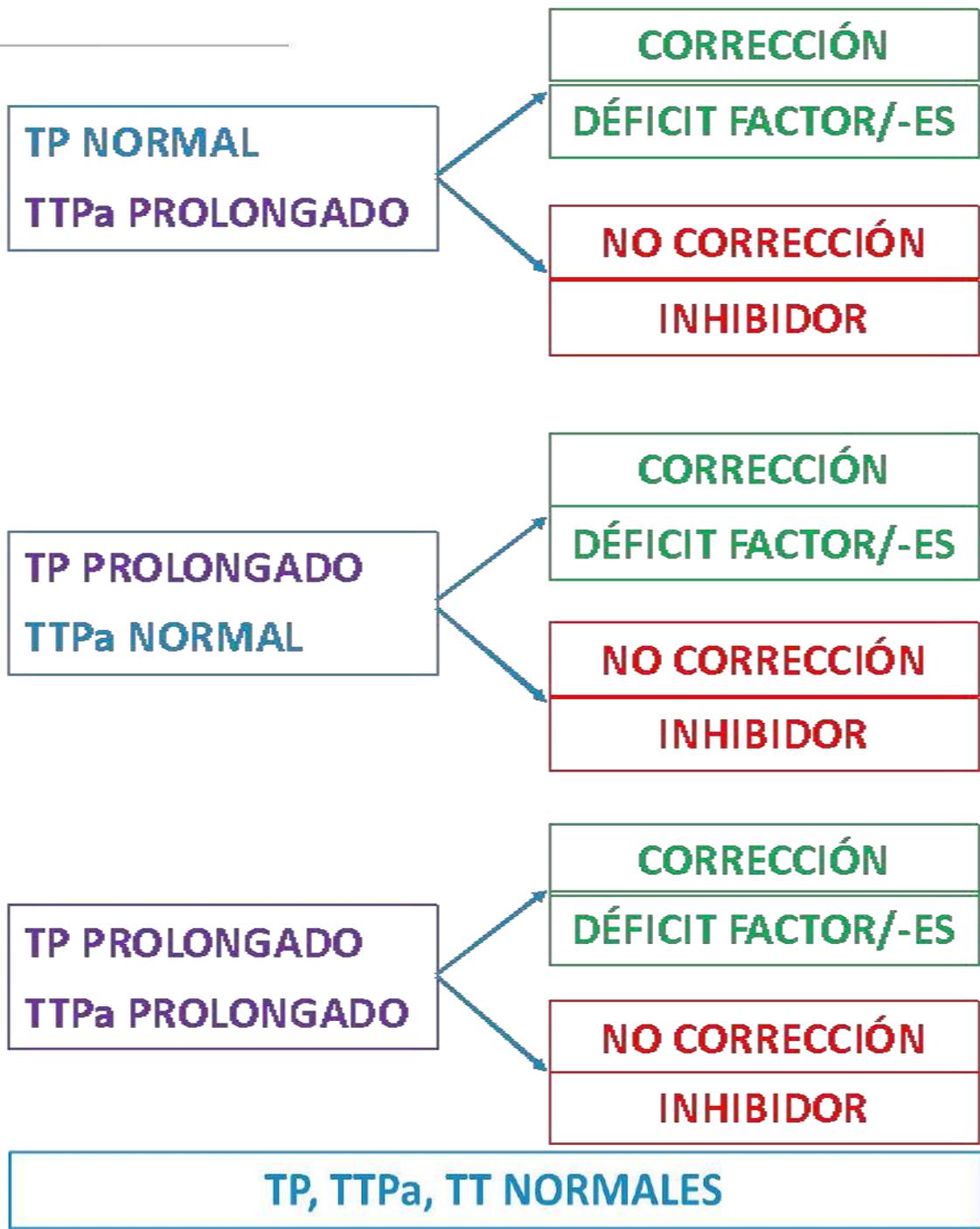
Dilución	FVIII:C PP	FVIII:C Control	FVIII:C Residual	UB	UB x Factor dilución
1:2	6,1	53	12	nc	nc
1:5	9,3	53	18	2,51	12,6
1:10	15,8	53	30	1,75	17,5
<b>1:20</b>	<b>24,4</b>	53	46	1,12	<b>22,4</b>
1:40	37,2	53	70	0,51	20,4
1:80	42,5	53	80	0,32	25,5
1:160	50,4	53	95	0,07	11,6

- **Falsos negativos**
  - Tratamiento **sustitutivo** reciente con FVIII
  - Tratamiento no sustitutivo (**emicizumab**): FVIII cromogénico de origen bovino

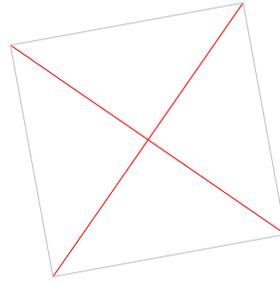
# ALGORITMO DIAGNÓSTICO



**Posibilidades  
Diagnósticas**

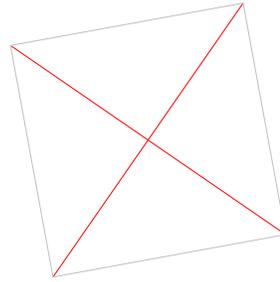


## QUE ME LLEVO A CASA...



- Los inhibidores adquiridos de la coagulación son defectos **poco frecuentes** que pueden causar **morbi-mortalidad significativa**, de ahí la importancia de su **rápida detección e identificación**
- Pueden desarrollarse en el contexto del tratamiento sustitutivo pacientes con antecedente de patología hemorrágica congénita (**aloanticuerpos**) o en pacientes sin historia personal o familiar de diátesis hemorrágica (**autoanticuerpos**)
- Deben sospecharse en el caso de **alargamiento de los test básicos** de coagulación (TP y/o TTPa y/o TT) y su **ausencia de corrección** en una **mezcla 1:1 con plasma normal**
- El **test de mezclas** es una prueba sencilla, rápida y barata que puede ser realizada en **todos los centros** en situaciones de **urgencia**

# QUE ME LLEVO A CASA...



- No obstante, la **detección, caracterización y diagnóstico** es **compleja**, **no** existiendo un **consenso** respecto a la **secuencia** a seguir tras detectar un efecto inhibitorio en los ensayos de mezclas, requiriendo de **laboratorios especializados**
- **Ausencia** de **especificidad 100%** de las pruebas, por lo que es crítico realizar una **adecuada interpretación** de los resultados, descartando posibles interferencias, para conseguir un diagnóstico correcto
- Los **algoritmos diagnósticos** son una **herramienta** útil para interpretar los resultados de laboratorio, aunque no contemplan en general la posibilidad de defectos combinados

**GRACIAS!!!!**