



# LABORATORIO EN TROMBOFILIA Actualización

**Yolanda P. Adamczuk**

IX Congreso Argentino de Hemostasia y Trombosis

**Grupo CAHT**

28 de Octubre de 2010

Buenos Aires - Argentina

**Sin conflictos de interés**



# TROMBOFILIA

- Tendencia a desarrollar trombosis
- Hereditaria
- Adquirida

# TROMBOFILIA GENÉTICA

- Trombofilias de “Alto Riesgo”:
  - Deficiencia de Antitrombina
  - Deficiencia de Proteína C
  - Deficiencia de Proteína S
  
- Trombofilias de “Bajo Riesgo”
  - Factor V Leiden
  - Protrombina 20210A



# Laboratorio de Trombofilia

- Existen limitaciones:
  - Inexactitud
  - Imprecisión
  - Influencia de variables preanalíticas
- Estudio limitado a un grupo de individuos
- Guías prácticamente sin grandes cambios desde 2001

# Laboratorio de Trombofilia

## Recomendaciones



- Siempre realizar un estudio básico de coagulación:
  - **Tiempo de Protrombina**
  - **APTT**
  - **Tiempo de Trombina**

# Antitrombina



## MÉTODOS FUNCIONALES

Tipo	AT Funcional	AT Antigénica
I	↓	↓
II (RS)	↓	N
II (HBS)	↓	N
II (Pleiotrópicas)	↓	↓ <sup>o</sup> N

- Ensayos cromogénicos basados en la actividad inhibitoria de la AT en presencia de heparina como cofactor sobre:
  - **Ila bovina: sería más sensible a ciertas def relacionadas al RS (AT Cambridge, Estocolmo, etc)**
  - Xa
  - Modificación de los métodos para medir la **actividad progresiva de la AT: def. II (HBS)**
    - Realizar el ensayo en ausencia de heparina aumentando el tiempo de incubación

# Proteína C



## MÉTODOS FUNCIONALES

Tipo	PC Funcional	PC Antigénica
I	↓	↓
II	↓	N

- **Cromogénicos**
- **Coagulantes:** Podrían ser sensibles a ciertas deficiencias de Tipo II muy poco frecuentes debido a alteraciones en la unión a fosfolípidos relacionadas al dominio Gla

# Proteína S



## MÉTODOS INMUNOLÓGICOS

Tipo	Actividad Funcional	PSL	PST
I	↓	↓	↓
II	↓	N	N
III	↓	↓	N

- **Proteína S Libre antigénica**
- Si se usan métodos funcionales como screening, los valores disminuidos deben confirmarse con métodos inmunológicos (PS Libre)





# Resistencia a la Proteína C activada

- **Para detectar Factor V Leiden**

- Método funcional modificado: dilución de la muestra del paciente en plasma deficiente en Factor V

- Sensibilidad cercana al 100 %

- Puede existir interferencias debido a la presencia de AL muy fuertes o anticuerpos antifosfolípidos en alto título

- **Los valores por debajo del punto de corte siempre deben ser confirmados con el estudio genético**

- **Si inicialmente se realiza el estudio genético, no es necesario la prueba funcional**

- ✓ Como factor de riesgo independiente del Factor V Leiden: Ensayo original



# Protrombina 20210A

- **La detección siempre se debe realizar por un método genético**



# Disfibrinogenemias

- TV familiar debida a disfibrinogenemia es muy rara
- **Las pruebas diagnósticas no son altamente específicas**
- Se sugiere:
  - Pruebas de screening:
    - Tiempo de Trombina
    - Tiempo de Reptilasa
  - Prueba confirmatoria:
    - Ratio Fibrinógeno funcional/Fibrinógeno antigénico
      - Se considera positivo si el valor se encuentra por debajo del rango de referencia

# Laboratorio de Trombofilia

## Consideraciones importantes



- Los resultados patológicos (**disminuidos**) de **AT, PC** y **PS** deben ser confirmados con una segunda determinación
- Riguroso control de calidad interno: se sugieren 2 niveles de controles:
  - Uno Normal
  - Otro en el punto de corte entre normal y patológico
- Participación en un programa de control de calidad externo
- Los estudios de trombofilia deben ser supervisados por profesionales de laboratorio altamente calificados

# Laboratorio de Trombofilia

## Consideraciones importantes



- Los estudios **no** deben realizarse durante el período agudo de trombosis
  - El paciente **no** debe estar bajo tratamiento con anticoagulantes orales
  - **No** deberían realizarse estudios de trombofilia durante ciertas situaciones como
    - Embarazo
    - Ingesta de anticonceptivos orales
    - Terapia de reemplazo hormonal
- ➔ **Los estudios genéticos no se ven afectados en estas situaciones**

# Laboratorio de Trombofilia

## Otras consideraciones



- La calidad de la muestra es muy importante
  - Doble centrifugación
  - Almacenamiento en varias alícuotas en tubos de plástico
    - Temperaturas menores a  $-20^{\circ}\text{C}$  para períodos menores a 2 semanas
    - Períodos mayores a 2 semanas temperaturas inferiores a  $-40^{\circ}\text{C}$ .
- Rangos de referencia:
  - Lo ideal: cada laboratorio debería calcular su propio rango de referencia para su combinación de “aparato-reactivo”: PC, PS, AT y APC-R
  - Al menos validar el rango sugerido por el fabricante

# Laboratorio de Trombofilia

## Tests globales



- **Dímero D**
    - Es un biomarcador de generación de trombina *in vivo*
  - **Test de Generación de Trombina**
    - Cuantifica la habilidad para generar trombina de un plasma *in Vitro* en respuesta a un estímulo predeterminado de factor tisular
  - **Tromboelastograma**
    - Podría dar información relevante de riesgo trombótico
- ➔ Parecerían evidenciar el estado protrombótico y algunos de ellos (DD) ser predictores del riesgo de recurrencia sin embargo se requiere estandarización y validación de los métodos, así como entrenamiento para su interpretación y estudios prospectivos que avalen su utilidad

# Laboratorio de Trombofilia



## SNPs

- **SNPs**: Single nucleotide polymorphisms
  - El análisis de perfiles de SNPs permitiría estimar el riesgo individual de cada paciente
  - Se requieren grandes estudios poblacionales para confirmar la asociación de los mismos con el riesgo trombótico y la predicción de recurrencia



# Laboratorio de Trombofilia

## SNPs

Algunos SNPs asociados con trombosis según el estudio MEGA

Símbolo del gen	SNP	Sustitución
F11	rs2289252	22771C→T
FGG	rs2066854	129 A→T
F5	rs4524	Lys858Arg
PROC	rs1799810	2583 A→T
PAI-1	rs2227631	664 A→G
F9	rs4149755	12806 T→A
TAFI	rs17844078	36326 T→C