

de coagulación (anticoagulante lúpico-AL) y por ensayos inmunológicos (ELISA) como anticuerpos anticardiolipina (aCL) y anti- β 2glicoproteína I (a β 2GPI). En algunos casos se evalúan los niveles elevados de algunos factores de coagulación como factor VIII, IX y XI. Su importancia es más relativa y solo los incrementos sostenidos de FVIII parecen tener importancia como factor protrombótico. La evaluación de los componentes fibrinolíticos tiene poca relevancia clínica y solo el incremento sostenido del inhibidor del activador tisular de plasminógeno (PAI) podría relacionarse al riesgo de trombosis arterial. Existen otros polimorfismos genéticos que son solicitados en la evaluación de trombofilia como el del gen de la metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR-677CT) o la inserción/delección 4G/5G en el gen del PAI-1. Sin embargo estos dos últimos factores genéticos tienen escasa o nula relación con el riesgo de complicaciones trombóticas o de embarazo. En la Tabla 2 se muestran los factores protrombóticos que se incluyen actualmente en el panel de trombofilia y su prevalencia en la población general. Las trombofilias clásicas (deficiencias de PC, PS y AT) son las menos prevalentes pero son las que de presentarse dan el mayor riesgo relativo de primer episodio o recurrencia de trombosis venosa. En el caso de trombosis arterial casi ninguna de las alteraciones genéticas son factores de riesgo. Por el contrario la trombofilia adquirida aFL se asocia a riesgo incrementado tanto de trombosis venosa como arterial y también a complicaciones obstétricas. Para las trombosis arteriales tienen mayor peso como marcadores de riesgo los factores circunstanciales como tabaquismo, hipercolesterolemia, obesidad, diabetes, etc. El riesgo de cualquiera de estos marcadores mencionados anteriormente se

multiplica cuando se le suma otro factor como el uso de anticonceptivos orales, la inmovilización prolongada, cirugía, embarazo, post parto (5,6).



Tabla 2. Prevalencia de trombofilia y riesgo estimado en diferentes situaciones clínicas.

	Prevalencia en población general	Riesgo de primer episodio de trombosis venosa	Riesgo de recurrencia de trombosis venosa	Riesgo de trombosis arterial	Riesgo de complicaciones obstétricas
Def de AT	1%	3-10	2-2	1	1-3
Def de PC	1%	4-6	1-2	1	1-3
Def de PS	1%	1-10	1-2	1	1-3
FVL	3-7%	0-6	1-2	1-5	1-3
PT20210	2-4%	2-5	1-2	1	1
aFL	5%	3-10	2-5	2-5	2-5

Evaluación del estado trombofílico: ¿A qué paciente, cuándo y cómo?

No todo paciente que ha tenido un episodio trombótico agudo debe ser estudiado. La investigación de trombofilia se realiza fundamentalmente para tomar conductas profilácticas y/o terapéuticas importantes ante situaciones predisponentes en aquellos portadores de la alteración (pacientes o familiares). Deben primar en la decisión de realizar el estudio además las características de edad temprana (<45 años), la localización inusual, la historia familiar, la severidad de la enfermedad, la ausencia de factores circunstanciales, etc. Las siguientes situaciones clínicas también son de elección para estudiar trombofilia: purpura fulminante del neonato, necrosis de piel inducida por el inicio de la terapia

anticoagulante oral, trombosis recurrente y asociación de trombosis venosa y arterial y de trombosis con pérdidas fetales recurrentes (7).

Una vez conocido el defecto, si este es congénito se aconseja el estudio familiar para confirmar el origen genético de la alteración y para identificar a los portadores sanos. Especialmente si el paciente tiene familiares jóvenes asintomáticos en los que conviene tomar medidas profilácticas ante la exposición a factores de riesgo como son el embarazo, puerperio, ingesta de anticonceptivos orales, procedimientos quirúrgicos, etc.

El estudio de trombofilia no tiene carácter de urgencia y no debe ser realizado en el momento agudo. Solo se justifica el dosaje de AT ante una falla en la respuesta al tratamiento con heparina. El episodio trombótico agudo es considerado un estado inflamatorio en el que muchas proteínas del sistema hemostático se modifican. Por ejemplo el factor VIII y el fibrinógeno se incrementan por ser reactantes de fase aguda y pueden alterar muchas pruebas de coagulación. Los ensayos funcionales para PC, PS y APCR en su método clásico se ven afectados por estos incrementos de FVIII y fibrinógeno interfiriendo en la interpretación de estos ensayos. La prueba de APCR con predilución del plasma en plasma deficiente en factor V se ve afectada también aunque en menor cuantía. Ciertos ensayos usados en la evaluación del AL (APTT) también se ven modificados por estos incrementos de proteínas en el episodio agudo. Por todo esto se recomienda el estudio de trombofilia al menos 3 meses alejado del mismo. En los casos en los que no se puede evitar el estudio en la etapa aguda de la trombosis,

DIAGNOS MED S.R.L.

Conesa 859 (C1426AQR) CABA
Tel. 011 4552-2929 (Rot.) - Fax 011 4551-5296
info@diagnosmed.com - www.diagnosmed.com



www.diasource-diagnostics.com



- 1,25(OH) 2 Vitamina D, RIA CT
- 25 (OH) Vitamina D total (D2 + D3) elisa y proximamente ria fase sólida
- 25 (OH) Vitamina D3 ria fase sólida

full spectrum cell analysis
eBioscience Immunoassays
www.ebioscience.com

We have your solution...
Bead-Based Multiplexing

- FlowCytomix™ Multiple Analyte Detection System Comprehensive, Validated ELISA
- Platinum ELISA Kits
- Instant ELISA® Kits
- High Sensitivity ELISA Kits Coat-It-Yourself ELISA Products
- Ready-SET-Go!® ELISA Sets
- Ready-SET-Go!® ELISPOT
- ELISA Antibodies & Recombinants
- Cytokine elisa kits Th 17 Cell products.



www.diazyme.com



www.elisa.co.uk



www.molecularmd.com



www.biovision.com



www.insitus.com



www.alpco.com



www.salimetrics.com



www.quidel.com



www.rsrt.com



www.bendermedsystems.com



www.raybiotech.com

se recomienda la reevaluación luego de discontinuar el tratamiento anticoagulante. Es importante recordar que las determinaciones de biología molecular no se hallan afectadas en estas circunstancias (8).

Con respecto a la PS cabe destacar que la fracción libre (40% de la PS total) es la que tiene el rol de cofactor en la inactivación del FV activado, mientras que el resto se une a C4bBP. La metodología para evaluar la PS libre por ensayos funcionales coagulantes presenta ciertas limitaciones en lo que respecta a sensibilidad y reproducibilidad. El método recomendado es la evaluación por métodos inmunológicos de ELISA o inmunoturbidimétricos en los que se utilizan anticuerpos monoclonales que solo reconocen epitopes localizados en la fracción libre de la PS o en los que se mida solo la fracción libre.

Los pacientes recibiendo anticoagulación no deben ser estudiados, al menos en aquellos factores de riesgo que son influenciados por la medicación. Es conocido que la AT disminuye durante el tratamiento con heparina no fraccionada por lo que se recomienda no estudiarla en los pacientes bajo esa terapia anticoagulante. Si de todas maneras se estudiara, cualquier resultado disminuido de AT debe ser verificado luego de la suspensión del tratamiento. Las heparinas de bajo peso molecular interfieren con ciertas pruebas de AL como el dRVVT aunque algunos reactivos comerciales tienen incorporado inhibidores de heparina en su composición. La prueba de confirmación con lisado plaquetarios que se usa en el estudio del AL puede dar resultados falsos positivos en plasmas con heparina de bajo peso molecular o no fraccionada. Si se debe estudiar un paciente recibiendo heparina cada 12 horas, la muestra de sangre debe ser tomada a la mañana siguiente de haber suspendido la dosis de la noche. Si recibe heparina en infusión continua, se debe cerrar el goteo por lo menos durante 4 horas antes de la toma de muestra y verificar que el tiempo de trombina de la muestra de normal.

En el caso de pacientes con trombosis recurrente aún incluso bajo terapia anticoagulante y que por lo tanto no puede dejarse libre de anticoagulación por un periodo prolongado, se recomienda hacer

el cambio de anticoagulantes orales a heparina subcutánea (en general de bajo peso molecular) durante por lo menos 10 días y tomar la muestra luego de suspender la última dosis. Esto se debe a que las PC y PS son vitaminas K dependientes y por lo tanto la actividad funcional de las mismas se ve disminuida por los anticoagulantes orales. Para su estudio el paciente debe haber suspendido la terapia al menos 7-10 días antes de la toma de muestra.

La toma de muestra de sangre debe ser realizada en pacientes con ayuno de 8 horas por punción limpia y con el menor estasis venoso. Es la misma recomendación que para cualquier estudio de hemostasia. El horario debe ser por la mañana para evitar cualquier variación que se produzca por la actividad del día (por ejemplo para el dosaje de FVIII) así como por el ritmo circadiano de algunas proteínas hemostáticas. Para la evaluación de homocisteína el ayuno debe ser de 10-12 horas y la muestra mantenida en hielo hasta la centrifugación y la separación del plasma. Es importante realizar un interrogatorio a los pacientes para conocer historia personal o familiar de trombosis, ingesta de medicaciones, alimentación, etc.



Tabla 3. Recomendaciones en el estudio de laboratorio e interpretación

Realizar un interrogatorio en el momento de la recolección de sangre para conocer historia clínica personal y familiar, uso de medicamentos antiembotólicos, ingesta de antiembotólicos, etc.
Antes de iniciar un estudio de laboratorio de coagulación (PC y PS) se debe evaluar la actividad de AT. Si el paciente está recibiendo heparina no fraccionada que interfiera con la actividad de AT, PC y PS, se debe esperar a que se suspenda la heparina y la actividad de AT sea normal antes de iniciar el estudio de laboratorio.
El factor de AT (APC) junto con los análisis de rutina del paciente debe poderse realizar antes de la presencia de heparinas que interfieren con los tiempos de AT, PC y PS, así como con pruebas de lisado de heparinas en la presencia de un sistema recalcificante en el que domina la AT.
Los ensayos de laboratorio de coagulación para evaluar AT y APC deben ser realizados con la muestra de sangre para evaluar AT y APC.
Los ensayos inmunológicos para PC son más confiables y reproducibles que los de coagulación.
Los análisis de laboratorio de coagulación para PS.
Si el resultado de APC es positivo para indicar la actividad de FV, debe utilizarse el ensayo con heparinas en plasma del paciente en hielo.
En el caso de APC debe evaluarse el FV por ensayos funcionales.
En todo paciente con diagnóstico de AT, PC o PS se debe confirmar la alteración con nueva muestra.
Realizar control de calidad interno y externo de las actividades utilizadas en trombología.

Cualquier fenotipo que indique la presencia de algún factor de riesgo trombotico, debe ser confirmado con otra muestra extraída luego de 2-3 meses. En la Tabla 3 se indican las principales recomendaciones del laboratorio en la eva-

luación de trombophilia. Como se recomienda actualmente, solo la evaluación de factor V Leiden y gen de la protrombina 20210AG están dentro del perfil (evaluado por ensayos de biología molecular) sugerido para los estudios de trombophilia en pacientes con trombosis o pérdidas de embarazo (9-11).

Bibliografía

- Butenas S, Orfeo T, Mann K. Tissue Factor in Coagulation. Which? Where? When? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009; 29: 1989-96.
- Rau JC, Beaulieu LM, Huntington JA, Church FC. Serpins in thrombosis, hemostasis and fibrinolysis. *J Thromb Haemost* 2007; 5: 102-15.
- Lijfering W, Rosendaal F, Cannegieter S. Risk factors for venous thrombosis – current understanding from an epidemiological point of view. *Br J Haematol* 2010; 149: 824-33.
- Baglin T, Gray E, Greaves M, et al. Clinical guidelines for testing for heritable thrombophilia. *Br J Haematol* 2010; 149: 209-20.
- Makris M. Thrombophilia: grading the risk. *Blood* 2009; 113: 5038.
- McNamee K, Dawood F, Farquharson R. Recurrent miscarriage and thrombophilia: an update. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2012; 24: 229-34.
- Kearon C. Influence of hereditary or acquired thrombophilias on the treatment of venous thromboembolism. *Curr Opin Hematol* 2012; 367-70.
- Franchini M. Utility of testing for factor V Leiden. *Blood Transfus* 2012; 10: 257-9.
- Middeldorp S. Is thrombophilia testing useful? *Haematol* 2011; 150-5.
- Middeldorp S, van Hylckama Vlieg A. Does thrombophilia testing help in the clinical management of patients? *Br J Haematol* 2008; 143: 321-35.
- Dalen J. Should patients with venous thromboembolism be screened for thrombophilia? *Am J Med* 2008; 121: 458-63.

