



CONTROVERSIA EN EL DIAGNOSTICO DE LABORATORIO DE HEMOFILIA

HOSPITAL ROBERTO DEL RIO

**CENTRO DE REFERENCIA NACIONAL DE
DIAGNOSTICO DE HEMOFILIA Y OTRAS
COAGULOPATÍAS CONGENITAS**

Verónica Soto Arellano

CLASIFICACION

SEVERIDAD DE HEMOFILIA	
GRAVE	<1%
MODERADA	1-5%
LEVE	>5 < 30%

Tromb Haemost 2001 Mar; 85 (3): 560

Definición del subcomité científico factor VIII y IX perteneciente al comité de estandarización de la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasis

SEVERIDAD DE HEMOFILIA	
GRAVE	<1%
MODERADA	1-5%
LEVE	>5 < 40%

SEVERIDAD DE HEMOFILIA	
GRAVE	<1%
MODERADA	1-5%
LEVE	>5 < 50%

J Thromb Haemost 2004; 2: 271–4.

SSC/ISTH classification of hemophilia A: can hemophilia center laboratories achieve the new criteria?

F. E. PRESTON, S. KITCHEN, I. JENNINGS, T. A. L. WOODS and M. MAKRIS*

UK NEQAS (Blood Coagulation) and *The University of Sheffield, Royal Hallamshire Hospital, Sheffield, UK

Se distribuyen a 91 centros de hemofilia en UK 3 muestras:

Muestra 1 : Clínica de Hemofilia severa valor FVIII < 1%

Muestra 2 : Clínica de Hemofilia severa valor FVIII < 1%

Muestra 3: Hemofilia leve 5 - 10%

Table 1 Summary of results

Sample	01	02	03
<i>n</i>	79	77	78
Median FVIII:C (U dL ⁻¹)	< 1.0	< 1.0	5.8
Range (U dL ⁻¹)	0.0–29.0	0.0–33.0	1.5–36.0
Interpretation (<i>n</i>)			
Severe	70 (89%)*	68 (88%)†	8 (10%)
Moderate	9 (11%)	8 (11%)	49 (63%)
Mild	0 (0%)	1 (1%)	21 (27%)

*Including 17 (22%) laboratories reporting FVIII:C levels of 1–5 U dL⁻¹.

†Including 14 (18%) laboratories reporting FVIII:C levels of 1–5 U dL⁻¹.

- 30% de los participantes obtuvieron rangos de factor VIII entre 1-29 U/dl para la muestra 1 y 1-33 U/dl para la muestra 2
- 17 laboratorios diagnosticaron hemofilia severa a pesar de tener resultados entre 1-5 U/dl para la muestra 1 y 14 para la muestra 2
- La mediana para el FVIII de la muestra 3 fue 5.8 U/dl con un rango de 1.5-36 U/dl y 8 CENTROS HICIERON DIAGNOSTICO DE HEMOFILIA SEVERA

¿ POR QUE PUEDEN HABER DIFERENCIAS IMPORTANTES EN LA DETERMINACION DE LABORATORIO DE FVIII ?

Las posibles respuestas son:

- No se realiza calibración cada vez que se realiza una determinación o varias simultáneas
- No se hace curva baja de calibración
- La curva de calibración no esta ajustada (diferencias entre los puntos experimentales y los teóricos)

Tromb Haemost 2001 Mar; 85 (3): 560

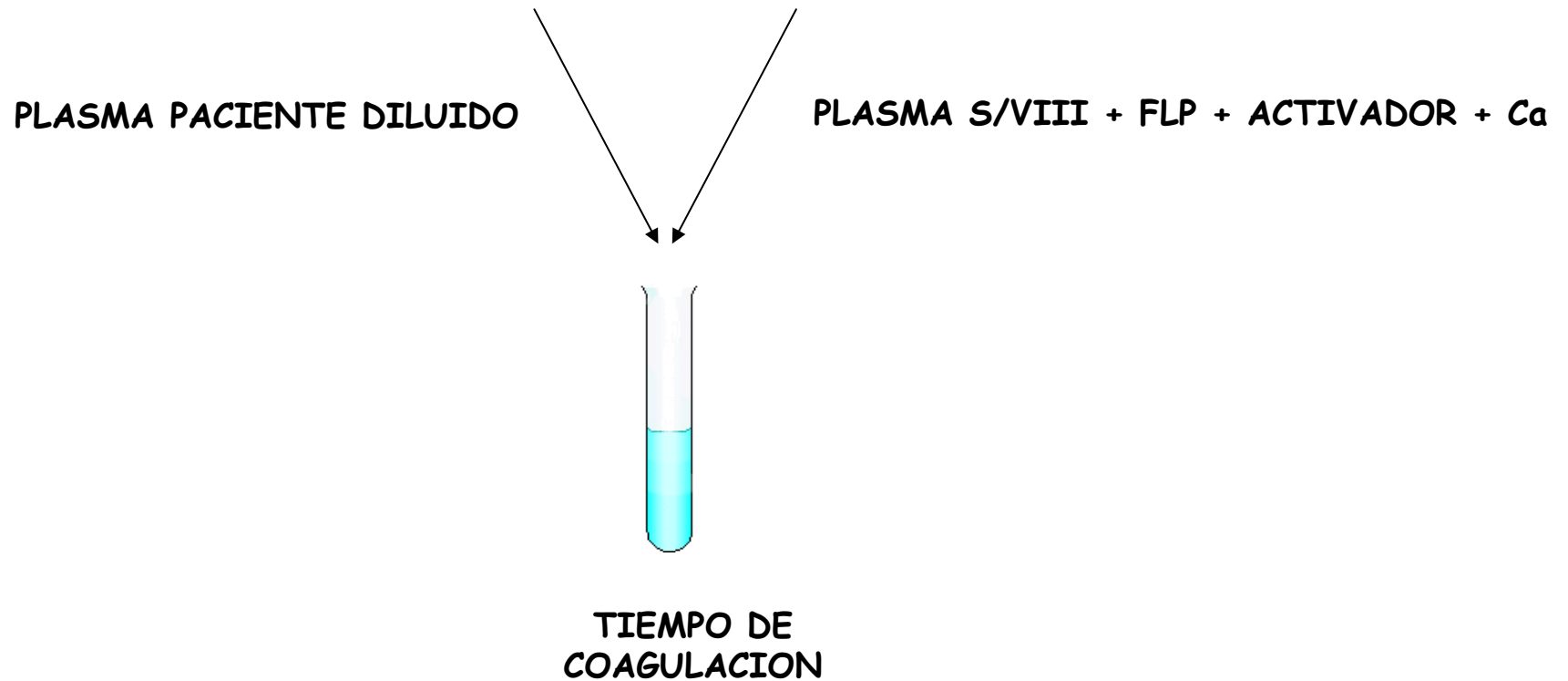
Definición del subcomité científico factor VIII y IX perteneciente al comité de estandarización de la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasis

SEVERIDAD DE HEMOFILIA	
GRAVE	<1%
MODERADA	1-5%
LEVE	>5 < 40%



¿QUE TECNICA DE LABORATORIO DEBEMOS
UTILIZAR PARA EL DIAGNOSTICO DE HEMOFILIA
Y CLASIFICAR LA SEVERIDAD DE ESTA?

TECNICA DE UN ESTADO (1953)



¿ PODEMOS AFIRMAR QUE CON LA TECNICA COAGULOMETRICA
DE UN ESTADO PESQUISAREMOS A TODOS LOS PACIENTES
QUE PADECEN HEMOFILIA ?

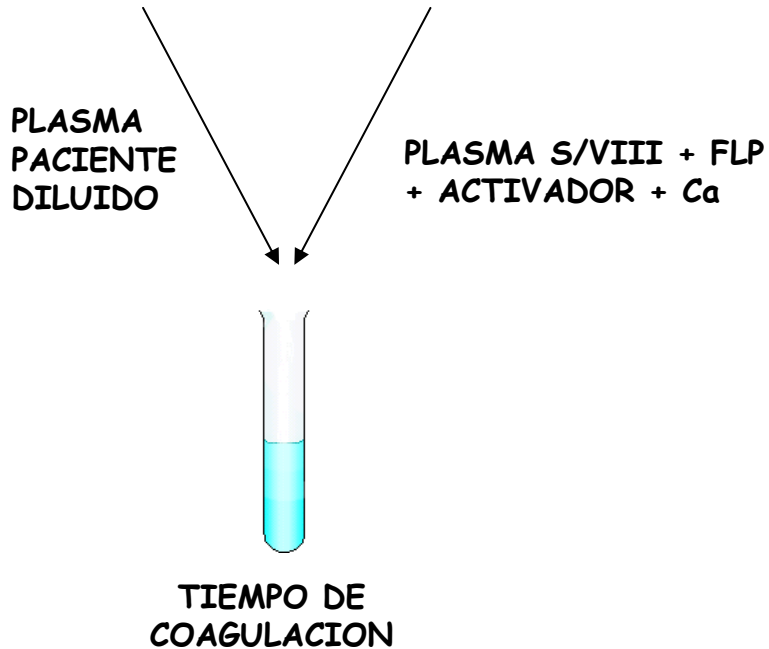


NO ,.....NO A TODOS LOS
QUE PADECEN HEMOFILIA **A LEVE**

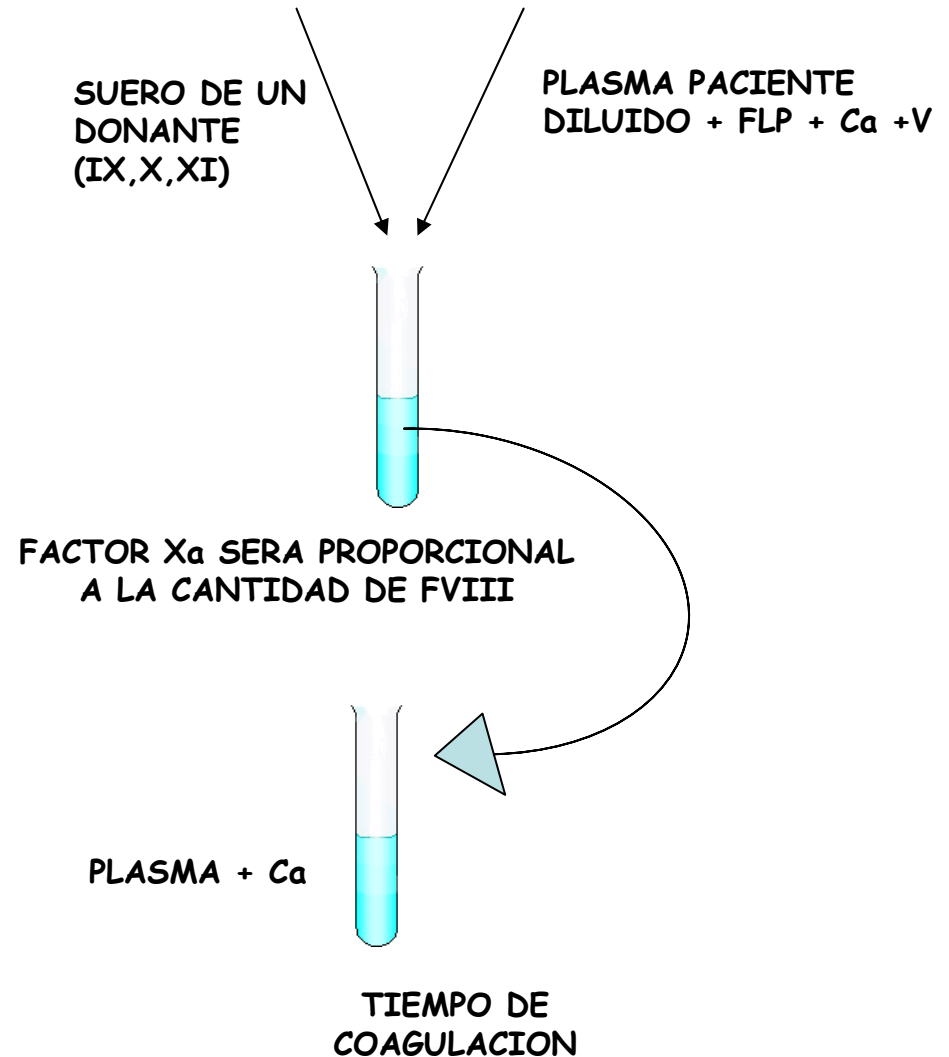


TECNICA DE DOS ESTADOS y TECNICA CROMOGENICA

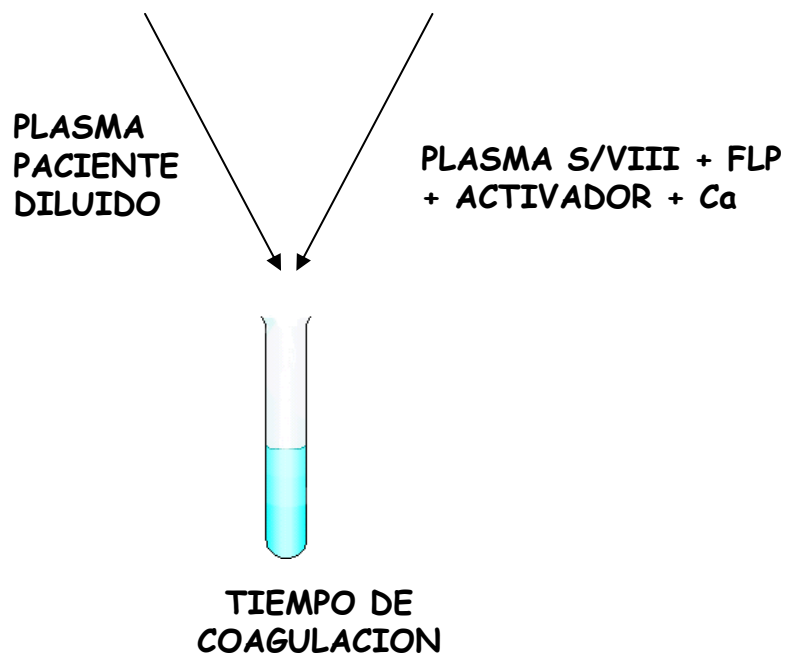
TECNICA DE UN ESTADO (1953)



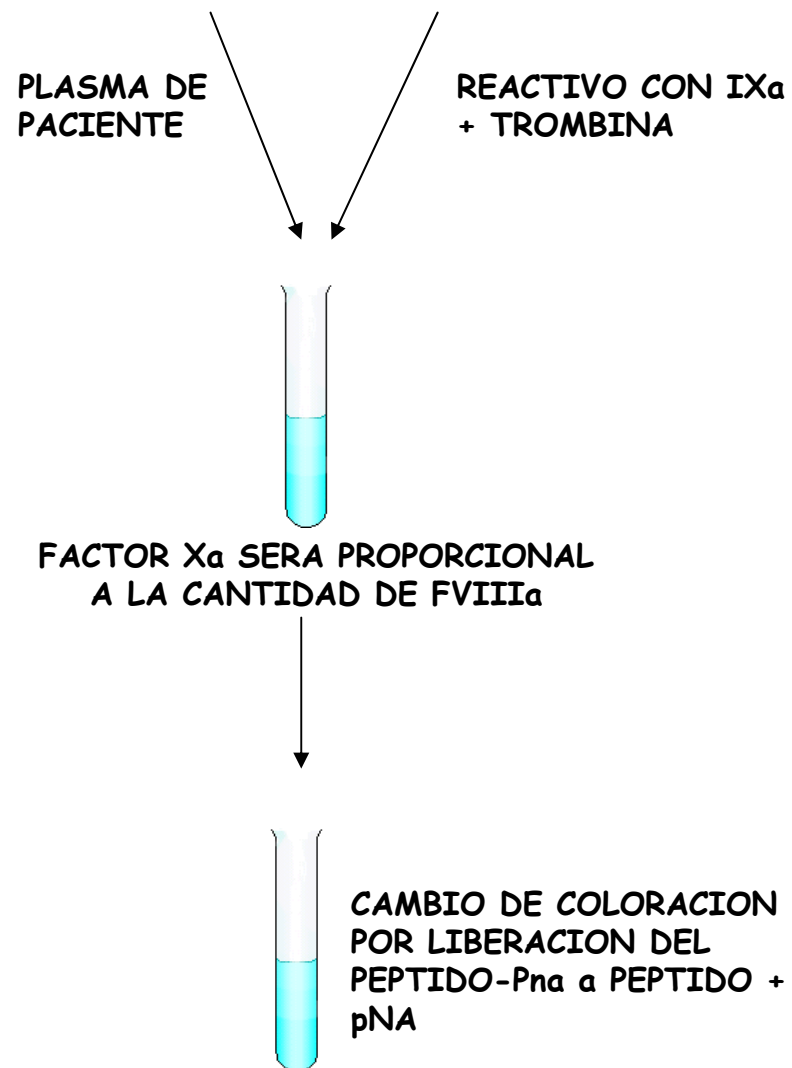
TECNICA DE DOS ESTADOS (1955)



TECNICA DE UNA ETAPA (1953)



TECNICA CROMOGENICA (1970)



ENTONCES.....

¿ POR QUE ES INSUFICIENTE UN SOLO
METODO?



ANTECEDENTES

1. Ya en 1983 se describen discrepancias entre las dos técnicas

Thromb Haemost 1983; suppl 50:357

2. En 1988 se describe esta característica en un grupo de 133 hemofílicos.

Thromb Haemost 1988; 59:202-6 , luego se suman otras publicaciones describiéndose familias con esta particularidad:

Br J Haematol 1994; 87: 846-8

Br J Haematol 1996; 94: 400-6

ANTECEDENTES

3. En 1996 comienzan a describirse las mutaciones que caracterizan esta diferencia, inicialmente se describen **17** distintas mutaciones a las cuales en los últimos años se ha sumado por lo menos más.

Br J Haematol 1996; 94: 400-6

Br J Haematol 1997; 96: 426-7

Br J Haematol 1999; 105: 1123-6

Throm Haemost 1999; Supp, Abstratc 5

Br J Haematol 2000; 109:523-8

Thromb Haemost 2001; Suppl: P1370

Seminars in thrombosis and haemostasis 2003; 29:23-30

Hemophilia 2008; 1-6

ANTECEDENTES

4. Alrededor de 1/3 de los pacientes hemofílicos leves se describen discrepancias entre los resultados del método de una etapa y dos etapas.

Thromb Haemost 1988; 59: 202-206

Br J Haematol 1994;87:846.48

Seminars in thrombosis and haemostasis 2003; 29:23-30

En un 20% a 40% la técnica en un estado puede dar entre 2 a siete veces más nivel de factor VIII en hemofilias leves y moderadas que la técnica en 2 etapas, sólo alrededor de un 5% ocurre a la inversa

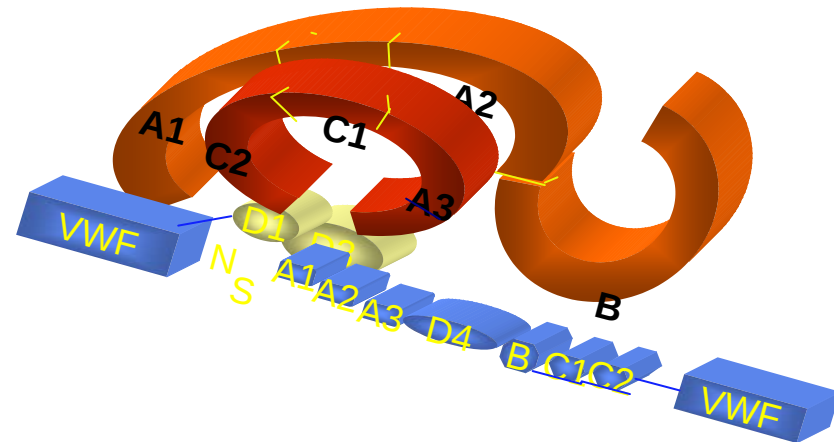
5. La discrepancia parece ser por la inestabilidad de la molécula mutada. Esto es porque en estos casos la mutación afecta las zonas terminales de unión entre el dominio A1 y A2 del FVIII. En el método de dos etapas el periodo de incubación más largo de la primera fase hace que se acelere la disociación del dominio A2 reduciendo la actividad del FVIII activado. Esto explica valores bajos de FVIII por técnica cromogénica y normales por técnica coagulativa

Blood 1999; 93, 176-183

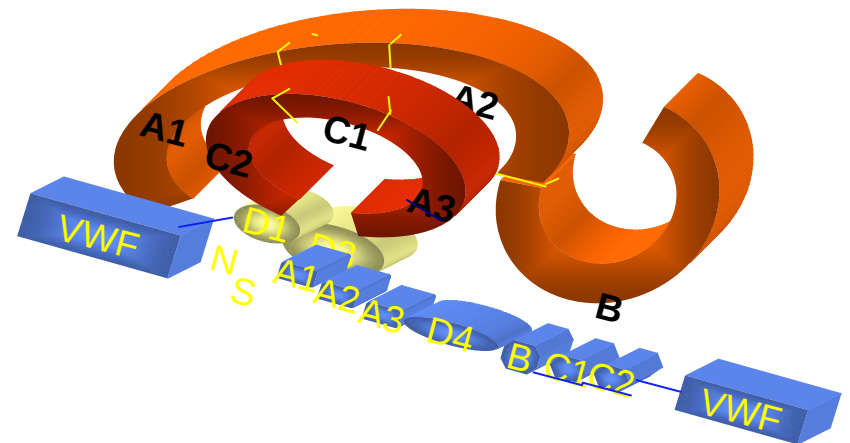
Blood 2001;97: 85-685-91

Thromb Haemost 2002;88: 781-87

J Throm Haemost 2003; 1 :456-63



6. La razón para explicar la discrepancia inversa es porque en estos casos la mutación afecta a la parte de la molécula del FVIII sobre la que actúa la trombina. Como en la técnica cromogénica añadimos trombina en exceso se compensa este defecto y se produce una formación de color normal. Sin embargo como en la técnica coagulativa solo existe la trombina en pequeñas cantidades, esta no es capaz de activar el factor VIII y se alarga el tiempo para formar coagulo. Esto explica valores bajos por técnica coagulativa y normales por cromogénica.



6. Se desconoce cual de los dos métodos refleja mejor la clínica hemorrágica de estos pacientes, sin embargo **pacientes con niveles normales de FVIII en método de una etapa y niveles bajos en método de dos etapas muestran síntomas hemorrágicos.**

Br J Haematol 1999; 105: 1123-6

PAC IEN TE	UNA ETAPA	FVIII CROMOGÉ NICO
1	17	3.4
2	14,6	17,8
3	15,1	26
4	9,9	5,3
5	4	8.6
6	35,3	11,8
7	23,7	16,2
8	7,2	7,8
9	48,5	15,2
10	41,3	21,8
11	21,9	25,2
12	16,4	11,9
13	15,9	11,2
14	25,2	15,7
15	4,8	10,7
16	12,7	3,3
17	12,7	4
18	24,5	10,9
19	24,5	20,3
20	18,3	6,8

PACI ENT E	UNA ETAPA	FVIII CROMOGÉ NICO
21	8.8	10,5
22	42,3	15,9
23	10,6	7
24	21,2	13,1
25	15,4	14,8
26	17,4	11
27	19,2	13,4
28	10,9	20.2
29	20,5	42,6
30	16,8	24,7
31	8,6	8,6
32	16	6,2
33	14,6	3,6
34	17,8	21,7
35	16,4	23,4
36	8,4	8,6
37	17,4	17
38	16,3	10,1
39	11,8	17,6
40	19	17

PACIE NTE	UNA ETAPA	FVIII CROMOGÉ NICO
41	30.7	5.6
42	12.5	6.8
43	28.3	25.4
44	10	6.6
45	74.6	45
46	28.5	18.7
47	12.7	14.1
48	9.4	3.5
49	9	10.6
50	15.1	18.8
51	10.9	5.3
52	36.9	33.6
53	48.8	12.2
54	3.8	2.25
55	4.9	0.4
56	5.3	2.8
57	12.6	11.4
58	9.5	6.7
59	11.3	11.5
60	30.2	26.3

PACI ENTE	UNA ETAPA	FVIII CROMO GÉNICO
61	34	8.2
62	40.2	15.3
63	51.9	70.9
64	19.4	8
65	6.3	2
66	9.3	0.6
67	40.5	34.2
68	3.9	2
69	2	0.1
70	19.4	14.7
71	16.5	15.4
72	25.5	24.1
73	16.7	4.3
74	23.8	18.2

34% de la muestra muestran discordancia.

7 % de todas las muestras revelan un nivel de factor VIII normal por técnica en una etapa



CONTROVERSIA:

DEBEMOS REALIZAR SIEMPRE DETERMINACION DE FACTOR VIII
EN UN PACIENTE CON SOSPECHA O CERTEZA DE HEMOFILIA LEVE
O MODERADA LAS 2 TECNICAS ?



¿ CUANTOS VARONES CON CLINICA HEMORRAGICA NO
HEMOS DIAGNOSTICADO COMO HEMOFILICOS ?

¿ CUANTAS MUJERES PORTADORAS DE HEMOFILIA LEVE
CON SINTOMAS DE HEMORRAGIA NO HEMOS
DIAGNOSTICADO?

The Molecular Basis of Hemophilia A: Genotype–Phenotype Relationships and Inhibitor Development

Anne C. Goodeve, Ph.D.,¹ and Ian R. Peake, Ph.D.¹

Las discrepancias entre las técnica de un estado y cromogénicas son frecuentes en hemofilia A leve, como consecuencia que la técnica de un estado es la más ampliamente usada, hemofilia A es sudiagnosticada

Seminars Thrombosis and Hemostasis 2003;vol 29, N°1



GRACIAS