

ÍNDICE

	Página
1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	3
3. ANTECEDENTES	4
3.1 Fisiología de la coagulación	4
3.2 Trastornos hemorrágicos de la coagulación	4
3.2.1 Enfermedad de von Willebrand	4
3.2.2 Hemofilia	5
3.2.2.1 Hemofilia A	6
3.2.2.2 Inhibidores de factores de coagulación VIII y IX	7
3.2.2.3 Hemofilia B	19
3.2.3 Hemofilia adquirida	20
4. JUSTIFICACIÓN	21
5. OBJETIVOS	22
5.1 General	22
5.2 Específicos	22
6. MATERIALES Y MÉTODOS	23
6.1 Universo	23
6.2 Muestra	23
6.2.1 Criterios de inclusión	23
6.2.2 Criterios de exclusión	23
6.2.3 Diseño del muestreo	23
6.3 Diseño del estudio	24
6.3.1 Variable	24

	Página
6.3.2 Análisis Descriptivo	24
6.4 Materiales	25
6.4.1 Material	25
6.4.2 Equipo	25
6.4.3 Reactivos	25
6.5 Procedimiento	26
6.5.1 Cita a pacientes	26
6.5.2 Informe de consentimiento y ficha epidemiológica	26
6.5.3 Obtención y procesamiento de muestras	26
6.5.4 Almacenamiento de muestras	26
6.5.5 Ensayo de Unidades Bethesda	27
7. RESULTADOS	36
8. DISCUSIÓN	44
9. CONCLUSIONES	47
10. RECOMENDACIONES	48
11. REFERENCIAS	49
12. ANEXOS	53
Anexo 1. Procoagulantes plasmáticos.	53
Anexo 2. Informe de Consentimiento para pacientes del área de pediatría.	54
Anexo 3. Informe de Consentimiento para pacientes del área de adultos.	55
Anexo 4. Diseño de ficha epidemiológica.	56

1. RESUMEN

La hemofilia es un trastorno hemorrágico caracterizado por episodios frecuentes de sangrado, que afectan particularmente articulaciones y músculos. El tratamiento con factores de coagulación puede controlar las hemorragias, previniendo las artropatías crónicas y muerte prematura, sin embargo el riesgo de esta terapia de reemplazo se asocia con el desarrollo de inhibidores.

Los inhibidores son anticuerpos neutralizantes que interfieren con la función de los factores de coagulación. La presencia de inhibidores tiene implicaciones clínicas significativas, ya que la respuesta al tratamiento se vuelve incierta, aumenta la morbilidad y reduce la expectativa de vida de los pacientes.

En este estudio se llevó a cabo la detección de inhibidores contra los factores de coagulación VIII y IX en pacientes pediátricos y adultos con diagnóstico de hemofilia atendidos en el Instituto Guatemalteco de Seguridad Social (IGSS). Se estudiaron 83 pacientes hemofílicos de los cuales 64 fueron del área de pediatría (59 niños y 5 niñas) y 19 del área de adultos (17 hombres y 2 mujeres), a quienes se les extrajo una muestra de sangre para el análisis por medio de la metodología de Unidades Bethesda, la cual se estableció para su aplicación a nivel institucional.

Con los resultados obtenidos se creó una base de datos que quedó a disposición del Laboratorio Clínico del Hospital General de Enfermedades del IGSS y de los Médicos Hematólogos de las áreas correspondientes que servirá como apoyo para la decisión del tratamiento óptimo para cada uno de los pacientes.

Del total de pacientes hemofílicos estudiados, se encontró que únicamente 14 pacientes pediátricos tienen inhibidores. El rango de edad que presenta el mayor número de pacientes hemofílicos con inhibidores es de 11 a 15 años. Se estima que 13 de los pacientes hemofílicos con inhibidores presenta hemofilia severa según la cantidad de factor de coagulación VIII o IX detectada al momento de la toma de muestra.

A partir de los resultados del presente estudio, se concluyó que únicamente los pacientes pediátricos presentaron inhibidores de los factores de coagulación VIII y IX. Así mismo que la estandarización de la metodología de Unidades Bethesda a nivel institucional proporciona la información adecuada para brindar un tratamiento óptimo y eficaz, mejorando la calidad de vida del paciente hemofílico con inhibidores, y favoreciendo el costo-beneficio a nivel institucional.

2. INTRODUCCIÓN

Los inhibidores de los factores de coagulación VIII y IX son anticuerpos neutralizantes que se desarrollan en el organismo de una persona con hemofilia A o B, después de la administración de estos factores para aumentar el nivel sérico del factor deficiente. Estos anticuerpos se adhieren al factor de coagulación y neutralizan o inhiben su capacidad para detener una hemorragia (Rodak, 2002).

Se estima que de 1000 a 3000 pacientes en América Latina están afectados de hemofilia con inhibidores, lo cual constituye una complicación a dicha enfermedad y un aumento en el costo de los tratamientos (Comité Latinoamericano de Terapéutica en Grupos con Inhibidores [CLOTTING], 2007).

A la fecha no existen datos sobre prevalencia de inhibidores en pacientes hemofílicos a nivel nacional, ni una metodología estandarizada para la detección y medición de los mismos; por lo tanto el desconocer la presencia de estos inhibidores en los pacientes hemofílicos hace que el tratamiento se vuelva ineficaz ante las complicaciones clínicas que se puedan presentar, y a nivel de las instituciones de salud representa una desventaja al evaluar la relación costo beneficio.

En este estudio se detectó la presencia de inhibidores de los factores de coagulación VIII y IX en pacientes hemofílicos adultos y pediátricos atendidos en el Instituto Guatemalteco de Seguridad Social (IGSS), mediante la metodología de Unidades Bethesda, la cual se estableció para su aplicación a nivel institucional.

Así mismo, con los resultados obtenidos se creó una base de datos que quedó a disposición del Laboratorio Clínico del Hospital General de Enfermedades del IGSS y de los Médicos Hematólogos de las áreas correspondientes, la cual servirá como apoyo para la decisión del tratamiento óptimo para cada uno de los pacientes.

3. ANTECEDENTES

3.1 Fisiología de la coagulación

Se define como hemostasia a la combinación de acontecimientos celulares y bioquímicos que funcionan en armonía para mantener la sangre líquida dentro de las venas y arterias, evitar la pérdida de sangre en las lesiones mediante la formación de trombos y restablecer el flujo sanguíneo durante el proceso de curación. La trombosis (coagulación) o las hemorragias son procesos que reflejan una alteración en el equilibrio de los sistemas de hemostasia (Begemann, Brown, y Wess, 1994).

Existen dos tipos de hemostasia: Hemostasia primaria, en la cual el vaso sanguíneo se contrae para sellar la herida y las plaquetas llenan el espacio abierto para formar un tapón, y hemostasia secundaria, la cual se activa por los mecanismos de la hemostasia primaria y es necesaria para controlar el sangrado de las heridas grandes producidas por traumatismos, cirugía o procedimientos dentales.

El plasma sanguíneo transporta al menos 16 glucoproteínas procoagulantes, denominados factores de la coagulación. Casi todos son sintetizados en el hígado, aunque algunos son elaborados por los monocitos, las células endoteliales y los megacariocitos. (Anexo 1)

Los factores de la coagulación son piezas esenciales de información clínica que ayudan a interpretar las pruebas de laboratorio y diseñar los tratamientos de reposición para las enfermedades hemorrágicas relacionadas con deficiencias de procoagulantes (Rodak, 2002).

3.2 Trastornos hemorrágicos de la coagulación

Los trastornos hemorrágicos hereditarios de la coagulación, principalmente las hemofilias, tienen una baja incidencia en la población, pero cuando se presentan los episodios hemorrágicos, se constituyen en verdaderas urgencias que deben ser atendidas en forma inmediata e integral, ya que sólo así se previenen los efectos secundarios anatómicos, psicológicos y familiares desencadenados por estas enfermedades (Tonda, 2007).

3.2.1 Enfermedad de von Willebrand

Es una enfermedad hereditaria, no ligada al sexo, que se produce por disminución o ausencia de una proteína de la sangre llamada factor de von Willebrand, que es la proteína encargada de promover la adhesión de las plaquetas a la pared del vaso y su agregación. Además, es la proteína encargada de transportar el factor VIII, el cual en ausencia de ésta es

rápidamente degradado y, por lo tanto, puede cursar con deficiencia del factor VIII (Federación Mundial de Hemofilia, 2004).

La enfermedad se diferencia clínicamente de las hemofilias por presentar principalmente equimosis y petequias superficiales, así como hemorragias a nivel de membranas mucosas, a diferencia de las hemorragias articulares, hematomas y hemorragias profundas que caracterizan a las hemofilias. En los casos severos de enfermedad de von Willebrand la sintomatología es similar a la de las hemofilias (Federación Mundial de Hemofilia, 2004).

3.2.2 Hemofilia

Es una enfermedad hemorrágica hereditaria poco frecuente caracterizada porque los sistemas de coagulación no funcionan adecuadamente por carencia de alguno de los factores que intervienen en ella, lo que hace que la sangre coagule más despacio que en la persona sana (Kasper, 2004).

Las hemofilias son deficiencias congénitas de un solo factor de coagulación, cuando el factor de coagulación reducido o ausente es el VIII, la enfermedad se conoce como hemofilia A, mientras que si es el IX, se llama hemofilia B, y de acuerdo a la cantidad de factor de coagulación deficitario o ausente se clasifica en leve, moderada o severa (Kasper, 2004).

Sin considerar la enfermedad de von Willebrand, las hemofilias afectan a 1 de cada 10000 individuos. De estos, el 85% presenta deficiencia del factor VIII, el 14% del factor IX y el 1% del factor XI o uno de los otros factores de coagulación, como protrombina, V, VII, X o XIII (Kasper, 2004).

Esta patología se presenta a través de hemorragias, cuyas localizaciones más frecuentes son mucosas (nasales, encías, etc.) y articulares (hemartrosis). Cuando se producen hemorragias en las articulaciones, la sangre acumulada puede dañar el cartílago que recubre la articulación y provocar inflamación y dolor. La repetición de los episodios hemorrágicos termina dañando las articulaciones de forma progresiva e irreversible y en último extremo conduce a una situación en la que se pierde la función de la articulación afectada (anquilosis). Esta condición se conoce como artropatía hemofílica. También se producen sangrados anatómicos con hemorragias en músculos profundos, hematomas espontáneos, heridas que sangran luego de un traumatismo o una cirugía y hemorragia en el sistema nervioso central, el peritoneo, el retroperitoneo, el tracto gastrointestinal y los riñones (Kasper, 2004).

3.2.2.1 Hemofilia A

Es un desorden hematológico caracterizado por la ausencia o reducción de niveles séricos del factor VIII de coagulación.

La herencia de la hemofilia A se transmite con carácter recesivo y está ligada al cromosoma sexual X, por lo tanto una mujer por tener dos cromosomas X, es únicamente portadora y rara vez presentará manifestaciones clínicas significativas, no obstante los varones frecuentemente presentan las manifestaciones clínicas características. Los varones hemofílicos engendran hijos normales e hijas portadoras.

Actualmente, aproximadamente el 30% de los casos diagnosticados en época reciente no poseen antecedente familiar alguno, lo que sugiere una tasa elevada de mutaciones espontáneas de la línea germinal (Ross, 2004).

La gravedad de las manifestaciones de la hemofilia A es inversamente proporcional a la actividad del factor VIII. Los hematólogos la clasifican de la siguiente manera: (a) hemofilia grave cuando el nivel de actividad de factor VIII es de 0-2 U/mL, manifestada por hemorragia neonatal, sangrado espontáneo, hemorragia intracraneana, sangrados secundarios a traumatismo y una incidencia del 20% de desarrollo de inhibidor, posterior al tratamiento; (b) hemofilia moderada cuando los niveles son de 2-6 U/mL, con el comienzo del sangrado alrededor de los 2 años, consecuencia de episodios desencadenantes, no espontáneo y con menos del 3% de posibilidades de formación de inhibidores del factor VIII luego del tratamiento; y (c) hemofilia leve, con niveles de actividad de 6 a 30 U/mL, la hemorragia es consecuencia de un traumatismo grave y se convierte en un factor de riesgo para cirugía mayor o extracciones dentales, pero los pacientes pueden pasar periodos prolongados asintomáticos (Federación Mundial de Hemofilia, 2004).

Ante la sospecha de una deficiencia congénita de un factor de la coagulación, el protocolo de pruebas de laboratorio implica tiempo de protrombina (TP), tiempo de tromboplastina parcial (TTP), tiempo de trombina (TT) y pruebas de cada factor. Sin embargo, antes de que el médico inicie los estudios de laboratorio, debe registrar un antecedente claro de episodios hemorrágicos en el paciente. En la hemofilia A el TP y el TT son normales, el TTP está prolongado. Se establece no realizar la prueba del tiempo de sangría ya que no agrega valor predictivo al perfil diagnóstico. No obstante, un plan diagnóstico adecuado permite que el laboratorio, arribe al diagnóstico correcto mediante pruebas de actividad del factor VIII como base (Kasper, 2004).

3.2.2.2 Inhibidores de los factores de coagulación VIII y IX

3.2.2.2.1 Definición

Los inhibidores son anticuerpos que actúan contra los factores de coagulación en el organismo de personas hemofílicas o no hemofílicas. El anticuerpo se adhiere al factor y neutraliza o inhibe su capacidad para detener una hemorragia.

Se han descrito los siguientes tipos de inhibidores: Aloanticuerpos, son aquellos que surgen en pacientes con deficiencias hereditarias de factores de la coagulación que son tratados con proteínas recombinantes o nativas; xenoanticuerpos, se desarrollan en pacientes que se exponen a factores de coagulación de origen animal; y autoanticuerpos, los cuales producen un estado de incompetencia funcional del factor de la coagulación trayendo como consecuencia una manifestación de tipo deficiencia que surge de forma espontánea en personas sin coagulopatías hereditarias (hemofilia adquirida) (DiMichelle, 2004).

3.2.2.2.2 Epidemiología

El número de inhibidores nuevos en una población en un determinado periodo (incidencia) refleja tanto inhibidores transitorios como permanentes. Conforme aumenta la frecuencia de las pruebas, se identifican más inhibidores y la incidencia aparente de los mismos se incrementa. El número de inhibidores en una población en cualquier periodo (prevalencia) refleja los inhibidores persistentes. En varias series se ha informado que la incidencia de inhibidores del factor VIII en pacientes con hemofilia A severa en el transcurso de los primeros años de vida es de 10-50% (típicamente 20-30%). La prevalencia es menor: 10-20%. La prevalencia de inhibidores para la hemofilia B es cerca de 4% (Kasper, 2004).

3.2.2.2.3 Inmunopatología

Los anticuerpos inhibidores de los factores VIII o IX pueden surgir como aloanticuerpos en pacientes con hemofilia A o B que han recibido transfusiones de factores VIII o IX exógenos, respectivamente. Así mismo, los anticuerpos inhibidores del factor VIII pueden surgir como autoanticuerpos en personas no hemofílicas, lo cual se describe más adelante.

Los inhibidores del factor VIII por lo general son anticuerpos IgG, isotipo G₄, no fijadores del complemento, que reaccionan en medios templados, con especificidad en contra de varios epitopes sobre el factor VIII, principalmente con los epitopes de los dominios A2, A3, C1 y C2. La unión de los autoanticuerpos neutraliza parcial o completamente la acción del factor VIII en cuanto a su actividad. Los anticuerpos en hemofílicos tienen una especificidad muy

amplia mientras los autoanticuerpos en los no hemofílicos tienen especificidad muy estrecha, es decir van dirigidos en contra de menos epítopos sobre el factor VIII (Rodak, 2002).

3.2.2.2.4 Caracterización de inhibidores de los factores de coagulación VIII y IX

La reacción del factor VIII con su inhibidor depende del tiempo, tanto *in vitro* como *in vivo*, una observación relevante para su medición y su tratamiento clínico. Entre mayor sea el nivel de inhibidor, más rápido inactivará al factor VIII. Si el nivel de inhibidor de un paciente es de leve a moderado, una elevada dosis terapéutica de factor VIII podría ser capaz de interactuar en la coagulación antes de ser neutralizada.

De acuerdo a la reacción cinética que presentan, los inhibidores se clasifican como:

-Inhibidores de tipo 1 o cinética sencilla: Neutralizan completamente al factor VIII y se neutralizan a sí mismos en la reacción. La mayoría de los inhibidores en pacientes con hemofilia son del tipo 1.

-Inhibidores de tipo 2 o cinética compleja: No neutralizan totalmente al factor VIII y después de la reacción conservan alguna capacidad para neutralizar más factor VIII. Aunque cierta cantidad de factor VIII puede permanecer cuantificable en presencia de inhibidores tipo 2, el paciente podría sangrar tan profusamente como si careciera completamente de factor VIII. Las reacciones cinéticas tipo 2 son más comunes en autoanticuerpos que en aloanticuerpos (Franchini, Targher, Manzato, & Lippi, 2008).

3.2.2.2.5 Factores de riesgo

El riesgo de desarrollar un inhibidor no permanece igual a lo largo de la vida de una persona con hemofilia. Se ha informado que la mayoría de los inhibidores se desarrollan durante la infancia, a una edad promedio de 12 años. El riesgo de desarrollar un inhibidor es mayor durante las primeras 50 exposiciones al factor VIII recombinante. Aunque el riesgo disminuye considerablemente después de 200 días de tratamiento, se ha documentado una baja tasa de desarrollo de nuevos inhibidores durante la sexta década de la vida.

El desarrollo de inhibidores no es común entre personas con un padecimiento moderado (niveles de actividad de factor mayores al 5%), pero puede ocurrir. Esto es particularmente cierto cuando la persona lleva consigo una alteración en el gen del factor VIII (mutación) que la predispone.

El desarrollo de inhibidores ocurre más frecuentemente en personas con ciertas condiciones hereditarias. Las probabilidades de desarrollar inhibidores son mayores en personas con

hemofilia A que en aquéllas con hemofilia B. La frecuencia de inhibidores es más alta entre quienes padecen hemofilia severa o moderadamente severa. El desarrollo de inhibidores ocurre con mayor frecuencia de lo previsto en personas con hemofilia A severa y un historial familiar de anticuerpos contra el factor VIII. El origen étnico también cuenta. Se sabe que de entre los varios cientos de mutaciones que hasta ahora se han descrito en los genes de los factores VIII y IX, se ha descubierto que algunos tienen una mayor relación con el desarrollo de inhibidores que otros. No obstante, el sistema inmune de una persona también desempeña un papel importante en la reacción del organismo al factor VIII o IX.

Además, con respecto a los inhibidores del factor VIII, las circunstancias bajo las cuales una persona recibe factor de coagulación (tales como la edad al momento del primer tratamiento, el tipo de hemorragia y la duración del tratamiento), así como el tipo de factor VIII inyectado (recombinante o derivado de plasma) podrían igualmente determinar la aparición de un inhibidor (Federación Mundial de Hemofilia, 2004).

3.2.2.2.6 Manifestaciones clínicas

Generalmente, un inhibidor se detecta en una de dos formas: aunque la persona con hemofilia no muestre síntomas, el inhibidor puede ser descubierto durante las pruebas de rutina realizadas en una evaluación integral. También puede sospecharse la existencia de un inhibidor cuando, repentina e inesperadamente, la hemorragia no se detiene tan pronto como debiera, en respuesta al tratamiento con factor (DiMichelle, 2004).

Al revisar diferentes definiciones de severidad de sangrado en la literatura, el Comité Latinoamericano de Terapéutica en grupos con inhibidores –CLOTTING, por sus siglas en inglés- ha decidido clasificar los sangrados en pacientes hemofílicos con inhibidores en tres categorías: Sangrado leve, cuando los signos y los síntomas de hemorragia son evidentes pero no interfieren en las actividades normales de los pacientes; sangrado moderado, exhiben signos y síntomas de hemorragias y están imposibilitados de realizar sus actividades normales, y sangrado severo, que es definido como cualquier sangrado que ponga en riesgo la vida, algún miembro, o una función importante (CLOTTING, 2007).

3.2.2.2.7 Implicaciones clínicas y sociales

La presencia de inhibidores tiene implicancias clínicas significativas; la respuesta al tratamiento se vuelve incierta, aumenta la morbilidad y se reduce la expectativa de vida. En adición, los costos médicos directos se tornan mucho mayores para los pacientes hemofílicos

con inhibidores así como aumentan los costos no médicos para los pacientes, sus familias y la sociedad.

Además de los sangrados frecuentes, los hemofílicos padecen lesiones musculoesqueléticas progresivas y debilitantes, deformidades, deficiencias neurológicas intracraneanas posteriores a la hemorragia y compresión de tejidos blandos, estilo de vida y productividad limitados, autoestima baja, pobreza, dependencia a algunos fármacos y depresión.

La hepatitis activa crónica, el virus de inmunodeficiencia humana VIH, entre otras infecciones virales a menudo son resultado de la exposición repetida a la mezcla de derivados de la sangre (Maling, 2004).

3.2.2.2.8 Diagnóstico de laboratorio

En el laboratorio clínico se detectan los inhibidores con estudios de mezclado, es decir, mezcla entre el plasma del paciente hemofílico con un pool de plasma normal con un nivel de actividad del factor VIII casi del 100% en una relación 1:1. Si los resultados de mezclado y el cuadro clínico sugieren la presencia de un inhibidor del factor VIII, se completa una titulación de unidades Bethesda para determinar su nivel de actividad plasmático (Peerschke, Castellone, Ledford, & Van, 2009).

El ensayo Bethesda es el método estándar recomendado para la medición de los títulos de inhibidores del factor VIII, el cual fue estandarizado por un grupo de hematólogos que se reunieron en Bethesda, Maryland a mediados de 1970, y luego de diversos estudios se introdujo en los laboratorios clínicos a partir de 1995 (Sossa, Fisher, y Trejo, 2005).

El principio de esta prueba se basa en la habilidad del plasma del paciente, que contiene el inhibidor del factor VIII, para inactivar el factor VIII presente en un pool de plasma normal.

Una unidad de Bethesda (UB) se define como la cantidad de inhibidor que neutraliza 50% del factor VIII en un plasma normal en 2 horas a 37°C. La dilución menor del plasma del paciente que inactiva exactamente o casi exactamente la mitad del factor VIII en la mezcla de incubación se utiliza en los cálculos de las unidades de Bethesda.

El ensayo consta de cuatro pasos: Determinación de TTPa; corrección de plasma; determinación de factor VIII o IX; y por último la cuantificación de inhibidores (Kitchen, y McCraw, 2000).

La metodología Bethesda también puede ser utilizada para la cuantificación de los inhibidores del factor IX, pero evitando las 2 horas de incubación, debido a que los inhibidores de dicho factor son de acción inmediata y no dependientes de tiempo.

La cuantificación de los inhibidores del factor VIII en la hemofilia adquirida puede lograrse también utilizando la técnica de titulación de Bethesda. Sin embargo, la cinética compleja de los autoanticuerpos adquiridos disminuye la exactitud de los resultados (Krudysz, Parhami-Seren, & Butenas, 2009).

De acuerdo al dato obtenido en la cuantificación de inhibidores, expresado en unidades Bethesda (UB), y a la forma en la que se estimule el sistema inmune de una persona después de repetidas exposiciones al factor VIII o IX, los inhibidores se clasifican como:

-Inhibidor de alta respuesta: Si el sistema inmune presenta una reacción rápida y fuerte, la cantidad de inhibidores dirigida contra el factor VIII o IX puede elevarse rápidamente a niveles muy altos (reflejados en al menos 5 unidades Bethesda). Si no hay exposición adicional al factor, el título Bethesda puede descender a un nivel bajo, pero para que este proceso ocurra podrían pasar meses o años.

-Inhibidor de baja respuesta: El sistema inmune puede ser estimulado de diferente manera, de modo que su respuesta a la exposición al factor sea más lenta y débil y el título Bethesda permanezca bajo (generalmente inferior a las 5 unidades Bethesda). En general, este tipo de inhibidor se conoce como de baja respuesta. Cabe señalar que las características de un inhibidor pueden variar con el tiempo y en algunas ocasiones han demostrado ser transitorios; es decir, desaparecen espontáneamente en unas cuantas semanas o meses, sin un tratamiento aparente.

-Respondedores bajos: Pacientes cuyos niveles de título del inhibidor no superan las 5 unidades Bethesda a pesar de desafíos inmunológicos con diferentes productos de factor VIII o concentrados de complejo de protrombina activos (aPCC).

-Respondedor alto, título bajo: Pacientes cuyo título del inhibidor es bajo al momento de la evaluación, pero se sabe que aumenta a más de las 5 unidades Bethesda en respuesta a la administración de diferentes productos de factor VIII o aPCC.

-Respondedor alto, título alto: Pacientes cuyo título del inhibidor es elevado al momento de la evaluación. Algunos de estos pacientes pueden, con el tiempo, bajar el título del inhibidor y llegar a ser respondedores altos, título bajo (Kitchen y otros, 2000).

3.2.2.2.9 Vigilancia de inhibidores en hemofilia

Considerando el costo de los reactivos y otras restricciones concernientes al presupuesto en países de Latinoamérica, el examen de inhibidores en los pacientes con hemofilia debería realizarse:

-Rutinariamente, una vez al año, en niños y adultos; si es posible, en niños menores de cinco años de edad se debería examinar dos veces al año. Si es posible, cada 3 meses luego de la exposición a terapia de reemplazo hasta la décima segunda exposición, en instancias donde los pacientes poseen historia familiar de desarrollo de inhibidores o una mutación genética asociada a riesgo elevado de desarrollo de inhibidores.

-Previo a cualquier procedimiento quirúrgico o invasivo.

-Cuando la respuesta clínica (o de laboratorio) al reemplazo convencional es pobre, o aumenta la frecuencia de sangrados.

-A continuación de tratamientos prolongados con infusión continua (IC) o de un régimen de tratamiento con altas dosis (Ljung, 2009).

3.2.2.2.10 Tratamiento

El manejo de sangrados en pacientes con hemofilia A con inhibidores depende de la severidad del sangrado, el título de inhibidores al momento del sangrado y de cualquier respuesta anamnésica. La eficacia, seguridad y disponibilidad de la terapia deben ser evaluadas al elegir la opción terapéutica (Acharya, & DiMichelle, 2006).

Actualmente no existe evidencia clínica en la literatura para determinar si la profilaxis es más efectiva que el tratamiento a demanda en los pacientes con hemofilia e inhibidores. Se han conducido intentos utilizando agentes puente o de derivación para el tratamiento de hemorragias, tales como:

-Factor VIIa recombinante (rFVIIa): A principios de los años 80 se desarrolló y usó con éxito en pacientes con inhibidores un concentrado derivado de plasma de factor VIIa. Posteriormente se preparó un concentrado de factor VIIa recombinante (rFVIIa “NovoSeven”). El FVIIa necesita tromboplastina tisular para iniciar la activación del factor X. La tromboplastina tisular está presente en los lugares de lesiones, pero no es abundante en otros sitios; por ende, el efecto coagulante del FVIIa exógeno puede imitarse en los lugares de lesiones, lo cual es una posible ventaja para el tratamiento de una hemorragia. Se han descrito en casos aislados la utilización de rFVIIa para profilaxis en pacientes con inhibidores de alta

respuesta utilizando diferentes dosis, de acuerdo al peso corporal del paciente y en periodos de tiempo diferentes, con resultados variables. Aún se realizan estudios para establecer la eficacia del mismo (Hind, 2008).

-Concentrados de complejo de protrombina activos (aCCP): El concentrado de complejo de protrombina (CCP) contiene factores de coagulación II (protrombina), VII, IX y X, que no se separan durante el fraccionamiento del plasma. Una porción de cada uno de estos factores se activa espontáneamente durante su procesamiento. La activación puede mejorarse deliberadamente para crear complejo de protrombina activado (aCCP), también conocido como complejo coagulante anti-inhibidor (CCAI). El CCP y el aCCP han sido usados desde principios de los años 70 para tratar hemorragias en pacientes con inhibidores. Hoy en día, el CCP se usa raramente para este fin, pero el aCCP es muy usado, particularmente para episodios de sangrado postoperatorio tardío o de sangrado severo, terapia física o rehabilitación y prevenir hemartrosis recurrentes en articulaciones afectadas (Hind, 2008).

Así mismo, se utilizan agentes con función de elevar los niveles plasmáticos de factor, tales como:

-DDAVP (desmopresina): La desmopresina media la liberación de FVIII y factor de von Willebrand de los sitios de su almacenamiento celular al plasma. Su uso puede elevar temporalmente los niveles plasmáticos de FVIII en aquellos pacientes con inhibidores que tienen la capacidad de fabricar FVIII; es decir, pacientes no hemofílicos o con hemofilia leve, en presencia de un bajo nivel de inhibidor. En estas circunstancias especiales, la desmopresina puede liberar suficiente FVIII para neutralizar el inhibidor circulante y elevar ligeramente el nivel plasmático de FVIII, lo suficiente para detener la hemorragia o permitir intervenciones quirúrgicas menores (Mannucci, 2004).

-Factores humanos exógenos: Puede administrarse directamente dosis elevadas de FVIII humano (para hemofilia A) o de concentrado de FIX humano purificado (para hemofilia B), si el nivel del inhibidor no es muy elevado (debajo de 5 UB, algunas veces más), con la finalidad de lograr un nivel plasmático normal del factor de coagulación carente. Una vez que el inhibidor se ha neutralizado, la dosis necesaria para infusiones subsecuentes ese día y durante los siguientes días será menor hasta que se produzca respuesta anamnésica (Pérez, 2007).

-Factor VIII porcino: El FVIII porcino de alta pureza estuvo disponible durante muchos años para el tratamiento de hemorragias en pacientes con inhibidores del FVIII. Éste interactúa muy bien en la secuencia de la coagulación humana, pero no se liga bien a los anticuerpos del

FVIII humano. Los inhibidores de pacientes con hemofilia A neutralizan, en promedio, sólo 20-25% del factor VIII porcino en comparación con el factor VIII humano (el rango es amplio, de cero a 75%) (Kasper, 2000).

La fabricación del concentrado se discontinuó en el 2004 porque resultó demasiado difícil o complicado eliminar o inactivar el parvovirus porcino que es endémico en cerdos. En la actualidad, el FVIII porcino recombinante se encuentra en fase de pruebas clínicas (Teitel, 2005).

Entre los agentes con función de reducir los niveles séricos del inhibidor, se pueden mencionar:

-El intercambio por plasmaféresis, el cual se puede realizar de manera eficaz con centrífugas para separación celular de flujo continuo que, en un adulto típico, pueden reemplazar un litro de plasma en un lapso de media a una hora. El reemplazo de tres a cuatro litros de plasma en adultos típicos reduce temporalmente los niveles plasmáticos de inhibidor en 40% o más. El concentrado de factor VIII (o IX) debe administrarse rápidamente después de la plasmaféresis final a fin de lograr un pico máximo del factor en el plasma del paciente (Dietrich, 2006).

-La infusión intravenosa de gamaglobulina humana normal, en dosis altas, por sí sola o después de la plasmaféresis, puede reducir los niveles de inhibidor inmediatamente. Después de este procedimiento puede observarse cierto grado de inmunosupresión de largo plazo (Dietrich, 2006).

Por último, se puede mencionar entre las opciones del tratamiento la inducción de inmunotolerancia (IIT), la cual es una estrategia para desensibilizar el sistema inmune de los pacientes hemofílicos, por medio de una exposición intensiva y repetida de FVIII o FIX extrínsecos (antígenos). El objetivo es entrenar al sistema inmune para aceptar mejor el tratamiento con el factor de coagulación carente; es decir, ser más tolerante a él. Aunque toma mucho tiempo y es costoso, el tratamiento de inmunotolerancia ha sido eficaz en un 60 a 80% de los casos, de acuerdo con casi 20 años de experiencia de uso. La IIT está recomendada únicamente para pacientes con inhibidores de alta respuesta (Dietrich, 2006).

Para el manejo del dolor en los pacientes hemofílicos, el uso de analgésicos en estos pacientes está limitado, porque muchos de ellos, como el ASA (ácido acetilsalicílico) y los

AINES (antiinflamatorios no esteroideos), tienen una acción inhibitoria de agregación plaquetaria, por lo que se recomienda el manejo con los siguientes medicamentos:

- Acetaminofén: posee una potencia analgésica limitada; puede estar indicado asociado con codeína o tramadol (sin pasar de 400 mg diarios).

- Los opiáceos se deben administrar bajo control médico, por el riesgo que tienen de producir adicción (Levine, 2004).

Cabe mencionar que el uso de una terapia casera puede ser beneficioso para el paciente hemofílico, por ejemplo:

- Hielo local, 7 minutos cada hora.
- Inmovilización de la articulación.
- Uso de ayudas externas (muletas, férulas, etc.).
- Reposo absoluto de la articulación (Agle, 2004).

Se debe tener especial cuidado con el paciente hemofílico con o sin inhibidores al momento de presentar problemas de tipo odontológico, al realizar procedimientos invasivos menores (como punción lumbar, punción arterial, broncoscopia con cepillado o biopsia, endoscopia digestiva con biopsia) o cirugías. Siendo éstos procedimientos de alto riesgo, por lo que se deben realizar en centros experimentados por cirujanos entrenados, bajo la supervisión de un hematólogo. La hemostasia debe ser adecuada durante todo el procedimiento y por un período de días para permitir la cicatrización de la herida (Pipe, 2009).

Cuando los pacientes presentan reacciones alérgicas a productos de reemplazo de factor, se recomienda lo siguiente:

- Usar los filtros incluidos en los paquetes de concentrados de factor a fin de evitar la posibilidad de una reacción.

- Para prevenir o reducir los síntomas, usar antihistamínicos.

- Cambiar de marca de concentrado de factor de coagulación algunas veces ayuda a reducir los síntomas (Pipe, 2009).

3.2.2.2.11 Evaluación de eficacia al tratamiento

Para finales de los años 70 habían surgido dudas respecto a la eficacia del CCP (concentrado de complejo de protrombina), por lo que su comparación con un placebo de

albúmina estaba justificada. La primera prueba controlada de CCP para hemorragias articulares en personas con hemofilia e inhibidores confirmó que una dosis única de CCP se relacionaba con mejoría sintomática a las pocas horas en cerca de la mitad de los casos. Las pruebas de “Autoplex” (un aCCP –concentrado de complejo de protrombina activo-) contra “Proplex” (un CCP -Concentrado de complejo de protrombina no activo-) en Estados Unidos, y las de “FEIBA” (un aCCP) contra “Prothrombex” (un CCP) en Europa produjeron resultados similares.

Estudios no controlados han mostrado a groso modo, que una o dos dosis de “NovoSeven” (un rFVIIa –Factor VIII recombinante-) controlan con éxito cerca de la mitad de las hemorragias articulares, en comparación con otros agentes. Actualmente se encuentra en curso una prueba de “NovoSeven” en comparación con otro aCCP.

Algunos médicos administran, como medida profiláctica, una dosis de un CCPA o de rFVIIa diariamente o un día un día no a pacientes hemofílicos con inhibidores que padecen hemorragias frecuentes.

Entre los efectos secundarios adversos de los agentes de derivación, observados predominantemente después de su uso intensivo, pueden incluir coagulación intravascular diseminada (CID), trombosis venosa profunda (TVP) e infarto de miocardio. Se ha informado de esta última complicación en pacientes muy jóvenes.

Debido a estas misteriosas pero catastróficas complicaciones, se evitan dosis repetidas y muy cercanas de CCP o aCCP. Los primeros informes sugieren que el rFVIIa puede estar relacionado con menos instancias de CID, TVP, e infarto de miocardio que otros agentes de derivación (Klukowska, Windyga, & Batorova, 2011).

3.2.2.2.12 Prevención

Aunque actualmente no existe una forma conocida para prevenir el desarrollo de inhibidores en los pacientes con hemofilia, es posible prevenir algunos de los problemas hemorrágicos en estos pacientes por medio de:

- La identificación temprana de un inhibidor por medio de análisis frecuentes.

- Promover la prevención de hemorragias a través de educación del paciente, evitando actividades que puedan inducir lesiones y manteniendo una buena condición musculoesquelética y salud en general.

- Actividad física balanceada, fisioterapia, etc.

- Usando equipo apropiado para las actividades deportivas.

- Cuidado dental activo y preventivo.
- Limitando el consumo de alcohol y evitando medicamentos antiinflamatorios no esteroides.
- Reconocimiento precoz y tratamiento de los episodios hemorrágicos.
- Considerar una visita al médico al primer indicio de desarrollo de una sinovitis crónica (Ljung, 2009).

3.2.2.2.13 Frecuencia

Cerca del 10 al 15% de los pacientes con hemofilia A y del 1 al 3% de los pacientes con hemofilia B pueden desarrollar inhibidores persistentes que dificulten el tratamiento con concentrados de factor.

Los aloanticuerpos inhibidores del factor VIII se originan como respuesta al tratamiento en alrededor del 20% de los hemofílicos graves y en el 3% de los que presentan enfermedad moderada (Subcomité de Inhibidores de la Asociación de Directores de Clínicas de Hemofilia, 2004).

La población de Latinoamérica se estima en 500 millones. Es una población heterogénea y las mezclas étnicas predominan en varios países. De acuerdo con la Encuesta Global de la Federación Mundial de la Hemofilia, en el año 2004 había 17009 pacientes con hemofilia registrados.

De acuerdo a informes del Comité Latinoamericano de Terapéutica en Grupos con Inhibidores (CLOTTING) -Grupo de Especialistas en Hemofilia de Latinoamérica- la prevalencia de inhibidores en pacientes hemofílicos en Latinoamérica determina desafíos clínicos y se estima que de 1000 a 3000 pacientes en LA están afectados de hemofilia con inhibidores. Esta estimación se basa en la prevalencia de inhibidores reportada por diferentes países, que va del 11 al 19%, la prevalencia reportada es similar a la descrita en otras poblaciones (CLOTTING, 2007).

De acuerdo a datos obtenidos de la IV Jornada de Hemostasia en Valencia 2007, uno de cada cuatro pacientes hemofílicos que inicia el tratamiento desarrolla inhibidores, razón por la cual surge la necesidad de analizar tratamientos más adecuados y efectivos para los pacientes con hemofilia (Liga española de hemofílicos, 2004).

Se estima que de 1000 a 3000 pacientes en América Latina están afectados de hemofilia con inhibidores, lo cual constituye una complicación de dicha enfermedad, y un aumento en el costo de los tratamientos (CLOTTING, 2007).

En México, al igual que en la mayoría de países de LA, es prácticamente nulo el control sobre el desarrollo de inhibidores en hemofilia, que presenta una frecuencia considerable (15%) en los pacientes con el padecimiento en forma grave, siendo que corresponden al grupo mayoritario, que en México y otras poblaciones significa entre el 50 y 60% del total de pacientes. En este país, el único censo oficial de la hemofilia ha sido realizado por la Federación de Hemofilia de la República Mexicana, A.C., indicando en 2005 una prevalencia de 3300 pacientes, con ambos tipos de hemofilias, en una proporción alrededor de 5:1 de casos de hemofilia A: hemofilia B, como se observa a nivel mundial. Por lo tanto, se considera que de alrededor 2000 casos severos (60% del total), aproximadamente un 15% (300) podrían desarrollar inhibidores, lo cual pone en riesgo la vida del paciente y agota el recurso terapéutico (Jaloma, 2006).

En Colombia, nace un hemofílico por cada 7500 a 10000 varones, por lo cual se considera que estadísticamente existen en el país alrededor de 2000 hemofílicos (datos hasta 30 de marzo de 2003), clasificados de la siguiente manera: 811 hemofílicos A, 180 hemofílicos B, 2 hemofílicos C, 189 sin clasificar. De los anteriores pacientes, 296 son hemofílicos A severos y 55 son hemofílicos B severos; estos casos severos son los que presentan la gran mayoría de los episodios hemorrágicos y sus complicaciones, a la fecha desconoce la presencia de inhibidores en estos pacientes (Liga Colombiana de Hemofílicos, 2004).

A nivel Guatemala, el tratamiento de pacientes con hemofilia no es una prioridad y como resultado no existe una metodología estandarizada para la detección y medición de inhibidores en estos pacientes, lo cual en algunos casos conduce a un tratamiento ineficaz y a nivel institucional se pone en desventaja el costo beneficio.

De acuerdo a información obtenida por médicos del área de hemato-oncología, en el IGSS son atendidos alrededor de 125 hemofílicos, pero se desconoce la presencia o ausencia de inhibidores del factor VIII y IX en estos pacientes, ya que aún no se ha implementado una prueba para detección de los mismos en esta institución. Así mismo, tanto personal médico como padres de pacientes hemofílicos (en el caso del área de pediatría) y los propios pacientes (en el caso del área de adultos) informan que las reacciones adversas al tratamiento convencional se observan durante los primeros meses o años de uso, lo cual explica el por qué de que la población hemofílica adulta rara vez presenta inhibidores contra los factores de coagulación administrados. También mencionan que no existe respuesta positiva al tratamiento cuando el paciente ha sido expuesto a dosis desmedidas de factor con el único

propósito de parar una hemorragia pero desencadenando la producción de anticuerpos contra el factor de coagulación, lo cual a pesar de ser un proceso transitorio pone en riesgo la vida del paciente.

El médico encargado del área de hemato-oncología pediátrica del IGSS informa que al momento puede clasificar a los pacientes hemofílicos en tres grupos respecto a la eficacia al tratamiento: 1.pacientes que responden positivamente a la dosis administrada de factor (de determinada marca comercial) durante periodos de tiempo indefinido, pero cuando la institución distribuye el medicamento de otra casa comercial, por razones que aún se desconocen el paciente desarrolla inhibidores contra el nuevo medicamento; 2.pacientes que presentan reacciones adversas al medicamento sea de la casa comercial que sea en los primeros meses de uso, y más aún cuando se administra desmedidamente; y 3.aquéllos que responden positivamente al medicamento sea la casa comercial que sea, y presentan reacciones adversas transitorias únicamente cuando se les administra el medicamento en dosis masivas.

A la fecha no existen datos sobre prevalencia de inhibidores en pacientes hemofílicos tanto en el IGSS como a nivel nacional.

3.2.2.3 Hemofilia B

La hemofilia B, también conocida como enfermedad de Christmas, constituye alrededor del 14% de los casos de deficiencia congénita de un solo factor, en este caso el factor de coagulación IX. La deficiencia del factor IX retarda el proceso de la coagulación y causa un sangrado anatómico similar en gravedad a la hemofilia A.

Se trata de un trastorno marcadamente heterogéneo con más de 220 mutaciones separadas, que producen una serie de deficiencias del factor IX de leves a graves. Como en la hemofilia A, la herencia está relacionada con el sexo (Rodak, 2002).

Como en la hemofilia A, el diagnóstico de laboratorio de la hemofilia B se realiza mediante el tiempo de protrombina, el TTPA y los sistemas de detección de rutina del tiempo de trombina basado en el coágulo y la prueba del factor. Lo habitual es que el TTPA esté prolongado y las otras dos pruebas sean normales. El TTPA puede ser insensible para la deficiencia leve del factor IX, de modo que, si las manifestaciones clínicas apoyan la sospecha de hemofilia, debe realizarse la prueba de factor a pesar de un resultado de TTPA normal (Sahud, 2000).

Para tratar la hemofilia B se utiliza el concentrado del factor IX purificado por anticuerpos monoclonales y se encuentra en la etapa de ensayos clínicos una forma recombinante.

Los inhibidores para el factor IX se originan en el 3% de los pacientes con hemofilia B. El tratamiento en presencia de inhibidores se indica como en el caso de los pacientes con inhibidores del factor VIII (Young, 2000).

3.2.2.4 Hemofilia adquirida

Los inhibidores adquiridos contra los factores de la coagulación son una manifestación más del fenómeno de autoinmunidad, proceso causal de una morbilidad y mortalidad considerable.

Se presenta este cuadro con una incidencia de 1 a 5 casos por millón de personas, ocurre principalmente en gente de edad avanzada (mayores de 60 años de edad).

Los autoanticuerpos aparecen de forma frecuente en pacientes mayores y son atribuidos a una pérdida de la vigilancia inmunológica por anticuerpos anti-idiotípicos. Rara vez, se pueden detectar títulos bajos de autoanticuerpos dirigidos contra el factor VIII en pacientes sanos.

La generación de los autoanticuerpos se ha asociado frecuentemente con ciertas condiciones subyacentes tales como problemas autoinmunes, problemas linfoproliferativos, enfermedad maligna, embarazo, ingestión de ciertos medicamentos. Sin embargo, en el 50% de los casos no se encuentra ninguna causa subyacente que pueda ser identificada (Franchini y otros, 2008).

4. JUSTIFICACIÓN

En el IGSS son atendidos alrededor de 125 pacientes hemofílicos, quienes reciben su terapia de reemplazo correspondiente al tipo de hemofilia que presenta cada uno, siendo la gran mayoría pacientes con hemofilia A. Sin embargo, algunos de ellos presentan una respuesta desfavorable a la administración de los medicamentos debido al desarrollo de inhibidores.

La estandarización de una metodología a nivel institucional para obtener información adecuada en el manejo de pacientes hemofílicos con inhibidores, permite la aplicación de un tratamiento seguro y eficaz que mejore la calidad de vida del paciente hemofílico y de igual forma favorezca el costo-beneficio a nivel institucional. A la fecha en ninguna institución nacional de salud tanto pública como privada existe una metodología estandarizada para la detección y medición de inhibidores en pacientes que no responden a la terapia de reemplazo. Por lo anterior surgió la necesidad de realizar este estudio, el cual propone un abordaje integral sobre el desarrollo de inhibidores en pacientes hemofílicos atendidos en el IGSS estableciendo un mejor control e integrando las bases del pronóstico de su aparición y comportamiento en estos pacientes.

5. OBJETIVOS

5.1 General

Detectar inhibidores de los factores de coagulación VIII y IX en pacientes hemofílicos adultos y pediátricos atendidos en el IGSS, a través de la estandarización de la metodología de Unidades Bethesda.

5.2 Específicos

5.2.1 Establecer la metodología de Unidades Bethesda para su aplicación a nivel institucional.

5.2.2 Proporcionar resultados que apoyen el tratamiento óptimo para los pacientes hemofílicos con inhibidores atendidos en el IGSS.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Universo

Pacientes adultos y pediátricos con diagnóstico de Hemofilia A y B, atendidos en el servicio de Hemato-Oncología del Hospital General de Enfermedades del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social -IGSS-.

6.2 Muestra

- 64 pacientes hemofílicos del área de pediatría, Hospital General de Enfermedades del IGSS.
- 19 pacientes hemofílicos del área de adultos, Hospital General de Enfermedades del IGSS.

6.2.1 Criterios de inclusión

- Género: Femenino y masculino.
- Edad: Cualquier edad.
- Consentimiento de participación en el estudio.

6.2.2 Criterios de exclusión

- Muestras que presenten coágulo.
- Relación inadecuada de muestra-anticoagulante.
- Muestras lipémicas, ictéricas y/o hemolizadas.
- Pacientes a quienes se les administró factor en las últimas 24 horas previas a la toma de muestra.
- No consentimiento de participación en el estudio.

6.2.3 Diseño de muestreo

Muestra por conveniencia. Se estudiaron 83 pacientes hemofílicos: 64 del área de pediatría y 19 del área de adultos; en ambas áreas se abarcó más del 50% del total de pacientes hemofílicos inscritos en el IGSS.

6.3 Diseño del estudio

6.3.1 Variable

Estudio cualitativo, en el cual se detectó la presencia o ausencia de inhibidores de factor de coagulación VIII y IX en pacientes hemofílicos.

6.3.2 Análisis Descriptivo

6.3.2.1 Descripción de características de la muestra

6.3.2.1.1 Variables cuantitativas: promedio, desviación estándar, rango.

- Rango de edad de los pacientes hemofílicos estudiados.
- Edad promedio de pacientes que presentan inhibidores.

6.3.2.1.2 Variables cualitativas: frecuencias absolutas y porcentajes.

- Porcentaje de pacientes hemofílicos masculinos y femeninos.
- Porcentaje de pacientes que presentan inhibidores.
- Porcentaje de pacientes de acuerdo al grado de severidad de la enfermedad. (leve, moderada, crónica)
- Frecuencia de la enfermedad en relación al lugar donde reside el paciente. (capital o algún departamento)
- Cuadro clínico inicial más frecuente en la población estudiada. (motivo de la primera cita)
- Frecuencia de patologías diagnósticas en los pacientes además de la hemofilia.
- Frecuencia de antecedentes familiares de hemofilia en la población estudiada.

6.3.2.2 Detección de inhibidores de factor de coagulación VIII y IX

6.3.2.2.1 Frecuencia de presencia de inhibidores en pacientes en general.

6.3.2.2.2 Frecuencia de presencia de inhibidores en pacientes por grupos (edad, sexo, entre otros) y datos clínicos (cuadro clínico más común, severidad, patologías asociadas, antecedentes familiares, tiempo de exposición a la dosis de factor, etc.)

6.4 Materiales

6.4.1 Material

- Algodón
- Ligadura
- Guantes
- Agujas y adaptadores para sistema de tubo al vacío
- 100 tubos con anticoagulante citrato de sodio al 3.2%.
- 400 tubos de ensayo de plástico
- 400 viales plásticos con tapón
- 200 pipetas plásticas desechables

6.4.2 Equipo

- Centrífuga
- Congelador (aprox. -70°C)
- Pipetas automáticas
- Coagulómetro Amax Destiny Plus
- Baño de maría a 37°C

6.4.3 Reactivos

- Alcohol al 70%
- Agua destilada estéril
- Reactivo para TTPa (cefalina líquida con ácido elágico)
- Cloruro de calcio al 0.025 M
- Plasma Control Normal Comercial DG-C1
(Plasma humano liofilizado que contiene tampón, estabilizantes y conservantes)
- Reactivo DG-Owren
(Tampón de dietilbarbiturato sódico (0.8575%) con cloruro de sodio)
- Reactivo de FVIII
(Plasma humano liofilizado deficiente en FVIII)
- Reactivo de FIX
(Plasma humano liofilizado deficiente en FIX)

6.5 Procedimiento

6.5.1 Cita a pacientes

El médico tratante de cada paciente estableció la fecha y hora para la cita de toma de muestra. Los pacientes pediátricos fueron atendidos de lunes a jueves en la Clínica de Hemato-Oncología Pediátrica. El día viernes fueron atendidos en el Laboratorio Clínico los pacientes de la Consulta Externa de Adultos.

6.5.2 Informe de consentimiento y ficha epidemiológica

Cada paciente (adultos) o encargado del paciente (pediátricos) firmó un consentimiento informado de participación en el estudio previo a la toma de muestra. Así mismo, en caso de acceder a participar en el estudio se llenó una ficha epidemiológica para la obtención de datos clínicos de cada paciente. (Anexos 2, 3 y 4)

6.5.3 Obtención y procesamiento de muestras

Se extrajo una muestra de sangre en tubo con anticoagulante citrato de sodio al 3.2%, a cada paciente a través de punción venosa. Ésta se centrifugó a 3500 rpm durante 15 min.

Se prepararon tres alícuotas de plasma (citrado), la primera se utilizó para la determinación del Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (TTPa) y corrección de plasma, la segunda para la determinación de Factor VIII (FVIII) o Factor IX (FIX) y la tercera para la realización del ensayo Bethesda.

6.5.4 Almacenamiento de muestras

Dos de las alícuotas de plasma fueron almacenadas en congelador a -70°C . Se tomó en cuenta que el volumen de plasma almacenado debía ser el necesario (aproximadamente 2 a 3 mL) para realizar las siguientes pruebas: determinación de FVIII y/o FIX y las diluciones respectivas para la cuantificación de inhibidores.

6.5.5 Ensayo de Unidades Bethesda

Paso 1. Determinación del Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (TTPa)

Procedimiento

- Se mezclaron 50 µL de plasma citratado (del paciente) con 50 µL de reactivo para TTPa.
- Se incubó a 37°C durante 180 seg.
- Se agregaron 50 µL de cloruro de calcio.
- Se realizó la lectura del resultado.

Interpretación de resultados

Valores de referencia de TTPa

De 22.5 a 35.0 seg.

Fuente: Valor de referencia utilizado en el Laboratorio Clínico del Hospital General de Enfermedades IGSS zona 9.

Caso 1	Valor de TTPa prolongado -Mayor a 35 seg-	Se continuo el procedimiento para la detección y cuantificación de inhibidores: <ul style="list-style-type: none">• Corrección de plasma• Determinación de FVIII o FIX• Análisis Bethesda
Caso 2	Valor de TTPa normal	No se continuo con el procedimiento, debido a que en el momento de la toma de muestra no existía deficiencia en vía intrínseca o presencia de inhibidores.

Paso 2. Corrección de Plasma

Preparación de Plasma Control Normal Comercial

- Se disolvió el contenido de cada vial con 1.0 mL de agua destilada estéril.
- Se cerró el vial y se homogenizó suavemente hasta la disolución completa del producto.
- Se mantuvo entre 15 y 25°C durante 30 min.
- Se mezcló por inversión el vial antes de su uso. Se evitó la formación de espuma.

Procedimiento

- Se prepararon 4 tubos de plástico de la siguiente manera :

	Tubo A (Plasma control)	Tubo B (Plasma paciente)	Tubo C (Mezcla de incubación)	Tubo D (Mezcla inmediata)
Plasma control normal	200 µL	-----	200 µL	200 µL
Plasma de paciente	-----	200 µL	200 µL	200 µL
Temperatura / Tiempo de incubación	Temperatura ambiente	Temperatura ambiente	Incubar a 37°C durante 2 hrs.	Temperatura ambiente

- Se realizó un TTPa a los tubos A, C y D (tal como se describe en el paso 1).
- Se tomó en cuenta lo siguiente:
 - El TTPa del tubo B se obtuvo en el paso 1.
 - El TTPa del tubo A se debía obtener antes de preparar las mezclas de los tubos C y D, para asegurar que la corrección de plasma sería la adecuada en cada muestra.
 - Únicamente el tubo C se incubaría a 37°C durante 2 hrs. antes de la determinación del TTPa.

Interpretación de resultados

Valores de referencia de TTPa

De 22.5 a 35.0 seg.

Fuente: Valor de referencia utilizado en el Laboratorio Clínico del Hospital General de Enfermedades IGSS zona 9.

	A	B	C (Mezcla de incubación) A + B (incubado a 37°C)	D (Mezcla inmediata) A + B (no incubado)	Interpretación
Valor de TTP	Normal	Prolongado	Normal	Normal	Plasma con un defecto intrínseco pero sin inhibidor. No se continuo con el siguiente procedimiento.
Valor de TTP	Normal	Prolongado	Prolongado	Normal	Plasma contiene inhibidor dependiente de tiempo. Se continuo con el siguiente procedimiento.
Valor de TTP	Normal	Prolongado	Prolongado	Prolongado	Plasma contiene inhibidor de acción inmediata. Se continuo con el siguiente procedimiento.

Paso 3. Determinación de Factor VIII y IX

Nota: Se tomó en cuenta que los pasos 3 y 4 se realizarían con los plasmas citratados almacenados a -70°C, por lo que antes de realizar dichos procedimientos las muestras debían ser descongeladas a 37°C por un tiempo de 5 min. e inmediatamente realizarles las cuantificaciones.

Se cuantificó el factor de coagulación (FVIII y/o FIX) de acuerdo al diagnóstico médico establecido.

Procedimiento

- A 50 µL de plasma citratado del paciente (dilución 1:5 con DG-Owren) se agregaron 50 µL de reactivo de FVIII o FIX.
- Se incubó a 37°C por 60 seg.
- Se agregaron 50 µL de reactivo de TTPa.
- Se incubó a 37°C por 180 seg.
- Se agregaron 50 µL de cloruro de calcio.
- Se inició tiempo de lectura y se reportó en porcentaje.

Interpretación de resultados

Valores de referencia

FVIII : De 40 a 150%

FIX : De 40 a 150%

Fuente: Valor de referencia utilizado en el Laboratorio Clínico del Hospital General de Enfermedades IGSS zona 9.

- Se esperaba que todos los pacientes presenten deficiencia de alguno de los factores de coagulación ya sea por un defecto en la vía intrínseca o por presencia de inhibidores.

Clasificación de hemofilia de acuerdo a la gravedad de la enfermedad:

Gravedad de la hemofilia	Nivel de Factor de Coagulación VIII o IX (% de Actividad)
Severa	1 %
Moderada	1 % - 5 %
Leve	5 % - 40 %

Fuente: Federación Mundial de Hemofilia, 2004.

- Debido que no se tiene antecedentes de la relación entre gravedad de la hemofilia y presencia de inhibidores de la población hemofílica en Guatemala, se hizo la cuantificación de inhibidores tomando en cuenta únicamente los resultados de las mezclas de corrección de plasma independientemente del porcentaje de actividad del factor de coagulación que tenga el paciente.

Paso 4. Cuantificación de Inhibidores

Procedimiento

Primera Parte

- Se determinó el porcentaje de actividad del FVIII o FIX del plasma control normal no diluido y diluido (éste fue utilizado para los cálculos del porcentaje de factor residual). Se tomó en cuenta que todas las determinaciones del porcentaje de actividad del factor de coagulación se realizarían como se describe en el paso 3.

	Plasma Control Normal Diluido (1/2)	Plasma Control Normal No Diluido
Plasma Control Normal	300 µL	300 µL
Reactivo DG-Owren	300 µL	-----

Segunda Parte

- Al detectarse la presencia de un inhibidor, se prepararon diluciones del plasma del paciente con reactivo DG-Owren. Se preparó un máximo de seis diluciones de plasma por paciente.
- Se prepararon las siguientes diluciones en tubos de ensayo de plástico:

Detección de Inhibidores					
	Baja Respuesta			Alta Respuesta	
	1 / 5	1 / 10	1 / 20	1 / 50	1 / 100
Plasma del Paciente	60 µL	30 µL	15 µL	10 µL	5 µL
Reactivo DG-Owren	240 µL	270 µL	285 µL	490 µL	495 µL
Plasma Control Normal	300 µL	300 µL	300 µL	500 µL	500 µL

NOTA: Debido a que se desconocía la clase de inhibidores que presentaba cada paciente hemofílico, se prepararon diluciones para baja y alta respuesta.

- Se tapó, mezcló mediante inversión e incubó todos los tubos a 37°C durante 2 hrs.
- Tras 2 hrs. se realizó inmediatamente el ensayo de FVIII o FIX a todas las mezclas (tal como se describe en el paso 3).

Tercera Parte

- Se calculó el porcentaje (%) del FVIII o FIX residual en cada dilución comparándolo contra el FVIII o FIX del plasma control normal diluido.
- Para calcular el factor residual se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Factor Residual} = \frac{\% \text{FVIII mezcla}}{\% \text{FVIII control diluido}} \times 100$$

$$\% \text{ Factor Residual} = \frac{\% \text{FIX mezcla}}{\% \text{FXI control diluido}} \times 100$$

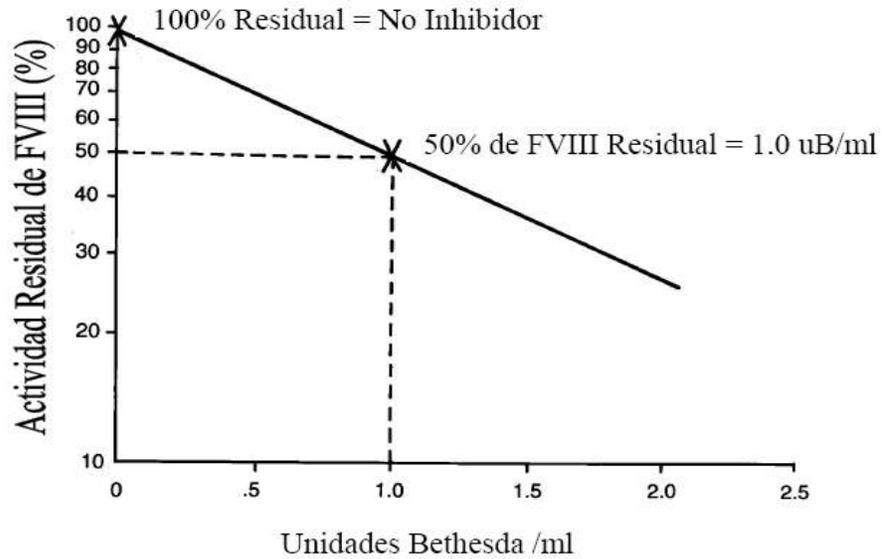
- Luego de obtener el factor residual se elaboró una curva teórica en papel semi logarítmico, donde en el eje de las ordenadas se graficó el porcentaje de FVIII residual (10% a 100%) y en el eje de las abscisas las unidades Bethesda de inhibidor (1 a 3), donde el 100% del valor residual correspondía a 0 unidades, 50% de factor residual a 1 unidad y 25% de factor residual a 2 unidades.

Cálculo del Nivel del Inhibidor

- La dilución del plasma estudiado que proporcionaba un FVIII o FIX residual cercano al 50%, pero en el rango de 25 – 75%, se eligió para el cálculo del inhibidor.
- Cualquier FVIII o FIX residual $<25\%$ ó $>75\%$ no se usó para los cálculos del nivel del inhibidor.
- El valor obtenido se interpoló en la gráfica. Si los datos caían dentro del intervalo de 25 a 75% para obtener las unidades Bethesda, el dato obtenido se multiplicaba por la dilución en la que se obtuvo el dato del FVIII o FIX residual.
- Se debe realizar un gráfico del porcentaje de FVIII o FIX residual frente a las unidades de inhibidor en un papel logarítmico desde la definición de la unidad de inhibidor.
- Leer el nivel de inhibidor correspondiente al FVIII o FIX residual para cada mezcla de prueba y corregir la dilución.

Gráfica de Resultados

Relación entre el factor VIII residual y el título del inhibidor



Nota: Si el paciente tenía Hemofilia B, entonces se realizó todo el procedimiento de cuantificación de inhibidores con reactivo de FIX.

6.6 Costos

Prueba de Unidades Bethesda
(precio estimado por paciente)
Q 400.00 – Q 500.00

Fuente: Valor calculado de acuerdo al uso de materiales y reactivos del Laboratorio Clínico del Hospital General de Enfermedades IGSS zona 9.

Terapia Farmacológica		
Pacientes hemofílicos sin inhibidores	FVIII o FIX (comercial)	Entre Q 600.00 a Q 2500.00 (cada frasco o vial)
Pacientes hemofílicos con inhibidores	FVIIa recombinante -rFVIIa- (NovoSeven)	Entre Q 10000.00 a Q 12000.00 (cada frasco o vial)
	FEIBA	Entre Q 6000.00 a Q 6500.00 (cada frasco o vial)

Fuente: Baxter. Guatemala.

7. RESULTADOS

Se llevó a cabo la recolección y procesamiento de muestras de sangre de pacientes hemofílicos pediátricos y adultos del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social, para la detección de inhibidores de los factores de coagulación VIII y IX por medio de la metodología de Unidades Bethesda. Este proceso se realizó en un período de 9 meses comprendido del 9 de marzo al 20 de diciembre de 2010.

De los 83 pacientes que participaron en el estudio, 64 corresponden al área de pediatría (en edades comprendidas entre 1 a 15 años) y 19 al área de adultos (en edades entre 16 a 70 años), tal como se describe en el Cuadro 1.

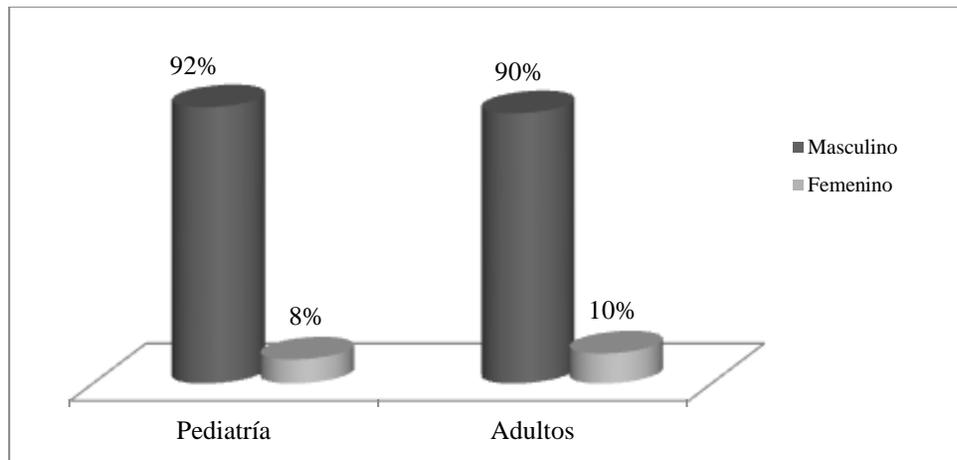
Cuadro 1. Rangos de edad de pacientes hemofílicos que participaron en el estudio

Pediatria			Adultos		
Edad (años)	Número de pacientes	Porcentaje (%)	Edad (años)	Número de pacientes	Porcentaje (%)
1 a 5	18	28.13	16 a 20	3	15.79
6 a 10	27	42.19	21 a 30	3	15.79
11 a 15	19	29.69	31 a 40	10	52.63
Total	64	100	41 a 50	1	5.26
			51 a 60	1	5.26
			61 a 70	1	5.26
			Total	19	100

Fuente: Datos experimentales.

Con relación al género, la distribución fue de 59 (92%) pacientes masculino y 5 (8%) femenino en el área de pediatría; mientras que en el área de adultos 17 (90%) pacientes masculino y únicamente 2 (10%) femenino (Gráfica 1).

Gráfica 1. Género de los pacientes hemofílicos adultos y pediátricos



Fuente: Datos experimentales.

Los pacientes fueron clasificados según el factor de coagulación deficiente como hemofílicos tipo A (FVIII) o hemofílicos tipo B (FIX), reportándose en el área de pediatría 56 (88%) pacientes tipo A y 8 (12%) tipo B; mientras que en el área de adultos los 19 pacientes estudiados fueron hemofílicos tipo A (Cuadro 2).

Cuadro 2. Clasificación de hemofilia de acuerdo al factor de coagulación deficiente

	Pediatría		Adultos	
	No. pacientes	Porcentaje (%)	No. pacientes	Porcentaje (%)
Hemofilia A	56	88	19	100
Hemofilia B	8	12	0	0
Total	64	100	19	100

Fuente: Datos experimentales.

Con base en información obtenida de los pacientes, se determinó que 43 (52%) de ellos reside en diferentes áreas de la ciudad capital y 40 (48%) en áreas departamentales, siendo Sacatepéquez el departamento en el cual reside la mayor cantidad de pacientes hemofílicos (Cuadro 3).

Cuadro 3. Lugar de residencia de pacientes hemofílicos

Lugar de residencia	No. de pacientes	Porcentaje (%)
Ciudad capital	43	52.00
Sacatepéquez	13	15.66
Escuintla	8	9.64
Jutiapa	6	7.23
Quetzaltenango	6	7.23
San Marcos	4	4.82
Zacapa	3	3.61
Total	83	100.00

Fuente: Datos experimentales.

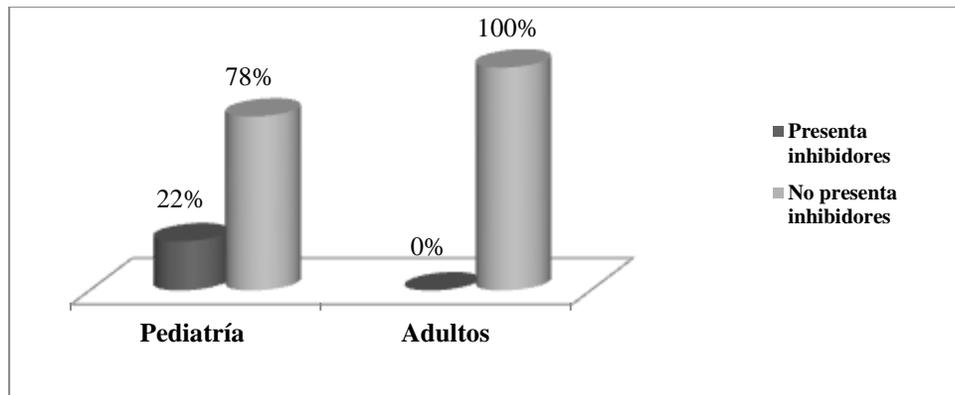
Del total de pacientes, únicamente 14 (22%) del área de pediatría presentó inhibidores, de los cuales 13 son pacientes con diagnóstico de hemofilia A y 1 con diagnóstico de hemofilia B. En el área de adultos ningún paciente presentó inhibidores (Cuadro 4 y Gráfica 2).

Cuadro 4. Frecuencia de inhibidores en pacientes hemofílicos pediátricos

	Ausencia de inhibidores		Presencia de inhibidores	
	No. pacientes	Porcentaje (%)	No. pacientes	Porcentaje (%)
Hemofilia A	43	86	13	93
Hemofilia B	7	14	1	7
Total	50	100	14	100

Fuente: Datos experimentales.

Gráfica 2. Frecuencia de inhibidores en pacientes hemofílicos



Fuente: Datos experimentales.

El rango de edad que presentó el mayor número de pacientes hemofílicos con inhibidores es de 11 a 15 años (Cuadro 5).

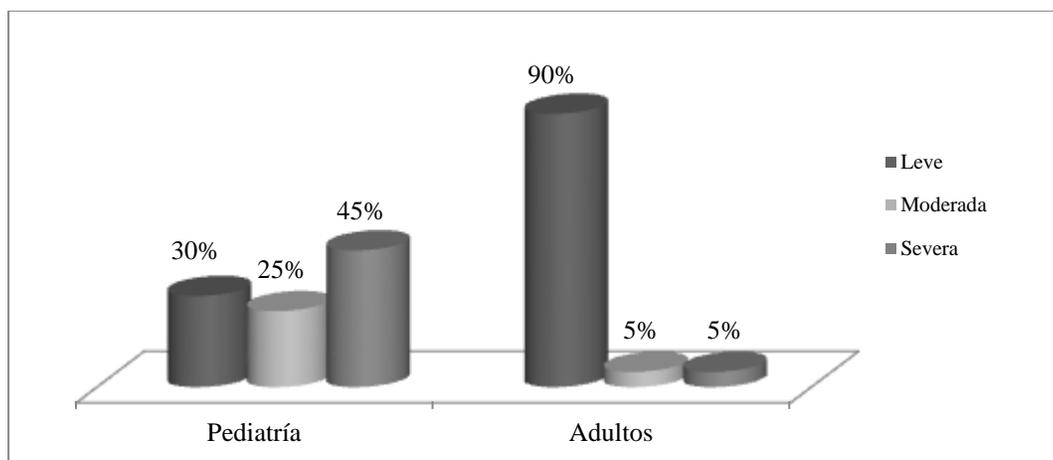
Cuadro 5. Rango de edad de pacientes hemofílicos que presentan inhibidores

Edad (años)	Número de pacientes	Porcentaje (%)
1 a 5	3	21.42
6 a 10	5	35.70
11 a 15	6	42.88
Total	14	100

Fuente: Datos experimentales.

En relación a la gravedad de hemofilia, 45% de pacientes pediátricos han desarrollado hemofilia severa y 90% de pacientes adultos presentan hemofilia leve, lo cual se detalla en la Gráfica 3.

Gráfica 3. Frecuencia de pacientes de acuerdo a la gravedad de hemofilia



Fuente: Datos experimentales.

Del total de pacientes con inhibidores, se estima que 13 (93%) de ellos presenta hemofilia severa y 1 (7%) presenta hemofilia moderada de acuerdo al porcentaje de factor de coagulación detectado al momento de la toma de muestra (Cuadro 6).

Cuadro 6. Relación entre gravedad de hemofilia y presencia de inhibidores en pacientes pediátricos

	Pacientes hemofílicos		Pacientes hemofílicos con inhibidores	
	No. pacientes	Porcentaje (%)	No. pacientes	Porcentaje (%)
Leve	19	30	0	0
Moderada	16	25	1	7
Severa	29	45	13	93
Total	64	100	14	100

Fuente: Datos experimentales.

El Cuadro 7 presenta la clasificación de los inhibidores de acuerdo al valor de TTPa obtenido en las mezclas de corrección de plasma.

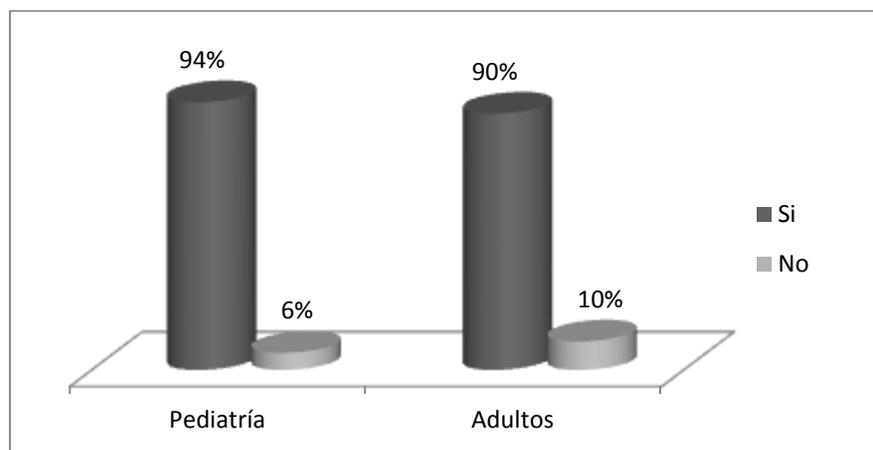
Cuadro 7. Clasificación de inhibidores de acuerdo al valor de TTPa obtenido en las mezclas de corrección de plasma

	No. de pacientes	Porcentaje (%)
Inhibidores de acción inmediata	10	72
Inhibidores dependientes de tiempo	4	28
Total	14	100

Fuente: Datos experimentales.

Con respecto al uso de la terapia de reemplazo como tratamiento de los pacientes hemofílicos, a 94% de pacientes pediátricos y 90% de adultos les ha sido aplicada en algún episodio de su enfermedad; mientras que al resto de pacientes a pesar de estar diagnosticados como hemofílicos nunca se les ha administrado el factor carente (Gráfica 4).

Gráfica 4. Uso de la terapia de reemplazo en pacientes hemofílicos



Fuente: Datos experimentales.

Como se observa en el Cuadro 8, 9 (47%) pacientes del área de adultos tienen antecedentes de hemofilia hereditaria y en el área de pediatría 33 (52%) pacientes.

Cuadro 8. Relación entre padecimiento de hemofilia y antecedentes familiares

	Pediatria		Adultos	
	No. pacientes	Porcentaje (%)	No. pacientes	Porcentaje (%)
Si	33	52	9	47
No	17	27	4	21
No sabe	14	21	6	32
Total	64	100	19	100

Fuente: Datos experimentales.

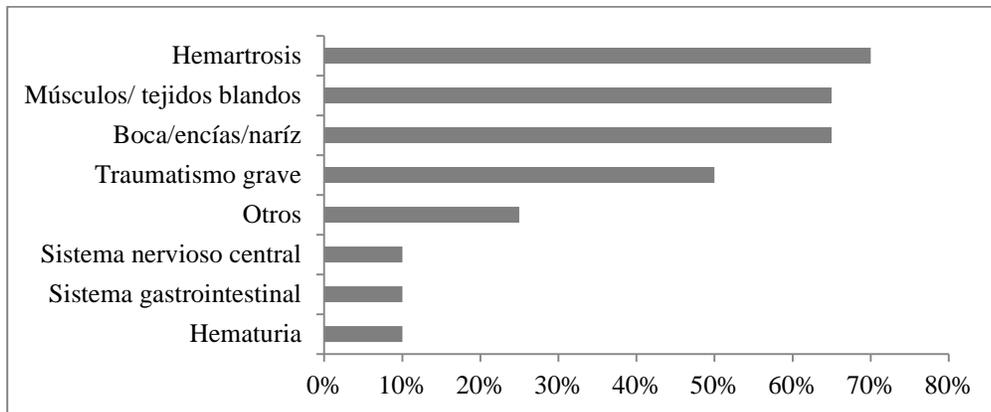
Los Cuadros 9 y 10, y las Gráficas 5 y 6 muestran las manifestaciones clínicas de la hemofilia tanto en pacientes con inhibidores como en pacientes que no los presentan.

Cuadro 9. Frecuencia de las diferentes localizaciones de la hemorragia

Localización de la hemorragia	Frecuencia (%)
Hemartrosis	70
Boca/encías/naríz	65
Músculos/tejidos blandos	65
Traumatismo grave	50
Hematuria	10
Sistema gastrointestinal	10
Sistema nervioso central	10
Otros	25

Fuente: Datos experimentales.

Gráfica 5. Frecuencia de las diferentes localizaciones de la hemorragia



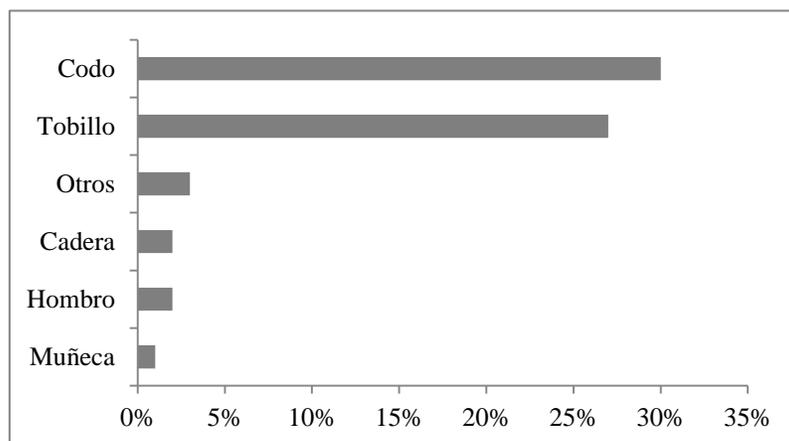
Fuente: Datos experimentales.

Cuadro 10. Frecuencia de hemorragia en diferentes articulaciones

Localización	Frecuencia (%)
Rodilla	35
Codo	30
Tobillo	26
Cadera	2
Hombro	2
Muñeca	1
Otros	3

Fuente: Datos experimentales.

Gráfica 6. Frecuencia de hemorragia en diferentes articulaciones



Fuente: Datos experimentales.

8. DISCUSIÓN

El sistema inmune de una persona con hemofilia A o B puede crear inhibidores dirigidos contra el factor VIII o IX, después de la administración del tratamiento para reemplazar el factor carente. Los anticuerpos (aloanticuerpos) actúan adhiriéndose al factor de coagulación y neutralizan o inhiben su capacidad para detener una hemorragia.

Según la Federación Mundial de Hemofilia, el riesgo de desarrollar un inhibidor no permanece igual a lo largo de la vida de una persona con hemofilia, la mayoría de inhibidores se desarrollan durante la infancia, a una edad promedio de 12 años; hecho que se demostró en este estudio, ya que los inhibidores se presentaron únicamente en pacientes pediátricos, en edad promedio entre 11 a 15 años, lo cual se atribuye a que el riesgo de desarrollar un inhibidor es mayor durante las primeras 50 exposiciones al factor, y en algunos casos el riesgo disminuye después de 200 días de exposición al tratamiento.

Del total de pacientes hemofílicos pediátricos el 78% de ellos no presentó inhibidores. Así mismo, no se evidenció la presencia de inhibidores en pacientes hemofílicos adultos con los resultados de este estudio, tal como se menciona en el Manual Mundial de Hemofilia donde indica que existe una baja tasa de desarrollo de inhibidores en pacientes adultos.

El Comité Latinoamericano de Terapéutica en Grupos con Inhibidores establece que se sospecha de la existencia de un inhibidor cuando, repentina e inesperadamente, la hemorragia no se detiene tan pronto como debiera en respuesta al tratamiento con factor; y en varios países la sospecha se confirma al detectar el inhibidor mediante las pruebas de rutina realizadas al paciente hemofílico; sin embargo, esto no sucede en las instituciones de salud de Guatemala (ni públicas ni privadas), ya que poco se conoce acerca de la metodología para la detección de inhibidores en pacientes hemofílicos, razón por la cual, tanto la calidad de vida del paciente hemofílico en Guatemala y el costo beneficio a nivel del IGSS se ven en desventaja.

De acuerdo a Kasper y colaboradores el desarrollo de inhibidores ocurre más frecuentemente en personas con ciertas condiciones hereditarias, lo cual se evidenció en este estudio al determinar que de los 14 pacientes con inhibidores 7 (50%) tienen antecedentes de

hemofilia hereditaria, 4 (28%) no tienen antecedentes hereditarios y 3 (22%) desconocen sus antecedentes. Así mismo, los pacientes que no tienen antecedentes de hemofilia hereditaria pero que presentan inhibidores, se les asocian diferentes factores causales de este cuadro clínico, tales como: funcionamiento del sistema inmune en reacción del organismo al factor de coagulación administrado; las condiciones clínicas bajo las cuales una persona recibe el factor de coagulación, por ejemplo la edad al momento del primer tratamiento, el tipo de hemorragia y la duración del tratamiento; y el tipo de factor carente inyectado (recombinante o derivado de plasma).

Debido a que la herencia de la hemofilia A está ligada al sexo. Los varones homocigotos presentan manifestaciones hemorrágicas, no así las mujeres heterocigotas que son portadoras. Los síntomas de hemofilia A raras veces se observan en las mujeres. Cabe mencionar que en este estudio se contó con la participación de 6 mujeres (4 del área de pediatría y 2 del área de adultos), de las cuales solamente una era portadora sintomática y el resto eran pacientes con enfermedad de von Willebrand pero diagnosticadas como pacientes hemofílicas con la finalidad de adquirir el tratamiento, y por lo tanto fueron incluidas en el estudio, ya que están expuestas al factor. No se reportó ningún caso de hemofilia B en mujeres.

Las probabilidades de desarrollar inhibidores son mayores en personas con hemofilia A que en aquellas con hemofilia B; según este estudio de los 14 pacientes pediátricos que presentaron inhibidores, 13 son pacientes con diagnóstico de hemofilia A y 1 con diagnóstico de hemofilia B, confirmando con ello lo que indica la literatura. Dentro de los pacientes con hemofilia A se incluye a la única paciente portadora sintomática.

La presencia de un inhibidor se confirmó mediante el ensayo de unidades Bethesda, el cual detecta y cuantifica la presencia de inhibidores en pacientes hemofílicos, los cuales son reportados como unidades Bethesda o como título Bethesda. De acuerdo al paso 1 de esta metodología, que consiste en la determinación de TTPa, se esperaba un TTPa prolongado (mayor a 35 seg) en todos los pacientes hemofílicos que participaron en el estudio, sin embargo algunos de ellos presentaron un TTPa normal (menor a 35 seg), por lo que ya no se continúa con su respectivo análisis lo cual indicaba que al momento de la toma de muestra no existía deficiencia en vía intrínseca o presencia de inhibidores. El paso 2 consiste en la corrección de plasma, en el cual se establece si el paciente únicamente tiene algún defecto en

la vía intrínseca o bien si tiene inhibidor y el tipo del mismo. Si el paciente no presenta un TTPa prolongado en las mezclas quiere decir que se corrigió y por lo tanto no existe la presencia de inhibidor, ahora bien si en la mezcla no incubada, es decir la mezcla inmediata, el paciente presenta un TTPa prolongado quiere decir que tiene un inhibidor de acción inmediata, y si presenta un TTPa prolongado solamente en la mezcla de incubación indica la presencia de un inhibidor dependiente de tiempo. En los pacientes que se detectó inhibidores, 10 presentaron inhibidores de acción inmediata y 4 presentaron inhibidores dependientes de tiempo. En el paso 3, se realiza la determinación de factor VIII o IX, a través de ello se determina la gravedad de la hemofilia como leve, moderada o severa. En el área de pediatría, se determinó que de acuerdo al porcentaje de actividad de factor de coagulación que presentaban los pacientes al momento de la toma de muestra, 19 pacientes con hemofilia leve, 16 con hemofilia moderada y 29 con hemofilia severa. El desarrollo de inhibidores no es común entre personas con un padecimiento moderado, pero puede ocurrir. Esto es particularmente cierto cuando la persona lleva una alteración en el gen del factor VIII (mutación) que la predispone. Comúnmente, los inhibidores se desarrollan en pacientes con hemofilia severa. De acuerdo a los resultados obtenidos de los 14 pacientes hemofílicos con inhibidores, 13 son pacientes con hemofilia severa (menor a 1%) y solamente 1 con hemofilia moderada (1 - 5%).

La cuantificación de inhibidores, es el paso 4 de este método, lo cual se realizó como apoyo a los médicos tratantes de cada área, ya que de acuerdo al título de unidades Bethesda detectado, así será el tipo de terapia de reemplazo que le administrarán a cada paciente.

Al comparar los costos entre la realización de la prueba de Unidades Bethesda y el uso desmedido de la terapia con factor, se determinó que tanto la calidad de vida del paciente hemofílico como los costos a nivel institucional se ven favorecidos, debido a que la prueba tiene un precio aproximado entre Q400.00 a Q500.00, mientras que cada vial de factor de coagulación tiene un precio aproximado de Q600.00, y en algunos casos en que no cesa la hemorragia se hace uso desmedido del mismo, utilizando de 12 hasta 20 viales de factor de coagulación comercial por día; mientras que si se realiza la prueba de inhibidores, se detecta la presencia de éstos y se invierte en el tratamiento adecuado, garantizando la mejor calidad de vida del paciente hemofílico y favoreciendo el costo-beneficio a nivel institucional.

9. CONCLUSIONES

- 9.1 Se demostró la presencia de inhibidores de factores de coagulación en 22% de los pacientes hemofílicos pediátricos estudiados.
- 9.2 No se encontró presencia de inhibidores de factores de coagulación en los pacientes hemofílicos adultos estudiados.
- 9.3 La estandarización de la metodología de Unidades Bethesda a nivel institucional permite obtener la información adecuada respecto al manejo de pacientes hemofílicos.
- 9.4 A pesar del costo elevado y tiempo necesario para realizar la prueba de determinación de inhibidores de los factores de coagulación, ésta podría contribuir en el mejoramiento de la calidad de vida del paciente hemofílico, especialmente en aquellos que no responden favorablemente al tratamiento.

10. RECOMENDACIONES

10.1 Considerando el costo de la prueba y otras restricciones concernientes al presupuesto en el IGSS, se recomienda realizar rutinariamente cada año el examen de inhibidores de los factores de coagulación en los siguientes casos:

- dar seguimiento a los pacientes hemofílicos pediátricos que participaron en este estudio y que presentaron inhibidores, y así poder establecer si la presencia de estos anticuerpos es un proceso transitorio o si persisten en el organismo de los pacientes, para garantizar el tratamiento óptimo y eficaz.

- detectar nuevos casos de inhibidores en pacientes hemofílicos que participaron en el estudio y que no presentan inhibidores a la fecha, y en todos los pacientes que han iniciado recientemente el tratamiento, principalmente en aquellos que presentan complicaciones en su cuadro clínico pese a altas dosis de factor.

10.2 Estudiar la posibilidad de implementar la prueba de inhibidores de los factores de coagulación tanto en instituciones públicas como privadas, que atiendan pacientes con diagnóstico clínico de hemofilia.

11. REFERENCIAS

- Acharya, S., & DiMichelle, D. (2006). Management of factor VIII inhibitors. *Critical Reviews in Oncology/Haematology*, 19, 51-66.
- Agle, D. (2004). Terapia casera para la hemofilia: un manual para médicos. Tratamiento de la Hemofilia. Atlanta: Federación Mundial de Hemofilia.
- Asociación de Directores de Clínicas de Hemofilia. (2004). Inhibidores en Hemofilia. Ontario: Federación Mundial de Hemofilia.
- Begemann, H., Brown, R., y Wess, L. (1994). *Hematología Clínica*. Barcelona: Científico Médica.
- Dietrich, S. (2006). Tratamiento de problemas hemorrágicos en la hemofilia con terapia de reemplazo limitada o inexistente. Atlanta: Federación Mundial de Hemofilia.
- DiMichelle, D. (2004). Inhibidores en hemofilia: información básica. Tratamiento de la Hemofilia. Atlanta: Federación Mundial de Hemofilia.
- Federación Mundial de Hemofilia. (2004). Protocolos para el tratamiento de la hemofilia y la enfermedad de von Willebrand. Tratamiento de la Hemofilia. Atlanta: Autor.
- Franchini, M., Targher, G., Manzato, F., & Lippi, G. (2008). Acquired factor VIII inhibitors in oncohematology: a systematic review. *Critical Reviews in Oncology/Haematology*, 66, 194-199.
- Fundación de la Hemofilia. (2011). Guía de Tratamiento de la Hemofilia. Buenos Aires: Autor.
- Goudemand, J. (2008). Pharmaco-economic aspects of inhibitor treatment. *European Journal of Haematology*, 61, 24-27.

- Hind, D. (2008). Concentrado de factor VIIa recombinante versus concentrados derivados de plasma para el tratamiento de hemorragias agudas en personas con hemofilia A e inhibidores. Tratamiento de la Hemofilia. Ontario: Federación Mundial de Hemofilia.
- IACA, Laboratorios. (2007). Recomendaciones para la obtención, conservación y transporte de muestras para prácticas de hemostasia y trombosis. Panamá: Autor.
- Jaloma, A. (2006). *Cinética de Inhibidores de los Factores VIII y IX: Relación con la respuesta al tratamiento y con marcadores genéticos de predisposición en pacientes mexicanos con hemofilia A y B.* (Tesis de Doctorado). Programa de Doctorado en Genética Humana. Centro Universitario de Ciencias de la Salud. Guadalajara.
- Kasper, C. (2000a). Diagnóstico de Laboratorio de Inhibidores de Factor VIII. Atlanta: Federación Mundial de Hemofilia.
- Kasper, C. (2000b). Registro de concentrados de factores de la coagulación. Ontario: Federación Mundial de Hemofilia.
- Kasper, C. (2004a). Diagnóstico y tratamiento de inhibidores de los factores VIII y IX. Discusión introductoria para médicos. Atlanta: Federación Mundial de Hemofilia.
- Kasper, C. (2004b). Trastornos hereditarios de los factores de coagulación del plasma y su manejo. Tratamiento de la Hemofilia. Atlanta: Federación Mundial de Hemofilia.
- Kitchen, S., y McCraw, A. (2000). Diagnóstico de la hemofilia y otros trastornos de la coagulación. Manual de Laboratorio. México: Comité de Ciencias de Laboratorio de la Federación Mundial de Hemofilia.
- Klukowska, A., Windyga, J., & Batorova, A. (2011). Clinical efficacy of a novel VWF-containing FVIII concentrate, Wilate, in the prophylaxis and treatment of bleeding episodes in previously treated haemophilia A patients. *Thrombosis Research*, 127, 247-253.

- Krudysz, J., Parhami-Seren B., & Butenas, S. (2009). Quantitation of anti-factor VIII antibodies in human plasma. *Thrombosis and Hemostasis*, 113, 2587-2594.
- Levine, P. (2004). Control del dolor en la hemofilia. Tratamiento de la Hemofilia. Atlanta: Federación Mundial de Hemofilia.
- Liga Colombiana de Hemofílicos. (2004). Información básica de hemofilia. Medellín: Federación Mundial de Hemofilia.
- Ljung, R. (2009). Prophylactic therapy in haemophilia. *Blood Reviews*, 23, 267-274.
- Maling, B. (2004). La hepatitis viral y los trastornos de coagulación. Tratamiento de la Hemofilia. Atlanta: Federación Mundial de Hemofilia.
- Mannucci, P. (2004). La desmopresina (DDAVP) en el tratamiento de los trastornos de la coagulación: los primeros 20 años. Tratamiento de la Hemofilia. Atlanta: Federación Mundial de Hemofilia.
- Peerschke, E., Castellone, D., Ledford, M., & Van, E. (2009). Laboratory assessment of factor VIII inhibitor titer coagulation and transfusion medicine. *Coagulation and Transfusion Medicine*, 131, 552-558.
- Pérez, R. (2007). Tratamiento del paciente con hemofilia (PcHe) e inhibidores. Academia Nacional de Medicina. Buenos Aires: Fundación de la Hemofilia.
- Pipe, S. (2009). Visions in haemophilia care. *Thrombosis Research*, 124, 52-55.
- Ponencia recuperada on-line. (2006). Hemofilia. Trabajo presentado en el XIII Simposio Médico Social en Hemofilia. Barcelona.
- Rodak, B. (2002). *Hematología: Fundamentos y aplicaciones clínicas* (2a ed.) Buenos Aires: Panamericana.

- Ross, J. (2004). Las perspectivas de las portadoras de hemofilia. Tratamiento de la Hemofilia. Atlanta: Federación Mundial de Hemofilia.
- Sahud, M. (2000). Diagnóstico de Laboratorio de Inhibidores. *Seminarios en Trombosis y Hemostasis*, 26, 195-203.
- Subcomité de Inhibidores de la Asociación de Directores de Clínicas de Hemofilia. (2004). Sugerencias para el manejo de inhibidores del factor VIII. Ontario: Autor.
- Teitel, J. (2005). Los agentes transmisibles y la seguridad de los concentrados de factores de la coagulación. Atlanta: Federación Mundial de Hemofilia.
- Tonda, R. (2007). *El complejo factor VIIa – Factor tisular y su papel compensatorio en las disfunciones hemostáticas*. (Tesis de Doctorado). Universidad de Ciencias de la Salud. Barcelona.
- Young, G. (2005). Prophylactic recombinant factor VIIa in haemophilia patients with inhibitors. *Haemophilia*, 11, 203-207.

12. ANEXOS

Anexo 1. Procoagulantes plasmáticos.

Factor	Nombre habitual	Función
I	Fibrinógeno	El sustrato trombina se polimeriza para formar fibrina.
II	Protrombina	Serina proteasa
III	Factor tisular	Cofactor
IV	Calcio iónico	Mineral
V	Factor lábil	Cofactor
VI	Alguna vez se asignó a un procoagulante que después se determinó como el factor V activado. Se retiró del sistema y nunca se reasignó.	
VII	Factor estable	Serina proteasa
VIII	Factor antihemofílico	Cofactor
	Factor de von Willebrand	Portador del factor VIII y adhesión plaquetaria
IX	Factor Christmas	Serina proteasa
X	Factor Stuart – Prower	Serina proteasa
XI	Antecedente de tromboplastina plasmática	Serina proteasa
XII	Factor Hageman	Serina proteasa
Precalicroína	Factor Fletcher	Serina proteasa
Cimógeno de alto peso molecular	Factor Fitzgerald, HMWK	Cofactor
XIII	Factor estabilizador de fibrina (FSF)	Transglutaminasa
Factor plaquetario 3	Fosfolípidos, PF3	Molécula de ensamble

Fuente: Rodak, 2002.

Anexo 2. Informe de Consentimiento para pacientes del área de pediatría.

Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia
Escuela Química Biológica

CONSENTIMIENTO DE PARTICIPACIÓN EN ESTUDIO

Título: “Detección de inhibidores de factor de coagulación VIII en pacientes hemofílicos del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social –IGSS-“

Justificación: En el Instituto Guatemalteco de Seguridad Social (IGSS) son atendidos alrededor de 125 pacientes hemofílicos, por consiguiente existe la necesidad de implementar una metodología que permita la detección de inhibidores de factor de coagulación VIII, y así el médico tratante obtener la información adecuada respecto al manejo de estos pacientes, brindando un tratamiento seguro y eficaz que represente una mejor calidad de vida del paciente hemofílico, y de igual forma favorecer el costo-beneficio a nivel institucional.

Procedimiento: De acceder a que su hijo o hija participe en el estudio, durante la cita con su médico tratante usted será entrevistado acerca de datos personales y algunos datos de su historia clínica. Luego será el médico quien indique fecha y hora de la próxima cita en la cual se tomará una muestra de sangre venosa la cual será utilizada para la detección de inhibidores de factor de coagulación VIII.

Riesgos: No existe riesgo específico relacionado con su participación en el estudio que difiera de los riesgos mínimos asociados con la toma de muestra de sangre que se realizará a todos los pacientes que accedan a participar en el estudio.

Beneficios: Si usted accede a que su hijo o hija participe en este estudio su médico tratante recibirá información adecuada respecto al manejo de su enfermedad, brindándole un tratamiento seguro y eficaz que represente una mejor calidad para su vida.

Confidencialidad: La información obtenida será manejada bajo normas éticas y profesionales. Su nombre no será utilizado en ningún reporte o publicación resultante de este estudio.

Consideraciones financieras: Su participación en el estudio no representa ningún gasto para usted. Así mismo, al participar en el estudio no recibirá ninguna recompensa.

Preguntas: Si usted tiene alguna pregunta o problema por favor no dude en contactar a su médico.

Participación voluntaria: La participación de su hijo o hija en este estudio es voluntaria. Usted puede decidir que no sea parte del mismo o que salga de él en cualquier momento.

Consentimiento:

1. Yo reconozco que la participación de mi hijo o hija en este estudio es voluntaria.
2. Yo doy el permiso a los investigadores de este estudio para usar la información recolectada.

Nombre del Paciente _____

Nombre del Padre, Madre o Encargado _____

Firma del Padre, Madre o Encargado _____ Fecha _____

Anexo 3. Informe de Consentimiento para pacientes del área de adultos.

Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia
Escuela Química Biológica

CONSENTIMIENTO DE PARTICIPACIÓN EN ESTUDIO

Título: “Detección de inhibidores de factor de coagulación VIII en pacientes hemofílicos del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social –IGSS-“

Justificación: En el Instituto Guatemalteco de Seguridad Social (IGSS) son atendidos alrededor de 125 pacientes hemofílicos, por consiguiente existe la necesidad de implementar una metodología que permita la detección de inhibidores de factor de coagulación VIII, y así el médico tratante obtener la información adecuada respecto al manejo de estos pacientes, brindando un tratamiento seguro y eficaz que represente una mejor calidad de vida del paciente hemofílico, y de igual forma favorecer el costo-beneficio a nivel institucional.

Procedimiento: De acceder a participar en el estudio, durante la cita con su médico tratante usted será entrevistado acerca de datos personales y algunos datos de su historia clínica. Luego será el médico quien indique fecha y hora de la próxima cita en la cual se tomará una muestra de sangre venosa la cual será utilizada para la detección de inhibidores de factor de coagulación VIII.

Riesgos: No existe riesgo específico relacionado con su participación en el estudio que difiera de los riesgos mínimos asociados con la toma de muestra de sangre que se realizará a todos los pacientes que accedan a participar en el estudio.

Beneficios: Si usted accede a participar en este estudio su médico tratante recibirá información adecuada respecto al manejo de su enfermedad, brindándole un tratamiento seguro y eficaz que represente una mejor calidad para su vida.

Confidencialidad: La información obtenida será manejada bajo normas éticas y profesionales. Su nombre no será utilizado en ningún reporte o publicación resultante de este estudio.

Consideraciones financieras: Su participación en el estudio no representa ningún gasto para usted. Así mismo, al participar en el estudio no recibirá ninguna recompensa.

Preguntas: Si usted tiene alguna pregunta o problema por favor no dude en contactar a su médico.

Participación voluntaria: Su participación en este estudio es voluntaria. Usted puede decidir no ser parte del mismo o salir de él en cualquier momento.

Consentimiento:

1. Yo reconozco que mi participación en este estudio es voluntaria.
2. Yo doy el permiso a los investigadores de este estudio para usar la información recolectada.

Nombre del Paciente _____

Firma del Paciente _____ Fecha _____

Anexo 4. Ficha Epidemiológica

Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia
Escuela Química Biológica

Ficha Epidemiológica

a.DATOS PERSONALES

Número de Afiliación _____ Fecha _____

Nombre del Paciente _____

Sexo FEMENINO _____ MASCULINO _____ Edad _____

Dirección CAPITAL _____ ZONA _____

DEPARTAMENTO _____

b.DATOS CLÍNICOS

Clasificación de Hemofilia A _____ B _____

Severidad LEVE _____ MODERADA _____ SEVERA _____

Antecedentes familiares SI _____ NO _____

Motivo de la primera cita _____

Motivo de la cita actual _____

Dosis terapéutica de factor de coagulación VIII administrada de rutina _____

Dosis terapéutica de factor de coagulación VIII administrada cuando hay molestias y/o sangrado _____

Reacciones adversas después de la administración de factor VIII _____

Además de la hemofilia, otra patología diagnosticada _____

Luisa Fernanda Soto
Tesisista

Q.B. MSc. Glenda Escalante
Asesora

Lic. Jorge Hernández
Asesor