

Estandarización de la trombinografía automática calibrada para el estudio de los trastornos de la hemostasia

Standardization of calibrated automatic thrombinography for the study of hemostasis disorders

Yaneth Zamora González^{1*} <https://orcid.org/0000-0003-4170-3565>

Maribel Tejeda González¹ <https://orcid.org/0000-0003-1076-0444>

Yaima Urrutia Febles¹ <https://orcid.org/0000-0002-0475-901X>

¹Instituto de Hematología e Inmunología. La Habana, Cuba.

*Autor para la correspondencia: rchematologia@infoemd.sld.cu

Recibido: 28/01/2022

Aceptado: 21/04/2022

Al Director:

La trombosis y la hemorragia están asociadas a tantos casos de enfermedad y muerte que, como mecanismo patogénico, la hemostasia debe considerarse de igual importancia que el sistema inmunológico o la regulación de la división celular.

Las trombosis y las hemorragias son siempre el resultado de causas locales; es decir, el daño de la pared vascular y la reacción de la sangre expuesta a la superficie trombogénica; dicha reacción varía de persona a persona; en un extremo se encuentran los que tienen tendencia a sangrar por deficiencia funcional o ausencia de alguno de los factores procoagulantes y en el otro extremo están los que son propensos a la trombosis.⁽¹⁾

La trombina es una proteína clave involucrada en la regulación de los procesos hemostáticos; tiene propiedades tanto procoagulantes como anticoagulantes y es fundamental en todo un conjunto de reacciones de retroalimentación positivas y negativas; por tanto, la formación de la trombina y su disminución cuando se desencadena la coagulación de la sangre, es el mejor indicador de la función del sistema hemostático.⁽²⁾

Actualmente se pueden estudiar diferentes aspectos de la hemostasia utilizando los procedimientos que están disponibles para los investigadores y los laboratorios clínicos; estos incluyen métodos coagulométricos y cromogénicos, que evalúan diferentes parámetros del proceso hemostático; sin embargo, estos métodos no proporcionan una evaluación general de la hemostasia ya que estos ensayos miden el tiempo en el que se forma el coágulo de fibrina que se produce inicialmente cuando solo el 1-5 % de la protrombina ha sido activada.⁽³⁾

A pesar de la diversidad de los métodos de laboratorio utilizados para evaluar los procesos hemostáticos en la actualidad ninguno es capaz de evaluar todas las fases de la hemostasia. Por lo tanto, los resultados obtenidos con estos métodos convencionales no siempre se asocian con manifestaciones clínicas.⁽⁴⁾

Existe una creciente conciencia de que la generación de trombina (GT) proporciona un perfil de coagulación global de la interacción compleja entre los impulsores pro y anticoagulantes, mientras que las pruebas de tiempo de coagulación convencionales solo brindan información limitada sobre el inicio de la coagulación.⁽⁵⁾

Desde hace muchos años se ha intentado evaluar la generación completa y la inhibición de la trombina más allá del tiempo de formación del coagulo de fibrina; por lo que un buen candidato para una prueba de función global del sistema hemostático es la curva de GT o trombograma, prueba que se desarrolló, como una herramienta de investigación, en el decenio de 1950 y que afortunadamente ha superado el paso del tiempo. La producción de trombina durante la coagulación de la sangre o plasma se medía tomando pequeñas cantidades de muestras a intervalos cortos y midiendo la rapidez con la que estas coagulaban una solución de fibrinógeno. Un operador con destreza y buen adiestramiento requería alrededor de una hora-hombre de trabajo por curva, por lo que no es sorprendente que no se generalizó su uso en el laboratorio de coagulación y se aplicó poco en el diagnóstico clínico; sin embargo, demostró que era una herramienta valiosa de investigación; se utilizó para resolver el modo de acción de las heparinas y ayudó a desentrañar la interacción entre las plaquetas y el sistema de la coagulación. Así, fue evidente que a través del trombograma se podía obtener mucha información que de otra manera no era posible por lo que luego de varios desarrollos intermedios se generalizó la trombinografía automática calibrada, CAT por sus siglas del inglés Calibrated Automated Thrombogram.⁽¹⁾

Desarrollado por Hemker y otros,⁽⁶⁾ la CAT es un método fluorimétrico que cuantifica la cantidad de trombina que se genera en una muestra de plasma pobre en plaquetas (PPP) o plasma rico en plaquetas (PRP) después de la activación de la coagulación y se ha propuesto como una prueba de diagnóstico potencial para dilucidar el riesgo de hemorragia o trombosis en pacientes con o sin tratamiento anticoagulante.^(7,8)

En este ensayo se añade al plasma un sustrato fluorogénico específico de la trombina que al ser escindido por ella libera un producto fluorescente. El desarrollo de la fluorescencia en función del tiempo permitirá conocer la cinética de la generación de trombina; con la ayuda de un software se obtiene una curva denominada trombograma con varios parámetros que permiten medir la capacidad de un individuo para generar trombina mediante el análisis de variables, incluido el tiempo de retraso, la cantidad máxima de trombina generada y su tiempo correspondiente, así como el potencial endógeno de trombina (ETP) dado por el área bajo la curva^(9,10,11) (Fig.).

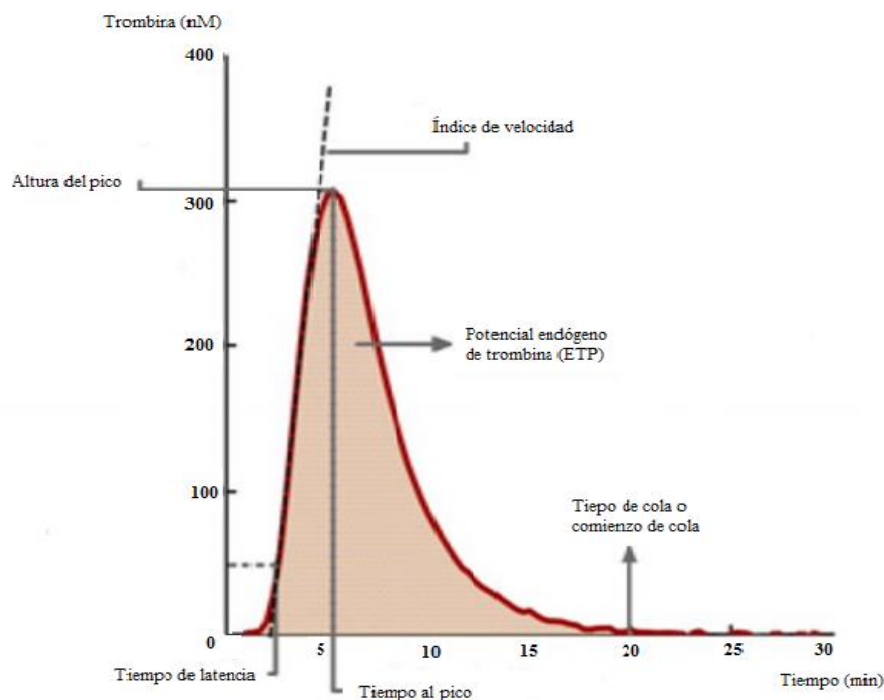


Fig. – Parámetros de la curva de generación de trombina utilizando la trombinografía automatizada calibrada (TAC).

La CAT tiene como objetivo evaluar de forma global el sistema hemostático por lo que sus resultados son más representativos del estado fisiológico, lo que puede reflejar mejor el fenotipo hemostático en comparación con las pruebas de rutina; por lo que la introducción de esta determinación en el laboratorio de Hemostasia del Instituto de Hematología e Inmunología se abren nuevas posibilidades para el diagnóstico, la terapia de control y la evaluación del riesgo de trastornos hemorrágicos y trombóticos, que exceden con mucho lo que antes era posible. La magnitud de estas posibilidades está lejos de ser explorada en su totalidad, por lo que el ensayo

de generación de trombina ofrece perspectivas muy interesantes en la investigación y diagnóstico clínico de la hemostasia en nuestra institución.

Referencias bibliográficas

1. Coenraad HH, Jaloma CAR. Tromboscopia calibrada automatizada en el estudio de los trastornos de la hemostasia. *Rev Hematol Mex.* 2012;13(1):25-31.
2. Lancé MD. A general review of major global coagulation assays: thrombelastography, thrombin generation test and clot waveform analysis. *Thromb J.* 2015;13:1. DOI: <https://10.1186/1477-9560-13-1>
3. Duarte RCF, Ferreira CN, Rios DRA, Reis HJD, Carvalho MDG. Thrombin generation assays for global evaluation of the hemostatic system: perspectives and limitations. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2017;39(3):259-65. DOI: <https://10.1016/j.bjhh.2017.03.009>
4. Lecut C, Peters P, Massion PB, Gothot A. Is there a place for thrombin generation assay in routine clinical laboratory? (Article in French). *Ann Biol Clin (Paris).* 2015;73(2):137-49. DOI: <https://10.1684/abc.2014.1018>
5. Pagano MB, Chandler WL. Thrombin Generation Assay: Are We Ready for Prime Time? *J App Lab Med.* 2:135-7. DOI: <https://10.1373/jalm.2017.024083>
6. Hemker HC, Al Dieri R, De Smedt E, Béguin S. Thrombin generation, a function test of the haemostatic-thrombotic system. *Thromb Haemost.* 2006;96(5):553-61.
7. Gómez Rosas P, Pesenti M, Verzeroli C, Giaccherini C, Russo L, Sarmiento R, *et al.* Validation of the Role of Thrombin Generation Potential by a Fully Automated System in the Identification of Breast Cancer Patients at High Risk of Disease Recurrence. *TH Open.* 2021;5(1):e56-e65. DOI: <https://10.1055/s-0040-1722609>
8. Zwaveling S, Bloemen S, de Laat B, Ten Cate H, Ten Cate-Hoek A. Calibrated Automated Thrombinography (CAT), a Tool to Identify Patients at Risk of Bleeding during Anticoagulant Therapy: A Systematic Review. *TH Open.* 2018;2(3):e291-e302. DOI: <https://10.1055/s-0038-1672183>
9. Wan J, Konings J, Yan Q, Kelchtermans H, Kremers R, de Laat B, Roest M. A novel assay for studying the involvement of blood cells in whole blood thrombin generation. *J Thromb Haemost.* 2020;18(6):1291-301. DOI: <https://10.1111/jth.14786>
10. Giesen PLA, Gulpen AJW, van Oerle R, Ten Cate H, Nagy M, Spronk HMH. Calibrated automated thrombogram II: removing barriers for thrombin generation measurements. *Thromb J.* 2021;19(1):60. DOI: <https://10.1186/s12959-021-00312-8>

11. Tan CW, Wong WH, Tan CK, Chan YH, Kaur H, Lee LH, Ng HJ. The Influence of Race on Plasma Thrombin Generation In Healthy Subjects In Singapore. Clin Appl Thromb Hemost. 2018;24(7):1144-7. DOI: <https://10.1177/1076029617744319>

Conflicto de intereses

Los autores no declaran conflicto de interés.

Contribuciones de los autores

Yaneth Zamora González: *concepción del artículo, búsqueda de información actualizada, redacción del borrador, revisión crítica de su contenido intelectual y aprobación final de la versión que va a publicarse.*

Maribel Tejeda González: *realizó aportes importantes a la idea de concebir el artículo, revisión crítica de su contenido intelectual y aprobación final de la versión que va a publicarse.*

Yaima Urrutia Febles: *realizó aportes a la concepción del artículo, revisión de su contenido intelectual y aprobación final de la versión que va a publicarse.*