



**Universidad de Concepción
Facultad Farmacia**

**PROYECTO DE MEJORAMIENTO DE LA DETECCION Y
MANEJO DE COAGULOPATIAS EN EL SERVICIO DE
ONCOHEMATOLOGIA PEDIATRICA DEL HOSPITAL
GUILLERMO GRANT BENAVENTE**

POR ALEJANDRA ISABEL RODRIGUEZ YEVENES

Trabajo de Investigación de Internado en Sector Salud presentado(a) en la
Facultad de Farmacia de la Universidad de Concepción para optar al título
profesional de Bioquímico

Profesor/ Profesional Patrocinante:

Doctor Eduardo Fernández Robles
Unidad de Oncopediatría
Facultad de Medicina
Hospital Guillermo Grant Benavente

Profesional Guía

BQ. Msc. Carlos Veas Barboa
Dpto. de Especialidades Médicas
Sección Anatomía Patológica
Facultad de Medicina

Profesor/ Profesional Co-Guía:

BQ. Msc. Casandra Jara Soto
Servicio Oncohematología Pediátrica
Hospital Guillermo Grant Benavente
Concepción

Marzo, año 2023
Concepción, Chile

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento.

Dedicado a mis Padres y Hermana que sin ellos nada
sería posible.

A los Bioquímicos Casandra y Carlos que me guiaron y
apoyaron en este trabajo

A los Doctores de Oncohematología Pediátrica que también
me apoyaron en esto

A todos los Bioquímicos que trabajan en Hospital Higuera y
los que ya no, por su tiempo y dedicación conmigo

Y por sobre todo a los que confiaron en mí y se
mantuvieron sin importar nada

Finalmente, una dedicación Honrosa a todas aquellas
escritoras que me han formado hasta aquí, a través de
sus palabras soy una mejor persona cada día

Gracias

TABLA DE CONTENIDOS

PORTADA.....	I
DEDICATORIA.....	III
INDICE DE TABLAS.....	VIII
INDICE DE ILUSTRACIONES.....	X
RESUMEN.....	XI
1. INTRODUCCION.....	11
1.1. Sistema Hemostatico.....	11
1.1.1. Hemostasia y Coagulación.....	11
1.1.2. Modelo Clásico de la Coagulación.....	13
1.1.3. Modelo Celular de la Coagulación.....	14
1.2. Coagulopatías.....	16
1.2.1. Coagulopatías Congénitas.....	16
1.2.1.1 Trastornos Congénitos Hemorrágicos.....	19
1.2.1.2. Trastornos Congénitos Trombóticos.....	21
1.2.2. Coagulopatías Adquiridas.....	22
1.3. Coagulopatías en la Región: Hospital Guillermo Grant Benavente.....	25
1.4. Servicio de Oncohematología Pediátrica.....	25
2. PROBLEMA DE INVESTIGACION.....	28
3. HIPOTESIS.....	28
4. OBJETIVOS.....	29
5. MATERIALES Y METODOS.....	30
5.1. Revisión Bibliográfica Contextualización Trastornos de Coagulación.....	30
5.1.1. Revisión Literatura a nivel Internacional.....	30
5.1.2. Revisión Literatura a nivel Nacional.....	36

5.1.3. Revisión de Literatura a nivel Regional y Local.....	37
5.2. Recolección Información: Cartera de exámenes sección de Hematología.....	38
5.3. Obtención de Brecha con la cartera actual del laboratorio de hematología.....	42
 6. RESULTADOS.....	 43
6.1. Contextualización de las Coagulopatías hereditarias y adquiridas en pacientes pediátricos menores de 15 años.....	43
6.1.1. Evaluación inicial del paciente pediátrico en el sistema de salud.....	43
6.1.2. Prevalencia de Hemofilia y Enfermedad de von Willebrand.....	48
6.1.3. Flujo pacientes atendidos en Servicio de Oncohematología Pediátrica.....	50
6.2. Resultados de la Revisión bibliográfica de los estudios necesarios para la detección y manejo de coagulopatías en pacientes menores de 15 años.....	52
6.2.1. Diagnostico Enfermedad de von Willebrand.....	53
6.2.1.1. Factor de von Willebrand.....	55
6.2.1.2. Tipos y subtipos de la enfermedad de von Willebrand.....	57
6.2.1.3. Algoritmo propuesto para el diagnóstico y Subtificación de Enfermedad de von Willebrand.....	63
6.2.1.4. Recomendaciones internacionales para el manejo de la Enfermedad de von Willebrand.....	67

6.2.2. Diagnóstico de Hemofilia.....	70
6.2.2.1. Tipos de Hemofilia y resultados posibles en el Laboratorio.....	72
6.2.2.2. Recomendaciones internacionales para el manejo de la Hemofilia.....	74
6.2.3. Trastornos congénitos de las plaquetas.....	76
6.2.3.1. Trastornos plaquetarios congénitos más frecuentes.....	77
6.2.3.2. Recomendaciones internacionales para el manejo de trastornos plaquetarios congénitos.....	79
6.3. Cartera Laboratorios a nivel nacional y regional.....	81
6.4. Cartera de estudios de laboratorio disponible actualmente en el laboratorio central del Hospital Guillermo Grant Benavente.....	84
6.5. Equipo analítico que ejecuta los estudios de coagulación y hemostasia en el laboratorio central del Hospital Guillermo Grant Benavente.....	86
6.5.1. Listado completo pruebas de Coagulación ACL TOP 350.....	87
6.5.2. Mediciones y métodos analíticos de cuantificación ACL TOP.....	88
6.6. Brechas en los estudios de coagulación y hemostasia disponibles en el laboratorio central del Hospital Guillermo Grant Benavente para el manejo y detección de coagulopatías en menores de 15 años.....	90

7. DISCUSION.....	92
8. CONCLUSION Y PROYECCIONES.....	95
9. GLOSARIO.....	96
10. BIBLIOGRAFIA.....	100
11. ANEXO 1	109

INDICE DE TABLAS

Tabla 1-1 Síntomas frecuentes en pacientes con trastornos de Hemostasia primaria y secundaria, solo se muestran trastornos que provocan estados hipo- coagulantes u hemorrágicos.....	18
Tabla 6-1 Resumen posibles etiologías de sangrados en niños y adolescentes menores de 15 años.....	45
Tabla 6-2 Coagulopatías Hereditarias que generan hemorragias.....	46
Tabla 6-3 Coagulopatías hereditarias que generan trombosis.....	47
Tabla 6-4 Casos a nivel nacional de trastornos congénitos registrados durante año 2020.....	49
Tabla 6-5 Resultados esperados en pacientes con Enfermedad de von Willebrand tipo 1.....	58
Tabla 6-6 Resultados esperados en paciente con Enfermedad de von Willebrand tipo 2A.....	59
Tabla 6-7 Resultados esperados en paciente con Enfermedad de von Willebrand tipo 2B.....	60
Tabla 6-8 Resultados esperados en paciente con Enfermedad de von Willebrand tipo 2M.....	61
Tabla 6-9 Resultados esperados en paciente con Enfermedad de von Willebrand tipo 2N.....	62

Tabla 6-10 Resultados esperados en paciente con Enfermedad de von Willebrand tipo 3.....	63
Tabla 6-11 Pruebas de Evaluación Inicial EvW.....	64
Tabla 6-12 Clasificación por Gravedad de la Hemofilia.....	72
Tabla 6-13 Resultados esperados en pacientes con Hemofilia A o B.....	73
Tabla 6-14 Resultados esperados en pacientes con Hemofilia A o B.....	74
Tabla 6-15 Resultados esperados en las pruebas de aglutinación y agregación plaquetaria.....	79
Tabla 6-16 Cartera de estudios en laboratorio del Hospital Roberto del Rio Sañartu.....	81
Tabla 6-17 Cartera de estudios en Laboratorio de la UC Christus.....	82
Tabla 6-18 Cartera de estudios en Laboratorio de Hospital Higuera.....	83
Tabla 6-19 Pruebas de Hemostasia y Coagulación en Sección Hematología (HGGB).....	85
Tabla 6-20, 6-21, 6-22 y 6-23 Listado completo pruebas de Coagulación ACL TOP 350.....	87

INDICE DE ILUSTRACIONES

Figura 1-1 Modelo Clásico-Cascada de Coagulación.....	14
Figura 1-2 Modelo Celular o <i>in vivo</i> de la Coagulación (Aceleración).....	15
Figura 1-3 Unión plaquetaria al subendotelio a través del Factor von Willebrand.....	19
Figura 5-1 Resultados arrojados búsqueda en <i>Pubmed</i>	31
Figura 5-2 Pagina web FMH.....	33
Figura 5-3 Pagina Institucional Hospital Guillermo Grant Benavente: Servicio y unidades clínicas.....	38
Figura 5-4 Listado de Estudios en Equipo ACL TOP 350.....	39
Figura 6-1 Flujo Pacientes pediátricos hacia Servicio Oncohematología Pediátrica.....	52
Figura 6-2 Estructura Molecular del Factor von Willebrand.....	56
Figura 6-3 Algoritmo para clasificar la enfermedad de von Willebrand.....	66
Figura 6-4 Equipo ACL TOP 350/500.....	86

RESUMEN

Este trabajo de investigación de internado en Salud tiene por objetivo la confección de una guía de recomendación con información técnica y científica acerca de los estudios de laboratorio que se recomiendan implementar en la Sección de Hematología del Hospital Guillermo Grant Benavente, debido a que su cartera actual de estudios es insuficiente para abordar de manera óptima el manejo y diagnóstico de Coagulopatías Hereditarias en los pacientes menores de 15 años del Servicio de Oncohematología Pediátrica. La metodología se basa en una búsqueda bibliográfica enfocada en identificar y analizar, las nuevas herramientas diagnósticas y recomendaciones científicas en cuanto a los exámenes de laboratorio necesarios para mejorar el manejo de Coagulopatías Hereditarias en pacientes con antecedentes de enfermedades Hematológicas Oncológicas y no Oncológicas. De acuerdo con los resultados de la revisión bibliográfica y la información obtenida desde el laboratorio clínico de este hospital, se pudieron identificar la brecha en los Estudios de Coagulación que son necesarios para abordar de manera completa el diagnóstico y manejo de Coagulopatías Hereditarias en los pacientes pediátricos provenientes del Servicio de Oncohematología Pediátrica de este Hospital. La implementación de estos exámenes mejoraría la oportunidad y calidad de la atención entregada en este Servicio Clínico, colaborando en entregar al menor mayor accesibilidad a la realización de pruebas de laboratorio especializadas y mayor efectividad de su tratamiento

1. INTRODUCCION

1.1. Sistema hemostático

1.1.1. Hemostasia y coagulación

La Hemostasia se define como la propiedad de la circulación de mantener estable a la sangre en condiciones fisiológicas y prevenir la pérdida de sangre frente a una injuria en los vasos sanguíneos (Cervera A.,2012). Para mantener el sistema circulatorio en equilibrio participan diferentes proteínas plasmáticas, endoteliales y subendoteliales, así como células y otros componentes no proteicos (ADP, serotonina, tromboxanos, etc.) que se activan cuando es necesario detener la pérdida de sangre o cuando es necesario detener el proceso de coagulación (Payne J, 2017).

Ante un daño de las células endoteliales que recubren los vasos sanguíneos se activan una serie de mecanismos que mantienen el equilibrio hemostático (Brown y Levy., 2019), entre ellas se encuentran:

1. Vasoconstricción
2. Hemostasia Primaria: Adhesión plaquetaria
3. Hemostasia Secundaria: Factores de la coagulación
4. Fibrinólisis
5. Restauración Vascular

Durante la Hemostasia primaria, la injuria del endotelio libera compuestos activadores plaquetarios produciendo la adhesión plaquetaria y su unión a la matriz subendotelial, en esta interacción la proteína clave es el Factor de Von Willebrand (VWF) (Goodeve y James., 2009).

En una primera instancia el tapón plaquetario es frágil y débil, por lo que a continuación debe activarse la cascada de coagulación (Hemostasia Secundaria) para formar un coagulo de fibrina en la zona dañada que refuerza el tapón plaquetario (Goodeve C, 2010). En esta etapa las proteínas claves son los factores de coagulación que circulan como zimógenos en la sangre (Grover y Mackman, 2019). Por último, durante la etapa fibrinolítica o de restauración, algunas proteínas degradan el coagulo de fibrina permitiendo la restauración del endotelio (Hajjar., 2014).

Como se mencionó anteriormente la Cascada de Coagulación, corresponde a una serie de reacciones bioquímicas en cadena, que tienen por objetivo la formación de fibrina a partir de fibrinógeno (Chapin JC et al., 2015). Por otro lado, en ciertas ocasiones pueden ocurrir alteraciones en el ADN, que afectan alguna de las proteínas que participan en el proceso, estas mutaciones llevan a enfermedades hemorrágicas graves cuyo tratamiento es la administración de la proteína normal a través de crioprecipitados que restituyan el factor ausente o anormal (Boender et al., 2016). El estudio de estas enfermedades hereditarias ha llevado a la comprensión de estas reacciones y a entender cuál es el papel que juega la Coagulación en la mantención de Hemostasia (Butenas y Mann., 2002):

Actualmente existen dos modelos que explican la activación de la Cascada de coagulación y los procesos posteriores a esta, una de ellas es el “modelo clásico de la Cascada de Coagulación” que se enfoca más que nada en describir como ocurre el proceso *in vitro*, (Triplett., 2000) en el tubo de ensayo y por otro lado tenemos, el nuevo modelo conocido como “Modelo Celular de la Coagulación” que se enfoca en describir la coagulación tal como podría ocurrir al interior de nuestro organismo o *in vivo* (Hoffman., 2003).

1.1.2. Modelo Clásico de la Cascada de Coagulación:

El modelo clásico lo podemos dividir en dos vías:

Vía Intrínseca: Esta vía se inicia por la interacción del colágeno o proteínas de carga negativa con el factor XII sobre una superficie de fosfolípidos. Es una vía de contacto y se evalúa a través de tiempo de tromboplastina parcial activado o TTPA. **(Figura 1.1)**

Vía Extrínseca: Esta vía se activa por la interacción del factor tisular con el factor VII de coagulación, los cuales se encuentran separados a través del endotelio y se evalúa a través del tiempo de protrombina o TP **(Figura 1-1)**

Modelo Clásico-Cascada de Coagulación

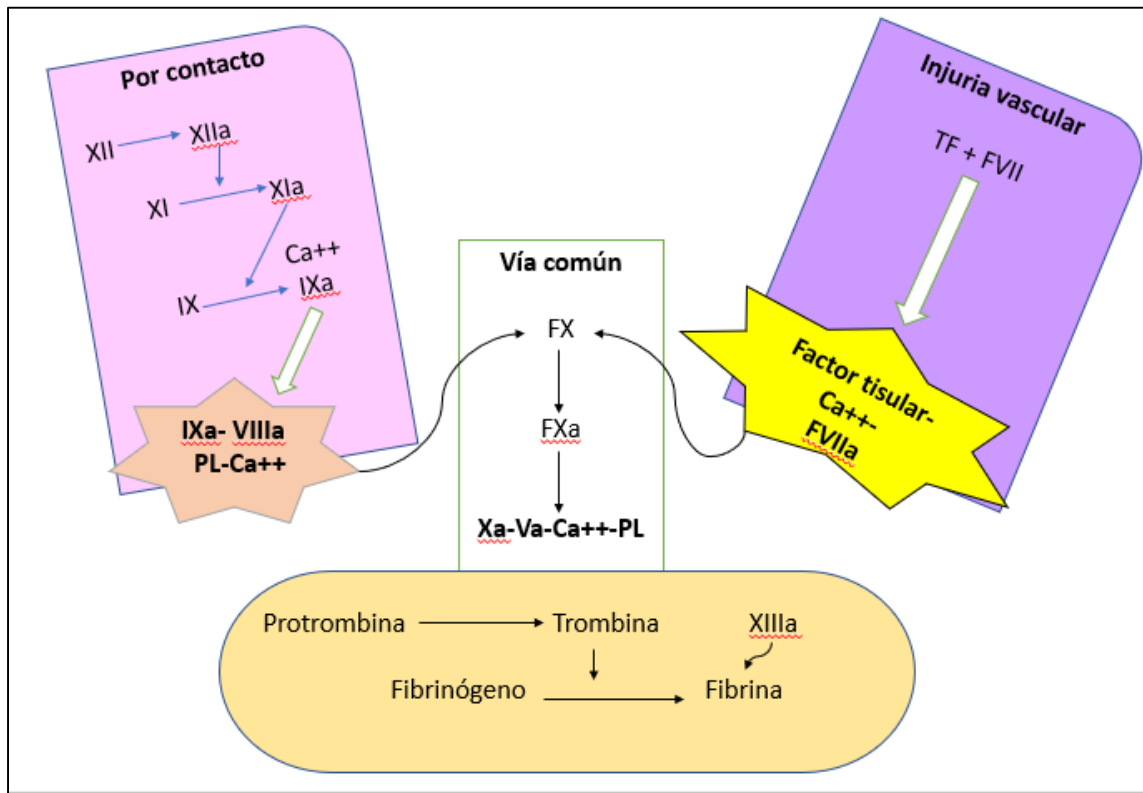


Figura 1-1: Esquema simplificado de la cascada de coagulación. Se muestran Vía Intrínseca, Vía Extrínseca y Vía común de la coagulación junto a los complejos enzimáticos finales de cada vía que permiten la producción final de fibrina. Modificado y traducido al español de: Mackenzie et al., (2015).

1.1.3. Modelo Celular de la Coagulación

El modelo Celular de la Coagulación, explica la participación de las células en el proceso. En ella se describe el rol de las plaquetas agregadas en el sitio del daño vascular, entregando una superficie de contacto estable de fosfolípidos que

permite el ensamblaje de los complejos enzimáticos (Ho K M y Pavey., 2017) que van a producir una red de fibrina sobre el coagulo primario (**Figura 1-2**). Este modelo describe como ocurre la coagulación in vivo, iniciándose con la exposición del factor tisular y su unión al FVII activado (Smith S, 2009). A continuación, le sigue un ciclo de amplificación que es provocado por la trombina generada en la etapa de iniciación. La fase de amplificación lleva a la aceleración de la cascada de coagulación y la formación del coagulo de fibrina final (Hoffman M, 2001). Las tres etapas se sobreponen una sobre otra y promueven el inicio de la siguiente, de esta manera se produce una cantidad de fibrina suficiente para detener el sangrado.

Modelo Celular o *in vivo* de la Coagulación (Etapa de Aceleración)

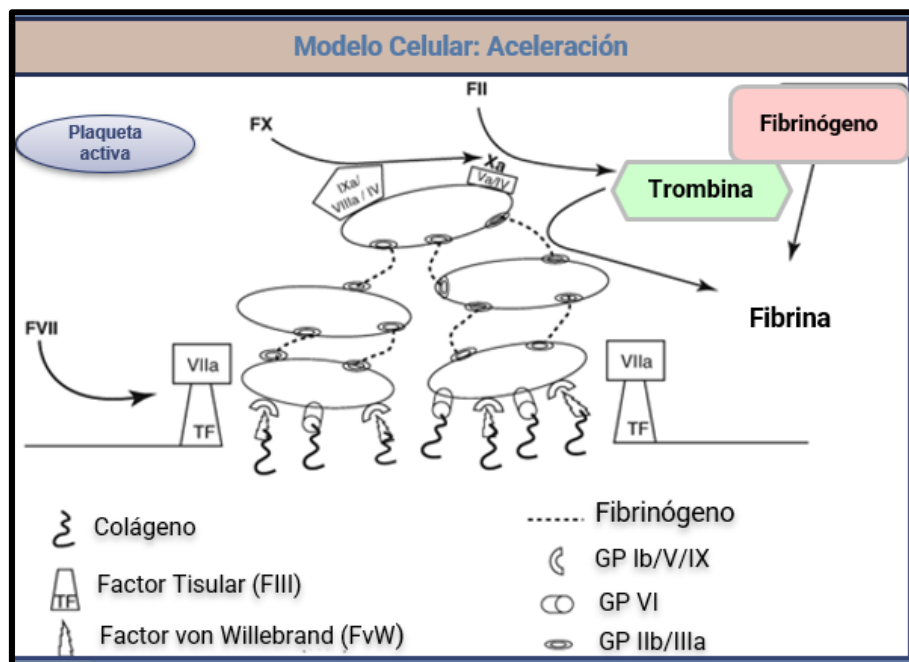


Figura 1-2: Se muestra en la figura la última etapa del modelo actual aceptado de la coagulación que corresponde a la Aceleración de la cascada de coagulación, las plaquetas ya agregadas sirven de superficie fosfolipídica para que se lleven a cabo las reacciones enzimáticas correspondientes. Modificado de Szumita et al., (2018)

Cuando se producen alteraciones en cualquiera de las etapas de la hemostasia se producen problemas de coagulación o Coagulopatías (Trachil, 2022). Estas pueden provocar diferentes manifestaciones trombóticas o hemorrágicas dependiendo del proceso hemostático que se vea afectado. Dependiendo del origen de la enfermedad las coagulopatías se pueden clasificar en hereditarias o adquiridas (Turtay M, 2010) y dependiendo de intensidad pueden ser menos o más graves.

1.2. Coagulopatías

1.2.1. Coagulopatías Congénitas

En general las coagulopatías hereditarias se deben a la ausencia o deficiencia de algún factor de la coagulación en específico (Neuenfeldt F et al., 2021), pero en algunos casos también se deben a alteraciones en la funcionalidad de las plaquetas, lo cual lleva a alteraciones de la Hemostasia primaria estos se conocen como alteraciones plaquetarias congénitas y entre ellas se encuentran: Síndrome de Bernard-Soulier, trombostenia de Glanzmann, Trombocitopenia

Amegacariocítica Congénita y el síndrome de plaquetas Gray (Nurden A, 2005). Es importante destacar que se pueden generar alteraciones hereditarias tanto en los factores procoagulantes como anticoagulantes, en este último caso impidiendo la inhibición coaguladora (sistema fibrinolítico) y promoviendo la trombosis, estos trastornos se conocen como Trombofilias Hereditarias (Dautaj A et al., 2019), sin embargo, estos casos suelen ser mucho menos frecuentes.

Los trastornos hereditarios de la Hemostasia secundaria pueden causar una alteración cuantitativa o cualitativa de las proteínas de coagulación (procoagulantes y anticoagulantes) (Napolitano M et al., 2010). La alteración entonces puede ser por un déficit o ausencia del factor en nuestra circulación o por la síntesis de una proteína no funcional o poco funcional. Es importante destacar que las pruebas de laboratorio que consideran tiempos de coagulación no pueden discernir entre trastornos cuantitativos (concentración) de los cualitativos (Función) de una proteína de la coagulación, ya que en ambos casos los tiempos se prolongan (Sato K et al., 2020).

En la siguiente tabla (**Tabla 1-1**) se pueden reconocer los principales síntomas que predominan en pacientes con coagulopatías que afectan la hemostasia primaria y la hemostasia secundaria.

Síntomas comunes de trastornos de Hemostasia Primaria y Secundaria

Síntomas comunes de trastornos de la Hemostasis Secundaria	Síntomas comunes en trastornos de Hemostasia primaria y secundaria
Sangrados tardíos	Equimosis
Sangrados musculares profundos	Sangrados gastrointestinales
Sangrado articular	Hematuria
	Hipermenorrea
	Sangrado gingival
	Sangrados intracraneales
	epistaxis

Tabla 1-1: Síntomas frecuentes en pacientes con trastornos de Hemostasia primaria y secundaria, solo se muestran trastornos que provocan estados hipo-coagulantes u hemorrágicos (Ghassemi y Jensen, 2013)

Las coagulopatías hereditarias de la Hemostasia secundaria más frecuentes son la Enfermedad de von Willebrand, Hemofilia A y Hemofilia B, representando la hemofilia A casi el 85% de los casos de hemofilia (MINSAL, Guía Clínica Hemofilia 2013). A continuación, se detallarán aspectos básicos con respecto a estos trastornos de la coagulación, tanto Hemorrágicos como trombóticos, de acuerdo con la revisión de literatura realizada.

1.2.1.1. Trastornos Congénitos Hemorrágicos

Enfermedad de von Willebrand (VWD): Corresponde a una deficiencia cuantitativa o cualitativa del factor de von Willebrand, debida a mutaciones en el gen que codifica esta proteína con una herencia de tipo autosómica dominante (Weyand y Flood, 2021). Esta proteína está encargada de la unión de la plaqueta a través de sus receptores GPIb y GPIIb-IIIa al colágeno subendotelial (**Figura 1-3**) en su forma multimérica (Ruggeri ZM, 1997), de esta manera las plaquetas activadas son incapaces de unirse o se unen con baja afinidad al colágeno impidiendo la generación de un coágulo primario estable y alteran la Hemostasia primaria (Nichols W y Ginsburg D, 1997).

Union plaquetaria al subendotelio a traves del Factor von Willebrand

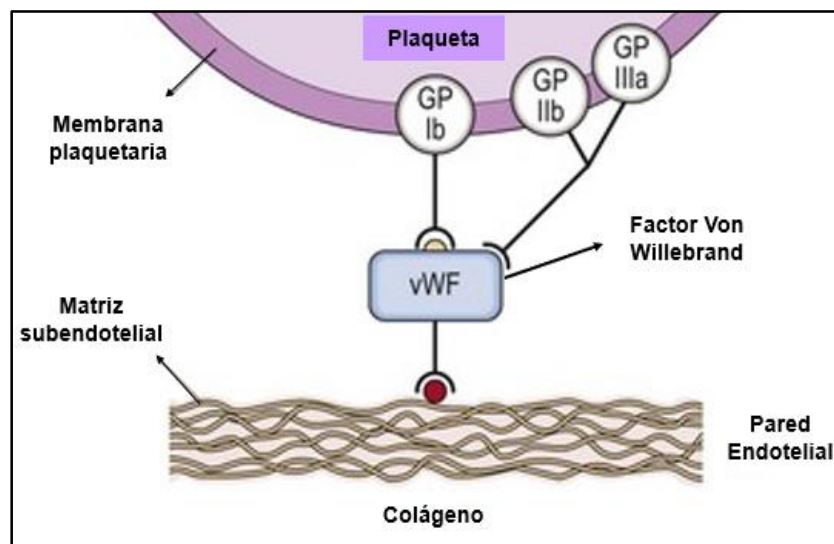


Figura 1-3: Se muestra en la imagen los receptores plaquetarios o glicoproteínas que se unen en diferentes sitios al FvW y luego al colágeno en la matriz subendotelial. Modificado del Artículo *Von Willebrand disease and other inherited coagulation disorders*, 2015 de OncoHemaKey.

Hemofilia A y B: Son trastornos hemorrágicos genéticos recesivos ligado al cromosoma X que causan déficit de ciertos factores de la coagulación. La Hemofilia A corresponde a una deficiencia del factor VIII, el cual es un cofactor de la coagulación (Ferreira Pio S et al., 2009). La Hemofilia B corresponde a una deficiencia del factor IX, el cual es una enzima de la coagulación (Serinas Proteasas) (Almeida-Porada,2021). Las mutaciones en ambos casos pueden ser heredados desde los padres, pero existe un 30% de los afectados que no presentan historia familiar de hemofilia indicando que son mutaciones que se producen “*de novo*” (Okaygoun et al., 2021).

La hemofilia A afecta alrededor de uno cada 5000 hombres, mientras que la Hemofilia B es menos frecuentes y afecta a uno de cada 30000 hombres en el mundo (Franchini M et al.,2012). El tratamiento de la hemofilia puede ser realizado en el hogar, a través de la administración intravenosa del factor deficiente en concentrados purificados (Aledort et al., 2019), estos concentrados también pueden requerirse en ciertas emergencias de sangrados o antes de realizar actividad física para evitar posibles hemorragias articulares que pueden llevar a

daño degenerativo de la articulación (Giordano P et al., 2013). Los pacientes durante el tratamiento pueden desarrollar inhibidores del producto administrado (anticuerpos) provocando que la terapia no sea efectiva (Huth-Kuhne A et al., 2009). La presencia de los anticuerpos se evalúa de acuerdo con el criterio Bethesda, en donde Una unidad Bethesda por mililitro es capaz de inhibir un 50% del FVIII o FIX (Rocha et al., 2015).

1.2.1.2. Trastornos Congénitos Trombóticos:

Resistencia a la proteína C activada: Es el trastorno congénito trombofílico más frecuente (Bertina et al., 1994). Es causada por una alteración genética en el FV o factor V de Leiden en donde se produce la incapacidad del factor V de Leiden de unirse a la proteína C activada y ser inhibido, generando un aumento en la producción de trombina y aumentando el riesgo de generar trombosis en los vasos sanguíneos (Van Cott et al., 2016). Es un trastorno autosómico dominante y se presenta entre un 3 a 8% de la población caucásica (europea) (Rosendorff et al., 2007). Los niños que presentan esta mutación no desarrollaran una trombosis a menos que tengan otro factor de riesgo.

Mutación G20210A de la Protrombina: Es causada por una sustitución nucleotídica de una G por una A en la posición 20210, en el gen que codifica a la protrombina (McGlennen y Key, 2002). Se genera un aumento de los niveles plasmáticos de protrombina lo cual aumenta el riesgo de padecer trombosis entre 3 a 5 veces el riesgo de la población normal a padecerla. Algunos estudios clínicos

en hospitales del país han encontrado una prevalencia similar entre un 5 y 6 % en la población consultada (Jadaon MM, 2011).

1.2.2. Coagulopatías Adquiridas

Los trastornos adquiridos de la coagulación son en su mayoría más frecuentes que los trastornos congénitos (Baglin, 2005). Estos pueden producirse cuando el paciente tiene otra enfermedad en donde más de un mecanismo fisiológico puede estar alterado. Las coagulopatías adquiridas se pueden clasificar de manera general en los siguientes cuatro grupos (Staudinger et al.,1996):

1. Coagulación Intravascular Diseminada
2. Fibrinogenólisis primaria
3. Deficiencia de Vitamina K
4. Inhibidores patológicos adquiridos

Coagulación Intravascular Diseminada (CID):

La Coagulación Intravascular diseminada (CID) ocurre en 1 de cada 1000 pacientes hospitalizados (Wada, 2014), es por lejos el trastorno adquirido de la coagulación más frecuente y tiene múltiples causas. Se define como un síndrome, pero no como una enfermedad ya que comúnmente se asocia a ciertas patologías subyacentes. En ella ocurre una activación sistémica de la coagulación que se propaga por los vasos sanguíneos y consume rápidamente los factores de la

coagulación, por lo cual los pacientes sufren de sangrados y trombos al mismo tiempo (Popescu et al., 2022). Se puede producir a cualquier edad, pero es más común en niños pequeños y adultos mayores.

Condiciones clínicas que pueden cursar con Coagulación Intravascular Diseminada (Kaneko y Wada, 2011)

- Infecciones bacterianas, fúngicas y virales
- Urgencia durante embarazo
- Tumores malignos
- Daño tisular masivo
- Daño vascular masivo
- Infarto cardiaco

Enfermedad Hemorrágica en el Recién Nacido:

Algunos Factores de coagulación requieren la adición final de un residuo carboxi-glutámico para ser funcionales, en esta modificación participa una enzima dependiente de vitamina k. Es debido a esto, que frente a un déficit de vitamina K se genera un déficit funcional de estos. Cuando los niveles de estos factores de coagulación están por debajo de 30 UI/dL se producen episodios de sangrados (Peyvandi et al.,2012). La deficiencia de vitamina K es más frecuente en recién nacidos y se le conoce como Enfermedad Hemorrágica del Recién Nacido, lo cual se debe a la inmadurez del hígado a esta etapa de la vida (Al-Zuhairy, 2021). Se puede presentar a los pocos días o incluso hasta los 6 a 8 meses de vida, sin embargo, en ambos casos se previene a través de la administración profiláctica de

vitamina K en el recién nacido. El objetivo de esto es evitar que ocurra cualquier emergencia hemorrágica del recién nacido como Hemorragias intracraneales que pueden requerir su drenaje quirúrgico o alteraciones neurológicas en los peores casos. Un poco más adelante en los niños se podría producir deficiencia de vitamina K por síndromes de mala absorción o terapia continua con antibióticos de amplio espectro ().

Trombocitopenia Autoinmune o Purpura Trombocitopénica Inmune

Dentro de los trastornos de coagulación debido a inhibidores adquiridos, se encuentra la Trombocitopenia autoinmune o Purpura Trombocitopénica inmune (ITP), la cual afecta la hemostasia primaria. Sus características clínicas son diferentes en los niños, en los cuales es menos frecuente y donde el 85% de estos remiten en poco tiempo después de iniciado (Rodeghiero, 2009). Se presenta con mayor frecuencia a los 3 a 5 años luego de haber sufrido una infección viral, y tiende a manifestarse con Linfocitosis y Eosinofilia (Terrel et al., 2010).

La mayoría de las coagulopatías adquiridas en los pacientes puede reconocerse de manera inicial a través de las pruebas de cribado como tiempo de protrombina, tiempo de tromboplastina parcial activada y recuento de plaquetas (Greaves y Watson, 2007), más adelante es necesario realizar un seguimiento a través de la cuantificación de Dímero-D, Productos de Degradación de Fibrina (PDFs) y recuento de plaquetas (Ruiz-Argüelles y Gómez-Almaguer, 2021).

1.3. Atención de pacientes con Coagulopatías en la Región: Hospital Guillermo Grant Benavente

El hospital Guillermo Grant Benavente (HGGB) es un establecimiento de salud de alta complejidad que atiende a pacientes adultos y pediátricos de la Macro red Sur del país. Cuenta actualmente con Servicios Clínicos de atención Cerrada y abierta junto con las Unidades de apoyo Clínico Terapéutico, Unidades de apoyo Clínico al diagnóstico y Unidades de apoyo administrativos. Dentro de las Unidades de apoyo clínico se encuentra el Laboratorio Clínico del Hospital o Laboratorio Central que cuenta con las siguientes secciones: Laboratorio de Urgencias, Inmunología, Química Clínica, Microbiología y Biología Molecular, Citogenética y Hematología. Su principal objetivo es el apoyo al diagnóstico de las diversas patologías de su población objetivo a través de la realización de diversas pruebas de laboratorio tanto de rutina como especializadas.

1.4. Servicio de Oncohematología Pediátrica

Dentro de la red de servicios Clínicos del Hospital Guillermo Gran Benavente se encuentra el Servicio de Oncohematología Pediátrica; unidad especializada encargada de la atención de más de 600 niños menores de 15 años anuales, de todas las comunas de la Macro Red-Sur.

Sus procesos son de atención abierta (policlínico y unidad quimioterapia ambulatoria) y cerrada (área Hospitalizados); relacionados al diagnóstico, tratamiento, manejo dolor, cuidados paliativos, control TPH, salud dental, control

de infecciones, entre otros, de Patologías Hematológicas Oncológicas y No Oncológicas.

Entre las neoplasias hematológicas se encuentran las leucemias agudas y crónicas, linfomas (Linfoma de Hodgkin y Linfoma no Hoodgkin), síndromes Mielodisplásicos y mieloproliferativas. Entre las enfermedades hematológicas no oncológicas podemos encontrar patologías de glóbulos rojos (anemias hemolíticas congénitas y adquiridas, anemias sideroblásticas, entre otras); alteraciones cualitativas y cuantitativas de glóbulos blancos (Insuficiencias medulares), enfermedades de los depósitos lisosomales o del sistema fagocítico, inmunodeficiencias o relacionadas con las alteraciones de la inmunidad y los trastornos de la coagulación que incluye enfermedades de las plaquetas o que involucran a los factores de la coagulación (estados hemorrágico y trombótico).

Estos últimos pacientes representan un grupo de menores que requieren la realización de exámenes de mayor complejidad para poder realizar la detección de la causa de la coagulopatía y por otro lado realizar el seguimiento de la enfermedad. Para la atención de sus pacientes, Oncohematología Pediátrica requiere contar con estrategias de diagnóstico en patologías que afectan a la hemostasia, es por esto, que el laboratorio central realiza tanto pruebas de rutina como específicas. Para pacientes con eventos trombóticos, la sección de hematología y biología molecular posee una amplia cartera de estudios necesarios para un diagnóstico oportuno de estas alteraciones. Sin embargo, en el caso de las coagulopatías congénitas, las alteraciones en la coagulación y las situaciones clínicas derivadas de estos procesos suponen en muchas ocasiones un problema

de difícil diagnóstico, fundamentalmente por la urgencia que crea tanto en el paciente como en el médico la existencia de manifestaciones hemorrágicas. Es necesario un certero y oportuno diagnóstico, así como la necesidad de una continua mejora, por este motivo, se presenta la propuesta de realizar un levantamiento de información que recabe aquellos exámenes que son necesarios para el completo diagnóstico de Coagulopatías Hereditarias y la identificación de las brechas que pudieran existir en la sección de Hematología (laboratorio central). Cabe destacar que esta Revisión de la Literatura se enfocara en abordar solo las Coagulopatías Hereditarias ya que se pudo contactar que actualmente el laboratorio clínico cuenta con los exámenes necesarios para abordar las Coagulopatías Adquiridas, que, aunque son más frecuentes que las primeras, pueden ser manejadas con la cartera de pruebas de Coagulación actual.

Con la información recabada desde la literatura acerca de las coagulopatías hereditarias y tomando en consideración el Coagulómetro (*ACL TOP WARFEN*) que se encuentra en la sección de Hematología del Laboratorio Clínico se redactara una guía de recomendación que sirva como base de conocimiento acerca de los estudios que son necesarios para poder diagnosticar y manejar de mejor manera las Coagulopatías Hereditarias en los pacientes del Servicio de Oncohematología Pediátrica de este Hospital.

2. PROBLEMA DE INVESTIGACION

Para realizar un completo Diagnostico y Manejo de Coagulopatías Hereditarias en el Servicio de Oncohematología Pediátrica es necesario contar con la Información acerca de aquellos estudios que son necesarios para abordar de mejor manera estas patologías a través de pruebas especializadas de Coagulación y Hemostasia.

3. HIPOTESIS

La cartera actual de estudios de coagulación en la Sección de hematología del Laboratorio Clínico del Hospital Guillermo Grant Benavente es todavía insuficiente para dar el mejor diagnóstico y manejo de Coagulopatías Hereditarias a los Pacientes del Servicio de Oncohematología Pediátrica.

4. OBJETIVOS

Objetivo General

Redactar una Guía de recomendación a partir de una revisión bibliográfica con información técnica y científica acerca de las pruebas de coagulación especializadas necesarias para el manejo y la detección de Coagulopatías Hereditarias en el Servicio de Oncohematología Pediátrica, que sirva como base de consulta para los profesionales de este servicio.

Objetivos Específicos

- 1.** Levantar información de la literatura científica para contextualizar las Coagulopatías hereditarias en pacientes pediátricos.
- 2.** Investigar y analizar la cartera de estudios de coagulación en la sección de hematología del Laboratorio clínico de este hospital.
- 3.** Redactar una guía de recomendación con los estudios necesarios para mejorar el diagnóstico y manejo de coagulopatías hereditarias en el Servicio de Oncohematología Pediátrica

5. MATERIALES Y METODOS

5.1. Revisión Bibliográfica para la contextualización de los Trastornos de Coagulación hereditarios y adquiridos.

Para llevar a cabo la revisión de la literatura existente y describir el contexto clínico de estos trastornos, enfocándose en el tema principal de este trabajo que son las Coagulopatías Hereditarias, se realizaron las siguientes actividades:

En primera instancia se realizó una revisión a nivel internacional de la literatura en publicaciones científicas y Guías clínicas de sociedades científicas internacionales. Posteriormente se analizó la literatura a nivel nacional y la cartera de estudios de coagulación y hemostasia que existen en otros laboratorios a nivel regional y local.

5.1.1. Revisión de Literatura a nivel Internacional: Coagulopatías Hereditarias

1) Revisión en *Pubmed*

a) Diseño de la Revisión

Se planteó en primer lugar como método principal de obtención de información realizar una búsqueda bibliográfica basada en la utilización de las siguientes palabras claves en inglés: Trastornos congénitos de coagulación, Coagulopatías en Niños y Coagulopatías Hereditarias.

b) Estrategia de Búsqueda

Debido a la cantidad de información y para reducir el número de publicaciones duplicadas solo se utilizó la base *Pubmed*, desde la cual se obtuvieron:

Congenital coagulation disorders: 680 resultados

Coagulopathy in children: 3352 resultados

Inherited coagulopathy: 299 resultados

(Figura 5-1)

Resultados arrojados en búsqueda por la base de datos *Pubmed*

History and Search Details						 Download  Delete	
Search	Actions	Details	Query	Results	Time		
#10	...	>	Search: congenital coagulation disorders AND (ffrft[Filter]) Filters: Free full text, from 2010 - 2023	680	16:44:08		
#8	...	>	Search: coagulopathy children Filters: Free full text, from 2010 - 2023	3,352	16:42:30		
#5	...	>	Search: hereditary coagulopathy Filters: Free full text, from 2010 - 2023	299	16:40:24		

Showing 1 to 3 of 3 entries

Figura 5-1: Se muestra el historial de búsqueda obtenido con las palabras claves indicadas arriba con respecto a la búsqueda en la base Pubmed

c) Criterios de Inclusión y Exclusión:

Se descartaron todas aquellas publicaciones que no estaban disponibles en texto completo y que eran anteriores al año 2010. Se descartaron aquellas publicaciones relacionadas a Coagulopatías Adquiridas y cuyo tema no estaba enfocado en Coagulopatías Hereditarias. Finalmente se incluyen todas las fuentes seleccionadas en el apartado de la Bibliografía.

2) Revisión de las Guías Clínicas de la Federación Mundial de Hemofilia: Coagulopatías Hereditarias

La información obtenida acerca de la Cartera de Estudios necesaria para el manejo y la detección optima en el laboratorio clínico de Coagulopatías se obtuvo desde una única fuente de información que correspondió a la registradas en las Guías Clínicas de manejo y tratamiento de Hemofilia, Enfermedad de von Willebrand y Trastornos hereditarios de las plaquetas de la Federación Mundial de Hemofilia: wfh.org (Figura 5-2).

La federación mundial de hemofilia es una organización sin fines de lucro dedicada a mejorar y preservar la atención para personas con trastornos de coagulación hereditarios en todo el mundo. Fue fundada en 1963 por Frank Schnabel quien padecía de Hemofilia A grave y actualmente está conformada por una red mundial de organizaciones nacionales miembros (ONM) pertenecientes a 147 naciones.

Página Web Federación Mundial de Hemofilia

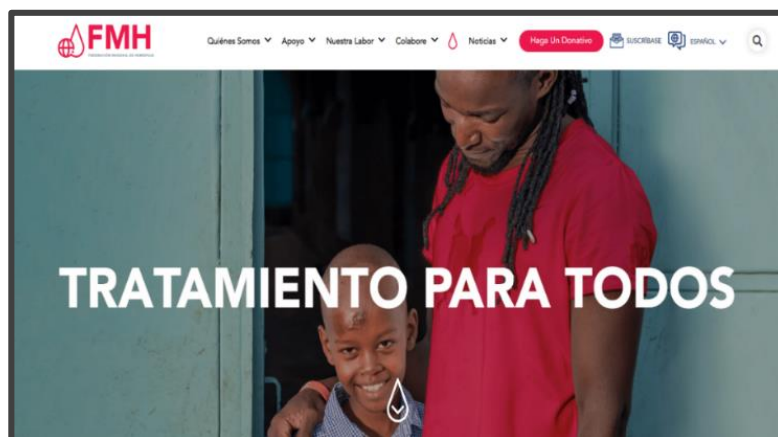


Figura 5-2: Pagina Web oficial de la Federación Mundial de Hemofilia (FMH) en su versión en español

En su página web se encuentran disponibles todas las conferencias realizadas a la fecha con respecto a actualización para el manejo de esta enfermedad y tienen disponibles gratuitamente a la comunidad médica las guías de manejo y tratamiento de trastornos congénitos de la coagulación. La información se seleccionó a partir de las siguientes tres guías:

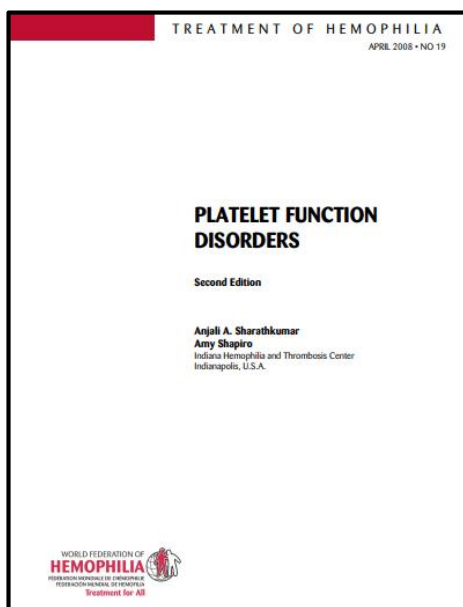
I) Guía Diagnostico y Caracterización Fenotípica de la Enfermedad de von Willebrand (diciembre 2017, N° 55)



II) Guía para el Manejo de la Hemofilia, Tercera Edición (Srivastava A et al., WFH), federación Mundial de Hemofilia.



III) Guía para el manejo de trastornos de la función plaquetaria, (Anjali A y Shapiro A 2009), Federación Mundial de Hemofilia (WFH)



a) Criterios de Selección:

En cada una de las guías se describe primero de manera general las características de la Coagulopatía hereditaria y a continuación se indican y describen las pruebas de laboratorio que existen actualmente validadas en distintas plataformas para el diagnóstico y clasificación de la patología. Se seleccionaron las pruebas de laboratorio que se indican en la sección **Resultados 6-6** para incluir en la guía de recomendación. Estas pruebas fueron seleccionadas tomando en cuenta la gama de estudios que se pueden realizar en el Coagulómetro de la sección de Hematología (ACL TOP 350) pero que no están aún implementadas en el laboratorio y aquellos estudios de coagulación que de

acuerdo con las guías de la FMH (*World Federation of Hemophilia*) son necesarios para diagnosticar y clasificar el trastorno de coagulación. El conjunto de estudios de rutina y especializadas que puede realizar el Coagulómetro ACL TOP también se detalla en la sección de resultados. Estos criterios de selección se aplicaron tanto para el diagnóstico y manejo de la Enfermedad de von Willebrand, Hemofilia y Trastornos plaquetarios congénitos.

5.1.2. Revisión de Literatura a nivel Nacional; Coagulopatías Hereditarias

1) Revisión de Guías Clínicas: Ministerios de Salud (MINSAL)

A nivel nacional se revisaron las guías clínicas que ha diseñado el MINSAL con respecto a Coagulopatías Hereditarias.

Actualmente debido a que solo la Hemofilia es considerada dentro de las Patología AUGE o GES, solo existe la Guía Clínica de Hemofilia del año 2013 (MINSAL, 2013), la cual fue consultada para analizar la información existente en el país en el contexto de los estudios recomendados para el diagnóstico y manejo de estas patología a nivel secundario y terciario de salud, en base a lo que se realiza en el sector público (Centro de referencia nacional: Hospital de Niños Roberto del Rio) y Sector privado (Red de Salud UC Christus de la PUC). Dentro de las Guías Clínicas no GES, no existen disponibles guías para el manejo de Enfermedad de von Willebrand ni trastornos plaquetarios congénitos ya que no están cubierta por este sistema.

5.1.3. Revisión de Literatura a nivel Regional y Local

A nivel regional y local, se recopiló información de los estudios de laboratorio de mayor complejidad que disponen otros centros de laboratorios:

I) A nivel regional se consultó la cartera de estudios del Hospital Higuera de Talcahuano, el cual a través de su centro de responsabilidad de apoyo al diagnóstico cuenta con una amplia cartera de estudios específicos para coagulopatías. Esta cartera se obtuvo desde la información publicada en su página web institucional: <https://www.hospitalashiguera.cl/>

II) A nivel local se recopiló información desde la página web del Hospital Guillermo Grant Benavente: hospitalregional.cl, con respecto a sus Unidades y Servicios Clínicos, y Unidades de apoyo diagnóstico y terapéutico (Laboratorio Clínico Central) **(Figura 5-3)**. Adicionalmente se utilizaron documentos de los procedimientos de análisis de las pruebas de coagulación que se realizan en la sección de Hematología en el Laboratorio Clínico, que son redactadas por los encargados de sección y revisadas por los Encargados de Calidad y director técnico del Laboratorio Clínico del Hospital y que están disponibles también desde su plataforma institucional.

Unidades y Servicios Clínicos



Figura 5-3: Se muestra una foto tomada de la página institucional del Hospital Guillermo Grant Benavente, a la cual se ingresó para este trabajo.

5.2. Recolección de información con respecto a la cartera de exámenes en la sección de Hematología

La Cartera de estudios que hay disponible en la sección de hematología para el estudio de los Trastornos de coagulación, se obtuvo a partir de la información recopilada durante el periodo de rotación por la sección de Hematología en el

Laboratorio Clínico, en el contexto de mi internado en Salud. Durante esta rotación se pudo conocer el equipo de Coagulación que está disponible en la sección y que tiene capacidad para realizar exámenes de rutina y específicos, conocido como Coagulómetro ACL TOP (Figura 5-4)

Listado completo de estudios de laboratorio que puede ejecutarse en el Coagulómetro ACL TOP 350-500 y 7000

General Screening and Anticoagulant Testing PT RecombiPlasTin® 2G • ReadiPlasTin® APTT • Synth ASil® • SynthAFax® • APTT-SP Fibrinogen Clauss Fib-C Q.F.A. Thrombin UF/LMW Heparin • Liquid Anti-Xa [1 stage] Heparin [2 stage] DOACs Dabigatran [DTI]* • Rivaroxaban [Liquid Anti-Xa]* • Apixaban [Liquid Anti-Xa] Other Thrombin Time INR Validate ISI Calibrate	D-Dimer • D-Dimer HS 500 D-Dimer 500* D-Dimer HS D-Dimer • D-Dimer HS 2000* • AcuStar D-Dimer Antiphospholipid Syndrome • Silica Clotting Time dRVVT Screen dRVVT Confirm • AcuStar aCL IgG • AcuStar aCL IgM • AcuStar aβ2GPI IgG • AcuStar aβ2GPI IgM AcuStar aβ2GPI Domain 1* Heparin-Induced Thrombocytopenia • HIT-Ab _(PF4-H) • AcuStar HIT-IgG _(PF4-H) Thrombotic Thrombocytopenic Purpura AcuStar ADAMTS13 Activity*	von Willebrand Disease • VWF Antigen VWF Activity • VWF Ristocetin Cofactor Activity* • AcuStar VWF Antigen* • AcuStar Ristocetin Cofactor Activity* • AcuStar VWF CB* Fibrin Formation and Degradation • FDP* Plasminogen Plasmin Inhibitor Thrombophilia • Liquid Antithrombin Protein C [Chromogenic] Protein C [Clotting] Free Protein S [Antigenic] Protein S Activity [Clotting] FV Leiden [APC-R V] Homocysteine • Xpert Hemosll® FII & FV Coagulation Factors Intrinsic Factors Extrinsic Factors • FXIII Antigen
--	---	--

Figura 5-4: Se muestra el portafolio completo de estudios de coagulación de rutina o screening y específicas por trastorno, que pueden ser implementados en el

Coagulómetro ACL TOP. Obtenido de:
<https://www.werfen.com/na/en/hemostasis/hemosil-reagents>

Adicionalmente a esto también se utilizaron, como había indicado en el punto anterior, documentos técnicos del laboratorio diseñados para la unidad de calidad del laboratorio Clínico que describen el funcionamiento de estos estudios.

Dado que el Hospital Guillermo Grant Benavente cuenta con una unidad de calidad y atención al cliente, cada servicio clínico debe contar con la descripción de la cartera de servicios y los procesos de calidad asociados. En este contexto es que el laboratorio central del Hospital también cuenta con estas guías normativas que reflejan los estándares de calidad de los procesos técnicos asistenciales. De esta Manera se usaron los siguientes documentos como fuentes de información:

Procedimientos del Laboratorio Clínico, Sección de Hematología

	HOSPITAL GUILLERMO GRANT BENAVENTE UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO SECCIÓN HEMATOLOGÍA	Código:	APL-PR-HE-009
		Fecha emisión:	01/06/2019
		Edición:	1
		Fecha vigencia:	01/06/2024
PROCEDIMIENTO ANÁLISIS DE PRUEBAS DE COAGULACIÓN Y HEMOSTASIA		Página 1 de 9	

- OBJETIVO**
 Documentar el procedimiento de análisis de pruebas de coagulación y hemostasia automatizados, de manera rápida, confiable y oportuna. Dentro de estas pruebas se incluyen Tiempo de Protrombina, Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada, Fibrinógeno, Dímero-D, Factor V, Factor VII, Factor VIII, Factor IX, Factor Von Willebrand, Antitrombina III, Proteína C Activada y Proteína S.
- CAMPO DE APLICACIÓN Y ALCANCE**
 Muestras de sangre con anticoagulante Citrato de Sodio, de pacientes adultos y pediátricos, provenientes de atención cerrada, abierta HGGB y Establecimientos de la Red.
- FUNDAMENTO**
 - Tiempo de protrombina**
 El proceso de coagulación se desencadena mediante la incubación del plasma con cantidades óptimas de tromboplastina y calcio. Se mide el tiempo transcurrido hasta la formación del coágulo de fibrina.
 - Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada**
 La incubación del plasma con cantidades óptimas de fosfolípidos y un activador de superficie conduce a una activación de los factores del sistema endógeno de la coagulación. Mediante la adición de iones calcio se desencadena el proceso de coagulación. Se mide el tiempo transcurrido hasta la formación de un coágulo de fibrina.
 - Fibrinógeno**
 El plasma citratado se va a llevar a coagulación agregando una cantidad en exceso de trombina. El tiempo de coagulación depende, en este caso, además del contenido de fibrinógeno en la muestra.
 - Dímero-D**
 Las partículas de poliestireno recubiertas covalentemente de un anticuerpo monoclonal, se agregan al mezclarse con muestras que contienen Dímero D. La región de entrecruzamiento del Dímero D tiene una estructura estereoesimétrica, es decir, el epítopo del anticuerpo monoclonal, tiene dos sitios de enlace, por consiguiente, un anticuerpo es suficiente para disparar una reacción de agregación, la cual, se detecta a continuación turbidimétricamente a partir del aumento de la turbidez.
 - Factor V**
 La incubación del Factor V Deficient con plasma del paciente diluido y una tromboplastina provoca la activación de los factores del sistema de coagulación extrínseco. El tiempo se mide desde la adición de la tromboplastina hasta la formación de un coágulo de fibrina.

COPIA CONTROLADA

Elaborado por:  SQ. Pedro Luis Espinoza Encargado Sección Hematología Laboratorio Clínico HGGB	Revisado por:  SQ. Laura Riquelme Pérez Encargada de Calidad Laboratorio Clínico HGGB	Aprobado por:  SQ. Roberto Vega Montañeros Director Técnico Laboratorio Clínico HGGB
Fecha: 01/06/2019	Fecha: 01/06/2019	Fecha: 01/06/2019

Procedimiento análisis de pruebas de Coagulación y Hemostasia Hospital Guillermo Grant Benavente Unidad de Laboratorio Clínico Sección de Hematología

		HOSPITAL CLÍNICO REGIONAL DR. GUILLERMO GRANT BENAVENTE SUB DIRECCIÓN MÉDICA UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO		Código: APL-RG-DT-023
				Fecha emisión: 22-11-2019
				Edición: 5
				Fecha vigencia: 22-11-2024
				Página 1 de 7
FORMULARIO IMPLEMENTACIÓN DE NUEVOS EXÁMENES				
SECCIÓN:		HEMATOLOGÍA		
FECHA IMPLEMENTACIÓN:		30-05-2022		
LISTA DE EXÁMENES				
1. Anticoagulante Lúpico 2. Anticuerpos anti Factor Plaquetario 4 3. Anti Factor Xa 4. Factor II 5. Factor V 6. Factor X 7. Factor XI 8. Factor XII 9. Factor Von Willebrand actividad 10. Factor Von Willebrand antigénico 11. Homocisteína 12. Proteína C 13. Proteína S 14. Resistencia a la proteína C activada				
Nota: Los nuevos exámenes implementados serán incorporados al Manual de Toma de Muestras en su próxima edición.				
Elabrado por:  B.G. Laura Riquelme Pérez Encargada de Calidad y Seguridad del Laboratorio Clínico H.G.B.		Revisado por:  B.G. Laura Riquelme Pérez Encargada de Calidad y Seguridad del Laboratorio Clínico H.G.B.		
Fecha: 30-05-2022		Fecha: 30-05-2022		Fecha: 30-05-2022

Formulario Implementación Nuevos exámenes
Hospital Guillermo Grant Benavente
Subdirección Médica
Unidad de Laboratorio Clínico

5.3. Metodología para la obtención de la brecha en la cartera actual del laboratorio de Hematología

Las brechas en la cartera de estudios de Coagulación para el manejo y detección de Coagulopatías Hereditarias se obtuvieron comparando aquellos estudios que son necesarios para clasificar la Coagulopatías Hereditarias recopilados en la

revisión bibliográfica (Sección resultados), con los que están en la sección de Hematología disponibles. La cartera de estudios que está disponible en la sección de Hematología se obtuvo a través de la estadía que tuve durante mi internado en Salud realizado en la sección de Hematología. Los estudios que son necesarios pero que no se encuentran en el laboratorio corresponden a la brecha encontrada en la cartera actual.

Aunque en la actualidad hay una amplia gama de estudios de laboratorio de Coagulación modernos y versátiles., se seleccionaron aquellas pruebas que son fundamentales para el diagnóstico de la patología y aquellos que podían ser implementados en el mismo Coagulómetro del Laboratorio, todo esto con el objetivo de que se optimicen los recursos del laboratorio, tomando en cuenta que este equipo es uno de los analizadores más completos del mercado, con altos estándares de operatividad y funcionalidad para cubrir las necesidades de un hospital de alta complejidad como es el Hospital Guillermo Grant Benavente. Otros estudios se seleccionaron ya que son importantes por la información clínica que entregan al diagnóstico y manejo de coagulopatías hereditarias en niños y adolescentes.

6. RESULTADOS

6.1. Contextualización de los Trastornos de Coagulación hereditarios y adquiridos.

6.1.1. Evaluación inicial del paciente pediátrico en el sistema de salud.

A partir de la búsqueda Bibliográfica realizada en las fuentes indicadas en la sección de Materiales y Métodos se recabo lo siguiente:

Es relativamente frecuente en los servicios de salud, las consultas debido a sangrados sin explicación aparente en los niños y adolescentes pudiendo llegar a ser un gran desafío en los centros de emergencia, por lo tanto, es de gran relevancia poder distinguir en el paciente los sangrados “normales” de los “anormales” (Doherty et al., 2022). De acuerdo con residentes de Medicina Familiar de la Universidad Católica: “Un 30% de los menores de cinco años ya ha tenido al menos un episodio de epistaxis en su vida, cifra que aumenta a un 64% en los adolescentes “(Nicolaidis y Rojas, 2019). Aquellos niños y adolescentes que no presentan antecedentes causales claros de sangrados deben derivarse a servicios especializados de hematología pediátrica en donde se les puedan realizar exámenes de mayor especificidad y complejidad (Record S, 2015)

Con respecto a cómo debemos evaluar a un niño con estas características en la atención primaria, se debe poner especial atención en los siguientes puntos:

a.- Edad

b.- Sexo del menor

c.- Historia clínica general: signos y síntomas (enfermedades anteriores)

d.- Fármacos que pueden ocasionar sangrados

e.- Antecedentes familiares de sangrado

f.- Antecedentes anteriores del sangrado

g.- Hallazgos en examen físico: Moretones, sangrados intestinal, dolor articular, petequias, epistaxis, etc.

Una vez que se ha revisado toda la información recabada (Monteagudo et al., 2019), se debe pasar a determinar de manera preliminar la causa más probable del sangrado para poder continuar con derivaciones a especialistas y/o tratar la emergencia de inmediato. Algunas de las etiologías posibles son muy frecuentes entre los niños y mujeres adolescentes con sangrados menstruales excesivos (Ramalho et al., 2021), sin embargo, es importante reconocer aquellos hallazgos inusuales del menor y que sobresalen de los síntomas y signos clásicos, para así realizar un buen manejo y diagnóstico de coagulopatías adquiridas y hereditarias (Nicolaidis y Rojas, 2019) A continuación, se presenta una tabla (**Tabla 6-1**) que muestra las diferentes causas que pueden generar sangrados en los pequeños, asociadas a las posibles etiologías.

Resumen posibles etiologías de sangrados en niños y adolescentes menores de
15 años

Clasificación Posible Etiología	Causas
Traumatismo	Rascados nasales
	Golpe facial
	Perforación septal
Inflamación/ Agentes infecciosos	IRAS (Infecciones de vía respiratoria superior)
	Renitis Alérgica
	Sinusitis
	Cuerpos extraños
	Vasculitis
	Pólipos Nasales
Tumores/Neoplasias	Rabdosarcoma cabeza y cuello
	Fibroangioma nasofaríngeo
Drogas y fármacos	Anticoagulantes
	Corticoides
Trastornos Hematológicos	Neoplasias Hematológicas
	Linfomas
	Síndromes Mielodisplásicos
Coagulopatías (Congénitas y Adquiridas)	Hemofilia
	Enfermedad de Von Willebrand
	Enfermedad Hepática
	Alteraciones plaquetarias

Tabla 6-1: En la tabla se muestran agrupadas las diversas causas de sangrados en niños de acuerdo con la etiología de estas. Obtenido de Nicolaides, A y Rojas, P. (2019)

Las Coagulopatías en niños/as suelen presentarse precozmente en la infancia y con mayor prevalencia en varones (WFH *Annual Global Survey, 2021*), cuando estas son de tipo hereditaria suelen haber antecedentes familiares previos, sin

embargo, también hay casos en donde no las hay (Boender et al., 2016). Su diagnóstico se complejiza en algunos casos debido a que muchos recintos hospitalarios incluso de alta complejidad no cuentan con los estudios de laboratorio necesarios como para hacer un correcto diagnóstico de la enfermedad y en algunos casos una tipificación de esta, cuestión requerida para poder indicar un tratamiento a largo plazo efectivo al menor. A pesar de que no son tan conocidos, en niños también podemos encontrar casos de trombofilias (Arachchillage D et al., 2022), en su gran mayoría hereditarias. Para contextualizar cuales son las coagulopatías que pueden afectar a los niños, se muestra a continuación una tabla que reúne todas las coagulopatías hereditarias que se han podido identificar en la población **(Tablas 6-2 y 6-3)** tanto en adultos y niños obtenidas desde diferentes fuentes. (O' Malley B, 2015) (Gabali y Kirby, 2015) (Williams L, 2015).

Coagulopatías Hereditarias que generan hemorragias

Tabla 6-2: Coagulopatías hereditarias asociadas a Hipo-coagulabilidad
Hemofilia A
Hemofilia B
Enfermedad de von Willebrand
Alteraciones plaquetarias: Interacción plaqueta-plaqueta, plaqueta-endotelio, secreción y contenido granular, transducción de señales
Afibrinogenémia/hipofibrinogenémia
Deficiencia de protrombina
Deficiencia factor X, XI, XII, IX, Prekalikreina (PK), Cininogeno de alto peso molecular (HK)
Deficiencia combinada factor V y VIII (F5F8D)
Deficiencia de α_2 -antiplasmina y inhibidor-1- del activador del plasminógeno (PAI-1)

Coagulopatías hereditarias que generan trombosis

Tabla 6-3: Coagulopatías hereditarias asociadas a Hipercoagulabilidad
Factor V de Leiden (Resistencia a proteína C activada)
Protrombina G20210A
Deficiencia Proteína C
Deficiencia Proteína S
Deficiencia Antitrombina III
Disfibrinogenemia
Homocisteinuria

Tablas 6-2 y 6-3: Muestran los posibles trastornos congénitos que se han registrado en la población adulta e infantil. Extraído del Libro McKenzie y Williams. (2015). *Clinical Laboratory Hematology*

6.1.2. Prevalencia de Hemofilia y Enfermedad de von Willebrand

Ambas enfermedades son los trastornos genéticos de la coagulación más frecuentes en la población (McDonald y Machin, 2013). La federación Mundial de Hemofilia, en el año 2017 informo la existencia de 196,706 casos en todo el mundo, siendo en aproximadamente un 80% de estos, los casos Hemofilia A (FMH: Sondeo mundial anual, 2017). En Chile se acuerdo a los datos publicados por el departamento de Epidemiología, en el año 2017 existían 1700 casos de Hemofilia diagnosticadas, de los cuales un 49% era Hemofilia tipo A y un 52% hemofilia tipo B (MINSAL, Guía Clínica Hemofilia, 2013). A continuación, se presentan los datos registrados por el Sondeo Mundial Anual de la Federación Mundial de Hemofilia (FMH), en el cual los países participantes registran la totalidad de casos que han registrado desde 1999 hasta el año en curso, en este caso se presenta el informe del año 2021 correspondiente al sondeo de casos acumulados registrados desde 1999 hasta el año 2020 en Chile (**Tabla 6-4**).

Casos a nivel nacional de trastornos congénitos registrados hasta año 2020
(Sondeo Mundial Anual, Informe año 2021)

Alteraciones de Coagulación	N° Casos
Hemofilia A, B y desconocidas	1793
Enfermedad de Von Willebrand	708
Déficit factor V	17
Deficiencia combinada Factor V y VIII	7
Deficiencia factor VII	377
Deficiencia factor X	18
Deficiencia factor XI	47
Deficiencia factor XIII	5
Trastornos sanguíneo no clasificados	3
Trombastenia de Glanzmann	7
Síndrome de Bernard-Soulier	4
Alteraciones plaquetarias (mencionadas)	399
Total, de casos	3385

Tabla 6-4: Se indican en la tabla el número de casos contabilizados hasta el año 2020 de coagulopatías congénitas en Chile de acuerdo con los registros entregados por la Federación Mundial de Hemofilia. Elaboración propia a partir de datos registrados por la Federación Mundial de Hemofilia (WFH, 2021)

Nota: Algunos Trastornos no tuvieron casos contabilizados en Chile en el sondeo de 2020

En la tabla anterior podemos observar que efectivamente la Hemofilia es la enfermedad más frecuente en Chile, seguido por la Enfermedad de Von Willebrand y Alteraciones Hereditarias de plaquetas. Teniendo una vista global de la cantidad de casos con estos trastornos en nuestro país, podemos darnos cuenta que estos trastornos son enfermedades clasificadas como raras en la población y que por lo tanto pueden no tener la atención necesaria de parte del sistema de salud Chileno, sin embargo se debe considerar que debe existir una cantidad indeterminada de personas que podrían padecer de hemofilia leve o moderada y no haber sido diagnosticada aún, sumado a otros trastornos para los cuales los centros de atención no cuentan con los estudios de laboratorios necesarios para abordar estos casos, que aunque no sean frecuentes, son graves y deben tener una respuesta rápida y oportuna en el servicio de salud. En la Provincia del Bio-Bio, el Hospital Guillermo Grant Benavente es el hospital base de la red asistencial del Servicio de salud de Concepción y recibe pacientes desde distintas comunas de la zona. Es el servicio de Oncohematología Pediátrica del hospital el encargado del diagnóstico y manejo oportuno, de aquellos pacientes pediátricos con Coagulopatías Hereditarias, y de brindarles atención especializada cuando sea requerido.

6.1.3. Flujo pacientes atendidos en Servicio de Oncohematología Pediátrica

Los pacientes menores de 15 años de la Macro red sur pueden acudir a diferentes centros de atención primaria o secundaria antes de ser derivados por interconsulta

al servicio de Oncohematología Pediátrica del Hospital Guillermo Grant Benavente. Los centros de atención primaria en general atienden consultas por casos leves o moderados de Coagulopatías y estos corresponden a: Centros de Salud Familiar (CESFAM), Centros Comunitarios de Salud Familiar (CECOF), y Postas de Salud Rural (PSR). Desde los Hospitales de atención Secundaria o de Mediana Complejidad en la zona encontramos: Hospital de Coronel, Hospital de Lota, Hospital de Santa Juana, Hospital de Florida y Lebu. El medico realiza una evaluación a través de Examen físico, Historia clínica y Exámenes básicos de Coagulación, una vez que cuenta con toda la información debe realizar la derivación por interconsulta hacia el servicio de Oncohematología Pediátrica si así lo amerita.

Otro grupo de pacientes pediátricos también puede ser atendidos por Oncohematólogos del Servicio Clínico y requerir estudios de coagulación y hemostasia, estos pacientes pueden encontrarse ya sea en Urgencia Pediátrica, Neonatología, Pediatría u Otorrinolaringología. Esta información se resume en la siguiente **(Figura 6-1)** a través de un flujograma.

Flujo Pacientes pediátricos hacia Servicio Oncohematología Pediátrica

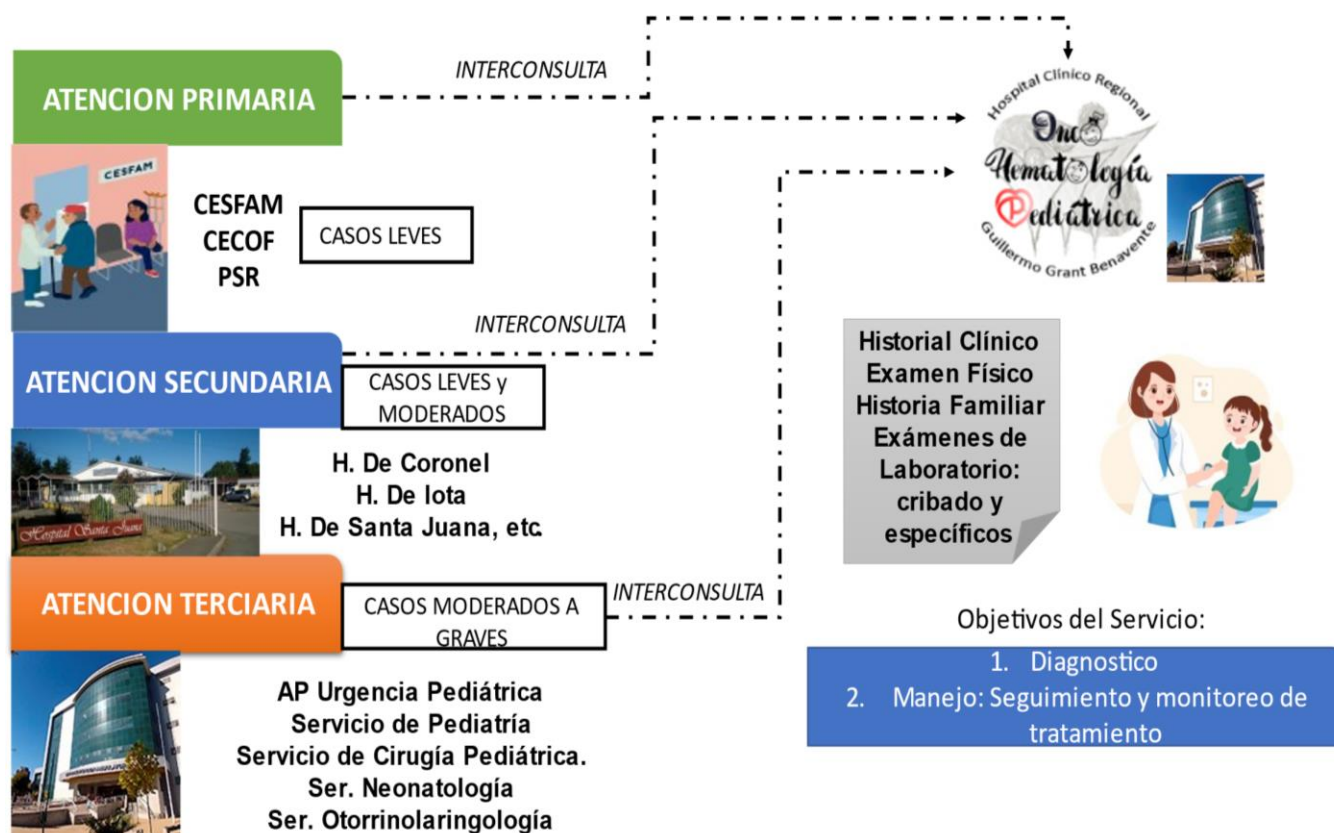


Figura 6-1: Esquema de los diferentes grupos de pacientes del servicio de Oncohematología Pediátrica y sus centros de origen. (Hospital Guillermo Grant Benavente, Servicio Oncohematología Pediátrica, Elaboración Propia)

6.2. Resultados de la Revisión bibliográfica de los estudios necesarios para la detección y manejo de coagulopatías en pacientes menores de 15 años.

A continuación, me enfocare en presentar los resultados obtenidos de la búsqueda bibliográfica de recomendaciones y guías internacionales que plantean la cartera de estudios de laboratorios que es necesaria para abordar estas enfermedades en el laboratorio clínico, enfocándose este en dar apoyo al diagnóstico y manejo de coagulopatías en el servicio de Oncohematología Pediátrica del Hospital Guillermo Grant Benavente a través de herramientas de biología molecular, inmunología u otros.

6.2.1. Diagnostico Enfermedad de Von Willebrand

En el año 1926 un médico finlandés llamado Erik Von Willebrand realizo la publicación de un nuevo caso desconocido de sangrados en una familia del mar Báltico (Berntorp E, 2007), se trataba de una mujer que tenía sangrados menstruales excesivos que terminaron alterando y acabando con su vida. Este caso fue nombrado como una “pseudohemofilia” en esa época (Ginsburg, 1992).

Actualmente se sabe que la enfermedad es causada por una deficiencia o disfuncionalidad de la glicoproteína multimérica conocida como factor de Von Willebrand (Weyand A et al., 2021), la cual está encargada de la adhesión plaquetaria y de ser una proteína chaperona del factor VIII de la coagulación (Kiouptsi K et al., 2020). Los afectados presentan excesivos sangrados

mucocutáneos, epistaxis, abundantes moretones, prolongados sangrados por leves heridas dentales o bucales, y en casos más severos presentan sangrados articulares y musculoesqueléticos (Wilde et al., 2007). Los pacientes tienden a presentar un retraso aproximadamente de 15 años desde que aparecen los primeros síntomas hasta que se realiza el diagnóstico, y existe una confusión con respecto a la importancia de clasificar a la enfermedad en sus respectivos tipos y subtipos (Sharma et al., 2017).

Dentro de las pruebas diagnósticas específicas para esta enfermedad encontramos (Montgomery et al., 2008):

- Cuantificación FvW circulante, prueba conocida como Factor de von Willebrand antigénico o FvW:Ag.
- Determinación de la actividad del FvW, prueba conocida como prueba de cofactor ristocetina o FvW:CoR. La ristocetina (un antibiótico) funciona como un cofactor que libera el sitio de unión del FvW a la Glicoproteína GPIb, mide entonces la capacidad de unión del FvW a las plaquetas. El análisis requiere de plaquetas intactas fijadas, nativas o liofilizadas y el antibiótico en cuestión que permiten la aglutinación de plaquetas y la disminución de la turbidez de la muestra (densidad óptica). Se mide en %
- Análisis de multímeros: separación a través de electroforesis de las moléculas presentes en circulación del FvW de acuerdo con su peso molecular.
- RIPA: Estudios de agregación plaquetaria en presencia de ristocetina (RIPA). El ensayo RIPA se realiza con plasma rico en plaquetas (PRP) del

paciente, y evalúa la afinidad del FvW por el receptor plaquetario GPIIb/IIIa con diferentes concentraciones de ristocetina.

- PFA-100/PFA-200 (*Platelet función analyzer*): estudio de la Hemostasia primaria que utiliza membranas unidas a colágeno/epinefrina y colágeno/ADP. Esta prueba ha reemplazado a el tiempo de sangría.

Si alguna de las pruebas de screening como PT, TTPA y recuento de plaquetas están alterados, luego la historia clínica del paciente muestra sangrados regulares y sin explicación, se requieren de pruebas específicas para clasificar la enfermedad, como las comentadas anteriormente (Swami A et al 2016). Los pacientes presentaran: Estudios FvW: CoR disminuido, FvW: Ag disminuida, tiempo de cierre PFA-100 aumentado y niveles de FVIII disminuidos (Romano et al., 2017).

6.2.1.1. Factor de von Willebrand

La estructura de la proteína corresponde a una cadena multimérica de subunidades idénticas, pero el número de subunidades varia de molécula a molécula (Lenting P et al.,2015). De manera individual la proteína en el plasma puede tener diversos tamaños sin embargo aquella que está unida al factor VIII siempre está en la proporción molar 1:1. En la proteína multimérica madura se han identificado sitios de unión para: Factor VIII, GPIIb/IIIa, GPIIb/IIIa, colágeno y heparina (Casari C, 2013).

En la figura (**Figura 6-2**) podemos ver el procesamiento de la molécula del factor de Von Willebrand y sus puntos o sitios de unión a otras moléculas que le permiten cumplir con diversas funciones fisiológicas en el organismo: Adhesión plaquetaria al tejido subendotelial y transporte y protección del factor VIII de la coagulación (Gonzales et al., 2021).

Estructura Molecular del Factor von Willebrand

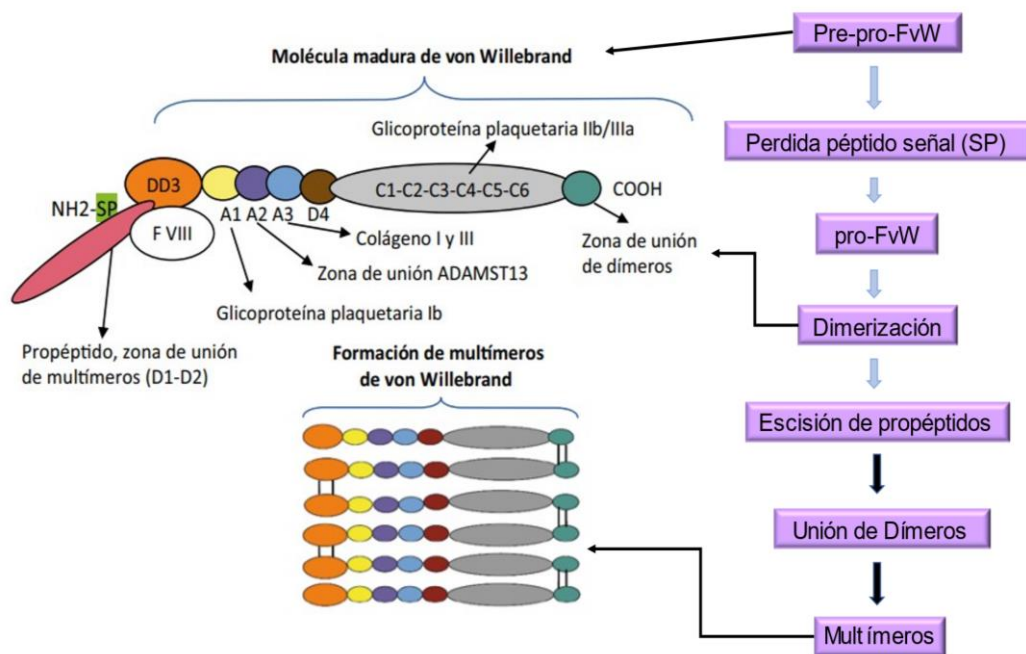


Figura 6-2: la figura muestra, el procesamiento que sufre el factor de Von Willebrand y la formación de multímeros. Se muestra el precursor del FvW que lleva un péptido señal, un pro-peptido y la molécula madura del FvW. Cuando el péptido señal es escindido se genera un pro-FvW que se dimeriza a través de

enlaces disulfuro, posteriormente en el Aparato de Golgi se elimina el propeptido permitiendo la unión de dímeros y la formación de multímeros. (Gonzales et al., 2021)

Diversas mutaciones pueden darse en los diferentes dominios del monómero proteico, afectándose su unión a moléculas importantes del vaso sanguíneo, llevando a lo que conocemos como enfermedad de Von Willebrand (Luo G et al., 2012).

6.2.1.2. Tipos y subtipos de la enfermedad de von Willebrand

Tipo 1, defecto cuantitativo, leve, heterocigoto: la forma más frecuente de la enfermedad de Von Willebrand (70-75% de los casos), es un déficit cuantitativo parcial del factor. Pueden ser pacientes asintomáticos o con síntomas leves. Presentan una estructura proteica normal del factor y funcionalidad correcta de los multímeros (Stufano et al., 2017) **(Tabla 6-5)**

Resultados esperados en pacientes con Enfermedad de Von Willebrand tipo 1

Tipo 1	Autosómica dominante
Pruebas de screening	
☐ Recuento plaquetas	Normal
☐ Tiempo sangría	Normal o aumentado
☐ Tiempo de cierre (PFA-100)	Normal o aumentado
Pruebas diagnosticas	
☐ Prueba FvW: Ag	Disminuido
☐ Prueba FvW : CoR	Normal o disminuido
☐ Prueba FVIII	Disminuido
Pruebas para subtipificar	
☐ RIPA	Normal o disminuido
☐ Análisis multimérico	Normal

Tabla 6-5: Se muestran los posibles resultados de pruebas de screening, diagnósticas y subtipificación de la EvW tipo 1

Tipo 2, defectos cualitativos del FvW:

Subtipo 2A (Herencia dominante o recesiva, frecuencia 10-15%): Problemas en la formación de dímeros y multímeros del FvW (**Tabla 6-6**) o por tener mayor sensibilidad a la actividad enzimática de la enzima ADAMTS 13 que escinde los multímeros (Stufano et al., 2017).

Resultados esperados en paciente con Enfermedad de Von Willebrand tipo 2A

Tipo 2A	Autosómica dominante/Recesiva
Pruebas de screening	
☐ Recuento plaquetas	Normal
☐ Tiempo sangría	Aumentado
☐ Tiempo de cierre (PFA-100)	Aumentado
Pruebas diagnósticas	
☐ Prueba FvW: Ag	Normal o Disminuido
☐ Prueba FvW: CoR	Normal o Disminuido
☐ Prueba FVIII	Disminuido relativo a FvW:Ag
Pruebas para subtipificar	
☐ RIPA	Disminuido relativo a FvW:Ag
☐ Análisis multimérico	Ausencia de multímeros largos e intermedios

Tabla 6-6: se muestran los posibles resultados de las pruebas de screening, diagnósticas y subtipificación de EvW tipo 2^a (Stufano et al., 2017)

Subtipo 2B (Herencia autosómica recesiva, frecuencia de 5%): Se debe a una mutación en el sitio de unión en el FvW a la GPIb, aumentando su capacidad de unión (**Tabla 6-7**). Se genera Hiper-agregación plaquetaria y fagocitosis de multímeros y por lo tanto puede cursar con trombocitopenia (Stufano et al., 2017).

Resultados esperados en paciente con Enfermedad de von Willebrand tipo 2B

Tipo 2B	Autosómica Recesiva
Pruebas de screening	
☐ Recuento plaquetas	Disminuido
☐ Tiempo sangría	Aumentado
☐ Tiempo de cierre (PFA-100)	Aumentado
Pruebas diagnósticas	
☐ Prueba FvW: Ag	Normal o Disminuido
☐ Prueba FvW: CoR	Normal o Disminuido
☐ Prueba FVIII	Normal o disminuido
Pruebas para subtipificar	
☐ RIPA	Aumentado
☐ Análisis multimérico	Ausencia de multímeros largos

Tabla 6-7: se muestran los posibles resultados de las pruebas de screening, diagnósticas y subtipificación de EvW tipo 2B (Stufano et al.,2017)

Subtipo 2M (Herencia autosómica dominante/recesiva, frecuencia baja): Problemas en la unión del FvW a la GPIIb en la plaqueta, se altera la hemostasia primaria (**Tabla 6-8**). Alteración similar a la enfermedad de Bernard-Soulier (déficit de GPIIb/IIIa) (Stufano et al.,2017).

Resultados esperados en paciente con Enfermedad de Von Willebrand tipo 2M

Tipo 2M	Autosómica Dominante/ Recesiva
Pruebas de screening	
☐ Recuento plaquetas	Normal
☐ Tiempo sangría	Aumentado
☐ Tiempo de cierre (PFA-100)	Aumentado
Pruebas diagnósticas	
☐ Prueba FvW: Ag	Normal o Disminuido
☐ Prueba FvW: CoR	Normal o Disminuido
☐ Prueba FVIII	Disminuido relativo a FvW: Ag
Pruebas para subtipificar	
☐ RIPA	Disminuido relativo a FvW: Ag
☐ Análisis multimérico	Normal

Tabla 6-8: Se muestran los posibles resultados de las pruebas de screening, diagnósticas y subtipificación de EvW tipo 2M (Stufano et al.,2017)

Subtipo 2N (Herencia autosómico recesivo, muy baja frecuencia): Problemas en la unión del Factor VIII al FvW por mutación en la zona DD3, hemostasia primaria no se ve afectada, pero el factor VIII se cataboliza más rápido provocando una disminución de este (Stufano et al., 2017) (**Tabla 6-9**).

Resultados esperados en paciente con Enfermedad de von Willebrand tipo 2N

Tipo 2N	Autosómica Recesivo
Pruebas de screening	
☐ Recuento plaquetas	Normal
☐ Tiempo sangría	Normal
☐ Tiempo de cierre (PFA-100)	Normal
Pruebas diagnósticas	
☐ Prueba FvW: Ag	Normal
☐ Prueba FvW: CoR	Disminuido
☐ Prueba FVIII	Normal
Pruebas para subtipificar	
☐ RIPA	Normal
☐ Análisis multimérico	Normal

Tabla 6-9: Se muestran los posibles resultados de las pruebas de screening, diagnósticas y subtipificación de EvW tipo 2N

Tipo 3 (Herencia autosómica recesiva, Grave y frecuencia muy baja): Enfermedad muy grave, cursa con niveles bajos o indetectables del FvW y paralelamente del FVIII (**Tabla 6-10**) (Stufano et al.,2017). Se ve alterada hemostasia primaria y secundaria a diferencia de la Hemofilia.

Resultados esperados en paciente con Enfermedad de von Willebrand tipo 3

Tipo 3	Autosómica Recesiva (Homocigota o doble heterocigota)
Pruebas de screening	
☐ Recuento plaquetas	Normal
☐ Tiempo sangría	Aumentado
☐ Tiempo de cierre (PFA-100)	Aumentado
Pruebas diagnósticas	
☐ Prueba FvW: Ag	Ausente
☐ Prueba FvW: CoR	Gravemente Disminuido
☐ Prueba FVIII	Ausente
Pruebas para subtipificar	
☐ RIPA	Ausente
☐ Análisis multimérico	Ausente

Tabla 6-10: Se muestran los posibles resultados de las pruebas de screening, diagnósticas y subtipificación de EvW tipo 2N

6.2.1.3. Algoritmo propuesto para el diagnóstico y Subtipificación de Enfermedad de von Willebrand

Pruebas de tamizaje o screening:

La valoración inicial a través de pruebas de laboratorio se basan en Hemograma Completo, medición de los tiempos de coagulación y análisis de la hemostasia

primaria a través del PFA-100 (Stufano et al.,2017) **(Tabla 6-11)**, adicionalmente el médico para acortar los tiempos de espera o si el menor llega directamente a urgencias se pueden añadir directamente la medición del FVIII, FIX y FvW:Ag así como prueba de mezclas para descartar la presencia de inhibidores plasmáticos (Gabali A y Kirby B, 2015).

Pruebas de Evaluación Inicial EvW

TABLA	HEMOFILIA A	HEMOFILIA B	ENFERMEDAD DE VON WILLEBRAND
TP	Normal	Normal	Normal
TTPA	Aumentado	Aumentado	Aumentado/normal
Tiempo sangría/PFA-100	Normal	Normal	Aumentado/normal

Tabla 6-11: Se muestran los resultados posibles para Hemofilia A, Hemofilia B y Enfermedad de von Willebrand tanto para tiempos de coagulación y tiempos de cierre PFA. En un círculo rojo se indica el estudio no disponible en la cartera del laboratorio Clínico (Gabali y Kirby, 2015).

Pruebas de primer nivel

Estas pruebas tienen por finalidad confirmar o descartar la deficiencia cualitativa o cuantitativa del factor von Willebrand, y luego asociar también la presencia de un déficit del FVIII de la coagulación que es transportado y protegido por FvW (Parker

ET et al., 2021). Las pruebas de primer nivel son las siguientes (Stufano et al., 2015):

FVIII: C Actividad coagulante FVIII

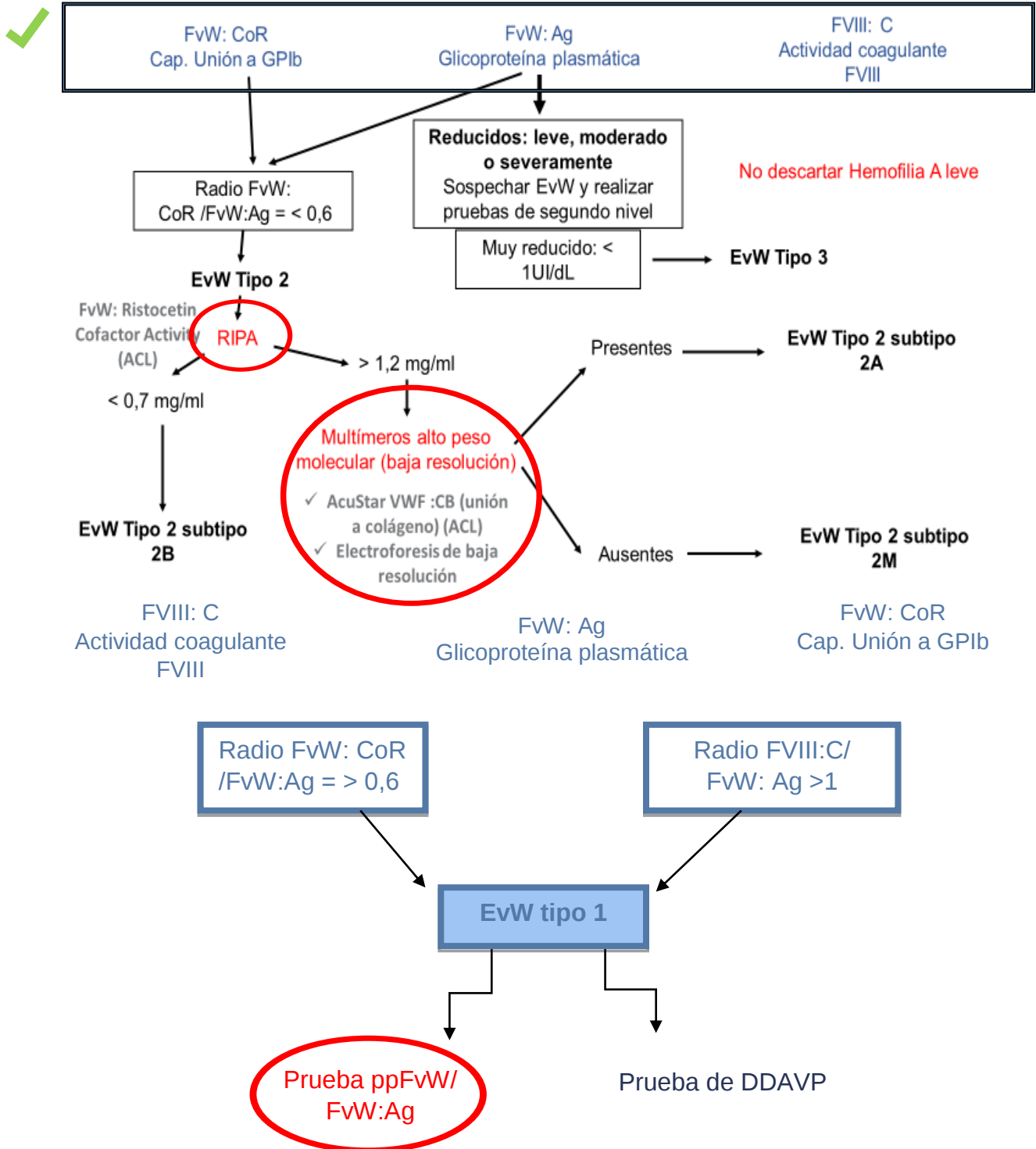
FvW: Ag Glicoproteína plasmática

FvW: CoR Capacidad de Unión a GPIb

Pruebas de Segundo Nivel

Las pruebas de segundo nivel permiten clasificar y definir de manera adecuada las variantes posibles de la enfermedad von Willebrand de manera de entregar al paciente el tratamiento más efectivo posible. También permiten realizar la distinción entre la variante 2N de la Enfermedad von Willebrand y la Hemofilia A leve. A continuación, se muestra el algoritmo **(Figura 6-3)** que muestra las pruebas de segundo nivel (Stufano et al., 2015).

Algoritmo para clasificar la enfermedad de von Willebrand



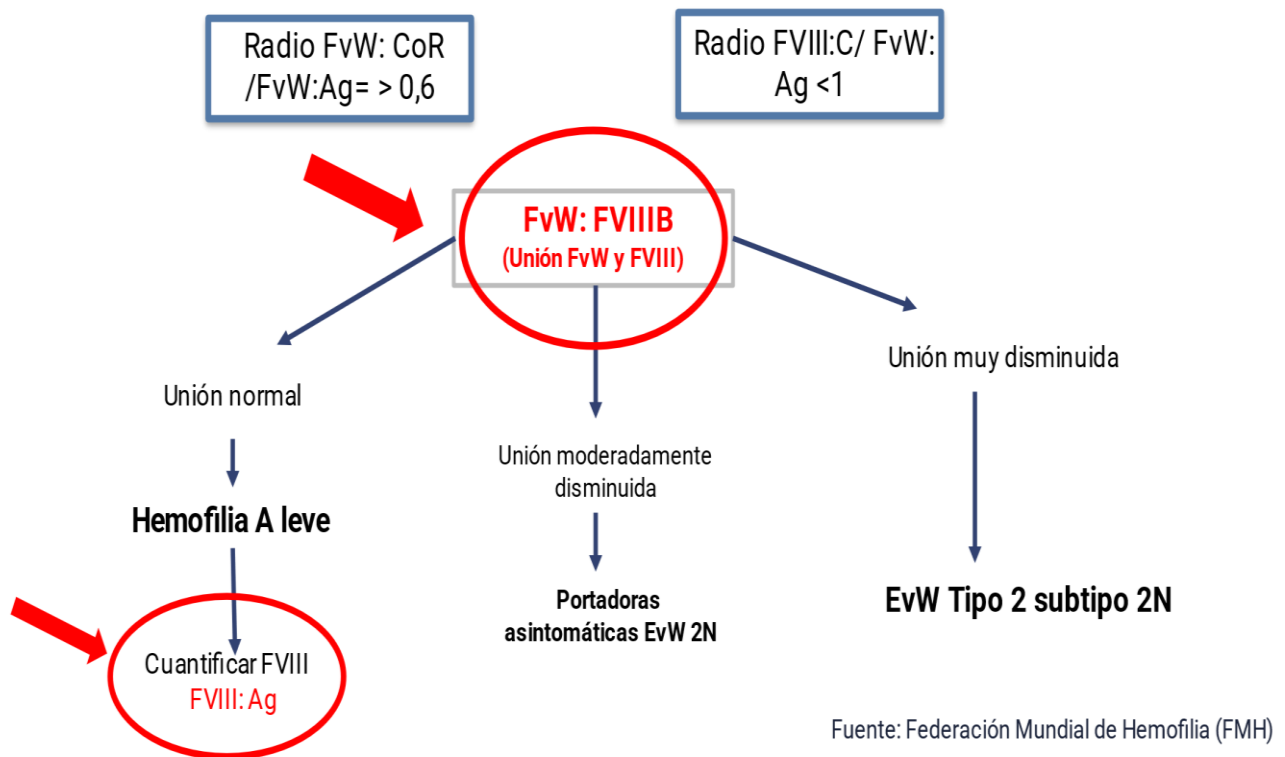


Figura 6-3: En el esquema se indican las pruebas de primer y segundo nivel para clasificar la enfermedad de von Willebrand. En círculos rojos se muestran, los exámenes de laboratorio no disponibles en la cartera actual del Laboratorio de Hematología y en azul con un tic en verde los que si están implementados (Stufano et al., 2015).

6.2.1.4. Recomendaciones internacionales para el manejo de la Enfermedad de von Willebrand

Recomendaciones de los grupos internacionales acerca de los estudios necesarios para la detección y manejo de la Enfermedad de von Willebrand.

Guía para el diagnóstico y Manejo de la Enfermedad de von Willebrand del Centro médico de Hemofilia de Reino Unido (UKHCDO) (Laffan et al., 2014)

- 1.- La enfermedad no puede ser descartada si el paciente presenta TTPA normal.
- 2.- Las pruebas de laboratorio iniciales para realizar el diagnóstico de la enfermedad de von Willebrand son la cuantificación del factor VIII, medición de FvW antigénico (FvW: Ag) y medición de la actividad del FvW (FvW: CoR)
- 3.- Se recomienda el uso de ensayo basados en anticuerpos monoclonales dirigidos hacia el sitio de unión del FvW a la Glicoproteína GPIb.
- 4.- La prueba RIPA debe ser realizada en todos los pacientes que muestran una disminución de los radios o cocientes: FvW:CoR/FvW:Ag o FvW:Bc/FvW:Ag o cuando existe una trombocitopenia. (Bc: colágeno (radio<0,6))
- 5.- El estudio de los multímeros debería ser utilizado para la distinción entre los subtipos 2A y 2M.

Guía de la Federación Mundial de Hemofilia en “Diagnostico de la enfermedad de von Willebrand”, Autores: Francesca Estufano y Luciano Baronciani, Italia (2017).

- 1.- Dado que los pacientes con enfermedad de VW pueden tener trombocitopenia (2B) se debe incluir en las pruebas de detección inicial el recuento de plaquetas.
- 2.- El ensayo FvW:CB (unión a colágeno) puede usarse como sustituto del análisis de multímeros del FvW, cuando esta no está disponible, a fin de valorar la ausencia de multímeros de alto peso molecular (MAPM).

3.- Para poder diferenciar la EvW subtipo 2N de una Hemofilia A leve (en ambos se reduce la concentración de FVIII) se recomienda enfáticamente la realización del ensayo de unión FvW:FVIII

4.- Se recomienda la realización de la prueba de infusión de Desmopresina (DDABP) para descartar su uso en pacientes que presentan una depuración del FvW acelerada y así seleccionar otro tratamiento.

5.- Los estudios de laboratorio FVIII:Cb, FvW:Ag y FvW:RCo son indispensables para el diagnóstico de la enfermedad de von Willebrand y descartar la EvW tipo 3 (mortal), incluso en laboratorios de pocos recursos.

En resumen, de acuerdo con estas recomendaciones y el levantamiento de información científica realizada podemos indicar que la cartera de estudio para evaluar de manera óptima la enfermedad de von Willebrand es la siguiente:

Pruebas para diagnóstico de la enfermedad o de primer nivel (sin tipificación):

- FvW:Ag
- FvW:CoR
- FVIII:C (actividad procoagulante factor VIII) o FVIII:Ag (cuantificación por métodos inmunológicos)

Pruebas para identificar Tipo y Subtipo de la enfermedad (tipificación) o de segundo nivel:

- RIPA

- Multímeros de alto peso molecular o en su defecto FwW: Co (Prueba de unión al colágeno)
- Unión FwW: FVIII
- Prueba con desmopresina (DDAVP)
- Proporción ppFwW/FwW:Ag

6.2.2. Diagnóstico de Hemofilia

La hemofilia es un trastorno de la coagulación genético ligado al cromosoma X que afecta las cantidades de los factores VIII y IX en circulación sanguínea (Blanchette et al., 2014). La patología es conocida hace más de 1000 años, ya que es bien sabido que la reina victoria era portadora de una mutación que se traspasó a los miembros varones de la familia real de varios países de Europa (Wolfgang, 2014).

Cuando la madre porta uno de los alelos del gen mutado, el cual es adquirido por sus hijos, en el caso de los varones estos solo tendrán un cromosoma X y por ende un 50% de posibilidad de adquirir la enfermedad (Konkle et al., 2018). Pacientes con Hemofilia A (déficit factor VIII) tienen concentraciones normales del FwW. Lo que hace la distinción con la enfermedad de von Willebrand (Menegatti y Peyvandi, 2019).

La severidad o gravedad de la enfermedad se clasifica de acuerdo con la actividad del factor en sangre, el cual se puede ver afectado ya sea por una disminución en

su concentración o por alteración de su funcionalidad. Las concentraciones se miden como unidades de actividad (Preston et al., 2004).

Dentro de las pruebas diagnósticas específicas para estas enfermedades encontramos (Kitchen et al., 2010) (Federación Mundial Hemofilia):

Actividad coagulante del factor VIII (FVIII:C) en una etapa: su medición se basa en la capacidad que tiene la muestra del paciente de corregir el TTPA de una muestra ausente del factor de interés en este caso FVIII. Previamente se realiza una curva de calibración con muestras de concentración conocidas del factor. Permite el diagnóstico y clasificación de severidad, así como también monitorear la terapia de reemplazo de pacientes con hemofilia. El ensayo de actividad coagulante en una etapa se puede utilizar para medir la actividad coagulante de los factores: FVIII, FIX, FXI, FXII, y en los casos de hemofilia leve o moderada también se recomienda su medición a través de ensayos cromogénicos (FVIII: C-chr). Las unidades de medida son IU/dL en donde:

100% de actividad coagulante del factor = 100 IU/dL

De acuerdo con este parámetro, la gravedad de la hemofilia (**Tabla 6-12**) se puede clasificar de la siguiente manera: VN 50-150 IU/dL

Clasificación por Gravedad de la Hemofilia

Nivel de actividad (IU/dL)	Clasificación gravedad	Algunas manifestaciones
< 1	Grave	Hemorragias articulares, Hematuria, Hemorragia espontanea.
1-5	Moderada	Hemartrosis por trauma menor.
6-30	Leve	Hemorragias después de extracción dental o cirugía.

Tabla 6-12: Se muestran la gravedad de la Hemofilia y sus Manifestaciones de acuerdo con el nivel de Actividad del Factor deficiente. (Kitchen et al.,2010)

El mismo ensayo se realiza para medir actividad coagulante del factor IX para diagnosticar hemofilia B.

6.2.2.1. Tipos de Hemofilia y resultados posibles

Resultados esperados en pacientes con Hemofilia A o B

Hemofilia tipo A	Herencia ligada al cromosoma X
Pruebas de screening	Resultado posible
TTPA (Tiempo tromboplastina parcial activado)	Aumentado
TP (Tiempo de protrombina)	Aumentado o normal
TT (Tiempo de trombina)	Aumentado o normal
Pruebas específicas: monitoreo terapia y gravedad	Resultado posible
FVIII: C-1/ FVIII:C-chr	Disminuido
FVIII:Ag	Disminuido o normal
Pruebas de mezclas	Déficit factor: TTPA normal Inhibidores: TTPA aumentado

Tabla 6-13: Se muestran los resultados posibles de los estudios de screening, diagnósticos y específicas de Hemofilia A. Modificado de Lenting, 2020

Hemofilia tipo B	Herencia ligada al cromosoma X
Pruebas de screening	Resultado posible
TTPA (Tiempo tromboplastina parcial activado)	Aumentado
TP (Tiempo de protrombina)	Aumentado o normal
TT (Tiempo de trombina)	Aumentado o normal
Pruebas específicas: monitoreo terapia y gravedad	Resultado posible

FIX: C1/ FIX:C-chr	Disminuido
FIX: Ag	Disminuido o normal
Pruebas de mezclas	Déficit factor: TTPA normal Inhibidores: TTPA aumentado

Tabla 6-14: Se muestran los resultados posibles de los estudios de screening, diagnósticos y específicas de Hemofilia B. Modificado de Lenting, 2020.

6.2.2.2. Recomendaciones internacionales para el manejo de la Hemofilia

Recomendaciones de grupos internacionales acerca de los estudios necesarios para su detección y manejo.

Tercera Edición de la Guía de la federación mundial de hemofilia (FMH) para el tratamiento de la Hemofilia. (Srivastava et al., 2020)

- 1.- Se recomienda realizar pruebas moleculares para distinguir hemofilia A de enfermedad de von Willebrand tipo 2N.
- 2.- El diagnóstico definitivo de Hemofilia A o B y el monitoreo de terapia se realiza en base a la demostración de deficiencia de los FVIII y FIX a través de ensayos de coagulación, es decir: FVIII:C o FIX: C.

3.- Se recomienda la cuantificación del FvW a través del ensayo FvW: Ag, para descartar esta enfermedad cuando hay sospecha de hemofilia. (distinción de EvW 2N de Hemofilia leve)

4.- Se recomienda el uso de estudios de mezclas para descartar la presencia de moléculas inhibitoras de los factores VIII o IX.

5.- En aquellos pacientes con presencia de anticoagulantes lúpicos se recomienda el uso de reactivos para la medición del TTPA insensible al anticoagulante lúpico.

6.- Para el monitoreo de la terapia de reemplazo del factor ya sea derivado de plasma o recombinante, se recomienda la ejecución de ensayos de actividad coagulante de una etapa o ensayos cromogénicos.

7.- Para cuantificar el título de un inhibidor (concentración) se recomienda el uso del ensayo Bethesda-Nijmegen modificado, el cual es considerada la prueba *Gold Estándar* para monitorear la terapia de reemplazo.

En resumen, de acuerdo con estas recomendaciones y el levantamiento de información científica realizada podemos indicar que la cartera de estudio para evaluar de manera óptima los trastornos hemofílicos son los siguientes:

Pruebas específicas para diagnóstico/confirmación de la enfermedad o de primer nivel (sin tipificación):

- FVIII: C-1 y/o FVIII:C-chr / FIX:C-1 y/o FIX:C-chr
- FvW:Ag
- Estudio de mezclas

Pruebas específicas para identificar inhibidores y monitorear terapia de remplazo (tipificación) o de segundo nivel:

- Ensayo Bethesda-Nijmegen modificado
- FVIII: C-1 y/o FVIII:C-chr / FIX:C-1 y/o FIX:C-chr

6.2.2.3. Trastornos congénitos de las plaquetas

Las plaquetas son necesarias durante la hemostasia primaria, pero también cumplen una función importante en la hemostasis secundaria ya que proveen una superficie lipídica para que se lleven a cabo las reacciones enzimáticas de la coagulación (Halleluyah et al., 2017). La activación plaquetaria y las reacciones en ella se llevan a cabo a través de distintos receptores proteicos como integrinas y selectinas, los cuales activan vías de señalización intracelular (Motowicka-Karna, 2016). Cuando hay alteraciones congénitas de las plaquetas entonces pueden verse afectados cualquiera de estos procesos causando coagulopatías hereditarias. Cuando hay un desorden del número de plaquetas se habla de alteraciones cuantitativas, mientras que cuando hay un problema en la función que cumple la plaqueta se habla de defectos cualitativos, y que son raros de hallar (Palma-Barqueros et al., 2021).

Los trastornos plaquetarios congénitos más frecuentes son (López y Berliner, 2017):

- Síndrome Bernard-Soulier

- Trombastenia de Glanzmann
- Deficiencia congénita de gránulos densos (&SPD)
- Anormalidad en la secreción plaquetaria estimulada por agonistas
- Defectos en la síntesis de tromboxanos (TXA₂)
- Síndrome de Scott
- Síndrome plaquetario de Gray
- Síndrome de Wiskott-Aldrich (WAS)

6.2.2.4. Trastornos plaquetarios congénitos más frecuentes

Se describirán a continuación algunas características importantes de los trastornos plaquetarios congénitos:

1.- Síndrome Bernard-Soulier: Deficiencia parcial o completa del complejo plaquetario **GP1b-IX-V**, el cual es uno de los principales receptores en la plaqueta de unión al factor de von Willebrand, fue descrita por primera vez en 1948 por Bernard y Soulier. El trastorno se presenta con un aumento de los tiempos de cierre PFA-200, trombocitopenia, plaquetas más grandes de lo normal y disminución de la prueba de actividad del FvW con el cofactor Ristocetina (Pham y Wang, 2007).

2.- Trombastenia de Glanzmann: Se genera por defectos en el receptor plaquetario **GP1Ib-IIIa**, encargado de unirse al fibrinógeno, causando alteración de la agregación plaquetaria primaria y secundaria. El recuento plaquetario, aglutinación con ristocetina y su morfología en su mayoría parecen ser normales, mientras que los estudios de unión a ADP, Epinefrina, y colágeno aparecen con valores alterados (Solh et al., 2015).

3.- Deficiencia congénita de gránulos densos o delta (G&): se presenta con una disminución o ausencia de los **gránulos densos plaquetarios**. Estas deficiencias pueden presentarse en otros síndromes hereditarios como el síndrome de Wiskott-Aldrich o el síndrome de Hermansky-Pudlak. Las pruebas de agregación con ADP, Epinefrina y colágeno se muestran alteradas en esta deficiencia. Los estudios de aglutinación con ristocetina son normales (Dupuis et al., 2020).

4.- Síndrome plaquetario Gray: Deficiencia selectiva de **Gránulos alfa (Gα)**, pueden encontrarse ausentes o parcialmente disminuidas. Las pruebas de agregación plaquetaria resultan normales, pero pueden presentarse trombocitopenias leves y macro-plaquetas en el frotis sanguíneo (Nurden A y Nurden P, 2011).

5.- Síndrome plaquetario de Quebec: Es un trastorno bastante raro en el cual se produce un déficit de la degradación proteolítica de los gránulos alfa, debido a un aumento de los niveles del activador del plasminógeno de tipo urinario (APu). El contenido granular alfa es normal y la morfología plaquetaria también (Sandrock y Zieger, 2010).

Resultados esperados en pruebas de aglutinación y agregación plaquetaria

		Recuento PLT	Agregación plaquetaria	Tiempo de cierre (PFA)
Síndrome Soulier	Bernad-	Normal o Disminuida	Alterada con Ristocetina	Aumentada

Trombastenia de Glanzmann	Normal	Alterada con ADP, Colágeno y EP Normal con Ristocetina	Aumentada
Deficiencia de Gránulos densos (δ)	Normal	Alterada agregación 2° con ADP, EP y Colágeno, Agregación 1° normal	Variable
Síndrome de plaquetas grises	Variablemente disminuida	Normal	Variable
Síntesis defectuosa de Tromboxanos A2	Normal	Agregación 2° alterada con ADP, alterado con colágeno Agregación 1° normal	Aumentada

Tabla 6-15: Se muestran los resultados de Recuento de plaquetas, Agregación plaquetaria y Tiempo de Cierre posibles de cinco trastornos plaquetarios congénitos (Carubbi et al., 2014)

6.2.2.5. Recomendaciones internacionales para el manejo de trastornos plaquetarios congénitos

Recomendaciones de grupos internacionales científicos acerca de los estudios necesarios para la detección y manejo de los trastornos Hereditarios de la Coagulación.

Segunda Edición de la Guía de Trastornos de la Función plaquetaria de la Federación Mundial de Hemofilia (FMH) (Sharathkumar y Shapiro, 2008)

1.- No existe actualmente una prueba de laboratorio confiable y específica que permita la detección exacta del trastorno plaquetario.

2.- Las pruebas iniciales cuando existe alguna sospecha de trastornos plaquetario ya sean funcionales o cuantitativos son: Hemograma completo, recuento plaquetario absoluto y frotis sanguíneo.

3.- Las pruebas de primer nivel para evaluar trastornos cualitativos de las plaquetas son: PFA-100 y FvW: Ag para descartar Enfermedad Von Willebrand

4.- Antes del diagnóstico de trastornos plaquetarios se deben descartar enfermedades como: Deficiencias leves de factores de coagulación, Hipo o afibrinogenemia, disfibrinogenemia, maltrato infantil, trastornos del tejido conectivo, entre otros.

5.- Es importante para el manejo de estas alteraciones tener disponibles en el laboratorio clínico las pruebas de primer, segundo y tercer nivel.

En resumen, de acuerdo con estas recomendaciones y el levantamiento de información científica realizada podemos indicar que la cartera de estudio para evaluar de manera óptima los trastornos plaquetarios congénitos son los siguientes:

Pruebas de primer nivel o Screening inicial:

- PFA-100
- Tiempo de sangría
- FvW: Ag

Pruebas de segundo nivel:

- Estudios de agregación plaquetaria con los siguientes agonistas: ADP, Epinefrina, ristocetina, ácido araquidónico, trombina y colágeno

Pruebas de tercer nivel:

- Citometría de flujo plaquetario
- Lumiagregometría
- Microscopía electrónica de plaquetas
-

6.3. Carteras de Estudios de Coagulación y hemostasia de otros laboratorios a nivel nacional y regional.

Como se indicó en la sección de materiales y métodos, para poder contextualizar y comparar que estudios especializados de coagulación y hemostasia tienen en sus carteras otros laboratorios, se analizaron las carteras presentes en el Hospital Higuera de Talcahuano y la cartera del laboratorio privado UC Christus de la PUC, que cuenta con la cartera más amplia de estudios disponibles a nivel país.

A continuación, se muestran los listados completos de exámenes de coagulación y hemostasia de esos laboratorios.

Cartera de estudios: Coagulación y Hemostasia Hospital Roberto del Río Zañartu, Centro de referencia Nacional y de derivación
Hemograma y Recuento de plaquetas
Tiempo de protrombina
Tiempo de tromboplastina parcial activado

Prueba de mezclas para TP y TTPA
Tiempo de trombina (TT)
Actividad FVIII, FIX, FV, FVII, FX, FXI, FXII, FXIII
Estudio del fibrinógeno
Estudio de inhibidores, incluye determinación en Unidades Bethesda (UB)
Factor von Willebrand antigénico (FvW:Ag)
Actividad FvW
Análisis de multímeros FvW
Estudios de agregación a dosis bajas de Ristocetina
Estudios de agregación plaquetaria
Estudio de lisis de coagulo

Tabla 6-16: Se muestra el listado de estudios presentes en la cartera del laboratorio del Hospital Roberto del Río Zañartu (Centro de referencia Nacional para pacientes con Hemofilia en Chile)

Cartera de estudios: Coagulación y Hemostasia
Sector Privado: Laboratorio Clínico UC CHRISTUS Universidad Católica
Estudios de Trombofilia
Anticoagulante Lúpico
Antitrombina III funcional
Antitrombina III antigénica
Proteína C funcional
Proteína C antigénica
Proteína S libre
Proteína S total
Resistencia a la proteína C activada
Factores de Coagulación y/o sus inhibidores (todos los factores incluso FV lábil)
Actividad anti-Xa

Estudios Factor von Willebrand (Antigénico y estudios funcionales)
RIPA plasmática
TP, TTPA, TT (Coagulo-grama)
Metaloproteinasa del FvW
FVIII Cromo-génico
Estudios de multímeros del FvW
Generación de trombina en plasma pobre en plaquetas
Estudios de Agregación y secreción plaquetaria
IgG unida a plaquetas (PalgG)
Serotonina plaquetaria
RIPA plaquetaria
Estudios de mutaciones: Protrombina, FV Leiden, MTHFR (C677T)
Tipificación de antígenos plaquetarios
Tiempo de lisis de coagulo en plasma rico en plaquetas o PRP

Tabla 6-17: Se indican el listado completo de estudios de coagulación y hemostasia en la cartera del laboratorio de la UC Christus

Cartera de Estudios: Coagulación y Hemostasia Laboratorio Clínico, sección hematología en Hospital Higuera
Antitrombina III
Fibrinógeno
Anticoagulante lúpico
Factor V, VII, VIII, IX, II, XI, XII, Act. FX
Hematocrito con recuentos absolutos de eritrocitos, plaquetas, leucocitos y reticulocitos
Tiempo de protrombina (TP), Tiempo de trombina (TT), Tiempo tromboplastina parcial activado (TTPA)
Tiempo de sangría (IVY)
Factor von Willebrand antigénico
Actividad FvW con cofactor de ristocetina
Proteína C, Proteína C, Resistencia a Proteína C activada
Dímero D, Homocisteína

Electroforesis Hemoglobina

Tabla 6-18: Se indica el listado completo de estudios en la sección de hematología para Coagulación y Hemostasia (Fuente: hospitalhiguera.cl)

6.4. Cartera de estudios de laboratorio disponible actualmente en el laboratorio central del Hospital Guillermo Grant Benavente.

De acuerdo con la información recopilada desde el Hospital Guillermo Grant Benavente de Concepción, la cartera de pruebas de laboratorio actual disponible en el Laboratorio central del Hospital Guillermo Grant Benavente (**Tabla 6-19**), en la sección de Hematología es la siguiente:

Pruebas de Hemostasia y Coagulación en Sección Hematología

Estudio de laboratorio	Nomenclatura examen	Método de análisis	Unidad de medida
Tiempo de protrombina	TP	Coagulometría	Segundos
Tiempo de tromboplastina parcial activado	TTPA	Coagulometría	Segundos
Cuantificación fibrinógeno (Ensayo de Clauss)	Fibrinógeno	Coagulometría	mg/dL
Dímero-D	DD	Inmunológico (Anticuerpos	

		Monoclonales)	
Actividad factores de coagulación, plasma deficientes: Factores II, V, VII,VIII,IX,X,XI y XII	Factor: C-1	Coagulometría de una etapa (TP y TTPA)	UI/dL
Recuento de plaquetas absoluto	PLT	Citometría	Numero de plaquetas
Hemograma (incluye leucocitos, Hb,Hto, Formula leucocitaria, características celulares y VHS)	Hemograma	Citometría y Colorimetría	Numero de células y mg/dL
Actividad factor von Willebrand a través del cofactor ristocetina	FvW: CoR	Inmunológico	UI/dL
Factor von Willebrand antigénico	FvW: Ag	Inmunológico	U/dL
Proteína C	PC	Coagulometría	UI/dL
Proteína S	PS	Inmunológico	UI/dL
Antitrombina III	ATIII	Cromogénico	mg/dL
Determinación anticuerpos: Anti-Lúpico	aPL	Inmunológico	UI/dL
Homocisteína	HC	Inmunológico	UI/dL
Resistencia a la proteína C activada (RPCA)	RPCA	Coagulometría	Segundos TTPA
Pruebas de mezcla TP y TTPA	NA	Coagulometría	Segundos TP y TTPA

Tabla 6-19: Se muestran la cartera completa de estudios de hemostasia y coagulación en la sección de hematología del laboratorio clínico del Hospital Guillermo Grant Benavente junto a su abreviación, metodología y unidad de medición. Fuente: Cartera de servicios, HGGB. (2022).

6.5. Equipo analítico que ejecuta los estudios de coagulación y hemostasia en el laboratorio central del Hospital Guillermo Grant Benavente

El equipo de coagulación (**Figura 6-4**) que ejecuta los estudios mencionados en el apartado 3, es el coagulómetro conocido como ACL TOP 350 (*Automated Coagulation Analyzer*) perteneciente a la familia de equipos del mismo nombre de la serie 50, de la empresa *Warfen*. Este es un equipo automatizado que evalúa la hemostasia llevando a cabo pruebas de rutina y especializadas. Realiza estudios de coagulación, cromogénicas e inmunológicas utilizando reactivos líquidos y de reconstitución.

Equipo ACL TOP 350



Figura 6-4: se muestra la familia de equipos de coagulación de la empresa *Warfen*, correspondientes a la familia ACL TOP 350, serie 50: ACL TOP 750, ACL TOP 350 y ACL TOP 550. Al lado aparecen los reactivos *HEMOSIL* que utiliza el equipo (Imágenes obtenidas de sitio web *Warfen*, warfen.com).

El equipo es capaz de realizar una amplia gama de pruebas de laboratorio que van desde estudios generales de coagulación y anticoagulación hasta los estudios que permiten el diagnóstico de la enfermedad de von Willebrand. La completa cartera de estudios que tiene disponible el equipo automatizado es la siguiente.

6.5.1. Listado completo pruebas de Coagulación ACL TOP 350

ACL TOP 350 PRUEBAS
Tabla 6-20: Pruebas de screening coagulación y de anticoagulación
TP TTPA Cuantificación fibrinógeno, ensayo clauss Anti-Xa Heparina Dabigatran Rivaroxaban Apixaban TT Dimero-D

ACL TOP 350 PRUEBAS
Tabla 6-21: Síndrome antifosfolípido
Screening dRVVT Confirmación dRVVT IgG aCL (anticardiolipina) IgM aCL (anticardiolipina) IgG ab2GPI IgM ab2GPI Dominio 1 de abGPI

ACL TOP 350 PRUEBAS
Tabla 6-22: Trombocitopenia inducida por heparina
Anticuerpos anti-PF4 Anticuerpos anti- PFA IgG
Enfermedad Von Willebrand
FvW antigénico Actividad FvW cofactor Ristocetina Unión FvW a Colágeno
Factores de Coagulación
Vía intrínseca Vía extrínseca FVIII antigénico

ACL TOP 350 PRUEBAS
Tabla 6-23: Degradación y formación de fibrina
PDFs Plasminógeno Inhibidor de plasminógeno
Trombofilia
Antitrombina Proteína C (cromogénico y de coagulación) Proteína S libre antigénico Actividad Proteína S (Coagulación) Mutación factor V de Leiden (APC-RV) Homocisteína FII y FV

Tablas 6-20, 6-21, 6-22 y 6-23: Se muestran los estudios de laboratorio disponibles en los equipos de coagulación de la familia ACL TOP de Warfen de acuerdo con las coagulopatías posibles. (Obtenido de warfen.com sección HEMOSIL ASSAY)

6.5.2. Mediciones y métodos analíticos de cuantificación ACL TOP

Su funcionamiento se basa en tres métodos de análisis instrumental (Guía descriptiva Equipo ACL TOP FAMILY, FDA)

- a. Mediciones Coagulométricas (basadas en turbidimetría)
- b. Mediciones Cromogénicas (basadas en Absorciometría de luz)
- c. Mediciones Inmunológicas (basadas en reacción Antígeno-anticuerpo)

Medición Coagulométrica por turbidimetría: la turbidimetría en las pruebas de coagulación es un método que permite determinar el tiempo exacto que demora un plasma del paciente en coagular. La fuente de luz del equipo emite longitudes de 405 y 671 nm de longitud que pasan a través de la muestra en donde el fibrinógeno es convertido a fibrina generándose el coagulo, la formación del coagulo genera que menor luz se transmita del otro lado de la muestra, en último lugar la luz transmitida (densidad óptica) es detectada por un fotodetector que transforma la luz en una señal eléctrica. Finalmente es un software computacional

el que determina el punto de coagulación final de acuerdo con la intensidad de la señal emitida.

Medición Cromogénica a través de absorciometría: Se puede clasificar en dos tipos:

- Prueba directa: el analítico a medir (por ejemplo, proteína C) reacciona de manera directa con el sustrato sintético específico.
- Prueba indirecta: el analito a medir reacciona primero con una cantidad determinada de enzima para generar un producto inactivo (complejo), luego se mide la actividad enzimática residual con el sustrato enzimático.

En la muestra la reacción enzimática se mide por la formación del compuesto para-nitroanilina a una longitud de 405 nm. Este compuesto colorimétrico absorbe la luz que pasa a través del el, y la luz que transmite alcanza un detector óptico de luz que la transforma en señal eléctrica proporcional a la actividad enzimática del analito.

Medición inmunológica a través de la reacción antígeno-anticuerpo: Se utiliza para cuantificar directamente la cantidad del analito en la muestra y no su actividad (relacionado a su función) a través de la densidad óptica de la muestra en cuestión. El complejo antígeno-anticuerpo es el que interfiere en el paso de luz, en el equipo ACL TOP se usan en este ensayo longitudes de 405 y 671 nm. La luz es absorbida por el complejo en relación directa a su concentración y a la del analito en cuestión (menor luz detectada o más luz absorbida, mayor concentración del analito).

6.6. Brechas existentes en los estudios de coagulación y hemostasia disponibles en el laboratorio central del Hospital Guillermo Grant Benavente para el manejo y detección de coagulopatías en menores de 15 años.

Luego de analizar y comparar toda la información mostrada en los apartados anteriores, es decir comparar los estudios de coagulación que existen en el Hospital Guillermo Grant Benavente y los que se recomiendan en las Guías Clínicas disponibles en la literatura, existen brechas principalmente en cuanto a las pruebas necesarias para clasificar y confirmar los trastornos de coagulación congénitos que pueden afectar a la población pediátrica del servicio de Oncohematología Pediátrica, principalmente Enfermedad de von Willebrand y Hemofilia. Estos estudios son muy importantes para poder confirmar la presencia de la enfermedad es decir diagnosticar al paciente y por otra parte poder determinar el subtipo del trastorno, ya esto va a orientar al clínico a la mejor opción de tratamiento, optimizando los tiempos de respuesta.

Los estudios de coagulación que haría falta implementar en la sección de hematología para mejorar el diagnóstico y manejo de coagulopatías en el servicio de Oncohematología Pediátrica son los siguientes:

1. Analizador de función plaquetaria, PFA-100/200
2. Ensayo de Agregación plaquetaria inducida por ristocetina, RIPA
3. Ensayo de unión entre FvW y Colágeno, FvW: CB
4. Ensayo Bethesda Modificado
5. Citometría de flujo para marcadores plaquetarios
6. Agregometría plaquetaria

7. Cuantificación del Própeptido Factor von Willebrand (ppFvW)
8. Ensayo de unión entre FvW y FVIII, FvW: FVIII

Estos estudios de laboratorios serán retomados en la guía de recomendación que se entregara al Hospital Guillermo Grant Benavente en donde se describirán los aspectos técnicos y clínicos necesarios para implementarlos en la sección de hematología del Laboratorio clínico de este hospital.

7. DISCUSION

Una parte importante del diagnóstico de las Coagulopatías Hereditarias corresponde a la evaluación del paciente a través de pruebas de laboratorio clínico que consideran estudios de coagulación y análisis de la hemostasia primaria (Batle J et al., 2022). Junto al examen físico y el historial familiar del paciente, constituyen las únicas herramientas que existen en la actualidad para la confirmación de un trastorno de coagulación o problemas hemostáticos (Fowler A et al., 2015). Las Coagulopatías constituyen enfermedades raras en la población afectándolas en menos de un 1% a nivel mundial, sin embargo, se mantienen presentes en la población a lo largo del tiempo y la mayoría de los trastornos graves se manifiestan en el periodo neonatal o en primera infancia (Soo Yoon et al., 2020). Los signos y síntomas más frecuentes corresponden a Petequias, Equimosis, Hematomas, Hemorragias articulares, Sangrados intestinales y purpuras tanto en adultos como en niños. Los estudios de coagulación se enfocan en analizar el correcto funcionamiento de la Hemostasia primaria en donde participan las plaquetas y la hemostasia secundaria en donde ocurre la cascada de coagulación, sin embargo, no existe una sin la otra y ambos procesos están interrelacionados (Denis et al., 2021). Las primeras pruebas de laboratorio eran muy artesanales y poco reproducibles ya que dependían del operador que las ejecutaba, actualmente los equipos automatizados permiten tener una alta reproducibilidad y disminuir los errores de pipeteo y adición de reactivos (Higgins et al., 2019).

Existe un control de calidad interno que se realiza diariamente para analizar la exactitud del método de medición y control de calidad externo para analizar la veracidad de los resultados, lo cual permite mantener un cierto nivel de calidad en el laboratorio clínico (Westgard, 1998).

Adicionalmente a las pruebas de coagulación clásicas, se añaden nuevas plataformas que permiten analizar la coagulación *in vivo*, acercándose un poco más a como ocurre el proceso fisiológico en nuestro organismo (Lenting, 2020). Estas herramientas incluyen estudios de Citometría de Flujo, Tromboelastografía y Agregación plaquetaria (Song, 2022) por nombrar algunas. Principalmente se enfocan en considerar el papel de las células en la hemostasia y como interactúan con los otros elementos plasmáticos de la sangre estos es, los factores de Coagulación. Las principales coagulopatías hereditarias corresponden a la Hemofilia A, Hemofilia B y Enfermedad von Willebrand (Mezzano et al., 2019), las cuales tienden a afectar más a hombres que a mujeres (Zaliuniene et al., 2014). La mayoría es diagnosticada en los primeros años de vida debido a emergencias hemorrágicas y moretones frecuentes sin explicación (Abdulsalam et al., 2021). Las sociedades científicas en sus guías de manejo de coagulopatías hereditarias promueven el uso de pruebas de coagulación adicionales para tipificar el trastorno hereditario de la mejor forma posible a pesar de que los recursos sean limitados, ya que esta es la única forma de abordar correctamente la enfermedad (Guías de Manejo de Coagulopatías Hereditarias FHM). Es en los servicios clínicos de Hematología en donde los niños menores de 15 años son atendidos si presentan sospechas de coagulopatías, y desde donde se solicitarán los estudios adecuados

para el diagnóstico, por lo que es realmente necesario que desde el laboratorio clínico exista un contante mejoramiento, en cuanto a los exámenes que se implementan ya que constituyen la principal área de apoyo al diagnóstico clínico. Finalmente, también se recomienda desde las sociedades científicas evaluar a niños y adolescentes con los valores de referencias acordes a su grupo poblacional ya que estos difieren de los valores en adultos y pueden hacer la diferencia entre un déficit o exceso de un factor de coagulación, estos valores deben determinarse dentro de una cantidad de individuos de este rango de edad y seleccionado de la población local.

8. CONCLUSION Y PROYECCIONES

A partir de todo el análisis bibliográfico e información recabada desde el hospital Guillermo Grant Benavente con respecto a los estudios de coagulación para el manejo de Coagulopatías en niños menores de 15 años se puede notar que aunque la cartera de pruebas ha mejorado en el último tiempo, todavía existen limitaciones para poder realizar un completo diagnóstico y monitoreo de estas enfermedades que son atendidas en el Servicio de Oncohematología Pediátrica, principalmente existen algunas limitaciones para el diagnóstico y manejo las Coagulopatías Hereditarias. Los estudios de coagulación que no están disponibles corresponden a los que se necesitan para poder clasificar el trastorno de coagulación, esto es, por ejemplo, la Enfermedad de von Willebrand, Hemofilia y trastornos plaquetarios congénitos. A partir de esta investigación se identificaron y seleccionaron que los siguientes estudios deberían ser incorporados a la cartera actual: Analizador de función plaquetaria (PFA-100), Agregación Plaquetaria inducida por Ristocetina (RIPA), Ensayo de unión entre FvW y Colágeno (FvW: CB), Ensayo Bethesda Modificado, Citometría de flujo para marcadores plaquetarios y Agregometría plaquetaria con distintos agonistas.

Con estos nuevos estudios de coagulación y hemostasia, los especialistas del servicio clínico contarían con la información suficiente para el diagnóstico y clasificación del trastorno de coagulación. Los pacientes objetivo, que en este caso son niños pequeños o adolescentes están al cuidado de su padres y familiares, por lo que cualquier procedimiento involucrara a todos sus

participantes. Tener la cartera más completa posible dentro del mismo hospital (Laboratorio Central) beneficiara no solo al paciente afectado sino también a su familia, permitiendo disminuir al mínimo las derivaciones por análisis especializados que no se realizan en el recinto hacia otros laboratorios que si los realizan y que hacen que el paciente y su familia deban trasladarse hasta ese laboratorio. Por otro lado, muchos de los estudios de coagulación que se derivan desde el Servicio de Oncohematología Pediátrica, debido al traslado de la muestra y luego procesamiento de esta, toman un tiempo considerable en obtener un resultado final, lo cual disminuye entonces la oportunidad del paciente a ser tratado dentro de un periodo razonable de acuerdo con los estándares de calidad. Por último cabe destacar que este trabajo de investigación final de Internado aunque no pretende generar la implementación final de los estudios indicados en la Guía de recomendación para pruebas de coagulación, si busca ser una fuente de apoyo e información útil que pueda servir como base de consulta para las mejoras que se pretendan instaurar en el laboratorio clínico del Hospital Guillermo Grant Benavente contribuyendo a mejorar así, el Diagnostico y manejo de Coagulopatías Hereditarias en el Servicio de Oncohematología Pediátrica.

9. GLOSARIO

ACL-TOP: *Analyzer Coagulation Laboratory TOP*

ADAMTS13: Una desintegrina y metaloproteinasa con motivo trombospondina tipo 1, número 13

ADP: Adenosín Difosfato

AP: Atención Primaria

aPL: Anticuerpos Antifosfolípidos

ATIII: Antitrombina III

CECOF: Centro Comunitario de Salud Familiar

CESFAM: Centro de Salud Familiar

CID: Coagulación Intravascular Diseminada

DD: Dímero D

DDAVP: Desmopresina

EP: Epinefrina

EvW: Enfermedad de von Willebrand

FDA: *Food and Drugs Administration*

FI: Factor de coagulación I o Fibrinógeno

FII: Factor de coagulación II o Protrombina

FIII: Factor de Coagulación III o Factor tisular/Tromboplastina

FIV: Factor de coagulación IV o Calcio

FIX: Factor de coagulación IX o Factor B antihemofílico o Christmas

FV: Factor de coagulación V o Proacelerina o factor Lábil

FVII: Factor de coagulación VII o Proconvertina

FVIII: Factor de coagulación VIII o Factor A antihemofílico

FVIII:C: Ensayo de actividad Coagulante del factor viii

FVIII:C1: Ensayo de actividad en una etapa del Factor VIII

FVW: Factor von Willebrand

FvW:Ag: Ensayo Antigénico del Factor von Willebrand

FvW:Bc: Ensayo de unión del Factor von Willebrand al Colágeno

FVW:C-*chr*: Ensayo Cromogénico de actividad del Factor von Willebrand

FvW:CoR: Ensayo de función inducido por el Cofactor Ristocetina

FX: Factor de coagulación X o Stuart-Prower

FXI: Factor de Coagulación XI o Antecedente de tromboplastina plasmática

FXII: Factor de coagulación XII o Hageman

FXIII: Factor de Coagulación XIII o estabilizador de la fibrina

GPI: Glicoproteína plaquetaria I

GPIba: Glicoproteína plaquetaria Ib alfa

GPIb-IX: Glicoproteína Ib y IX

GPIb-IX-V: Complejo plaquetario formado por las glicoproteínas Ib, IX y V

GPII-GPIII: Complejo de Glicoproteínas plaquetarias II y III

ITP: *Idiopathic Thrombocytopenic Purpura*

MAMP: Multímeros de Alto peso molecular

PDFS: Productos degradación de fibrinógeno

PFA-100: *Platelet Función Analizador 100*

PLT: Plaquetas

PpFvW: Própeptido del Factor von Willebrand

Pro-FvW: Própetido del Factor von Willebrand

PSR: Posta de Salud Rural

TP: Tiempo de Protrombina

TPPA: Tiempo de Tromboplastina Parcial Activado

TXA2: Tromboxano A2

UKHCDO: *United Kingdom Haemophilia Centre Doctors' Organisation*

VWD: *von Willebrand Disease*

VWF: von Willebrand Factor

WAS: *Wiskott-Aldrich Disease* o trastorno de Wiskott-Aldrich

WFH: *World Federation of Hemophilia*

δSPD: Deficiencia del Pool de Gránulos Densos plaquetarios o Delta

10. BIBLIOGRAFIA

- 1- Aledort, L. Mannucci P.M, Schramm W, Tarantino M. (2019). Factor VIII replacement is still the standard of care in haemophilia A. *Blood Transfus.:* 479-486.
- 2- AL-Zuhairy, S. H. (2021). Late vitamin K deficiency bleeding in infants: five-year prospective study. *Jornal de Pediatria.* 97(5), 514-519.
- 3- Baglin, T. (2005). Acquired bleeding disorders. *Clinical Medicine*, 5(4), 326-328.
- 4- Bertina, R. M., Koeleman, B. P. C., Koster, T., Rosendaal, F. R., Dirven, R. J., de Ronde, H., van der Velden, P. A., & Reitsma, P. H. (1994). Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature*, 369(6475), 64-67.
- 5- Blanchette VS, Key NS, Ljung LR, Manco Johnson MJ, van den Berg HM, Srivastava A, et al. (2014). Definitions in hemophilia: communication from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost.*
- 6- Boender, J., Kruip, M., & Leebeek, F. (2016). A diagnostic approach to mild bleeding disorders. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 14(8), 1507-1516.
- 7- Brown, A. C., & Levy, J. H. (2019). Maintaining Hemostatic Balance in Treating Disseminated Intravascular Coagulation. *Anesthesiology*, 131(3), 459-461.
- 8- Butenas, Mann, & Butenas. (2002). Blood Coagulation. *Biochemistry (Moscow)*. 67(1), 3-12.
- 9- Carubbi, Cecilia, Masselli, Elena, Nouvenne, Antonio, Russo, Domenico, Galli, Daniela, Mirandola, Prisco, Gobbi, Giuliana and Vitale, Marco. (2014)

"Laboratory diagnostics of inherited platelet disorders" *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, vol. 52, pp. 1091-1106.

- 10-Chapin, J. C., & Hajjar, K. A. (2015). Fibrinolysis and the control of blood coagulation. *Blood Reviews*, 29(1), 17-24.
- 11-Dautaj A, Krasi G, Bushati V, Precone V, Gheza M, Fioretti F, Sartori M, Costantini A, Benedetti S, Bertelli M.(2019). Hereditary thrombophilia. *Acta Biomed*, 30;90(10-S):44-46.
- 12-Denis, C. V., Susen, S., & Lenting, P. J. (2021). von Willebrand disease: what does the future hold? *Blood*, 137(17), 2299-2306.
- 13-Dupuis, A., Bordet, J. C., Eckly, A., & Gachet, C. (2020). Platelet δ -Storage Pool Disease: An Update. *Journal of Clinical Medicine*, 9(8), 2508.
- 14- Federación Mundial de Hemofilia. (2021). Informe de la Federación Mundial de Hemofilia, Sondeo Mundial Anual. Página Web: www.wfh.org
- 15-Ghassemi, K. A., & Jensen, D. M. (2013). Lower GI Bleeding: Epidemiology and Management. *Current Gastroenterology Reports*, 15(7).
- 16-Giordano, P., Franchini, M., Lassandro, G., Faienza, M., Valente, R., & Molinari, A. (2013). Issues in pediatric haemophilia care. *Italian Journal of Pediatrics*, 39(1), 24.
- 17-Goodeve A, James P. (2009). von Willebrand Disease. En el libro: Adam MP, Everman DB, Mirzaa GM, et al., editors. *GeneReviews*® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2023.Disponible de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7014/>

- 18-Goodeve AC. (2010). The genetic basis of von Willebrand disease. *Blood Rev*; 24:123–34.
- 19-Greaves M, Watson HG. (2007). Approach to the diagnosis and management of mild bleeding disorders. *J Thromb Haemost*. Suppl 1:167-74.
- 20-Grover, S. P., & Mackman, N. (2019). Intrinsic Pathway of Coagulation and Thrombosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 39(3), 331-338.
- 21- Guía descriptiva. Funcionamiento y característica Equipo ACL TOP FAMILY de la FDA.
- 22-Hajjar KA. (2014). The molecular basis of fibrinolysis. En el libro: Hematology of Infancy and Childhood. 8. Philadelphia de los autores Nathan y Col. *Saunders/ElsevierOrkin SA*.
- 23-Ho, K. M., & Pavey, W. (2017). Applying the Cell-Based Coagulation Model in the Management of Critical Bleeding. *Anaesthesia and Intensive Care*, 45(2), 166-176.
- 24-Hoffman M., Monroe DM. (2001). 3rd A cell-based model of hemostasis. *Thromb Haemost*; 85: 958–965.
- 25-Hoffman, M. (2003). Remodeling the Blood Coagulation Cascade. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*, 16(1/2), 17-20.
- 26-Huth-Kuhne, A., Baudo, F., Collins, P., Ingerslev, J., Kessler, C. M., Levesque, H., Castellano, M. E. M., Shima, M., & St-Louis, J. (2009). International recommendations on the diagnosis and treatment of patients with acquired hemophilia A. *Haematologica*, 94(4), 566-575.

- 27-Jadaon, M. M. (2011). Epidemiology of Prothrombin G20210A Mutation in the Mediterranean Region. *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases*, 3(1), e2011054.
- 28-Kaneko, T., & Wada, H. (2011). Diagnostic Criteria and Laboratory Tests for Disseminated Intravascular Coagulation. *Journal of Clinical and Experimental Hematopathology*, 51(2), 67-76.
- 29- Kitechen S, McCraw A y Echenagucia M. (2010). Segunda Edición: Diagnostico de Hemofilia y otros trastornos de la Coagulación. Federación Mundial de Hemofilia en representación del Comité de Ciencias del laboratorio de la FMH.
- 30-Konkle, B. A., Johnsen, J. M., Wheeler, M., Watson, C., Skinner, M., & Pierce, G. F. (2018). Genotypes, phenotypes and whole genome sequence: Approaches from the My Life Our Future haemophilia project. *Haemophilia*, 24, 87-94.
- 31-Lenting, P. J. (2020). Laboratory monitoring of hemophilia A treatments: new challenges. *Blood Advances*, 4(9), 2111-2118.
- 32-López, J. A., & Berliner, N. (2017). Introduction to a series of reviews on clinical platelet disorders. *Blood*, 129(21), 2821-2822.
- 33-Matowicka-Karna, J. (2016). Markery zapalenia, aktywacja płytek krwi i zaburzenia krzepnięcia w chorobach zapalnych jelit. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 70, 305-312.
- 34-McGlennen, R. C., & Key, N. S. (2002). Clinical and Laboratory Management of the Prothrombin G20210A Mutation. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 126(11), 1319-1325.
- 35-Menegatti, M., & Peyvandi, F. (2019). Treatment of rare factor deficiencies other than hemophilia. *Blood*, 133(5), 415-424.

- 36-Neuenfeldt, F. S., Weigand, M. A., & Fischer, D. (2021). Coagulopathies in Intensive Care Medicine: Balancing Act between Thrombosis and Bleeding. *Journal of Clinical Medicine*, 10(22), 5369.
- 37-Nichols, W. C., & Ginsburg, D. (1997). von Willebrand Disease. *Medicine*, 76(1), 1-20.
- 38- Nurden, A. (2005). Qualitative disorders of platelets and megakaryocytes. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 3(8), 1773-1782.
- 39-Nurden, A., & Nurden, P. (2011). Advances in our understanding of the molecular basis of disorders of platelet function. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 9, 76-91.
- 40-Cervera, B y Álvarez, M. (2018, 23 octubre). Fisiopatología y trastornos de la coagulación hereditarios más frecuentes. *Pediatría integral*. Obtenido de: <https://www.pediatriaintegral.es/publicacion-2016-06/fisiopatologia-y-trastornos-de-la-coagulacion-hereditarios-mas-frecuentes-2/>
- 41-Palma-Barqueros, V., Revilla, N., Sánchez, A., Zamora Cánovas, A., Rodríguez-Alén, A., Marín-Quílez, A., González-Porras, J. R., Vicente, V., Lozano, M. L., Bastida, J. M., & Rivera, J. (2021). Inherited Platelet Disorders: An Updated Overview. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9), 4521.
- 42-Payne, J. (2017, 28 febrero). Bleeding Disorders. Obtenido de: <https://patient.info/doctor/bleeding-disorders>
- 43-Periayah MH, Halim AS, Mat Saad AZ. (2017) Mechanism Action of Platelets and Crucial Blood Coagulation Pathways in Hemostasis. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res*

- 44-Peyvandi, F., Palla, R., Menegatti, M., y Colaboradores. (2012). Coagulation factor activity and clinical bleeding severity in rare bleeding disorders: results from the European Network of Rare Bleeding Disorders. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 10(4), 615-621.
- 45-Pham, A., & Wang, J. (2007). Bernard-Soulier Syndrome: An Inherited Platelet Disorder. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 131(12), 1834-1836.
- 46-Pio, S. F., Oliveira, G. C. D., & Rezende, S. M. (2009). As bases moleculares da hemofilia A. *Revista da Associação Médica Brasileira*, 55(2), 213-219.
- 47-Popescu, N. I., Lupu, C., & Lupu, F. (2022). Disseminated intravascular coagulation and its immune mechanisms. *Blood*, 139(13), 1973-1986.
- 48-Preston FE, Kitchen S, Jennings I, Woods TA, Makris M.(2004). SSC/ISTH classification of hemophilia A: can hemophilia center laboratories achieve the new criteria? *J Thromb Haemost*.2(2):271-4.
- 49- Rocha, P., Carvalho, M., Lopes, M., & Araújo, F. (2015). Costs and utilization of treatment in patients with hemophilia. *BMC Health Services Research*, 15(1).
- 50-Rodeghiero, F., Stasi, R., Gernsheimer, T., Michel, M., Provan, D., Arnold, D. M., Bussel, J. B., Cines, & George, J. N. (2009). Standardization of terminology, definitions and outcome criteria in immune thrombocytopenic purpura of adults and children: report from an international working group. *Blood*, 113(11),2386-2393.
- 51-Romano, C., Oliva, S., Martellosi, S., Miele, E., Arrigo, S., Graziani, M. G., Cardile, S., Gaiani, F., de'Angelis, G. L., & Torroni, F. (2017). Pediatric gastrointestinal bleeding: Perspectives from the Italian Society of Pediatric Gastroenterology. *World Journal of Gastroenterology*, 23(8), 1328.

- 52-Rosendorff, A., & Dorfman, D. M. (2007). Activated Protein C Resistance and Factor V Leiden: A Review. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 131(6), 866-871.
- 53-Ruggeri, Z. M. (1997). von Willebrand factor. *Journal of Clinical Investigation*, 99(4), 559-564.
- 54-Ruiz-Argüelles, G. J., & Gomez-Almaguer, D. (2021). Perspectives in Diagnosis and Therapeutics in Hematology. *Revista de investigacion Clinica*, 73(5).
- 55-Sandrock, K., & Zieger, B. (2010). Current Strategies in Diagnosis of Inherited Storage Pool Defects. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*, 37(5), 4-4.
- 56-Sato, K., Katori, N., Suga, Y., Kiyama, S., & Uezono, S. (2020). Coagulation assessment with thromboelastography during abdominal endovascular aneurysm repair in a patient with hemophilia A. *JA Clinical Reports*, 6(1).
- 57-Schramm W. (2014). The history of haemophilia - a short review. *Thromb Res.*;134 Suppl 1:S4-9. Epub 2014 Feb 7.
- 58-Smith S.A.(2009). The cell-based model of coagulation. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)*; 19: 3–10.
- 59-Srivastava A, Kitchen S y Col. (2019). Guía para el diagnóstico y monitoreo de Hemofilia. Tercera Edición. Federación Mundial de Hemofilia
- 60-Staudinger, T., Locker, G., & Frass, M. (1996). Management of Acquired Coagulation Disorders in Emergency and Intensive-Care Medicine. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 22(01), 93-104.

- 61-Terrell, D. R., Beebe, L. A., Vesely, S. K., Neas, B. R., Segal, J. B., & George, J. N. (2010). The incidence of immune thrombocytopenic purpura in children and adults: A critical review of published reports. *American Journal of Hematology*, NA-NA.
- 62-Thachil, J. (2022). The problem with coagulopathy. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 20(10), 2171-2172.
- 63-Trevisan, B., Morsi, A., Aleman, J., Rodriguez, M., Shields, J., Meares, D., Farland, A. M., Doering, C. B., Spencer, H. T., Atala, A., Skardal, A., Porada, C. D., & Almeida-Porada, G. (2021). Effects of Shear Stress on Production of FVIII and vWF in a Cell-Based Therapeutic for Hemophilia A. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9.
- 64-Van Cott, E. M., Khor, B., & Zehnder, J. L. (2015). Factor V Leiden. *American Journal of Hematology*, 91(1), 46-49.
- 65-Wada, H., Matsumoto, T., & Yamashita, Y. (2014). Diagnosis and treatment of disseminated intravascular coagulation (DIC) according to four DIC guidelines. *Journal of Intensive Care*, 2(1).
- 66-Weyand, A. C., & Flood, V. H. (2021). Von Willebrand Disease. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, 35(6), 1085-1101.
- 67-Yoon, H. S., Han, Y., Kim, Y. J., Kim, M. J., Byun, J. M., Youk, T., Lee, J. H., Park, T. S., & Yoo, J. (2020). Epidemiology of Congenital Bleeding Disorders: a Nationwide Population-based Korean Study. *Journal of Korean Medical Science*, 35(39).
- 68-Zaliuniene R, Peciuliene V, Brukiene V, Aleksejuniene J. (2014). Hemophilia and oral health. *Stomatologija*.;16(4):127-31.

