



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

División De Estudios De Posgrado

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

CENTRO MEDICO NACIONAL DE OCCIDENTE

HOSPITAL DE PEDIATRIA

SUBDIRECCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN

DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN

TÍTULO

**“ESTUDIO DE GENERACIÓN DE TROMBINA PARA LA
EVALUACIÓN DE PROFILAXIS EN PACIENTES CON HEMOFILIA A
GRAVE”.**

Para obtener el título de sub-especialista en:
HEMATOLOGÍA PEDIÁTRICA

Presenta

DRA. MARÍA ISABEL CADENA DE AQUINO

Director de tesis

DRA. JANET MARGARITA SOTO PADILLA

Asesor Metodológico

DRA. ANA REBECA JALOMA CRUZ

Guadalajara, Jalisco a 24 de Febrero 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INVESTIGADORES:

INVESTIGADOR PRINCIPAL:

Dra. María Isabel Cadena De Aquino.
Residente de la Subespecialidad en Hematología Pediátrica.
UMAE, Hospital de Pediatría, CMNO, IMSS, Guadalajara, Jalisco.
Correo electrónico: isacadenadaquino@gmail.com

INVESTIGADOR RESPONSABLE:

Dra. Janet Margarita Soto Padilla
Médico subespecialista en Hematología Pediátrica.
Titular del curso de Hematología Pediátrica, UMAE, Hospital de Pediatría, CMNO,
IMSS, Guadalajara, Jalisco.
Correo electrónico: sirenajanet@hotmail.com

INVESTIGADORES ASOCIADOS

Dra. Ana Rebeca Jaloma Cruz.
Doctora en Genética Humana.
División de Genética, Centro de Investigación Biomédica de Occidente.
Guadalajara, Jalisco.
Correo electrónico: arjaloma@gmail.com

Dra. Hilda Luna Záizar
Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías/Dept. Química
Universidad de Guadalajara
Guadalajara, Jalisco.
Correo electrónico: hiluna90@yahoo.com.mx

AGRADECIMIENTOS:

A la Vida, por ponerme en el lugar y el momento perfecto para poder concretar las metas que iniciaron como un sueño y el día de hoy florecen.

A mis Padres: C.P. y E.F Sergio de Jesús Cadena Hernández y María Isabel De Aquino Rizo, por tomar mi mano y guiar mis primeros pasos, enseñarme no sólo a caminar, sino a seguir el camino hacia un futuro de éxito, por sostenerme para que no cayera y por impulsarme cuando estuve a punto de rendirme, por el incondicional amor que me tienen, los amo.

A mis hermanos: Susana María, Sergio de Jesús y Carlos de Jesús, saben que son mi complemento, gracias por entender mi ausencia, no imagino una vida sin ustedes.

A mis amores chiquitos Renata Armendáriz Hernández y Sergio Alejandro Cadena Escobedo, han llegado a iluminar mi vida en los momentos precisos, siempre estaré para ustedes.

A mi familia: mis abuelos que nos cuidan desde las alturas, los pilares de esta pequeña pero gran familia. Y a quienes tengo la dicha de disfrutar, siempre gracias por la confianza, por las porras, por alegrarme cada vez que podemos estar juntos.

A mis maestros: gracias por cada una de sus enseñanzas, por la paciencia, por los momentos compartidos, por enseñarme a amar esta profesión.

A los niños: pequeño guerreros, que nos regalan día a día una sonrisa, por el cariño incondicional que nos brindan, y sobre todo por enseñarnos a luchar y no dejar de soñar a pesar de las adversidades.

A todas y cada una de las personas que en este tiempo han formado parte de mi vida, a quienes no sólo fueron compañeros sino familia, a quienes compartieron e iniciaron este sueño junto a mí, gracias.

Porque no cabe duda que si he llegado a conquistar el horizonte es porque me he parado en hombros de gigantes.

Contenido

Abreviaturas.....	06
Resumen.....	08
1. Antecedentes.....	13
1.1 Historia.....	13
1.2 Características generales.....	14
1.3 Modelo celular de la coagulación.....	15
1.4 Estadísticas.....	17
1.5 Características clínicas de la Hemofilia.....	17
1.6 Diagnóstico.....	19
1.6.1 Diagnóstico molecular de la prueba de portadora.....	19
1.6.2 Ensayo de generación de trombina.....	20
1.7 Tratamiento de la Hemofilia.....	22
2. Marco de referencia.....	29
3. Planteamiento del problema.....	30
4. Justificación.....	31
4.1 Magnitud.....	31
4.2 Trascendencia.....	32
4.3 Factibilidad.....	32
5. Objetivos.....	33
5.1 Objetivo general.....	33
5.2 Objetivo específico.....	33
6. Hipótesis de la investigación.....	34
7. Diseño del estudio.....	35
7.1 Participantes.....	35

7.2 Material e instrumento.....	35
8. Material y métodos.....	37
8.1 Tipo de estudio.....	37
8.2 Universo de estudio.....	37
8.3 Tamaño de la muestra.....	37
8.4 Sede.....	37
8.5 Criterios de inclusión.....	37
8.6 Criterios de exclusión.....	37
8.7 Muestreo y tipo de muestreo.....	37
9. Definición de variables.....	38
9.1 Variable dependiente.....	38
9.2 Variable independiente.....	38
10. Análisis de datos.....	40
10.1 Análisis estadístico.....	40
11. Aspectos éticos.....	41
12. Recursos.....	42
13. Resultados.....	43
14. Discusión.....	54
15. Conclusión.....	57
16. Cronograma de actividades.....	58
17. Bibliografía.....	59
18. Anexos.....	61
18.2 Consentimiento informado.....	61
18.3 Hoja de recolección de datos.....	64

ABREVIATURAS

HA	Hemofilia A.
FVIII	Factor VIII.
TH	Tiempo de hemorragia.
TTPa	Tiempo de tromboplastina parcial activada
TP	Tiempo de protrombina.
FVIII:C	Factor VIII (ocho) coagulante.
FIX:C	Factor IX (nueve) coagulante.
EGT	Ensayo de generación de trombina.
ETP	Potencial endógeno de trombina.
HIV	Virus de inmunodeficiencia humana.
PFC	Plasma fresco congelado.
FT	Factor tisular.
FVII	Factor VII (siete).
FVIIa	Factor VII (siete) activado.
FVIIIa	Factor VIII (ocho) activado.
FIXa	Factor IX (nueve) activado.
FX	Factor X (diez)

FXa	Factor X (diez) activado.
FV	Factor V (cinco).
FVa	Factor V (cinco) activado.
FVIIr	Factor VII (siete) recombinante
rFVIII	Factor VIII (ocho) recombinante.
SNC	Sistema Nervioso Central.
CIBO	Centro de Investigación Biomédica de Occidente.
CMNO	Centro Médico Nacional de Occidente.
IVFT	Inhibidor de la vía del Factor Tisular.

RESUMEN

TÍTULO:

“ESTUDIO DE GENERACIÓN DE TROMBINA PARA LA EVALUACIÓN DE PROFILAXIS EN PACIENTES CON HEMOFILIA A GRAVE”.

ANTECEDENTES.

La hemofilia A es una enfermedad de origen genético, con un patrón de herencia recesivo y ligado al cromosoma X, en el cual se encuentra el gen que codifica el factor VIII de la coagulación. La enfermedad se clasifica de acuerdo al porcentaje de actividad coagulante del factor deficiente de la siguiente manera: Grave: <1%; Moderada: entre 1-5%; Leve entre 5-40%. En México se encuentran registrados 5221 pacientes con hemofilia, y 1092 mujeres portadoras; sin embargo de acuerdo a la estimación de varones en la población mexicana, deben existir alrededor de 7000 pacientes con hemofilia. En la actualidad, se carece de métodos de laboratorio adecuados para monitorización del tratamiento profiláctico que reciben los pacientes con hemofilia; es por eso que nace la necesidad de este proyecto de investigación con la finalidad de describir las características clínicas de la población a estudiar en torno a la presentación de eventos hemorrágicos y el tipo de tratamiento que reciben. Se realizó la determinación del EGT en pacientes pediátricos con HA grave en profilaxis secundaria, con la finalidad de conocer su estado hemostático basal y en respuesta al tratamiento profiláctico. El EGT se realizó también en población pediátrica sin alteraciones hemorrágicas a efecto de establecer valores pediátricos de referencia que se contrasten con los parámetros de los pacientes con hemofilia grave para establecer valores terapéuticos óptimos. Se evaluó la utilidad de los parámetros del EGT para monitorización de la terapia farmacológica instalada, con el objetivo final de incidir en medidas de optimización del tratamiento y de ser necesario, realizar cambios en la modalidad terapéutica de manera oportuna con impacto en la morbi-mortalidad, calidad de vida y costo institucional.

JUSTIFICACIÓN.

La generación de trombina ha demostrado, que refleja el potencial de coagulación y los niveles de los factores deficientes en pacientes con hemofilia A. Estos métodos podrían ayudarnos a predecir si posterior a la administración de concentrado de factor deficiente se mejora la hemostasia además de permitirnos medir el tiempo de efecto del medicamento, y con ello optimizar las dosis de factor necesario para cada paciente.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.

¿La generación de trombina puede predecir la respuesta al tratamiento con factor VIII, en pacientes con hemofilia A grave, que reciben terapia profiláctica, en la UMAE, Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional de Occidente?

OBJETIVO GENERAL.

Identificar los parámetros del ensayo de la generación de trombina que son predictores de la respuesta a la profilaxis secundaria en pacientes con hemofilia A grave de 8 a 15 años de edad.

OBJETIVOS ESPECIFICOS:

Conocer la frecuencia de los eventos hemorrágicos en pacientes pediátricos con hemofilia A grave, que reciben profilaxis secundaria de 8 a 15 años de edad.

Identificar los niveles de factor VIII basales y después de 1 hora y 48 horas posteriores al tratamiento con profilaxis secundaria en los pacientes con HA grave.

Determinar los parámetros de la generación de trombina en los pacientes con hemofilia A grave en condiciones basales y posteriores al tratamiento de profilaxis secundaria.

Evaluar el nivel hemostático en los pacientes con HA grave de acuerdo a la modalidad terapéutica de dosis recibidas de factor VIII, para determinar si alcanzan parámetros adecuados o si sus dosis son insuficientes o excesivas.

HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN.

Los parámetros del ensayo de generación de trombina en pacientes con hemofilia A grave en profilaxis secundaria reflejan su estado hemostático basal y el efecto terapéutico, en relación a los niveles de actividad del factor VIII así como a sus parámetros clínicos de tendencia hemorrágica.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Diseño de estudio:

Longitudinal y analítico.

Universo de estudio:

Pacientes de 8 a 15 años 11 meses de edad, con hemofilia A grave, atendidos en el Centro Médico Nacional de Occidente, Hospital de Pediatría, Guadalajara, Jalisco que se encuentran en tratamiento con profilaxis secundaria de 01 de enero de 2014 hasta el 30 de enero del 2016.

Criterios de inclusión:

Pacientes con diagnóstico de hemofilia A grave, de 8 a 15 años 11 meses de edad, que aceptaron la participación en el estudio previa firma de consentimiento informado por sus padres o tutores y a quienes se cuantificó el porcentaje de actividad del factor VIII, en el laboratorio del Hospital de Pediatría, CMN. Dichos pacientes se manejan bajo dos tipos de esquemas profilácticos de acuerdo a su comportamiento hemorrágico y la ponderación de costos institucionales, incluyendo:

Profilaxis secundaria de acuerdo al esquema Sueco con dosis de reemplazo de factor VIII de 25 a 40U/Kg dos veces por semana.

Profilaxis secundaria de acuerdo al esquema Holandés con dosis de reemplazo de factor VIII de 15 a 25 U/Kg dos veces por semana.

Criterios de no inclusión:

Pacientes con diagnóstico de hemofilia A grave menores de 8 años de edad, en seguimiento y tratamiento en el Centro Médico Nacional de Occidente, Hospital de Pediatría, del área de Hematología.

Pacientes con diagnóstico de hemofilia A grave, mayores de 15 años 11 meses de edad, derechohabientes del IMSS.

Pacientes con diagnóstico de hemofilia A grave, que se encuentren recibiendo profilaxis primaria o tratamiento a demanda.

Pacientes con diagnóstico de hemofilia A grave, con inhibidor positivo de alta o baja repuesta.

Pacientes con diagnóstico de hemofilia A grave no derechohabientes de IMSS.

ASPECTOS ÉTICOS.

Los procedimientos propuestos están de acuerdo con las normas éticas, el reglamento de la ley general de salud en materia de investigación para la salud y con la declaración de Helsinki de 1975 enmendada en 1989, y códigos y normas internacionales vigentes de las buenas prácticas médicas de la investigación clínica. Se cuidó la seguridad y bienestar de las pacientes, respetándose los principios contenidos en el código de Núremberg, el informe Belmont y el código de reglamentos federales. El presente estudio requiere autorización de consentimiento informado (anexo 1) debido a que se realizó extracción sanguínea mediante venopunción con riesgos leves inherentes al procedimiento como sangrado local, dolor local, hematomas y punciones múltiples para localización de la vena.

PROCEDIMIENTO METODOLOGICO.

Una vez seleccionados los pacientes que reciben profilaxis secundaria en base al esquema Sueco y al esquema Holandés se consideró como un solo grupo para el análisis individualizado de sus parámetros basales y posteriormente a la administración de tratamiento. Previa firma de autorización de consentimiento informado por sus padres o tutores, se realizó un cuestionario elaborado por el investigador para recolección de datos sociodemográficos y características clínicas en torno a eventos hemorrágicos. Posteriormente bajo asepsia y antisepsia se realizó la toma de las muestras sanguíneas mediante venopunción con recolección de tres tubos con citrato de sodio 109 mM con 4.5 ml de sangre por tubo para la obtención de los valores de coagulación basales de los pacientes: uno para la medición del TP, TTPa y FVIII:C y dos para la obtención de plasma pobre en plaquetas para la realización de la prueba de generación de trombina. Se procedió a aplicar la dosis de factor VIII, correspondiente a la profilaxis secundaria. Una hora después de la aplicación del factor VIII, nuevamente bajo asepsia y antisepsia se realizó la toma de muestras sanguíneas mediante venopunción con recolección de tres tubos con citrato de sodio 109 mM con 4.5 ml de sangre por tubo: uno para cuantificación de actividad del FVIII:C; y dos para la obtención de plasma pobre en plaquetas para la realización de la prueba de generación de trombina, para valorar el pico máximo de acción del medicamento administrado. A las 48 horas de la

aplicación del factor VIII se tomaron nuevamente bajo asepsia y antisepsia muestras sanguíneas mediante venopunción con recolección de tres tubos con citrato de sodio 109 mM con 4.5 ml de sangre por tubo: uno para la valoración de TP, TTPa y FVIII:C; y dos para la obtención de plasma pobre en plaquetas para la realización de la prueba de generación de trombina. Se realizó el análisis de generación de trombina mediante el ensayo de trombografía calibrada automatizada. La trombina generada es monitoreada sobre el tiempo utilizando un sustrato fluorogénico, y el trombograma producido mide varios parámetros incluyendo el tiempo de inicio (Lagtime), potencial endógeno de trombina (ETP) y pico (Peak). Para la obtención de los valores de referencia en población pediátrica y para contrastar los parámetros de generación de trombina de los pacientes con hemofilia en condiciones basales y en los dos tiempos seleccionados posteriores a la administración del tratamiento, se corrió simultáneamente una muestra de plasma normal de 15 pacientes pediátricos pareados por edad y género que cuentan con derechohabiencia y que no cursan con deficiencia de los factores VIII/IX (se eligieron aquellos con diagnóstico de neoplasia hematológica previa con más de un año de vigilancia). El plasmas se obtuvo cuando acudieron a realización de exámenes de escrutinio programados; con previa firma de autorización de consentimiento informado; mediante venopunción previo asepsia y antisepsia con toma de 2 tubos con citrato con aproximadamente 4.5 ml de sangre en cada tubo, para determinación de los parámetros de ensayo de generación de trombina.

ANALISIS ESTADISTICO:

Se analizaron los resultados obtenidos mediante el ensayo de generación de trombina con los obtenidos con el panel básico de coagulación y se correlacionarán con sus parámetros clínicos de tendencia al sangrado, serán capturados en Microsoff Office Excel 2007 y se realizará una estadística descriptiva con medidas de tendencia central y dispersión; para las variables cualitativas se utilizara Chi-cuadrada para variables cuantitativas.

RECURSOS E INFRAESTRUCTURA.

Recursos físicos:

Laboratorio de Hemostasia y Trombosis de la División de Genética del Centro de Investigación Biomédica de Occidente (CIBO) y Laboratorio de Hematología en IMSS U.M.A.E. Hospital de Pediatría, C.M.N.O.

Recursos materiales:

Computadora, hojas, bolígrafos, impresora, fotocopias. Equipo para realización de prueba de generación de trombina (centrífuga, congelador, incubadora, fluorómetro, software para análisis de datos, kits de reactivos para plasma pobre en plaquetas).

Recursos financieros:

Se llevará a cabo con recursos del Laboratorio de Hemostasia y Trombosis de la División de Genética del Centro de Investigación Biomédica de Occidente.

Recursos humanos:

Médico residente de 2do año Subespecialidad en Hematología Pediátrica en IMSS U.M.A.E. Pediatría, C.M.N.O y Dra. en Ciencias adscrita al Centro de Investigación Biomédica de Occidente, IMSS.

EXPERIENCIA DEL GRUPO:

Las doctoras en ciencias, Ana Rebeca Jaloma Cruz e Hilda Luna Záizar, (Asesoras en Metodología) con amplia experiencia en el diagnóstico de trastornos genéticos y pruebas funcionales de la hemostasia y trombosis, cuentan con publicaciones recientes en torno a Ensayo de Generación de Trombina. Departamento Hematología, UMAE Pediatría, C.M.N.O, IMSS con Profesor Titular en Subespecialidad Hematología Pediátrica, Dra. Janet Soto Padilla con amplia experiencia por más de 15 años en rubro de la Hemofilia, cuenta con publicaciones en torno a esta enfermedad, tratamiento y complicaciones. Médico residente de 2do año Hematología Pediátrica, Dra. María Isabel Cadena De Aquino.

RESULTADOS:

El ensayo de generación de trombina, hizo evidente los beneficios de la profilaxis secundaria en pacientes con hemofilia A grave, al demostrar que se logra mantener niveles hemostáticos de generación de trombina, lo cual fue confirmado con la disminución de la hemartrosis.

El parámetro de ensayo de generación de trombina que resultó el mejor predictor de la respuesta a la profilaxis en los pacientes con hemofilia, fue el ETP con resultado significativo $P=0.014$, a las 48 horas de administrada la dosis de FVIII. El ETP basal en promedio se mantuvo en 25% alcanzando un pico a la hora de 48%, para disminuir a las 48 horas al 30%, con respecto al plasma normal, esto se vio reflejado en la disminución de eventos de sangrado con resultado significativo $P=0.045$. El lagtime y el Peak no arrojaron resultados significativos.

CONCLUSIÓN:

El ensayo de generación de trombina demostró ser una prueba confiable para evaluar el estado hemostático de los pacientes con hemofilia A grave y su respuesta al tratamiento de profilaxis secundaria, siendo e ETP el parámetro más predictivo.

1. ANTECEDENTES

1.1 Historia:

En 1803 el médico estadounidense, originario de Filadelfia, llamado John Conrad Otto escribió un relato acerca de la disposición a eventos hemorrágicos en

algunas familias; reconoció que la condición afectaba sólo a los varones y concluyó que eran ellos quienes heredaban y expresaban esta enfermedad. El estudio lo realizó en Plymouth, New Hampshire en 1720, al estudiar tres generaciones de un paciente con eventos hemorrágicos (1). El uso del término hemofilia se atribuye a Schönlein en el 1820. La presencia de los tiempos de coagulación prolongados en un paciente hemofílico fue lo primero que se señaló en 1893 (2).

La hemofilia era conocida como la enfermedad real; esto se debe a la Reina Victoria de Inglaterra (1837-1901) quien era portadora de la enfermedad. Su octavo hijo Leopoldo era hemofílico y sufría hemorragias frecuentes (1). Leopoldo murió a los 31 años de edad, a causa de una hemorragia cerebral; tuvo una hija portadora Alice cuyo hijo hemofílico el vizconde Trematón, murió 1928 al igual que su padre de una hemorragia cerebral (1).

Las dos hijas de la Reina Victoria: Alicia y Beatriz eran portadoras, ellas son las encargadas de pasar la enfermedad a las familias reales de España y Alemania (1).

En la familia real Rusa también hay antecedentes de hemofilia: Alexandra nieta de la Reina Victoria era también portadora, se casó con Nicolás el Zar de Rusia en 1900, su primogénito Alexis era hemofílico (1), es sin duda el hemofílico más conocido de la historia.

En 1930 los médicos consideraron la causa de la hemofilia secundaria a un defecto de las plaquetas. En 1937 Patek y Taylor, dos médicos de Harvard, descubrieron que podían corregir el problema de coagulación mediante la adición de una sustancia que se extraía del plasma de la sangre; esta sustancia fue denominada globulina anti-hemofílica.

En 1944, Pavlosky, un médico de Buenos Aires, Argentina, hizo un análisis en la sangre de un hemofílico y observó que existían variantes de la enfermedad, lo que llevó al reconocimiento en 1952 de la hemofilia A y hemofilia B como dos enfermedades distintas (1). En esta misma época se utilizó el plasma fresco congelado (PFC) como primer tratamiento para la hemofilia. En 1965 fueron descubiertos los crioprecipitados, que sustituyeron al PFC como tratamiento de elección. En la década de los 70's, se aisló el FVIII, iniciándose con esto la terapia profiláctica en los pacientes con hemofilia. Con el uso de estos hemocomponentes, los pacientes con hemofilia en la década de los 80's se enfrentaron a nuevas complicaciones secundarias a los tratamientos, como fueron las infecciones transfusionales por Hepatitis C y VIH. De ahí surgió la necesidad de crear tratamientos seguros; en 1992 se inició la terapia recombinante, con lo que se disminuyó el riesgo de infecciones transfusionales. Actualmente se encuentra en investigación la terapia génica para estos pacientes (2).

La hemofilia es una enfermedad rara, lo que la lleva a no ser prioridad en países donde el gobierno tiene problemas de salud de mayor peso como es la

desnutrición, las enfermedades infecciosas, la tuberculosis, el HIV y la malaria como un ejemplo (3).

1.2 Características generales:

La hemofilia es una enfermedad hemorrágica hereditaria de transmisión recesiva, ligada al cromosoma X, caracterizada por la deficiencia de la actividad de dos factores de la coagulación: Factor VIII o Factor IX (2).

Se manifiesta clínicamente casi exclusivamente en los varones, las mujeres son portadoras, generalmente asintomáticas, aunque excepcionalmente habrá casos que manifiesten la enfermedad clínicamente (4). Existen casos en los que la mujer puede expresar la enfermedad, esto al combinarse una serie de factores como ser hija de madre portadora y padre hemofílico o por presentar ionización del cromosoma X.

En el 70% de los casos se observan antecedentes familiares del padecimiento y el otro 30% corresponde a casos esporádicos, que en un mínimo de los casos son consecuencia de una mutación *denovo* en el paciente, la cual surge en las tres última generaciones de los afectados y muy raramente en el mismo paciente, pudiendo ser determinado por la detección directa de la mutación por métodos de diagnóstico molecular (5).

El gen del Factor VIII (*F8*), está localizado en el cromosoma X, en la banda q28, y consta de 26 exones que abarca 186 933 pares de bases (pb). Los exones varían en tamaño de 69 pb (exón 5) a 3106 pb (exón 14); la gran mayoría constan de entre 69 y 250 pb de longitud. Los 25 intrones varían considerablemente en tamaño, que van desde 207 pb (intrón 17) a 32.849 pb (intrón 22) (6).

El patrón de mutación en la hemofilia, es de alto grado de heterogeneidad, en la ubicación y el tipo de mutación en el gen del Factor VIII. Más del 90% de las mutaciones se localizan en la región codificante y promotora, así como en los sitios de unión de intrón-exón (7).

La inversión del intrón 22 del gen del *F8*, es la mutación más común en la HA; es la causa más grave de la enfermedad debido a la inversión del gen en el intrón 22 y su interrupción del resto del gen, causada por una recombinación homóloga intracromosómica entre una región de 9.5 kb dentro del intrón 22 del gen *F8(int22h-)* y una de dos copias extragénicas situadas aproximadamente a 400-500 kb hacia la región telomérica. Este reordenamiento es responsable del 40-50% de los casos de HA grave. Un mecanismo similar en el intrón 1, es responsable del 1-5% de los casos severos (7).

Los defectos genéticos del Factor VIII asociados con la HA se pueden dividir en dos clases: a) Grandes reordenamientos del gen, inserciones, y supresiones, y b) Las pequeñas mutaciones que afectan sólo un pequeño número de nucleótidos.

Todos los tipos de defectos pueden resultar en una enfermedad grave, pero el único defecto clínicamente importante es un reordenamiento del gen (inversión) que implica al intrón 22 del Factor VIII (6).

La importancia del Factor VIII se encuentra en la acción que lleva a cabo en la coagulación sanguínea; que es una serie de pasos en los que zimógenos plasmáticos de proteasas de serina se transforman en enzimas activas. Estas enzimas actúan para convertir procofactores a cofactores, que se ensamblan en las superficies celulares. La naturaleza secuencial de las reacciones, en las que el producto sirve de sustrato a la siguiente enzima, que amplificará la velocidad global de la reacción. El evento final es la formación de trombina, que convierte al fibrinógeno, en un polímero insoluble, fibrina, que forma el coágulo (8).

La trombina es la molécula “clave” del mecanismo hemostático por sus múltiples funciones incluyendo actividades pro y anticoagulantes así como efectos pro-inflamatorios. La generación de trombina es una prueba de la capacidad hemostática de la sangre (9).

1.3 Modelo celular de la coagulación:

Para que se produzca una hemostasia eficaz deben cooperar diferentes tipos celulares. Las plaquetas suministran la superficie más eficiente para la generación de trombina; sin embargo, carecen de FT, y por ello no pueden iniciar la coagulación (10). Los monocitos, son capaces de ensamblar en su superficie al complejo activador del factor X y al complejo protrombinasa, por lo que en plasma, formándose el complejo FT/FVII, y la autoconversión catalítica del FVII a FVIIa amplifica la respuesta hemostática para generar más complejos FT/FVIIa. Iniciación: el complejo factor VIIa/FT inicia la coagulación activando tanto al factor IX como al factor X en una etapa inicial o de “activación o ignición”. Los factores IXa y Xa resultantes tienen funciones muy diferentes en las próximas reacciones. El FXa es necesario para que tenga lugar la activación plaquetaria, mientras que el FIXa se requiere para que tenga lugar una producción suficiente de trombina (10). Fig. 1 y 2. Esta fase de iniciación de la coagulación permite generar FXa, que a su vez genera pequeñas cantidades del FVa, formando así el complejo protrombinasa inicial que producirá trombina en microdosis en una fase de iniciación rápida.

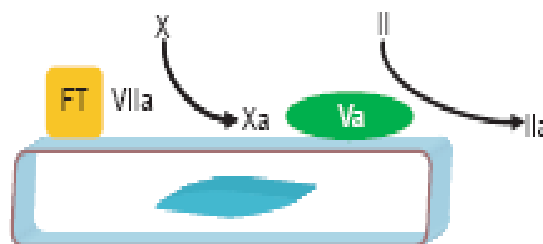


Fig. 1. Iniciación de la coagulación por el factor tisular (FT), el cual activa al factor X y al factor IX. El factor Xa permanece cerca del complejo FT/FVIIa y activa al Factor V. El complejo FXa/Va puede activar pequeñas cantidades de protrombina (II) en trombina.

Amplificación: la trombina generada sobre la superficie celular activa otros procesos enzimáticos tales como: activación del FV, FVIII, FXI y plaquetas. Esto permite integrar la fase de amplificación: FV, FVIII, FXI y plaquetas (10) Fig 3.

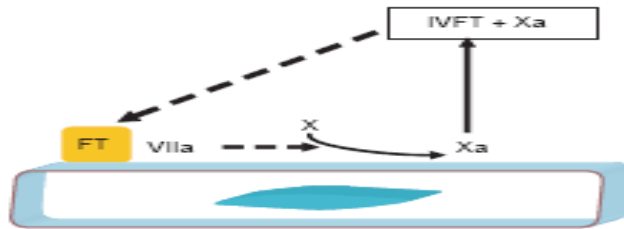


Fig. 2 El inhibidor de la vía del factor tisular (IVFT), forma un complejo inhibitorio con factor Xa y bloquea al factor tisular (FT) lo que inhibe la activación de factor Xa en un mecanismo de retroalimentación negativa. Sin embargo, las pequeñas cantidades de factor Xa generadas permiten la activación del factor V y la generación de la trombina

Propagación: El FIXa se encuentra mucho más capacitado para viajar a través de la fase fluida y formar complejos en la superficie plaquetaria, pues es inhibido más lentamente por la antitrombina y no es neutralizado por el IVFT. Así, el FIXa es capaz de mantenerse a la espera por más tiempo que el FXa, hasta que las plaquetas sean activadas y expresen lugares de unión específicos para el FIXa. El complejo IXa/VIIIa en la superficie plaquetaria proporciona un suministro continuo de FXa asociado con esta superficie, que a su vez posibilita el ensamblaje del complejo protrombinasa, el cual fomenta una generación explosiva de trombina. El FXa unido a la plaqueta en presencia de su cofactor el FVa convierte la protrombina en trombina en cantidades suficientes para generar la formación del coágulo de fibrina (10).

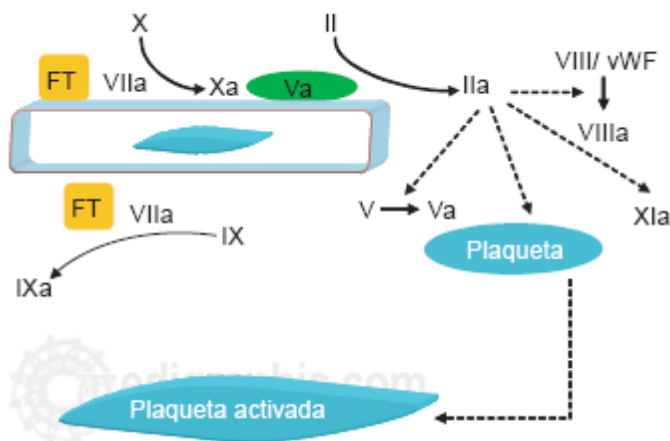


Fig. 3 La trombina generada por el complejo de activación FT/VIIa activa los factores V, VIII, XI y plaquetas, lo que proporciona la superficie catalítica y las proteínas de la coagulación indispensables para los subsiguientes procesos enzimáticos

1.4 Estadísticas:

La Federación Mundial de la Hemofilia informó en el 2013, a través del reporte Annual Global Survey, una incidencia de 176, 211 pacientes con diagnóstico de hemofilia, 140 313 con Hemofilia A y 28 430 con Hemofilia B, en 107 países, encuestados (11). De acuerdo con estas cifras, se calcula que en el mundo hay cerca de 400 000 personas con hemofilia y se estima una frecuencia mundial de 1 en 10 000 varones nacidos vivos de personas que padecen HA. En México se encuentran registrados 5221 pacientes con hemofilia, y 1092 mujeres portadoras (12); sin embargo de acuerdo a la estimación de varones en la población mexicana, deben existir alrededor de 7000 pacientes con hemofilia.

1.5 Características clínicas de la hemofilia:

Clínicamente la hemofilia A y B son indistinguibles. Se manifiesta a través de la aparición de hemorragias a cualquier nivel, con intensidad variable de acuerdo al nivel de factor alterado circulante en plasma.

La hemofilia se clasifica de acuerdo a la severidad de la deficiencia (porcentaje de actividad de los factores afectados) (13). Cuadro 1.

Cuadro 1. Clasificación de la Hemofilia.

CLASIFICACIÓN	FVIII:C/FIX:C NORMAL: 50-180%	MANIFESTACIONES CLÍNICAS
GRAVE	<0.01 UI/ml ó <1%	Hemorragias espontáneas en las articulaciones o músculos, primeros síntomas ante del 1er año de vida.
MODERADA	0.01 a 0.05 UI/ml ó 1-5%	Hemorragias prolongadas ante traumatismos o cirugías mayores.
LEVE	0.05 a 0.40 UI/ml ó >5%	Hemorragias ante traumatismos o cirugías. Las hemorragias espontaneas son poco frecuentes o ausentes.

La edad de inicio de los síntomas ocurre de acuerdo con la severidad de la enfermedad. Las hemorragias pueden aparecer en cualquier sitio anatómico, y en relación al sitio de sangrado y la intensidad es la gravedad clínica. Cuadro 2 (13).

La hemorragia cerebral de cualquier intensidad es la más grave debido a que es responsable del 70% de las muertes; no obstante el sello distintivo de la hemofilia es el sangrado en las articulaciones que es dolorosa y conduce a inflamación

crónica y a la destrucción de las articulaciones: la hemartrosis es la manifestación clínica más frecuente y característica de la enfermedad.

La frecuencia de las hemorragias de acuerdo a su localización son en un 70-80% hemartrosis, más frecuentes en articulaciones en bisagra: tobillo, rodilla y codo, menos frecuentes en articulaciones esféricas: hombro, muñeca y cadera. Un 10-20% son hemorragias musculares. 5 a 10% serán en otros sitios y las hemorragias de SNC en menos del 5% (13).

Cuadro 2. Manifestaciones hemorrágicas en pacientes con Hemofilia.

Graves	Articulaciones (hemartrosis)
	Músculos, en especial en los compartimentos profundos (iliopsoas, pantorrilla y antebrazo)
	Mucosa de la boca, encías, nariz y genitourinario.
Ponen en riesgo la vida.	Intracraneal.
	Cuello y garganta.
	Gastrointestinales.

1.6 Diagnóstico:

Los estudios de escrutinio ante la sospecha de hemofilia deben incluir: TH, TTPa, TP. Todos los resultados serán normales excepto TTPa, el cual mostrará alargamiento de más de 2 desviaciones estándar en relación al testigo (14).

La confirmación diagnóstica es con la determinación de los factores de la coagulación: FVIII. Los métodos que se utilizan para la determinación de los niveles de factores de la coagulación son coagulométricos y cromogénicos. El diagnóstico de certeza se realiza a través de la determinación del nivel bajo de FVIII:C (14).

Los enfoques funcionales de los ensayos de expresión génica, los análisis bioquímicos, la cinética de los inhibidores de FVIII o trombina; los EGT mediante pruebas de trombografía calibrada automatizada, proporcionan nuevos parámetros de pronóstico del comportamiento clínico de enfermedades como la hemofilia (7).

El espectro clínico de la gravedad del sangrado en los pacientes con hemofilia grave, permanece en gran medida inexplicado. Hasta cierto punto esto puede reflejar la inexactitud en la medición en niveles bajos del factor deficiente. Existe la hipótesis de que las variaciones en otros factores de la coagulación y sus reguladores también pueden ayudar a explicar las variaciones en el fenotipo (15).

Los ensayos de factores de coagulación convencionales se asocian a ciertas limitaciones ya que no siempre reflejan la heterogeneidad clínica de las hemorragias en pacientes con hemofilia o no reflejan correctamente la respuesta individual del paciente al tratamiento con concentrado de factor (16).

La limitación del criterio de la actividad de los factores deficientes de la coagulación (VIII/IX) para establecer la gravedad clínica de la hemofilia, puede ser debida a la falta de reproductibilidad de las pruebas de laboratorio (factores pre analíticos); la calidad de los reactivos, la actividad del punto cero, con el fin de tener resultados seguros y la relación con la gravedad clínica (7).

Estos problemas también conducen a la investigación de nuevos métodos con más cercana correlación fisiológica, una sensibilidad más alta y mayor precisión (menor coeficiente de variación [CV]) como el EGT o tromboelastografía (7).

1.6.1 Diagnóstico molecular de la prueba de portadora.

La amplia heterogeneidad de las mutaciones de la hemofilia obliga al uso de polimorfismos intragénicos para la prueba de portadora. Diferentes polimorfismos se han descrito en el FVIII, tales como polimorfismos de nucleótidos(7).

Los métodos de secuenciación automatizada y técnicas de análisis de alto rendimiento del genoma humano han extendido la detección de mutaciones en la hemofilia.

1.6.2 Ensayo de generación de trombina.

La premisa fundamental del método se basa en la trombina, como la molécula central de la coagulación cuyo aumento o disminución refleja una alteración del equilibrio de la hemostasia (7). La generación de trombina refleja el estado funcional de los mecanismos de coagulación de la sangre, como resultado de la interacción entre los factores pro y anticoagulantes (17). La generación de trombina en muestras de sangre y/o plasma se han utilizado para evaluar al sistema de coagulación, por medio de pruebas no específicas como los tiempos de coagulación. Recientemente se han desarrollado técnicas que se encuentran al alcance de laboratorios no especializados (18).

Con el ensayo de generación de trombina, se evalúa la capacidad de un plasma para generar trombina que es reflejada por la curva de generación de trombina y particularmente por el ETP(9). El EGT está siendo evaluado actualmente como un posible método para la caracterización del fenotipo hemorrágico en los pacientes con hemofilia (16). Puede medirse fácilmente con trombografía calibrada

automatizada, que muestra el curso de la formación de trombina en una muestra de plasma monitorizada por la división de un sustrato fluorogénico (17).

La trombografía calibrada automatizada permite una prueba rutinaria cuantitativamente correcta de la generación de trombina a bajo costo y de alto rendimiento (9). En esta técnica, se añade al plasma un sustrato fluorogénico que al ser escindido por la trombina, libera un producto fluorescente. La curva de generación de trombina es una prueba de función global del sistema hemostático (Fig 4). Para construir la curva de generación de trombina o trombograma, se grafica a cantidad de trombina generada contra el tiempo (18), reflejando la función de ensamble entre los factores procoagulantes y anticoagulantes y se caracteriza por cuatro parámetros principales:

- Tiempo de inicio: muestra que tan rápido empieza a formarse la trombina.
- Tiempo al pico: es el tiempo cuando se observa la más alta actividad de trombina.
- Pico de trombina: es la concentración más alta de trombina alcanzada durante el curso de la generación e inhibición de trombina y se expresa como el grado máximo de incremento en la señal fluorescente.
- Potencial endógeno de trombina: es la cantidad total de trombina formada dentro de un cierto periodo.

La velocidad de formación de trombina se puede calcular al dividir el pico de trombina entre la diferencia del tiempo al pico y el tiempo de inicio (19). La interpretación de los resultados del potencial de trombina endógeno o el área debajo de la curva, puede ser igual cuando se genera grandes concentraciones de trombina que se inactivan rápidamente produciendo una curva con pico alto pero angosto, cuando se generan bajas cantidades de trombina se obtiene una curva plana (9). La curva de generación de trombina tiene una fase de latencia, que es un mecanismo ineficiente que produce los primeros vestigios de trombina, que activa ciertos factores de la coagulación (V y VIII). Sólo a través de esta realimentación positiva es que se puede iniciar la formación explosiva de trombina (19).

Si el ETP es inferior a 20% de lo normal, se observa tendencia al sangrado. El potencial endógeno de trombina parece reflejar el cuadro clínico de la hemofilia de forma más apropiada que la medición de los niveles de FVIII (19).

La respuesta del ETP a la infusión de una dosis estándar de FVIII difiere considerablemente de un paciente a otro. Usando este parámetro como una guía, es posible adoptar una terapia sustitutiva en estos pacientes y así evitar el uso excesivo de concentrados de FVIII (19).

La Trombografía calibrada automatizada puede ser usada como prueba funcional para la evaluación de la capacidad hemostática en los pacientes con hemofilia ó en otras patologías para la evaluar el riesgo de sangrado o riesgo

trombotico, para poder establecer un tratamiento dirigido (hemostático ó antitrombotico), además de permitir una adecuada correlación entre la clínica y el fenotipo (17). Existen estudios, donde se ha utilizado esta prueba para identificar pacientes con hemofilia grave con fenotipo clínico leve usando plasma rico en plaquetas (17).

Esta prueba puede ser de utilidad para el seguimiento de los pacientes con Hemofilia sometidos a terapia de profilaxis, para proporcionar esquemas personalizados.

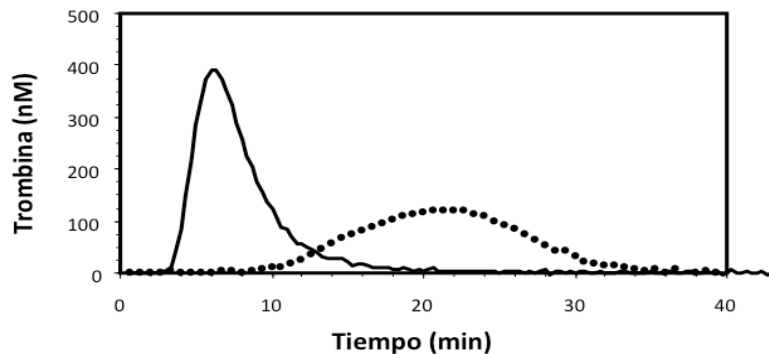


Fig. 4 Ensayo de generación de trombina. Predictor del estado de coagulación de los pacientes con deficiencias de proteínas de la coagulación.

El EGT puede predecir la respuesta al tratamiento con FVIII, en pacientes con HA (17).

1.7 Tratamiento de la Hemofilia.

En los últimos 50 años, el tratamiento para la hemofilia ha evolucionado a grandes pasos. En la década de los 60 el tratamiento consistía en administrar plasma y crioprecipitados a los pacientes afectados, con la finalidad de incrementar los niveles de los factores deficientes, sin ser específico, a pesar de esto los pacientes no respondían adecuadamente, siendo insuficiente la administración de estos componentes para poder controlar los episodios de sangrado. Como consecuencia, los episodios de sangrados (sobre todo articulares) eran más prolongados, más crónicos y ocasionaban mayor daño a los tejidos (deformidades articulares) con lo que la calidad de vida del paciente se veía severamente afectada. La hemofilia es una enfermedad de alto costo con complicaciones prevenibles que incrementan su morbi-mortalidad (3).

En los años 80's, aparecen los concentrados de factor, teniendo como principal limitante la transmisión de enfermedades como hepatitis B, C y VIH; esto originó la necesidad de purificar estos concentrados, con la finalidad de otorgar seguridad al paciente. Por medio de la ingeniería genética se ha logrado producir concentrados de factor purificados. A la par de los nuevos tratamientos, se han diseñado

esquemas para la aplicación del factor en los pacientes con hemofilia que permitan modificar la historia natural de la enfermedad, con el objetivo de mejorar la calidad de vida de los pacientes (20).

En hemorragias que pongan en riesgo la vida, en la HA, el FVIII se administra cada 8 horas para mantener niveles de factor al 100% mínimo por 24 horas, posteriormente cada 12 horas por 72 horas, manteniendo un nivel mínimo de factor de 50% hasta por 3 semanas (14).

Las dosis de administración de factor de la coagulación se determinan de acuerdo al evento agudo que este presentando, y a la actividad del factor que se quiera obtener. Si el paciente será sometido a un procedimiento invasivo menor se requiere llevar la actividad del factor entre 40 y 60%, si el procedimiento es mayor el factor se llevara al 100%. Se recomienda la administración del factor deficiente una hora previa al procedimiento (cuadro 3) (14).

Cuadro 3. Dosis recomendadas de factor deficiente por evento hemorrágico:

Tipo de hemorragia	Hemofilia A		Hemofilia B	
	Nivel deseado	Duración (días)	Nivel deseado	Duración (días)
Articular	40-60% (20-30 u/kg)	1-2, tal vez más si la respuesta es inadecuada	40-60% (40-60 u/kg)	1-2, tal vez más si la respuesta es inadecuada
Muscular (excepto iliopsoas)	80-100% (20-30 U/kg)	2-3 a veces más si la respuesta es inadecuada	40-60% (40-60 u/kg)	2-3, a veces más si la respuesta es inadecuada
iliopsoas	80-100% (40-50 u/kg)	1-2	60-80%	1-2
Mantenimiento	30-60% (15-30 u/kg)	3-5 hasta resolución por imagenología como profilaxis secundaria durante fisioterapia	30-60% (30-60 u/kg)	3-5, a veces más como profilaxis secundaria durante fisioterapia.
SNC/Cabeza				
Inicial	80-100%	1-7	60-80%	1-7
Mantenimiento	50%	8-21 continuar con profilaxis	30%	8-21 continuar con profilaxis

Cuello y garganta:				
Inicial	80-100%	1-7	60-80%	1-7
Mantenimiento	50%	8-14	30%	8-14
Gastrointestinal				
Inicial	80-100%	1-6	60-80%	1-6
Mantenimiento	50%	7-14	30%	7-14
Renal	50%	3-5	40%	3-5
Laceración profunda	50%	5-7	40%	5-7
Cirugía (mayor)	80-100%	1-3	60-80%	1-3
Preoperatorio	(40-50 u/kg)		(60-80u/kg)	
Postoperatorio	60-80%	4-6	40-60%	4-6
	(30-40 u/kg)		(40-60 u/kg)	
	40-60%	7-14	30-50%	7-14
	(20-30 u/kg)		(30-50 u/kg)	

Fuente: World Federation of Hemophilia 2008.

Existen diferentes modalidades terapéuticas para el paciente con hemofilia con el objetivo de mejorar la calidad y esperanza de vida (14).

Cuadro 4. Definiciones de los protocolos de terapia de reemplazo de factor.

PROTOCOLO	DEFINICIÓN
Tratamiento por episodios ("a demanda)	Tratamiento que se aplica cuando hay evidencia clínica de una hemorragia.
Profilaxis Continua: Profilaxis Primaria	Tratamiento regular y continuo* que comienza a aplicarse ante la ausencia de una enfermedad articular osteo-cartilaginosa documentada, determinada mediante un examen físico y/o estudios con imágenes, y antes de que exista evidencia clínica de una segunda hemorragia en alguna articulación grande**, a partir de los 3 años.

<p>Profilaxis secundaria</p>	<p>Tratamiento regular y continuo* que comienza a aplicarse después de que se han producido 2 o más hemorragias en alguna articulación grande y antes del inicio de una enfermedad articular documentado mediante un examen físico y estudios con imágenes.</p>
<p>Profilaxis terciaria</p>	<p>Tratamiento regular continuo* que comienza a aplicarse a continuación del inicio de la enfermedad articular que se ha documentado mediante un examen físico y radiografías simples de las articulaciones afectadas.</p>
<p>Profilaxis Intermitente ("perioódica")</p>	<p>Tratamiento que se aplica para prevenir hemorragias durante períodos que no excedan 45 semanas por año.</p>

*Continuo se define como la intención de aplicar un tratamiento durante 52 semanas por año y recibir un mínimo de infusiones con una frecuencia definida a priori durante por lo menos 45 semanas (85%) del año en consideración. ** Articulaciones grandes= tobillos, rodillas, caderas, codos y hombros.

La Federación Mundial de la Hemofilia, considera el tratamiento profiláctico con factor deficiente como la mejor terapia, con la que se cuenta para mejorar la calidad de vida de los pacientes por lo descrito en los siguientes puntos (13):

- Profilaxis es el tratamiento intravenoso de concentrado de factor para la prevención de episodios de sangrado (cuadro 4).
- La profilaxis fue concebida a partir de la observación de que los pacientes con hemofilia moderada con nivel de factor de la coagulación >1 UI/dl rara vez presentaban episodios de sangrado espontaneo y tenían mucho mejor preservación de la función de las articulaciones.
- La profilaxis previene sangrado y daño articular y debe ser el objetivo de la terapia para preservar la función normal musculo esquelética.

El reemplazo profiláctico de con factor de la coagulación ha demostrado ser útil, incluso cuando el nivel de factor no se mantiene por encima de 1 UI/dl en todo momento.

En pacientes con sangrados repetidos, particularmente en las articulaciones diana, la profilaxis a corto plazo durante 4-8 semanas puede ser utilizada para interrumpir el ciclo de sangrado. Esto puede ser combinado con fisioterapia intensiva o sinoviórtesis.

La profilaxis no revierte el daño articular ya establecido; sin embargo, se disminuye la frecuencia de sangrado y puede retardar la progresión de la enfermedad de las articulaciones y mejorar la calidad de vida.

La profilaxis es la administración del factor deficiente de manera regular y programada, cuando menos 46 semanas al año y a largo plazo para prevenir hemorragias o artropatías (14). Se recomienda que todos los pacientes con actividad del factor plasmático <2%, edad menor de 30 meses y máximo una hemartrosis se integren a profilaxis primaria.

La profilaxis en la Hemofilia es superior al tratamiento a demanda para prevenir el daño articular. La profilaxis en altas dosis tal como se utiliza en Suecia es más efectiva en la prevención de artropatía, que los regímenes de dosis intermedias utilizados en Canadá y los Países Bajos adaptados para la profilaxis primaria. El uso de profilaxis reduce el riesgo de desarrollar inhibidores (21).

En general la profilaxis es aceptada como la mejor forma de tratamiento para pacientes con hemofilia y se asocia con una menor incidencia de sangrado articular. Sin embargo esta es costosa, generando debate sobre cuando y como iniciar y continuar la profilaxis y como supervisar su eficacia (21).

Existen protocolos de profilaxis que se utilizan en la actualidad (14):

- Macon-Johnson: 25 UI/kg, en días alternos.
- Esquema Canadiense (escalonado):

Inicial FVIII a 50 UI/kg, una vez por semana; seguido de 30 UI/kg/día, dos veces por semana, posteriormente 25 UI/kg/día, tres veces por semana; incrementando 5UI/kg/día cuando presente una hemartrosis espontánea.

- ESPRIT: 25 UI/kg/día, tres veces por semana; incrementando hasta 40 UI/kg/día, dependiendo del número de eventos hemorrágicos. Si el factor VIII plasmático es menor de 1% pero sin eventos hemorrágicos, no se modifica la dosis de factor en UI/kg.
- Protocolo Utrecht, modelo Holandés (dosis intermedias):
Inicio en mayores de 2 años.
Dosis y frecuencia ajustadas a las manifestaciones clínicas.
15 a 25 UI/kg por dosis administrada 2-3 veces por semana.
- Protocolo Malmö (estándar de oro para la profilaxis primaria) modelo Sueco:
Dosis altas de factor deficiente.
Determinación de nivel basal y dosis ajustada >1%.

Inicio del tratamiento a edades tempranas, en promedio 1.2 años, con infusiones de altas cantidades de Factor, entre 25-40 UI/kg, cada tercer día (22).

La dosis de factor VIII para la profilaxis secundaria aceptada va de 25 a 30 UI/kg/día, dos a tres veces por semana o a dosis menores de 10 a 20/UI/Kg 2 a 3 veces por semana, en las situaciones en las que existen mayores limitaciones en el suministro del factor la (14).

En Suecia la profilaxis en niños con hemofilia grave, se ha practicado desde 1958 en un intento de convertir la enfermedad de una forma grave a una más leve. El tratamiento se inicia aproximadamente al año de edad, administrando 25 UI/Kg de peso una vez por semana. A continuación se acelera a tres veces a la semana o cada dos días (21).

El régimen Holandés de la profilaxis fue introducido a los Países Bajos en 1968. Para reducir los costos del uso de la profilaxis se usaron dosis intermedias de FVIII. El régimen consiste en dosis de 15 UI/Kg de pesos tres veces por semana (21).

El régimen Canadiense se caracteriza por usar dosis escalonadas. Consiste en administrar FVIII en la etapa inicial a dosis de 50 UI/Kg de peso una vez por semana, en la segunda etapa a dosis de 30 UI/Kg de peso dos veces por semana, en la tercer etapa a dosis de 25 UI/Kg de peso cada 48 horas, de acuerdo a los episodios de sangrado que el paciente presente (21).

En México, la mayoría de los pacientes con hemofilia reciben tratamiento a demanda, sin embargo el número de pacientes nuevos quienes reciben profilaxis primaria y secundaria de acuerdo con las guías de tratamiento ha ido en aumento en los centros de atención a la salud (17).

Existen varios obstáculos para poder llevar a cabo una adecuada implementación de profilaxis primaria como tratamiento en pacientes con hemofilia. La profilaxis primaria requiere de disponer de un número mayor de unidades de factor por paciente al año (23), lo que incrementa los costos y en apariencia muy altos para países en desarrollo como el nuestro; aunque el beneficio de la profilaxis es visible a largo plazo. Otro de los problemas a los que hay que enfrentarse es la dificultad a la adherencia del tratamiento, el consumo de tiempo para la administración del mismo, la competencia familiar y el estrés relacionado con la disposición del niño para la aplicación del factor, limitan el uso de los esquemas de profilaxis (24).

Una de las complicaciones de la terapia de reemplazo en la hemofilia es el desarrollo de inhibidores para el factor de la coagulación infundido (17).

Los pacientes que desarrollan inhibidores son tratados con agentes bypass (complejo coagulante antiinhibidor y/o FVIIr) de acuerdo a los criterios internacionales (17). En el caso de la hemofilia A, la frecuencia global reportada es variable desde 3 a 52%, se reporta en los pacientes con hemofilia A grave desarrollo de inhibidor de un 20-33% (25). Los estudios de incidencia de desarrollo de inhibidores, muestran un riesgo mayor durante las primeras 50 exposiciones al

factor deficiente infundido (26). Sin embargo existen estudios donde se demuestra que el uso de profilaxis aporta un efecto protector para la formación de inhibidores (26).

El tratamiento de la hemofilia, está enfocado en mejorar la calidad de vida del paciente, esto se ha logrado con el uso de terapia de reemplazo con profilaxis; sin embargo establecer el nivel adecuado de unidades necesarias para otorgar una correcta profilaxis es causa de debate.

Se ha demostrado que la prevención del sangrado a nivel articular depende directamente de los niveles de FVIII (mantener entre 1 y 4%). La ausencia de sangrado articular se ha demostrado con niveles de FVIII mayores a 15%. Para lograrlo se ha comparado a pacientes que reciben dosis baja de FVIII diariamente contra los que se encuentran en profilaxis estándar, observando disminución de los eventos hemorrágicos en los primeros. Esto hace suponer que no sólo los niveles basales influyen en la determinación del fenotipo hemorrágico, y debe considerarse el nivel máximo de acción del factor (pico), así como los parámetros farmacocinéticos como el aclaramiento y la vida media del factor, siendo determinantes para la prevención de eventos hemorrágicos. En pacientes que reciben profilaxis estándar (35 a 50 UI/Kg) se ha conseguido mantener los niveles de factor superiores al 50%, durante las 6 a 12 horas posteriores a recibir la infusión de reemplazo.

Se han demostrado en los diferentes estudios de generación de trombina y hemofilia, beneficios: clínicos, de costo-eficacia, con el uso profilaxis personalizada, evaluando la farmacocinética del factor infundido, el estilo de vida, el fenotipo hemorrágico y el estado articular (27).

El ensayo de generación de trombina se basa en la activación de la coagulación después de la adición del factor tisular, que va a actuar como un disparador de la coagulación (27).

Para determinar la validez del EGT, se evaluó la capacidad de generación de trombina a partir de muestras de plasma de pacientes con hemofilia en diferentes condiciones. En el estudio se analizaron muestras de 46 pacientes con hemofilia, de los cuales 34 tenían diagnóstico de HA y 12 HB, encontrando una correlación significativa entre los niveles plasmáticos de FVIII/FIX y el ETP, el pico de acción, el tiempo en llegar al pico máximo y la vida media, con la medición de generación de trombina. Además se encontró correlación entre el fenotipo clínico y la hemorragia severa, los resultados sugieren que el EGT podría ser una herramienta prometedora para evaluar la capacidad del estado hemostático en pacientes con hemofilia (27).

2. MARCO DE REFERENCIA

Waters et al realizaron ensayos de generación de trombina, desencadenados con FXIa, los cuales fueron sensibles para diferenciar entre las muestras que simulaban ser de pacientes con hemofilia A y B, sin embargo cuando utilizaron FT para iniciar la GT no pudieron diferenciar la severidad para los pacientes con hemofilia A. Los resultados de GT que obtuvieron con FIXa fueron más robustos y sensibles que con FT y muestran un uso potencial para seguimiento y vigilancia en los pacientes tratados con concentrados de factores pegilados o no pegilados (16).

Matsumoto et al, realizaron ensayos de generación de trombina y análisis de la forma de la onda del coagulo (CWA), en plasmas deficientes de Factor VIII y IX que fueron reconstituidos con cantidades conocidas de rFVIII y factor IX purificado, respectivamente. La forma de la onda del coágulo fue evaluada cualitativa y cuantitativamente midiendo los parámetros de tiempo de coagulación como el tiempo de máxima velocidad de coagulación (Min1) y el tiempo de máxima velocidad de aceleración (Min2). EGT también fue evaluado cualitativamente y se midió el tiempo al pico y la altura del pico. Los resultados demostraron respuesta a la dosis predecible de adición de FVIII ó FIX, siendo CWA más sensible que EGT para la detección de niveles muy bajos (0-0.1 UI/dl) de factores (28). Lo que sugiere que la aplicación del análisis de la forma del coágulo de forma rutinaria en el tratamiento de pacientes con hemofilia podría aumentar nuestra comprensión de las

características clínicas. Sobre todo por la sensibilidad para medir niveles bajos de FVIII y FIX, que no pueden ser cuantificados con métodos convencionales (29).

Dielis et al. realizaron un análisis para la valorar la generación de trombina la cual en presencia de trombomodulina reflejó mejor los niveles plasmáticos de FVIII. El estudio se realizó evaluando a 12 pacientes con HA grave, a quienes se les determinó niveles de FVIII en plasma y la generación de trombina, se midió con y sin trombomodulina, al inicio, a los 15 minutos, 1,3,6,24 y 48 horas después de la administración de FVIII recombinante. Encontraron que la administración de FVIII restauró la generación de trombina basal, que se encontraba disminuida. Todos los parámetros de generación de trombina regresaron a la línea de base dentro de las 48 horas, mientras la concentración de FVIII en plasma fue incrementando y los tiempos al pico se acortaron. En el estudio se demostró que la generación de trombina modificada por trombomodulina reflejó mejor los niveles de FVIII en plasma que sin la adición de trombomodulina (29).

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

Los pacientes con HA Grave, tienen tendencia al sangrado con una frecuencia mayor que los pacientes con Hemofilia moderada y/o leve; por lo que se han establecido esquemas de tratamiento en países de primer mundo, que permiten la disminución de los episodios de sangrado y con ello reducen el daño articular, mejorando la calidad de vida y el desarrollo musculo esquelético y psicosocial.

Sin embargo el uso de este tipo de terapias en nuestro país se ve limitado por los altos costos que genera y el acceso al tratamiento está limitado en algunos centros de atención a la salud.

Por lo que es importante contar con recursos que nos permitan conocer la respuesta al tratamiento de nuestros pacientes, de forma más específica, ya que la cuantificación de factor deficiente y los tiempos de coagulación no son medidas fiables y en muchas ocasiones no se correlacionan con la clínica del paciente, por lo que pruebas que nos permitan cuantificar la generación de trombina podrían ayudarnos a establecer un mejor plan de manejo, administrando las dosis requeridas de acuerdo a las necesidades de cada paciente. Esto a la vez permitirá optimizar de mejor manera los recursos terapéuticos; lo anterior nos lleva a la siguiente pregunta:

¿La generación de trombina puede predecir la respuesta al tratamiento con factor VIII, en pacientes con hemofilia A grave, que reciben terapia profiláctica, en la UMAE, Hospital de Pediatría, del Centro Médico Nacional de Occidente?

4. JUSTIFICACION:

La hemofilia es un trastorno genético hereditario ligado al cromosoma X, resultando en la deficiencia o ausencia de los factores VIII y/o IX, necesarios para que se lleve a cabo una coagulación normal de la sangre. Las hemofilias se caracterizan clínicamente por una tendencia hemorrágica, la que será proporcional al grado de deficiencia del factor hemostático, con algunas excepciones a esta regla. Las hemartrosis son las manifestaciones más frecuentes y las articulaciones más afectadas son las rodillas, tobillos y codos, si no son atendidas de forma eficaz y oportuna, con el tiempo se produce un proceso de sinovitis crónica, que generará un ciclo vicioso de inflamación-sangrado-daño articular irreversible lo que se conoce como artropatía hemofílica, esto se traduce en limitación de la función de las articulaciones. Los hematomas musculares profundos y las hemorragias cerebrales, son las manifestaciones más graves que pueden presentar.

Datos epidemiológicos reportan un incremento dramático de casos de hemofilia en los últimos 50 años. Lo que ha llevado de forma paralela a la necesidad de crear centros especializados en la atención de la hemofilia, además de crear alternativas de tratamientos dirigidos no sólo a disminuir el riesgo de sangrado, sino a limitar el daño articular, con ello mejorar la calidad de vida de los pacientes.

Con todo el avance que se ha generado en el tema de la hemofilia, el desarrollo de nuevas herramientas de laboratorio es esencial para satisfacer las necesidades de la optimización de los tratamientos. Sin embargo aún no existe una prueba de laboratorio validada para la predicción del fenotipo de sangrado.

Actualmente se realizan diferentes ensayos con la finalidad de establecer el mejor método de cuantificación para los pacientes con hemofilia, que permita establecer la correlación entre el grado de severidad que se expresa, con la respuesta al tratamiento que recibe.

La generación de trombina ha demostrado, que refleja el potencial de coagulación y los niveles de los factores deficientes en pacientes con hemofilia A. Estos métodos podrían ayudarnos a predecir si posterior a la administración de concentrado de factor deficiente se mejora la hemostasia además de permitirnos medir el tiempo de efecto del medicamento, y con ello optimizar las dosis de factor necesario para cada paciente.

4.1 Magnitud: La hemofilia es una enfermedad con riesgo alto de morbimortalidad, por lo que contar con técnicas que nos permitan identificar y correlacionarlo con el fenotipo a cada uno de nuestros pacientes, nos llevaría a otorgar terapias dirigidas no sólo basadas en los esquemas de profilaxis establecidos.

4.2 Trascendencia: Se cuenta con la técnica de cuantificación de la actividad de FVIII:C que son utilizados como criterios internacionales para clasificar la enfermedad, sin embargo tiene limitaciones. No hay métodos que sean específicos para determinar la severidad de esta enfermedad; lo que limita la adecuada clasificación del paciente y por lo tanto el manejo que pueda ser otorgado. Si logramos implementar nuevos métodos que han demostrado tener la capacidad de correlacionar lo cuantitativo con la clínica del paciente, la clasificación del paciente y el tratamiento oportuno sería el mejor resultado. En nuestro país el uso de terapia profiláctica es relativamente joven, se ve limitado por cuestiones de acceso a los recursos en cada centro hospitalario, a pesar de estar demostrada la eficacia del manejo.

4.3 Factibilidad: el Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional de Occidente, Guadalajara, Jalisco del Instituto Mexicano del Seguro Social, es considerado actualmente como un centro capacitado para la atención del paciente con hemofilia, se cuenta manejo multidisciplinario entre los servicio de Hematología pediátrica, ortopedia pediátrica, terapia física y rehabilitación, pediatría, trabajo social, laboratorio de coagulación, laboratorio de genética del Centro de Investigación Biomédica, entre otros. La población de pacientes hemofílicos atendidos en nuestro centro, podría beneficiarse con el implemento de métodos como son la generación de trombina, al poder optimizarse las dosis necesarias para mantener a hemostasia en cada uno de ellos, además de presentar un alto impacto en aquellos pacientes que desarrollan inhibidores de factor deficiente.

5. OBJETIVOS:

5.1 General:

Identificar los parámetros del ensayo de generación de trombina, que son predictores de la respuesta a la profilaxis secundaria en pacientes con hemofilia A grave de 8 a 15 años de edad.

5.2 Específicos:

1. Conocer la frecuencia de los eventos hemorrágicos en pacientes pediátricos con hemofilia A grave, que reciben profilaxis secundaria de 8 a 15 años de edad.
2. Identificar los niveles de factor VIII basales y después de 1 hora y 48 horas posteriores al tratamiento con profilaxis secundaria en los pacientes con HA grave.
3. Determinar los parámetros de la generación de trombina en los pacientes con hemofilia A grave en condición basal y posterior al tratamiento de profilaxis secundaria.
4. Evaluar el nivel hemostático en los pacientes con HA grave de acuerdo a la modalidad terapéutica de dosis recibidas de factor VIII, para determinar si alcanzan parámetros adecuados o si sus dosis son insuficientes o excesivas.

6. HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN.

Los parámetros del ensayo de generación de trombina en pacientes con hemofilia A grave en profilaxis secundaria reflejan su estado hemostático basal, en relación a los niveles de actividad del FVIII, por el tratamiento farmacológico instalado, así como a sus parámetros clínicos de tendencia hemorrágica.

7. DISEÑO DEL ESTUDIO

El estudio se realizó dentro de las instalaciones del Instituto Mexicano del Seguro Social, en la división de Genética del Centro de Investigación Biomédica, con apoyo del laboratorio, así como del servicio de Hematología Pediátrica del Centro Médico Nacional de Occidente, Hospital de Pediatría. El estudio es un tipo de investigación longitudinal, descriptiva y analítica.

7.1 Participantes:

Se tomaron en cuenta para este estudio, pacientes que cumplieron los siguientes criterios de inclusión: pacientes con diagnóstico de hemofilia A grave, de 8 a 15 años 11 meses de edad, a quienes se cuantificará el porcentaje de actividad del factor VIII, en el laboratorio del Hospital de Pediatría, CMN. En manejo bajo dos tipos de esquemas profilácticos de acuerdo a su comportamiento hemorrágico y la ponderación de costos institucionales, incluyendo: profilaxis secundaria de acuerdo al esquema Sueco con dosis de reemplazo de factor VIII de 25 a 40U/Kg dos veces por semana y profilaxis secundaria de acuerdo al esquema Holandés con dosis de reemplazo de factor VIII de 15 a 25 U/Kg dos veces por semana. Estos pacientes se captaron de acuerdo a las citas programadas para los pacientes con hemofilia, donde se explicó a los padres ampliamente la finalidad del estudio y la necesidad de la participación activa para el registro de los eventos hemorrágicos, además de las tomas de muestras para el estudio correspondiente, mismo que se llevó a cabo en los laboratorios del Centro de Investigación Biomédico de Occidente (CIBO), en el área de genética, laboratorio de bioquímica II.

7.2 Material e Instrumentos:

Se revisaron los expedientes clínicos de los pacientes con diagnóstico de hemofilia de enero a diciembre de 2015, del área de Hematología Pediátrica que cumplan los criterios de inclusión, clasificándolos de acuerdo al tipo de hemofilia y

severidad que presentan, registrando la edad, presencia de artropatías, tipo de tratamiento, presencia o ausencia de inhibidores.

Una vez seleccionados los pacientes; previa firma de autorización de consentimiento informado por sus padres o tutores, se realizó un cuestionario elaborado por el investigador para recolección de datos sociodemográficos y características clínicas en torno a evento hemorrágicos. Posteriormente bajo asepsia y antisepsia se realizó extracción de muestras sanguíneas mediante venopunción con recolección de tres tubos con citrato de sodio 109 mM con 4.5 ml de sangre por tubo: uno para la valoración la actividad del FVIII:C; y dos para la obtención de plasma pobre en plaquetas para la realización de la prueba de generación de trombina. Se procedió a aplicar dosis de factor VIII, correspondiente a la profilaxis. Una hora después de la aplicación del factor VII, nuevamente bajo asepsia y antisepsia se realizará extracción de muestras sanguíneas mediante venopunción con recolección de tres tubos con citrato de sodio 109 mM con 4.5 ml de sangre por tubo: uno cuantificación de actividad del FVIII:C; y dos para la obtención de plasma pobre en plaquetas para la realización de la prueba de generación de trombina, para valorar el pico máximo de acción del medicamento administrado. A las 48 horas de la aplicación del factor VIII se tomará nuevamente bajo asepsia y antisepsia se realizará extracción de muestras sanguíneas mediante venopunción con recolección de tres tubos con citrato de sodio 109 mM con 4.5 ml de sangre por tubo: uno para la valoración de tiempo de protrombina y tiempo de tromboplastina parcial activada (TP, TTPa) y FVIII:C; y dos para la obtención de plasma pobre en plaquetas para la realización de la prueba de generación de trombina.

8. MATERIAL Y MÉTODOS

8.1 Tipo de estudio.

Longitudinal y analítico.

8.2 Universo de estudio.

Pacientes pediátricos de 8 a 15 años 11 meses de edad, con HA grave, (porcentaje de actividad de FVIII <1%), atendidos en el Centro Médico Nacional de Occidente, Hospital de Pediatría, Guadalajara, Jalisco, que se encuentran en tratamiento con profilaxis secundaria del 01 de enero de 2014 al 30 de noviembre de 2015.

8.3 Tamaño de la muestra.

Censal, pacientes con diagnóstico de Hemofilia A grave, que fueron captados de 01 de enero de 2014 a 30 de noviembre de 2015. Que se encuentren recibiendo profilaxis secundaria en base a esquemas con reemplazo de factor a dosis de 25 a 40 UI/Kg dos veces por semana o dosis de 15 a 25 UI/Kg dos veces por semana.

8.4 Sede.

División de Genética del Centro de Investigación Biomédica de Occidente (CIBO); con apoyo del laboratorio así como del servicio de Hematología IMSS, UMAE Pediatría de C.M.N.O.

Centro Médico Nacional de Occidente. Hospital de Pediatría. Hematología Pediátrica. Instituto Mexicano del Seguro Social. Guadalajara, Jalisco.

8.5 Criterios de Inclusión.

Pacientes con diagnóstico de diagnóstico de hemofilia A grave, de 8 a 15 años 11 meses de edad, que acepten la participación en el estudio previa firma de consentimiento informado por sus padres o tutores y a quienes se cuantificará el porcentaje de actividad del factor VIII, en el laboratorio del Hospital de Pediatría, CMN. Dichos pacientes se manejan bajo dos tipos de esquemas profilácticos de acuerdo a su comportamiento hemorrágico y la ponderación de costos institucionales, incluyendo:

- Profilaxis secundaria de acuerdo al esquema Sueco con dosis de reemplazo de factor VIII de 25 a 40U/Kg dos veces por semana.
- Profilaxis secundaria de acuerdo al esquema Holandés con dosis de reemplazo de factor VIII de 15 a 25 U/Kg dos veces por semana.

8.6 Criterios de exclusión

Pacientes con diagnóstico de hemofilia A grave menores de 8 años de edad, en seguimiento y tratamiento en el Centro Médico Nacional de Occidente, Hospital de Pediatría, del área de Hematología.

Pacientes con diagnóstico de hemofilia A grave, mayores de 15 años 11 meses de edad, derechohabientes del IMSS.

Pacientes con diagnóstico de hemofilia A grave, que se encuentren recibiendo profilaxis primaria o tratamiento a demanda.

Pacientes con diagnóstico de hemofilia A grave, con inhibidor positivo de alta o baja repuesta.

Pacientes con diagnóstico de hemofilia A grave no derechohabientes de IMSS.

8.7 Muestro y tipo de muestreo

Muestreo no probabilístico, por conveniencia.

9. DEFINICIÓN DE VARIABLES

9.1 Variable dependiente:

Evolución clínica: se entenderá solo para fines de este estudio, al estado de salud y las características de la enfermedad de los pacientes con hemofilia A grave, que se encuentran en tratamiento con esquema de profilaxis primaria y/o secundaria.

Eventos hemorrágicos: se entenderá solo para fines de este estudio a la presencia de hemorragias o sangrado activo que se presente en mucosas, tejidos blandos, músculos, articulaciones y/o sistema nervioso central; que se manifiesten como aumento de volumen, dolor, incremento de calor local, rubor, limitación de la función articular, alteraciones en el estado de alerta y/o conciencia.

Generación de trombina: se entenderá solo para fines de este estudio a los resultados obtenidos al inicio, a la hora y 72 horas de iniciada la evaluación y administrado el factor deficiente.

Definición operacional: a través del registro realizado en el expediente clínico, en las evaluaciones físicas, de laboratorio y cuantificación de la generación de trombina, así como a través de una hoja de registro mensual que se le otorga a los padres de los pacientes para anotar la presencia de eventos hemorrágicos, la severidad, duración y número sangrados que sufrió el paciente y que tendrá efecto durante el mes de evaluación y que servirá como indicador para evaluar la efectividad del tratamiento profiláctico.

Indicadores de la variable:

- Tipo de variable cualitativa
- Escala de variable: Ordinal.
- Tipo de variable: cualitativa.

- Escala: Nominal. Politómica.

9.2 Variable independiente:

Hemofilia A: se entenderá solo para fines de este estudio como el porcentaje de actividad del factor VIII de la coagulación, y la disminución porcentual que definirá la severidad de la misma.

Esquemas de profilaxis: se entenderá solo para fines de este estudio las unidades administradas a los pacientes en profilaxis secundaria, de acuerdo a las dosis establecidas en los pacientes, basados en los esquemas Sueco y Holandés.

Definición operacional: Expediente clínico. Exámenes de laboratorio.

Indicadores de la variable:

- Tipo de variable cuantitativa
 - Escala de variable: Discreta.
- Tipo de variable: cualitativa.
- Escala: Nominal. Politómica.

Indicadores:

- Porcentaje de actividad del Factor VIII de la coagulación:
 - 5% al 40%: leve.
 - 1% al 5%: moderada.
 - <1%: grave.

Cuadro 5. Operacionalización de las variables.

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	TIPO DE VARIABLE	ESCALA DE MEDICIÓN	UNIDAD DE MEDICIÓN
Evolución clínica	Estado de salud del paciente	Cualitativa	Ordinal	Expediente clínico
Eventos hemorrágicos	Presencia de sangrado activo en mucosas. Incremento de volumen, dolor, calor y rubor, limitación de la función en tejidos blandos y articulaciones.	cuantitativo	Nominal, politómica	Hoja de registro de eventos hemorrágicos.

Generación de trombina con plasma pobre en plaquetas	Tiempo de inicio (lagtime)	Cuantitativa discreta	Medidas de tendencia central	Minutos
	Potencial endógeno de trombina (ETP)	Cuantitativa discreta	Medidas de tendencia central	Nano moles por minutos
	Pico (peak)	Cuantitativa discreta	Medidas de tendencia central	Nano moles.
Hemofilia A	Deficiencia del factor VIII de la coagulación	Cualitativa	Ordinal	a)Leve b)Moderada c) Grave

10. ANÁLISIS DE DATOS:

Se realizará el análisis de generación de trombina mediante el ensayo de trombografía calibrada automatizada. La trombina generada es monitoreada sobre el tiempo utilizando un sustrato fluorogénico, y el trombograma producido mide varios parámetros incluyendo el tiempo de inicio (Lagtime), potencial endógeno de trombina (ETP) y pico (Peak). Para la obtención de los valores de referencia en población pediátrica se incluirán muestras de plasma de 15 pacientes pareados por edad y género que cuenten con derechohabencia y que no cursen con deficiencia de los factores VIII/IX (se elegirán aquellos con diagnóstico de neoplasia hematológica previa con más de 5 años de vigilancia). Este pool de plasmas se obtendrá cuando acudan a realización de exámenes de escrutinio programados; con previa firma de autorización de consentimiento informado; mediante venopunción previo asepsia y antisepsia con toma de 3 tubos con citrato con aprox 4.5 ml de sangre en cada tubo, para determinación de parámetros de ensayo de generación de trombina.

10.1 Análisis estadístico:

Posteriormente se analizarán los resultados obtenidos mediante el ensayo con los obtenidos con el panel básico de coagulación y se correlacionarán con sus parámetros clínicos de tendencia al sangrado, serán capturados en Microsoft Office Excel 2007 y se realizará una estadística descriptiva con medidas de tendencia central y dispersión, para las variables cualitativas se utilizara Chi-cuadrada y la T-student para variables cuantitativas.

11. ASPECTOS ÉTICOS:

Los procedimientos propuestos están de acuerdo con las normas éticas, el reglamento de la ley general de salud en materia de investigación para la salud y con la declaración de Helsinki de 1975 enmendada en 1989, y códigos y normas internacionales vigentes de las buenas prácticas médicas de la investigación clínica. Se cuidó la seguridad y bienestar de las pacientes, respetándose los principios contenidos en el código de Núremberg, el informe Belmont y el código de reglamentos federales. El presente estudio requirió autorización de consentimiento informado (anexo 1) debido a que se realizará extracción sanguínea mediante venopunción con riesgo mayor al mínimo inherentes al procedimiento: como sangrado local, dolor local, hematomas y punciones múltiples para localización de la vena.

12.RECURSOS:

Humanos:

- Médico residente de 2do año de la Subespecialidad en Hematología Pediátrica, en IMSS U.M.A.E. Pediatría, C.M.N.O.
- Hematólogo Pediatra adscrito al servicio de Hematología Pediátrica, en IMSS, U.M.A.E. Pediatría, C.M.N.O.
- Doctora en Ciencias adscrita al Centro de Investigación Biomédica de Occidente, IMSS.

Físicos:

- Laboratorio de Hemostasia y Trombosis de la División de Genética Humana del Centro de Investigación Biomédica de Occidente (CIBO)
- Laboratorio de Hematología en IMSS, U.M.A.E. Hospital de Pediatría, C.M.N.O.

Materiales y financieros:

Materiales: computadoras, hojas, bolígrafos, lápices, impresora, fotocopias, servicio de internet. Equipo de realización de prueba de generación de trombina: centrifuga, congelador, incubadora, fluorómetro. Software para análisis de datos. Kits de reactivos para plasma pobre en plaquetas. Tubos de citrato para recolección de muestras.

Financieros: se llevará a cabo con recursos del Laboratorio de Hemostasia y Trombosis de la División de Genética del Centro de Investigación Biomédica de Occidente.

13.RESULTADOS.

El estudio se realizó en la población de pacientes pediátricos con diagnóstico de hemofilia, del Centro Médico Nacional de Occidente, Hospital de Pediatría, del área de Hematología. Se cuenta con un total de 147 pacientes, de los cuales 86.3% tiene diagnóstico de hemofilia A, 13.6% hemofilia B. En este estudio nos enfocamos en pacientes con hemofilia A grave correspondiendo al 23.6%. Se incluyeron en el estudio 8 pacientes (26.6%), todos del sexo masculino, como se muestra en la figura No. 4, las edades comprendidas entre 8 y 15 años 11 meses de edad, con una media de 11.3 años. Los pacientes que se incluyen en el estudio cumplen los criterios establecidos, la talla y peso se mantienen dentro de percentiles para la edad, reciben liofilizado de factor VIII, entre 15 y 25 UI/Kg de peso dos veces por semana; con adecuado apego al tratamiento. El 100% de los pacientes estudiados, tienen diagnóstico de hemofilia A grave, sin inhibidor y se encuentran en el programa de profilaxis secundaria. Se evaluó el número de eventos de sangrado, para correlacionar la presentación clínica de la enfermedad y el beneficio del tratamiento. Previo al inicio de la profilaxis secundaria 75% de los pacientes tenía más de 5 eventos de sangrado al mes; 25% de los pacientes presentaba entre 2 y 3 eventos de sangrado al mes. Actualmente la tendencia de los eventos de sangrado han disminuido de forma considerable, encontramos 62.5% presenta 3 a 4 eventos al mes y 37.5% presenta de 1 a 2 eventos de sangrado al mes. Estos resultados son significativos estadísticamente al demostrar la disminución de los eventos de sangrado (figura 5).

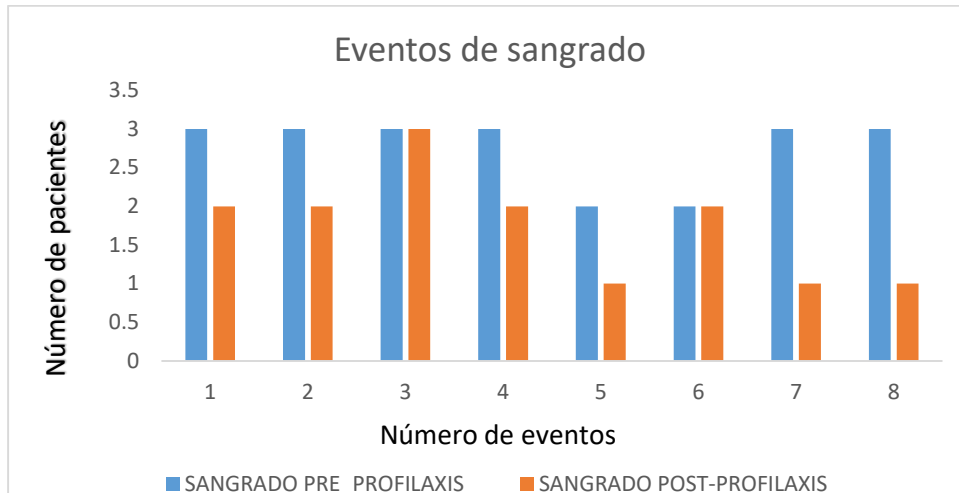


Figura 5. Comparación de eventos de sangrado pre y post profilaxis. Evaluación de diferencia de sangrado de acuerdo a tratamiento con prueba de Fisher, resultando significativa $P=0.045$, diferencias entre individuos, $P=0.063$.

El 62.5% de los pacientes cursa con diagnóstico de artropatía hemofílica, con una distribución por órgano blanco de los eventos de sangrado con predominio de codos y tobillos (figura 6).

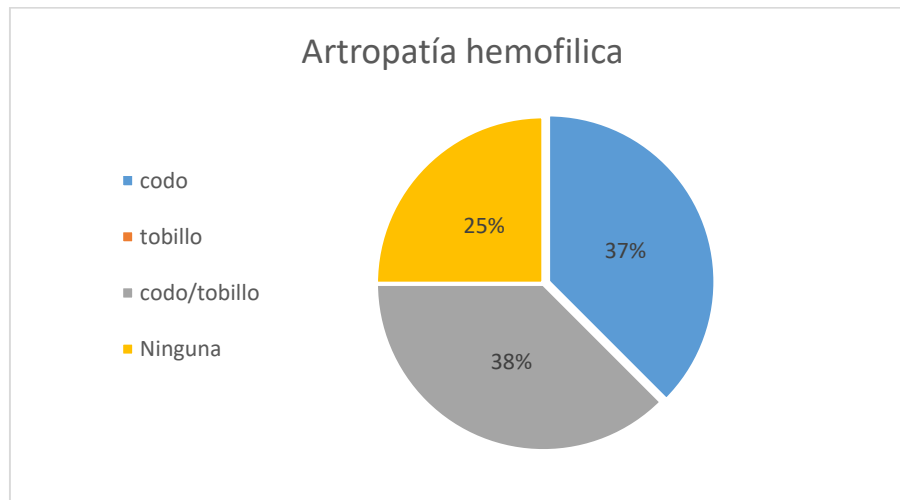


Figura 6. Relación de articulación blanco, con presencia de artropatía hemofílica. Todos los pacientes reciben profilaxis secundaria, presentaban daño articular previo al inicio de tratamiento en alguno de los casos.

Se evaluó el TTPa y FVIII:C, para valorar la respuesta al tratamiento, se puede observar que el 62.5% de los pacientes no incrementan los niveles basales de FVIII:C, manteniéndose $<1\%$, sin embargo el TTPa se acorta en el 80% de los paciente. A la hora posterior a recibir la dosis de FVIII el 50% de los pacientes tienen acortamiento esperado del TTPa, con incremento del FVIII:C mayor a 5%, a las 48

horas posteriores a recibir el tratamiento, los valores son similares a los parámetros basales.

Cuadro 6. Valoración de la respuesta con profilaxis, comparando el TTPa/FVIII:C

ID Paciente	Tiempo de tratamiento con FVIII					
	T= 0		T = 1hr		T= 48 hrs	
No.	TTPa (s)	FVIII:C (%)	TTPa (seg)	FVIII:C (%)	TTPa (seg)	FVIII:C (%)
1	>180/31.20	0.3	>180/31.20	9.8	78.7/32.70	1.7
2	85.5/31.2	1.4	51.1/31.20	23.2	95.2/32.70	0.7
3	84.3/31.30	1.2	>180.0/31.20	0	103.8/32.70	0.5
4	82.2/32.70	0.8	46.1/32.2	22.2	78.3/32.30	1
5	74.6/33.80	0.9	38.2/33.8	31.6	78.7/32.20	0.7
6	67.8/32.20	1.8	42.7/32.2	25.7	70.3/32.20	1.4
7	101.4/32.50	0.9	NR	NR	NR	NR
8	119.4/32.56	0.4	NR	NR	NR	NR

NR-No Realizados, datos faltantes en pacientes 7 y 8 por problema de acceso venoso.

Los objetivos del estudio fueron el lagtime que se mide en minutos y refleja la velocidad del inicio de la generación de trombina, el ETP que se mide en nMol de trombina y representa el área bajo la curva y el peak que se mide en nMol, dentro del ensayo se obtuvieron datos como son el ttPeak y el VelIndex, sin embargo no proporcionaron información significativa para este estudio.

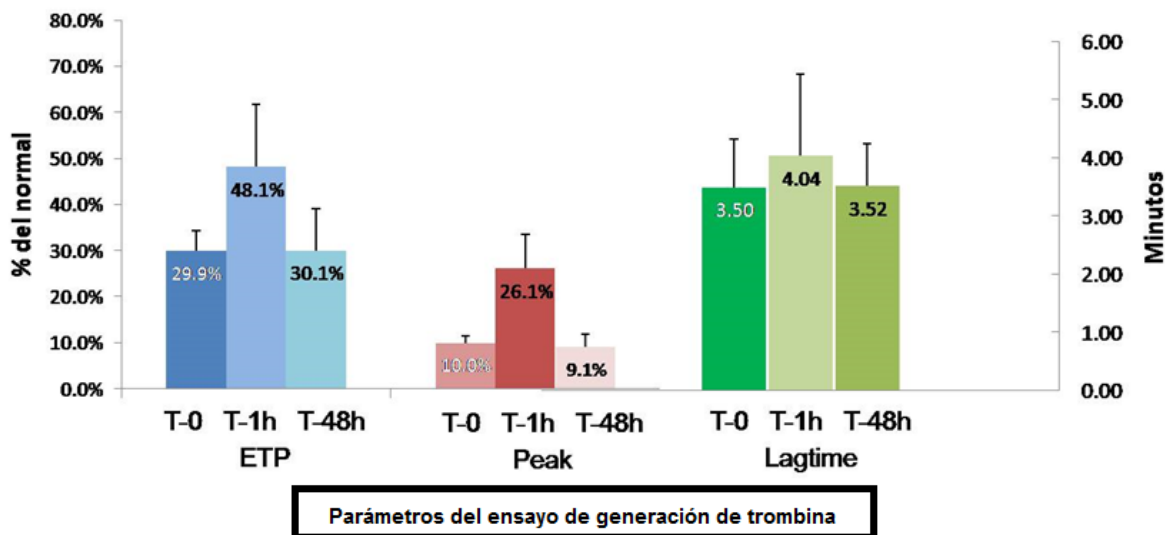


Figura 7. Valores promedio y desviación estándar de los parámetros de GT evaluados en todos los pacientes antes de recibir la profilaxis (T-0), y posterior a una hora (T-1) y 48 hrs (T-48) de su administración.

Los valores basales del ETP en comparación con el pool de plasma normal (100% de generación de trombina) mostro que el 55.5% de los pacientes tuvo un ETP entre 10 a 20%; en el 44.4% de los pacientes el ETP se mantuvo entre 30 a 40%. 1 hora después de administrado e FVIII e iniciada la generación de trombina el ETP se mantuvo entre 10 a 29% con respecto al pool de plasma normal en un 33.3% de los pacientes, en el 22.2% de los pacientes el ETP se reportó entre 30 y 49%, el ETP se reportó entre 50 a 69% en el 22.2%. y el 22.2% restante de los pacientes generó un ETP entre 70 y 89% (figura7).

El peak (nM) se encontró entre 5-20% en el 100% de los resultados basales de los pacientes, 1 hora después de la administración de FVIII el peak (nM) fue menor al 5% con respecto al control en 33.3% de los pacientes, 22.2% de los pacientes tenían un peak entre 5 y 20% con respecto al control, 33.3% de los pacientes presentó un peak entre 25 y 40% y el 11.1% de los pacientes el peak se reportó entre 45 a 60% con respecto al control.

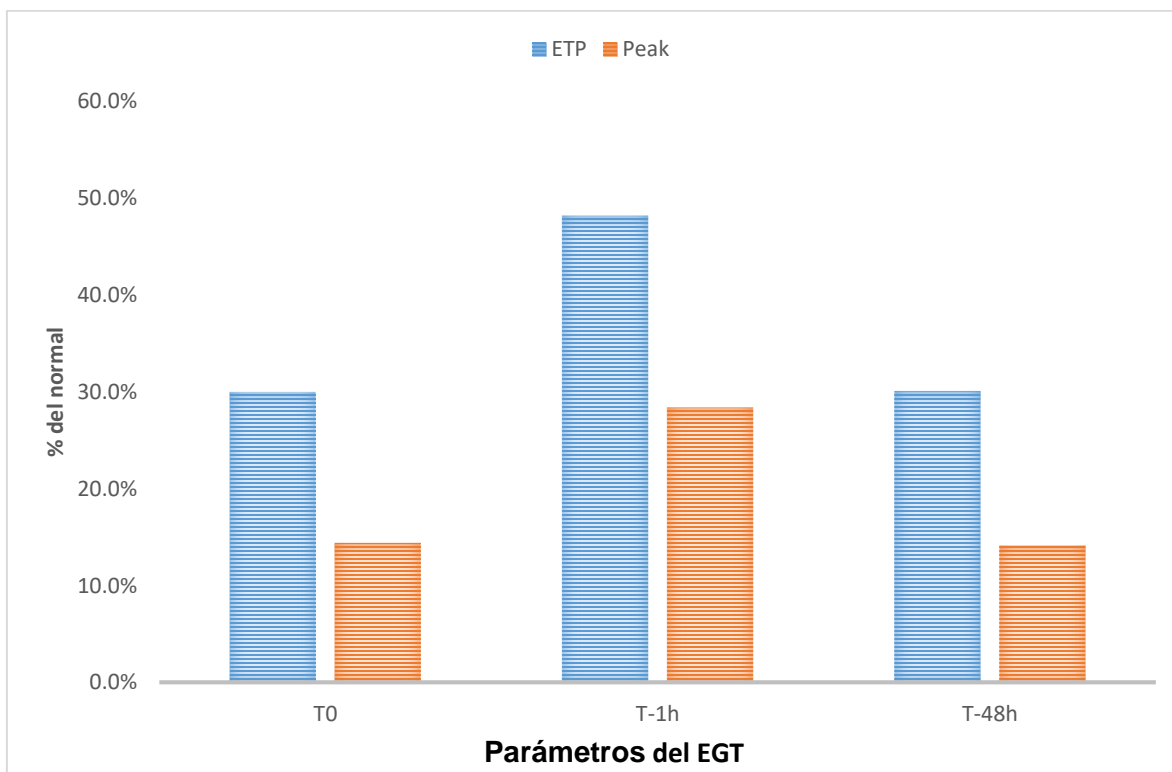


Figura 8. Valores de ETP/Peak con respecto del plasma normal a los distintos tiempos de administración del tratamiento profiláctico.

Los parámetros del EGT que mejor reflejaron el efecto del agente terapéutico en la coagulación fueron el ETP y el Peak (Figura 8). El parámetro del ensayo de generación de trombina que resulta predictor de la respuesta a la profilaxis en los pacientes con hemofilia es el ETP, con significancia estadística a las 48 horas de administrado la dosis de FVIII con una $P=0.014$.

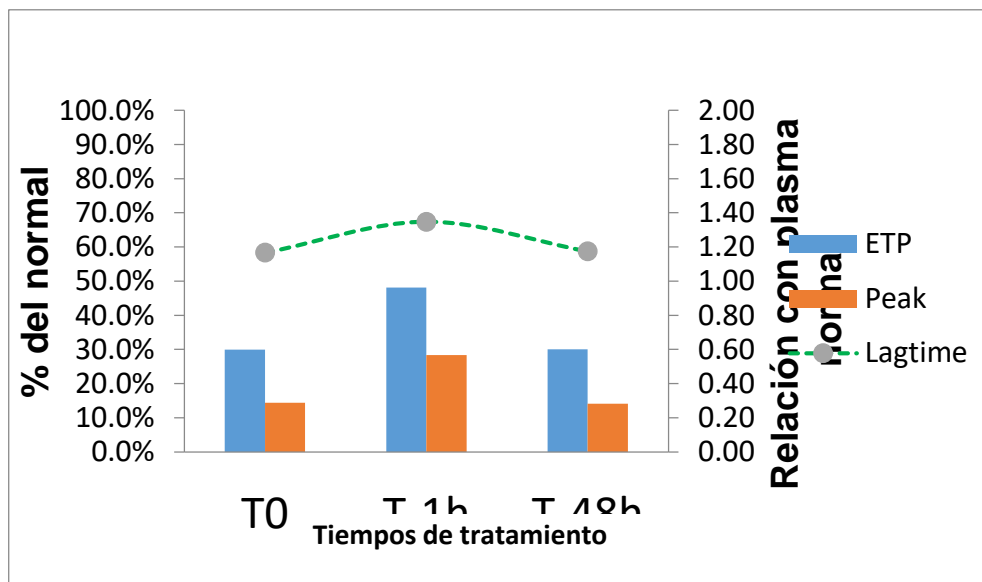


Figura 9 Comparación de las variables consideradas del Ensayo de generación de trombina.

En la figura previa se aprecian los parámetros evaluados de generación de trombina como porcentaje del factor normal y en el caso de lagtime, la relación respecto a los valores obtenidos en el plasma normal (figura 9).

13.1 Análisis de los resultados del EGT y los parámetros clínicos de los pacientes de estudio.

Se analizaron los resultados de cada uno de los pacientes, obteniendo lo siguiente:

Paciente 1: En los tres tiempos de administración del tratamiento se observa una nula generación de trombina lo cual podría indicar, dosis terapéuticas por debajo de lo requerido en el paciente, dato que debe ser verificado (figura 10).

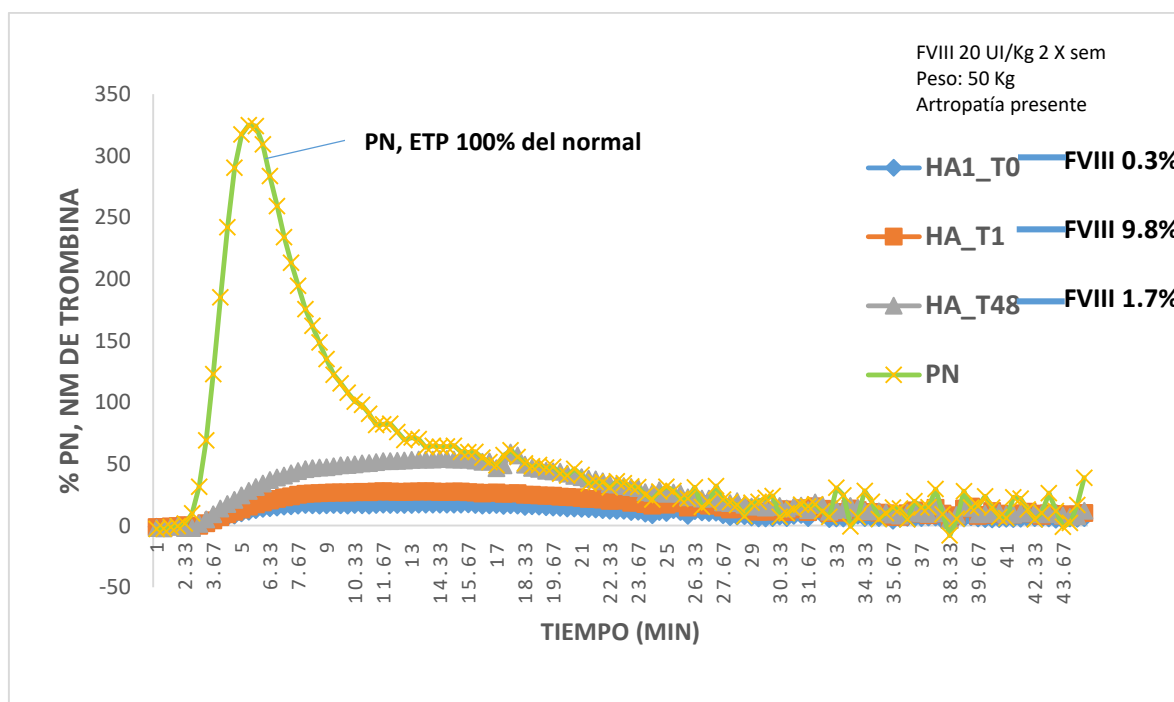


Figura 10. Ensayo de generación de trombina, del paciente número 1. Valores de ETP, comparado con cuantificación de FVIII.

Paciente 2: El paciente alcanza una adecuada generación de trombina, incluso previo al inicio del ensayo lo que refleja que se alcanza el objetivo de la profilaxis, se logra mantener el ETP >30%, siendo inicial 33.7%, a la hora alcanza 55.9% y a las 48 horas 35.90% (figura 11).

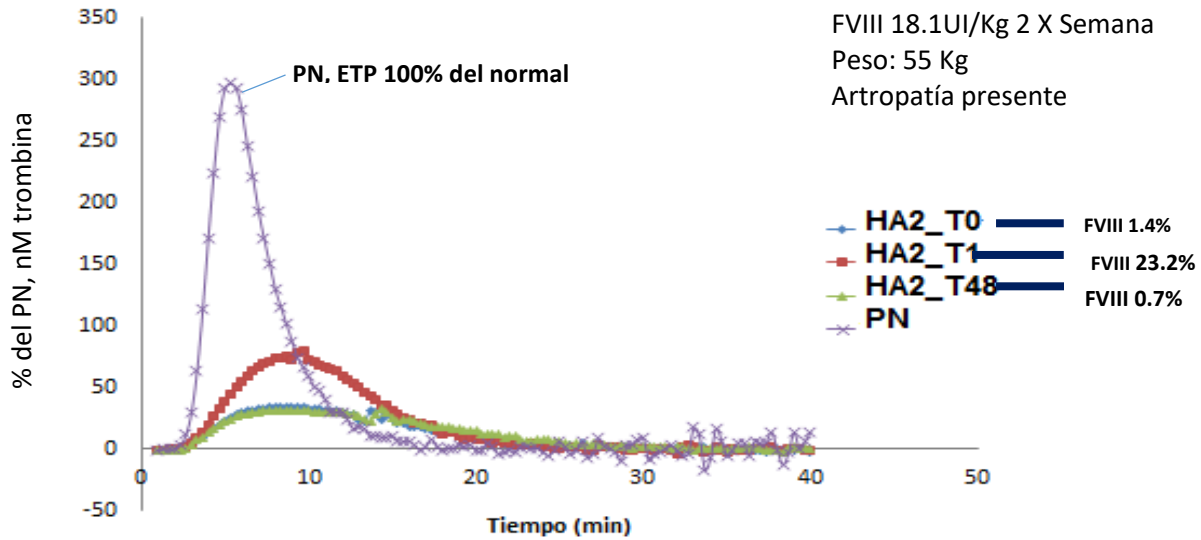


Figura 11. Ensayo de generación de trombina, del paciente número 2. Valores de ETP, comparado con cuantificación de FVIII.

Paciente 3: No se alcanza la respuesta esperada de generación de trombina, aunque se mantiene en 30%, sin modificaciones a la hora posterior a la administración del FVIII, alcanzando a las 48 horas 40% de ETP, esto nos habla de la pobre respuesta a la profilaxis, habrá que analizar la dosificación de acuerdo al peso (figura 12).

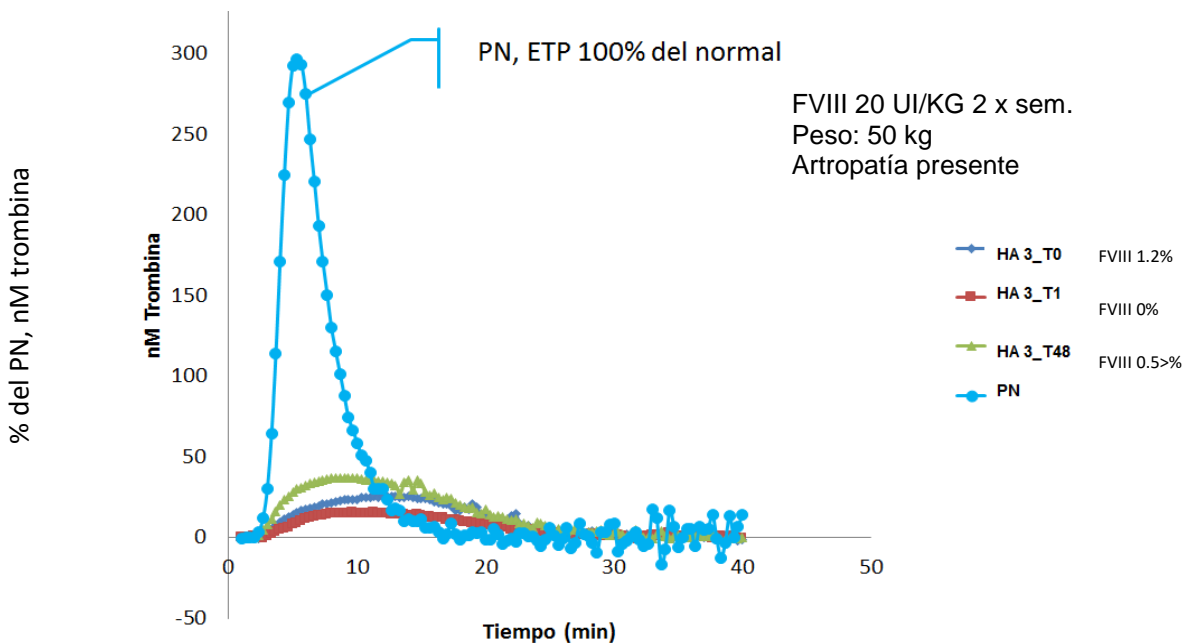


Figura 12. Ensayo de generación de trombina, del paciente número 3. Valores de ETP comparado con cuantificación de FVIII.

Paciente 4: En este paciente el basal de ETP se encuentra en 40.8%, alcanza 69.30% a la hora, para posteriormente caer a 28.0% de ETP, interpretando que se mantienen los niveles de ETP deseados >20%, y que probablemente el valor basal mayor se debe al efecto residual de la administración de dosis extra de FVIII (figura 13).

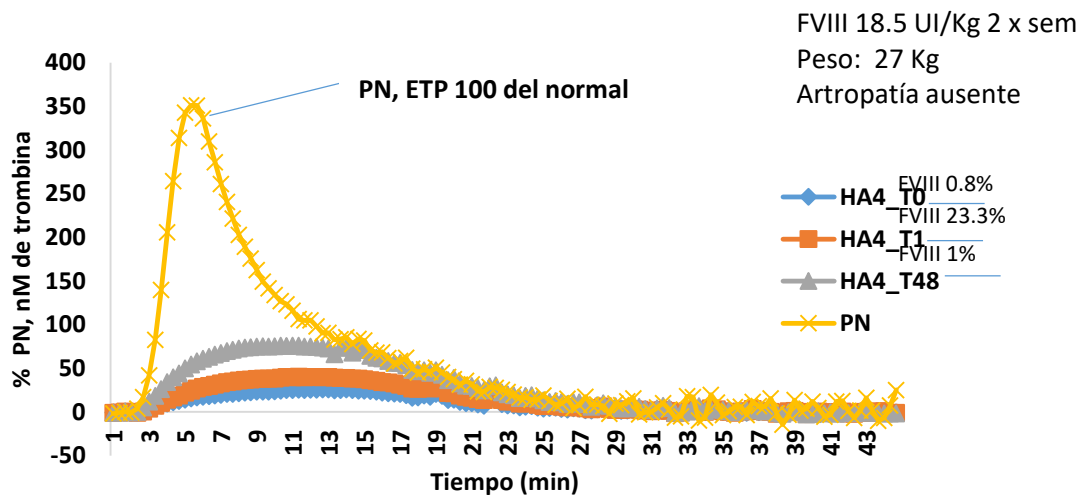


Figura 13. Ensayo de generación de trombina, del paciente número 4. Valores de ETP comparado con cuantificación de FVIII.

Paciente 5: el paciente muestra adecuada correlación entre los niveles basal y de 48 horas ya que oscilan alrededor de 30%, con un incremento esperado a la hora posterior a la dosis de tratamiento de 73.2%, nos traduce adecuado apego y dosificación de la profilaxis (figura 14).

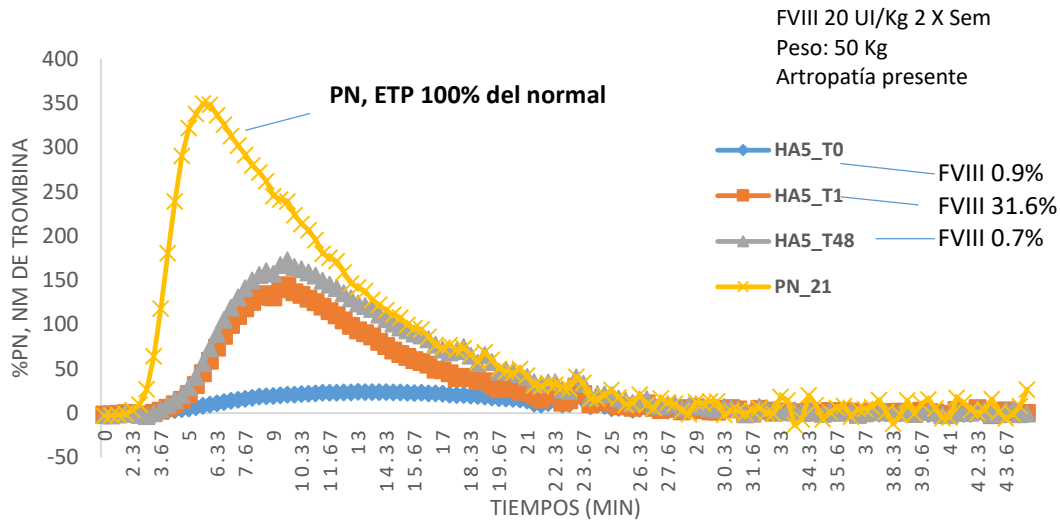


Figura 14. Ensayo de generación de trombina, del paciente número 5, valores de ETP comparado con cuantificación de FVIII

Paciente 6: De este paciente se conoce el cambio genético involucrado, que corresponde a una inversión en intrón 22 del gen *F8*, por lo que se esperaría en cero su valor basal de generación de trombina, por la falta de factor VIII circulante, sin embargo mantiene valores basales de 40%, alcanzando 73% a la hora posterior al tratamiento y cayendo nuevamente al 30.3% comparado con los controles, correlacionado a un menor número de eventos de sangrado, mínimo daño articular. Lo anterior indica que sus niveles basales de coagulación son debidos al factor terapéutico (figura15).

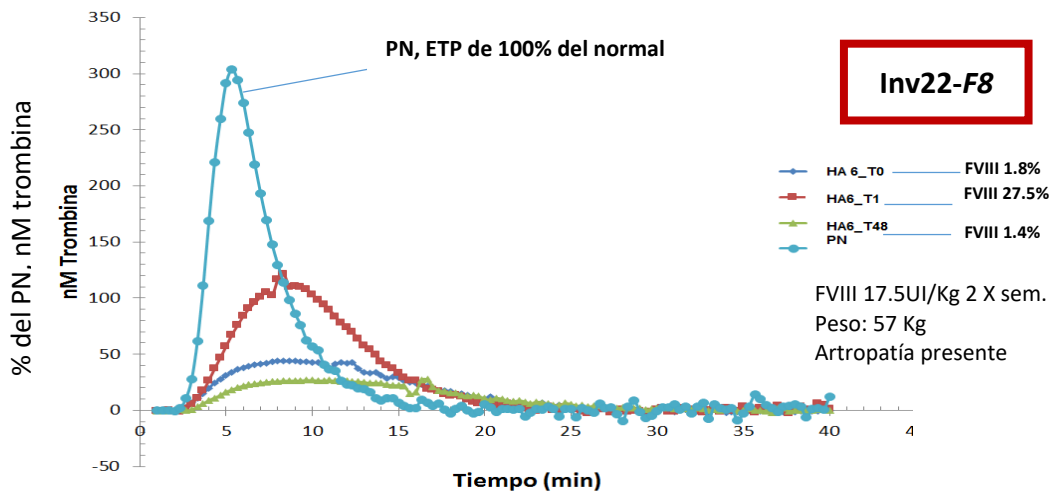


Figura 15. Ensayo de generación de trombina, del paciente número 6. Valores de ETP, comparado con FVIII. Paciente con inversión del intrón 22 en el gen *F8* (Inv22-F8).

En el paciente 7, los valores obtenidos se encuentran por debajo de <20% que sería lo esperado, con un basal de 14.7%, alcanza a la hora 48.6%, y a las 48 horas cae a 17.7% con respecto a los controles. Probablemente estemos en dosis sub-óptimas que deberán valorarse posteriormente, sin embargo no hay evidencia de artropatía indicando un buen manejo terapéutico. Este paciente también es portador de la inversión en intrón 22 del gen *F8*, causando ausencia completa del FVIII (figura 16).

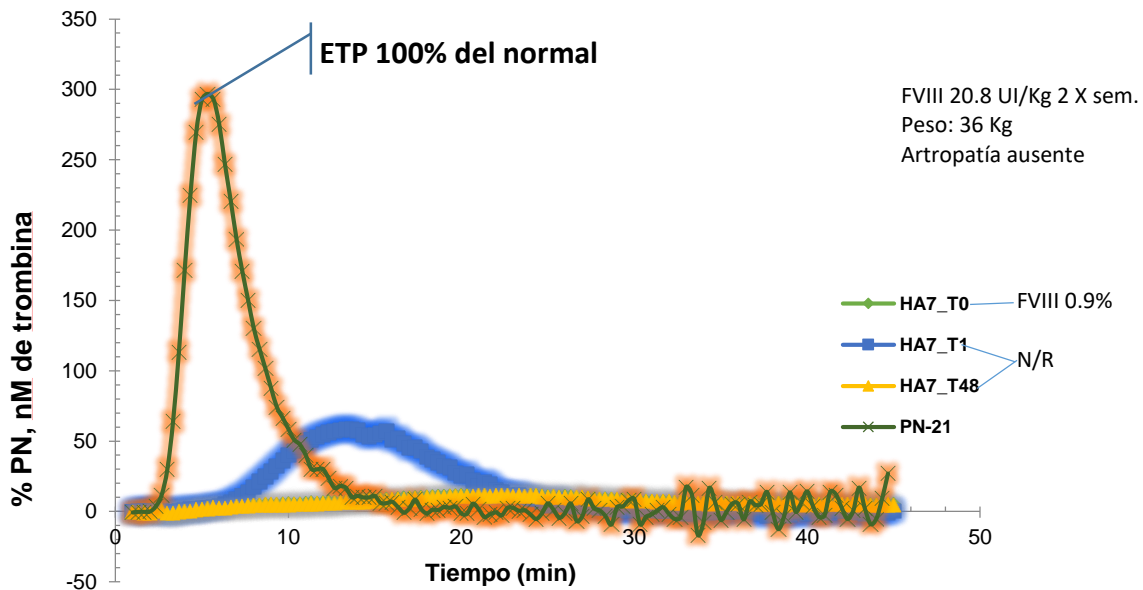


Figura 16. Ensayo de generación de trombina, del paciente número 7. Valores de ETP comparado con cuantificación de FVIII

Paciente 8: los resultados obtenidos de ETP no son valorables, ya que las muestras se encontraban hemolisadas generando los resultados invertidos de ETP basales de 26% y a la hora 15%, no hay muestra control de 48 horas al no acudir el paciente a la toma (figura 17).

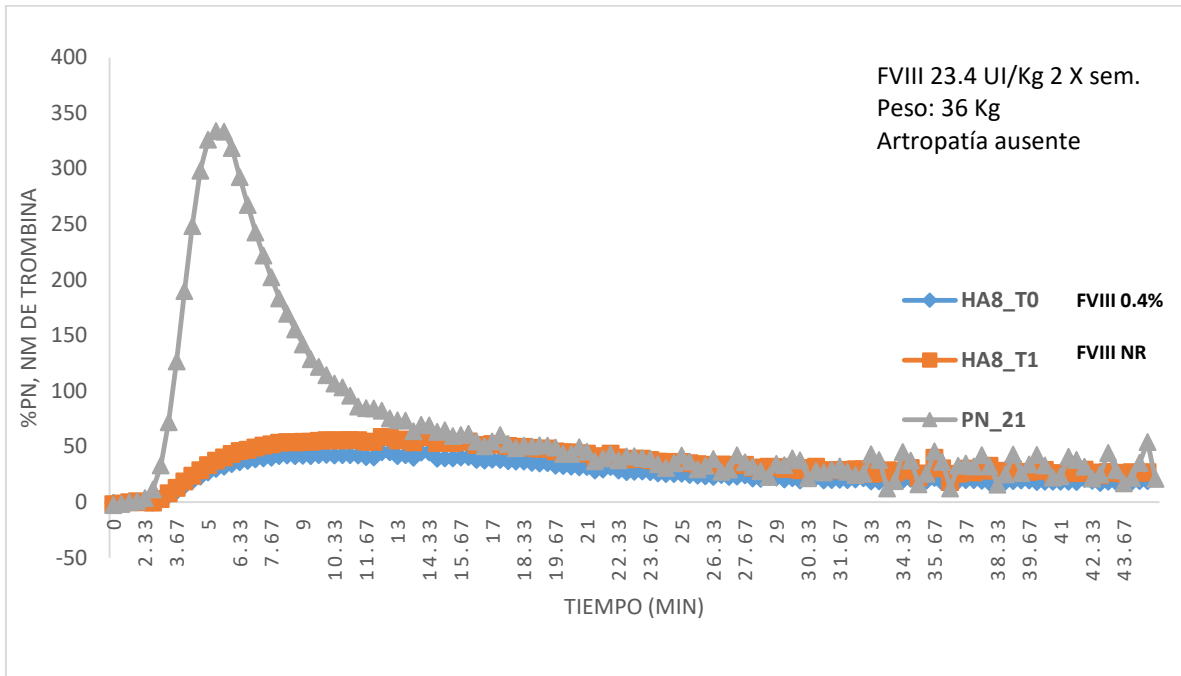


Figura 17. Ensayo de generación de trombina, del paciente número 8. Valores de ETP, comparadas con cuantificación de FVIII, en muestras hemolisadas.

14. Discusión:

De los 147 pacientes con hemofilia registrados en el servicio de Hematología Pediátrica, del Centro Médico Nacional de Occidente, Hospital de Pediatría, se estudiaron solamente pacientes con hemofilia A grave, y de este grupo de pacientes se consideró a 30 con edades entre 8 y 15 años 11 meses de edad, representando el 30% del grupo de pacientes con hemofilia A grave, que reciben tratamiento con profilaxis secundaria, es una muestra pequeña sin embargo se obtienen resultados que son favorables para el uso del ensayo de generación de trombina como predictor del estado hemostático de los pacientes, el rango de imprecisión del ensayo es de 2.5 a 4% (19).

Se realizó la evaluación de características clínicas como fueron los eventos de sangrado previo al inicio del tratamiento profiláctico y posterior al mismo, en el que se vio una inversión de los porcentajes de presentación, lo que se refleja con menor daño articular, a pesar de que el 70% de los pacientes estudiados tienen artropatía hemofílica. Comparado con el estudio del 2013, que es el antecedente directo de estudio de profilaxis en nuestro hospital (30), donde se evaluó el comportamiento de los eventos hemorrágicos que presentan los pacientes con hemofilia A y B que reciben profilaxis donde se encontró que la rodilla y el codo representaban el 31% de las articulaciones diana, hemos encontrado que las articulaciones más afectadas fueron el codo y tobillo (44.4%), esto se apega a lo descrito en la literatura a nivel mundial (3)

Se realizó cuantificación de factor FVIII a todos los pacientes en tres tiempos, en los que se observó que el 33.3% de los pacientes logran mantener la cuantificación entre 1 y 5%, que sería uno de los objetivos de la profilaxis, sin embargo la mayoría de ellos retorna a los niveles basales a las 48 horas posteriores a la dosis de tratamiento, sin que esto nos refleje el estado hemostático del paciente.

No hubo relación significativa entre los valores de TTPa, en los diferentes tiempos del ensayo, sin embargo se logran mantener entre 80 y 100 segundos. Esto es esperado en los pacientes que reciben tratamiento con profilaxis.

El ensayo de generación de trombina, permite valorar de forma más específica la generación de trombina, ya que nos demuestra la respuesta inmediata al tratamiento y el tiempo de efecto del sustrato, no fue posible valorar el ETP a las 4 horas, esto hubiera permitido apreciar la curva de Rho para la evaluación de la cinética del FVIII.

De forma semejante a otros estudios en nuestro país que han empleado esta herramienta, hemos observado que la generación de trombina demostró su eficacia para la evaluación hemostática (15), que correlaciona con el comportamiento clínico de los pacientes y permite valorar la respuesta al tratamiento de los pacientes con inhibidores (17).

El ensayo de generación de trombina es sensible al FVIII, por lo que se vuelve un predictor diagnóstico de peso, la finalidad de poder estudiar el estado de coagulación de los pacientes con deficiencia de este factor, es correlacionar el estado hemostático bioquímico, con el estado clínico del paciente, con lo que se podrá tomar decisión individualizadas para el tratamiento de cada paciente (19).

En el estudio pudimos observar que los pacientes que se encuentran con profilaxis mantienen niveles basales de ETP >20%, con lo que se asegura el inicio de la generación de trombina, con el incremento al pico de tratamiento y la caída a niveles basales.

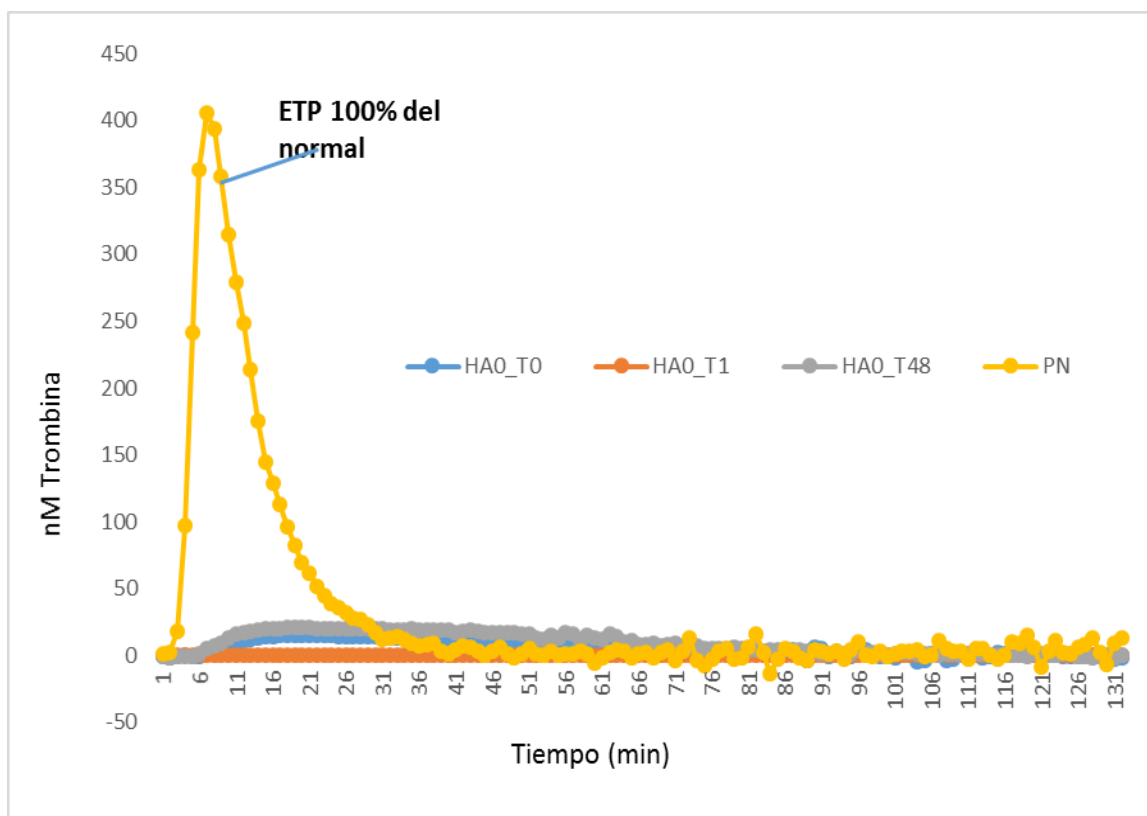


Figura 18. EGT de paciente que desarrolló inhibidor de alta respuesta posterior a tratamiento con dosis altas de FVIII.

Encontramos un paciente que recientemente desarrollo inhibidor de alta respuesta posterior a la administración de dosis elevadas de FVIII como esquema profiláctico.

Se muestran sus datos de ETP en respuesta al tratamiento que evidencian la presencia del inhibidor de alta respuesta (mayor a 100 UB), y un nivel nulo de FVIII, como reflejo de una cinética de coagulación abatida, por neutralización del FVIII.

15. Conclusiones

Se observó el beneficio de la profilaxis secundaria en relación a los eventos de sangrado, mostrando una disminución significativa de hemartrosis respecto a su número previo a la profilaxis secundaria ($P=0.045$).

El comportamiento hemostático de los pacientes, se favoreció con el uso de profilaxis a dosis bajas (25-25UI/Kg), reflejándose clínicamente en la disminución de los eventos de sangrado y bioquímicamente con un ETP >20% en la mayoría de los pacientes.

El potencial de trombina endógeno (ETP), fue el parámetro más predictivo del ensayo de generación de trombina ($P=0.014$), que mostró con mayor claridad los niveles hemostáticos alcanzados por efecto de la profilaxis.

El ensayo de generación de trombina demostró ser una prueba confiable para evaluar el estado hemostático de los pacientes con hemofilia A grave y su respuesta al tratamiento de profilaxis secundaria.

Este estudio marca el antecedente para futuras evaluaciones de todos los pacientes que se encuentran recibiendo terapia de reemplazo con FVIII, en su forma primaria y/o secundaria, además de permitir la identificación de riesgos ante la presencia de inhibidores.

16. Cronograma de actividades.

No	ACTIVIDAD	MES CALENDARIO PROGRAMADO																
		NOV 2014	DIC 2014	ENE 2015	FEB 2015	MAR 2015	ABR 2015	MAY 2015	JUN 2015	JUL 2015	AGO 2015	SEP 2015	OCT 2015	NOV 2015	DIC 2015	ENE 2015	FEB 2015	
1	DISEÑO Y DESARROLLO TÉCNICO																	
2	VALIDACIÓN DE INSTRUMENTOS																	
3	RECOLECCIÓN DE DATOS																	
4	CODIFICACIÓN																	
5	PROCESAMIENTO DE DATOS																	
6	ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN																	
7	REDACCIÓN DEL INFORME FINAL																	
8	ELABORACIÓN DE ARTÍCULO																	

17. Bibliografía.

1. <http://www.hemophilia.ca/en/bleeding-disorders/hemophilia-a-and-b/the-history-of-hemophilia/>
2. Bolton-Maggs PH, Pasi KH. Hemophilias A and B. *The Lancet* 2003; 361:1801-1809.
3. De Kleijn P, Odent T, Berntorp E, Hilliards P, Pasta G et al. Differences between developed and developing countries in paediatric care in haemophilia. *Haemophilia* 2012; 18:94-100.
4. Martínez MC. Hemostasia, trombosis y laboratorio de coagulación. *Hemofilia* 2013; 7:73-90.
5. García-Chavez J, Majuf-Cruz A. Hemofilia. *Gac Méd Mex* 2013; 149 (3):308-321
6. Hoffman R, Benz EJ, Shatti SJ, Furie B, Cohen HJ, Silbertein LE, McGlaven P. *Basic Principles and Practice. Hematology* 2008; 107:1851-1867.
7. Jaloma-Cruz AR, Beltrán-Miranda CP, González-Ramos IA, López-Jimenez JJ, Luna-Záizar H, Mantilla-Capacho JM, et al. Genotype interaction analyses in Hemophilia. *Hemophilia* 2012;2:15-32.
8. Colman RW, Marder VJ, Clowes AW, George JN, Goldhaber SZ. *Hemostasis and thrombosis: basic principles and clinical practice. Lippincott Williams & Wilkins* 2006; 8:151-176.
9. Jaloma AR, Luna H. Pruebas de generación de trombina. Prueba de trombografía calibrada automatizada (CAT). *Rev Hematol Mex* 2012; 7:1-8.
10. Martínez-Murillo C. Mecanismos de la activación de la coagulación. *Rev Med Inst Mex Seg Soc* 2006; 44 (2):51-58.
11. World Federation of Hemophilia. Report on the Annual Global Survey 2013. <http://www.wjh.org/publications/files/pdf-1591.pdf>
12. Registro Nacional de Pacientes con Hemofilia, AÑO. Federación de Hemofilia de la República Mexicana, A.C. Guadalajara México 2015. <http://www.hemofilia.org.mx>.
13. Srivastava A, Brewer AK, Mauser-Bunschoten EP, Keys NS, Kitchen S et al. Guidelines for the management of hemophilia. *Haemophilia* 2013; 19: 1-47.
14. Guía de práctica clínica. Diagnóstico y tratamiento de la hemofilia pediátrica, Evidencias y recomendaciones, México; Secretaría de Salud, 2009. Actualización 2012. <http://www.cenetec.salud.gob.mx/interior/gpc.html>.
15. Beltran-Miranda CP, Luna-Zaizar H, López-Jimenez JJ, Mantilla-Capacho JM, and Jaloma-Cruz AR. Phenotypic variability in a family with haemophilia B and prothrombin G20210 A. *Haemophilia* 2012; 18:1-41.
16. Waters EK et al. Thrombin generation assay using factor IXa to measure factors VIII and IX and their glycoPEGylated derivatives is robust and sensitive. *J Thromb Haemost* 2015;13:2041-2052.
17. Luna-Záizar H, Beltrán-Miranda CP, Esparza-Flores MA, Soto-Padilla J, Bérge-García A et al. Thrombin generation as objective parameter of treatment response in patients with severe haemophilia A and high-titre inhibitors. *Haemophilia* 2014; 20:7-14.
18. Coenraad H, Al Dieri R and Béquin S. Thrombin Generation assays: accruing clinical relevance. *Hemostasis and thrombosis* 2004;11:170-175.

19. Coenraad HH, Jaloma AR. Tromboscopia calibrada automatizada en el estudio de los trastornos de la hemostasia. *Rev Hematol Mex* 2012; 13 (1): 25-31.
20. Spira J, Plyushch OP, Andreeva TA, et al. Prolonged bleeding-free period following prophylaxis infusion of recombinant FVIII reconstituted with Fh pegylated liposomes. *Blood* 2006; 108 (12): 3668-73.
21. Schwarz R, Ljung R, Tedgard U. Various regimens for prophylactic treatment of patients with haemophilia. *Eur J Haematol* 2015. 94 (77): 11-16.
22. Nilsson IM, Berntorp E, Lofqvist T, Petersson H, Twenty-five years experience of prophylactic treatment in severe haemophilia A and B. *J Intern Med* 1992; 232:25-32.
23. Petrini P. What factors should influence the dosage and interval of prophylactic treatment in patients with severe haemophilia A and B?. *Hemophilia* 2001; 7:99-102.
24. Shapiro AD. A global view on prophylaxis: possibilities and consequences. *Haemophilia* 2003; 9;1:10-18.
25. Gringeri A, Mantovani, Lorenzo G Scalone, Mannucci PM. Cost of care and quality of life for patients with hemophilia complicated by inhibitors: the COCIS Study Group. *Blood* 2003; 102:2358-2363.
26. Chantarangkul V, Cleria M, Bressi C, Giesen PL, Tripodi A. Thrombin generation assessed as endogenous thrombin potential in patient with hyper or hypo coagulability. *Haematologica* 2003;88:547-554.
27. Santagostino E, Mancuso ME, Rocino A, Mancusso G, Mazzucconi MG et al. Environmental risk factors for inhibitor development in children with haemophilia A: case-control study. *Br J Haematol* 2005; 422-427.
28. Matsumoto T et al. The measurement of low levels of factor VIII or factor IX in hemophilia A and hemophilia B plasma by clot waveform analysis and thrombin generation assay. *J Thromb Haemost* 2006; 2:377-384.
29. Dielis A, Balliél W, van Oerle R, Hermens W, Spronk H et al. Thrombomodulin-modified thrombin generation after in vivo recombinant factor VIII treatment in severe hemophilia A. *Haematologica* 2008; 93 (9):1351-1358.
30. Domínguez-Rodríguez KA. "Comportamiento de los eventos hemorrágicos en pacientes con hemophilia A y B con porcentaje de actividad del factor <2%, con profilaxis escalonada". Tesis de residencia en hematología pediátrica, UMAE Pediatría Centro Médico Nacional de Occidente, IMSS, 2013.

18. ANEXOS:

18.1 CONSENTIMIENTO INFORMADO



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN
Y POLÍTICAS DE SALUD
COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD**

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

(NIÑOS Y PERSONAS CON DISCAPACIDAD)

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN

NOMBRE DEL ESTUDIO: ESTUDIO DE GENERACIÓN DE TROMBINA PARA LA EVALUACIÓN DE

PROFILAXIS EN PACIENTES CON HEMOFILIA A GRAVE".

LUGAR Y FECHA: _____

NÚMERO DE REGISTRO: _____

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVO DEL ESTUDIO: DETERMINAR LA GENERACIÓN DE TROMBINA EN LOS PACIENTES

QUE RECIBEN TERAPIA SUSTITUTIVA CON FACTOR VIII, CON LA FINALIDAD DE ESTABLECER DOSIS PERSONALIZADAS QUE MANTENGAN LOS NIVELES PLASMÁTICOS DE FACTOR VIII EN PARÁMETROS QUE EVITEN EVENTOS HEMORRÁGICOS.

PROCEDIMIENTOS: SE TOMARÁN SANGRE PERIFÉRICA REPARTIDAS EN 3 TUBOS DE CITRATO DE 4.5 Mm CADA UNO, PREVIO A LA APLICACIÓN DE FACTOR VIII, A LA HORA Y A LAS 72 HORAS POSTERIORES A RECIBIR TERAPIA SUSTITUTIVA.

POSIBLES RIESGOS Y MOLESTIAS: SANGRADO EN EL SITIO DE VENOPUNCIÓN, DOLOR, MÚLTIPLES PUNCIÓNES, HEMATOMA DE LA ZONA DE PUNCIÓN.

INFORMACIÓN SOBRE RESULTADOS HEMATOLOGÍA SE ENTREGARÁN EN LA CONSULTA EXTERNA DE

Y ALTERNATIVAS DE TRATAMIENTO:

PARTICIPACIÓN O RETIRO: _____

PRIVACIDAD Y CONFIDENCIALIDAD: _____

COLECCIÓN DE MATERIAL BIOLÓGICO:

NO AUTORIZA QUE SE TOMA LA MUESTRA.

SI AUTORIZO QUE SE TOMEN LA MUESTRAS NECESARIAS, SÓLO PARA ESTE ESTUDIO.

SI AUTORIZO QUE SE TOMA LA MUESTRA, PARA ESTE ESTUDIO Y ESTUDIOS FUTUROS.

DISPONIBILIDAD DE TRATAMIENTO: SE APLICARÁ DOSIS CORRESPONDIENTE A LA PROFILAXIS SECUNDARIA, QUE RECIBE, Y SE AJUSTARÁ EL MANEJO DE ACUERDO A LOS RESULTADOS OBTENIDOS

BENEFICIOS AL TERMINO DEL ESTUDIO: TRATAMIENTOS DE PROFILAXIS PERSONALIZADOS A LOS REQUERIMIENTOS NECESARIOS PARA MANTENER LA HEMOSTASIA.

INVESTIGADOR RESPONSABLE: DRA. MARÍA ISABEL CADENA DE AQUINO.

COLABORADORES:
DRA. JANET MARGARITA SOTO PADILLA
DRA. ANA REBECA JALOMA CRUZ
DRA. HILDA LUNA ZÁIZAR

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a: Comisión de Ética de Investigación de la CNIC del IMSS: Avenida Cuauhtémoc 330 4° piso Bloque "B" de la Unidad de Congresos, Colonia Doctores. México, D.F., CP 06720. Teléfono (55) 56 27 69 00 extensión 21230, Correo electrónico: comision.etica@imss.gob.mx

NOMBRE Y FIRMA DE AMBOS PADRES O TUTORES Ó REPRESENTANTE LEGAL

<hr/> <p>NOMBRE Y FIRMA DEL PADRE</p>		<hr/> <p>NOMBRE Y FIRMA DE LA MADRE</p>	
<hr/> <p>TUTOR O REPRESENTANTE LEGAL</p>			
<p>TESTIGO 1</p> <hr/> <p>NOMBRE, DIRECCIÓN, RELACIÓN Y FIRMA</p>		<p>TESTIGO 2</p> <hr/> <p>NOMBRE, DIRECCIÓN, RELACIÓN Y FIRMA</p>	
<p>NOMBRE Y FIRMA DE QUIEN OBTIENE EL CONSENTIMIENTO</p> <hr/> <p>NOMBRE Y FIRMA</p>			

18.2 HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN
Y POLITICAS DE SALUD
COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD
HOJA DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN**

NOMBRE DEL PACIENTE: _____

NÚMERO DE SEGURIDAD SOCIAL: _____

FECHA DE NACIMIENTO: _____

EDAD ACTUAL: _____ EDAD DE INICIO DE TRATAMIENTO: _____

LUGAR DE ORIGEN: _____

DOMICILIO: _____

TELEFONO: _____ DIAGNOSTICO: _____

EVENTOS HEMORRAGICOS: _____ EVENTOS HEMORRAGICOS ANTES DE INCIAR PROFILAXIS: _____

CUANTOS EVENTOS DE SANGRADO PRESENTA AL MES: _____

ARTICULACIONES DIANA (ARTICULACIÓN QUE MÁS SANGRA): _____

TIENE ARTROPATIA HEMOFILICA: (DX) _____

TIENE FAMILIARES CON HEMOFILIA: _____ TIENE ANTECEDENTES DE INHIBIDORES EN LA FAMILIA: _____

TIPO DE TRATAMIENTO: P. PRIMARIA: _____ P. SECUNDARIA: _____
P- TERCIARIA: _____ A DEMANDA: _____
SE APLICA EL TRATAMIENTO SIN FALTA: _____
CUÁNTAS VECES POR SEMANA: _____
DOSIS DE FVIII: _____

CUANTIFICACIÓN DE FACTOR VIII

NIVEL BASAL: _____ NIVEL A 1 HRA: _____

NIVEL A LAS 72 HORAS: _____ LAGTIME: _____

PICO: _____ PET: _____