

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
FACULTAD DE MEDICINA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**

**TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL GRADO
ACADÉMICO DE LICENCIADO EN LABORATORIO CLÍNICO**

**REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA NARRATIVA: “IMPORTANCIA DEL
DIAGNÓSTICO DE INHIBIDORES DE LOS FACTORES VIII Y IX EN
PACIENTES CON HEMOFILIA”**

**AUTORES: CRISTOPHER ALEXANDER BORJA HURTADO
ANTHONY JOSUE TORRES IBUJES**

DIRECTORA: MTR. MARCELA MARDONES MONTANARES

QUITO, 2023

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, Cristopher Alexander Borja Hurtado, C.C. 0502616014; autor del trabajo de graduación intitulado: **“Revisión Bibliográfica Narrativa: Importancia del diagnóstico de inhibidores de los factores VIII y IX en pacientes con hemofilia”**, previo a la obtención del grado académico de Licenciado en Laboratorio Clínico en la Facultad de Medicina – Carrera de Laboratorio Clínico:

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través de sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de la Universidad.



Cristopher Alexander Borja Hurtado

C.C. 0502616014

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, Anthony Josue Torres Ibujes, C.C. 1750122143; autor del trabajo de graduación intitulado: **“Revisión Bibliográfica Narrativa: Importancia del diagnóstico de inhibidores de los factores VIII y IX en pacientes con hemofilia”**, previo a la obtención del grado académico de Licenciado en Laboratorio Clínico en la Facultad de Medicina – Carrera de Laboratorio Clínico:

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través de sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de la Universidad.



Anthony Josue Torres Ibujes

C.C. 1750122143

CERTIFICACIÓN

Certifico que el trabajo de titulación de los señores Cristopher Alexander Borja Hurtado y Anthony Josue Torres Ibujes intitulado **“Revisión Bibliográfica Narrativa: Importancia del diagnóstico de inhibidores de los factores VIII y IX en pacientes con hemofilia”** ha concluido de conformidad con las normas establecidas por la Unidad Académica, por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.

Mtr. Marcela Alejandra Mardones Montanares

Directora

DEDICATORIA

Deseo dedicar este trabajo de titulación a mis padres quienes desde mi niñez inculcaron en mi la disciplina y esfuerzo para cumplir mis metas y nunca rendirme ante las adversidades presentes en mi vida.

A mi padre, Rodolfo porque es mi ejemplo de perseverancia, responsabilidad y trabajo duro, el cual me inspira a siempre dar lo mejor de mí y nunca rendirme.

A mi madre, Betty por todo el amor y apoyo incondicional que me ha brindado a lo largo de mi vida, y que sin ella nada de esto sería posible.

A mi hermana, Dayana por siempre estar a mi lado, cuidarme y siempre impulsarme a ser mi mejor versión.

A mi amigo y compañero de tesis Anthony, por compartir conmigo momentos inolvidables a lo largo de nuestra carrera universitaria y ser parte de este notable logro en nuestras vidas.

Para terminar, quiero dedicar esta tesis a todas aquellas personas que aportaron de forma positiva y estuvieron presentes durante mi formación como profesional.

Cristopher Borja

DEDICATORIA

Este trabajo de tesis lo dedico a todas las personas que han formado parte de mi vida, tanto personal como académica. A mis padres, familia y amigos.

A Dios, por brindarme fuerza y sabiduría, así como la oportunidad de aprender y crecer personalmente para poder cumplir mis sueños.

A mi madre, Nelly quien en toda mi vida ha sido una fuente grande de inspiración durante todo este tiempo. Le doy gracias por su amor y paciencia, con el cual he sido capaz de lograr todos los objetivos de mi vida y de todo corazón anhelo que esta disertación honre su sacrificio.

A mi hermano, Mateo por su energía, alegría y curiosidad que a pesar de su corta edad me ha ayudado a encontrar la felicidad en las pequeñas cosas simples de la vida.

A Nahomi, quien ahora es mi confidente.

A mis amigos y amigas, quien han sido y son una gran fuente de apoyo y con quienes hemos pasado muchos momentos de alegría. Por sus alientos y consejos.

A mi mejor amigo y compañero de tesis, Christopher quien ha sido importante en todo este camino y que con su apoyo hemos logrado sacar adelante este trabajo y culminar una etapa importante de nuestras vidas.

Anthony Torres

AGRADECIMIENTOS

A la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, por el conocimiento, valores y las habilidades que nos han ayudado a prepararnos para dar frente a los desafíos del mañana.

A la Mtr. Marcela Mardones, por su apoyo y sobre todo por su orientación en el transcurso de todo el proceso de investigación. Su conocimiento y su experiencia han sido fundamentales e ideales para el éxito de nuestra tesis.

A todos los docentes de la carrera, por su dedicación y compromiso a lo largo de estos 9 semestres fundamentales en nuestra formación como personas y profesionales. Por enseñarnos a ser creativos y críticos. Esperamos que esta tesis sea una gran muestra de la gratitud que tenemos hacia ustedes y la universidad.

Cristopher Borja y Anthony Torres

TABLA DE CONTENIDO

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN	II
CERTIFICACIÓN.....	IV
DEDICATORIA.....	V
AGRADECIMIENTOS.....	VII
TABLA DE CONTENIDO	VIII
LISTA DE FIGURAS	X
LISTA DE TABLAS	XI
LISTA DE ANEXOS	XII
LISTA DE SIGLAS	XIII
RESUMEN.....	XIV
ABSTRACT	XV
1. INTRODUCCIÓN	16
1.1.Planteamiento del problema.....	18
1.2.Justificación.....	20
1.3.Pregunta de investigación.....	22
1.4.Objetivos	22
1.4.1. Objetivo general.....	22
1.4.2. Objetivos específicos	22
1.5.Delimitación del estudio.....	23
2. MARCO METODOLÓGICO	24
2.1.Tipo de estudio	24
2.2.Identificación del campo de estudio.....	24
2.3.Proceso de revisión bibliográfica	24
2.3.1. Selección de las fuentes de información	24
2.3.2. Búsqueda bibliográfica	25
2.3.3. Estrategias de búsqueda	25
2.3.4. Registro de estrategias de búsqueda y selección.....	26
3. SELECCIÓN DE ARTÍCULOS	27
3.1.Criterios de búsqueda.....	27
3.2.Pasos de depuración y selección de la información	28
3.3.Descripción general de los artículos seleccionados para el estudio	30
4. RESULTADOS.....	31

4.1. Importancia del diagnóstico de inhibidores de la coagulación en pacientes con hemofilia A o B, congénita y adquirida.	31
4.2. Factores de riesgo para el desarrollo de inhibidores	36
4.2.1. Factores de riesgo no modificables	36
4.2.2. Factores de riesgo posiblemente modificables	40
4.3. Tipos de inhibidores en pacientes con hemofilia	45
4.4. Metodología utilizada en las pruebas de laboratorio clínico para el diagnóstico de inhibidores	47
4.4.1. Estudio de mezclas	49
4.4.2. Prueba de Bethesda	51
4.4.3. Prueba de Nijmegen-Bethesda	54
4.4.4. Ensayo de inmunoadsorción ligado a enzima (ELISA)	56
4.4.5. Métodos alternativos para incrementar la especificidad y sensibilidad de los ensayos de laboratorio.	59
5. DISCUSIÓN	60
6. CONCLUSIONES	64
7. RECOMENDACIONES	65
BIBLIOGRAFÍA	66
ANEXOS	70

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de flujo para identificar los estudios	29
Figura 2 y 3: Mecanismo de respuesta inmune – Desarrollo de inhibidores en hemofilia..	33
Figura 4. Estructura del anticuerpo	34
Figura 5: Inhibidores y el factor VIII de la coagulación.	37
Figura 6: Cinética de inhibidores tipo I y II	46
Figura 7: Algoritmo diagnóstico de inhibidores en hemofilia.....	49
Figura 8: Prueba de Bethesda para la detección de inhibidores	53
Figura 9: Cálculo de factor residual	53
Figura 10: Prueba de Nijmegen-Bethesda para la detección de inhibidores	56
Figura 11: Técnica de ELISA tipo sándwich para la detección de inhibidores.....	58

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Relación entre de los niveles de factor VIII circulante y el sangrado en el paciente con hemofilia congénita.....	16
Tabla 2. Bases de datos.....	24
Tabla 3. Estrategias de búsqueda.....	25
Tabla 4. Tipos de concentrados de factor	42
Tabla 5. Diluciones realizadas para dosaje de factor.....	51
Tabla 6. Comparación de pruebas de laboratorio para la detección de inhibidores	58

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Matriz de estrategia de búsqueda.....	70
Anexo 2. Matriz de recolección de información primaria.....	70
Anexo 3. (Declaración STROBE, lista de los puntos esenciales que se deben describir en un estudio de revisión bibliográfica narrativa).....	71
Anexo 4. Matriz de artículos excluidos	72
Anexo 5. Matriz de artículos recuperados	75
Anexo 6. Matriz de recolección de la información final	77

LISTA DE SIGLAS

- APC: Célula presentadora de antígeno.
- aPTT: Tiempo de tromboplastina parcial activada.
- BU: Unidades Bethesda.
- CFC: Concentrados de los factores de coagulación.
- DeCs: Descriptores de Ciencias de la Salud.
- DE: Días de exposición.
- EMA: Agencia Europea de medicamentos.
- ELISA: Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzima.
- Fc: Fragmentos cristalizables.
- FUNDHEC: Fundación Hemofílica Ecuatoriana.
- HA: Hemofilia A.
- HB: Hemofilia B.
- HLA-II: Antígeno leucocitario humano de clase dos.
- ITB: Inhibidores de título bajo.
- ITA: Inhibidores de título alto.
- IL: Interleucina.
- ITI: Fase tardía de inducción de inmunotolerancia.
- MSP: Ministerio de salud pública.
- MeSH: Medical Subject Headings.
- MHC-II: Complejo de histocompatibilidad mayor clase II.
- OPS: Organización panamericana de la salud.
- PT: Tiempo de protrombina.
- SNP: Polimorfismos de nucleótido único.
- SIPPET: Encuesta sobre inhibidores en niños pequeños expuestos a productos de plasma.
- TCR: Receptor de linfocitos T.
- UNB: Unidades Nijmegen-Bethesda.

RESUMEN

Introducción: La hemofilia es una enfermedad de origen genético que también puede presentarse de forma adquirida; el fenotipo característico de esta patología es la tendencia al sangrado y su principal complicación es el desarrollo de inhibidores de los factores VIII o IX de la coagulación. En la presente revisión bibliográfica narrativa, se enfatiza la importancia de la detección de los inhibidores de los factores VIII y IX en pacientes con hemofilia, abordando aspectos de etiología, fisiopatología, diagnóstico y terapia de los pacientes, al igual que nuevas alternativas diagnósticas en el área de laboratorio clínico.

Materiales y métodos: Se llevó a cabo una búsqueda en las bases de datos de Dialnet, Science Direct, Pubmed, Scopus, Proquest, Jstor, Springer Journals, Scielo, Redalib, Clinical key y Bvs con el uso de operadores booleanos y términos clave en inglés y español. Se seleccionaron ocho artículos que sirvieron de base para la elaboración del presente documento.

Resultados: Se elaboró una revisión bibliográfica narrativa que incorporó conceptos básicos y prácticos actualizados para exponer la importancia de un correcto enfoque clínico para el manejo de los inhibidores en pacientes con hemofilia congénita y adquirida. Además de identificar los factores de riesgo para el desarrollo de estos anticuerpos, sus diferentes comportamientos y varios métodos para su detección a nivel del laboratorio clínico.

Conclusiones: El desarrollo de inhibidores de los factores de la coagulación VIII o IX, tanto en pacientes con hemofilia congénita, y en pacientes con hemofilia adquirida, representan la principal complicación para esta población. Por lo cual se dio importancia prioritaria a la investigación de técnicas diagnósticas y ayuda terapia para esta condición, lo que es crucial para el bienestar de los individuos con esta enfermedad.

Recomendaciones: Se requieren estudios experimentales exhaustivos de las nuevas técnicas de laboratorio para la detección de inhibidores en pacientes con hemofilia congénita y adquirida; además de que se realicen estudios de carácter experimental para determinar qué clase de concentrados de factores de coagulación (CFC) son más riesgosos para el desarrollo de inhibidores.

Palabras clave: inhibidores, hemofilia A, hemofilia B y hemofilia adquirida.

ABSTRACT

Introduction: Hemophilia is a disease of genetic origin that can also present in an acquired form; the characteristic phenotype of this pathology is the tendency to bleed and its main complication is the development of inhibitors of coagulation factors VIII or IX. In this narrative bibliographic review, we emphasize the importance of detecting inhibitors of factors VIII and IX in patients with hemophilia, addressing aspects of etiology, pathophysiology, diagnosis and therapy of patients, as well as new diagnostic alternatives in the clinical laboratory area.

Materials and methods: A search was carried out in the databases of Dialnet, Science Direct, Pubmed, Scopus, Proquest, Jstor, Springer Journals, Scielo, Redalib, Clinical key and Bvs with the use of Boolean operators and key terms in English and Spanish. Eight articles were selected and served as the basis for the preparation of this document.

Results: A narrative literature review was prepared incorporating updated basic and practical concepts to expose the importance of a correct clinical approach for the management of inhibitors in patients with congenital and acquired hemophilia. In addition to identifying risk factors for the development of these antibodies, their different behaviors and various methods for their detection at the clinical laboratory level.

Conclusions: The development of inhibitors of coagulation factors VIII or IX, both in patients with congenital hemophilia, and in patients with acquired hemophilia, represent the main complication for this population. Therefore, priority importance was given to the investigation of diagnostic techniques and therapeutic aid for this condition, which is crucial for the well-being of individuals with this disease.

Recommendations: Comprehensive experimental studies of new laboratory techniques for the detection of inhibitors in patients with congenital and acquired hemophilia are required; furthermore, studies of an experimental nature should be conducted to determine which class of clotting factor concentrates (CFCs) are more risky for the development of inhibitors.

Key words: inhibitors, hemophilia A, hemophilia B and acquired hemophilia.

1. INTRODUCCIÓN

La descripción de la hemofilia data del siglo II A.C, plasmada en el Talmud, sobre los cuidados a varones recién nacidos circuncidados que presentaban hermanos con antecedentes de hemorragias. Luego en el siglo XVII este padecimiento fue descrito como “la enfermedad de la realeza”, al ser heredada a los descendientes del trono en los reinos de España, Inglaterra y Alemania (Alvarado-Ibarra et al., 2021).

La hemofilia es un trastorno hemorrágico congénito o adquirido, dado por una deficiencia del factor VIII (en caso de hemofilia A) o factor IX de la coagulación (en caso de hemofilia B) que causa incapacidad en la activación de la cascada de la coagulación necesaria para formar un coágulo sanguíneo estable. El fenotipo representativo de esta enfermedad es la tendencia que presenta el paciente al sangrado y la severidad de estas manifestaciones son inversamente proporcionales al grado de deficiencia del factor de coagulación en circulación sanguínea (Tabla 1) (Srivastava et al., 2020).

Tabla 1. *Relación entre de los niveles de factor VIII circulante y el sangrado en el paciente con hemofilia congénita.*

Severidad del sangrado	Nivel de factor VIII de coagulación circulante	Manifestación de sangrado
Leve	5 - 40 UI/dL (5 – 40 % de lo normal)	Episodio de sangrado espontáneo poco común, sin embargo, puede escalar a sangrado grave en una cirugía o trauma mayor
Moderada	1 - 5 UI/dL (1 – 5 % de lo normal)	Episodios de sangrado esporádico. Puede escalar a sangrado prolongado en una cirugía o trauma menor
Grave	<1 UI/dL (<1 % de lo normal)	Episodios de sangrado recurrentes a nivel muscular o articular.

No obstante, es importante señalar que el patrón de sangrado presente en la hemofilia adquirida difiere en el observado en la hemofilia congénita. Las hemorragias articulares (hemartrosis) presentes en los pacientes con hemofilia congénita no son comunes en la hemofilia adquirida, esta última tiene como manifestaciones características a la púrpura cutánea y sangrados a nivel de tejidos blandos. La razón de esta diferencia en el patrón de sangrados es desconocida, debido a que aún no existe una alteración verificable de la función plaquetaria (Rodríguez Rodríguez et al., 2020).

La deficiencia congénita de los factores es el resultado de mutaciones vinculadas al cromosoma X, por lo cual los individuos varones heredan y manifiestan el trastorno, mientras que las mujeres son llamadas portadoras; sin embargo, cabe señalar que es posible que presenten alguna sintomatología de la enfermedad. Con el pasar de los años la terapia para pacientes con hemofilia ha ido mejorando y es así como actualmente la enfermedad se trata con el uso de concentrados comerciales de los factores de la coagulación deficientes, sin embargo, la complicación de este tratamiento radica en el desarrollo de aloanticuerpos contra dichos factores y que son conocidos como inhibidores de la coagulación (Carcao y Goudemand, 2018).

Por otro lado, existe la posibilidad de que un paciente con hemofilia adquirida presente autoanticuerpos a lo largo de su vida, que se originan como consecuencia de una patología primaria y a diferencia de la hemofilia congénita, estas inmunoglobulinas pueden ser eliminadas con el tratamiento dado por el médico. Este raro trastorno afecta tanto a hombres como mujeres de todas las edades, con un pico de incidencia en personas mayores de sesenta años y en pacientes con comorbilidades asociadas a trastornos autoinmunes o neoplásicos. El fenotipo hemorrágico de esta clase de hemofilia varía desde hemorragias leves o nulas hasta sangrados potencialmente mortales (Andreas Tiede et al., 2020).

Los inhibidores en hemofilia congénita se detectan de dos maneras, la primera durante exámenes de detección de aloanticuerpos inhibitorios o exámenes de coagulación rutinarios de laboratorio y la segunda cuando se sospecha de una pobre respuesta del tratamiento con concentrados del factor al no detener o prevenir hemorragias en el paciente. El hallazgo de los inhibidores debería darse antes de la existencia de una baja respuesta a la terapia, por lo cual es de vital importancia que los pacientes, sus familiares y médicos tengan el conocimiento de tratamientos, pruebas diagnósticas, evolución y desarrollo de los inhibidores para una mayor prevención y pronto diagnóstico de los mismos (Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades, 2020).

La detección de autoanticuerpos en la hemofilia adquirida A o B es mucho más compleja que la hemofilia congénita, debido a que este padecimiento por lo general no llega a reconocerse con facilidad, ya que el paciente puede no presentar antecedentes familiares de la enfermedad o de episodios de sangrado y llega a confundirse con otros trastornos hemorrágicos adquiridos, como por ejemplo la coagulación intravascular diseminada (CID). El hallazgo de esta enfermedad sucede habitualmente por exámenes de coagulación de rutina

alterados, por lo cual la información expuesta en el presente trabajo de titulación es un gran aporte en la importancia del reconocimiento de estos inhibidores que afectan en la salud del paciente (Rodríguez Rodríguez et al., 2020).

Por tal razón, la presente revisión bibliográfica narrativa tiene como objetivo llevar a cabo el análisis de artículos científicos provenientes de bases de datos confiables acerca de estudios sobre inhibidores presentes en pacientes con hemofilia congénita y hemofilia adquirida. Se describieron aspectos genéticos, fisiopatológicos, características clínicas, diagnóstico y principales complicaciones presentes en esta enfermedad congénita o adquirida por el desarrollo de estos anticuerpos, esperando así revelar la importancia acerca de los últimos avances sobre el diagnóstico utilizado para este trastorno en el campo de laboratorio clínico.

1.1. Planteamiento del problema

La hemofilia es una enfermedad hemorrágica que puede ser heredada o adquirida por una pérdida de la tolerancia inmune asociada a otras patologías, fármacos o el embarazo. Ambas formas de presentación de la enfermedad producen una deficiencia cuantitativa del factor VIII de la coagulación (hemofilia tipo A), que forma parte del 80% de los casos o del factor IX de la coagulación (hemofilia tipo B), que representa al 20% restante de los pacientes.

La incidencia de la hemofilia congénita es de 1:10 000 nacimientos al año, por lo que en la actualidad esta población corresponde a más de 450 000 pacientes hemofílicos a nivel mundial, mientras que la hemofilia adquirida es mucho menos prevalente con una incidencia que afecta aproximadamente a 2: 1 000 000. En Ecuador el número de pacientes hemofílicos registrados hasta el año 2018 por la Fundación Hemofílica Ecuatoriana (FUNDHEC) fueron 799 pacientes, sin embargo, en la actualidad cerca de 850 personas viven con la enfermedad de las cuales 755 aproximadamente son de tipo A y 60% de los casos son severos (OPS, 2017) (MSP, 2016).

Tanto en la hemofilia adquirida como en la hemofilia congénita, se ve afectado el buen funcionamiento de proteínas necesarias para formar un coágulo de sangre, y las manifestaciones clínicas se basan en la intensidad del sangrado. Dicha intensidad depende de los niveles plasmáticos de los factores VIII o IX de la coagulación y como consecuencia en la mayoría de los pacientes con hemofilia congénita aparecen grandes hematomas,

hemorragias internas espontáneas o hemorragias externas prolongadas y enfermedades articulares crónicas dolorosas, mientras que en la hemofilia adquirida es característico observar hemorragias cutáneas (púrpura) y sangrados a nivel de tejidos blandos (Alvarado-Ibarra et al., 2021).

La base del tratamiento en pacientes con hemofilia congénita es la infusión intravenosa del factor de la coagulación deficiente, ya sea administrado durante episodios de sangrado o de forma regular con el fin de evitar hemorragias espontáneas. Cuando el paciente es expuesto a estos concentrados de factor, existe un riesgo elevado de que el sistema inmune perciba a estas proteínas exógenas como ajenas al organismo, desarrollando aloanticuerpos neutralizantes, también llamados inhibidores contra estos factores. En consecuencia, el factor de reemplazo se vuelve ineficaz en la terapia o prevención de sangrados, dificultando gravemente la condición de salud y vida de las personas con hemofilia (Carcao y Goudemand, 2018).

Por otra parte, los inhibidores también pueden desarrollarse como autoanticuerpos en individuos que no presentan hemofilia; lo que se conoce como hemofilia adquirida. La edad promedio de presentación de la afección es a partir de los 60 años, con un amplio rango de mortalidad a causa de complicaciones relacionadas con la edad avanzada, comorbilidades y efectos secundarios al tratamiento de dichas enfermedades. Cabe señalar que una gran cantidad de casos de hemofilia adquirida son de origen idiopático, seguidos de cáncer, trastornos linfoproliferativos, embarazos, consumo de medicamentos, patologías autoinmunes y otros que causan pérdida de tolerancia inmune a las proteínas de la coagulación (Franchini et al., 2017).

Los autoanticuerpos en la hemofilia adquirida se presentan con sangrados súbitos en pacientes sin antecedentes de coagulopatías. Es decir, se trata de una enfermedad hemorrágica poco frecuente dada por los inhibidores adquiridos específicos contra un factor de la coagulación. Esta afección se presenta principalmente en pacientes ancianos varones y dado a que esta parte de la población ha crecido enormemente en los últimos años, es de esperar que se dé un aumento en la incidencia de esta patología en la siguiente década, además de la existencia de otros grupos expuestos, como las mujeres en periodo de gestación (Carcao y Goudemand, 2018).

Tal como ya se expuso anteriormente las características del sangrado no son iguales al de la hemofilia congénita debido a que generalmente no se presenta hemartrosis y es aquí donde el laboratorio desempeña un papel de vital importancia al realizar exámenes reproducibles y confiables en la detección del inhibidor específico de manera temprana para poder mejorar la vida del paciente y llevar a cabo un correcto monitoreo de su tratamiento (Duboscq et al., 2016).

Con respecto a la terapia de la hemofilia congénita, cabe señalar que se da una mayor incidencia de la formación de aloanticuerpos en los veinte primeros días de exposición al factor, por lo cual es importante que los pacientes se realicen pruebas para hallar inhibidores, dado que es mucho mejor detectarlos previo a una situación donde el paciente ya no responda al tratamiento en presencia de inhibidores de alta respuesta (Kruse-Jarres et al., 2017) (Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades, 2020).

Los aloanticuerpos son detectados y cuantificados con la ayuda de un ensayo funcional denominado prueba de Bethesda, basada en la titulación para medir los inhibidores. Esta prueba de laboratorio; es capaz de diferenciar inhibidores de título alto o bajo y en Ecuador, en el año 2016, el Ministerio de Salud Pública (MSP) elaboró una guía para el tratamiento de la hemofilia, en la cual se sugiere la utilización de dicha prueba de laboratorio, sin embargo, es probable la presencia de resultados falsos negativos, alejando por completo de los pacientes la oportunidad de una detección temprana de los aloanticuerpos e incrementando su concentración con el transcurso del tiempo. Por lo cual, es importante el análisis y búsqueda de otras pruebas de laboratorio como la prueba de Nijmegen que es un ensayo mucho más estandarizado con mayor nivel de confiabilidad, para así seleccionar la prueba de laboratorio más adecuada (MSP, 2016).

El desarrollo de inhibidores es el obstáculo más importante en la terapia de pacientes con hemofilia congénita y a pesar de que se observan mejorías al administrar agentes hemostáticos para pacientes que han desarrollado inhibidores, esta población al igual que la de los individuos con hemofilia adquirida aún es asociada a una morbilidad significativa acompañada de una elevada tasa de complicaciones hemorrágicas y menor calidad de vida.

1.2. Justificación

Los pacientes con hemofilia congénita presentan como tratamiento la administración de concentrados de factores de la coagulación VIII o IX; no obstante, es posible que el

organismo del paciente como consecuencia presente el desarrollo de aloanticuerpos que neutralizan estos factores. La probabilidad de desarrollar inhibidores es del 30% en los pacientes que presentan hemofilia A grave y del 3 a 13% en hemofilia no grave. Para los pacientes con hemofilia B se establece una prevalencia de inhibidores del 1 al 6% y una prevalencia general informada del 5 al 7% en la hemofilia. En cuanto a la hemofilia adquirida es muy rara su prevalencia, dada en 2 personas por millón cada año y los autoanticuerpos dirigidos al factor IX son aún menos prevalentes (Giangrande, Hermans, et al., 2018).

Como resultado, la presencia de inhibidores en pacientes con hemofilia vuelve mucho más complejo su manejo, incrementando los costos de atención a la par de un crecimiento de la morbilidad de esta enfermedad entre un 30 y 40%. La tasa global de mortalidad a causa de sangrados se ubica entre el 20 y 30%, además se generan costos para el estado encargado del tratamiento para estos pacientes, por lo cual la pronta detección de los inhibidores en pacientes que reciben factores VIII o IX de la coagulación liofilizados es de suma importancia para su integridad corporal (Duboscq et al., 2016).

El tratamiento de los inhibidores en la hemofilia congénita figura un gran reto para los médicos, principalmente los clasificados como de alta respuesta, dada una mayor morbilidad asociada a las mismas a causa de hemorragias severas y un alto costo de atención. Es decir, el control de episodios hemorrágicos con inhibidores dependerá del título del inhibidor en el paciente, por lo cual en estos casos se deben recibir incrementadas dosis del factor necesario en comparación a las habituales por varios días hasta un dar con un control del sangrado y acompañado de una constante monitorización de la respuesta clínica, lo cual se traduce en un elevado valor monetario en salud pública o privada (Alvarado-Ibarra et al., 2021).

En cuanto al tratamiento de la hemofilia adquirida, se plantean dos objetivos primordiales, el primero y más importante es el poder controlar los sangrados agudos con el uso de agentes de desvío y el segundo recurrir a terapias de inmunosupresión para mantener controlada la producción de autoanticuerpos en el organismo del paciente. Sin embargo, también existe la posibilidad de que el factor VIII o IX del individuo sea en extremo deficiente en caso de presentar elevados títulos de inhibidores, por lo cual, su terapia puede llegar a complicarse y de igual forma que con la atención para inhibidores en la hemofilia congénita, estos tratamientos representan grandes costos y uso de recursos por parte del

estado, pero sobre todo estos autoanticuerpos ponen en peligro la salud de las personas que los desarrollan (Carcao y Goudemand, 2018).

El desarrollo de inhibidores en hemofilia representa notorias complicaciones para este grupo de pacientes, médicos tratantes, laboratoristas clínicos e inclusive las instituciones ecuatorianas a cargo del aporte económico para el tratamiento y seguimiento de esta patología. En el país la falta de capacitación a los profesionales de salud, falta de la facilidad en la adquisición de reactivos y equipos que permitan realizar las pruebas de laboratorio para el diagnóstico y seguimiento del desarrollo de inhibidores complica muchas veces el tratamiento del paciente hemofílico.

El aporte de esta investigación es evidenciar la importancia del diagnóstico de los inhibidores en los pacientes con hemofilia congénita y adquirida, además de brindar información actualizada de bibliografía reciente que permita concientizar sobre esta área de laboratorio especializado de la hemostasia, para la aplicación de pruebas adecuadas y con un personal de salud que diferencie e interprete correctamente los resultados de dichos ensayos clínicos.

1.3. Pregunta de investigación

Acorde a la problemática planteada en la presente revisión bibliográfica se busca dar respuesta a la siguiente pregunta de investigación: ¿Cuál es la importancia de la detección de inhibidores de los factores de la coagulación VIII o IX en pacientes con hemofilia?

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo general

Analizar la importancia de la detección de inhibidores de la coagulación en pacientes diagnosticados con hemofilia.

1.4.2. Objetivos específicos

1. Identificar las causas que originan los inhibidores con base en la revisión bibliográfica de artículos científicos.
2. Clasificar a los tipos de inhibidores y la terapia utilizada en pacientes con hemofilia según la revisión bibliográfica.
3. Analizar la metodología utilizada en las pruebas de laboratorio para el diagnóstico de inhibidores, acorde a la revisión bibliográfica de artículos científicos.

1.5. Delimitación del estudio

La presente revisión bibliográfica narrativa se llevó a cabo al analizar diferentes artículos científicos publicados en los últimos cinco años en idioma español e inglés, obtenidos de fuentes primarias y secundarias sobre el desarrollo de inhibidores para los factores VIII o IX en pacientes con hemofilia. Las revistas científicas seleccionadas se encuentran dentro de los cuartiles Q1, Q2 o Q3 de la clasificación SCImago y son de acceso libre. La revisión se limitó a la recopilación con posterior análisis de la información obtenida de los artículos científicos y guías de práctica clínica publicados sobre el desarrollo de inhibidores en personas con hemofilia A o B sea congénita o adquirida.

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Tipo de estudio

Revisión bibliográfica de tipo narrativo descriptivo, de literatura académica y de evidencia científica actualizada, sobre el desarrollo de inhibidores en pacientes con hemofilia. Es de tipo descriptivo porque no se manipularon variables y el periodo de revisión de la literatura corresponde a las publicaciones entre el 01 de julio de 2017 al 30 de junio de 2022.

2.2. Identificación del campo de estudio

Los campos de estudio que cubren la revisión bibliográfica narrativa son inmunología y hematología debido a que se enfoca en el desarrollo de inhibidores de la coagulación de los factores VIII o IX en pacientes con hemofilia.

2.3. Proceso de revisión bibliográfica

La presente revisión bibliográfica se realizó de acuerdo con las recomendaciones de Medina López et al (2010) y el diagrama de flujo propuesto por Moher et al (2009).

2.3.1. Selección de las fuentes de información

La presente revisión bibliográfica se realizó con fuentes de bases de datos adscritas a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador detalladas en la tabla 2 en conjunto con la base de datos Pubmed.

Tabla 2. *Bases de datos*

<i>Base de datos</i>	<i>Enlace a fuente documental</i>	<i>Fuente PUCE</i>
DIALNET	https://dialnet.puce.elogim.com/	Si
SCIENCE DIRECT	https://sciencedirect.puce.elogim.com/	Si
SCOPUS	https://scopus.puce.elogim.com/	Si
PROQUEST	https://wwwproquest.puce.elogim.com/	Si
PUBMED	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/	No
JSTOR	https://jstor.puce.elogim.com/	Si
SPRINGER JOURNALS	https://springerlink.puce.elogim.com/	Si
SCIELO	https://scielo.puce.elogim.com/	Si
REDALIC	https://redalyc.puce.elogim.com/	Si
CLINICAL KEY	https://clinicalkey.puce.elogim.com/	Si
BVS	https://bvs-ecuador.bvsalud.org/	Si

2.3.2. Búsqueda bibliográfica

En el proceso de búsqueda bibliográfica se usaron las bases de datos expuestas anteriormente, estableciendo un límite de selección a los artículos científicos publicados entre el 01 de julio de 2017 al 30 de junio de 2022 con el fin de hallar artículos de actualidad relevantes a nivel mundial. Los artículos seleccionados fueron aquellos que establecen la importancia del diagnóstico de inhibidores en pacientes con hemofilia congénita y adquirida. Luego se llevó a cabo la lectura de los resúmenes de los artículos que cumplían con los criterios de exclusión e inclusión planteados y además brindaron una respuesta a la pregunta de investigación establecida.

2.3.3. Estrategias de búsqueda

Para las estrategias de búsqueda que formaron parte de la revisión bibliográfica narrativa se utilizaron términos *MeSH (Medical Subject Headings)* y *DeCs (Descriptores de Ciencias de la Salud)* detallados en la tabla 3.

Tabla 3. Estrategias de búsqueda

<i>MeSH</i>	<i>DeCs</i>
<i>Acquired</i>	Adquirida
<i>Alloantibodies</i>	Aloanticuerpos
Congenital	Congénita
<i>Deficiency, Factor IX</i>	Deficiencia de Factor IX
<i>Diagnosis</i>	Diagnóstico
<i>F9 Deficiency</i>	Deficiencia F9
<i>Factor VIII Deficiency</i>	Deficiencia de Factor VIII
<i>Haemophilia A</i>	Hemofilia A
<i>Haemophilia B</i>	Hemofilia B
<i>Hemophilia A, Congenital</i>	Hemofilia A, Congénita
<i>Hemophilia, Classic</i>	Hemofilia clásica
<i>Inhibitor</i>	Inhibidor
<i>Isoantibodies</i>	Isoanticuerpos
<i>Therapy, Treatment</i>	Terapia, Tratamiento

Además, con la finalidad de recuperar el máximo número de artículos relevantes se utilizaron las estrategias de búsqueda adecuadas en cada base de datos. Se hizo uso de operadores “booleanos” lógicos como NOT, OR y AND para apoyar con la estrategia de búsqueda. Se empleó “AND” para la enlazar todos términos de búsqueda y de esta forma en las referencias elegidas se incluyeron a todos. El operador lógico “OR” permitió que en las referencias elegidas se encuentren por lo menos algunos de los términos de búsqueda. Por

último, el operador lógico “NOT”, dio paso a la exclusión de los términos que no se desearon incluir. Los operadores lógicos se utilizaron en combinación con términos de búsqueda relacionados a la temática de investigación como, por ejemplo: “*Inhibitor*” o “*Factor VIII Deficiency*”. Además, se usaron herramientas de comodines y truncamientos para realizar una estrategia de búsqueda más integra y enfocada en el tema de la revisión bibliográfica (Anexo 1).

2.3.4. Registro de estrategias de búsqueda y selección

En cuanto a la estrategia de búsqueda de los artículos científicos, se seleccionaron aquellos documentos que si cumplían con los criterios de inclusión y con apoyo de la lista de verificación STROBE la información obtenida proveniente de los mismos fue registrada en una matriz tomando en cuenta para esta selección el diagrama de Moher detallado en la figura 1.

3. SELECCIÓN DE ARTÍCULOS

3.1. Criterios de búsqueda

Para el análisis de la información, del número total de artículos identificados (n=164) provenientes de las bases de datos *Dialnet* (n=1), *Science direct* (n=15), *Pubmed* (n =23), *Scopus* (n=4), *Proquest* (n=32), *Jstor* (n=8), *Springer journals* (n=7), *Scielo* (n=7), *Redalib* (n=10), *Clinical key* (n=21) y *Bvs* (n=38), se inició con la eliminación de 37 artículos duplicados, obteniendo un total de 127. Después se excluyeron 72 artículos por el título dejando un total de 55 artículos. Posterior a esto se eliminaron 39 artículos por el resumen dando un total de 16 artículos. Por último, a los 16 artículos restantes se les realizó una evaluación completa de texto dejando 8 artículos descartados por criterios de exclusión y 8 artículos elegibles para la revisión bibliográfica narrativa.

Tal como se mencionó, para la búsqueda bibliográfica se consideraron artículos científicos que estudien los inhibidores de los factores de la coagulación VIII o IX desarrollados en personas con hemofilia congénita o adquirida y que cumplan con los criterios de inclusión establecidos.

Los criterios de inclusión fueron:

- Tipos de estudios: original, descriptivos-observacionales, cohorte, transversales, retrospectivos.
- Artículos científicos relacionados con la hemofilia sea congénita y/o adquirida que traten sobre el desarrollo de inhibidores para los factores de la coagulación VIII o IX.
- Índice de calidad: SJR (SCImago Journal y Country Rank) Q1, Q2 y Q3.
- Procedencia de artículos científicos: a nivel mundial.
- Población: pacientes con hemofilia A o B.
- Población de pacientes con hemofilia adquirida.
- Temporalidad de los artículos científicos entre el 01 de julio de 2017 al 30 de junio de 2022.
- Idioma: inglés o español.
- Tipo de texto: completo y original.
- Acceso: gratuito.

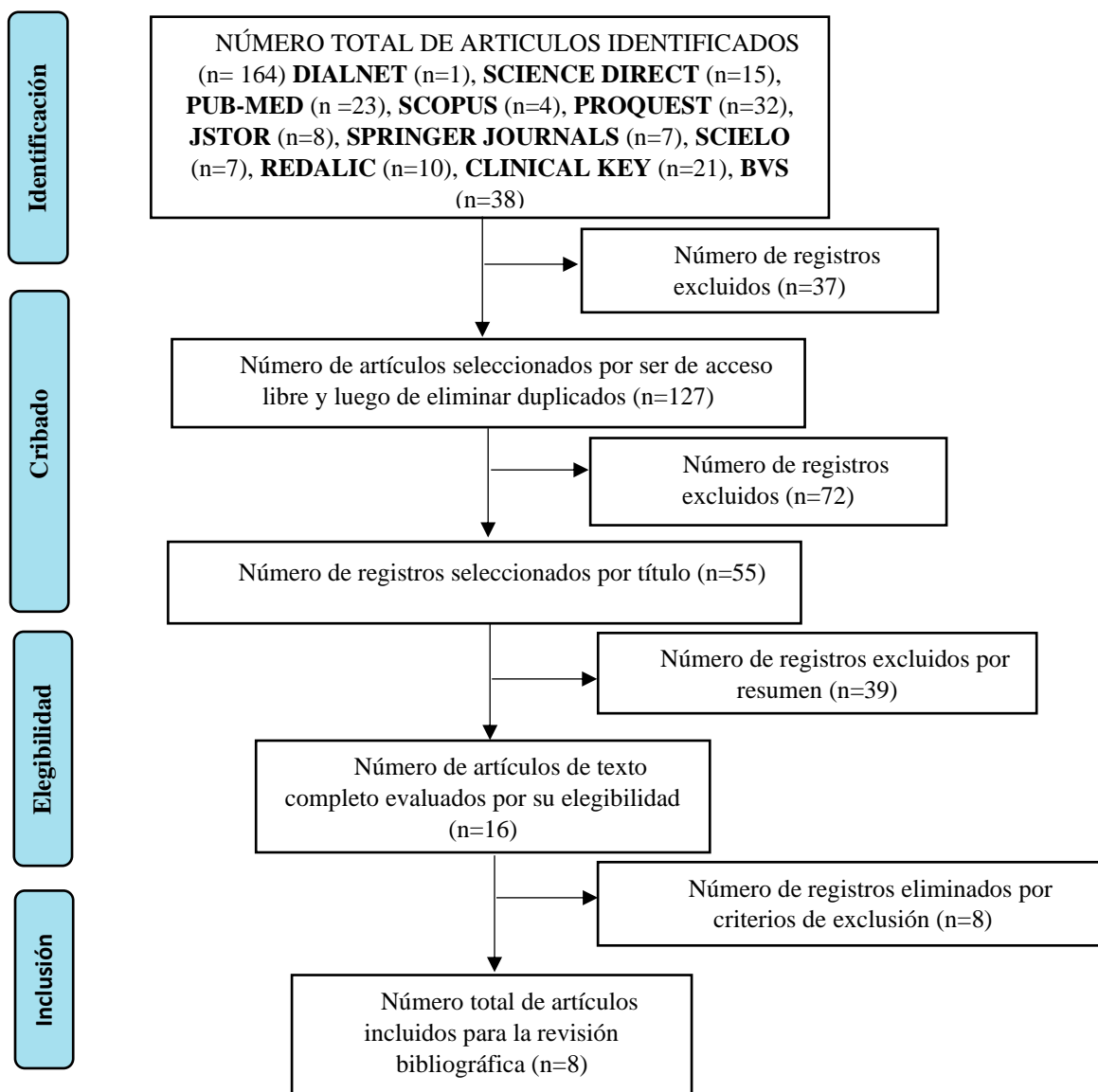
Los criterios de exclusión fueron:

- Estudios o publicaciones científicas que se encuentren fuera de los tiempos límites establecidos o su idioma sea diferente a inglés y español.
- Estudios publicados en revistas que no estén indexadas o posean bajo impacto científico.
- Publicaciones que sobrepasan el 25% de inconformidades con relación al check-list de la declaración de STROBE.
- Publicaciones de sitios web, boletines o periódicos.
- Artículos de revisión bibliográfica.

3.2. Pasos de depuración y selección de la información

Para la revisión de la información se siguió el diagrama de flujo de Moher (2009) con el cual se realizó un cribado de los artículos recuperados con el fin de obtener un número adecuado de artículos que sirvieron para el desarrollo de la revisión bibliográfica narrativa.

Figura 1. Diagrama de flujo para identificar los estudios



Nota: Adaptado de Liberati A, Altman DG, Tetzlaff J, Mulrow C, Gøtzsche PC, Ioannidis JPA, et al. (2009) Declaración PRISMA para informar revisiones sistemáticas y metaanálisis de estudios que evalúan intervenciones de atención médica: explicación y elaboración. PLoS Med 6 (7): e1000100. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000100>.

Se siguió el diagrama de flujo de cuatro fases planteado para la selección de los artículos científicos. Tanto los resultados de la búsqueda de información, como el cribado y la elegibilidad de los documentos acorde a los criterios establecidos, así como también los artículos integrados en esta revisión bibliográfica narrativa están detallados en la figura 1.

Para la selección de los artículos científicos que forman parte de la presente revisión bibliográfica, se llevó a cabo la eliminación de los artículos duplicados (Anexo 2). Además de la exclusión de aquellos que no cumplieran con los criterios de inclusión o su título y

resumen no iban a acorde a la temática central planteada. Después se realizó una lectura completa de todos los artículos restantes en base a criterios inclusivos y factor de impacto, para así por último elegir los documentos definitivos.

El gestor bibliográfico que se utilizó para la organización y almacenamiento de la bibliografía fue Mendeley. Se retiraron artículos duplicados en el cribado (Anexo 2) y mediante análisis de título y resumen de los artículos se aplicaron los criterios de inclusión teniendo en cuenta: estudios descriptivos, observacionales, cuantitativos, retrospectivos y transversales que evalúen el desarrollo de inhibidores de la coagulación de los factores VIII o IX en pacientes con hemofilia congénita y adquirida además de ser artículos en español o inglés publicados entre el 01 de julio de 2017 al 30 de junio de 2022. De igual forma, se eliminaron artículos provenientes de revistas sin índice de impacto y se aplicaron los criterios de exclusión obteniendo así la totalidad de los ocho artículos científicos a partir de los cuales se desarrolló el presente trabajo.

3.3. Descripción general de los artículos seleccionados para el estudio

La información de los textos científicos que pasaron los filtros planteados y representados en el diagrama de Moher, fue examinada por completo verificando así el grado de relación con los criterios de elegibilidad del estudio, además de utilizar como apoyo la lista de verificación STROBE (Anexo 3). Los artículos excluidos se encuentran detallados (Anexo 4) al igual que los artículos recuperados incluidos (Anexo 5).

Los investigadores de manera independiente realizaron el análisis de la información de los artículos incluidos para luego en conjunto clasificar los datos provenientes de los mismos según la importancia, factores de riesgo para el origen de inhibidores, tipos de inhibidores, terapia y metodologías diagnósticas de laboratorio con la ayuda de una matriz (Anexo 6).

4. RESULTADOS

4.1. Importancia del diagnóstico de inhibidores de la coagulación en pacientes con hemofilia A o B congénita y adquirida.

El tratamiento de los pacientes con hemofilia congénita A o B, consiste generalmente en la administración de concentrados de los factores de coagulación (CFC), estos productos terapéuticos exógenos cumplen la función de mantener una hemostasia que se asemeje a una coagulación normal con lo cual se pretende evitar hemorragias, en especial a nivel articular, ya que con el tiempo esta manifestación puede conducir a artropatías severas e invalidez. Es así como los CFC permiten que los individuos con hemofilia lleven un estilo de vida mucho más activo y saludable, lo que permite su inclusión en una gran parte de actividades sociales o físicas en forma conjunta y semejante a la población no hemofílica (López-Arroyo et al., 2021).

El organismo de un paciente hemofílico que hereda la enfermedad no es capaz de producir factores de la coagulación o a su vez produce un factor afectado o disfuncional que requiere ser reemplazado a través de agentes exógenos (CFC); sin embargo cuando esta población de pacientes es expuesta a este tipo de terapia, existe la posibilidad de que su sistema inmunológico perciba a los concentrados como proteínas extrañas al cuerpo y desemboque en la activación de una respuesta inmune que desarrolla aloanticuerpos neutralizantes de los CFC, también denominados como inhibidores. Es decir, los inhibidores vuelven a los CFC ineficaces para el tratamiento o prevención de episodios hemorrágicos, lo cual posiciona a estos aloanticuerpos como un problema sumamente importante para la población con hemofilia (Carcao y Goudemand, 2018).

Los inhibidores de los factores de la coagulación también pueden desarrollarse como autoanticuerpos en individuos que no presentan un diagnóstico previo de hemofilia y se la denomina hemofilia adquirida A o B. Esta es una condición poco común en la cual el organismo del paciente produce autoanticuerpos dirigidos a uno o más factores de la hemostasia, con alta prevalencia en personas de edad avanzada en las que se ve afectado principalmente el factor VIII (Hemofilia adquirida A) y en muy pocos casos al factor IX de la coagulación (Hemofilia adquirida B). (Poston y Kruse-Jarres, 2022).

Los inhibidores en la hemofilia congénita se presentan con una prevalencia del 25 al 40% en pacientes con hemofilia A grave, mientras que en la hemofilia A moderada/leve es

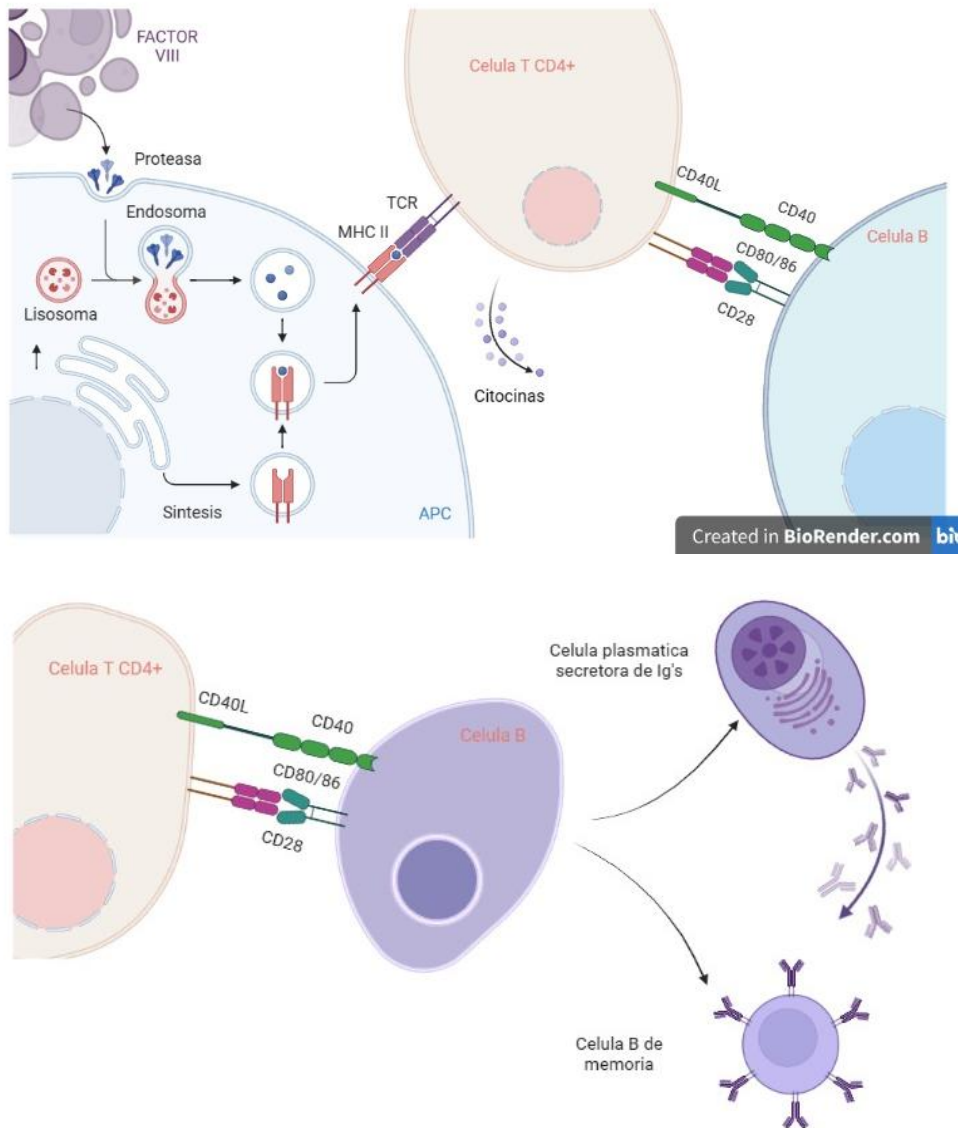
del 5 al 15%. En el caso de pacientes con hemofilia B el riesgo de su desarrollo se encuentra alrededor del 1 a 5% en individuos con enfermedad severa caracterizada por una ausencia total de la producción del factor IX de la coagulación. Cabe señalar que la prevalencia de inhibidores en la hemofilia adquirida A se observa en 1.4 individuos por millón cada año y con mucho menos frecuencia en hemofilia adquirida B, lo cual vuelve a esta enfermedad mucho más rara y de complicado diagnóstico (Carcao y Goudemand, 2018).

La hemofilia adquirida es una rara enfermedad relacionada a múltiples comorbilidades o estados fisiológicos del organismo como artritis reumatoide, enfermedades autoinmunes, lupus eritematoso sistémico, embarazo, neoplasias hematológicas entre muchas otras y a igual que la hemofilia congénita, se presenta con hemorragias como fenotipo característico. No obstante, estos difieren de los anteriores al aparecer principalmente como púrpura cutánea extensa, hematomas intramusculares y retroperitoneales o sangrados espontáneos en mucosas o piel y sin cuadro de artropatías (Constantinescu et al., 2022).

Varias células forman parte de la respuesta inmune que da paso a la formación de inhibidores tal como se expone en la siguiente secuencia:

- 1) El factor VIII o IX es fagocitado por células presentadoras de antígeno (APC), las mismas que escinden a la proteína en péptidos con ayuda de enzimas proteolíticas.
- 2) Los péptidos son transportados intracelularmente hacia el complejo de histocompatibilidad mayor clase II (MHC-II) y se exponen superficialmente en dichas células.
- 3) La APC se une a los linfocitos T CD4+ gracias a los receptores de superficie TCR, lo que los activa e inicia, con señales para la proliferación celular de linfocitos T de memoria y efectores.
- 4) Los linfocitos T CD4+ activados se vinculan a los linfocitos B a través de sus proteínas de superficie CD80 y CD86 a CD28 de los linfocitos T CD4+, activándolos así completamente y estimulándolos para que liberen citoquinas.
- 5) Las citoquinas se unen a los receptores CK-R que regulan de forma positiva la respuesta inmune de genes y moléculas de superficie de linfocitos T y B.
- 6) Estas moléculas co-estimuladoras en conjunto con la interacción de las proteínas de superficie CD40 y CD40L abren paso a la proliferación de linfocitos B, que a su vez se diferencian en células plasmáticas (Garagiola et al., 2018).

Figura 2 y 3: Mecanismo de respuesta inmune – Desarrollo de inhibidores en hemofilia.

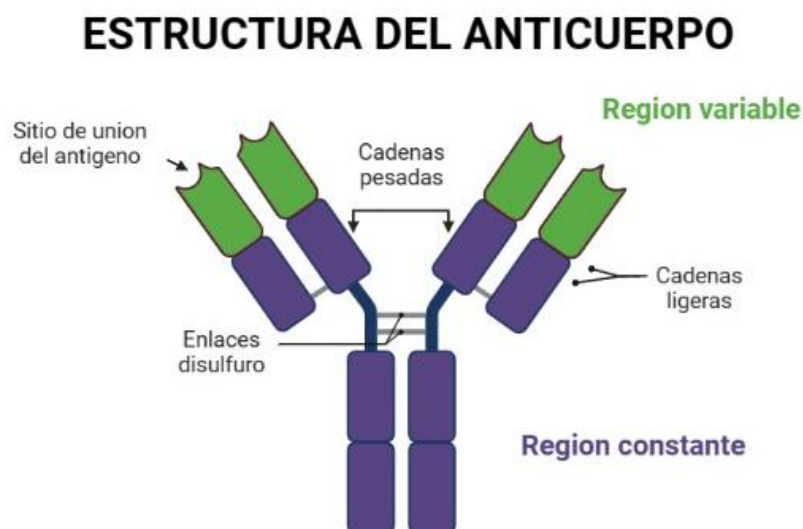


Nota: Las figuras representan la respuesta inmune del organismo del paciente con hemofilia frente a los CFC y el desarrollo de aloanticuerpos. Se indican las principales células y moléculas de la respuesta inmune. Elaborado por Cristopher Borja y Anthony Torres. Adaptado de Garagiola et al., 2018.

Los inhibidores en la hemofilia son principalmente inmunoglobulinas tipo IgG, de las subclases IgG1 e IgG4; la primera subclase de aloanticuerpos tiene predominancia en individuos con inhibidores de título bajo (ITB) mientras la segunda subclase es predominante en individuos con inhibidores de título alto (ITA). Cabe señalar que el título de un anticuerpo representa la cantidad de dicha proteína en circulación, la cual pasa a unirse a los epítomos funcionales de los factores administrados a nivel de los dominios C1, C2 y A2 del factor proteico. Dicha unión interrumpe la función de los CFC infundidos lo cual

impide una correcta hemostasia en los pacientes con hemofilia sometidos a tratamiento (Rodríguez Rodríguez et al., 2020) (Srivastava et al., 2020).

Figura 4. Estructura del anticuerpo



Nota: Las figuras representan la estructura de un anticuerpo inhibidor. Se indica su estructura, regiones con las cadenas y enlaces que lo conforman. Elaborado por Christopher Borja y Anthony Torres. Adaptado de Margaglione y Intrieri, 2018.

Varios trastornos de la coagulación presentan signos y síntomas muy parecidos, por lo cual la detección de estos anticuerpos inhibitorios en el laboratorio es de vital importancia para poder garantizar que un individuo con hemofilia se someta a una terapia acorde a sus necesidades. El diagnóstico debe ser llevado a cabo por personal con pleno conocimiento y experiencia al realizar ensayos clínicos de coagulación, uso adecuado de reactivos o equipos de laboratorio y una correcta interpretación de los resultados arrojados en los diferentes estudios asociados a la clínica del paciente (Carcao y Goudemand, 2018).

Tanto en la hemofilia congénita como en la adquirida, por lo general los casos de inhibidores se observan en el diagnóstico de rutina. En la hemofilia congénita a través de exámenes que se realizan los pacientes después de las primeras exposiciones a los CFC y en aquellos pacientes en los que no existe una buena respuesta clínica al tratamiento con estos concentrados; mientras que en la hemofilia adquirida esto sucede al obtener resultados anormales de estudios de coagulación o a su vez cuando el paciente presenta equimosis y hematomas. Se debe sospechar e investigar la presencia de inhibidores, ya que es fundamental llegar a su detección lo más temprano posible para poder garantizar un tratamiento eficaz a esta complicación (Garagiola et al., 2018)(MSP, 2016).

Los inhibidores están presentes con más frecuencia en la hemofilia grave a comparación de la hemofilia leve o moderada y más regularmente en individuos con hemofilia A que con hemofilia B. Es por esto que, establecer un control de los sangrados es mucho más desafiante en pacientes hemofílicos con inhibidores, en comparación con aquellos que no los han desarrollado. En consecuencia, los inhibidores de factor VIII o IX de la coagulación son asociados a una mayor carga de enfermedad, que engloba complicaciones articulares, musculares, limitaciones físicas, dolor, dificultad de tratamiento y menor calidad de vida del individuo. (Benson et al., 2018).

Los infantes y adultos que desarrollaron inhibidores generalmente presentan las tasas más altas de hospitalización, en consecuencia, costos mayores de terapia y tasas de mortalidad elevadas en comparación con individuos con hemofilia sin inhibidores. El riesgo de complicaciones graves o inclusive la muerte por sangrados que se agravan continúa siendo representativo en esta población y acorde a Srivastava et al. (2020), se informa que el índice de mortalidad de individuos con hemofilia A leve y moderada que presentan inhibidores es cinco veces superior a los que no los poseen.

En Ecuador, de acuerdo a información de encuestas reportadas por la Federación Mundial de Hemofilia, existen 1.708 casos de individuos diagnosticados con hemofilia hasta el año 2020, de los cuales a 23 pacientes ya se les ha informado que presentan inhibidores. Dado que esta complicación está asociada a la exposición intensa a CFC, los pacientes van a necesitar de un seguimiento clínico adecuado de la respuesta a la terapia y pruebas de laboratorio frecuentes. Por tal razón en el país es urgente que exista variedad de instalaciones de laboratorio equipadas con recursos y experiencia adecuados que permitan realizar ensayos precisos de coagulación y detección de inhibidores, así como una buena facilidad para la adquisición de equipos y reactivos para llevar a cabo dichos ensayos (FMH, 2022).

Posterior a la obtención de información con base en los artículos seleccionados sobre los inhibidores como la principal complicación para la integridad de la población con hemofilia, a continuación se procedió a identificar el origen de su desarrollo, tanto en pacientes que llegan a adquirir esta rara enfermedad y en individuos cuya patología fue heredada por sus padres, además de clasificar a los tipos de inhibidores y la terapia utilizada, culminando con un análisis de las metodologías diagnósticas aplicadas para su detección. Con la información obtenida se llegó a determinar la importancia del conocimiento de estos anticuerpos para un diagnóstico y tratamiento temprano de la población con hemofilia.

4.2. Factores de riesgo para el desarrollo de inhibidores

Desde hace unos años se han realizado investigaciones con el fin de aclarar la etiología de los inhibidores, logrando identificar algunos factores de riesgo para su desarrollo. Estas iniciativas han dado paso a un incremento de conocimientos acerca de los determinantes ambientales y genéticos de riesgo para su aparición, además de la identificación de predictores de los mismos. A pesar de esto, la identificación de los factores de riesgo continúa siendo vital para la prevención del desarrollo de estos aloanticuerpos y el descenso de la incidencia total de éstos en la población con hemofilia.

De acuerdo con las investigaciones realizadas por Margaglione y Intriери, (2018), Carcao y Goudemand, (2018), Peyvandi y Garagiola, (2018) y Garagiola et al., (2018), se plantea que para el desarrollo de inhibidores pueden existir dos tipos de factores:

1. Factores de riesgo no modificables.
2. Factores de riesgo posiblemente modificables.

4.2.1. Factores de riesgo no modificables

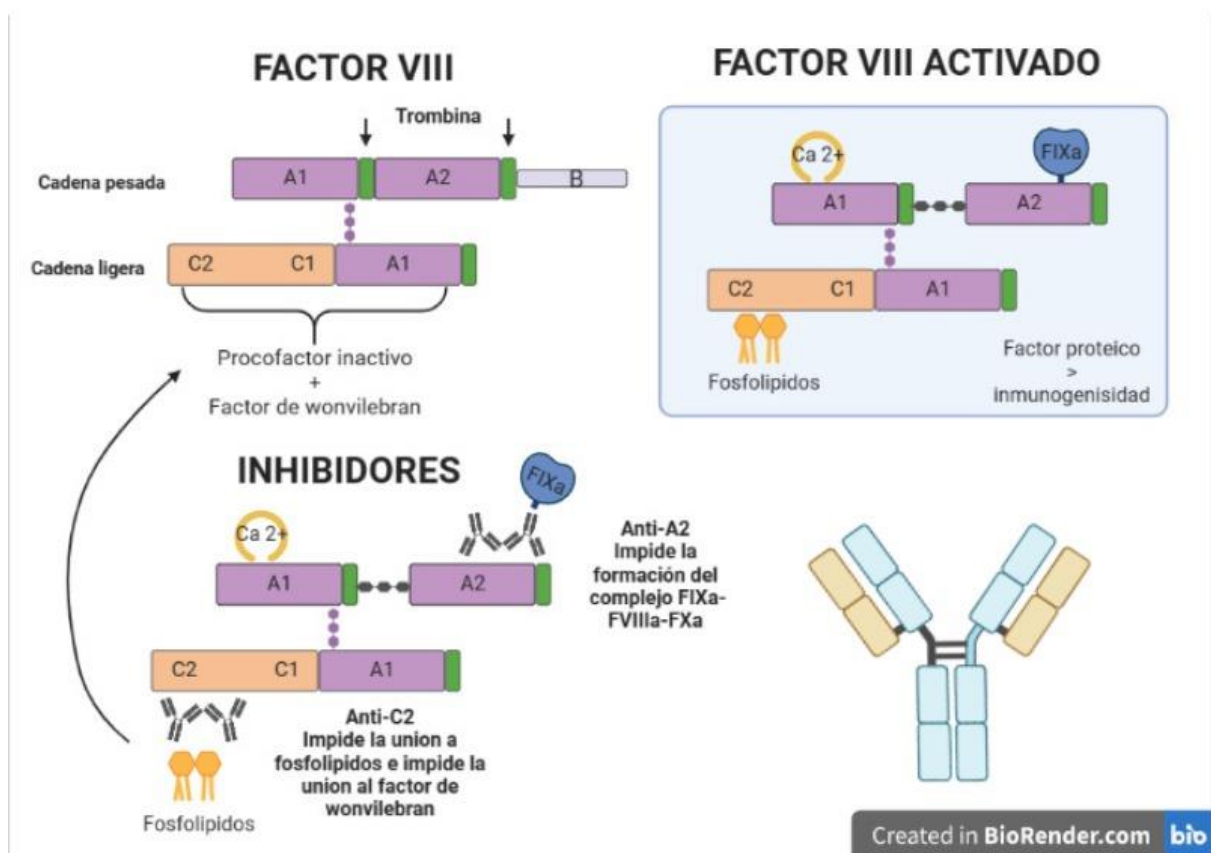
Mutación del gen F8

El gen F8 se encuentra localizado en el extremo distal del brazo largo del cromosoma X (Xq28) abarcando cerca de 186 kb de DNA genómico. Este gen está formado por 26 exones que codifican una proteína de 2.232 aminoácidos. En los últimos años, se ha registrado un veloz incremento de la cantidad de alteraciones en este gen; alrededor de 900 mutaciones que apoyan el concepto de la HA como una patología congénita con heterogeneidad mutacional elevada. Dichas mutaciones representan factores de riesgo importantes para el desarrollo de inhibidores en este tipo de hemofilia, las mismas que van dirigidas especialmente a los dominios A2 y C2 de la proteína. Cabe señalar que mutaciones F8 determinadas como Trp2229Cys a nivel del dominio C2 y Arg593Cys a nivel del dominio A2, van de la mano con el desarrollo de inhibidores (Margaglione y Intriери, 2018).

Las diferentes mutaciones del gen F8 y la formación de aloanticuerpos a causa de éstas, ha sido tema de debate en los últimos tiempos y de acuerdo a Garagiola et al., 2018 se ha demostrado una prevalencia mucho mayor de inhibidores en pacientes con HA grave portadores de mutaciones sin sentido, inversiones del tronco 22 y grandes deleciones a comparación de pacientes con pequeñas inserciones/deleciones o mutaciones sin sentido. Es

decir que, la mutación F8 puede ser dividida en dos grandes grupos, el primero asignado a mutaciones nulas sin síntesis del factor VIII de la coagulación y con un porcentaje de tendencia mucho mayor al desarrollo de inhibidores (prevalencia de inhibidores >30%); mientras que el segundo abarca mutaciones no nulas de pequeñas inserciones/delecciones, mutaciones de empalme y sin sentido con una disfunción del factor VIII, pero no a una ausencia total de síntesis de la proteína (prevalencia de inhibidores <10%) (Gouw et al., 2011).

Figura 5: *Inhibidores y el factor VIII de la coagulación.*



Nota: Las figuras representan la estructura proteica del factor VIII de la coagulación. Se indican los dominios proteicos de la proteína y el lugar de unión de los inhibidores. Elaborado por Christopher Borja y Anthony Torres. Adaptado de Margaglione y Intriери, 2018.

Mutación del gen F9

El gen F9 está localizado al extremo distal del brazo largo del cromosoma X (Xq27), cerca del gen F8, abarcando 34kb de DNA genómico y encontrándose conformado por 8 exones que codifican una proteína de 461 aminoácidos. En su mayoría los inhibidores

dirigidos al factor IX de la coagulación se observan en pacientes con HB portadores de mutaciones con deleciones grandes o incluso totales del gen F9 (mutación nula) y cuyo desarrollo muy a menudo está ligado con reacciones alérgicas severas; es de decir que se produce una reacción anafiláctica como consecuencia a la administración del factor IX exógeno (Carcao y Goudemand, 2018).

El pequeño tamaño molecular del factor IX en comparación con el factor VIII de la coagulación, le brinda una difusión mucho más rápida en espacios extravasculares y debido a que el factor IX requiere de niveles plasmáticos más elevados en circulación (5 ug/mL) que el factor VIII (0,1 ug/mL) explica el porqué de una respuesta anafiláctica al infundir los CFC. Por lo cual, en contraste con una reacción alérgica común, esta respuesta inmunitaria severa generalizada pone en riesgo súbito e inmediato la vida del paciente. Cabe señalar también que existe evidencia donde la HB es asociada con cientos de mutaciones con sentido erróneo, mutaciones de cambios de marco, sin sentido y de empalme, las cuales se traducen en un factor IX disfuncional (Margaglione y Intrieri, 2018).

Etnia e historial familiar

Los pacientes con hemofilia A, sean de origen hispano o africano, presentan un mayor riesgo para el desarrollo de inhibidores y, de acuerdo con Margaglione y Intrieri, (2018), esta afirmación se basa en un estudio controlado del genotipo F8. En dicho estudio se sugiere que al existir diferencias entre los aminoácidos que conforman a los factores de reemplazo producidos a partir de cepas que albergan haplotipos de F8 H1 y H2 al administrarse en pacientes de origen hispano o africano que son portadores de haplotipos de F8 H3 o H4, brinda una explicación al incremento del riesgo para el desarrollo de estos aloanticuerpos. Ahora bien, pacientes cuya ascendencia es africana o hispana y poseen haplotipo de F8 H1, presentan una prevalencia de inhibidores significativamente mayor a la de los caucásicos, lo que indica que estas diferencias siguen siendo poco claras (Peyvandi y Garagiola, 2018).

Los antecedentes familiares también son un factor de riesgo importante asociado a la aparición de inhibidores en pacientes hemofílicos, debido a que el tipo de mutación del gen F8 o F9 es un determinante clave para predecir el desarrollo de estos aloanticuerpos. Por ejemplo, los descendientes de un paciente hemofílico portador de una mutación nula, misma que se asocia a una prevalencia elevada de inhibidores, no solo heredan la alteración

del gen, sino también el mismo riesgo para el desarrollo de inhibidores al momento de administrarse CFC como terapia. Varios estudios han demostrado que existe un riesgo casi cuatro veces mayor de desarrollar estos aloanticuerpos cuando existe un miembro de la familia del paciente con hemofilia que es portador de los mismos (Carcao y Goudemand, 2018).

Genes que codifican citoquinas inmunorreguladoras – respuesta inmunitaria

En el campo de las enfermedades autoinmunes se ha llegado a demostrar que genes defectuosos llevan a una función alterada de las citoquinas o sus receptores lo que puede desembocar en un desequilibrio de la respuesta inmune. Dentro del estudio realizado por Garagiola et al., 2018 se plantea que tanto las alteraciones de los genes F8 o F9, así como de las moléculas del antígeno leucocitario humano de clase dos (HLA-II), que cumple un papel vital dentro de la presentación de los péptidos proteicos de los factores de la coagulación a los linfocitos T helper CD4, y de las citoquinas proinflamatorias como son: IL-1, IL2, IL10, CTLA4 y TNF- α , están asociadas a una mayor incidencia del desarrollo de inhibidores.

Se ha llegado a utilizar métodos moleculares de tipificación de HLA para poder evaluar polimorfismos de nucleótido único (SNP) en el HLA-II logrando como resultado demostrar que el riesgo de desarrollo de inhibidores se asocia principalmente con tres SNP, siendo estos el HLA-DBR*1501, HLA-DQB1*0602 y en especial la alteración del HLA-DQA1*0102. Las citoquinas también desempeñan un papel clave en el desarrollo de inhibidores debido a su intervención en la respuesta inmune mediada por anticuerpos; por ejemplo, en cuanto a la IL-10, se ha comprobado que existe un riesgo mucho mayor de observar estos anticuerpos en presencia de un polimorfismo microsatélite a nivel del promotor de esta citoquina en comparación a individuos que no lo portan (Margaglione y Intrieri, 2018).

TNF- α es una citoquina proinflamatoria que posee un rol importante en la patogénesis de algunas patologías inflamatorias e infecciosas (Wang et al., 2022). Varios estudios sobre polimorfismos de esta citoquina han demostrado que la desregulación de su producción toma relevancia en la evolución de enfermedades autoinmunes, siendo un SNP a nivel de la región promotora -308 A/G la más relevante y la más relacionada al fenómeno de pérdida de tolerancia. Por otro lado, se dieron también hallazgos significantes para

establecer como marcadores de riesgo de formación de inhibidores a los haplotipos en varios loci de las citoquinas IL-2 e IL-1 (Margaglione y Intrieri, 2018).

Finalmente la molécula de superficie de las células T activadas CTLA4 tiene un papel esencial como regulador negativo de las mismas ante una respuesta inmune; algunos polimorfismos del gen CTLA4 (exón 1 + 49 A/G y promotor -318 C/T) se han relacionado con varios niveles de expresión de esta molécula en la superficie celular de los linfocitos. El alelo -318 T del gen CTLA4 es asociado con una propiedad de protección para el desarrollo de inhibidores; es decir a diferencia de los anteriores marcadores de riesgo mencionados, este alelo disminuye la posibilidad para la aparición de estos aloanticuerpos en el paciente (Garagiola et al., 2018).

4.2.2. Factores de riesgo posiblemente modificables

Tipo de concentrado de factor administrado

A pesar de no haber lugar a duda de que con la totalidad de los CFC administrados en pacientes con hemofilia existe el riesgo de desarrollar inhibidores, el debate planteado por los artículos científicos de revisión incluidos radica en el tipo de concentrado de factor que debería ser utilizado, considerando a productos derivados de plasma y recombinantes. Para obtener factor recombinante, el gen F8 o F9 es colocado en células animales, las que comienzan a producir la proteína del factor deseado y, dado que estas moléculas proteicas no provienen de sangre humana, no poseen virus o antígenos indeseados. Por otro lado, para obtener concentrado de factor derivado de plasma, se toma el plasma sanguíneo proveniente de donantes para posteriormente ser congelado en seco y formar un “polvo de factor”, el cual luego es “purificado” de virus o proteínas no deseadas y colocado en botellas de cristal marcadas con dosis basadas en la cantidad del factor existente (Aledort et al., 2019) (Hermans et al., 2021).

En los años 80 y 90 se utilizaban crioprecipitados como tratamiento y la incidencia de los inhibidores era relativamente baja, pero con la introducción de pasos de inactivación viral en la producción de CFC derivados de plasma, éstos concentrados se tornaron mucho más inmunogénicos, elevando así el riesgo de formar inhibidores a pesar de mejorar la seguridad para no transmitir patógenos sanguíneos. Un buen ejemplo de ello es la implementación de un CFC pasteurizado con el fin de obtener un concentrado de pureza elevada (CPS-P); sin embargo, este producto se relacionó con un brote de inhibidores en

individuos con transfusiones múltiples en Bélgica y Países Bajos, en el cual se dedujo que los procesos tanto de inactivación, purificación y pasteurización que involucran disolventes y detergentes, alteraron la molécula proteica provocando una respuesta inmune (Peyvandi y Garagiola, 2018).

Una interrogante que genera discusión e investigación constante está basada en conocer si todos los CFC derivados de plasma o recombinantes presentan el mismo riesgo de formación de inhibidores. Tal como se declara en el artículo por Garagiola et al., (2018), en los concentrados derivados de plasma se encuentran proteínas inmunomoduladoras, que potencialmente pueden activar una respuesta inmune contra el factor administrado correspondiente. En cuanto a los concentrados recombinantes, dado que provienen de líneas celulares de mamíferos, se les relaciona con alteraciones en el proceso postraduccional o de estructura terciaria de los factores, lo cual posibilita la aparición de neo-antígenos volviendo a estos productos muchísimo más inmunogénicos que los concentrados derivados de plasma Carcao y Goudemand, (2018).

Los factores recombinantes de segunda generación provienen del riñón de crías de hámster (BHK), mientras que los de tercera generación se fabrican en células de ovario de hámster chino (CHO) o a su vez en células de riñón embrionario humano (HEK293). Acorde a Carcao y Goudemand, (2018) cuando salió al mercado el CFC de factor VIII recombinante con delección de dominio B, surgió la inquietud de saber si este presentaba mayor riesgo de formar aloanticuerpos a comparación de factores de longitud completa, sin embargo, la FDA determinó que no existe evidencia concluyente para el sustento de esta preocupación.

Un estudio denominado como SIPPET (encuesta sobre inhibidores en niños pequeños expuestos a productos de plasma), fue el primer ensayo clínico aleatorizado que hace una comparación de varios tipos de CFC VIII y llega a la conclusión que los productos recombinantes administrados en pacientes que no han recibido tratamiento previo (PUPs) representan un mayor riesgo de inmunogenicidad. Los resultados arrojados mostraron una tasa considerablemente superior de inhibidores en el grupo de PUPs a los que se les administró uno de cuatro CFC VIII recombinante, a comparación de a quienes se les infundió uno de cuatro CFC VIII derivado de plasma. No obstante, cabe señalar que la EMA (Agencia Europea de Medicamentos) analizó los datos disponibles y declaró que no hay evidencia clara y concisa sobre la formación de inhibidores entre las dos clases de concentrados (Spena et al., 2018).

En la actualidad existe luz verde para la fabricación de nuevos concentrados de factores VIII y IX derivados de líneas celulares humanas y derivados recombinantes de vida media prolongada (EHL) con diseños en los cuales se reduzca en gran porcentaje el riesgo de desarrollar inhibidores. La expectativa de los factores recombinantes se basa en que estos nuevos productos poseen mitades de fragmentos cristalizables (Fc) y polietilenglicol (PEG), los cuales de alguna forma podrían proteger a los factores del sistema inmunológico del paciente, mientras que los factores derivados de líneas celulares humanas serían capaces de representar una imitación más fiel de la proteína humana en cuestión. Cabe señalar acorde a los autores esto continúa siendo especulación ya que se esperan los resultados de estudios experimentales donde se evalúen esta clase de concentrados (Carcao y Goudemand, 2018).

Por último, es de suma importancia recalcar que el riesgo al desarrollo de inhibidores lo presentan todos los CFC, sin embargo, es mejor asumir ese riesgo en los pacientes a evitar el tratamiento para las hemorragias por completo.

Tabla 4. *Tipos de concentrados de factor*

Nombre del producto	Descripción	Tipo de tratamiento	Desarrollo del inhibidor	Enlace
CFC pasteurizado	Concentrado de factor de coagulación con inactivación viral para obtener más pureza.	Producto derivado del plasma	Brote de inhibidores en individuos con transfusiones múltiples en Bélgica y Países Bajos	https://doi.org/10.1002/RTH2.12094
BHK	Factores recombinantes de segunda generación provienen del riñón de crías de hámster	Productos recombinantes	-	https://www1.wfh.org/publication/files/pdf-1123.pdf
HEK293	Factores recombinantes de tercera generación se fabrican en células de ovario de hámster chino	Productos recombinantes	-	https://doi.org/10.1016/J.THROMRES.2018.05.027
CCPa	Concentrado de complejo protrombínico activado	Producto derivado del plasma	-	https://docs.bvsalud.org/biblioref/2017/07/847425/ccpa_rfviia_-26112013.pdf

Nombre del producto	Descripción	Tipo de tratamiento	Desarrollo del inhibidor	Enlace
VWF	Concentrados de Von Willebrand con factor VIII	Productos recombinantes	Incidencia baja de formación de inhibidores, esencialmente se utiliza en pacientes con HA	https://www.aeped.es/comite-medicamentos/pediamecum/factor-viii-factor-von-willebrand
CFPA	Concentrados de alta pureza de factor VIII	Producto derivado del plasma	Riesgo de presentar proteínas no deseadas o virus debido al uso del plasma humano	https://www1.wfh.org/publication/files/pdf-1224.pdf
Emicizumab HEMLIBRA	Anticuerpo monoclonal producido en células de ovario de hámster chino	Productos recombinantes	Contraindicación por la presencia de microangiopatías trombóticas	https://www.ispch.cl/sites/default/files/hemlibra_105mg.pdf

Infecciones y microbiota intestinal.

En la actualidad no existen suficientes datos del efecto de las infecciones en la formación de inhibidores, sin embargo, en los últimos tiempos ha existido un gran avance para comprender la relación y los efectos a la salud humana entre el hospedero y la microbiota. Se han asociado microbiomas específicos a una serie de patologías autoinmunes, cáncer, enfermedades neurodegenerativas y metabólicas, en las cuales factores ambientales como los fármacos y la dieta toman un papel crucial al determinar la inmunidad sistémica y a nivel de mucosas (Blander et al., 2017).

En el artículo escrito por Garagiola et al., 2018 se menciona un estudio realizado en el cual se administró concentrados recombinantes de factor VIII a ratones con hemofilia y cuya microbiota intestinal fue modificada. Se informó que los cambios realizados si influyeron en la incidencia de inhibidores ya que los roedores llegaron a desarrollar aloanticuerpos IgG anti factor VIII. De esta forma se pone en evidencia el papel que toma la terapia con CFC y el microbioma intestinal.

Vacunas

Acorde a lo establecido por Peyvandi y Garagiola, 2018 y Garagiola et al., 2018 se han realizado estudios en PUPs acerca del efecto de las vacunas administradas en pacientes hemofílicos próximos a infusiones de factor (dos días antes y un día después a la

administración de CFC) durante los primeros 75 días de exposición (DE) a los concentrados. Los resultados de los estudios no encontraron ninguna asociación entre la formación de inhibidores y las vacunas. Cabe señalar que la vacunación y la edad al momento de la primera exposición a los CFC, según Carcao y Goudemand, 2018 ya no son tomados en cuenta como factores de riesgo reales para el desarrollo de aloanticuerpos dirigidos a los factores de la coagulación.

Traumatismos y Cirugías

La explicación más sugerida del riesgo de la formación de inhibidores a razón de traumatismos o cirugías se basa en el efecto de “señal de peligro” por parte del sistema inmune del paciente. La teoría de la “señal de peligro” viene desde el año 1994 y postula que el sistema inmune se ve afectado o mucho más alterado al momento de sufrir daño que por agentes extraños que ingresan al cuerpo humano. Es decir que el sistema inmune emite una respuesta mucho mayor por señales de alarma a causa de tejidos dañados que por agentes exógenos que ingresan al organismo. En individuos con hemofilia esta señal sería emitida por periodos de tiempo más prolongado a razón de la dificultad para frenar el sangrado por una lesión, misma que implica daño y estrés celular, por lo cual al momento de la administración de CFC, su sistema inmune va a ser más propenso a reaccionar frente a estas proteínas externas (Garagiola et al., 2018).

Por lo tanto, factores ambientales como traumatismos o cirugías que son caracterizados por daño tisular pueden generar señales de peligro en personas con hemofilia, abriendo paso a una respuesta inmune a los CFC administrados en los mismos tal como se observa en la figura 1. Un estudio señalado por Peyvandi y Garagiola, 2018, denominado como CANAL dio a conocer que las intervenciones quirúrgicas significan un mayor riesgo de desarrollar inhibidores en hemofilia congénita o adquirida, y un metaanálisis subsiguiente llevado a cabo por Eckhardt et al., 2011 informó que el riesgo de formar aloanticuerpos luego de la primera administración de factor por motivos de hemorragias o profilaxis es mucho menor que el representado al realizarse administraciones de CFC post- cirugía.

Exposición extensa a factores y en edad temprana

Los niños que empiezan un proceso de profilaxis (administración a largo plazo y continua de CFC que busca la prevención de episodios hemorrágicos) durante el primer o segundo año de vida, según lo indica Carcao y Goudemand, (2018), en la mayoría de los

casos pueden llegar a desarrollar inhibidores. Ahora bien, cuando la profilaxis no está al alcance del paciente y éstos reciben un tratamiento a demanda, la formación de aloanticuerpos puede tomar más tiempo.

Los periodos de exposición extensa a CFC, que manifiesta Garagiola et al., 2018, representan un potencial riesgo para desarrollar inhibidores al tener una infusión intensa mayor o igual a cinco días de tratamiento en la primera exposición o en cualquier momento dentro del periodo de los primeros 50 días de exposición (DE). Es necesario indicar que debido a estos criterios es de suma importancia una vigilancia de la respuesta clínica de los individuos a cada infusión de factor, realizándose pruebas de detección de inhibidores ante cualquier indicio de falta de respuesta a la terapia (Calvez et al., 2018).

Etiología de inhibidores desconocida

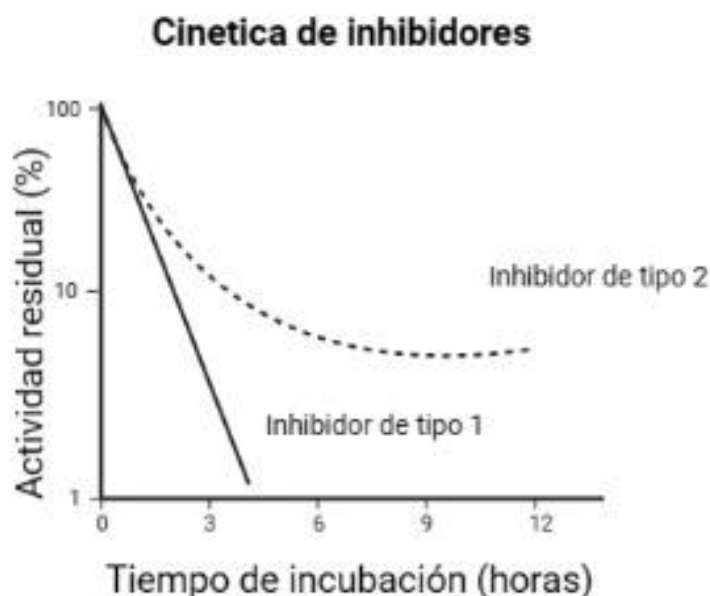
La hemofilia adquirida aparece por una producción de inmunoglobulinas de tipo IgG1 e IgG4 dirigidas a dominios específicos de los factores de la coagulación VIII o IX. Por la rareza de la enfermedad, en la mayoría de los casos la causa de origen de esta se desconoce, sin embargo, está relacionada con otras patologías como lupus, embarazo, enfermedades autoinmunes, cáncer o fármacos. Además, se ha sugerido que la predisposición genética en los individuos toma un rol de relevancia, ya que cambios en los genes de la respuesta inmune tal como se expone en el apartado de “genes que codifican citoquinas inmunorreguladoras – respuesta inmunitaria” pueden provocar una pérdida de tolerancia en el organismo del paciente, dando paso al desarrollo de la enfermedad (Tiede et al., 2020).

4.3. Tipos de inhibidores en pacientes con hemofilia

Los inhibidores en hemofilia congénita y adquirida son distintos en cuanto a su cinética (Figura 5). Los aloanticuerpos que se desarrollan en hemofilia congénita son inhibidores de tipo I o de cinética de primer grado, los cuales inhiben al factor de manera lineal a la concentración de este, es decir que, en concentraciones elevadas lo inhiben en su totalidad. Por otro lado, los autoanticuerpos presentes en la hemofilia adquirida son inhibidores de tipo II o no lineales, que al inicio inhiben rápidamente al factor, pero después llegan a una constante, formando una meseta en la cual la concentración residual del factor no baja a cero (Ketteler et al., 2022).

Es decir que, los inhibidores de tipo I van a neutralizar por completo al factor coagulante y a sí mismos en la reacción, a diferencia de los inhibidores de tipo II, los cuales no neutralizan por completo al factor y luego de la reacción mantienen, aunque en mucha menor medida la capacidad para neutralizar más factor coagulante. Cabe señalar que a pesar de que alguna cantidad de factor de la coagulación VIII o IX puede permanecer cuantificable en presencia de inhibidores no lineales, los individuos aún pueden presentar episodios de hemorragias tal como si se careciera totalmente del factor de coagulación en cuestión (Carcao y Goudemand, 2018).

Figura 6: *Cinética de inhibidores tipo I y II*



Nota: La figura representa el comportamiento de los inhibidores tipo I y tipo II a lo largo del tiempo en horas vs el porcentaje de actividad residual. Elaborado por Christopher Borja y Anthony Torres. Adaptado de Ketteler et al., 2022.

Asimismo, es necesario mencionar que las diferentes cinéticas de los inhibidores deben ser tomadas en cuenta para su identificación in vitro en el laboratorio; por ejemplo la titulación de inhibidores con el método de Bethesda puede llegar a subestimar la cantidad de autoanticuerpos en el caso de hemofilia adquirida ya que estos presentan cinética tipo II misma que no sigue de manera estricta el principio de inhibidores con cinética tipo I en el cual se establece que “la concentración de factor de la coagulación residual es inversamente proporcional con la potencia del anticuerpo inhibidor” (Ketteler et al., 2022).

4.4. Metodología utilizada en las pruebas de laboratorio clínico para el diagnóstico de inhibidores

El laboratorio clínico desempeña un papel vital al llevar a cabo pruebas confiables y reproducibles que dan paso a la detección temprana de los inhibidores específicos del factor VIII o IX, para así poder monitorear y actuar adecuadamente ante esta complicación para salvar la vida de los pacientes.

Un punto clave a tener en cuenta para evaluar el curso de esta patología es un correcto monitoreo y seguimiento del potencial desarrollo de inhibidores en el paciente hemofílico antes, durante y después del tratamiento con el uso de pruebas de laboratorio clínico. Los inhibidores son detectados por lo general de dos maneras distintas, la primera suele darse durante un examen de laboratorio de rutina o a su vez frente a la sospecha de que un individuo ya no responde correctamente a su tratamiento con CFC (el factor administrado ya no previene o frena hemorragias) (Srivastava et al., 2020).

La detección temprana y el diagnóstico preciso de inhibidores son esenciales para una gestión exitosa en situaciones donde ya no existe una respuesta adecuada al tratamiento con CFC por parte de los pacientes, por lo cual es vital que éstos se sometan a ensayos de detección continuos y más aún en periodos de tiempo cuando existe un mayor riesgo de que aparezcan. Como se plantea en Giangrande et al., 2018 hay una mayor prevalencia de inhibidores en los 20 primeros días de exposición al factor, lo cual se da generalmente cuando se brinda terapia a demanda en infantes, es decir la infusión de los CFC en episodios separados de tiempo, o luego de haber empezado la profilaxis.

Los pacientes expuestos por primera vez a estas condiciones de tratamiento deben realizarse ensayos de detección con frecuencia y se recomienda hacerlo cada cinco DE hasta alcanzar los 20 DE. A continuación, cada 10 DE hasta alcanzar los 50 DE y posterior a esto hacerlo un mínimo de dos veces por año hasta llegar a los 150 DE. Conviene señalar que pacientes adultos con más de 150 DE deben realizarse ensayos de detección, aunque con menor frecuencia, y en especial si se encuentran frente a situaciones como un procedimiento quirúrgico, pobre respuesta al tratamiento de hemorragias con factor o luego de una exposición intensa al mismo (Carcao y Goudemand, 2018).

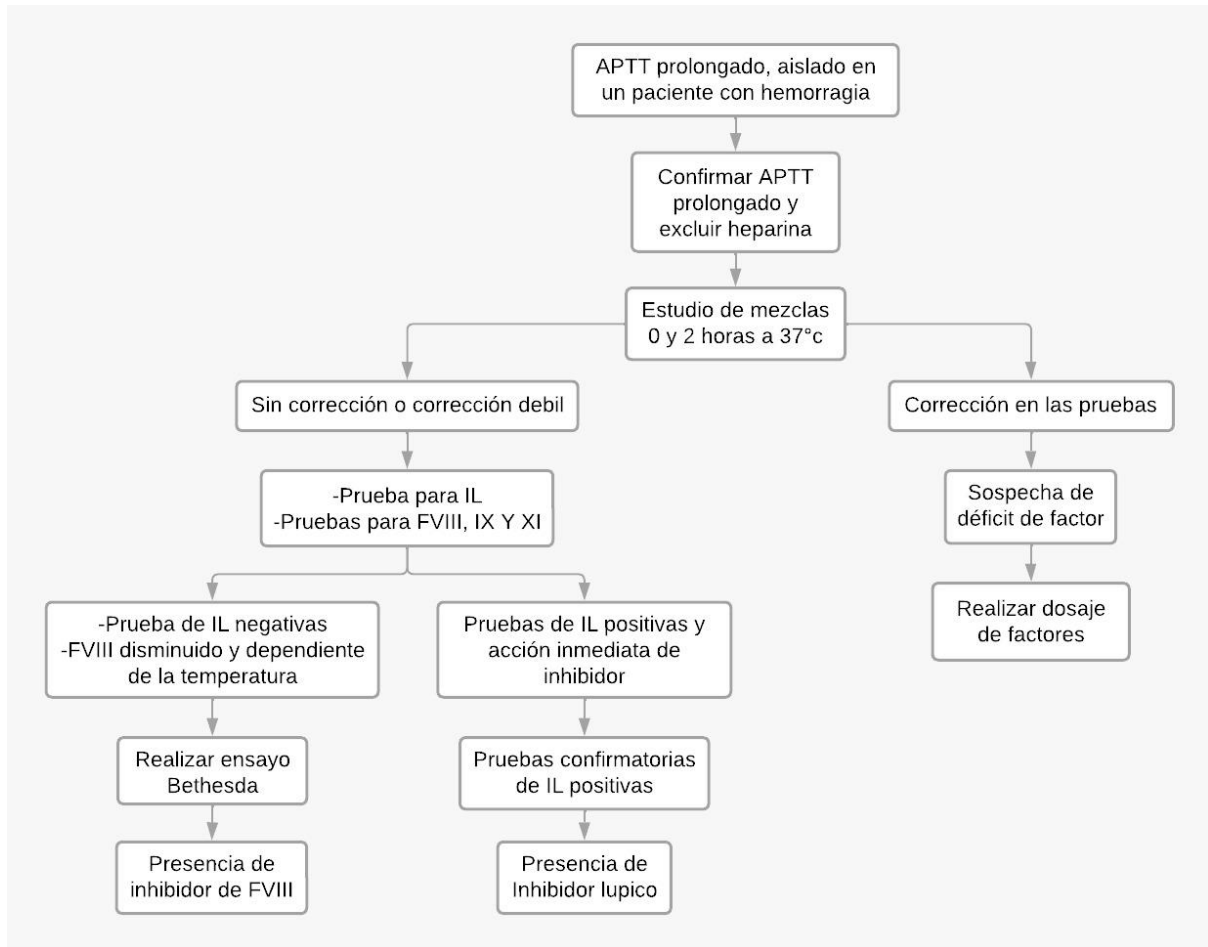
Una detección precisa de inhibidores en hemofilia congénita o adquirida depende directamente de las pruebas de coagulación que se llevan a cabo acorde a rigurosos

protocolos que necesitan el conocimiento y la pericia del personal de laboratorio y médico tratante, así como también de un correcto control de calidad en los procedimientos. Debido a esto es muy importante que información como la expuesta en el presente documento de titulación sea ampliamente actualizada y difundida.

Los ensayos de coagulación, como el tiempo de protrombina PT y el tiempo de tromboplastina parcial activada (aPTT), se realizan ante cualquier sospecha de que un paciente puede presentar un trastorno de hemostasia secundario. Los resultados de las pruebas de aPTT y el PT deben estar dentro del rango de normalidad en pacientes con hemofilia A o B que están bajo una terapia de reemplazo de factor; sin embargo, en caso de encontrarse con un aPTT prolongado, éste ya es un indicio de la presencia de inhibidores del factor VIII o IX. Cabe señalar que para realizar este ensayo debe existir un periodo de tiempo en el cual el paciente no se administre factor para evitar resultados falsamente normalizados (Duboscq et al., 2016).

En caso de hallar un aPTT prolongado, tanto en pacientes con hemofilia A y hemofilia B sujetos a tratamiento de CFC o pacientes de rutina e individuos con comorbilidades y estados fisiológicos asociados al desarrollo de hemofilia adquirida, se requiere un estudio de mezclas y, en caso de que lo amerite, continuar con los demás exámenes de laboratorio tal como lo muestra el algoritmo de la figura 7.

Figura 7: Algoritmo diagnóstico de inhibidores en hemofilia.



Nota: La figura representa las pruebas de laboratorio clínico a seguir para llegar a la detección de inhibidores en la hemofilia. Elaborado por Christopher Borja y Anthony Torres. Adaptado de Duboscq et al., 2016.

Es importante señalar que de acuerdo con Tiede et al., (2020), la causa para un aPTT prolongado puede ser el déficit de uno o más factores de la coagulación, inhibidor lúpico, heparina en la muestra o en sí un inhibidor específico de factor VIII o IX, por lo cual deben practicarse varios ensayos para descartar estas posibles alternativas.

4.4.1. Estudio de mezclas

Ensayo de mezcla inmediata:

- a) Mezclar plasma normal con el plasma de la muestra del paciente y luego llevar a cabo una prueba de aPTT de la solución.
- b) Evaluar si existe una corrección de valores en comparación al resultado previo del aPTT con el uso de la fórmula del índice de Rosner. Realizar otro aPTT de la mezcla

previo incubación a tiempo prolongado en caso de observar una corrección nula o parcial. (Duboscq et al., 2016).

$$\text{Índice de Rosner} = \frac{aPTT \text{ de mezcla} - aPTT \text{ normal}}{aPTT \text{ del paciente}}$$

El punto de corte para el resultado lo establece cada laboratorio (valor de orientación: 0,11).

Ensayo para conocer si los inhibidores son tiempo-temperatura dependientes:

- a) Se incuban plasma del paciente, plasma normal y una mezcla en partes iguales de ambas muestras a 37°C por 120 minutos.
- b) Luego de este lapso de tiempo se mezcla inmediatamente en volúmenes semejantes el plasma normal y el plasma del paciente incubados.
- c) Se realiza un ensayo de aPTT a las dos soluciones restantes.
- d) Se comparan los resultados y en caso de existir una diferencia >10% significa que el efecto de inhibición se vio potenciado con la incubación (el inhibidor es temperatura-tiempo dependiente), lo que es característico de inhibidores de factor VIII.

El resultado del aPTT de una muestra de plasma normal que se incuba a 37°C por el lapso de 120 minutos puede prolongarse un poco debido a una baja en la actividad del factor VIII. Al mezclar plasma normal con el plasma del paciente con inhibidores, el aPTT se prolonga en mayor grado mientras se incuba ya que dichos aloanticuerpos inactivan el factor VIII del plasma normal. (Tiede et al., 2020) (Duboscq et al., 2016).

Dosaje de factor VIII o IX

Para los ensayos de laboratorio es fundamental tener a consideración que al momento de hacer un dosaje de factores es posible hallar más de un factor disminuido, lo que hace dudar acerca de la especificidad del factor en cuestión. Por consiguiente, hay que poner atención a los sustratos comerciales deficitarios de los factores XII, XI, y IX de la coagulación que poseen factor VIII, el cual ocasionará una falsa reducción de la actividad de otro factor. Por lo cual, en caso de ocurrir esta duda, se debe dosificar todos los factores con diluciones múltiples tal como se observa en la tabla 5.

Tabla 5. Diluciones realizadas para dosaje de factor

Dilución de plasma	Factor VIII (%) Valor normal: 50 – 160	Factor IX (%) Valor normal: 60 – 150	Factor XI (%) Valor normal: 60 – 150	Factor XII (%) Valor normal: 60 – 140
1:5	1	25	19	29
1:10	1	31	33	44
1:20	1	43	45	55
1:50	4	61	57	64
1:100	6	68	71	90

Nota: la tabla indica las diluciones que se llevan a cabo para el dosaje de los factores de coagulación con valores de referencia y ejemplificación de valores hallados al realizar esta técnica en laboratorio. Elaborado por Christopher Borja y Anthony Torres. Adaptado de Duboscq et al., 2016.

Conforme se realiza un aumento en la dilución del plasma se puede observar que los factores IX, XI y XII se van normalizando a diferencia del factor VIII que tiene una elevación casi insignificante a lo largo de las diluciones. Por lo tanto, se puede afirmar la presencia de un inhibidor específico de factor VIII ya que se observa una inhibición constante del mismo. Por último, hay que señalar que cuando el paciente presenta inhibidores tipo I, la dosificación no se lleva a cabo debido a los bajos niveles del factor en cuestión (Duboscq et al., 2016).

4.4.2. Prueba de Bethesda

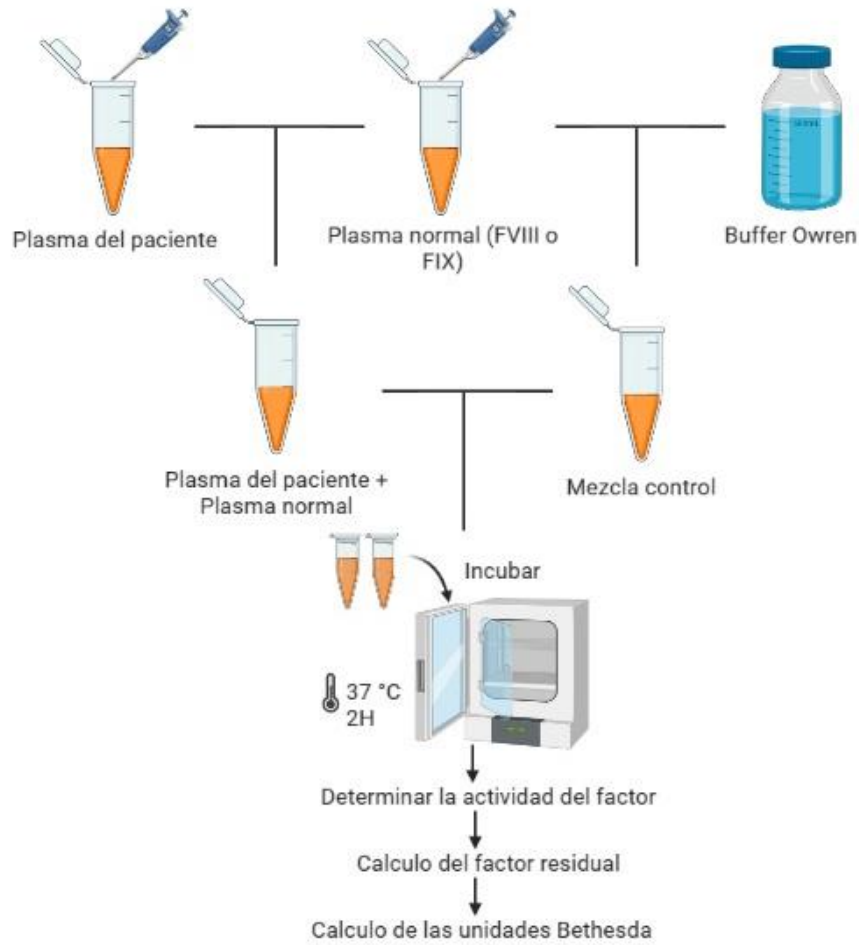
Generalmente los inhibidores son detectados y cuantificados con el uso de un ensayo de laboratorio clínico denominado como prueba de Bethesda, la cual se fundamenta en la titulación para valorar inhibidores en una muestra de plasma citratado. Se mezclan diluciones en serie de la muestra del paciente con plasma normal, por lo cual los autoanticuerpos o aloanticuerpos inhibidores provenientes del paciente anulan la correcta funcionalidad de los factores de la coagulación VIII o IX presentes en el plasma normal. Será posible detectar la actividad de los factores en el plasma normal con diluciones lo suficientemente elevadas del plasma de prueba que contienen a los inhibidores, lo cual da paso a la cuantificación del título de estos, basada en la actividad residual y factor de dilución correspondiente de la muestra (Duboscq et al., 2016).

Técnica para llevar a cabo la prueba de Bethesda (Figura 7)

- a) Mezclar en cantidades iguales el plasma del paciente hemofílico (sin dilución y en diluciones seriadas) con un lote de plasma normal que contiene factor VIII o IX funcional.

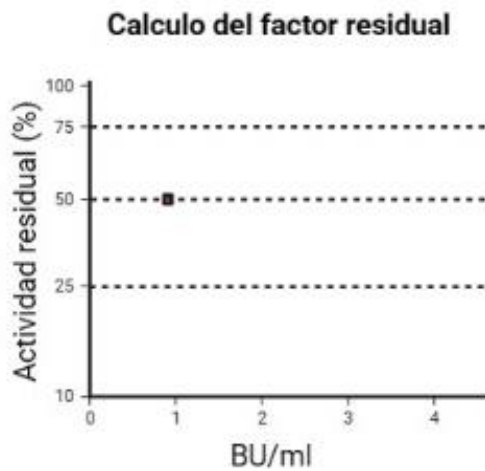
- b) Mezclar en cantidades iguales un lote de plasma normal que contiene factor VIII o IX funcional con una solución buffer Owren (evita el deterioro del factor en la incubación y mejora su estabilidad).
- c) Incubar las soluciones a 37°C por un periodo de 120 minutos para el ensayo del factor VIII o por un lapso de 10 minutos para el ensayo del factor IX.
- d) Determinar la actividad del factor VIII o IX en las soluciones que fueron incubadas por método cromogénico o por método coagulable en una etapa.
- e) Calcular el factor VIII o IX residual de cada muestra con la siguiente fórmula:
- $$\frac{\text{Factor VIII o IX de plasma de paciente con plasma normal}}{\text{Factor VIII o IX de plasma normal con Buffer}} \times 100\%$$
- f) Calcular las unidades Bethesda y graficar en una escala semilogarítmica (porcentaje del factor VIII o IX residual vs potencia del inhibidor tal como se observa en la figura 9 donde el 50% de factor VIII o IX residual corresponde a una unidad Bethesda (1 UB/mL) y el 100% a cero unidades de Bethesda (figura 8).

Figura 8: Prueba de Bethesda para la detección de inhibidores



Nota: Las figuras representan los pasos a seguir para llevar a cabo la prueba de Bethesda para la detección de inhibidores en laboratorio clínico. Elaborado por Cristopher Borja y Anthony Torres. Adaptado de Duboscq et al., 2016.

Figura 9: Cálculo de factor residual



Nota: La figura representa el gráfico de la escala semilogarítmica para la interpretación de unidades de Bethesda vs el porcentaje de la actividad residual del factor VIII o IX. Elaborado por Cristopher Borja y Anthony Torres. Adaptado de Duboscq et al., 2016.

Para el cálculo de la potencia de los inhibidores, se tomará el factor residual que se encuentre más cerca al 50% para después extrapolar el valor del título del inhibidor y multiplicarlo por la inversa de la dilución del plasma proveniente del paciente con el que se obtuvo dicho valor de factor residual; no se debe utilizar un factor residual menor al 25% ni mayor al 75% (resultados >75% se encuentran dentro del margen de error del ensayo y cuando es <25% el plasma del paciente se somete a pruebas con varios niveles de dilución para que el resultado pueda ser leído en la gráfica). El punto de corte de sensibilidad para este ensayo es 0,6 UB/mL. (Duboscq et al., 2016) (Tiede et al., 2020).

Según su cantidad, los inhibidores se clasifican en inhibidores de título bajo (ITB) que son menores a 5 UB/mL e inhibidores de título alto (ITA) que son mayores a 5 UB/mL. Los ITB se producen en el organismo del paciente por un periodo de tiempo limitado para luego desaparecer de forma espontánea en un intervalo de 6 meses a partir de su aparición. Por otro lado, los ITA tienden a persistir desde que aparecen por lo que la única opción para que el organismo del paciente no lo produzca es recurrir a usar un protocolo de terapia de inducción de inmunotolerancia (ITI). Dicha terapia se basa en la administración de elevadas dosis de CFC que provocan que el sistema inmune pueda tolerar la presencia de dichos factores, recuperando así su eficacia (Carcao y Goudemand, 2018).

4.4.3. Prueba de Nijmegen-Bethesda

Esta prueba de laboratorio se origina con base en cambios del ensayo de Bethesda, debido a que este presenta una elevada sensibilidad, pero una especificidad muy baja y con variación interlaboratorios alta. En la actualidad este ensayo es reconocido como método de referencia para la detección de inhibidores en pacientes con hemofilia A y su modificación se centra en agregar buffer de imidazol al plasma normal, además de reemplazar el buffer de Owren por plasma deficiente de factor VIII o IX. El ensayo de Nijmegen presenta niveles superiores de especificidad y sensibilidad ya que la anulación de los factores a causa de los inhibidores es pH dependiente y al estabilizarlo a través de los cambios mencionados este problema se resuelve (Arias, 2016).

Técnica para llevar a cabo la prueba de Nijmegen-Bethesda (Figura 9)

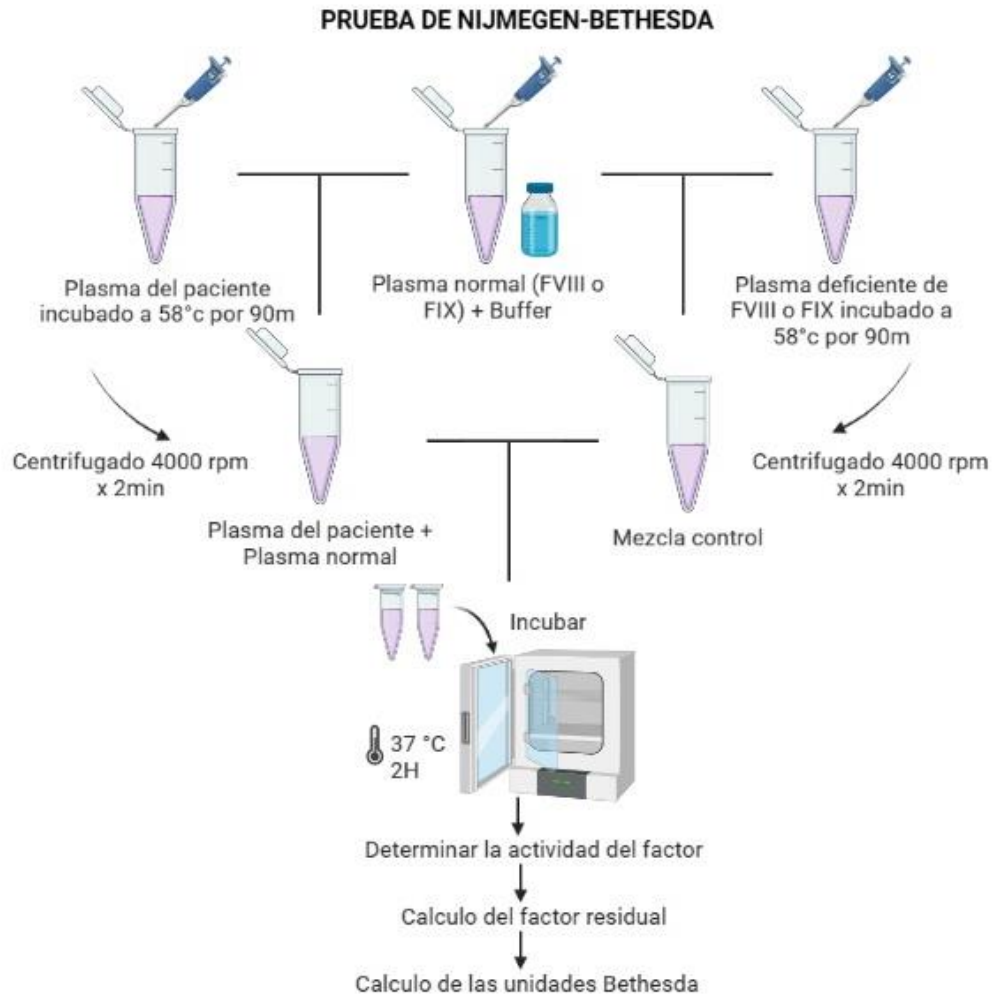
- a) Incubar el plasma del paciente y el lote de plasma deficiente de factor VIII o IX a 58°C por al menos 90 minutos con el fin de inactivar los factores, pero no a los inhibidores (son temperatura-resistentes).

- b) Centrifugar las muestras a 4000 g por un lapso de 2 minutos.
- c) Mezclar en cantidades iguales el plasma del paciente hemofílico (sin dilución y en diluciones seriadas) con un lote de plasma normal que contiene factor VIII o IX funcional y se encuentra tamponado con buffer imidazol 4M pH 7,4.
- d) Incubar las soluciones a 37°C por un periodo de 120 minutos.
- e) Determinar la actividad del factor VIII o IX en las soluciones que fueron incubadas por método cromogénico o por método coagulable en una etapa.
- f) Calcular el factor VIII o IX residual de cada muestra con la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{Factor VIII o IX de plasma de paciente con plasma normal}}{\text{Factor VIII o IX de plasma normal con Buffer}} \times 100\%$$

- g) Calcular las unidades Nijmegen-Bethesda (UNB), donde el 50% de factor VIII o IX residual corresponde a una unidad Nijmegen-Bethesda (1 UNB/mL) y graficar en una escala semilogarítmica (porcentaje del factor VIII o IX residual vs potencia del inhibidor tal como se observa en la figura 9. Se debe remarcar que estas modificaciones en la prueba mejoraron la sensibilidad y especificidad de esta, incluyendo el valor de punto de corte, sin embargo, cada laboratorio debe asignarlo acorde a ensayos de inhibidores positivos y negativos con plasma de pacientes hemofílicos (Tiede et al., 2020) (Duboscq et al., 2016).

Figura 10: Prueba de Nijmegen-Bethesda para la detección de inhibidores



Nota: Las figuras representan los pasos a seguir para llevar a cabo la prueba de Nijmegen-Bethesda para la detección de inhibidores en laboratorio clínico. Elaborado por Christopher Borja y Anthony Torres. Adaptado de Duboscq et al., 2016.

4.4.4. Ensayo de inmunoadsorción ligado a enzima (ELISA)

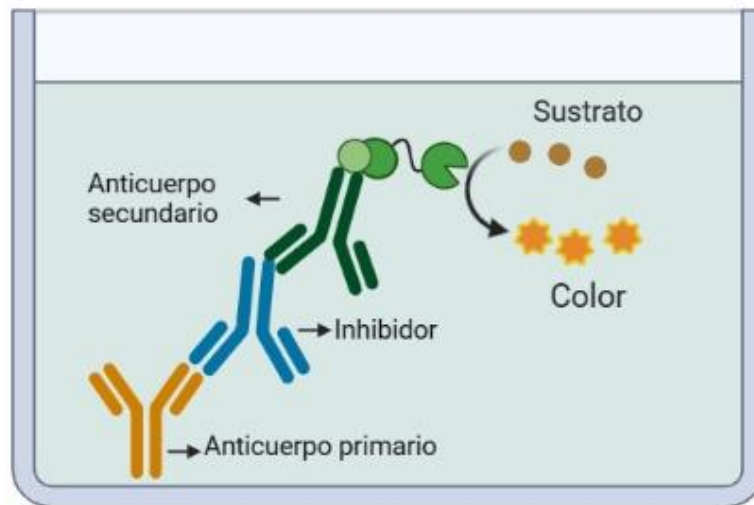
Los inhibidores son inmunoglobulinas tipo IgG dirigidos a epítomos específicos funcionales de los factores VIII o IX de la coagulación. Dichos anticuerpos pueden ser de carácter inhibitorio o neutralizante (anula la actividad del factor) o no inhibitoria/neutralizante (no anula la actividad del factor, pero puede aumentar la depuración de éste). Dicho de otro modo, los anticuerpos sin actividad inhibitoria son capaces de mermar la respuesta de los CFC como consecuencia de un incremento en la tasa de eliminación del complejo anticuerpo-antígeno, por lo cual hallar una farmacocinética fuera de lo normal cuando se administra CFC no siempre surge por la existencia de inhibidores funcionales (Carcao y Goudemand, 2018).

La técnica de ELISA tipo sándwich puede detectar tanto inhibidores tipo I como de tipo II y se basa en utilizar dos anticuerpos específicos dirigidos a dos epítomos distintos de la estructura del anticuerpo inhibidor diana. Un anticuerpo de captura se ancla al fondo del pocillo de la microplaca del ensayo y al entrar en contacto con el plasma del paciente que posee inhibidores, éstos formarán un complejo inmune anticuerpo-inhibidor. Luego, al añadir el último anticuerpo de detección conjugado con una enzima, se obtiene el complejo inmune anticuerpo-inhibidor-anticuerpo de detección y al incorporar un sustrato se produce una reacción cromogénica que arroja valores de densidad óptica medibles por espectrofotómetros, con los que se calcula la concentración de inhibidores en la muestra del paciente (Tabatabaei y Ahmed, 2022).

Técnica para llevar a cabo la prueba ELISA (figura 11)

- a) El anticuerpo primario o de captura se ancla al fondo de los pocillos de la microplaca de ELISA.
- b) Incorporar la muestra del paciente a los pocillos donde los inhibidores se unen al anticuerpo primario.
- c) Llevar a cabo un lavado de la microplaca (para eliminar todo material presente en los pocillos a excepción del complejo inmune anticuerpo primario-inhibidor).
- d) Incorporar el anticuerpo secundario o de detección conjugado con una enzima y se une a otro epítomo del inhibidor diana.
- e) Llevar a cabo un lavado de la microplaca (para eliminar todo material presente en los pocillos a excepción del complejo inmune anticuerpo primario-inhibidor-anticuerpo secundario).
- f) Al añadir el sustrato se produce una reacción enzimática desarrollando un cambio de color que genera valores de densidad óptica.
- g) Realizar la lectura de la placa con espectrofotómetro y calcular la cantidad de inhibidor presente en la muestra del paciente (Tabatabaei y Ahmed, 2022).

Figura 11: Técnica de ELISA tipo sándwich para la detección de inhibidores



Nota: Las figuras representan los pasos a seguir para llevar a cabo la prueba de ELISA tipo sándwich para la detección de inhibidores. Se muestran la unión de anticuerpos específicos para el inhibidor diana y elementos de la reacción cromogénica. Elaborado por Christopher Borja y Anthony Torres. Adaptado de Tabatabaei y Ahmed, 2022.

Tabla 6. Comparación de pruebas de laboratorio para la detección de inhibidores

Prueba	Metodología de la prueba	Ventajas	Desventajas
Bethesda	Coagulometría	<ul style="list-style-type: none"> Bajo costo económico Son capaces de detectar inhibidores con cinética Tipo I Alta sensibilidad 	<ul style="list-style-type: none"> Se puede llegar a subestimar los títulos de los inhibidores en hemofilia adquirida ya que éstos poseen cinética Tipo II Elevado porcentaje de coeficiente de variación interlaboratorios Baja especificidad Puede existir interferencias con anticoagulante lúpico
Nijmegen-Bethesda	Coagulometría	<ul style="list-style-type: none"> Alta sensibilidad Alta especificidad Mayor control del pH Bajo porcentaje de coeficiente de variación interlaboratorios 	<ul style="list-style-type: none"> Alto costo económico
Elisa	Ensayo de inmunoadsorción ligado a enzimas	<ul style="list-style-type: none"> Alta sensibilidad Puede detectar inhibidores de cinética Tipo I y Tipo II 	<ul style="list-style-type: none"> Baja especificidad: no discrimina entre anticuerpos neutralizantes y no neutralizantes. Alto costo económico

4.4.5. Métodos alternativos para incrementar la especificidad y sensibilidad de los ensayos de laboratorio.

Como ya se expuso anteriormente, la prueba de Bethesda y la modificación de Nijmegen son las pruebas de laboratorio clínico más utilizadas para la detección de inhibidores, no obstante, las mismas pueden no detectar inhibidores con poca actividad. Debido a esto se han hecho avances con métodos más específicos y sensibles de titulación.

- a) **Reemplazar la coagulometría por el método cromogénico (CBA) en el ensayo de Nijmegen:** el CBA es un método más específico para medir la actividad residual de factor VIII de la coagulación debido a que la presencia de inhibidor lúpico en la muestra del paciente no representa una interferencia en la medición, lo cual brinda una solución al problema que estos significan para los pacientes con hemofilia A (Arias, 2016).
- b) **Inmunoensayo de fluorescencia (FLI):** se basa en el acoplamiento de anticuerpos al factor VIII recombinante ligado a microesferas de poliestireno. Varios estudios han arrojado que esta metodología es capaz de detectar títulos de inhibidores menores a 0,03 UNB/mL; además, este método puede llevarse a cabo en plataforma luminex que presenta de igual forma una elevada sensibilidad (Arias, 2016).
- c) **Ensayo para inhibidores de títulos bajos (LTA):** Su principio es idéntico al de la prueba de Nijmegen a excepción del uso de plasma concentrado en reemplazo del plasma nativo, una relación de 3:1 entre el plasma concentrado y el plasma normal regulado buffereado e implementación de método cromogénico para medir la actividad residual del factor. Este método es 20 veces más sensible que el ensayo de Nijmegen y presenta un límite de detección <0,03 UNB/mL (Arias, 2016).
- d) **Ensayo inhibidor de South Mimms (SMIA):** Se basa en la sustitución del plasma deciente de factor VIII o IX de la coagulación por plasma normal de pH controlado de la prueba de Nijmegen. Esta modificación descarta una variante, ya que el plasma con deficiencia de factor que se halla en el mercado es muy heterogéneo y a su vez menora costos. Presenta un límite de detección <0,2 UNB/mL (Arias, 2016).

Es de suma importancia señalar que tanto el ensayo LTA como el SMIA aún no se encuentran validados, por lo cual para su implementación serán necesarios muchos más estudios y verificación de los resultados de estos.

5. DISCUSIÓN

Los autores de los diferentes artículos seleccionados en la presente revisión bibliográfica concuerdan en que el desarrollo de inhibidores de los factores de la coagulación VIII o IX, tanto en pacientes con hemofilia congénita, que los presentan a causa de su tratamiento y en pacientes con hemofilia adquirida cuyo origen es asociado a diferentes enfermedades o estados fisiológicos que dan paso a la pérdida de tolerancia inmune, representan la principal complicación para esta población de pacientes. Por lo cual darle una importancia prioritaria a la investigación de técnicas para el diagnóstico de esta condición médica es crucial para el bienestar de los individuos con esta enfermedad.

En las investigaciones de Margaglione et al. (2018) y Peyvandi et al. (2018) se menciona que, entre los factores de riesgo no modificables para el origen de inhibidores, con mayor pronóstico de formación se encuentran las mutaciones genéticas, la etnia e historial familiar. Esto concuerda con la información presentada por Carcao et al. (2018) y Garagiola et al. (2018) en los cuales se menciona que las mutaciones con deleciones multidominio, mutaciones sin sentido de cadena ligera o las inversiones de intrón 22 poseen un porcentaje de riesgo de formación de inhibidores muy elevado, seguido a individuos que presentan historial familiar en los cuales se duplica e inclusive triplica el riesgo si ya existen antecedentes de la presencia de estos anticuerpos.

En contraste, Carcao et al. (2018), Garagiola et al. (2018) y Margaglione et al. (2018) reportaron en sus estudios que el valor pronóstico de los haplotipos del F8 o F9, así como los genes del complejo mayor de histocompatibilidad y genes que codifican citoquinas inmunorreguladoras presentan un sustento débil. El apoyo de evidencia para dichos factores de riesgo no modificables no se encuentra bien establecidos o no son bien entendidos en su totalidad por lo cual hacen falta muchas más investigaciones que aporten en la aclaración de evidencia discordante en cuanto a estos factores de origen.

Conforme a la información recopilada en el presente estudio y de acuerdo con lo que mencionan los autores Carcao et al. (2018) y Margaglione et al. (2018), los principales factores de riesgo modificables entre los que se encuentran el tipo de concentrado de factor administrado, la exposición extensa a factores en edad temprana, los traumatismos y cirugías presentan un nivel de evidencia medio, y un grado de apoyo establecido, pero no muy bien entendido. Por otro lado, acorde a Garagiola et al. (2018), las vacunas, las infecciones y la

microbiota intestinal también son factores de riesgo a tomar en cuenta en el futuro cuando de igual forma a los anteriores factores mencionados exista evidencia mucho más clara y concisa tanto del papel que toman los tipos de concentrados de factor administrados en los pacientes y los tiempos en los que se lleva a cabo este proceso, así como también las consecuencias de acontecimientos externos invasivos para este tipo de pacientes.

La principal terapia para la hemofilia congénita es el reemplazo de los CFC con CFC derivados de plasma o factores recombinantes, los cuales previenen o frenan episodios de hemorragias al brindar elevadas dosis del factor de coagulación necesario en el paciente, sin embargo, también significan una de las principales causas para el origen de inhibidores. El autor Carcao et al. 2018 concuerda con los autores Margaglione et al. (2018) y Garagiola et al. (2018) en que los inhibidores son mucho más frecuentes en pacientes sin tratamiento previo y el riesgo de su desarrollo es cada vez menor a medida que incrementa el número de días de exposición a los CFC.

Los resultados de las diferentes investigaciones determinan la intensidad de exposición a los CFC desde una edad temprana como un factor de riesgo importante para el desarrollo de inhibidores, donde los 20 primeros DE representan el periodo de mayor riesgo, por lo cual cada 5 DE se deberán realizar pruebas de detección de dichos aloanticuerpos y luego de cada 10 DE hasta llegar a los 50 DE para finalmente someterse a estos ensayos de laboratorio mínimo 2 veces al año hasta llegar a los 150 DE. Cabe señalar que en conjunto al seguimiento médico y de laboratorio, los autores recomiendan a los individuos con hemofilia el uso de productos avalados por agencias reguladoras oficiales que aprueban la calidad de los CFC como la FDA (administración de alimentos y medicamentos) o la EMA (agencia europea de medicamentos), al asegurar la pureza del producto y todos los aspectos que conllevan su proceso de elaboración (Carcao y Goudemand, 2018).

Referente a la hemofilia adquirida, los autores Tiede et al., (2020) y Poston y Kruse-Jarres, (2022) concuerdan en mencionar que las diferentes patologías asociadas a su origen, dentro de las que se encuentran: enfermedades autoinmunes (artritis reumatoide, lupus, colitis ulcerativa, polimialgia reumática), tumores sólidos (próstata, colon, pulmón, seno) y enfermedades dermatológicas (psoriasis, pengio vulgaris, penfigoide) en conjunto con fármacos (penicilina, sulfas, fenitoína, cloranfenicol) y estados fisiológicos (embarazo) no presentan una relación clara por lo cual la etiología puntual de la enfermedad continua siendo desconocida.

No obstante, Garagiola et al. (2018), menciona la teoría de la “señal de peligro” la cual postula que puede existir una alteración importante a nivel del sistema inmune debido a daño en células o tejidos e incluso por agentes exógenos extraños administrados a un individuo. Es decir, este conjunto de enfermedades que al desarrollarse y manifestarse provocan daño celular serían capaces de desencadenar una respuesta autoinmunitaria dirigida a los factores VIII o IX de la coagulación a causa de una pérdida de tolerancia, sin embargo, aún son necesarios muchos más estudios comprobados y validados acerca de estas teorías.

En cuanto a las técnicas de laboratorio empleadas para el diagnóstico de inhibidores en pacientes con hemofilia, Carcao et al. (2018) menciona que una de las mejores técnicas metodológicas para cumplir con este fin es la prueba de Nijmegen, misma que surge a partir de una modificación de la técnica de Bethesda, para hacerla mucho más sensible y específica con un bajo porcentaje de coeficiente de variación interlaboratorios. Duboscq et al. (2016) y Garagiola et al. (2018) concuerdan con Carcao et al. (2018) en cuanto a las grandes ventajas que ofrece el ensayo de Nijmegen y a pesar de representar un elevado costo económico, su implementación sería un aporte significativo para cualquier laboratorio clínico con grandes beneficios para los pacientes con hemofilia congénita o adquirida.

Por otro lado, Poston y Kruse-Jarres, (2022) recomienda a la técnica ELISA como un nuevo ensayo estándar alternativo a los anteriores, ya que no se ve afectado por la anticoagulación lúpica y medicamentos de interferencia con el APTT; asimismo su más grande ventaja se basa en su capacidad de detección tanto de inhibidores de cinética tipo I y II lo cual lo vuelve una herramienta muy útil en el diagnóstico y diferenciación de hemofilia adquirida, no obstante su baja especificidad al discriminar entre ambos anticuerpos impone un requerimiento de más estudios y seguimiento a la técnica para su implementación segura.

Con respecto a otras técnicas para la detección de inhibidores, Arias, (2016) menciona a varias, entre las que se encuentran la CBA, LTA y SMIA, que son modificaciones realizadas al ensayo de Nijmegen con el fin de elevar su sensibilidad y especificidad al mismo tiempo que se busca su estandarización al establecer un mejor control de calidad a la prueba. También se pone en la palestra a la técnica FLI, respaldada con varios estudios que han arrojado buenos resultados al demostrar una elevada especificidad del ensayo, sin embargo, tanto esta técnica como las anteriores mencionadas aún no se

encuentran validadas y se espera que en los próximos años se establezcan más estudios que avalen su utilidad para su pronta aplicación en la práctica clínica cotidiana.

Para el diagnóstico y el tratamiento de la hemofilia es necesario que los pacientes tengan un acceso total a instalaciones de laboratorios equipados con todos los recursos y el personal experimentado con el conocimiento para llevar a cabo ensayos precisos de coagulación y detección de inhibidores. Tal como se ha expuesto a lo largo del presente documento, dichas pruebas de laboratorio son vitales para cualquier programa integral de tratamiento en pacientes con hemofilia congénita y adquirida; sin embargo, en el país la gran mayoría de laboratorios, hospitales o centros de salud no poseen la capacidad para realizar pruebas de inhibidores con modificación, por lo cual la concientización y apoyo para solucionar esta problemática es urgente.

En Ecuador los recursos son limitados, en hospitales y centros de salud existe una escasez de tecnología y personal correctamente informado de los inhibidores como principal complicación en pacientes hemofílicos; por lo que el desarrollo y mejora de los laboratorios ya existentes que presentan la capacidad de realizar ensayos de coagulación de buena calidad debería ser una prioridad para el país. Para lograr este cometido el estado deberá brindar el apoyo necesario para una capacitación del personal e incluir equipos adecuados con reactivos fácilmente disponibles.

Todos los laboratorios tienen que estar sujetos a programas de control de calidad y evaluación externa de la misma, además de brindar servicios las 24 horas para realizar análisis de inhibidores de manera oportuna y asegurarse de que exista una excelente comunicación entre el laboratorio y el equipo médico que ordena las pruebas a los pacientes, asegurando que se lleven a cabo los ensayos clínicos correspondientes y que sus resultados sean interpretados, evaluados e informados correctamente.

6. CONCLUSIONES

La presente revisión bibliográfica narrativa llegó a determinar que:

Existe evidencia bien respaldada de que los factores de riesgo genéticos no modificables son importantes, pero no son los únicos determinantes para detonar una respuesta inmune que desemboca en el desarrollo de inhibidores a causa de la administración de CFC. Diferentes estudios han demostrado que muchas respuestas inmunológicas son parcialmente predecibles y que existen factores modificables que regulan la aparición de aloanticuerpos y autoanticuerpos que inhiben a los factores de la coagulación VIII o IX.

En la actualidad todos los concentrados de factor de coagulación presentan un riesgo para el desarrollo de inhibidores, sin embargo las terapias emergentes en desarrollo de concentrados de factores de coagulación en conjunto a la mejora en los procesos de elaboración y estudio continuo de productos derivados de plasma o recombinantes en el mercado actual serán claves para en un futuro disminuir en gran medida el riesgo que presentan los pacientes al administrarse CFC como tratamiento clave para la población con hemofilia.

Las técnicas de laboratorio factibles para ser aplicadas a nivel nacional para la detección de inhibidores pueden ser el ensayo de Nijmegen con modificaciones y las pruebas de ELISA, ya que su análisis e interpretación son sencillos, además de que la implementación de estos métodos será mucho más fácil, ya que el personal de laboratorio tiene un conocimiento previo sobre los principios en los que se fundamentan ambas metodologías.

7. RECOMENDACIONES

Se requiere estudios experimentales exhaustivos de las nuevas técnicas de laboratorio para la detección de inhibidores en pacientes con hemofilia congénita y adquirida, ya que solo de esta forma se logrará avalar nuevos métodos seguros que podrán ser implementados para diagnóstico temprano de los mismos.

Es de vital importancia que se realicen estudios de carácter experimental para determinar qué clase de CFC son más riesgosos para el desarrollo de inhibidores, para de esta forma mejorar su fabricación o de plano dejar en el mercado solo a aquellos con bajo grado de peligro para el desarrollo de esta complicación en la población con hemofilia.

BIBLIOGRAFÍA

- Aledort, L., Mannucci, P. M., Schramm, W., & Tarantino, M. (2019). Factor VIII replacement is still the standard of care in haemophilia A. *Blood transfusion = Trasfusione del sangue*, *17*(6), 479-486. <https://doi.org/10.2450/2019.0211-19>
- Alvarado-Ibarra, M., López-Arroyo, J. L., Pérez-Zúñiga, J. M., Merino-Pasaye, L. E., Saavedra-González, A., María Alcivar-Cedeño, L., Luis Álvarez-Vera, J., Anaya-Cuellar, I., Arana-Luna, L. L., Ávila-Castro, D., Bates-Martín, R. A., Cesarman-Maus, G., Chávez-Aguilar, L. A., de La Peña-Celaya, J. A., Espitia-Ríos, M. E., Estrada-Domínguez, P., Fermín-Caminero, D., Flores-Patricio, W., García Chávez, J., ... Ibarra, M. A. (2021). Consensus on hemophilia in Mexico. *Hospital General Fray Junipero Serra ISSSTE*, *157*, 1-35. <https://doi.org/10.24875/GMM.M21000463>
- Andreas Tiede, Peter Collins, Paul Knoebl, Jerome Teitel, Craig Kessler, Midori Shima, Giovanni Di Minno, Roseline d'Oiron, Peter Salaj, Victor Jiménez-Yuste, Angela Huth-Kühne, & Paul Giangrande. (2020). International recommendations on the diagnosis and treatment of acquired hemophilia A. *Haematologica*, *105*(7), 1791-1801. <https://doi.org/10.3324/haematol.2019.230771>
- Benson, G., Auerswald, G., Dolan, G., Duffy, A., Hermans, C., Ljung, R., Morfini, M., & Salek, S. Z. (2018). Diagnosis and care of patients with mild haemophilia: practical recommendations for clinical management. *Blood transfusion = Trasfusione del sangue*, *16*(6), 535-544. <https://doi.org/10.2450/2017.0150-17>
- Blander, J. M., Longman, R. S., Iliev, I. D., Sonnenberg, G. F., & Artis, D. (2017). Regulation of inflammation by microbiota interactions with the host. *Nature immunology*, *18*(8), 851-860. <https://doi.org/10.1038/NI.3780>
- Calvez, T., Chambost, H., D'Oiron, R., Dalibard, V., Demigüe, V., Doncarli, A., Grue, Y., Huguenin, Y., Lutz, P., Rothschild, C., Vinciguerra, C., & Goudemand, J. (2018). Analyses of the FranceCoag cohort support differences in immunogenicity among one plasma-derived and two recombinant factor VIII brands in boys with severe hemophilia A. *Haematologica*, *103*(1), 179-189. <https://doi.org/10.3324/HAEMATOL.2017.174706>
- Carcao, M., & Goudemand, J. (s. f.). *LOS INHIBIDORES EN LA HEMOFILIA: INFORMACIÓN BÁSICA Quinta edición*. Recuperado 17 de febrero de 2023, de www.wfh.org
- Carcao, M., & Goudemand, J. (2018). *LOS INHIBIDORES EN LA HEMOFILIA: INFORMACIÓN BÁSICA Quinta edición*. www.wfh.org
- Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. (2020, junio 17). *Información básica sobre la hemofilia*. CDC. <https://www.cdc.gov/ncbddd/spanish/hemophilia/facts.html>

Constantinescu, C., Jitaru, C., Pasca, S., Dima, D., Dirzu, N., Coriu, D., Zdziarska, J., Ghiaur, G., Mahlangu, J., & Tomuleasa, C. (2022). *Unexplained hemorrhagic syndrome? Consider acquired hemophilia A or B.* <https://doi.org/10.1016/j.blre.2021.100907>

Diagnóstico y tratamiento de la hemofilia congénita. (2016).

Duboscq, C., Ceresetto, J. M., Arias, M., & Forastiero, R. (2016a). Detección de inhibidor adquirido específico de factor VIII. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 50(2), 223-232. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=53549261007>

Duboscq, C., Ceresetto, J. M., Arias, M., & Forastiero, R. (2016b). Detección de inhibidor adquirido específico de factor VIII. *Acta bioquím. clín. latinoam*, 223-232. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572016000200007

Eckhardt, C. L., van der Bom, J. G., van der Naald, M., Peters, M., Kamphuisen, P. W., & Fijnvandraat, K. (2011). Surgery and inhibitor development in hemophilia A: a systematic review. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*, 9(10), 1948-1958. <https://doi.org/10.1111/J.1538-7836.2011.04467.X>

FEDERACIÓN MUNDIAL DE HEMOFILIA. (s. f.). Recuperado 2 de mayo de 2023, de www.wfh.org

Franchini, M., Vaglio, S., Marano, G., Mengoli, C., Gentili, S., Pupella, S., & Liunbruno, G. M. (2017). Acquired hemophilia A: a review of recent data and new therapeutic options. *Hematology*, 22(9), 514-520. <https://doi.org/10.1080/10245332.2017.1319115>

Garagiola, I., Palla, R., & Peyvandi, F. (2018). Risk factors for inhibitor development in severe hemophilia a. *Thrombosis research*, 168, 20-27. <https://doi.org/10.1016/J.THROMRES.2018.05.027>

Giangrande, P. L. F., Hermans, C., O'Mahony, B., de Kleijn, P., Bedford, M., Batorova, A., Blatný, J., Jansone, K., Astermark, J., Bok, A., Crato, M., d'Oiron, R., Dougall, A., Fijnvandraat, K., Grønhaug, S., Jiménez-Yuste, V., Jokić, M., Lobet, S., Nolan, B., ... (EAHAD), on behalf of the E. H. C. (EHC) and the E. A. for H. and A. D. (2018). European principles of inhibitor management in patients with haemophilia. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 13(1), 66. <https://doi.org/10.1186/s13023-018-0800-z>

Giangrande, P. L. F., Hermans, C., O'Mahony, B., de Kleijn, P., Bedford, M., Batorova, A., Blatný, J., Jansone, K., Astermark, J., Bok, A., Crato, M., D'Oiron, R., Dougall, A., Fijnvandraat, K., Grønhaug, S., Jiménez-Yuste, V., Jokić, M., Lobet, S., Nolan, B., ... Ryan, A. (2018). European principles of inhibitor management in patients with haemophilia. *Orphanet journal of rare diseases*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/S13023-018-0800-Z>

- Gouw, S. C., van der Bom, J. G., van den Berg, H. M., Zewald, R. A., Ploos Van Amstel, J. K., & Mauser-Bunschoten, E. P. (2011). Influence of the type of F8 gene mutation on inhibitor development in a single centre cohort of severe haemophilia A patients. *Haemophilia*, *17*(2), 275-281. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2516.2010.02420.x>
- Hermans, C., Mancuso, M. E., Nolan, B., & Pasi, K. J. (2021). Recombinant factor VIII Fc for the treatment of haemophilia A. *European journal of haematology*, *106*(6), 745-761. <https://doi.org/10.1111/EJH.13610>
- Ketteler, C., Hoffmann, I., Simon, |, Mphil, D., Chen, | David, Tiede, A., & Richter, N. (2022). *Impact of different factor VIII inhibitor kinetic profiles on the inhibitor titer quantification using the modified Nijmegen-Bethesda assay*. <https://doi.org/10.1002/rth2.12799>
- Kruse-Jarres, R., Kempton, C. L., Baudo, F., Collins, P. W., Knoebl, P., Leissing, C. A., Tiede, A., & Kessler, C. M. (2017). Acquired hemophilia A: Updated review of evidence and treatment guidance. *American Journal of Hematology*, *92*(7), 695-705. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/ajh.24777>
- López-Arroyo, J. L., Pérez-Zúñiga, J. M., Merino-Pasaye, L. E., Saavedra-González, A., Alcivar-Cedeño, L. M., Álvarez-Vera, J. L., Anaya-Cuellar, I., Arana-Luna, L. L., Ávila-Castro, D., Bates-Martín, R. A., Cesarman-Maus, G., Chávez-Aguilar, L. A., Peña-Celaya, J. A. de la, Espitia-Ríos, M. E., Estrada-Domínguez, P., Fermín-Caminero, D., Flores-Patricio, W., Chávez, J. G., García-Lee, M. T., ... Ibarra, M. A. (2021). Consensus on hemophilia in Mexico. *Gac Med Mex*, *157*, S1-S35. <https://doi.org/10.24875/GMM.M21000463>
- Margaglione, M., & Intriери, M. (2018). Genetic Risk Factors and Inhibitor Development in Hemophilia: What Is Known and Searching for the Unknown. *Seminars in thrombosis and hemostasis*, *44*(6), 509-516. <https://doi.org/10.1055/S-0038-1660816>
- Ministerio de salud publica (MSP). (2016). Diagnóstico y tratamiento de la hemofilia congénita. *Sector Público Gubernamental*, *1*, 1-92.
- Organización panamericana de la salud (OPS). (2017, abril 17). *Los pacientes hemofílicos requieren mejor atención*. OPS.
- Peyvandi, F., & Garagiola, I. (2018). Product type and other environmental risk factors for inhibitor development in severe hemophilia A. *Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis*, *2*(2), 220. <https://doi.org/10.1002/RTH2.12094>
- Poston, J. N., & Kruse-Jarres, R. (2022). Advances in Acquired Hemophilia A. *Transfusion Medicine Reviews*, *36*, 215-219. <https://doi.org/10.1016/j.tmr.2022.07.001>
- Rodríguez Rodríguez, M., Zafra Torres, D., Castro Quismondo, N., & Martínez-López, J. (2020). Alteraciones adquiridas de la coagulación. *Revista de la educación superior*, *13*(22), 1250-1258. <https://doi.org/10.1016/j.med.2020.12.003>

- Spena, S., Garagiola, I., Cannavò, A., Mortarino, M., Mannucci, P. M., Rosendaal, F. R., Peyvandi, F., El-Beshlawy, A., Elalfy, M., Ramanan, V., Eshghi, P., Hanagavadi, S., Varadarajan, R., Karimi, M., Manghani, M. v., Ross, C., Young, G., Seth, T., Apte, S., ... Zulfikar, B. (2018). Prediction of factor VIII inhibitor development in the SIPPET cohort by mutational analysis and factor VIII antigen measurement. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*, *16*(4), 778-790. <https://doi.org/10.1111/JTH.13961>
- Srivastava, A., Santagostino, E., Dougall, A., Kitchen, S., Sutherland, M., Pipe, S. W., Carcao, M., Mahlangu, J., Ragni, M. V., Windyga, J., Llinás, A., Goddard, N. J., Mohan, R., Poonnoose, P. M., Feldman, B. M., Lewis, S. Z., van den Berg, H. M., & Pierce, G. F. (2020). WFH Guidelines for the Management of Hemophilia, 3rd edition. *Haemophilia : the official journal of the World Federation of Hemophilia*, *26* Suppl 6(S6), 1-158. <https://doi.org/10.1111/HAE.14046>
- Srivastava, A., Santagostino, E., Dougall, A., Kitchen, S., Sutherland, M., Pipe, S. W., Carcao, M., Mahlangu, J., Ragni, M. v., Windyga, J., Llinás, A., Goddard, N. J., Mohan, R., Poonnoose, P. M., Feldman, B. M., Lewis, S. Z., van den Berg, H. M., Pierce, G. F., & co-authors, the W. F. H. G. for the M. of H. panelists and. (2020). WFH Guidelines for the Management of Hemophilia, 3rd edition. *Haemophilia*, *26*(S6), 1-158. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/hae.14046>
- Tabatabaei, M. S., & Ahmed, M. (2022). Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, *2508*, 115-134. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2376-3_10
- Tiede, A., Collins, P., Knoebl, P., Teitel, J., Kessler, C., Shima, M., Minno, G. di, d'Oiron, R., Salaj, P., Jiménez-Yuste, V., Huth-Kühne, A., & Giangrande, P. (2020). International recommendations on the diagnosis and treatment of acquired hemophilia A. *Haematologica*, *105*(7), 1791-1801. <https://doi.org/10.3324/HAEMATOL.2019.230771>
- Wang, X., Yang, C., Körner, H., & Ge, C. (2022). Tumor Necrosis Factor: What Is in a Name? In *Cancers* (Vol. 14, Issue 21). MDPI. <https://doi.org/10.3390/cancers14215270>

ANEXOS

Anexo 1. Matriz de estrategia de búsqueda

<i>Fuente</i>	<i>Estrategia de búsqueda</i>	<i>Fecha de búsqueda</i>	<i># de artículos</i>
DIALNET	Inhibitor AND hemophilia AND congenital AND therapy AND treatment	31/01/23	1
SCIENCE DIRECT	Inhibitors AND hemophilia AND congenital AND acquired AND factor AND VIII AND IX NOT diagnosis	31/01/23	15
SCOPUS	Inhibitors AND hemophilia AND congenital AND acquired AND factor AND VIII AND IX	31/01/23	2
PROQUEST	Inhibitors AND hemophilia AND congenital AND acquired AND factor VIII AND factor IX NOT diagnosis NOT therapy NOT treatment	31/01/23	32
PUBMED	Inhibitors AND hemophilia AND congenital AND acquired	01/02/23	23
JSTOR	Inhibitors AND hemophilia AND factor AND VIII AND IX	01/02/23	8
SPRINGER JOURNALS	Inhibitors AND hemophilia AND congenital AND acquired AND factor AND VIII AND IX	01/02/23	7
SCIELO	Hemophilia AND Inhibitor	01/02/23	7
REDALIC	Hemophilia AND Inhibitor	02/02/23	10
CLINICAL KEY	Hemophilia AND inhibitors AND congenital AND acquired AND factor AND VIII AND IX	02/02/23	21
BVS	Inhibitors AND hemophilia AND congenital AND acquired AND factor AND VIII AND IX	02/02/23	38

Anexo 2. Matriz de recolección de información primaria

<i>Fuente</i>	<i>Número de artículos en fase de identificación</i>	<i>Número de artículos luego de eliminación de duplicados</i>
DIALNET	1	1
SCIENCE DIRECT	15	11
SCOPUS	2	2
PROQUEST	32	24
PUBMED	23	16
JSTOR	8	6
SPRINGER JOURNALS	7	7
SCIELO	7	5
REDALIC	10	9
CLINICAL KEY	21	15
BVS	38	31

Anexo 3. (Declaración STROBE, lista de los puntos esenciales que se deben describir en un estudio de revisión bibliográfica narrativa)

Título y resumen	Punto	Recomendación
	1	(a) Indique, en el título o en el resumen, el diseño del estudio con un término habitual. (b) Proporcione en el resumen una sinopsis informativa y equilibrada de lo que se ha hecho y lo que se ha encontrado.
Introducción		
Contexto/fundamentos	2	Explique las razones y el fundamento científicos de la investigación.
Objetivos	3	Indique los objetivos específicos, incluida cualquier hipótesis preespecificada.
Métodos		
Diseño del estudio	4	Presente al principio del documento los elementos clave del diseño del estudio.
Contexto	5	Describa el marco, los lugares y las fechas relevantes, incluido los períodos de reclutamiento, exposición, seguimiento y recogida de datos.
Participantes	6	(a) Estudios de cohortes: proporcione los criterios de elegibilidad así como las fuentes y el método de los participantes. Especifique los métodos de seguimiento. Estudios de casos y controles: proporcione los criterios de elegibilidad así como las fuentes y el proceso diagnóstico de los casos y el de selección de los controles. Proporcione las razones para la elección de casos y controles. Estudios transversales: proporcione los criterios de elegibilidad y las fuentes y métodos de selección de los participantes. (b) Estudios de cohortes: en los estudios apareados, proporcione los criterios para la formación de parejas y el número de participantes con sin exposición. Estudios de casos y controles. En los estudios apareados, proporcione los criterios para la formación de las parejas y el número de controles por cada caso.
Variables	7	Defina claramente todas las variables, de respuesta, exposiciones, predictoras, confundidoras y modificadoras del efecto. Si procede proporcione los criterios diagnósticos.
Fuente de datos/medidas	8*	Para cada variable de interés: proporcione las fuentes de datos y los detalles de los métodos de valoración (medida). Si hubiera más de un grupo, especifique la comparabilidad de los procesos de medida.
Segos	9	Especifique todas las medidas adoptadas para afrontar fuentes potenciales de sesgo.
Tamaño muestral	10	Explique cómo se determinó el tamaño muestral.
Variables cuantitativas	11	Explique cómo se trataron las variables cuantitativas en el análisis. Si procede, explique qué grupos de definieron y por qué.
Métodos estadísticos	12	(a) Especifique todos los métodos estadísticos, incluidos los empleados para controlar los factores de confusión. (b) Especifique todos los métodos utilizados para analizar subgrupos e interacciones. (c) Explique el tratamiento de los datos ausentes (missing data) (d) Estudio de cohortes: si procede, explique cómo se afrontan las pérdidas en el seguimiento. Estudios de casos y controles: si procede, explique cómo se afrontan las pérdidas en el seguimiento. Estudios transversales: si procede, especifique cómo se tiene en cuenta en el análisis la estrategia de muestreo (e) Describa los análisis de sensibilidad.
Resultados		
Participantes	13*	(a) Describa el número de participantes en cada fase del estudio: por ejemplo: cifras de los participantes potencialmente elegibles, los analizados para ser incluidos, los confirmados elegibles, los incluidos en el estudio, los que tuvieron un seguimiento completo y los analizados. (b) Describa las razones de la pérdida de participantes en cada fase. (c) Considere el uso de un diagrama de flujo.
Datos descriptivos	14*	(a) Describa las características de los participantes en el estudio (p.ej., demográficas, clínicas, sociales) y la información sobre las exposiciones y los posibles factores de confusión. (b) Indique el número de participantes con datos ausentes en cada variable de interés. (c) Estudios de cohortes: resume el período de seguimiento (p. ej. promedio y total).
Datos de las variables de resultado	15*	Estudios de cohortes: describa el número de eventos resultado, o bien proporcione medias resumen a lo largo del tiempo. Estudios de casos y controles: describa el número de participantes en cada categoría de exposición, o bien proporcione medias resumen de exposición. Estudios transversales: describa el número de eventos resultado, o bien proporcione medidas resumen.
Resultados principales	16	(a) Proporcione estimaciones no ajustadas y, si procede, ajustadas por factores de confusión, así como su precisión (p. ej. Intervalos de confianza del 95%). Especifique los factores de confusión por los que se ajusta y las razones para incluirlos. (b) Si categoriza variables continuas, describa los límites de los intervalos. (c) Si fuera pertinente, valore acompañar las estimaciones del riesgo relativo con estimaciones del riesgo absoluto para un período de tiempo relevante.
Otros análisis	17	Describa otros análisis efectuados (de subgrupos, interacciones o sensibilidad).
Discusión		
Resultados clave	18	Resuma los resultados principales de los objetivos del estudio.
Limitaciones	19	Discuta las limitaciones del estudio, teniendo en cuenta posibles fuentes de sesgo o de imprecisión. Razone tanto sobre la dirección como sobre la magnitud de cualquier posible sesgo.
Interpretación	20	Proporcione una interpretación global prudente de los resultados considerando objetivos, limitaciones, multiplicidad de análisis, resultados de estudios similares y otras pruebas empíricas relevantes.
Generabilidad	21	Discuta la posibilidad de generalizar los resultados (validez externa).
Otra información		
Financiación	22	Especifique la financiación el papel de los patrocinadores del estudio y, si procede, del estudio previo en el que basa el presente artículo.

Nota: Se ha publicado un artículo que explica y detalla la elaboración de cada punto de la lista, y ofrece el contexto metodológico y ejemplos reales de comunicación transparente 18,20: La lista de puntos STROBE se debe utilizar preferiblemente junto con ese artículo (gratuito en las páginas web de la revista PLOS Medicina [<http://www.plosmedicine.org/>]. Annals of Internal Medicine (<http://annals.org/>) y Epidemiology [<http://www.epidem.com/>]). En la página web de STROBE (<http://www.strobe-statement.org/>) aparecen las diferentes versiones de la lista correspondiente a los estudios de cohortes, a los estudios de casos y controles y a estudios transversales.

Anexo 4. Matriz de artículos excluidos

<i>N° Artículo</i>	<i>Fuente documental</i>	<i>Año</i>	<i>Título del Artículo</i>	<i>Citación completa</i>	<i>Revista URL o DOI</i>	<i>Motivo de exclusión</i>
1	Secundaria	2021	Consenso de Hemofilia en México	López-Arroyo, J. L., Pérez-Zúñiga, J. M., Merino-Pasaye, L. E., Saavedra-González, A., Alcivar-Cedeño, L. M., Álvarez-Vera, J. L., Anaya-Cuellar, I., Arana-Luna, L. L., Ávila-Castro, D., Bates-Martín, R. A., Cesarman-Maus, G., Chávez-Aguilar, L. A., Peña-Celaya, J. A. de la, Espitia-Ríos, M. E., Estrada-Domínguez, P., Fermín-Caminero, D., Flores-Patricio, W., Chávez, J. G., García-Lee, M. T., ... Ibarra, M. A. (2021). Consensus on hemophilia in Mexico. <i>Gac Med Mex</i> , 157, S1–S35. https://doi.org/10.24875/GMM.M21000463	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33819260/	El artículo centra su investigación solo a México.
2	Secundaria	2020	WFH Guidelines for the Management of Hemophilia, 3rd edition	Srivastava, A., Santagostino, E., Dougall, A., Kitchen, S., Sutherland, M., Pipe, S. W., Carcao, M., Mahlangu, J., Ragni, M. v., Windyga, J., Llinás, A., Goddard, N. J., Mohan, R., Poonnoose, P. M., Feldman, B. M., Lewis, S. Z., van den Berg, H. M., y Pierce, G. F. (2020). WFH Guidelines for the Management of Hemophilia, 3rd edition. <i>Haemophilia: The Official Journal of the World Federation of Hemophilia</i> , 26 Suppl 6(S6), 1–158. https://doi.org/10.1111/HAE.14046	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32744769/	No Brinda la suficiente información acorde a los objetivos a cumplir de la investigación.
3	Primaria	2017	Características clínicas y epidemiológicas de pacientes con hemofilia del eje	Sánchez-Duque, J. A. (2017). CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y EPIDEMIOLÓGICAS DE PACIENTES CON HEMOFILIA DEL EJE CAFETERO, COLOMBIA. <i>Revista Científica Medicina</i> , 20(2), 15–20.	http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1817-	El artículo centra su investigación solo a una región de Colombia. Existe mucho

			cafetero, Colombia	https://redalyc.puce.elogim.com/articulo.oa?id=426054755003	7433201700020000 3	sesgo en la investigación.
4	Secundaria	2018	Diagnosis and care of patients with mild haemophilia: practical recommendations for clinical management	Benson, G., Auerswald, G., Dolan, G., Duffy, A., Hermans, C., Ljung, R., Morfini, M., y Salek, S. Z. (2018). Diagnosis and care of patients with mild haemophilia: practical recommendations for clinical management. <i>Blood Transfusion = Trasfusione Del Sangue</i> , 16(6), 535–544. https://doi.org/10.2450/2017.0150-17	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29328905/	El artículo no brinda información relevante para la investigación.
5	Secundaria	2022	Unexplained hemorrhagic syndrome? Consider acquired hemophilia A or B	Constantinescu, C., Jitaru, C., Pasca, S., Dima, D., Dirzu, N., Coriu, D., Zdziarska, J., Ghiaur, G., Mahlangu, J., y Tomuleasa, C. (2022). <i>Unexplained hemorrhagic syndrome? Consider acquired hemophilia A or B</i> . https://doi.org/10.1016/j.blre.2021.100907	https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268960X21001132?via%3Dihub	No se encuentra dentro del rango establecido de cuartiles en la investigación
6	Secundaria	2020	Alteraciones adquiridas de la coagulación	Rodríguez Rodríguez, M., Zafra Torres, D., Castro Quismondo, N., y Martínez-López, J. (2020). Alteraciones adquiridas de la coagulación. <i>Revista de La Educación Superior</i> , 13(22), 1250–1258. https://doi.org/10.1016/j.med.2020.12.003	https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304541220302973?via%3Dihub	El artículo no brinda información relevante para la investigación.
7	Secundaria	2021	Factor VIII/IX inhibitor testing practices in the	Batty, P., Riddell, A., Kitchen, S., Sardo Infirri, S., Walker, I., Woods, T., Jennings, I., y Hart, D. P. (2021). Factor VIII/IX inhibitor testing practices in	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33650732/	No se encuentra dentro del rango establecido de

			United Kingdom: Results of a UKHCDO and UKNEQAS national survey	the United Kingdom: Results of a UKHCDO and UKNEQAS national survey. <i>Haemophilia: The Official Journal of the World Federation of Hemophilia</i> , 27(3), 490–499. https://doi.org/10.1111/HAE.14158	cuartiles en la investigación
8	Primaria	2022	Impact of different factor VIII inhibitor kinetic profiles on the inhibitor titer quantification using the modified Nijmegen-Bethesda assay	Ketteler, C., Hoffmann, I., Simon, I., Mphil, D., Chen, David, Tiede, A., & Richter, N. (2022). Impact of different factor VIII inhibitor kinetic profiles on the inhibitor titer quantification using the modified Nijmegen-Bethesda assay. https://doi.org/10.1002/rth2.12799	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36518189/ El artículo no brinda información relevante para la investigación.

Anexo 5. Matriz de artículos recuperados

N° Artículo	Fuente documental	Año	Título del Artículo	Citación completa	Revista URL o DOI
1	Secundaria	2020	International recommendations on the diagnosis and treatment of acquired hemophilia A	Tiede, A., Collins, P., Knoebl, P., Teitel, J., Kessler, C., Shima, M., Minno, G. di, d'Oiron, R., Salaj, P., Jiménez-Yuste, V., Huth-Kühne, A., y Giangrande, P. (2020). International recommendations on the diagnosis and treatment of acquired hemophilia A. <i>Haematologica</i> , 105(7), 1791–1801. https://doi.org/10.3324/HAEMATOL.2019.230771	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32381574/#:~:text=Control%20of%20acute%20bleeding%20and,porcine%20FVIII%20in%20bleeding%20patients.
2	Primaria	2018	European principles of inhibitor management in patients with haemophilia	Giangrande, P. L. F., Hermans, C., O'Mahony, B., de Kleijn, P., Bedford, M., Batorova, A., Blatný, J., Jansone, K., Astermark, J., Bok, A., Crato, M., D'Oiron, R., Dougall, A., Fijnvandraat, K., Grønhaug, S., Jiménez-Yuste, V., Jokić, M., Lobet, S., Nolan, B., Ryan, A. (2018). European principles of inhibitor management in patients with haemophilia. <i>Orphanet Journal of Rare Diseases</i> , 13(1). https://doi.org/10.1186/S13023-018-0800-Z	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29703220/
3	Primaria	2018	Genetic Risk Factors and Inhibitor Development in Hemophilia: What Is Known and Searching for the Unknown	Margaglione, M., y Inriieri, M. (2018). Genetic Risk Factors and Inhibitor Development in Hemophilia: What Is Known and Searching for the Unknown. <i>Seminars in Thrombosis and Hemostasis</i> , 44(6), 509–516. https://doi.org/10.1055/S-0038-1660816	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29940657/

4	Primaria	2022	Hemofilia adquirida Reporte de cuatro casos	Milanesio, M., Olmedo, J., Caeiro, G., Tabares, A. H., y Montivero, A. R. (2022). Hemofilia adquirida Reporte de cuatro casos. <i>Revista de La Facultad de Ciencias Médicas</i> , 79(1), 57. https://doi.org/10.31053/1853.0605.V79.N1.34045	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9004293/#:~:text=La%20incidencia%20es%20de%201.5,%25%20es%20idiop%C3%A1tica%206%2D9%20 .
5	Secundaria	2018	Los inhibidores en la hemofilia: información básica quinta edición	Carcao, M., y Goudemand, J. (n.d.). LOS INHIBIDORES EN LA HEMOFILIA: INFORMACIÓN BÁSICA Quinta edición. Retrieved February 17, 2023, from www.wfh.org	https://www1.wfh.org/publication/files/pdf-1123.pdf
6	Secundaria	2022	Advances in Acquired Hemophilia A	Poston, J. N., y Kruse-Jarres, R. (2022). Advances in Acquired Hemophilia A. <i>Transfusion Medicine Reviews</i> , 36, 215–219. https://doi.org/10.1016/j.tmr.2022.07.001	https://clinicalkey.puce.elogim.com/#!/content/journal/1-s2.0-S0887796322000384
7	Secundaria	2018	Risk factors for inhibitor development in severe hemophilia a	Garagiola, I., Palla, R., y Peyvandi, F. (2018). Risk factors for inhibitor development in severe hemophilia a. <i>Thrombosis Research</i> , 168, 20–27. https://doi.org/10.1016/J.THROMRES.2018.05.027	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29879570/#:~:text=Inhibitors%20develop%20from%20a%20multicausal,highest%20risk%20of%20inhibitor%20development.
8	Secundaria	2018	Product type and other environmental risk factors for inhibitor development in severe hemophilia A	Peyvandi, F., y Garagiola, I. (2018). Product type and other environmental risk factors for inhibitor development in severe hemophilia A. <i>Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis</i> , 2(2), 220. https://doi.org/10.1002/RTH2.12094	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6055565/

Anexo 6. Matriz de recolección de la información final

<i>N° artículo</i>	<i>Título del artículo</i>	<i>del</i>	<i>Importancia</i>	<i>Factores de riesgo</i>	<i>Tipos de inhibidores</i>	<i>Causas que originan los inhibidores</i>	<i>Métodos diagnósticos</i>
1	Los inhibidores en la Hemofilia: información básica, Quinta edición	Quinta edición	La exposición a concentrados de factor como tratamiento para el déficit o alteraciones de los factores VIII o IX, podría provocar que el sistema inmunológico reconozca estos factores como una proteína extraña desarrollando aloanticuerpos neutralizantes contra los tratamientos. Autoanticuerpos inhibidores de los FVIII se llegan a presentar en mayor parte personas de edades avanzadas con alteraciones en su sistema inmunológico.	Factores genéticos no modificables y factores ambientales posiblemente modificables.	Inhibidor alto >5 unidades Bethesda (BU) Inhibidor bajo < 5 unidades Bethesda (BU)	Tiempo, el régimen y la intensidad de administración del tratamiento de acuerdo con la edad en la que fue administrado.	Cuantificación mediante la prueba de Bethesda Inmunoensayos de fluorescencia (Eliza) para la detección de anticuerpos no neutralizantes; es decir anticuerpos que no inhiben a los factores de coagulación en este caso el FVIII o FIX.
2	International recommendations on the diagnosis and treatment of acquired hemophilia A		El 10% de los pacientes con hemofilia adquirida no presentan sangrados, petequias o alteraciones de coagulación notable por lo que existe el riesgo de presentar complicaciones en procesos invasivos.	No genéticos y no medioambientales	Inhibidor alto >5 unidades Bethesda (BU) Inhibidor bajo < 5 unidades Bethesda (BU)	Enfermedades que afectan el sistema inmunológico, embarazo, infecciones o neoplasias.	Cuantificación mediante la prueba de Bethesda.

		La importancia radica en la no existencia de un algoritmo universal para el diagnóstico de este tipo de hemofilia, por ende, los médicos no tienen la experiencia para diferenciarla de otras enfermedades,			
3	European principles of inhibitor management in patients with haemophilia	La complicación más grave es el desarrollo de una respuesta inmunitaria o inhibidores a los factores exógenos administrados como tratamiento; a los cuales inactiva las proteínas de los FVIII o FIX infundidas. Se establece 10 principios para la gestión de los inhibidores en pacientes tratados y diagnosticados.	Genéticos y medioambientales	Inhibidores de título alto o bajo clasificado de acuerdo con el título más alto reportado en el paciente. Inhibidor alto >5 unidades Bethesda (BU) Inhibidor bajo < 5 unidades Bethesda (BU)	Tiempo, el régimen y la intensidad de administración del tratamiento de acuerdo con la edad en la que fue administrado. Cuantificación mediante la prueba de Bethesda
4	Genetic Risk Factors and Inhibitor Development in Hemophilia: What Is Known and Searching for the Unknown	Se establece un sistema de puntuación de acuerdo al régimen del tratamiento para cuantificar el riesgo que tiene el paciente de desarrollar un inhibidor. El origen se da por mutaciones en el gen F8 y F9 respectivamente causando la disminución o la eliminación de los factores.	Factores genéticos no modificables y factores ambientales posiblemente modificables.	Inhibidores de título alto o bajo clasificado de acuerdo con el título más alto reportado en el paciente.	Cuantificación mediante la prueba de Bethesda para el diagnóstico Pruebas moleculares para estudio de expresiones

		De acuerdo con los antecedentes familiares y a la investigación genética de las mutaciones se puede establecer una clasificación de estas mutaciones en alto y bajo riesgo.			genéticas para investigación.
5	Hemofilia adquirida Reporte de cuatro casos	La detección de los inhibidores en pacientes con hemofilia adquirida tiene su importancia cuando no existe un algoritmo adecuado para la detección de estos, ya que los pacientes presentaron hematomas espontáneos a los cuales se les realizó al principio pruebas de coagulación al no encontrar respuesta se realizaron pruebas para detectar un inhibidor ya que sospecharon de hemofilia.	No genéticos y no medioambientales	Inhibidor alto >5 unidades Bethesda (BU) Inhibidor bajo < 5 unidades Bethesda (BU)	Enfermedades que afectan el sistema inmunológico, embarazo, infecciones o neoplasias. Cuantificación mediante la prueba de Bethesda
6	Advances in Acquired Hemophilia A	Para el seguimiento y control de los inhibidores se estableció que se debe trabajar en terapias de supresión del mismo y en pruebas de detección específicas y titulación como la prueba Bethesda; así como pruebas modificadas de ELISA para la detección de anticuerpos no neutralizantes.	No genéticos y no medioambientales	Inhibidor alto >5 unidades Bethesda (BU) Inhibidor bajo < 5 unidades Bethesda (BU)	Tiene más frecuencia en mujeres embarazadas y más probable en personas con edad avanzada en promedio de 60 años, así como en trastornos autoinmunes o neoplasias malignas. Cuantificación mediante la prueba de Bethesda. ELISA
7	Risk factors for inhibitor development in	La formación del inhibidor se da por una serie de mutaciones en el gen F8 los cuales desencadenan	Genéticos y medioambientales	Inhibidores de título alto o bajo clasificado	Probabilidad elevada durante el tiempo, el régimen y la intensidad de Cuantificación mediante la

	<p>severe hemophilia a</p> <p>respuestas auto inmunes contra los factores de reemplazo administrado.</p> <p>Se ha demostrado que existe una interacción entre las mutaciones del gen F8 y genes inmunomodulares para la predicción de una posible respuesta a la primera exposición al tratamiento.</p>		<p>de acuerdo con el título más alto reportado en el paciente.</p> <p>Inhibidor alto >5 unidades Bethesda (BU)</p> <p>Inhibidor bajo < 5 unidades Bethesda (BU)</p>	<p>administración del tratamiento.</p> <p>El daño celular causado por hemorragias, cirugías o infecciones envían señales de alerta que desencadenan en respuestas inmunitarias contra el factor de reemplazo administrado.</p> <p>Mutaciones en el gen F8</p>	<p>prueba de Bethesda</p>
<p>8</p> <p>Product type and other environmental risk factors for inhibitor development in severe hemophilia A</p>	<p>Por más de 30 años el tratamiento con concentrados de FVIII fue un descubrimiento de vanguardia al ser utilizado para eliminar el riesgo de complicaciones graves, sin embargo, el 30% de los pacientes de acuerdo con el nivel de exposición empiezan a formar inhibidores neutralizando el efecto del factor como tratamiento.</p> <p>El estudio demuestra que la existencia de inhibidores se asocia más con el tipo de tratamiento administrado y las bases inmunológicas del mismo a comparación de otros factores de riesgo que si tienen un porcentaje de influencia bajo.</p>	<p>Genéticos y medioambientales</p>	<p>No establece el uso de la prueba Bethesda, pero realiza una comparación entre varios tratamientos frente a los factores de riesgo.</p>	<p>tiempo, el régimen y la intensidad de administración del tratamiento de acuerdo con la edad en la que fue administrado.</p>	<p>No establece el uso de la prueba Bethesda.</p>