



DIAGNOSTICO DE LOS TRASTORNOS AUTOINMUNES DE LA COAGULACION

Dr. José Pardos-Gea

Unidad Investigación Enfermedades Autoinmunes

Servicio Medicina Interna. Hospital Universitario Vall d' Hebrón

Barcelona.



- **INTERACCION SISTEMA COAGULACION – AUTOINMUNIDAD**
 - Púrpura Trombocitopenia idiopática PTI – Ac anti **GPIIb/IIIa plaquetario**.
 - Trombocitopenia inducida por Heparina – Ac anti **factor 4 plaquetario (FP4)**
 - Púrpura trombótica trombocitopénica PTT/SHU – Ac anti **proteína ADAMS 13**
 - Sd. Anti fosfolípido – Ac anti **B2GPI**.

Coagulopatias adquiridas autoinmunes – Ac contra **factores coagulación**.



- COAGULOPATIAS ADQUIRIDAS AUTOINMUNES.
 - Enfermedades **raras** con baja incidencia 1-3 casos millón hab/año.
 - Se han descrito anticuerpos contra **todos** los factores de la coagulación. Los más prevalentes **anti-factor VIII** (Hemofilia adquirida A), **anti-factor IX** (Hemofilia adquirida B), **factor von Willebrand** (Enf. Von Willebrand adquirida)
 - Anticuerpos generalmente **IgG (IgG4)**.
 - Normalmente su acción se basa en la neutralización de la actividad pro coagulante, el incremento del aclaramiento del factor o inducción de su proteolisis.

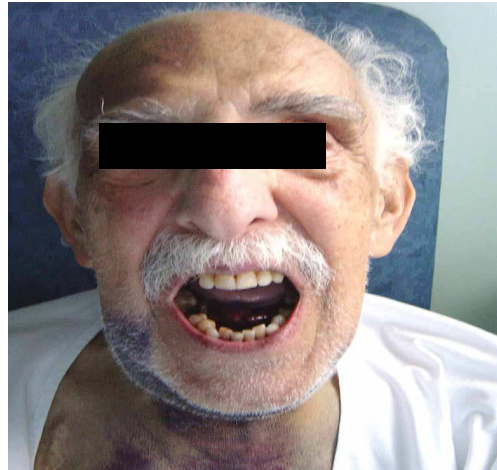
SOSPECHA DIAGNOSTICA COAGULOPATIA ADQUIRIDA AUTOINMUNE.



Hemorragia aguda, espontanea o en procedimientos poco invasivos, sin diátesis hemorrágica previa personal ni familiar.



H. Cutánea-subcutánea



Hem. suelo de la boca



Tiempo coagulación
prolongado (**TTPA**, TP,
TT, TR) .



Pseudotrombosis – sd
compartimental



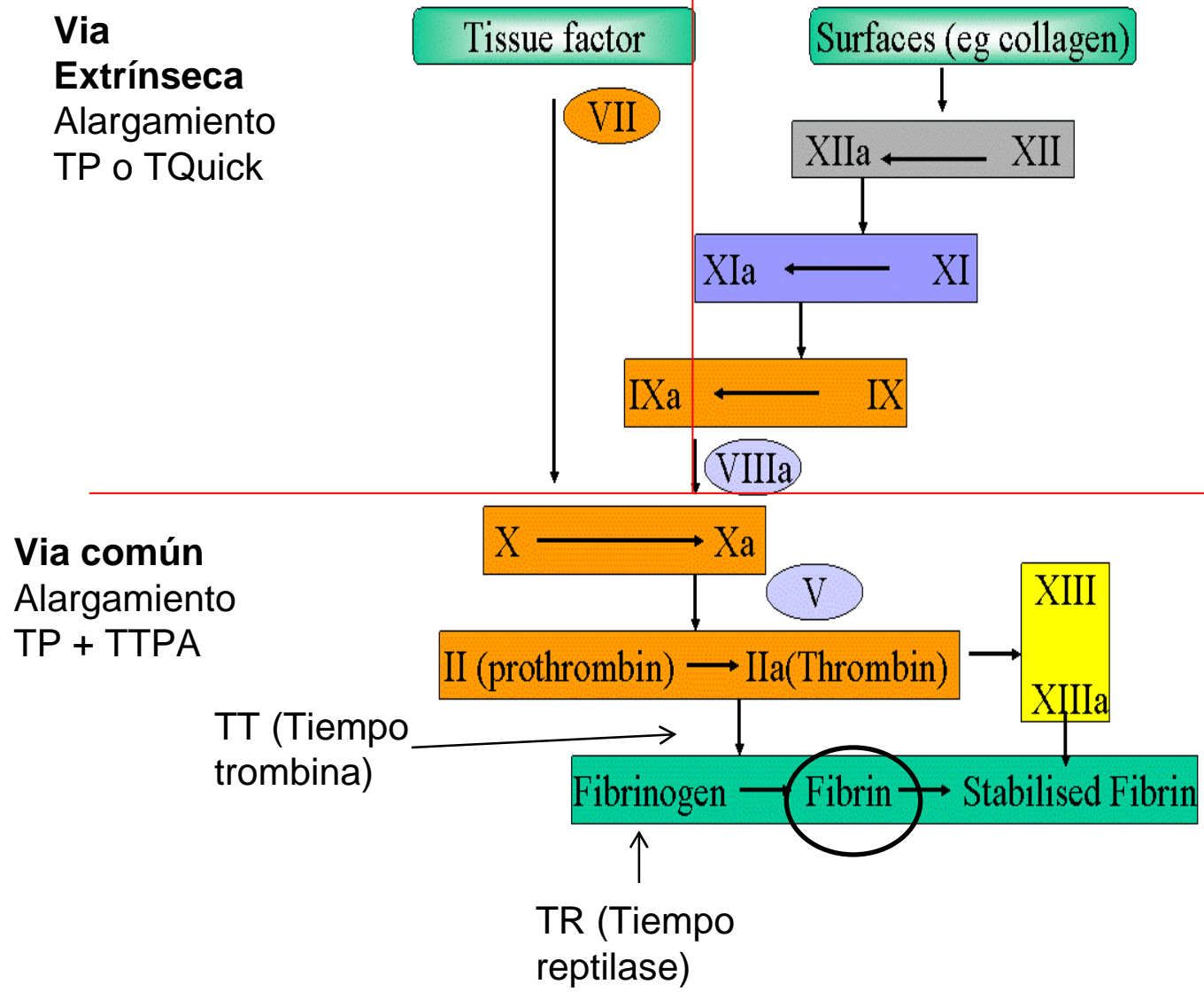
H. Muscular psoas



Land Dwelling Vertebrates

Via Extrínseca
Alargamiento
TP o TQuick

Via Intrínseca
Alargamiento
TTPA





Tiempo coagulación prolongado
(TTPA)
(mas de 3-4 segundos, ratio TTPA >1,25)



1º Descartar uso/contaminación con
heparina

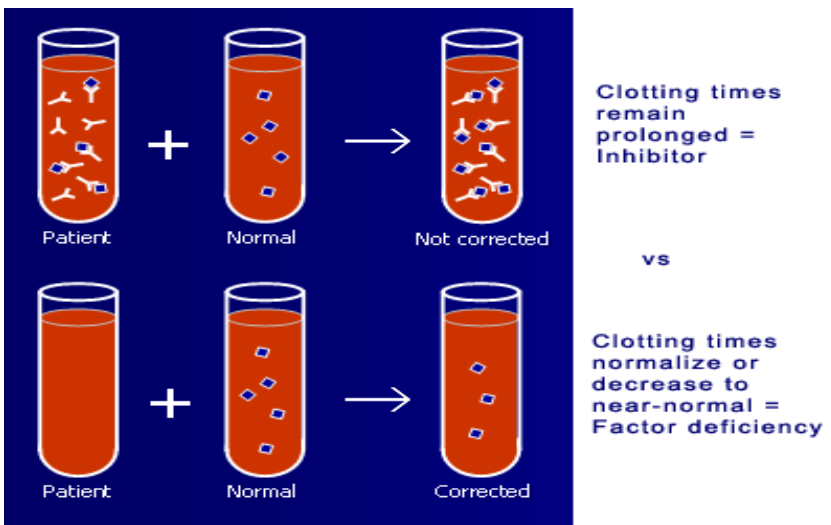
→ Historia clínica
TTPA + TT alargados con TR normal



2º Descartar **déficit factor coagulación.**

→ **Test de Mezclas**

No corrección TTPA con plasma normal.



Sospecha Inhibidor factor coagulación vs Anticoagulante Lupico



Inhibidor factor coagulación
vs Anticoagulante Lupico

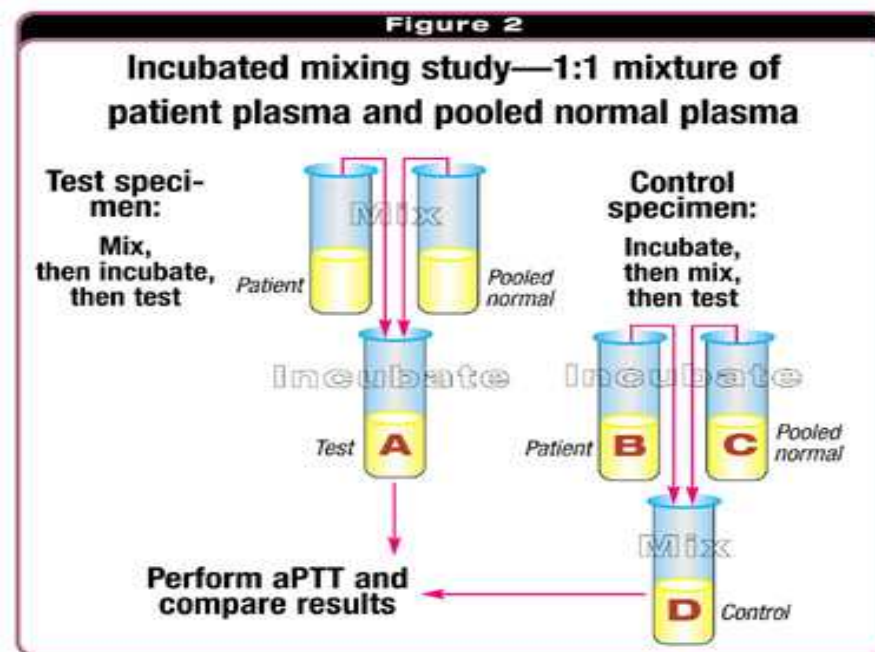


Test de Kasper

Incubar 2 horas a 37°C para detección de inhibidores titulo bajo.

-Inhibidor: TTPA **A** >> TTPA **D** o
ratio TTPA **D**/TTPA **A** < 0,85.
(temperatura y tiempo dependiente)

-AL: TTPA **A** = TTPA **D**
(temperatura y tiempo independiente)





Inhibidor factor coagulación



1º Dosificación Factor coagulación (%)

Via intrínseca VIII , IX, XI, XII
(normalidad 60-100%)

- En ambos métodos mediremos la actividad procoagulante de los factores FVIII:C.

MÉTODO COAGULATIVO



MÉTODO CROMOGENICO





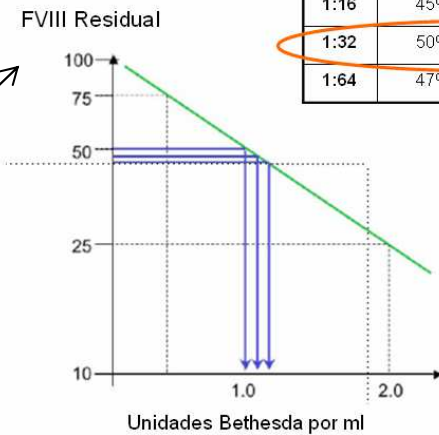
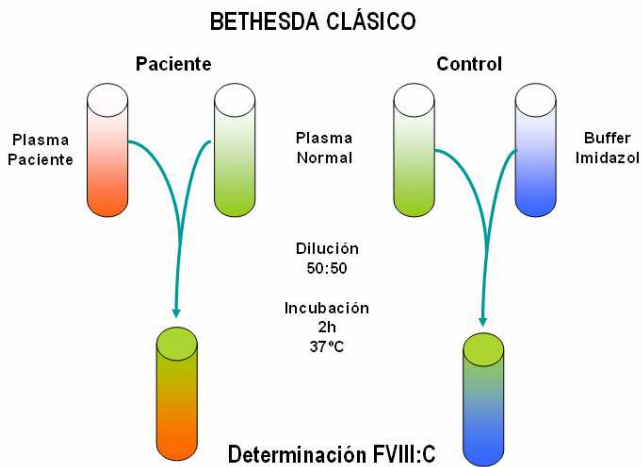
**Inhibidor factor
coagulación**



2º Cuantificación del Inhibidor

Método coagulométrico:

- **TEST BETHESDA**
- Modificación de Nijmegen



FVIII residual: $\frac{\text{FVIII:C muestra paciente}}{\text{FVIII:C muestra control}} \times 100$

para diferentes diluciones muestras.

1 Unidad Bethesda UB: Cantidad de inhibidor necesaria para destruir el 50% de actividad del F VIII en la mezcla.

Se consideran **positivos** titulo de inhibidor por **encima de 0,6 UB.**

Inhibidor factor coagulación



2º Cuantificación del Inhibidor

Métodos coagulométricos:

- TEST BETHESDA
- Modificación de Nijmegen

INMUNOANALISIS / ELISA



- **No** se han **usado** en la **practica diaria**, debido a que clásicamente se han adquirido los métodos de cuantificación coagulométricos de los inhibidores FVIII en hemofilia congénita, que tienen como ventaja cuantificar el título y la actividad de los autoanticuerpos inhibidores coagulación.

- Se han usado a nivel **investigación** básica y detectan anticuerpos no inhibidores y pueden identificar características del inhibidor (subtipos de Ig, especificidad epítopes FVIII mediante immunoblot).

- Los test de ELISA para detección FVIII evaluados tienen:

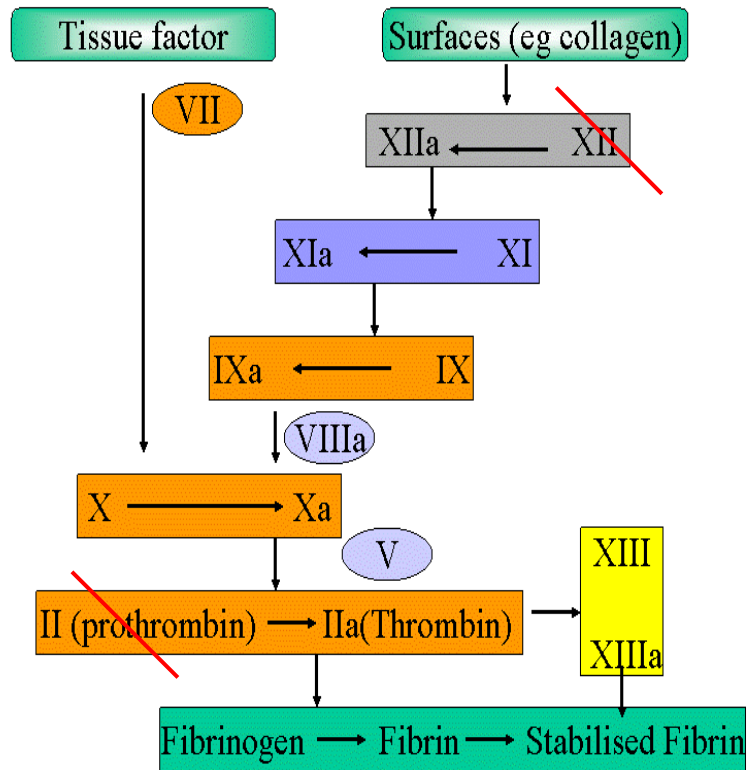
- Sensibilidad/especificidad 100%/ 98% para detección de inhibidores antiFVIII en hemofilia congénita.
- Coeficiente de correlación con test Bethesda de 0,82. No falso positivo con AL.

- Probablemente su **uso futuro** se incrementará en el diagnóstico de inhibidores de la coagulación.



COAGULOPATIAS ADQUIRIDAS AUTOINMUNES.

Land Dwelling Vertebrates



- **Anticuerpos anti Factor XII (otros factores contacto prekalikreina-kininogeno).**
 - Alargamiento TTPA aislado,
 - Se ha descrito como cofactor en SAF.
 - Patología gestacional (abortos, pérdidas fetales..etc...)

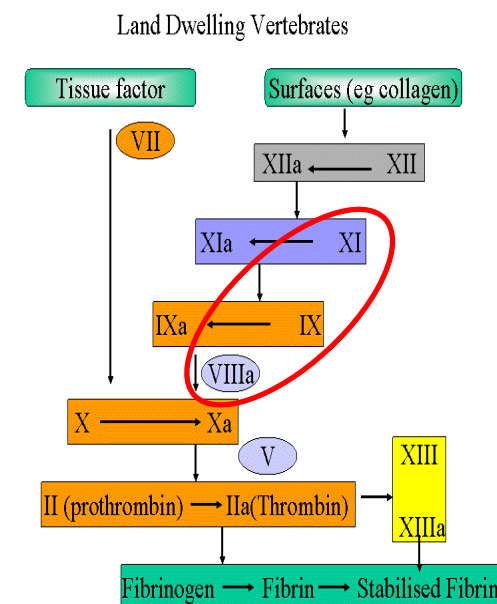
- **Anticuerpos anti Protrombina** no neutralizantes (no hipoprotrombinemia).
 - Alargamiento TTPA/TP/TT.
 - Resistencia adquirida sistema proteina C.
 - Anticofactor SAF fenomeno AL, asociados fosfatidilserina mas correlacion con trombosis.



COAGULOPATIAS ADQUIRIDAS AUTOINMUNES.

	Hem. adquirida A Inh factor VIII	Hem. adquirida B Inh factor IX	Inh factor XI
	Mas frecuente 1-14 casos/millón/año	Infrecuente	Infrecuente
Edad	>60 años, puerperio		Cualquier
Etiologia	50% idiopático, puerperio, E. Autoimmune (AR, LES, Sjogren), neoplasia, dermatosis (pénfigo, psoriasis), fármacos, asma, MGUS, EII, CID.		
Inhibidor	IgG/IgM/IgA	IgG	IgG, IgM
Hemorragia	Grave 60%	Moderada	Leve-mod
TTPA	Alargado >50 seg.	Alargado	Alargado
TP	N	N	N
TT	N	N	N
TR	N	N	N
Bethesda	Si	Si	Si

VIA INTRINSECA





HEMOFILIA ADQUIRIDA A. INHIBIDOR anti FVIII.

Table 2 Comparison of large collections of patients with AHA

Publication/author(s)	Green and Lechner [9]	Delgado <i>et al.</i> , [3]	Collins <i>et al.</i> , [10]	EACH2, 2011
Patients (<i>n</i>)	215	234	172	501
Collection period	Before 1981	1985-2002	2001-2003	2003-2009
Median age [years (IQR)]	ND	64 (8-93)	78 (2-98)	74 (62-80)
Male sex (%)	53	45	43	53
Median FVIII activity [U dL ⁻¹ (IQR)]	ND	2 (0-30)	3 (1.7-7)	2 (1-5)
Median inhibitor titer [BU mL ⁻¹ (IQR)]	ND	10 (0.9-32,000)	13 (4-38)	12.8 (4.3-42.5)

Table 6 Bleeding episodes

	All	Severe	Non-severe	<i>P</i> *
Total no. of bleeding episodes [<i>n</i> (%)]	474	<u>333 (70.3)</u>	137 (28.9)	NA
Cause [<i>n</i> (%)]				
<u>Spontaneous</u>	<u>367 (77.4)</u>	250 (76.0)	113 (83.7)	NS
Trauma	40 (8.4)	33 (10.0)	7 (5.2)	NS
Surgery	39 (8.2)	30 (9.1)	9 (6.7)	NS
Peripartum	17 (3.6)	14 (4.3)	2 (1.5)	NS
Other	13 (2.7)	8 (2.4)	4 (3.0)	NS
Site/type [<i>n</i> (%)]				
<u>Skin</u>	252 (53.2)	152 (46.2)	<u>97 (71.9)</u>	< 0.0001
<u>Deep (musculoskeletal, retroperitoneal)</u>	238 (50.2)	<u>214 (65.0)</u>	21 (15.6)	< 0.0001
<u>Mucosa</u>	<u>150 (31.6)</u>	113 (34.4)	35 (25.9)	<u>NS</u>
<u>Hemarthrosis</u>	<u>23 (4.9)</u>	17 (5.2)	6 (4.4)	NS
Central nervous system	5 (1.1)	5 (1.5)	0 (0)	NS
Bleeding episodes by clinical and laboratory assessments [median (IQR)]				
Median age [years]	74.0 (61.1–80.3)	74.4 (64.1–80)	71.7 (51.8–80.9)	NS
Gender male:female [<i>n</i> (ratio)]	242:222 (1.1)	175:154 (1.14)	67:68 (1.0)	NS
<u>Median FVIII activity [U dL⁻¹]</u>	2 (1–5)	2 (1–5)	2 (0–5)	<u>NS</u>
<u>Median inhibitor titer [BU mL⁻¹]</u>	19 (5.5–64.0)	<u>13 (4.9–40.8)</u>	<u>10 (1.9–32.5)</u>	<u>0.02</u>
<u>Hb [g dL⁻¹]</u>	8.9 (7.3–11.1)	<u>8.5 (7.0–10.0)</u>	<u>11.1 (9.2–12.8)</u>	< 0.0001
Body weight [kg]	69 (60–78)	70 (60–78)	67.5 (60–77)	NS
Time to diagnosis [days]	3 (0–12)	3 (0–11)	2 (0–25)	NS
Bleeding episodes by underlying condition [<i>n</i> (%)]				
None identified	238 (51.3)	170 (51.7)	68 (50.4)	NS
Autoimmune	61 (13.1)	40 (12.2)	21 (15.6)	NS
Malignancy	57 (12.3)	44 (13.4)	13 (9.6)	NS
Postpartum	41 (8.8)	25 (7.6)	16 (11.9)	NS
Drug exposure	17 (3.7)	11 (3.3)	6 (4.4)	NS
Infections	19 (4.1)	11 (3.3)	8 (5.9)	NS

Table 5 Underlying disorders

Disorder	No. of patients (%)	
	Of total	Of subgroup
<u>Idiopathic</u> (no underlying disorder reported)	260 (51.9)	
<u>Malignancy</u>	59 (11.8)	
Solid tumors		40 (67.8)
Hematologic neoplasia		19 (32.2)
Treatment of malignancy		
Not treated		27 (45.8)
Treated		32 (54.2)
Chemotherapy		17 (28.8)
Radiotherapy		15 (25.4)
Immunotherapy		4 (6.8)
Surgery		3 (5.1)
Response to cancer treatment		
Remission		15 (46.9)
Partial remission		8 (25.0)
Progression		2 (6.3)
<u>Autoimmune diseases</u>	58 (11.6)	
Rheumatoid arthritis		20 (34.5)
Other connective tissue diseases		8 (13.8)
Systemic lupus erythematosus		5 (8.6)
Autoimmune thyroiditis		4 (6.9)
Sjögren syndrome		3 (5.2)
Antiphospholipid syndrome		2 (3.4)
Other autoimmune disorders		19 (32.8)
Pregnancy	42 (8.4)	
<u>Infections</u>	19 (3.8)	
<u>Drug induced</u>	17 (3.4)	
Beta-lactam antibiotics		4 (23.5)
Clopidogrel		3 (17.6)
Non-beta-lactam antibiotics		2 (11.8)
Interferon		2 (11.8)
NSAID		2 (11.8)
Amiodarone		1 (5.9)
Rivastigmin		1 (5.9)
Sunitinib		1 (5.9)
Heparin		1 (5.9)
MGUS	13 (2.6)	
<u>Polymyalgia rheumatica</u>	11 (2.2)	
<u>Dermatology</u>	7 (1.4)	
Psoriasis		3 (42.9)
Pemphigus		3 (42.9)
Other		1 (14.3)

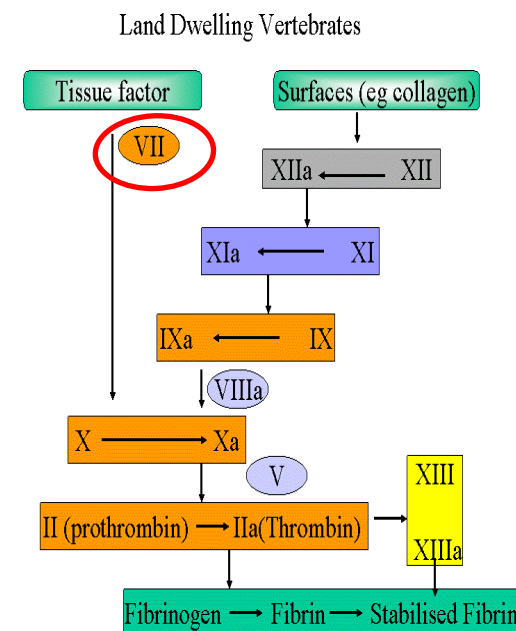
COAGULOPATIAS ADQUIRIDAS AUTOINMUNES.



Inhibidor factor VII

	Infrecuente
Edad	No relación.
Etiologia	Linfoma folicular CD10+, Uso de timoglobulina (aplasia medular) Sepsis, HIV, pancreatitis, farmacos (betalactamicos)
Inhibidor	IgG
Hemorragia	Grave.
TTPA	N
TP	Alargado
TT	N
TR	N
Bethesda	Si

VIA EXTRINSECA

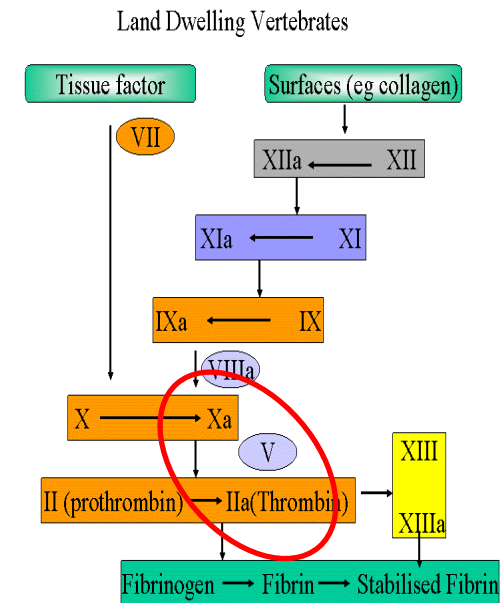


COAGULOPATIAS ADQUIRIDAS AUTOINMUNES.



	Inh factor II-IIa (protr/trombina)	Inh factor V	Inh factor X
	Infrecuentes.	Infrecuente	Excepcional
Edad	>60 años	Cualquier	
Etiologia	Exposición trombina bovina (fibrin blue) durante cirugía. (El 30% pacientes desarrollan anti factor IIa + anti factor V) EA (CBP, tiroiditis), MGUS , neoplasia		Idiopático Amiloidosis (no inhibidor)
Inhibidor	IgG	IgG/IgM/IgA	IgG, IgM
Hemorragia	Grave	Leve	Leve-mod
TTPA	Alargado	Alargado	Alargado
TP	Alargado	Alargado	Alargado
TT	Alargado	N	Alargado
TR	N	N	N
Bethesda	No	Si	Si

VIA COMUN

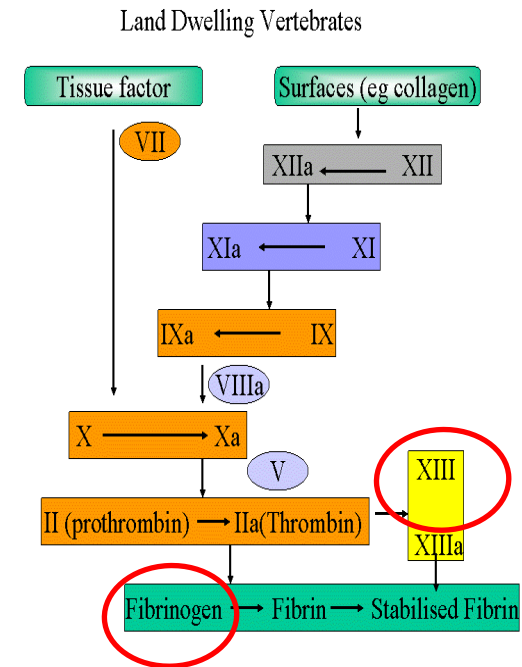


COAGULOPATIAS ADQUIRIDAS AUTOINMUNES.



	Inhibidor Fibrinógeno	Inhibidor factor XIII (estabilizador fibrina)
	Excepcional	Infrecuente
Edad	No relación.	No relación
Etiología	LES, hepatitis autoinmune, colitis ulcerosa, Mieloma	E Autoinmunes Fármacos (IZ, PNC, procainamida) Leucemia
Inhibidor	IgG impide paso a fibrina e inhibe su agregación.	Ig G. Inhibe activación F XIII por trombina, inhibe agregación fibrina
Hemorragia	Muy grave.	Muy grave.
TTPA	Alargado	N
TP	Alargado	N
TT	Alargado	N
TR	Alargado	N
		Test estabilidad coagulo alterados
Bethesda	No	Si

VIA COMUN



COAGULOPATIAS ADQUIRIDAS AUTOINMUNES.

Enfermedad de Von Willebrand adquirida.



2º coagulopatía adquirida más frecuente con prevalencia 0,04% población.

Factor vW viaja unido a factor VIII, en forma de multímeros de diferente peso molecular. Adhesión plaquetar a endotelio.

Edad > 60 años.

Etiología Idiopático
Gammopatía monoclonal, sd linfoproliferativo, SLE
Mecanismo no autoinmune en neoplasias, estenosis aortica.

Inhibidor IgG/ Ig M-A

Hemorragia Similar vW congénito. Hemorragias leves-moderadas.
Epistaxis, gingivorragia, hemorragia cutáneas, anemia crónica.

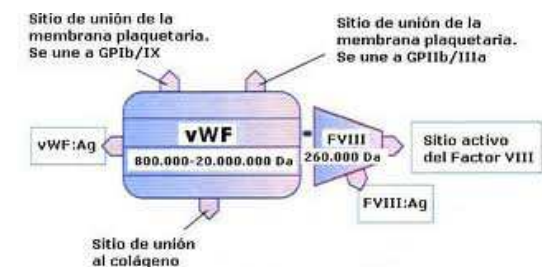
TTPA Alargado o N.

TP N

TT N

Clave diagnóstico F VIII disminuido + alargamientos tiempo agregación plaquetar (FvW:Rco o cofactor de la ristocetina) + F. vW:Ag disminuido

Inhibidor Test mezclas patológico solo 10%. ELISA anti - FvW no rutina.





- **SOSPECHA DIAGNOSTICA COAGULOPATIAS ADQUIRIDAS AUTOINMUNES.**
 - Diátesis hemorrágica inesperada, espontanea y en muchas ocasiones grave sin causa aparente con alteración pruebas coagulación, en el contexto de paciente con probable enfermedad autoinmune/neoplasica de base.

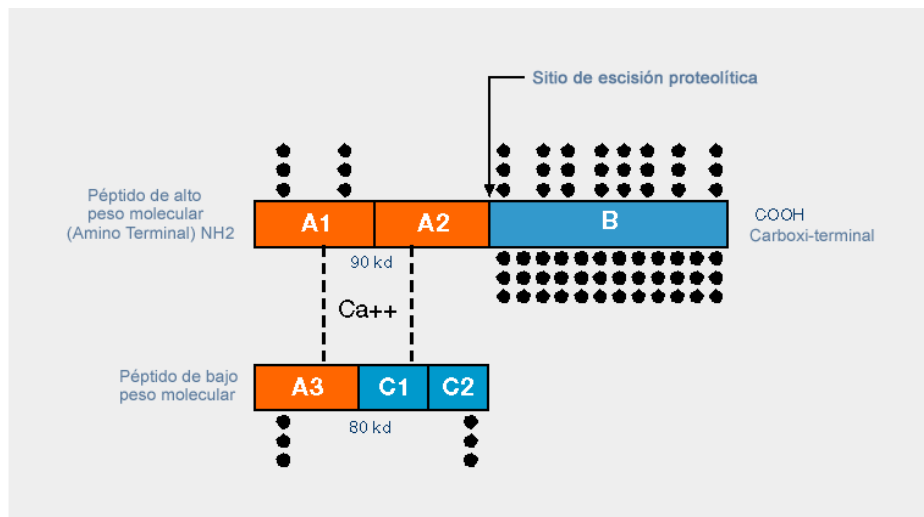


HEMOFILIA ADQUIRIDA. INHIBIDOR anti FVIII.

-CARACTERISTICAS, MECANISMO de acción y ORIGEN

1) ANTI FVIII NATURALES.

-Presentes en 15% sujetos normales , sin actividad clínica, inhibidos por anticuerpos anti-idiotipo, y con unión al dominio A3.



Healthy Subjects Produce both Anti-Factor VIII and Specific Anti-Idiotypic Antibodies

Jean Guy Gilles and Jean-Marie R. Saint-Remy
Allergy and Clinical Immunology Unit, Institute of Cellular and Molecular Pathology, Université Catholique de Louvain, 1200 Brussels, Belgium

Clin. exp. Immunol. (1988) **74**, 311-316

FVIII

Anti-idiotypes against autoantibodies and alloantibodies to VIII:C (anti-haemophilic factor) are present in therapeutic polyspecific normal immunoglobulins

FRANCOISE ROSSI, YVETTE SULTAN* & M. D. KAZATCHKINE INSERM U28, Hôpital Broussais and *Laboratoire d'Hémostase, Hôpital Cochin, Paris, France.



HEMOFILIA ADQUIRIDA. INHIBIDOR anti FVIII. -CARACTERISTICAS, MECANISMO de acción y ORIGEN

2) ALOANTICUERPOS.

- Anticuerpos secundarios a la infusión de factor de coagulación recombinante en pacientes con HEMOFILIA CONGENITA.
- Aparecen el primer mes tras el inicio del tratamiento sustitutivo, y el 30% de los hemofílicos los presentan.
- El riesgo de aparición de aloanticuerpos se incrementa a: mayor gravedad de la hemofilia congénita y presencia de inversión en el intrón 22. No existen diferencias entre los productos recombinantes y derivados plasmáticos.
- Suelen actuar sobre VARIOS dominios epitópicos del FVIII (A2 + C2)
- Los inhibidores en hemofílicos, la cinética es de TIPO 1 o primer orden, por lo que un exceso de factor VIII puede neutralizar del todo los anticuerpos.
- No existe remisión espontánea de los mismos
- La presencia del inhibidor implica una disminución en la eficacia de las infusiones periódicas de FVIII, y que en algunos casos deben suspenderse. En ningún caso se presenta el patrón de hemorragia espontánea y severa de la HA.

HEMOFILIA ADQUIRIDA. INHIBIDOR anti FVIII.

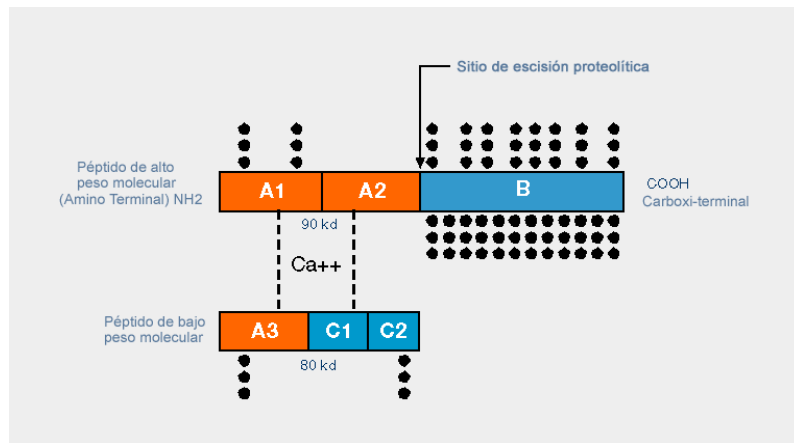
-CARACTERISTICAS, MECANISMO de acción y ORIGEN

3) AUTOANTICUERPO o INHIBIDOR espontaneo.

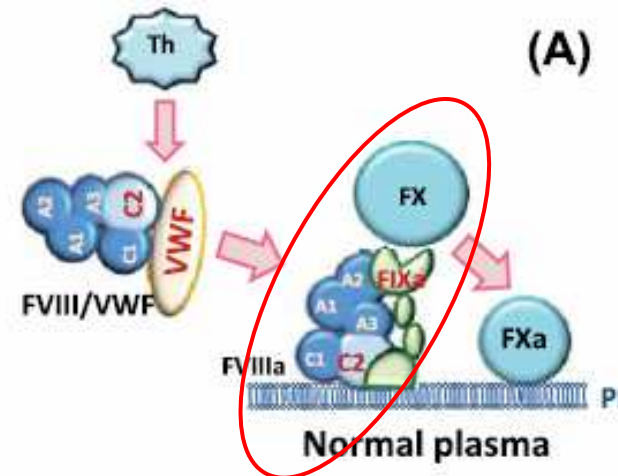
-Ac Inmunoglobulina no precipitante, no fija complemento (no provoca daño tisular), tipo Ig G (Ig G1 y Ig G4) . También IgM o IgA de manera esporadica.

- Suelen actuar sobre UN SOLO dominio, predominantemente C2, menos frecuente A2.

-Anti A2 bloquean la formación del complejo Tenase FIXa-FVIIIa-FX. Anti C2 bloquean la unión a fosfolípidos de plaquetas.



FVIII



Tenase complex
(FVIIIa unido a PL, FIXa, FX)

HEMOFILIA ADQUIRIDA. INHIBIDOR anti FVIII.

-CARACTERISTICAS, MECANISMO de acción y ORIGEN



- Los autoanticuerpos o inhibidores espontáneos contra FVIII en HA tienen una cinética tipo 2 predominante sobre la tipo 1.
- Esta cinética no lineal tipo 2 dificulta la medida del nivel inhibidor por el test de Bethesda, con tendencia a la infraestimación del mismo. Estos pacientes tendrán siempre remanente nivel FVIII >1.

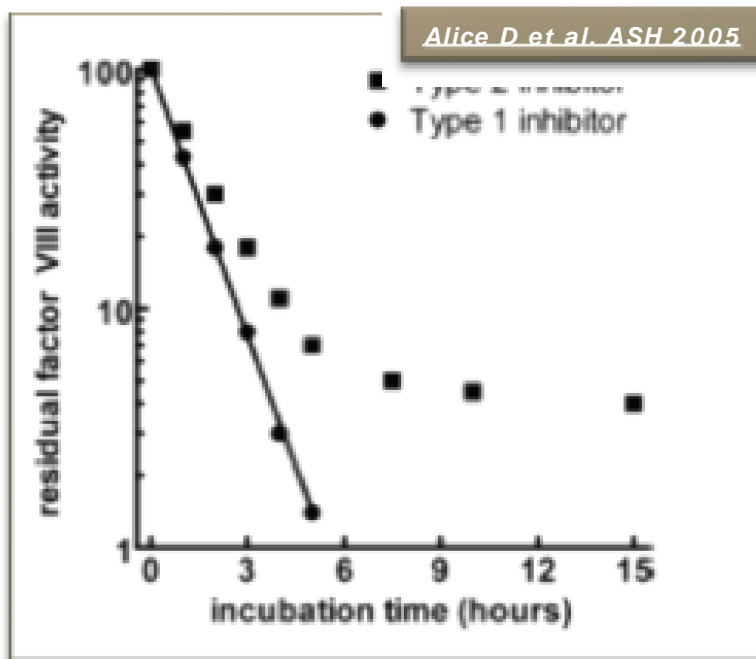


Table 1: Properties of plasma samples and anti-C2 autoAbs obtained from AHA patients.

Case	FVIII:C (IU/dl)	FVIII:Ag (IU/dl)	Inhibitor (BU/ml)	Kinetic pattern	Recognition	
					Coagulant factor	Epi-tope*
1	<0.2	1.0	30.7	type 1	FVIII	C2
2	<0.2	<1.0	1,100	type 1	FVIII	C2
3	<0.2	<1.0	48.8	type 1	FVIII	C2,(A2)
4	<0.2	<1.0	110	type 1	FVIII	C2
5	<0.2	11.1	32.7	type 1	FVIII	C2,(A2)
6	<0.2	<1.0	135	type 1	FVIII	C2
7	<0.2	6.5	33.1	type 1	FVIII	C2
8	<0.2	<1.0	65.3	type 1	FVIII	C2
9	<0.2	11.2	36.8	type 1	FVIII	C2
10	1.1	1.0	8.2	type 2	FVIII	C2
11	1.2	1.0	33.0	type 2	FVIII	C2
12	1.2	29.0	7.9	type 2	FVIII	C2
13	1.4	1.0	860	type 2	FVIII	C2,(A2)
14	1.5	2.8	300	type 2	FVIII	C2
15	6.4	14.1	1.2	type 2	FVIII	C2
16	1.0	10.0	31.7	type 2	FVIII	C2
17	3.2	2.4	10.6	type 2	FVIII	C2

Type 1 or Type 2 antibodies inhibit FVIII:C either completely or incompletely at saturating concentrations. *: Cases 3, 5, and 13 reacted very faintly with the A2 domain.



HEMOFILIA ADQUIRIDA. INHIBIDOR anti FVIII.

Desconocemos las variables que explicarian la existencia de un grupo de pacientes HA con hemorragia GRAVE (70%) respecto aquellos con hemorragias leves (30%)

1) El título de inhibidor en EACH2 es ligeramente superior en pacientes con hemorragia más grave al límite de significación estadística ($P=0,02$) pero el resto de estudios no ven diferencias (Collins et al, 2007, Delgado et al, 2003).

2) Los niveles de FVIII son similares.

3) Las enfermedades de base son similares.

HEMOFILIA ADQUIRIDA. INHIBIDOR anti FVIII.

Thrombin generation in patients with acquired haemophilia and clinical bleeding risk

© 2011 Blackwell Publishing Ltd, *British Journal of Haematology*, 153, 129–143

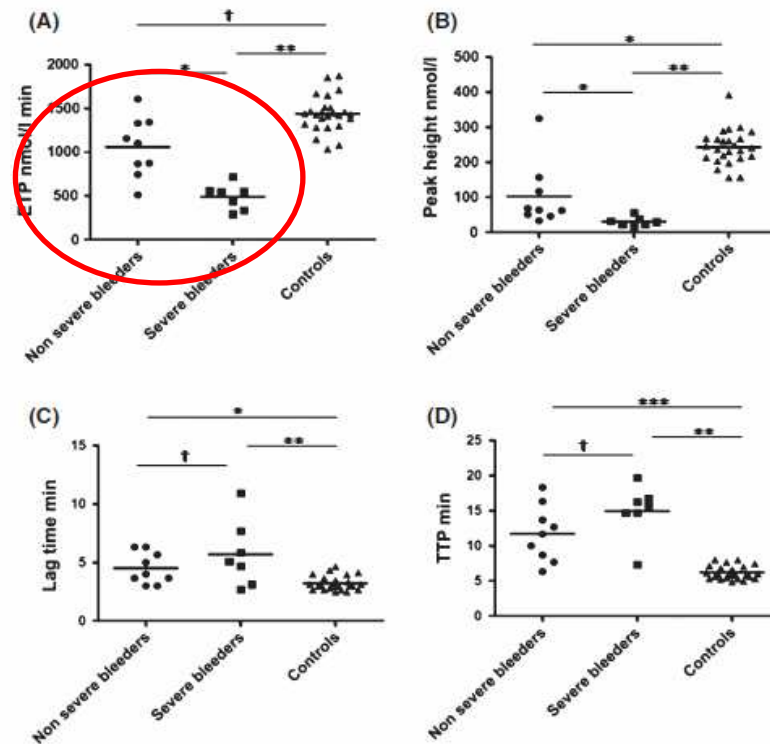


Fig 1. Discrimination between severe bleeders, non-severe bleeders and controls at a tissue factor concentration of 5 pmol/l. Thrombin generation test parameters shown are endogenous thrombin potential (ETP; A), peak height (B), lag time (C) and time to peak (TTP; D). †Not significant, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.005$.

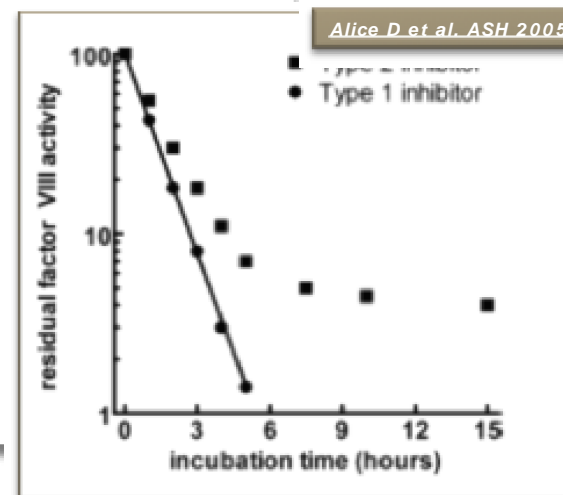
- Los pacientes con hemorragias MAS GRAVES sintetizan MENOS TROMBINA, aunque con la misma velocidad de síntesis.

HEMOFILIA ADQUIRIDA. INHIBIDOR anti FVIII.

- “Los pacientes con HA con hemorragias MAS GRAVES sintetizan MENOS TROMBINA”
- Determinar por metodos coagulometricos la sintesis de trombina en el debut clinico de los pacientes con HA constituiria un FACTOR PREDICTIVO de la evolucion del cuadro hemorragico.



~~CAUSA? Titulo inhibidor /
Concentracion-actividad FVIII~~



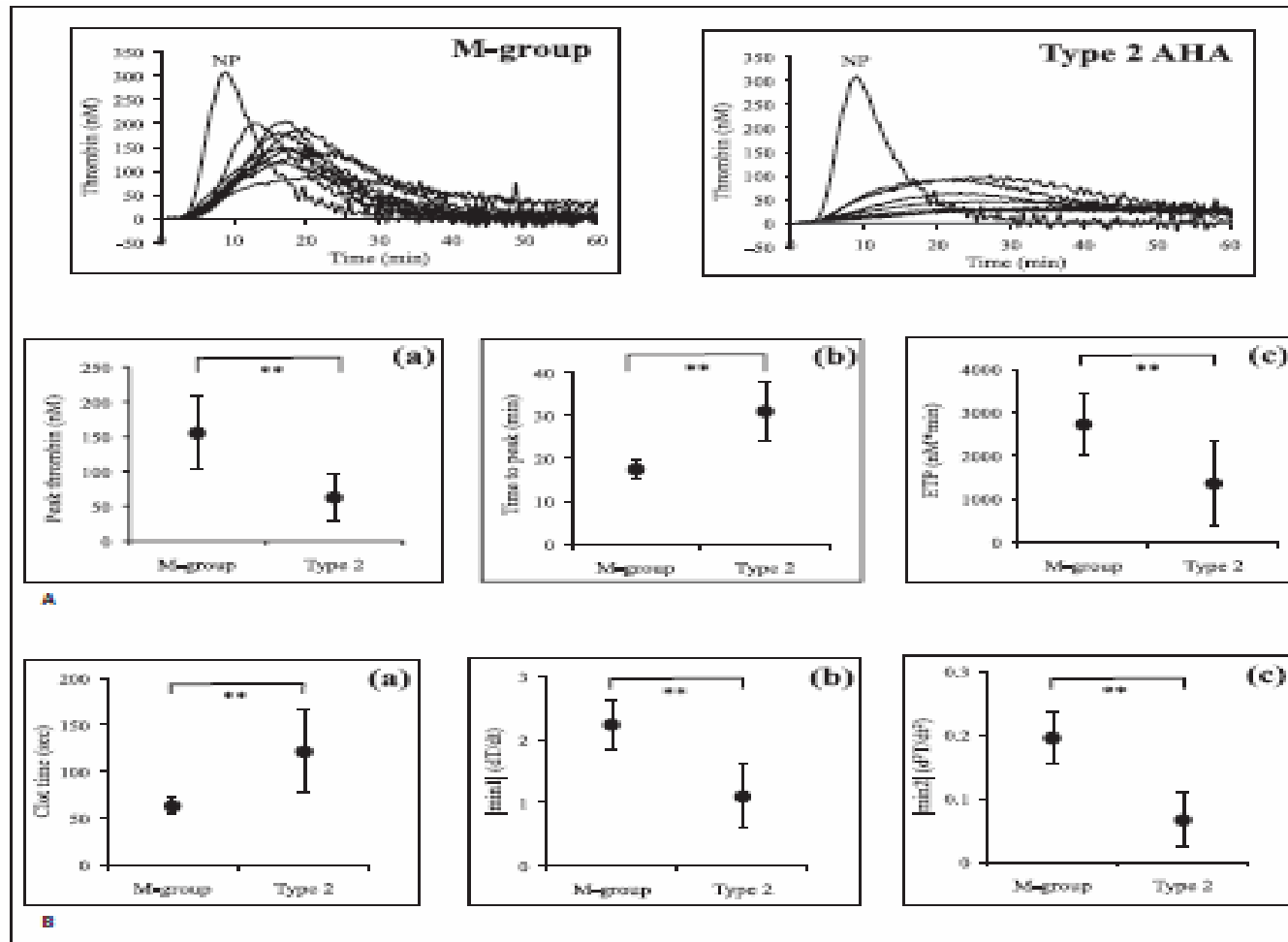
**CARACTERISTICAS
INTRINSECAS**



A putative inhibitory mechanism in the tenase complex responsible for loss of coagulation function in acquired haemophilia A patients with anti-C2 autoantibodies

Tomoko Matsumoto; Keiji Nogami; Kenichi Ogiwara; Midori Shima
 Department of Pediatrics, Nara Medical University, Kashihara, Japan

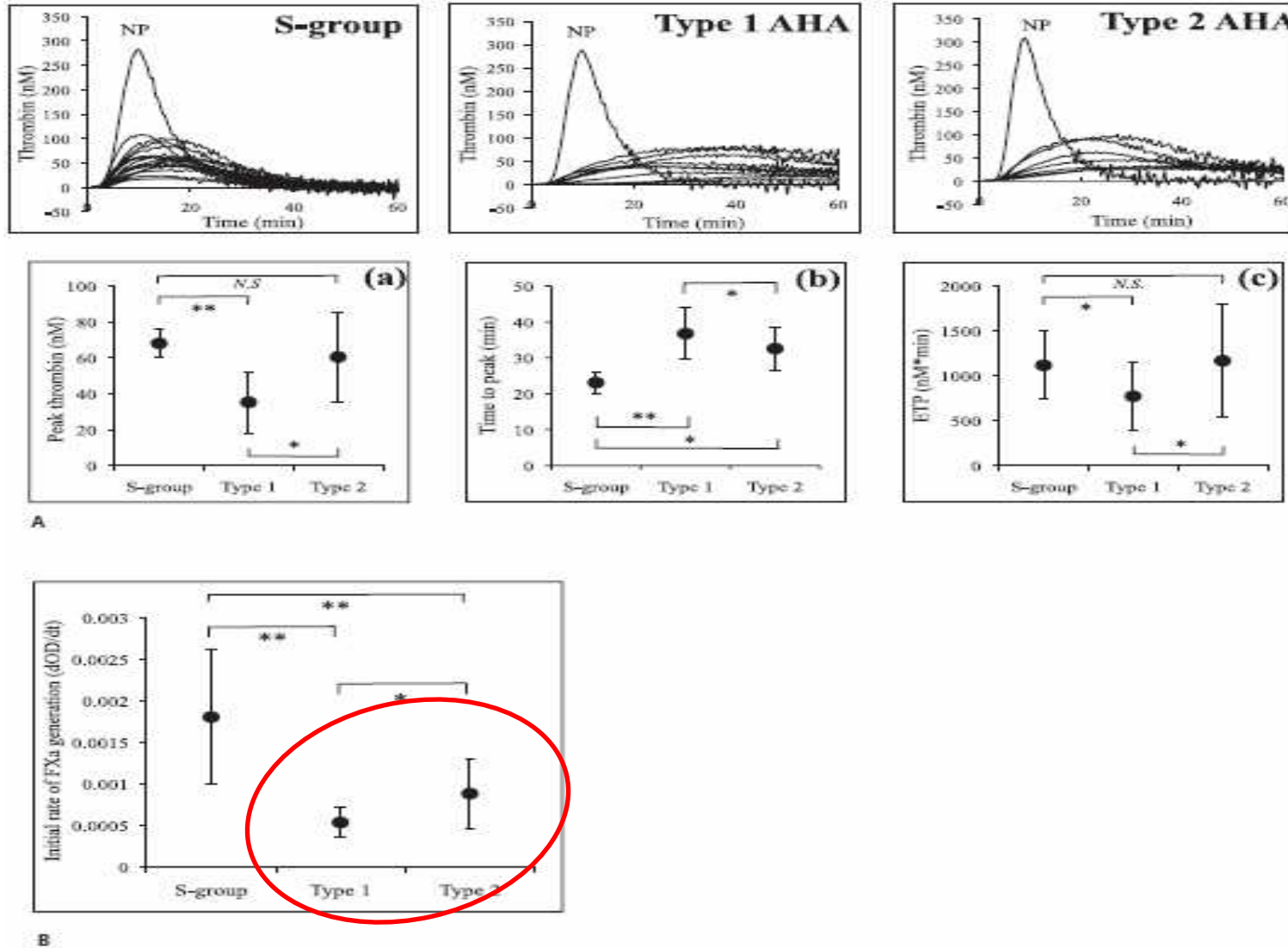
- Pacientes con Hemofilia Congenita Severa/ Moderada y pacientes con HA de los que se obtuvieron los antiC2 con cinética tipo 1 y cinetica tipo 2.





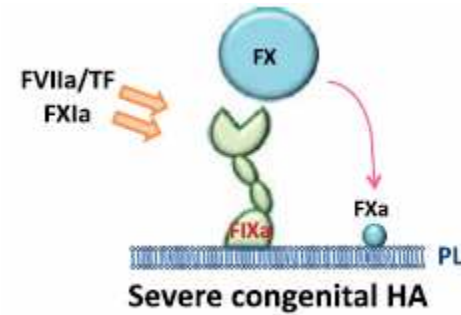
A putative inhibitory mechanism in the tenase complex responsible for loss of coagulation function in acquired haemophilia A patients with anti-C2 autoantibodies

Tomoko Matsumoto; Keiji Nogami; Kenichi Ogiwara; Midori Shima
Department of Pediatrics, Nara Medical University, Kashihara, Japan

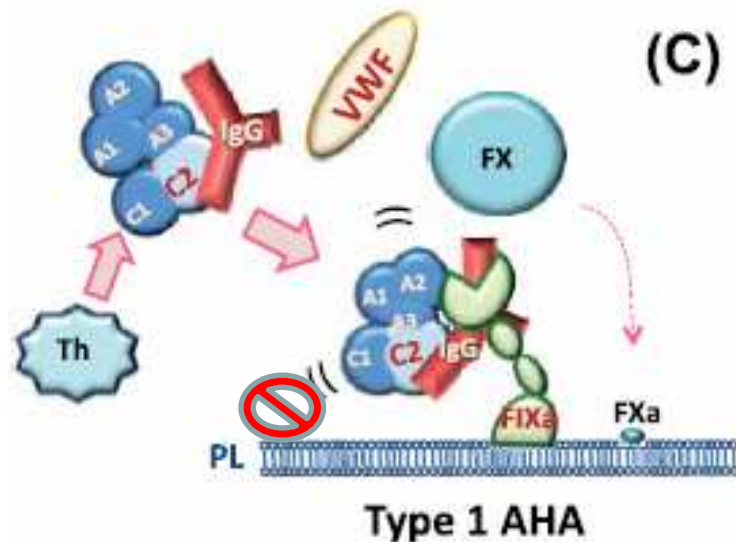


- Los niveles de **factor Xa y trombina** creada son mayores en los pacientes con Hemofilia Congenita respecto pacientes con Hadquirida (explica mayor gravedad hemorragias en forma adquirida)

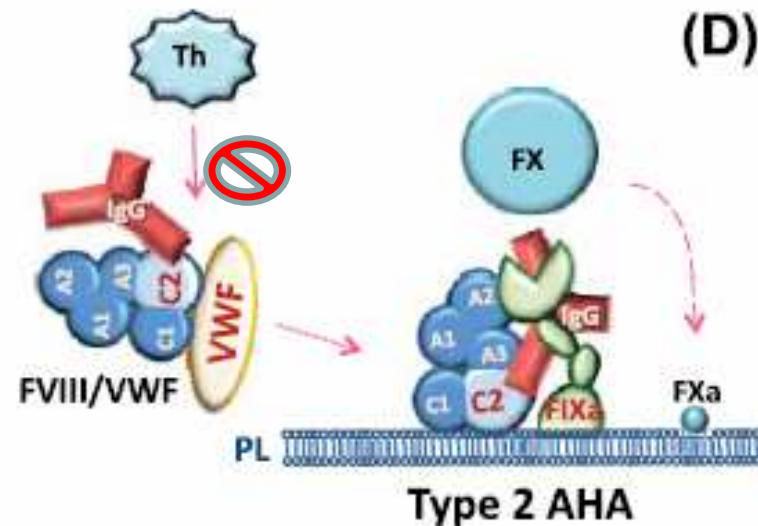
- El mecanismo por el que se reduce la produccion de Xa y trombina en H adquirida pasa por la inhibicion del complejo TENASE que varia según la cinetica del inhibidor:



1- Inhibicion UNION FVIIIactivado a PL



2- Inhibicion ACTIVACION FVIII por la Th (Trombina).



HEMOFILIA ADQUIRIDA. INHIBIDOR anti FVIII.

- La expresion clínica de la HA dependerá de la capacidad de síntesis de trombina, característica probablemente relativa a la cinetica de los inhibidores, y por lo tanto a sus características intrinsecas.
- Esta en marcha un estudio estatal de “Caracterizacion de los inhibidores en pacientes con diagnostico de hemofilia adquirida” dirigido por Dr. Pascual Marco Unidad Hematologia H. Alicante, Presidente SETH.