

El laboratorio de hemostasia en la era de los anticoagulantes orales directos (DOACs)

The hemostasis laboratory in the era of direct oral anticoagulants (DOACs)

¿Debemos monitorear? ¿A quién, cómo y cuándo? Elección del reactivo adecuado

Should we monitor? Whom? How? When?
The election of the right test

Scazziota A

*Universidad de Buenos Aires. Facultad de Farmacia y Bioquímica.
Departamento de Bioquímica Clínica. Laboratorio de Hemostasia. INFIBIOC.*

ascazziota@gmail.com



CURSO
PRE CONGRESO

HEMATOLOGÍA
Volumen 20 • Número Extraordinario
XII Congreso del Grupo CAHT: 22-30
Septiembre 2016

Palabras clave: DOAC,
tratamiento anticoagulante,
control de laboratorio.

Keywords: DOAC,
anticoagulant therapy,
laboratory testing.

El advenimiento de los anticoagulantes orales directos (DOACs) como una nueva opción terapéutica entre las distintas ofertas del tratamiento antitrombótico, ha generado diversas reacciones, tanto en la comunidad médica como entre los mismos pacientes que, a través de las distintas vías de información, no están ajenos a los avances de las ciencias médicas. En cuanto a la oferta de estos nuevos anticoagulantes, la conducta del médico, dependiendo de la especialidad a la que se dedique, oscila en general, entre los más entusiastas que lo recetan a todo paciente susceptible de recibirlo, y los más prudentes o conservadores que se sienten mejor con el medicamento que conocen bien y que están acostumbrados a recetar. La posición intermedia es generalmente la del hematólogo, que con su experticia puede considerar la eficacia, seguridad y efectos secundarios, además de evaluar qué paciente se verá beneficiado y cuál

no, con los nuevos anticoagulantes, teniendo en cuenta además el precio, en relación con las expectativas terapéuticas y en función de la posibilidad de sus pacientes para adquirirlos.

En este escenario complejo, el laboratorio de hemostasia debe cumplir una función importante frente a un nuevo desafío: poner a punto pruebas de laboratorio que permitan evaluar a los DOACs con el fin de brindar información que sea de utilidad en el tratamiento del paciente, especialmente en los casos de emergencia.

En verdad los DOACs han sido protagonistas de un fenómeno terapéutico pocas veces visto, ya que, en pocos años, muchos estudios clínicos que involucran decenas de miles de pacientes, han ratificado que los anticoagulantes orales por inhibición directa de la trombina (dabigatrán) o del factor xa (rivaroxabán, apixabán y edoxabán) son, al menos tan efica-

ces como los anticoagulantes orales anti vitamina K (AVK) en el tratamiento y prevención de la enfermedad tromboembólica venosa y en la prevención de eventos tromboembólicos que pueden complicar la fibrilación auricular (FA) crónica, además de tener menor riesgo de complicaciones hemorrágicas fatales, sobre todo cerebrales.

Tradicionalmente se necesitan varios años, desde la fase de investigación y creación de un medicamento, hasta llegar a su uso y generalización terapéutica. Claro ejemplo de ello es la heparina, descubierta en 1916 cuyo uso se popularizó hacia 1938; las heparinas de bajo peso molecular (HBPM), con las que pasaron 9 años entre la primera investigación y su aceptación en 1985; lo mismo ocurrió con los AVK que se descubrieron en 1941 y su aplicación clínica se difundió 15 años más tarde. Tanto los AVK como las heparinas constituyen una terapéutica muy eficaz para tratar y prevenir enfermedades tromboembólicas, y cuentan con la contribución de las pruebas bioquímicas para el control anticoagulante y el correspondiente ajuste de la dosis que cada paciente requiere. En cambio los DOACs se popularizaron en poco tiempo, ya que transcurrieron sólo unos 5 años desde su desarrollo molecular hasta su uso clínico y aún no hay pruebas de laboratorio lo suficientemente sensibles y seguras para evaluarlos.

Haciendo un poco de historia...

Los AVK, se comenzaron a usar en la prevención de recurrencia de infarto agudo de miocardio mucho antes de que se describiera, en 1978, su mecanismo de acción basado en la inhibición del complejo enzimático epóxido reductasa de la vitamina K. Del mismo modo, la heparina, aislada por Howell a partir de extractos hepáticos, comenzó a usarse antes de que se conociera su mecanismo de acción inhibitorio indirecto sobre las proteasas de la coagulación como la trombina y el factor Xa (FXa). Más tarde, las HBPM, obtenidas por degradación enzimática de la heparina regular, se introdujeron en la práctica clínica, con el beneficio de su actividad fundamentalmente anti FXa, menor unión a proteínas, efecto anticoagulante más predecible y vida media más larga. Hasta que en 2002 se obtuvo, mediante síntesis química, el fondaparinux, pentasacárido específico de la heparina, con mayor vida media que ésta, y 100% de biodisponibilidad. En resumen, hasta hace unos 15 años, el tratamiento anticoagulante se limi-

taba a las heparinas y sus derivados para lograr un efecto rápido por vía parenteral, y a los AVK para el tratamiento por vía oral a largo plazo.

Los AVK tienen varias limitaciones: lento comienzo de acción, farmacodinamia y farmacocinética muy variables, lo que impide la administración en dosis fijas, y produce grandes variaciones en la respuesta paciente-paciente, interaccionan con medicamentos y alimentos, y necesitan control de laboratorio frecuente, con una estrecha ventana terapéutica. Con respecto al control bioquímico, la estimación del estado anticoagulante del paciente se consigue mediante el tiempo de protrombina expresado en INR (Razón Internacional Normatizada) que permite armonizar los resultados de distintos laboratorios aunque empleen distintos reactivos. En verdad, el monitoreo de los AVK, que es considerado una desventaja dado que el paciente tiene que concurrir periódicamente al control médico, se ha transformado en una herramienta muy útil para un seguimiento general más cuidado del paciente. Los AVK cuentan con un antídoto, la vitamina K1, que es capaz de revertir, en horas, los efectos de la sobredosis o intoxicación debida a estos anticoagulantes. La heparina, por su lado, tiene una farmacocinética compleja, acción indirecta, frecuentemente se administra por vía parenteral, su respuesta es impredecible, puede causar trombocitopenia y osteopenia. La heparina regular cuenta con el beneficio de poseer un antídoto económico y disponible como es el sulfato de protamina y necesita control de laboratorio que se realiza mediante el APTT. La HBPM se administra en forma subcutánea y se controla con la determinación de la actividad anti FXa. Los rangos terapéuticos dentro de los que se debe mantener a los pacientes, están claramente establecidos para cada uno de estos anticoagulantes.

Desde hace varios años la industria farmacéutica se viene dedicando a la búsqueda de nuevas drogas que superen a los anticoagulantes tradicionales, con el objetivo de hallar fármacos más seguros, de administración oral, dosis fijas, con inicio de acción rápido y prolongado, con efecto predecible (relación lineal dosis respuesta), sin efectos secundarios importantes, ni interacciones con otros medicamentos y metabolismo no relacionado con variantes de genotipos del citocromo P450, sin necesidad de control periódico, con disponibilidad de un antídoto y adecuada relación costo beneficio. La produc-

ción de este anticoagulante ideal intenta mejorar los puntos débiles de los anticoagulantes tradicionales, con fármacos que inhiban enzimas específicas de la coagulación. Así surgen DOACs que inhiben, ya sea a la trombina como el dabigatrán, o al FXa como el rivaroxabán, el apixabán, el edoxabán, entre otros xabanos, cuya eficacia y seguridad se ha comparado con los AVK tradicionales.

Los DOACs comenzaron a emplearse en el año 2008 en Europa, cuando fueron aprobados para su uso en prevención primaria de tromboembolismo venoso en cirugía de reemplazo total de cadera o de rodilla. Dos años después fueron aprobados en Estados Unidos para la prevención de accidentes cerebrovasculares (ACV) en pacientes con fibrilación auricular no valvular y, últimamente, para tratamiento y prevención secundaria de enfermedad tromboembólica venosa. En todos los casos demostraron ser tan efectivos como los AVK, pero con menor incidencia de hemorragia intracranial, si bien el sangrado gastrointestinal se incrementó en algunos casos.

El dabigatrán tiene la ventaja de inhibir tanto a la trombina libre y como a la unida al coágulo. Se administra como etexilato de dabigatrán, un profármaco que se absorbe por vía digestiva en medio ácido y se transforma en la forma activa (dabigatrán) por acción de esterasas a nivel portal y en hígado. Tiene una vida media de 8 hs, por lo que se administra en dos dosis diarias y, debido a su baja biodisponibilidad (6%), se necesitan altas dosis para lograr concentraciones adecuadas en el plasma. Se excreta en un 80% por vía renal, por lo que está contraindicado en las nefropatías. En individuos con función renal conservada la vida media es de 12 a 14 hs, y el pico de actividad es a las 2-3 hs después de la ingesta de la droga. En pacientes con FA que reciben 150 mg dos veces por día, el rango de concentraciones alcanzadas en el pico y en el valle, (percentilo 5-95) varían entre 60 y 440 ng/mL (mediana 184) y entre 30 y 220 ng/mL (mediana 90) respectivamente.

El rivaroxabán y el apixabán, que son los xabanos que se comercializan actualmente en nuestro país, inhiben en forma reversible y competitiva al FXa libre y al que está unido a la protrombinasa. Ambos tienen buena biodisponibilidad (80% y 66% respectivamente) y una vida media entre 7 y 12 hs. Se metabolizan por las enzimas del CYP3A4 en el hígado, por lo que están contraindicados en afecciones hepáticas severas y además tienen cierta interacción

con drogas que comparten la misma vía metabólica. La depuración renal es de 60% para el rivaroxabán y 25% para el apixabán, el primero se administra una vez al día, mientras que el apixabán tiene una frecuencia de dos dosis diarias. El apixabán tiene la ventaja de su menor dependencia de la depuración renal, porque podría tener otras rutas de metabolización.

Estas drogas salieron al mercado para ser empleadas sin necesidad de monitoreo de laboratorio y para ser administradas, según la patología, en una misma dosis a todos los pacientes. Sin embargo, en varias circunstancias es necesario conocer el grado de anticoagulación alcanzado por el paciente medicado con los DOACs.

Podemos enumerar algunas situaciones donde sería conveniente conocer la concentración de la droga en sangre:

- Antes de iniciar el tratamiento, para excluir posibles síndromes hemorrágicos subclínicos previos, y para asegurarse de que la prueba que se va a usar para medir el efecto de la droga sea normal en condiciones basales. Además se aconseja realizar una prueba de depuración de creatinina al inicio y a intervalos regulares durante el tratamiento, ya que la función renal puede deteriorarse rápidamente, más aún en ancianos. Se debe tener en cuenta que una insuficiencia renal moderada también puede llevar a acumulación de la droga, aumentando la tendencia hemorrágica.
- Ante una cirugía de emergencia u otro procedimiento invasivo, es útil conocer el estado anticoagulante del paciente, ya que con sólo suspender el anticoagulante antes de realizar el procedimiento, o dependiendo de los niveles plasmáticos de la droga, retrasando el procedimiento en el tiempo, el efecto del DOAC puede desaparecer rápidamente. Pero los que tengan alteraciones en la metabolización del DOAC, ya sea por disfunción renal o hepática, deberán esperar más hasta la depuración del anticoagulante, evitando en lo posible el uso de antídotos para revertir el efecto.
- Frente a eventos adversos durante el tratamiento, como puede ser una hemorragia o una trombo-sis, deben testarse los niveles en sangre, para descartar hipo o hiper anticoagulación (posible intoxicación con la droga). En caso de hemorra-

gia intracraneal, para decidir revertir inmediatamente la anticoagulación.

- Cuando se llega a una anticoagulación estable (a la semana o dos de iniciado el tratamiento) para determinar el nivel de anticoagulación alcanzado por cada paciente.
- Para determinar adherencia al tratamiento, si bien la vida media corta de los DOACs, no permite detectar si hubo omisiones de dosis días atrás.
- Para ajustar la dosis en pacientes con pesos extremos.
- Para evaluar interacciones medicamentosas, si una nueva droga que se suma al tratamiento, interfiere en el metabolismo del DOAC.

El tratamiento anticoagulante modifica el equilibrio entre la hemorragia y la trombosis a favor de un estado pro hemorrágico, de esta manera la droga logra efectividad antitrombótica; para que, además de efectivo, el tratamiento sea seguro, no debe provocar hemorragias, y eso se logra con un seguimiento del paciente mediante parámetros que reflejen su estado hemostático. De todas maneras, no se debe interpretar a los DOACs como a los AVK, dado que no requieren monitoreo periódico, sólo en situaciones especiales.

Afortunadamente en nuestro país el seguimiento de la anticoagulación con AVK es realizado generalmente por hematólogos, que controlan los niveles de anticoagulación de acuerdo con resultados validados por laboratorios de hemostasia, que realizan los análisis respetando controles de calidad claramente establecidos. En el caso de los DOACs, el objetivo es diseñar pruebas sensibles, específicas y accesibles que brinden información acerca del grado de anticoagulación de los pacientes en las situaciones clínicas que así lo requieran, así como seleccionar pruebas que aseguren un rastreo rápido en situaciones de emergencia.

Pruebas de laboratorio

En ausencia de análisis específicos aprobados por la FDA para medir la concentración de los DOACs, los laboratorios han desarrollado análisis para evaluar el efecto anticoagulante en los distintos pacientes en tratamiento. Sin embargo, son pocos los que pueden ofrecer esta alternativa, que además requiere calibradores y controles específicos. Algunos laboratorios comerciales ofrecen kits para distintos DOACs,

validados en sus propios instrumentos y actualmente están desarrollando un mismo tipo de ensayo que sea sensible a todos los DOACs aprobados y hasta métodos al pie de la cama (*point of care*) para determinar la concentración de estos anticoagulantes en sangre y orina.

Pero ¿cuál es la prueba ideal para evaluar la anticoagulación con los DOACs? Sería aquélla que muestre adecuada linealidad, que sea reproducible y sensible para detectar niveles de DOAC clínicamente relevantes y para cuantificar la droga en un amplio rango de concentraciones. Además debe ser simple de realizar y estar disponible las 24 hs en las unidades de cuidados intensivos. La cromatografía líquida de alto rendimiento acoplada a espectrometría de masa (HPLC-MS/MS) es la única prueba que cumple con las premisas enunciadas pero no es simple ni está disponible en los laboratorios clínicos.

La HPLC-MS/MS es considerada la prueba patrón oro que permite medir con exactitud los niveles de los DOACs en sangre, en un amplio rango de concentraciones que van desde 0.5 hasta 500 ng/mL. La desventaja del método es la no disponibilidad en la mayoría de los laboratorios, debido a su complejidad y a la necesidad de equipamiento especializado. Las concentraciones de los DOACs halladas por este método se emplean para correlacionar con otros métodos propuestos.

Las pruebas de rutina ampliamente disponibles como el tiempo de protrombina (TP) y el tiempo de tromboplastina parcial activado (APTT) no tienen la suficiente sensibilidad y reproducibilidad como para permitir la cuantificación en una amplia gama de niveles del fármaco. La sensibilidad de las mismas depende de la dupla reactivo/coagulómetro, por lo que es difícil la estandarización entre los distintos laboratorios, generando un grave problema para la atención de pacientes en unidades de emergencia, donde las pruebas de rutina no permiten conocer el estado de anticoagulación, ya que un TP o un APTT normal no excluyen la presencia de un efecto residual de cualquiera de los DOACs.

Se debe tener en cuenta que el dabigatrán interfiere en el complejo enzimático de la tenasa intrínseca, inhibiendo la trombina generada en la fase inicial y en la retroalimentación de la fase de amplificación de las reacciones de la teoría celular; por ese motivo se piensa que el APTT es la prueba más afectada en pacientes que toman dabigatrán, así como las

pruebas basadas en generación de trombina y en la conversión de fibrinógeno en fibrina. En cambio el rivaroxabán y el apixabán inhiben la actividad del FXa del complejo protrombinasa en la fase de propagación: como esta enzima forma parte de la vía final común, la actividad de estos xabanos, se refleja mejor en el TP.

¿Cuándo realizar las pruebas?

A diferencia de los AVK que mantienen un estado de anticoagulación constante durante el día, la concentración de los DOACs varía a partir de la toma del fármaco, alcanzando un pico máximo entre las 2 y 4 hs posteriores a la toma y una caída rápida de actividad, ya que la vida media varía entre las 5 y 17 horas. Esto obliga a conocer el tiempo transcurrido entre la última toma y la extracción de sangre para poder interpretar los resultados de laboratorio. Lo que llamaremos “pico de actividad” corresponde a las 2 hs después de la toma del DOAC. Al hablar de “valle” nos referimos a la concentración del fármaco alcanzada a las 12 horas (para dabigatrán y apixabán, que se administran dos veces al día) o a las 24 hs (para rivaroxabán, que se administra una vez por día).

Pruebas globales para evaluar a los pacientes tratados con dabigatrán

- APTT: es más sensible que el TP ante la presencia de dabigatrán, pero un APTT puede arrojar un resultado normal, aún dentro del rango que se alcanza terapéuticamente. El APTT presenta una relación curvilínea con los niveles de dabigatrán, es lineal a bajas concentraciones, pero pierde sensibilidad y no permite la cuantificación cuando los niveles superan los 200-300 ng/mL. Los reactivos comerciales difieren ampliamente en la sensibilidad al dabigatrán, los menos sensibles requieren una concentración plasmática de 400 ng/mL para prolongar el APTT al doble, mientras que los más sensibles, requieren 200 ng/mL para llegar a esa prolongación del APTT. El consejo es que cada laboratorio determine la sensibilidad de los reactivos y la metodología propia, mediante gráficos dosis-respuesta, confeccionados con calibradores específicos de distintas concentraciones de dabigatrán o con plasmas de pacientes en tratamiento, cuyos niveles de dabigatrán se determinaron previamente con una técnica cuantitativa específica.

- Tiempo de protrombina: es prácticamente insensible a la presencia de dabigatrán, ya que puede dar un resultado normal, aún por encima del rango que se alcanza terapéuticamente.

- Tiempo de trombina (TT): es una prueba demasiado sensible a la presencia de dabigatrán, su prolongación es dependiente de la concentración del DOAC, pero su respuesta es excesiva, de manera que el grado de prolongación no refleja la concentración del fármaco y no permite cuantificarlo. Entre el TT y la concentración plasmática de dabigatrán, se observa una relación lineal dosis-respuesta con una pendiente más pronunciada a medida que disminuye la concentración de la trombina empleada. Los pacientes que reciben 150 mg de dabigatrán dos veces por día, alcanzan una concentración aproximada en plasma de 175 ng/mL, esto sería suficiente para que el TT se prolongue 10 veces el valor basal. Por otro lado niveles bajos de dabigatrán, entre 25 y 150 ng/mL, exceden los límites de detección. Como dato útil, especialmente para el laboratorio de urgencia, se puede afirmar que un TT normal descarta la presencia de niveles de dabigatrán clínicamente relevantes.

Pruebas específicas:

- Inhibición del tiempo de trombina diluido (TTI). Se basa en medir el tiempo de coagulación de una mezcla del plasma del paciente con plasma normal a la que se agrega trombina humana en cantidades óptimas. El dabigatrán inhibe la actividad de trombina, entonces la prolongación del tiempo que tarda en coagular es proporcional a la actividad inhibitoria de la droga. El kit comercial (el más conocido Hemoclot) trae los calibradores de dabigatrán, en caso de no tener acceso a los calibradores se pueden informar los resultados en cocientes paciente/normal, pero debe considerarse que la distinta sensibilidad entre diferentes combinaciones instrumento/reactivo afecta los resultados obtenidos en diferentes laboratorios. La prueba se prolonga en forma lineal ($R^2:0.92-0.98$) a medida que aumenta la concentración de dabigatrán. En el pico de actividad de la droga, se prolonga dos veces el valor basal y el mínimo valor de detección es aproximadamente 50 ng/mL.

El TTI puede implementarse en cualquier coagulómetro y es muy útil en la urgencia. No es sensible para detectar niveles bajos de la droga, y esto se debe tener en cuenta cuando se necesita estar seguro de que no haya nada de la droga presente en el plasma, por ejemplo cuando se necesita realizar un tratamiento con tPA en el ACV agudo o cuando se debe administrar anestesia regional.

- Tiempo de coagulación con ecarin (TCE) o ensayo cromogénico con ecarin (ECE). Utiliza el veneno ecarín que cliva a la protrombina y genera meizotrombina, la inhibición de la meizotrombina inducida por el dabigatrán se mide con pruebas de coagulación (TCE) o con sustratos cromogénicos (ECE). La prolongación del TCE es lineal (R^2 0.92-1.00) y dependiente de la concentración de dabigatrán, se prolonga tres veces el valor basal cuando el nivel plasmático es de 175-200 ng/mL.

La desventaja de estas dos pruebas específicas es la variabilidad en la respuesta, que depende de varios factores: a) de la actividad del lote de ecarin en el TCE o del origen y concentración de la trombina que puede ser bovina o humana en el TTI, y b) del sistema de detección del coágulo o del sustrato cromogénico que también puede introducir variaciones en el sistema.

Otra fuente de variabilidad que explica las diferencias de resultados para el mismo paciente testeado en distintos laboratorios, es la expresión de los resultados que puede ser en segundos o en cociente paciente/normal, para ello se necesitan estudios clínicos que arrojen valores de corte definidos para las distintas pruebas, con el fin de emplearlas para identificar pacientes con alto riesgo de hemorragia. De todos modos, para ser usados universalmente los resultados deben ser comparables en diferentes laboratorios y para ello se deben emplear calibradores específicos, para convertir los tiempos de coagulación o la actividad cromogénica, en concentraciones equivalentes de dabigatrán.

Pruebas globales para evaluar pacientes tratados con rivaroxabán o apixabán:

- Tiempo de protrombina. El TP se prolonga en presencia de niveles terapéuticos de rivaroxabán que se alcanzan en el pico, pero generalmente es

normal en el valle. El apixabán, en cambio, no afecta o puede provocar una mínima prolongación del TP cuando se alcanzan altas concentraciones de la droga. Por lo tanto ambos xabanos afectan de manera diferente al TP y la sensibilidad de la prueba varía con el tipo de tromboplastina empleada; Trinicot y Neoplastin presentan la mejor performance, mientras que el Innovin no tanto.

Cada laboratorio debe evaluar la sensibilidad del TP con la dupla reactivo/coagulómetro local, con respecto a la concentración del DOAC. Para ello se comparan los TP de plasmas de pacientes en tratamiento con rivaroxabán o apixabán con las concentraciones del fármaco medidas con una prueba calibrada de actividad anti FXa, la correlación es lineal en un rango de concentraciones entre 0 y más de 300 ng/mL. Como ejemplo, pacientes que reciben 20 mg/día de rivaroxabán y alcanzan una concentración en plasma de 215 a 300 ng/mL en el pico, prolongan aproximadamente 50 a 130 % el valor basal del TP, mientras que en el valle alcanzan 40-60 ng/mL y aumentan el TP entre 6 a 15%. Por lo expresado podemos decir que un TP normal no descarta la presencia de rivaroxabán ni de apixabán, en el rango de concentraciones alcanzadas terapéuticamente.

Lo mismo que se logró con los AVK mediante la estandarización del TP a través de la expresión de los resultados en INR, se intentó realizar con los DOACs para armonizar los resultados obtenidos en distintos laboratorios. Así se podrían establecer valores de corte específicos para alertar frente al riesgo de hemorragia en pacientes con exceso de anticoagulación.

En ese sentido el Dr. Tripodi muestra, en uno de sus trabajos, que empleando plasmas suplementados con concentraciones crecientes de rivaroxabán y trabajando con 6 tromboplastinas distintas, los resultados de los TP, expresados ya sea en cociente paciente/normal o en INR, presentan valores de CV muy altos debido a la respuesta diferente entre las tromboplastinas, de manera que la expresión de los resultados tanto en cociente P/N, como en INR no disminuye la variabilidad.

Para optimizar el INR se realizó la calibración haciendo el TP con la tromboplastina de trabajo y con una recombinante de referencia, empleando calibradores con distintas concentraciones de

rivaroxabán. Se graficaron los pares en segundos y se obtuvo una relación lineal; la pendiente es el índice de respuesta de cada tromboplastina en relación a la estándar y se lo llama ISI-Riva, que permite convertir los resultados de TP en una nueva escala $INR\ Riva = (TP\ pac/TP\ normal)^{ISI\ riva}$. A mayor pendiente, menor respuesta de la tromboplastina, en este sentido fue mejor Neoplastin plus que Innovin ($ISI\ riva = 1,7$). El INR riva debería calcularse teniendo plasmas de pacientes tratados con rivaroxabán y no con plasma normal suplementado in vivo. De todas formas, la expresión de los resultados en INR prácticamente no se usa para estos DOACs y se prefiere informar en concentración equivalente de rivaroxabán o apixabán.

- APTT. Es poco sensible a los xabanos y depende de la dupla reactivo/coagulómetro, se prolonga poco con rivaroxabán y es insensible a concentraciones menores a 50 ng/mL. La presencia de apixabán prácticamente no prolonga el APTT.

Pruebas específicas:

- Actividad anti-FXa. La concentración plasmática de rivaroxabán o apixabán se puede medir con equipos comerciales basados en el método cromogénico empleando calibradores y controles específicos para cada uno de ellos. La prueba se basa en la capacidad de los xabanos de inhibir la actividad del FXa agregado en exceso al plasma del paciente; la actividad del FXa residual, que es inversamente proporcional a la actividad del fármaco presente en la muestra, se mide sobre un sustrato sintético específico. Los resultados se obtienen en densidad óptica y se transforman en concentración de droga, interpolando en una curva de calibración preparada con plasmas que tienen concentraciones crecientes de rivaroxabán o apixabán o con los calibradores específicos, que permiten medir el nivel plasmático de la droga en un amplio rango de concentraciones. La relación es lineal (R^2 entre 0.95-1) y dependiente de los niveles de la droga en el rango entre 20 y 660 ng/mL. El CV intra e interlaboratorio es aceptable, excepto en los límites de detección más bajos. Las limitaciones de la prueba se fundamentan en la gran variabilidad inter laboratorio observada en un estudio multicéntrico de métodos anti FXa

para rivaroxabán, donde 21 laboratorios usaron el mismo set de plasmas pero cada uno su reactivo local. El CV interlaboratorios resultó del 25%, por lo que no se puede generalizar un único valor de corte para todos los reactivos.

Este método es el mismo que se emplea para determinar la actividad anti FXa de las HBPM, pero éstas tienen menor actividad anti FXa, lo que obliga a emplear calibradores y controles específicos para cada droga. Los calibradores de rivaroxabán y apixabán aún no fueron aprobados por la FDA, son más caros y de difícil acceso comparados con los de HBPM. Nos planteamos la posibilidad de usarlos, en lugar de los calibradores específicos. Para ello comparamos la concentración plasmática de rivaroxabán con la actividad anti-FXa del rivaroxabán medida con los calibradores de HBPM y observamos una correlación lineal entre ambos ($R^2\ 0.92$). Esto permite medir el efecto anticoagulante relativo ya sea de rivaroxabán o apixabán, empleando los calibradores de HBPM y expresar los resultados en IU/mL anti-FXa.

Interpretación de los resultados de las pruebas de laboratorio

Para interpretar correctamente los resultados de las pruebas de laboratorio en los pacientes en tratamiento con DOACs, se debe conocer el tipo de DOAC que está recibiendo, el tiempo transcurrido desde la última dosis, el resto de la medicación que puede interferir con la farmacocinética y farmacodinamia, así como cualquier patología que posea el paciente y que pueda alterar los resultados de las pruebas de coagulación de rutina. De esta manera se pueden evitar interpretaciones equivocadas en los resultados de las pruebas, que pueden llevar a decisiones erróneas en el tratamiento.

Si bien es cierto que los DOACs no necesitan monitoreo de laboratorio, es útil poder medir la concentración del anticoagulante en los casos de sobredosis o acumulación de la droga o para determinar si los niveles plasmáticos pueden ser clínicamente relevantes frente a una cirugía o procedimiento invasivo, o para predecir si hubo reversión del efecto anticoagulante en el caso de tener que emplear un antídoto.

Uno de los mayores inconvenientes que presentan estos anticoagulantes es que aún no hay una defi-

nición acerca de la relación entre la concentración plasmática del anticoagulante, los resultados de las pruebas de coagulación y los eventos clínicos. Las compañías farmacéuticas respectivas no validaron rangos terapéuticos para estas drogas, sólo la FDA y algunos trabajos de la literatura han publicado información sobre la concentración de estos fármacos. Todavía falta establecer los rangos terapéuticos correspondientes a la concentración de la droga en el valle y en el pico de actividad de la misma en los pacientes bajo tratamiento con DOACs, así como las concentraciones plasmáticas asociadas con riesgo de trombosis o de hemorragia.

Otro punto importante a la hora de comparar los resultados obtenidos en distintos laboratorios o aún en los trabajos de la literatura, es que no todos emplean los mismos reactivos ni los mismos equipos, ni las mismas muestras para realizar las curvas de calibración. Con respecto a la calibración, algunos emplean plasmas de voluntarios normales a los que se les agrega in vitro concentraciones conocidas del DOAC, mientras que otros usan los calibradores comerciales. Sin duda la mejor elección es la de los que emplean plasmas de pacientes en tratamiento con el DOAC, cuya concentración se conoce porque ha sido determinada por un método calibrado. Las diferencias en la preparación de estas curvas de calibración son una importante fuente de error a tener en cuenta.

En la era de la farmacogenómica, que intenta hallar fármacos a la medida de cada paciente, adaptados a sus condiciones genéticas y ambientales para lograr mayor eficacia y efectos secundarios mínimos, la industria farmacéutica nos presenta una situación distinta, nuevos anticoagulantes con una opción terapéutica más generalizada. Sin embargo la experiencia clínica de la vida real muestra que no todos los pacientes responden de la misma manera a estos anticoagulantes, ya sea por insuficiencia renal o hepática, interferencias con fármacos, olvido de la toma de alguna dosis, o duplicación involuntaria de la misma, entre otras, que puede poner en riesgo al paciente.

En nuestro país, la sustitución de los AVK por los DOACs no parece que vaya a ser inmediata, ya que millones de pacientes los reciben en forma satisfactoria en muchos lugares del mundo desde hace más de 50 años, sin efectos colaterales serios y con un precio muy accesible. Por otra parte, existen grupos

de pacientes con valvulopatías o reemplazo valvular o con severo daño renal, niños y embarazadas, en los que su uso no está autorizado.

Indudablemente la experiencia que se pueda obtener con el transcurrir del tiempo, permitirá colocar a estas nuevas drogas en su justo lugar.

Declaración de conflictos de interés:

La autora declara que no posee conflictos de interés.

Bibliografía

1. Gosselin RC, Adcock DM. The laboratory's 2015 perspective on direct oral anticoagulant testing. *J Thromb Haemost.* 2016;14:886-93.
2. Douxfils J, Mullier F, Robert S, Chatelain C, Chatelain B, Dogné JM. Impact of dabigatrán on a large panel of routine or specific coagulation assays. Laboratory recommendations for monitoring of dabigatrán etexilate. *Thromb Haemost.* 2012;107:985-97.
3. Testa S, Tripodi A, Legnani C, Pengo V, Abbate R, Dellanoce C, Carraro P, Salomone L, Paniccia R, Paoletti O, Poli D, Palareti G; START-Laboratory Register. Plasma levels of direct oral anticoagulants in real life patients with atrial fibrillation: Results observed in four anticoagulation clinics. *Thromb Res.* 2016;137:178-183.
4. Harenberg J. Laboratory determination of old and new targeted anticoagulant agents for prevention of bleeding and thrombotic events in cancer patients. *Thromb Res.* 2016;140:165-167.
5. Tripodi A. Results expression for tests used to measure the anticoagulant effect of new oral anticoagulants *Thromb J.* 2013;11:9.
6. Gosselin R, Grant RP, Adcock DM. Comparison of the effect of the anti-Xa direct oral anticoagulants apixabán, edoxaban, and rivaroxabán on coagulation assays. *Int J Lab Hematol.* 2016 June 6.
7. Beynon C, Sakowitz OW, Störzinger D, Orakcioglu B, Radbruch A, Potzy A, Unterberg AW. Intracranial haemorrhage in patients treated with direct oral anticoagulants. *Thromb Res.* 2015;136:560-5.
8. Sarma A, Giugliano RP. Current and developing strategies for monitoring and reversing direct oral anticoagulants in patients with non-valvular atrial fibrillation. *Hosp Pract.* 2015;43:258-67.

9. Smythe MA, Priziola J, Dobesh PP, Wirth D, Cuker A, Wittkowsky AK. Guidance for the practical management of the heparin anticoagulants in the treatment of venous thromboembolism. *J Thromb Thrombolysis*. 2016;41:165-86.
10. Bonar R, Favaloro EJ, Mohammed S, Ahuja M, Pasalic L, Sioufi J, Marsden K. The effect of the direct factor Xa inhibitors apixabán and rivaroxabán on haemostasis tests: a comprehensive assessment using in vitro and ex vivo samples. *Pathology*. 2016;48:60-71.
11. Schellings MW, Boonen K, Schmitz EM, Jonkers F, van den Heuvel DJ, Besselaar A, Hendriks JG, van de Kerkhof D. Determination of dabigatrán and rivaroxabán by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry and coagulation assays after major orthopaedic surgery. *Thromb Res*. 2016;139:128-34.
12. Beynon C, Sakowitz OW, Störzinger D, Orakcioglu B, Radbruch A, Potzy A, Unterberg AW. Intracranial haemorrhage in patients treated with direct oral anticoagulants. *Thromb Res*. 2015;136:560-5.
13. Brian J. Dale, Noel C. Chan, John W. Eikelboom. Laboratory measurement of the direct oral anticoagulants. *British Journal of Haematology*. 2016;172,315–336.