Hemostasia y Trombosis
REVISTA IBEROAMERICANA DE TROMBOSIS Y HEMOSTASIA

PERMANYER

Check for updates

GUÍAS Y CONSENSOS

Ensayos automatizados de generación de trombina: características actuales, avances y relevancia clínica

Fully automated thrombin generation assays: current characteristics, advances, and clinical relevance

Diego Velasco-Rodríguez[1], María Marcos-Jubilar[2], Inés Martínez-Alfonzo[1], Jose A. Páramo[2], Pilar Llamas-Sillero[1] y Joan C. Reverter-Calatayud[3], en nombre del Grupo de generación de trombina de la SETH*

[1]Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz, Madrid; [2]Clínica Universidad de Navarra, Pamplona; [3]Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona. España

Resumen

El test de generación de trombina es una herramienta diagnóstica que permite evaluar de forma global la hemostasia. En los últimos años se ha avanzado técnicamente para lograr automatizar completamente dichos estudios con el fin de lograr su estandarización y homogeneidad. En la actualidad están disponibles dos dispositivos, ST-Genesia® (Diagnostica Stago, Asnières-sur-Seine, France) y Ceveron® alpha TGA (Technoclone, Vienna, Austria) completamente automatizados. Se trata de una herramienta muy versátil que ha demostrado su aplicabilidad clínica tanto en el campo de la diátesis hemorrágica evaluando el fenotipo hemorrágico de los pacientes y la monitorización del tratamiento hemostático, como en el campo de la diátesis trombótica siendo capaz de identificar el perfil de riesgo trombótico no solo en trombosis venosa sino también en riesgo cardiovascular y trombosis asociada a cáncer. También se está evaluando su papel en la monitorización del tratamiento anticoagulante y el estado hemostático de pacientes con cirrosis hepática.

Palabras clave: *Test de generación de trombina. Test global. Automatización.*

Abstract

The thrombin generation assay (TGA) is a diagnostic tool that enables a global assessment of hemostasis. In recent years, technical advances have been made to achieve full automation of these assays, with the aim of ensuring standardization and consistency across studies. Currently, two fully automated devices are available: ST-Genesia® (Diagnostica Stago, Asnières-sur-Seine, France) and Ceveron® alpha TGA (Technoclone, Vienna, Austria). This is a highly versatile tool that has demons-trated clinical applicability both in the field of bleeding disorders – by assessing patients' bleeding phenotypes and monitoring their hemostatic treatment – and in thrombotic disorders, as it can identify thrombotic risk profiles not only for venous thrombosis but also for cardiovascular risk and cancer-associated thrombosis. Its role is also being investigated in the monitoring of anticoagulant therapy and the hemostatic status of patients with liver cirrhosis.

Keywords: *Thrombin generation assay. Global assay. Automatization.*

Correspondencia:
María Marcos-Jubilar
E-mail: mmarcos.3@unav.es

Fecha de recepción: 31-07-2025
Fecha de aceptación: 17-10-2025
DOI: 10.24875/RHT.M25000083

Disponible en línea: 10-12-2025
Hemost Trombos. 2025;2(4):129-137
www.revistahemostasiaytrombosis.com

2938-8740 / © 2025 Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia (SETH) y Grupo Cooperativo Latinoamericano de Hemostasia y Trombosis (CLAHT). Publicado por Permanyer. Este es un artículo de acceso abierto bajo la CC BY-NC-ND license (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

Introducción

El test de generación de trombina (TGA) es una herramienta diagnóstica avanzada diseñada para evaluar todo el proceso de coagulación, con especial atención a la fase de generación de trombina (GT). La trombina, una enzima crítica en la cascada de la coagulación, desempeña un papel fundamental en la formación del coágulo sanguíneo. El TGA resulta especialmente útil para identificar y evaluar la funcionalidad del sistema hemostático en diversas situaciones clínicas, que van desde los trastornos hemorrágicos hasta la trombofilia.

Desarrollo histórico

El TGA ha evolucionado durante varias décadas desde métodos manuales hasta técnicas automatizadas, desde su primera descripción en 1952 por McFarlane y Bigg[1]. Inicialmente, el método consistía en medir la GT en sangre total o plasma utilizando desencadenantes como el factor tisular (FT) o la cefalina, empleando los tiempos de coagulación para construir una curva dosis-respuesta[2]. Este método era altamente manual, requería submuestreo y medición discontinua, lo que implicaba la necesidad de operadores experimentados y un tiempo considerable para realizar los experimentos[3,4].

Entre 1970 y 1990, la comprensión del proceso de coagulación comenzó a orientarse hacia un abordaje más dinámico. Se introdujeron métodos automatizados, tales como el ensayo amidolítico, que utilizaba sustratos cromogénicos para medir la GT, su producción total y su velocidad. Este avance permitió una mayor precisión y eficiencia en comparación con los métodos manuales[5]. Además, en 1986, Hemker introdujo mejoras significativas, como la sustitución del fibrinógeno por sustratos cromogénicos sintéticos y la incorporación de software informático para el análisis automatizado[1]. En las décadas siguientes, el ensayo evolucionó aún más, incorporando sustratos fluorogénicos, lo que eliminó la necesidad de des-fibrinación y permitió su aplicación en plasma rico en plaquetas[2].

A comienzos de los años 2000, surgió un creciente interés por la GT con el desarrollo de la *trombografía automatizada calibrada* (CAT), que supuso un hito importante. La CAT emplea sustratos fluorogénicos para la medición continua y calibrada de la GT y ofrecía una evaluación integral de la hemostasia al capturar las fases de iniciación, propagación y terminación de la coagulación, con nuevos parámetros como el tiempo de inicio o *lag time*, el pico de trombina y el potencial de trombina[4,6,7].

En las últimas décadas, la aparición de métodos TGA completamente automatizados (tema central de esta revisión) ha supuesto una mejora significativa y un aumento del interés por esta técnica. En la actualidad, el TGA sigue en plena evolución, y se exploran nuevos métodos, como la GT en sangre total, la CAT de bajo volumen o tecnologías basadas en electroquímica y fluorescencia para el monitoreo en tiempo real[4].

Fundamentos de la TG: mecanismos bioquímicos y diferencias con las técnicas convencionales

La formación de trombina es el evento central del proceso de coagulación. Implica varias etapas desde su inicio, tras la interacción del FT y el factor VIIa, hasta la formación del complejo protrombinasa y la conversión subsiguiente de la protrombina en trombina. Además, la trombina participa no solo en la conversión del fibrinógeno en fibrina y en la activación plaquetaria, sino también en la activación de vías inhibitorias, como la activación de la proteína C[8]. Lo que hace al TGA especialmente interesante frente a las pruebas hemostáticas clásicas, es que permite visualizar toda la dinámica de este proceso, reflejando no solo la producción de trombina, sino también su degradación. Las pruebas de coagulación tradicionales evalúan únicamente la fase de iniciación y no reflejan el equilibrio hemostático completo[9].

El TGA es capaz de representar este proceso tras la formación de trombina desencadenada por pequeñas cantidades de FT y fosfolípidos. La GT resultante, equilibrada por la inhibición de trombina que ocurre de forma simultánea en cuanto aparecen trazas de esta enzima en el medio de reacción, se monitoriza continuamente mediante sustratos cromogénicos o fluorogénicos específicos para trombina[4].

La cinética de la reacción de GT comprende 3 fases: iniciación, amplificación y resolución. En la primera, el desencadenante permite reflejar la fase de iniciación, la cual puede inhibirse mediante el inhibidor de la vía del TF. El tiempo necesario para completar esta fase en el TGA corresponde al tiempo de formación inicial de fibrina, o tiempo de coagulación, en las pruebas rutinarias como el tiempo de protrombina (TP) o el tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPA), que requieren solo trazas (~5% del total de trombina formada) y están diseñadas para medir los eventos hasta la formación

inicial del coágulo. En la segunda, la fase de amplificación o propagación, la conversión de protrombina sobreviene más rápidamente que su inhibición. Por último, en la fase de resolución, la conversión de protrombina se ve superada por la acción de varios inhibidores presentes en el plasma, tales como la proteína C activada (PCA), la antitrombina (AT) y la alfa-2-macroglobulina. A partir de la señal óptica inicial medida en unidades relativas de fluorescencia (RFU), se calcula la 1ª derivada para presentar una curva inicial de GT en RFU/min a lo largo del tiempo. Un *software* especializado compara la actividad de la trombina con un estándar, traza la curva de GT y determina los parámetros clave que describen el *trombograma*, expresando la cantidad de trombina generada en nM a lo largo del tiempo (Fig. 1)[2,4].

El significado de los diferentes parámetros que caracterizan un trombograma es el siguiente:

- Tiempo de inicio (*lag time*): tiempo hasta la formación de las primeras trazas de trombina.
- Tiempo hasta el pico: tiempo necesario para alcanzar el pico máximo de trombina.
- Altura del pico: cantidad máxima de trombina generada.
- Potencial endógeno de trombina (ETP): cantidad neta de trombina que puede generar el plasma, dependiente de los factores procoagulantes y anticoagulantes, representada por el área bajo la curva.
- Final de la cola (*start tail*): punto en el que la GT ha finalizado y toda la trombina generada ha sido inhibida.
- Índice de velocidad: pendiente de la GT entre *el lag time* y el tiempo al pico, que corresponde a la primera derivada de esa parte de la curva.

Ventajas del TGA totalmente automatizado frente al semiautomatizado

Los sistemas de GT semiautomatizados suelen requerir pasos manuales de preparación, tales como la mezcla de reactivos, la manipulación de muestras y la iniciación del ensayo, seguidos de la medición mediante un fluorímetro u otro sistema de detección similar. Este abordaje ofrece flexibilidad en la personalización del ensayo, permitiendo a los investigadores adaptar los reactivos y protocolos a las necesidades específicas de cada estudio. No obstante, los TGA semiautomatizados son más propensos a la variabilidad debido a la manipulación del operador, presentan tiempos de respuesta más prolongados y requieren personal capacitado para garantizar la consistencia y la exactitud[10].

En cambio, los analizadores de GT totalmente automatizados integran la preparación de la muestra, la manipulación de reactivos, la iniciación del ensayo y la detección en un flujo de trabajo optimizado. Estos sistemas minimizan la intervención humana, reduciendo el riesgo de errores de pipeteo y la variabilidad entre operadores, lo que mejora significativamente la reproducibilidad y el rendimiento. Las plataformas TGA totalmente automatizadas también proporcionan condiciones de ensayo y análisis de datos estandarizados, lo que facilita la comparabilidad entre ejecuciones y entre laboratorios. Además, suelen incorporar interfaces fáciles de usar y tiempos de procesamiento más rápidos, lo que las hace adecuadas para el uso clínico rutinario y estudios a gran escala. Aunque el costo inicial de los sistemas totalmente automatizados es mayor, sus ventajas en consistencia, eficiencia y escalabilidad los posicionan como la opción preferida para entornos clínicos y de investigación que requieren alta precisión y fiabilidad[10].

Lo que aporta el TGA totalmente automatizado al TGA semiautomatizado es la implementación del control de temperatura, la adición de plasma de referencia para normalizar los datos y el control de los reactivos para evitar inconsistencias, garantizando que los laboratorios puedan comparar resultados sin discrepancias[11].

En cuanto a la mencionada falta de estandarización, varios grupos han realizado esfuerzos para homogeneizar y estandarizar esta técnica. En este contexto, el Subcomité SSC de la ISTH sobre anticoagulante lúpico (AL)/anticuerpos antifosfolípido publicó sus recomendaciones para la medición de la TG, proporcionando indicaciones para el control de los factores preanalíticos, analíticos y postanalíticos[12].

Se recomiendan tubos de citrato a una concentración de 0,109 M. En cuanto a la muestra, se utiliza preferentemente plasma pobre en plaquetas, con menos de 10×10^9 plaquetas/L. Tras la centrifugación, la muestra debe procesarse en un plazo máximo de 4 horas o almacenarse a −80 °C o −20 °C[12]. Para fines clínicos, se deben emplear reactivos comerciales estandarizados[4,12].

El TGA debe realizarse siempre a 37 °C. Además, se recomienda precalentar las muestras, los desencadenantes y los sustratos durante al menos 10 minutos[12]. Algunos dispositivos, como el ST-Genesia®, incorporan este precalentamiento y lo realizan automáticamente[11].

Los dispositivos totalmente automatizados procesan las muestras por triplicado, mientras que, para los métodos

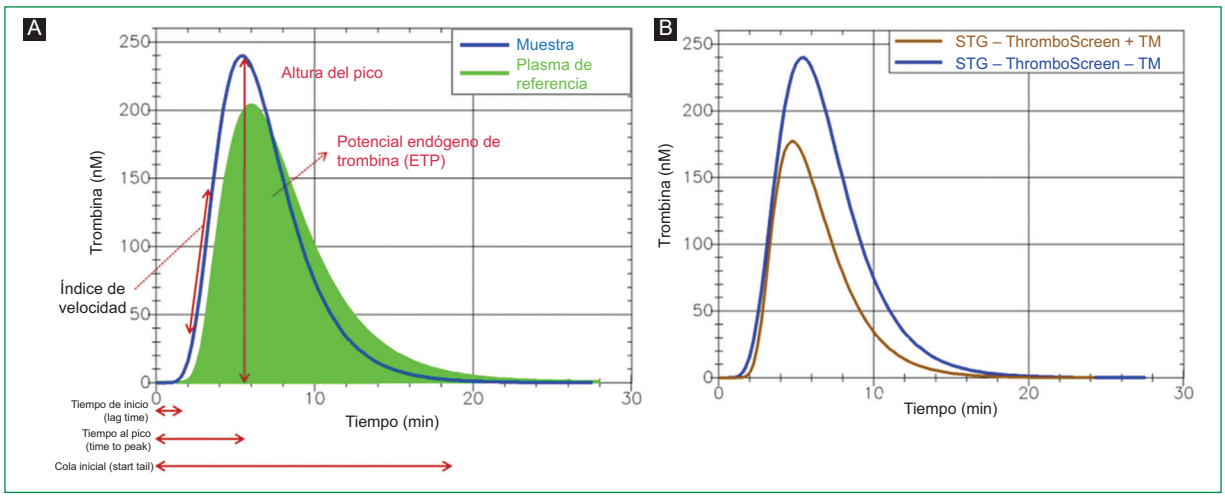

Figura 1. Curvas representativas de generación de trombina (TG) obtenidas con el analizador ST-Genesia. **A:** curva de GT que muestra los principales parámetros cinéticos: tiempo de inicio (lag time), tiempo al pico (time to peak), altura del pico (peak height), índice de velocidad (velocity index), cola inicial (start tail) y potencial endógeno de trombina (ETP), representado por el área bajo la curva. La línea azul representa la muestra en comparación con un plasma de referencia (área verde). **B:** la curva azul representa la GT en ausencia de trombomodulina (TM), mientras que la curva marrón muestra el efecto inhibidor de la TM sobre la formación de trombina, evidenciado por un pico más bajo y un ETP reducido.

Tabla 1. Comparativa entre las dos plataformas totalmente automatizadas de TGA actualmente disponibles

Parámetro	ST-Genesia®	Ceveron® alpha TGA
Método de detección	Fluorogénico	Cromogénico
Excitación/emisión	360/460 nm	Absorbancia a ~405 nm
Tiempo de escaneo	~60 min	~30-60 min
Calibración	Interna (por pocillo)	Calibrador externo
Filtro requerido	Sí	No
Volumen de plasma	~20 µL	~60-80 µL

TGA: ensayo de generación de trombina.

manuales o semiautomatizados, se recomienda analizar las muestras al menos por duplicado y, preferiblemente, por triplicado[11,12]. Por último, se recomienda encarecidamente utilizar una muestra de plasma control para normalizar los resultados y mejorar la comparabilidad[12,13].

Hasta la fecha, se han publicado varios estudios sobre los rangos de referencia del TGA basados en el método ST-Genesia®. Mientras que los estudios de Ninivaggi et al., Calzavarini et al., Carlo et al. y Kristensen et al. establecieron rangos de referencia en individuos adultos[14-17], otros trabajos se han centrado en definir rangos en población pediátrica[18,19].

TGA totalmente automatizados disponibles

En la actualidad, existen 2 plataformas de TGA totalmente automatizadas: ST-Genesia® (*Diagnostica Stago*, Asnières-sur-Seine, Francia) y Ceveron® alpha TGA (*Technoclone*, Viena, Austria). Sus diferencias se resumen en la tabla 1. Ambas plataformas ofrecen automatización completa incluidas dispensación de reactivos, calibración y análisis de datos. No obstante, el ST-Genesia® está diseñado exclusivamente para TGA, mientras que el Ceveron® Alpha es un analizador multiparamétrico que también realiza otras pruebas de coagulación.

El sistema de Technoclone se integra perfectamente con sus analizadores de coagulación Ceveron t100/s100, añadiendo un módulo de TGA basado en fluorescencia que permite realizar mediciones rutinarias y de TGA a partir de la misma muestra de plasma, con mínima manipulación y trazabilidad robusta. Ambos sistemas registran la curva completa de GT a lo largo del tiempo, aunque el tiempo exacto de escaneo puede variar según el protocolo y el reactivo desencadenante utilizado.

Mientras que el ST-Genesia® emplea el principio CAT con un sustrato fluorogénico, similar al CAT manual, el Ceveron® alpha TGA utiliza un sustrato cromogénico, que lo hace conceptualmente diferente de los ensayos basados en CAT fluorogénico.

En cuanto a los requisitos de filtros ópticos, el ST-Genesia® requiere filtros de excitación y emisión para fluorescencia, mientras que el Ceveron® utiliza fotometría de absorbancia y no necesita filtros especiales más allá de los estándar.

Por último, en términos de volumen de plasma requerido, el ST-Genesia® utiliza un volumen de muestra bajo, compatible con muestras pediátricas pequeñas; en cambio, el Ceveron® requiere un mayor volumen de plasma, lo que puede representar una limitación en neonatos o estudios con volúmenes reducidos.

Aplicaciones clínicas

Tal y como se mencionó anteriormente, el TGA puede ser útil para detectar situaciones de hipo o hipercoagulabilidad. Por ejemplo, en situaciones de hipocoagulabilidad, los pacientes presentarán un tiempo de inicio o *lag time* y un tiempo al pico prolongados, así como una altura del pico, un índice de velocidad y un ETP más bajos[2].

Las aplicaciones del TGA se han ampliado desde su desarrollo, especialmente en el ámbito de la medicina personalizada. Esta tecnología se ha evaluado en múltiples campos, incluyendo la investigación en hemostasia, el diagnóstico clínico y la medicina personalizada.

La presente revisión se centrará en la evidencia relacionada con los TGA totalmente automatizados.

Trastornos de la hemostasia y la coagulación

Una de las principales aplicaciones del TGA ha sido la evaluación del riesgo hemorrágico en pacientes con coagulopatías.

Hemofilia

Se ha demostrado que el TGA es útil para identificar, entre los pacientes hemofílicos con el mismo nivel de factor, aquellos con un fenotipo hemorrágico más acusado[20]. Además, esta tecnología ayuda a personalizar la terapia sustitutiva en los pacientes con hemofilia, ya que refleja el aumento de la GT tras el tratamiento[21]. En este sentido, permite guiar la reposición de factores tanto en contextos quirúrgicos como no quirúrgicos[22].

Otro escenario complejo en el que las pruebas convencionales de hemostasia resultan ineficaces, y en el que el TGA ha demostrado ser eficaz, es en el seguimiento del tratamiento de pacientes con hemofilia que han desarrollado un inhibidor. Estos pacientes presentan un mayor riesgo hemorrágico, que no es identificado adecuadamente por las pruebas clásicas de coagulación. Además, en muchos casos requieren terapia combinada con agentes by-pass y emicizumab, lo cual los expone a un mayor riesgo trombótico. El TGA puede detectar estos cambios en el estado de coagulación y servir como herramienta valiosa para monitorizar el régimen terapéutico más adecuado a administrar[22].

Deficiencias de factores de coagulación

Cuatro métodos de TGA diferentes –2 semiautomatizados y 2 totalmente automatizados– demostraron ser eficaces para diferenciar muestras con deficiencia aislada de un factor de coagulación de aquellas de individuos sanos, observándose solo discrepancias modestas entre las plataformas[10].

Trastornos hemorrágicos no diagnosticados

Un estudio reciente comparó los sistemas ST-Genesia® y CAT en pacientes con tendencia hemorrágica leve no diagnosticada mediante análisis de laboratorio tradicionales. Se detectó un ETP disminuido en el 62,7 y 69,5% de los casos, respectivamente, por lo que los autores concluyen que la incorporación del TGA a las pruebas clásicas basadas en el tiempo de coagulación podría reducir el número de pacientes sin diagnóstico[23].

Trombofilia y trastornos de hipercoagulabilidad

El ST-Genesia® también ha sido evaluado en pacientes con riesgo de trombofilia y otros trastornos de hipercoagulabilidad. Estas condiciones se caracterizan por una mayor tendencia a formar coágulos sanguíneos anómalos, lo cual podría provocar trombosis venosas profundas, embolismos pulmonares o accidentes cerebrovasculars. La cuantificación de la GT ayuda a identificar el estado de hipercoagulabilidad en estos pacientes, ofreciendo una visión más detallada de su estado hemostático, más allá de las pruebas tradicionales como el TP o el TTPA[2]. Varios estudios han analizado la capacidad del TGA para identificar pacientes en riesgo de presentar un primer episodio o recurrencia de tromboembolismo venoso (TEV), mostrando que un ETP alto se asocia con el desarrollo de TEV; no obstante, no se han identificado valores de corte definidos[24].

Trombofilia hereditaria

Los pacientes con deficiencias hereditarias de antitrombina (AT), proteína C o proteína S, resistencia a la APC, mutación del factor V Leiden o mutación G20210A del gen de la protrombina presentan una GT aumentada, reflejada por un mayor ETP y una mayor altura del pico[22].

Síndrome antifosfolípido (SAF)

Los pacientes con SAF suelen mostrar un tiempo de inicio o lag time y un tiempo hasta el pico prolongados, lo que indica una formación retardada de trombina, mientras que su ETP puede ser menor, similar o ligeramente superior al de individuos sanos. También se ha observado de forma consistente una mayor resistencia a la PCA en sujetos con SAF. Los individuos con AL sin signos clínicos de SAF también presentan alteraciones en la GT similares a las descritas en pacientes con SAF. Una alta potencia del AL y un perfil antifosfolípido triple positivo amplifican las diferencias en el *lag time*, el tiempo al pico y, especialmente, aumentan la resistencia a la APC, aunque no se observan cambios en el ETP en ninguna de estas circunstancias[25].

Monitorización de la terapia anticoagulante

Los parámetros del TGA se ven afectados por todos los tratamientos anticoagulantes; en este sentido, esta técnica representa una herramienta poderosa para evaluar su efecto, ayudar a personalizar el tratamiento y optimizar la terapia antitrombótica, limitando el riesgo hemorrágico[2]. En relación con los antagonistas de la vitamina K (AVK), Brocal et al. informaron que el ETP, la altura del pico y el tiempo de inicio o *lag time* mostraron una alta correlación con el índice internacional normalizado (INR)[26]. Además, los pacientes tratados con AVK ingresados en urgencias por sangrado presentaron valores de ETP más bajos que aquellos ingresados por otras causas, con un INR similar[24]. En cuanto a los anticoagulantes orales directos (ACOD), Metze et al. demostraron que la generación de trombina se mantiene reducida 12 horas después de la administración del fármaco[27]. Asimismo, el TGA se ha utilizado para determinar el efecto anticoagulante residual en niveles bajos del fármaco[28]. Mientras que dabigatran aumenta el tiempo de inicio, apixaban y rivaroxaban disminuyen la altura del pico y el ETP. Además, los niveles plasmáticos de los ACOD no se correlacionaron con los parámetros del TGA[24]. Por último, en pacientes tratados con heparina, el TGA mostró valores de ETP más bajos tras la administración del fármaco frente a los valores basales[24]. No obstante, el TGA parece insuficientemente sensible a concentraciones bajas de heparina de bajo peso molecular[29].

Enfermedad cardiovascular

La trombina desempeña un papel clave en la fisiopatología cardiovascular, y su generación puede verse influida por diversos factores como la aterosclerosis y otras afecciones cardiovasculares. Berntorp y Salvagno demostraron que los pacientes con infarto agudo de miocardio generan trombina en mayor cantidad, más precozmente y más rápido, lo que refleja un estado de hipercoagulabilidad. Además, propusieron que el TGA podría ser útil para guiar la terapia, intensificando el tratamiento en aquellos con persistencia de una altura de pico elevada a lo largo del tiempo[9].

Investigación en cáncer

Los pacientes con cáncer presentan con frecuencia un riesgo elevado de eventos trombóticos, en parte debido a la actividad procoagulante del tumor. El riesgo global de TEV es variable y cambia dinámicamente a lo largo de la enfermedad. La generación de trombina (TG) se ha investigado como posible biomarcador de trombosis asociada al cáncer, así como indicador pronóstico de progresión de la enfermedad[22,30].

En relación con la trombosis asociada al cáncer, el estudio *Vienna Cancer and Thrombosis* mostró que aquellos que desarrollaron TEV presentaron niveles elevados de altura de pico, un área bajo la curva mayor, un índice de velocidad más alto y un tiempo al pico y tiempo de inicio más cortos. Al comparar los cuartiles de pico de trombina, los del cuartil superior tuvieron un mayor riesgo de trombosis durante el seguimiento. A los seis meses, la probabilidad de desarrollar una TEV fue del 11% en el cuartil superior frente al 4% en los de pico más bajo[31]. Asimismo, Norris et al. desarrollaron y validaron la puntuación Thrombogyn, capaz de predecir la aparición de TEV en pacientes con cáncer ginecológico dentro de los 24 meses posteriores a la estadificación del cáncer. El rendimiento de esta puntuación mejoró al incluir tanto el ETP como el Dímero D[32].

Entre las neoplasias hematológicas, se han publicado estudios en mieloma múltiple (MM) y leucemia linfoblástica aguda (LLA)[33-36]. Recientemente, un grupo español demostró que los pacientes con MM recién diagnosticado muestran una mayor generación de trombina

frente a controles sanos[33]. Generan un pico de trombina más alto, en menos tiempo y con resistencia a la inhibición por trombomodulina (TM). También se observó una disminución significativa del índice de velocidad (tras 1 ciclo) y de la altura del pico (tras 4 ciclos), junto con un aumento de la sensibilidad a la TM (tras 4 ciclos), indicativo de una reducción de la hipercoagulabilidad posterior al tratamiento[34]. Los niños con LLA presentan un mayor riesgo de TEV durante la terapia de inducción, sin que estos eventos sean predecibles mediante pruebas convencionales de coagulación. De manera notable, en aquellos que desarrollaron complicaciones trombóticas, Betticher et al. demostraron un ETP significativamente mayor en etapas tempranas (días 8-12), mucho antes de presentar clínica[35]. Tras la administración de asparaginasa pegilada, se han descrito valores de ETP aún más altos y una menor inhibición de la GT mediada por TM[36].

Cirrosis hepática

En un estudio publicado por Talon et al., ST-Genesia® detectó que, en general, los pacientes con cirrosis presentaban un fenotipo hipercoagulable (ETP elevado) en presencia de TM[37]. Además, Brodard et al. encontraron que mediciones más altas de rigidez hepática se correlacionaban con un aumento de la GT y con resistencia a la TM[38]. Es notable que los parámetros de ST-Genesia® mostraron una correlación más fuerte con la rigidez hepática que los obtenidos con ensayos CAT, lo que sugiere que ST-Genesia® podría identificar de manera más eficaz un estado procoagulante en pacientes cirróticos[38]. Finalmente, otro estudio informó que la inhibición de la GT mediada por TM estaba significativamente disminuida en pacientes con cirrosis hepática en comparación con donantes sanos, y también en los pacientes Child-Pugh B y C en comparación con los Child-Pugh A[39].

Investigación en tromboinflamación

Investigaciones recientes han destacado la compleja interacción entre trombosis e inflamación, conocida como tromboinflamación. En pacientes con COVID-19, los estudios que evaluaron el TGA han mostrado resultados dispares. Algunos demostraron una generación de trombina hipercoagulable, más pronunciada en los pacientes más graves[40], mientras que otros informaron que el TGA no pudo predecir la supervivencia ni los eventos trombóticos en pacientes hospitalizados[41]. Finalmente, se ha descrito una menor inhibición del ETP mediada por TM en pacientes con síndrome post-COVID en comparación con controles sanos[42].

Ventajas y limitaciones de esta nueva tecnología

Ventajas

El TGA ofrece una visión más holística del proceso de coagulación en comparación con las pruebas estándar, reflejando tanto las actividades procoagulantes como anticoagulantes como consecuencia de un estado de hemostasia desequilibrado, lo que lo hace útil en el diagnóstico de diversos trastornos. Representa mejor la hemostasia *in vivo* que las técnicas tradicionales[22].

La automatización garantiza que los resultados sean comparables entre distintos centros y facilita la estandarizaciónde las técnicas. Actualmente, los TGA son fáciles de usar y accesibles, requiriendo pocas habilidades. Además, esto hace que los métodos sean más accesibles para los laboratorios rutinarios, y no solo para la investigación[4].

Cuando se incorporan en la práctica clínica, pueden ayudar a personalizar los tratamientos tanto en trastornos hemorrágicos como trombóticos.

Limitaciones

Hasta la fecha, existe una falta de estandarización, no solo en los reactivos y protocolos, sino también en la variabilidad preanalítica, aunque la ISTH y los fabricantes están realizando grandes esfuerzos para resolver este problema[4,10,12]. Además, las variaciones en las técnicas y reactivos pueden dificultar la interpretación de los resultados, ya que la presencia de inhibidores o activadores de la coagulación puede diferir[12].

Conclusiones

El TGA es una herramienta poderosa para evaluar la función de la coagulación de manera integral. Ofrece información valiosa, especialmente en pacientes con trastornos complejos de coagulación o bajo tratamiento anticoagulante. Aunque presenta claras ventajas en términos de sensibilidad y profundidad de información, su complejidad, costo y la necesidad de conocimiento especializado pueden limitar su uso generalizado. A medida que mejoren la tecnología y la estandarización, se espera que el TGA se integre progresivamente en la práctica clínica, mejorando los

abordajes diagnósticos y terapéuticos de los trastornos de la coagulación en los próximos años.

Sumario

A. Aplicaciones clínicas

A.1- El TGA permite detectar alteraciones de la coagulación no evidentes en las pruebas convencionales y orienta el tratamiento individualizado, AQ10 AQ11 especialmente en pacientes que requieren agentes bypass o emicizumab. Recomendación: El TGA puede utilizarse para la evaluación del riesgo hemorrágico en pacientes con hemofilia, incluidos aquellos con inhibidores.

A.2- El TGA puede poner de manifiesto alteraciones en el potencial de trombina no identificables mediante pruebas tradicionales, mejorando así el rendimiento diagnóstico. Recomendación: El TGA puede emplearse en la evaluación de trastornos hemorrágicos diagnosticados y no diagnosticados.

A.3- El TGA proporciona información detallada sobre la dinámica de generación de trombina, como el aumento del ETP y la resistencia a la APC, lo cual contribuye a la estratificación del riesgo. Recomendación: El TGA puede utilizarse en la valoración de estados de hipercoagulabilidad en el contexto de trombofilia, favoreciendo la estratificación del riesgo.

A.4- El TGA con trombomodulina (TM) presenta una correlación superior con la rigidez hepática y permite detectar resistencia a la TM, un marcador de riesgo protrombótico. Recomendación: El TGA puede emplearse para evaluar el estado de coagulación en la cirrosis hepática, con especial atención al componente mediado por TM.

B. Automatización y estandarización

B.1- Estos sistemas disminuyen el error humano, aumentan la reproducibilidad y facilitan una interpretación estandarizada de los datos. Recomendación: Se recomienda emplear, con prioridad, dispositivos de TGA totalmente automatizados en el ámbito clínico.

B.2- Las condiciones estandarizadas permiten la comparación intercentros. Recomendación: Utilizar preincubación, análisis por duplicado/triplicado y plasmas de control para mejorar la robustez del ensayo.

B.3- El procesado y la preparación estandarizados de las muestras reducen la variabilidad intralaboratorio y mejoran la fiabilidad de los datos. Recomendación: Seguir las directrices de la ISTH relativas al control de calidad preanalítico y analítico, incluyendo PPP y tubos con citrato.

C. Consideración global

C.1- El TGA permite monitorizar tanto la actividad procoagulante como la anticoagulante, aportando una visión integral del equilibrio hemostático. Recomendación: El TGA puede considerarse un nuevo ensayo global de la coagulación en la práctica del laboratorio clínico para la evaluación de la hemostasia.

Grupo de generación de trombina: L. Baère de Faria-Ricca-Gonçalves, C. Aguilar-Franco, N. Vilalta-Sepo, M.D. Llobet-Lorente, A. Marco-Rico, D.J. Gonçalves-Ferreira, S. Pereira-Borges-Lopes, J.B. de Barros-Soeiro Mariano-Pego, P. Marco Vera, Á. Bernardo-Gutiérrez, A. Moscardó, S. Bonanad, I. Gutiérrez-Jomarrón, S. Marcellini-Antonio, J.M. Bastida-Bermejo, S. Ortegón-Alcaide, G. Simona-Ene, N. Butta-Col, A. Caro, I. Fernandez-Bello, P. Medina-Badenes.

Financiamiento

Ninguno.

Conflicto de intereses

Ninguno.

Consideraciones éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Confidencialidad, consentimiento informado y aprobación ética. El estudio no involucra datos personales de pacientes ni requiere aprobación ética. No se aplican las guías SAGER.

Declaración sobre el uso de inteligencia artificial. Los autores declaran que no utilizaron ningún tipo de inteligencia artificial generativa para la redacción de este manuscrito.

Referencias

1. Tripodi A, Clerici M, Scalambrino E, Peyvandi F. Thrombin generation assays: what are the current clinical applications? Semin Thromb Hemost. 2025;(7).
2. Tripodi A. Thrombin generation assay and its application in the clinical laboratory. Clin Chem. 2016;62:699-707.
3. Hemker HC. Recollections on thrombin generation. J Thromb Haemost. 2008;6:219-26.

4. Depasse F, Binder NB, Mueller J, Wissel T, Schwers S, Germer M, et al. Thrombin generation assays are versatile tools in blood coagulation analysis: a review of technical features, and applications from research to laboratory routine. J Thromb Haemost. 2021;19:2907-17.
5. Paulssen MM, Kolhorn A, Rothuizen J, Planje MC. An automated amidolytic assay of thrombin generation: an alternative for the prothrombin-time test. Clin Chim Acta. 1979;92:465-8.
6. Castoldi E, Rosing J. Thrombin generation tests. Thromb Res. 2011;127:S21-5.
7. Devreese K, Wijns W, Combes I, Vankerckhoven S, Hoylaerts MF. Thrombin generation in plasma of healthy adults and children: chromogenic versus fluorogenic thrombogram analysis. Thromb Haemost. 2017;98:600-13.
8. Larsen JB, Hvas AM. Thrombin: a pivotal player in hemostasis and beyond. Semin Thromb Hemost. 2021;47:759-74.
9. Berntorp E, Salvagno GL. Standardization and clinical utility of thrombin-generation assays. Semin Thromb Hemost. 2008;34:670-82.
10. Haisma B, Schols SE, Van Oerle RG, Verbeek-Knobbe K, Hellenbrand D, Verwoerd EJ, et al. Comparative analysis of thrombin generation platforms for patients with coagulation factor deficiencies: a comprehensive assessment. Thromb Res. 2024;240:109045.
11. Douxfils J, Morimont L, Bouvy C, de Saint-Hubert M, Devalet B, Devroye C, et al. Assessment of the analytical performances and sample stability on ST genesia system using the STG-DrugScreen application. J Thromb Haemost. 2019;17:1273-87.
12. Ninivaggi M, De Laat-Kremers R, Tripodi A, Wahl D, Zuily S, Dargaud Y, et al. Recommendations for the measurement of thrombin generation: communication from the ISTH SSC subcommittee on lupus anticoagulant/antiphospholipid antibodies. J Thromb Haemost. 2021;19:1372-8.
13. Perrin J, Depasse F, Lecompte T, French-speaking CAT group and Under the Aegis of GEHT, French-speaking CAT Group (All in France Unless Otherwise Stated), French-speaking CAT Group all in France Unless Otherwise Stated. Large external quality assessment survey on thrombin generation with CAT: further evidence for the usefulness of normalisation with an external reference plasma. Thromb Res. 2015;136:125-30.
14. Ninivaggi M, de Laat-Kremers RM, Carlo A, de Laat B. ST Genesia reference values of 117 healthy donors measured with STG-BleedScreen, STG-DrugScreen and STG-ThromboScreen reagents. Res Pract Thromb Haemost. 2021;5:187-96.
15. Calzavarini S, Brodard J, Quarroz C, Maire L, Nützi R, Jankovic J, et al. Thrombin generation measurement using the ST genesia thrombin generation system in a cohort of healthy adults: normal values and variability. Res Pract Thromb Haemost. 2019;3:758-68.
16. Carlo A, Yan Q, Ten Cate H, De Laat-Kremers R, De Laat B, Ninivaggi M. Semi-automated thrombin dynamics applying the ST genesia thrombin generation assay. Front Cardiovasc Med. 2022;9:912433.
17. Kristensen SR, Nybo J, Pedersen S. Thrombin generation measured on ST genesia, a new platform in the coagulation routine lab: assessment of analytical and between-subject variation. Res Pract Thromb Haemost. 2022;6:e12654.
18. Gassiot S, Ruiz-Llobet A, Suleman W, Sarrate E, Berrueco R. Thrombin generation in children using ThromboScreen reagent kit with ST Genesia-A pilot study. Int J Lab Hematol. 2021;43:1612-9.
19. Modi Omasombo N, Demulder A, Rozen L. Evaluation of the analyzer ST genesia. Ann Biol Clin (Paris). 2022;80:148-55.
20. Bernardo Á, Caro A, Martínez-Carballeira D, Corte JR, Vázquez S, Palomo-Antequera C, et al. Applicability of the thrombin generation test to evaluate the hemostatic status of hemophilia a patients in daily clinical practice. J Clin Med. 2022;11:3345.
21. Bowyer AE, Maclean RM, Kitchen S. The combination of emicizumab and recombinant factor VIII in plasma: which assays can we use for accurate measurement? Int J Lab Hematol. 2023;45:368-76.
22. Binder NB, Depasse F, Mueller J, Wissel T, Schwers S, Germer M, et al. Clinical use of thrombin generation assays. J Thromb Haemost. 2021;19:2918-29.
23. Cornette M, Monteyne T, De Kesel PM, Devreese KM. Thrombin generation measured by two platforms in patients with a bleeding tendency. J Thromb Haemost. 2021;19:1460-71.
24. Valke LL, Rijpma S, Meijer D, Schols SE, van Heerde WL. Thrombin generation assays to personalize treatment in bleeding and thrombotic diseases. Front Cardiovasc Med. 2022;9:1033416.
25. Velasco-Rodríguez D, Laso RV, García-Raso A, Mahíllo-Fernández I, Guzmán-López K, Martín-Herrero S, et al. Thrombin generation in subjects with lupus anticoagulant without prior thrombosis or gestational morbidities. Thromb Res. 2020;196:425-31.
26. Brocal I, Marco P, Lucas J, Verdú J, Tarín F. Thrombin generation test in patients under anticoagulant therapy with vitamin K antagonists. Thromb Haemost. 2009;101:594-5.
27. Metze M, Pfrepper C, Klöter T, Stöbe S, Siegemund R, Siegemund T, et al. Inhibition of thrombin generation 12 hours after intake of direct oral anticoagulants. Res Pract Thromb Haemost. 2020;4:610-8.
28. Pfrepper C, Metze M, Siegemund A, Klöter T, Siegemund T, Petros S. Direct oral anticoagulant plasma levels and thrombin generation on ST genesia system. Res Pract Thromb Haemost. 2020;4:619-27.
29. Vermeiren P, Vandevelde A, Peperstraete H, Devreese KM. Monitoring of heparin therapy beyond the anti-Xa activity assay: evaluation of a thrombin generation assay. Int J Lab Hematol. 2022;44:785-95.
30. Gomez-Rosas P, Pesenti M, Verzeroli C, Giaccherini C, Russo L, Sarmiento R, et al. Validation of the role of thrombin generation potential by a fully automated system in the identification of breast cancer patients at high risk of disease recurrence. TH Open. 2021;5:e56-65.
31. Ay C, Dunkler D, Simanek R, Thaler J, Koder S, Marosi C, et al. Prediction of venous thromboembolism in patients with cancer by measuring thrombin generation: results from the Vienna cancer and thrombosis study. J Clin Oncol. 2011;29:2099-103.
32. Norris LA, Ward MP, O'Toole SA, Marchocki Z, Ibrahim N, Khashan AS, et al. A risk score for prediction of venous thromboembolism in gynecologic cancer: the Thrombogyn score. Res Pract Thromb Haemost. 2020;4:848-59.
33. Velasco-Rodríguez D, Martínez-Alfonzo I, Velasco-Valdazo AE, Revilla N, Mahíllo-Fernández I, Askari E, et al. Enhanced thrombin generation detected with ST-genesia analyzer in patients with newly diagnosed multiple myeloma. J Thromb Thrombolysis. 2023;55:464-73.
34. Velasco-Rodríguez D, Martínez-Alfonzo I, Velasco-Valdazo AE, Domingo-González A, Revilla N, Mahíllo-Fernández I, et al. Significant attenuation of fully automated thrombin generation in newly diagnosed multiple myeloma patients after induction therapy. J ThrombThrombolysis. 2025;58:467-80.
35. Betticher C, Calderara DB, Matthey-Guirao E, Gomez FJ, Aliotta A, Lemmel E, et al. Global coagulation assays detect an early prothrombotic state in children with acute lymphoblastic leukemia. J Thromb Haemost. 2024;22:2482-94.
36. Ruiz-Llobet A, Gassiot S, Sarrate E, Zubicaray J, Rives S, Suleman W, et al. Thrombin generation profile using ST-genesia after PEG-asparaginase in pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia. Thromb Haemost. 2024;124:973-85.
37. Talon L, Sinegre T, Lecompte T, Pereira B, Massoulié S, Abergel A, et al. Hypercoagulability (thrombin generation) in patients with cirrhosis is detected with ST-genesia. J Thromb Haemost. 2020;18:2177-90.
38. Brodard J, Calzavarini S, Quarroz C, Berzigotti A, De Gottardi A, Angelillo-Scherrer A. Resistance to thrombomodulin correlates with liver stiffness in chronic liver disease a prospective single-center cohort study. Thromb Res. 2021;207:40-9.
39. Zermatten MG, Fraga M, Calderara DB, Aliotta A, Moradpour D, Alberio L. Biomarkers of liver dysfunction correlate with a prothrombotic and not with a prohaemorrhagic profile in patients with cirrhosis. JHEP Rep. 2020;2(4):100120.
40. Buffart B, Demulder A, Fangazio M, Rozen L. Global hemostasis potential in COVID-19 positive patients performed on St-genesia show hypercoagulable state. J Clin Med. 2022;11:7255.
41. Gris JC, Guillotin F, Dos Santos TP, Chéa M, Loubet P, Laureillard D, et al. Prognostic value of an automated thrombin generation assay in COVID-19 patients entering hospital: a multicentric, prospective observational study. Thromb Res. 2023;222:85-95.
42. Muys M, Demulder A, Besse-Hammer T, Ghorra N, Rozen L. Exploring hypercoagulability in post-COVID syndrome (PCS): an attempt at unraveling the endothelial dysfunction. J Clin Med. 2025;14:789.