

Hemostasia en neonatología: el laboratorio y sus dilemas

Hemostasis in neonates: laboratory dilemmas.

Vázquez A

Laboratorio de Hemostasia y Trombosis, Unidad de Hematología,
Hospital de Niños "Ricardo Gutierrez" . CABA

amandamartavazquez@gmail.com



TRASTORNOS DE
LA HEMOSTASIA
EN NEONATOS

HEMATOLOGÍA
Volumen 21 N° Extraordinario: 95-100
XXIII Congreso Argentino
de Hematología
Noviembre 2017

Palabras claves: hemostasia,
neonatos,
dilemas.

Keywords: haemostasis,
neonates,
dilemmas.

La hemostasia es un proceso activo que regula la formación y disolución del coágulo de fibrina preservando la integridad vascular y evitando tanto el sangrado como la trombosis.

Los componentes más importantes del sistema hemostático fueron descritos por Virchow en 1858 que, con su triada (pared vascular, componentes de la sangre y flujo sanguíneo), propone que la hemostasia es la interacción entre distintos componentes, cada uno con su fisiología particular.

Reconociendo la importancia de la pared vascular y su interacción con los componentes sanguíneos, aún estamos lejos de poder medirla e interpretarla.

Este sistema es complejo, dinámico, influenciado por la edad y comienza "*in útero*"⁽¹⁻²⁾.

El sistema hemostático no está totalmente desarrollado al nacer y madura a lo largo de la infancia. Tanto los neonatos pre-término como los de término nacen con niveles bajos de la mayoría de las proteínas pro coagulantes, incluyendo los factores de contacto y los dependientes de vitamina K, como así también la mayoría de las proteínas anticoagulantes. A pesar de este dinamismo, la hemostasia en fetos, neonatos y niños sanos puede considerarse fisiológica. Este fenómeno fue descrito por la Dra. M. Andrew en 1988.

De lo antedicho podemos deducir que la hemostasia en neonatos difiere de la de niños mayores y adultos, dando como resultado que los valores de muchas de las proteínas pro-coagulantes, anticoagulantes y

aquéllas involucradas en el mecanismo fibrinolítico, también dependan de la edad gestacional.

Aunque muchas veces caracterizado como “inmaduro”, el sistema neonatal está funcionalmente balanceado sin tendencia hacia la hemorragia o a la trombosis.

Casi tres décadas después de lo descrito por la Dra. M. Andrew, existen todavía problemas para entender este mecanismo edad-dependiente y sus implicancias.

La evaluación de neonatos con complicaciones hemorrágicas y/o trombóticas presentan aún problemas no encontrados en adultos.

Tener presente esta hemostasia dinámica optimiza el diagnóstico y promueve una visión diferente de la fisiopatología en las complicaciones hemorrágicas y trombóticas en esta etapa de la vida.

La vitamina K es esencial para la formación de los cofactores II, VII, IX y X, influenciando, de esta forma, el mecanismo extrínseco.

Los parámetros hemostáticos del recién nacido maduran durante la infancia hasta llegar a los valores del adulto a la edad aproximada de los 6 meses.

La fisiología normal del neonato le da a éste una mayor tendencia a la trombosis en el estado de enfermedad.

La sangre neonatal coagula más rápido que la de los adultos, aunque los test de rutina, especialmente el TTPA están prolongados. El recuento plaquetario es normal, la agregación está disminuida, pero el tiempo de sangrado está acortado⁽³⁾.

Un tema importante en la evaluación hemostática de un neonato es la hemostasia primaria⁽⁴⁾, formación del tapón plaquetario mediada por la interacción de las plaquetas y el endotelio dañado del vaso sanguíneo.

Los desafíos asociados con el estudio de la función plaquetaria en neonatos son:

- primero, la obtención del volumen adecuado para su estudio.
- segundo, no está clara la influencia de otras variables hemostáticas en el funcionamiento plaquetario.
- tercero, la mayoría de los estudios han utilizado sangre de cordón, más que periférica.

La suma de los resultados obtenidos demostraron una hipo-reactividad plaquetaria, pero no está claro si la función de las plaquetas de cordón representan

la verdadera funcionalidad de las plaquetas de los neonatos.

Para describir el funcionamiento plaquetario diferente en neonatos, algunos las denominan “*neonatelets*”⁽⁵⁾. La duración de este fenotipo, como así también el mecanismo de maduración hacia las plaquetas del adulto, no está claro.

El equilibrio en la función plaquetaria sería secundario a un aumento de FVW, como así también de multímeros de alto peso molecular, aumento de hematocrito y mayor volumen corpuscular medio, tanto en muestras de sangre de cordón como en periférica, estos efectos sumados mitigarían potencialmente, la naturaleza hipo-funcional de las plaquetas neonatales⁽⁶⁾.

Algunos trabajos “*in vitro*”⁽⁷⁾, transfundiendo plaquetas de adultos en sangre de neonatos, dieron como resultado un acortamiento del tiempo de oclusión (TO)⁽⁸⁾, a diferencia de la transfusión de plaquetas neonatales. Esto demuestra las diferencias entre la hemostasia primaria del adulto y del neonato.

Los recuentos de plaquetas bajos vistos en neonatos pre-término pueden deberse a la baja edad y peso gestacional que conllevan a una disfunción de los megacariocitos.

Los índices plaquetarios⁽⁹⁾ serían un marcador importante para la identificación de alteraciones hemostáticas en recién nacidos.

La toma de muestra⁽¹⁰⁾ es un punto importante en el estudio de estos pacientes. La mayoría de los laboratorios con 1 ml de sangre realizan las pruebas estándar (TP, TTPA y fibrinógeno), debemos tener en cuenta que si es necesario realizar otras determinaciones, se debe optimizar la muestra.

Entre los cuidados pre analíticos se debe evitar la contaminación con fluidos intravenosos y/o heparina. Si la sangre fluye lentamente podría activar el proceso de coagulación, dando como resultado el acortamiento de las pruebas (muestra activada).

Las plaquetas pueden agrumarse produciendo una trombocitopenia ficticia⁽¹¹⁾.

El citrato de sodio es afectado por el hematocrito aumentado que pueden tener los neonatos, resultando en una prolongación de los tiempos de coagulación.

Al estar los volúmenes de citrato cuidadosamente medidos, las muestras con un volumen por debajo o por encima del nivel de llenado, marcado en el tubo, deben ser descartadas.

El volumen de anticoagulante en el tubo de extrac-

ción debe basarse en el volumen de plasma y no en el volumen total de muestra.

En general, la razón más común por la cual el neonato desarrolla una coagulopatía es debida a una CID, secundaria a sepsis, enterocolitis necrotizante, asfixia, trauma, etc.

En neonatología la mayoría de las alteraciones de la hemostasia son adquiridas, pero puede presentarse, excepcionalmente, déficit congénito de algún factor de coagulación.

¿Cuándo es necesario estudiar la hemostasia en un neonato⁽¹²⁾?

1. Sangrado activo, por ejemplo hemorragia mayor, incluyendo hemorragia intraventricular (HIV) o hematomas importantes.
2. Encefalopatía isquémica por hipoxia (EIH), enterocolitis necrotizante (EN).
3. Evidencia de falla hepática aguda, desórdenes metabólicos (alteraciones del ciclo de la urea, galactosemia y acidosis orgánica).
4. Si necesita cirugía y posee problemas previos de sangrado.
5. Con historia familiar de enfermedad hemorrágica congénita (dependiendo del defecto del factor de coagulación, severidad de la deficiencia y la probabilidad de un diagnóstico preciso en el neonato).

Antes de tomar una decisión sobre el estudio en estos pacientes, es importante la discusión entre el neonatólogo y el hematólogo.

Ante un neonato con sangrado es importante conocer el estatus del paciente, es decir si el neonato es sano o enfermo. Esta información orienta sobre las determinaciones a realizar de manera de optimizar la muestra y sus resultados.

Un neonato sano puede sangrar por trombocitopenia inmune, déficit de vitamina K, déficit congénito de factores de coagulación, hemangiomas y/o malformación artero/venosa.

Un neonato enfermo sangra por CID, enterocolitis necrotizante, consumo de plaquetas (sin consumo de factores), falla hepática aguda, trauma, etc.

En un neonato el único signo de sangrado puede ser el shock y la palidez y los sitios comunes de hemorragia serían hemorragia intracraneal, hígado, riñón o hematoma adrenal. En estos casos las pruebas básicas de coagulación pueden ser normales.

En un paciente claramente séptico, las pruebas de

coagulación son usualmente anormales pudiendo mostrar signos de coagulación intravascular diseminada (CID).

En neonatología, los episodios trombóticos no son frecuentes⁽¹³⁾. El riesgo mayor está dado por el uso de catéteres implantables (Ej. umbilical).

Otros factores de riesgo incluyen sepsis, asfixia, hipotensión, deshidratación, diabetes o LES con anticuerpos antifosfolípidos de origen materno, etc.

La mayoría de los neonatos que desarrollan una trombosis tienen múltiples factores de riesgo coexistentes. Varios estudios de cohorte sugieren que los factores de riesgo congénitos no juegan un papel importante en la mayoría de los eventos trombóticos.

En el caso de la trombosis neonatal, el 90% está asociado a catéteres y el estudio de las proteínas trombofílicas, como así también los factores genéticos, no tienen indicación, excepto que involucren un beneficio médico.

Rango de normalidad

Es difícil, en esta población, establecer un rango normal para los distintos parámetros hemostáticos debido a la falta de evidencia robusta⁽¹⁴⁾.

Los datos disponibles sugieren que el rango del tiempo de protrombina (PT) y tiempo de trombo-plastina parcial activado (TTPA) es muy variable aun en estudios multicéntricos^(15,16).

Algunos informes son artículos de 46 neonatos, sin seguimiento. Para el TTPA hay falta de evidencia con solamente 3 estudios con menos de 100 neonatos, uno de 1978 y un retrospectivo.

Cambios en los niveles de los factores de coagulación pueden ocurrir en respuesta al estrés o a la enfermedad. En los pacientes críticamente enfermos, debemos tener en cuenta la endotelopatía inducida por shock (SHINE) (séptico, traumático, cardiogénico, etc.)⁽¹⁷⁻¹⁹⁾.

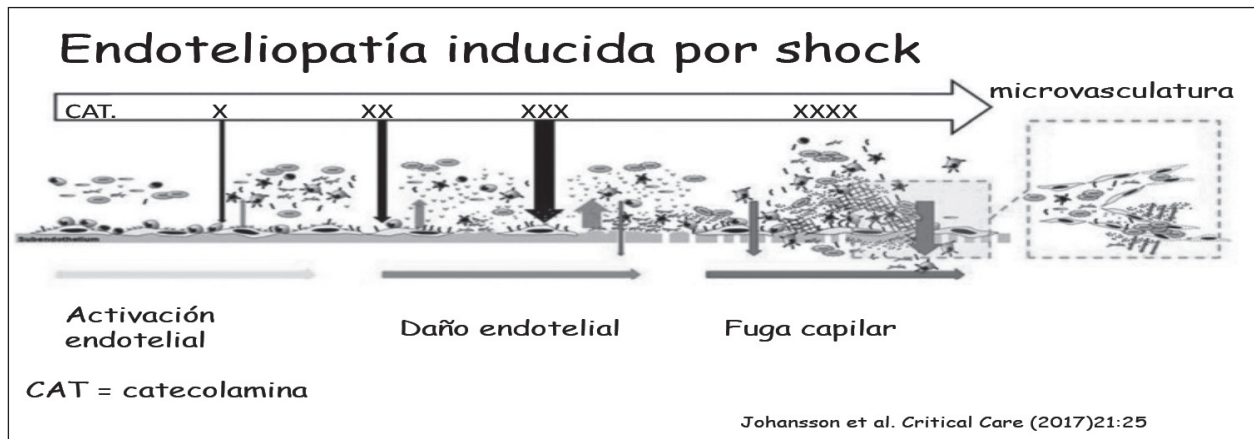
En estudios de pacientes con trauma, el aumento del índice de severidad del daño (ISS) está asociado con una hipocoagulabilidad progresiva. Algunos trabajos proponen que la coagulopatía observada en estos pacientes sería un mecanismo compensatorio que equilibra el estado pro-trombótico inducido por el shock en el endotelio de la microvasculatura de manera de asegurar una buena perfusión de los distintos órganos.

El daño endotelial sistémico sería la causa del desa-

rollo de la falla orgánica, asociada a un pobre pronóstico en la enfermedad crítica.

El endotelio, normalmente anticoagulante, se transforma, mediante un mecanismo de activación simpático-adrenal con aumento de catecolaminas, en pro-trombótico, dando como resultado coagulopatías con daño multiorgánico y aumento de la mortalidad.

El shock y sus efectos sobre el sistema simpático-adrenal, el endotelio, incluyendo el glicocalix y las células hemostáticas circulantes, dan como resultado este fenotipo que caracteriza las condiciones clínicas de los pacientes que sufren una condición crítica aguda, independiente del tipo de daño que provoque esta condición.



Esta endoteliopatía no se puede detectar con las pruebas realizadas en un laboratorio de hemostasia. Estos cambios requieren mayor investigación.

Otro punto a tener en cuenta es que las determinaciones de laboratorio son reactivo y equipo dependientes. Es difícil para un laboratorio definir los rangos de referencia debido a dificultades éticas para recolectar muestras de neonatos sanos.

Los datos publicados por las sociedades American Society of Hematology (ASH), International Society of Thrombosis and Haemostasis (ISTH), United Kingdom Blood Transfusion Service Handbook (UKBTS), deben ser interpretados con cuidado al evaluar la hemostasia de un neonato enfermo.

Para entender las alteraciones hemostáticas y su diagnóstico exacto en neonatología se debe tener en cuenta la influencia de la “hemostasia dinámica”.

A pesar de los bajos niveles de la mayoría de las proteínas coagulantes y anticoagulantes, existe entre ellas un equilibrio. La modificación de este equilibrio, debido a deficiencias congénitas en neonatos sanos o adquiridas en neonatos enfermos, lleva a una situación patológica que puede desencadenar una hemorragia o una trombosis.

En cuanto a las nuevas tecnologías^(20,21), tromboelastografía (TEG) y potencial endógeno de trombina (PET), no están totalmente probadas en esta población.

Tromboelastografía: baja sensibilidad a los cambios relacionados con la edad.

Respecto a los valores de referencia en neonatología, ya existen trabajos con un número importante de neonatos.

A pesar de ser entre el 20 a 30% más bajo que en adultos, los niveles de los factores de coagulación parecerían ser adecuados para la formación del coágulo en neonatos sanos.

Los parámetros que miden la formación del coágulo en neonatos, tanto de término como de pre término, correlacionan con la edad gestacional. El valor predictivo de los test que miden la formación del coágulo en esta población requiere la realización de más estudios.

Potencial endógeno de trombina: los sustratos cromogénicos y fluorogénicos comerciales para la determinación del PET son clivados por la α -2 macroglobulina (A2M), tanto libre (activa) como unida (inactiva) a trombina, dando como resultado una sobreestimación del PET.

Los métodos comerciales determinan la trombina utilizando un algoritmo matemático que asume la contribución de A2M al PET⁽²³⁾.

Esto limita la aplicación de esta metodología a poblaciones donde se observan variaciones en los niveles de A2M, como es el caso de los neonatos.

La generación de trombina (GT) en neonatos, niños y adolescentes es menor comparada con la de los

adultos. Esto se debe a la mayor inhibición de la trombina por un aumento de la actividad de la A2M. Para confirmar el valor predictivo de las nuevas tecnologías en neonatología deben realizarse estudios basados en el sistema hemostático dinámico de esta población.

Existen algunos trabajos con valores de referencia en pediatría, pero no en neonatos.

Como conclusión podemos decir que el concepto de “coagulopatía neonatal” tiene un enorme impacto, tanto en el diagnóstico como en el tratamiento de eventos hemorrágicos o trombóticos en neonatología, y que el papel del laboratorio debe ser lo más ajustado a la necesidad del paciente (diagnóstico, tratamiento, pronóstico). El resultado anormal de un test no es suficiente para definir enfermedad. El resultado normal no excluye enfermedad⁽²⁴⁾.

Condiciones pre analíticas, optimización de muestra, rangos de referencia apropiados (edad, equipo y reactivo dependientes), enfermedad de base y tratamiento de la enfermedad de base se deberán tener en cuenta a fin de interpretar correctamente los resultados.

Declaración de conflictos de interés:

La autora declara que no posee conflictos de interés.

Bibliografía

- Guzzetta N, Miller B. Principles of hemostasis in children: models and maturation. *Pediatric Anesthesia*. 2011; 21: 3-9.
- Andrew M, Paes B, Milner R y col. Development of the human coagulation system in the healthy premature infant. *Blood*. 1988; 72: 1651-7.
- Motta M., Russo F.G. Developmental haemostasis in moderate and late preterm infants. *Italian Journal of Pediatrics*. 2014, 40(Suppl 2):A38.
- Strauss T, Sidlik-Muskatel R, Kenet G. Developmental hemostasis: primary hemostasis and evaluation of platelet function in neonates. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2011; 16:301-4.
- Haley K, Recht M and McCarty O. Neonatal platelets: mediators of primary hemostasis in the developing hemostatic system. *Pediatric Research*. 2014; 76 : 233-7.
- Israels SJ, Cheang T, McMillan-Ward EM, Cheang M. Evaluation of primary hemostasis in neonates with a new in vitro platelet function analyzer. *J Pediatr*. 2001;138:116-9.
- Ferre-Marin F, Lampa M, Michelson A y col. Effects of *in-vitro* adult platelet transfusions on neonatal hemostasis. *J Thromb Haemost*. 2011; 9: 1020-28.
- Saxonhouse MA, Garner R, Mammel L y col. Closure times measured by the platelet function analyzer PFA-100 are longer in neonatal blood compared to cord blood samples. *Neonatology*. 2010; 97:242-9.
- Sandeep M, Thammanna P, Sridhar P. Platelet Indices in Preterm Neonates: A Prospective Study International. *Journal of Scientific Study*. 2015; 7: 237-40.
- Rahman S, Adams M, Connor P. The haematologist in neonatology I. Thrombocytopenia, thrombosis and haemostasis in the neonate. *Paediatrics and Child Health*. 2009; 19: 358-63.
- Williams M. Guideline. The investigation and Management of Neonatal Haemostasis and Thrombosis. *BJH*. 2002; 119: 295–309.
- Natti S and Barr S. Wales Neonatal Network Guideline. UKBTS Review. Date: June 2016.
- Raffini L, Thornburg C. Testing children for inherited thrombophilia: more questions than answers. *BJH*. 2009; 147: 277-288.
- Toulon P, Berruyer M y col. Age dependency for coagulation parameters in paediatric populations. Results of a multicentre study aimed at defining the age-specific reference ranges. *Thrombosis and Haemostasis*. 2016; 116: 9-15.
- Revel-Vilk S. The conundrum of neonatal coagulopathy. *ASH Education Book*. 2012; 1: 450-454.
- Monagle P, Ignjantovic V, Savoia H. Hemostasis in neonates and children: Pitfalls and dilemmas. *Blood Review*. 2010; 24: 63-68.
- Johansson P y col. Shock Induced Endotheliopathy (SHINE) in acute critical illness- a unifying pathophysiologic mechanism. *Critical Care*. 2017; 21: 25: 1-7.

18. Angus DC, van der Poll T. Severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med.* 2013;369(9):840-51.
19. Devreese K., Russo FG. Interference of C-reactive protein with clotting times. *Clin Chem Lab Med.* 2015; 53: 141-5.
20. K Sewell E, Forman K y col. Thromboelastography in term neonates: an alternative approach to evaluating coagulopathy. *ADC Fetal & Neonatal Edition.* 2017;102.
21. Sokou R, Konstantinidi A y col Thromboelastography: Reference Values and Appliance in Clinical Neonatology. *Amer Perinatol.* 2016; 33-A029. Congress Abstract.
22. Ignjatovic V, Greenway A, Summerhayes R, Monagle P. Thrombin generation: the functional role of alpha-2-macroglobulin and influence of developmental haemostasis. *Br J Haematol.* 2007;138(3):366-8.
23. Haidl H, Cimenti C, Leschnik B, Zach D and Muntean W. Thrombin Generation is Age-Dependent in Children as well as in Adults. 36th Hemophilia Symposium. Hamburg 2005 Springer Medizin Verlag Heidelberg 2007.
24. Santosh S, Rohith J y col. Neonatal Hemostatic Disorders: Issues and Challenges. *Semin Throm.* 2016; 42: 741-751.