

Desde el laboratorio: la trombofilia hereditaria en 2018

From laboratory: inherited thrombophilia in 2018

Cerrato G

Laboratorio Hidalgo, Martínez, Provincia de Buenos Aires

graciela.cerrato@laboratoriohidalgo.com



SIMPOSIO CON OTRAS
ESPECIALIDADES PARTE II
OBSTETRICIA Y MEDICINA
REPRODUCTIVA

HEMATOLOGÍA
Volumen 22 • Número Extraordinario
XIII Congreso del Grupo CAHT: 153-158
Septiembre 2018

Palabras claves: trombofilia hereditaria,
tromboembolismo venoso,
laboratorio diagnóstico para trombofilia.

Keywords: inherited thrombophilia,
venous thrombo-embolism,
laboratory investigation of inherited thrombophilias.

Para poder realizar una puesta al día del tema trombofilia hereditaria desde el laboratorio, debemos poder cumplir 3 objetivos. Reafirmar todos aquellos conceptos, metodologías y sugerencias que aún siguen vigentes; depurar todo aquello que al momento actual pueda demostrarse que ya no es útil o entró en desuso y, finalmente, incorporar nuevos hallazgos, criterios y técnicas que permitan el avance sostenido en la especialidad.

Trombofilia hereditaria

El término trombofilia define a un desorden de la hemostasia que predispone al desarrollo de trombosis y representa uno de los componentes de la triada de Virchow descrita en 1856, junto con las condicio-

nes del flujo sanguíneo y las alteraciones de la pared vascular.

Tales anomalías trombofílicas pueden ser hereditarias o adquiridas, a pesar de que en ambos casos, existen factores ambientales que pueden influenciar en el desarrollo de eventos trombóticos.

En las últimas décadas el reconocimiento de varios factores de riesgo trombofílicos hereditarios ha incrementado notablemente nuestro conocimiento sobre la patogénesis del trombo embolismo venoso (TEV), aunque a pesar de ello sólo se justifican y explican aproximadamente el 50% de los casos.

En la actualidad los principales factores de riesgo hereditarios aceptados como factores predisponentes al desarrollo de trombosis venosa (no arterial)

incluyen a las deficiencias de los principales inhibidores fisiológicos de la coagulación, antitrombina (AT), proteína C (PC) y proteína S (PS), y a los polimorfismos genéticos con ganancia de función, factor V Leiden (FVL) y mutación del gen de la protrombina (MGP).

Las deficiencias de AT, PC y PS son raras y pueden ser identificadas dentro de familias seleccionadas con una fuerte historia de trombosis; están presentes en menos del 0,5% de la población general, pero se asocian con una tendencia trombofílica severa.

Por otro lado, las mutaciones FVL y MGP son relativamente más comunes (aproximadamente entre el

3 y el 9% de la población general occidental, aunque con significativas variaciones dependiendo de los grupos étnicos), pero se asocian con una tendencia trombofílica menor.

Existen a su vez otras diferencias entre ellas: mientras el TEV asociado a la deficiencia de AT, PC y PS tiende a presentarse en edades tempranas (menos de 50 años), el TEV asociado con la presencia de FVL y MGP puede manifestarse tardíamente y asociarse con otros factores de riesgo adquiridos y transitorios (cirugías, traumas, embarazo).

La mayoría de las trombofilias hereditarias son defectos heterocigotas.

Tabla 1. Datos epidemiológicos y asociación con el riesgo de TEV en los principales defectos trombofílicos hereditarios.

| Trombofilia | Prevalencia % | | Primer evento | | TEV recurrente |
|-------------|---------------|-------|---------------|------------|----------------|
| | Pobl. general | TEV | RR | Inc. Anual | RR |
| Def de AT | 0.02-0.2 | 1-2 | 5-8 | 1-4 | 0.5 |
| Def de PC | 0.2-0.4 | 2-5 | 5-8 | 1-2 | 2.5 |
| Def de PS | <0.5 | 1-3 | 1.7-8 | 0,7-2 | 2.5 |
| FVL AG | 3-7 | 12-20 | 4.9-9.7 | 0.19-0.67 | 1.3 |
| FVL AA | 0.02 | 1.5 | 40-80 | - | - |
| MGP | 1-3 | 3-8 | 1.9-3.8 | 0.13 | 1.4 |
| FVL + MGP | 0.01 | - | 20-58,6 | 0.57 | 2.5 |

Antitrombina: de las trombofilias hereditarias es la más trombogénica. Se han identificado más de 250 mutaciones en su gen, y usualmente se heredan de forma autosómica dominante. La deficiencia homocigota de AT es incompatible con la vida.

Proteína C: se han identificado aproximadamente 161 mutaciones heterogéneas en el gen de la PC que causan pérdida de función y bajos niveles en plasma, y se heredan de forma autosómica dominante. La deficiencia homocigota, a diferencia de la de AT, es viable pero produce una forma de púrpura neonatal grave o fulminante.

Proteína S: se han identificado más de 130 mutaciones que conducen al déficit de esta proteína, y al igual que en el caso de la PC se heredan de manera autosómica dominante.

Los estudios clínicos y epidemiológicos sobre la prevalencia de estos estados, así como su asociación con el desarrollo de trombosis, han conducido a definir la naturaleza multifactorial del TEV, ya que podría ser el resultado de interacciones genéticas entre sí, o genéticas con el entorno.

De acuerdo a este modelo la trombofilia hereditaria interactúa con múltiples factores predisponentes adquiridos para desarrollar TEV (posiblemente modificables o prevenibles), entre ellos la edad, las enfermedades malignas, los estados inflamatorios, la presencia de anticuerpos antifosfolípidos, las cirugías y traumas, la inmovilidad, el embarazo y puerperio, el uso de contraceptivos orales, la terapia de reemplazo hormonal, la obesidad, las infecciones severas y ciertas anomalías venosas.

En virtud de lo expresado hasta aquí, podremos ir detallando los pasos a seguir para realizar la investigación de individuos portadores de tales trombofilias, teniendo en cuenta los conocimientos reunidos hasta el presente. Dicho algoritmo deberá incluir:

- 1- Qué pacientes estudiar
- 2- Qué estudios realizar
- 3- En qué momento estudiar y cuándo no es conveniente hacerlo
- 4- Cómo diagnosticar las diferentes trombofilias hereditarias
- 5- Cómo interpretar los resultados

Qué pacientes estudiar

Los pacientes con TRF hereditaria pueden ser identificados por el especialista, por su historia personal y familiar de TEV, aún sin todavía conocer el resultado de los estudios. Las situaciones clínicas a tener en cuenta son:

- Trombosis antes de los 50 años de edad (especialmente si está asociada con un factor desencadenante débil o es idiopática).
- Primer evento con fuerte historia familiar de trombosis (en familiares de primer grado y afectados en edades tempranas).
- Trombosis recurrente especialmente en personas jóvenes.
- Trombosis venosa en sitios inusuales (hepática, mesentérica, esplénica, portal o cerebral).
- Severidad del evento (trombosis extensa o trombo embolismo pulmonar bilateral).

Un punto a tener en cuenta en la estimación del riesgo asociado con las trombofilias hereditarias es el caso de los pacientes asintomáticos, en los cuales el riesgo absoluto depende no sólo de la identificación de la trombofilia, sino también si tienen o no historia familiar de trombosis, lo que parece ser en sí mismo un factor de riesgo para TEV. En las familias portadoras de trombofilia hereditaria, aquellos miembros en los cuales no se ha identificado el defecto tienen, a pesar de ello, un mayor riesgo de TEV que la población general. Este hallazgo sugiere la presencia de algún otro factor de riesgo hereditario o adquirido en tales familias, que hasta el momento y por las técnicas corrientes no haya sido posible identificar.

Cuándo evaluar y cuándo no

- No estudiar en el momento agudo del episodio TEV.

Los resultados de los estudios de trombofilia raramente cambiarán la decisión clínica acerca del tratamiento indicado para la trombosis recientemente instaurada. La principal complicación de realizar los estudios en esta etapa es la frecuente mala interpretación de los mismos, que conduce a una indicación inadecuada de anticoagulación o a la prolongación indefinida de la misma, cuando quizás no fuera necesario. Esto es debido a que en el período agudo las condiciones del sistema de coagulación no son las basales, entre otras cosas por la influencia de estados inflamatorios y por el

consumo de algunos componentes.

En base a las actuales evidencias surgidas de varios estudios epidemiológicos, no se aconseja evaluar si el TEV fue provocado por un factor de riesgo externo fuerte asociado (traumatismo importante, cirugía mayor, inmovilización prolongada, enfermedades graves).

- No estudiar mientras el paciente está recibiendo tratamiento anticoagulante.

Un individuo con una trombosis aguda requiere terapia anticoagulante intensiva independientemente de la causa de la trombosis. Estudios tales como AT, PC y PS o resistencia a la proteína C activada (RPCA) realizados en este momento pueden aparecer falsamente alterados debido a las modificaciones habituales de la fase aguda y a la interferencia que producen los diferentes anticoagulantes empleados durante esta etapa.

La heparina puede disminuir los niveles de AT en plasma por consumo, mientras que los anticoagulantes orales antagonistas de la vitamina K disminuyen los niveles de PC y PS, debido a que ambas proteínas son vitamina K dependientes.

En los últimos años con la introducción de los antitrombóticos (dabigatrán) y los antiXa directos (rivaroxabán, apixabán) se sumaron nuevos efectos interferentes sobre los ensayos utilizados para el diagnóstico, siendo necesario en ciertos casos que el laboratorio entregue instrucciones precisas sobre qué estudios no pueden realizarse durante dichos tratamientos, ya que eso depende de la metodología empleada para la evaluación.

Para realizar los estudios de trombofilia, en particular PC y PS, los dicumarínicos y la warfarina deben suspenderse entre 7 y 10 días antes de la extracción, mientras que en el caso de los anticoagulantes directos alcanza con suspenderlos un mínimo de 3 días, ya que poseen una vida media corta y ese plazo sería suficiente (siempre y cuando el paciente no haya hecho acumulación de droga). Si el riesgo de recurrencia fuera muy elevado como para indicar la interrupción del tratamiento, sólo podrán realizarse los estudios en material genético.

- Conocer el estatus clínico del paciente al momento del estudio.
Ciertas condiciones clínicas pueden alterar los en-

sayos empleados para realizar la identificación de la trombofilia.

En la CID y la enfermedad hepática los niveles de los anticoagulantes naturales pueden estar disminuidos. La AT disminuye en el síndrome nefrótico por pérdida urinaria, y los niveles de PS pueden verse disminuidos por el uso de ciertas preparaciones hormonales que contengan estrógenos; además la PS disminuye siempre desde etapas tempranas del embarazo, como parte de las modificaciones fisiológicas del mismo.

Los neonatos tienen bajos niveles de AT, PC y PS, los que alcanzan los valores del adulto entre los 3 y 6 meses (aunque la PC puede permanecer ligeramente disminuida hasta la adolescencia).

Qué estudios solicitar

Las trombofilias hereditarias consideradas como factores de riesgo fuertes e independientes en su capacidad para desarrollar eventos TEV, y cuyas mutaciones han sido identificadas con una frecuencia razonable dentro de la población general son:

- Deficiencias de los anticoagulantes naturales PC, PS y AT.
- Mutaciones con ganancia de función: factor V Leiden y mutación del gen de la protrombina.

Las metodologías de estudio elegidas inicialmente en los casos de investigación de las deficiencias de PC, PS y AT son las técnicas funcionales, que evalúan la actividad de cada una de estas proteínas en el plasma. Se han desarrollado ensayos por coagulación y ensayos por sustratos cromogénicos, aunque por varias razones metodológicas suelen ser más convenientes éstos últimos; esto aplica para los casos de la AT y PC.

Para la evaluación de la PS también contamos con técnicas funcionales por coagulación y técnicas antigénicas que frecuentemente evalúan los niveles de PS libre. En la actualidad el ensayo más difundido es el inmunoturbidimétrico.

La evaluación de la resistencia a la proteína C activada (RPCA) se utiliza como ensayo funcional de la expresión fenotípica de la mutación genética FVL, tanto en su forma modificada con el agregado de plasma deficiente en factor V, como sin el agregado del mismo.

La confirmación de la presencia de la mutación se realiza a través de una PCR.

Finalmente, en el caso de la MGP, sólo disponemos de estudios en material genético a través de la identificación de la mutación por medio de una PCR. La cuantificación de los niveles de factor II por las técnicas convencionales de coagulación no es lo suficientemente sensible como para detectar los incrementos en el mismo, asociados a la presencia de la mutación.

Todos estos estudios están reservados a laboratorios de mediana complejidad y/o especializados en hemostasia, ya que requieren del manejo de métodos específicos, muchos de los cuales hoy en día son automatizados y cuyas plataformas de trabajo deben estar estrictamente controladas, entre otras cosas, por programas de calidad desarrollados específicamente para tal fin.

La investigación de la actividad de factores VIII, IX y XI, de la actividad o niveles antigénicos de PAI-1 y el polimorfismo del promotor del gen 4G/5G aún no han podido ser claramente definidos como factores de riesgo independientes. Los polimorfismos de la MTHFR (677CT y 1298AC) que se encuentran presentes en aproximadamente el 45% de la población general, dependiendo de los grupos étnicos, no están asociados con el incremento de riesgo de trombosis tanto para un primer evento como para su recurrencia.

Otra situación para tener en cuenta en la interpretación de los resultados de las técnicas que expresan un rango de referencia normal (RRN), como por ejemplo en las técnicas para evaluar AT, PC y PS, es que frecuentemente están definidos con intervalo de confianza del 95%; esto significa que dicho RRN incluye al 95% de la población normal, quedando un 5% de la misma fuera de dicho rango. En el caso de las determinaciones de estas tres proteínas inhibitoras sólo tienen valor clínico las deficiencias, o sea que un 2.5% de la población sana podría arrojar resultados “falsamente patológicos”, y si se tienen en cuenta las 3 trombofilias hereditarias evaluadas, este valor oscilaría entre 6 y 7%.

Así, el riesgo de falsas deficiencias es similar a la probabilidad de identificar una verdadera deficiencia en casos seleccionados de TEV, y se incrementa en 10 veces la chance de identificar una deficiencia en la población normal (<0.5%).

Para el caso particular de la PS, hay un estudio clínico que define su deficiencia cuando el porcentaje de actividad está por debajo del 40%.

Finalmente, las evidencias sugieren que existe muy poca o casi ninguna contribución de las trombofilias hereditarias al desarrollo de trombosis arterial. Por lo tanto, ninguno de estos estudios debe solicitarse en el caso de infarto agudo de miocardio, accidente cerebro vascular o trombosis arterial periférica.

Trombofilia hereditaria y embarazo

Trombosis y embarazo

Existen numerosos cambios procoagulantes fisiológicos durante el embarazo. Entre ellos podemos mencionar el incremento en los niveles de fibrinógeno, factor von Willebrand, y factores II, VII, VIII, X; disminución en los niveles fisiológicos de anticoagulantes naturales, tales como PS, y un incremento en la resistencia a la PC activada. Por lo tanto el embarazo está asociado con un potencial procoagulante aumentado, una disminución en la actividad anticoagulante y una fibrinólisis disminuida.

Los datos actuales sugieren que por lo menos el 50% de los eventos trombóticos durante el embarazo están asociados con trombofilias. Además, estas últimas han sido asociadas con otras complicaciones obstétricas tales como pérdidas recurrentes de embarazo, muerte fetal intrauterina, preeclampsia, y retardo de crecimiento fetal, aunque existe mucha controversia entre las diferentes series de estudios.

En este punto una vez más es importante ser capaz de identificar cuáles son las pacientes que deberían ser estudiadas, cuáles no, y qué estudios solicitar en cada caso. El chequeo para trombofilia hereditaria debería ser considerado en mujeres con historia personal de TEV sin factor desencadenante o con familiares directos con trombofilia identificada. Aquellas mujeres con historia personal de trombosis pero asociadas a fracturas, cirugías o inmovilización prolongada no deberían ser estudiadas rutinariamente.

En todos los casos las trombofilias hereditarias a evaluar incluyen las detalladas previamente y, por supuesto, teniendo en cuenta de no estudiarlas durante el embarazo, dentro de los 3 meses de un episodio agudo de trombosis o durante el tratamiento anticoagulante. Las investigaciones en material genético para identificar FVL y MGP pueden ser realizadas en cualquier momento.

Existen evidencias de que el 44% de las pacientes que presentan TEV durante el embarazo o postparto portan la mutación FVL y la mayoría de ellas son heterocigotas. En las mujeres embarazadas, hetero-

cigotas para FVL, que nunca han hecho trombosis ni presentan antecedentes familiares, el riesgo de presentar un TEV oscila entre 0,5 y 1,2%. En las homocigotas este riesgo asciende a 4%.

El riesgo de trombosis durante el embarazo se incrementa en aquellas mujeres con historia personal de TEV hasta un 10% en las portadoras heterocigotas de FVL y hasta 17% en las homocigotas.

Complicaciones obstétricas

En este caso, a diferencia de las pacientes con historia personal de TEV, existe bastante controversia sobre la realización de estudios de trombofilia hereditaria en mujeres que hayan presentado complicaciones obstétricas, y no existen datos suficientes que sugieran causalidad entre la presencia de trombofilia hereditaria y dichas complicaciones.

- **Pérdidas de embarazos:** los primeros meta análisis realizados sobre este tema sugerían una asociación entre trombofilia hereditaria y pérdidas de embarazo. Pero la mayoría incluía estudios muy pequeños en tamaño, retrospectivos y con limitaciones para su interpretación.

En dos estudios recientes, multicéntricos, prospectivos observacionales, no se encontró asociación entre la MGP y el FVL, con las pérdidas de embarazo.

A pesar de que hacen falta más estudios randomizados sobre este tópico, la fortaleza de las nuevas evidencias sugiere que no existe asociación entre trombofilia hereditaria y pérdidas de embarazo, tempranas o tardías. Además, en el caso de ambas mutaciones, las asociaciones halladas podrían deberse a la relativa alta frecuencia en la población general, y no reflejar una causalidad.

- **Preclampsia:** la asociación entre preclampsia y trombofilia hereditaria es aún más controvertida. Hay un estudio prospectivo que muestra que en las mujeres que padecieron esta complicación no hay diferencias significativas en la detección de FVL; otro estudio prospectivo demuestra que existen porcentajes similares de FVL y MGP en mujeres con preclampsia comparados con la población general.

Por ende no pudo demostrarse con los datos de los estudios realizados hasta el presente que exista asociación entre preclampsia y trombofilia hereditaria.

- **Detención del crecimiento intrauterino:** la mayoría de los estudios llevados a cabo no han podido demostrar que el riesgo de esta complicación sea mayor en mujeres con trombofilia hereditaria. A pesar de que los datos son conflictivos, no ha habido hasta el presente estudios bien diseñados para poder determinar causalidad.

Declaración de conflictos de interés:

La autora declara que no posee conflictos de interés.

Bibliografía

1. MacCallum P, Bowles L, Keelin D. Diagnosis and management of heritable thrombophilias. *BJM*. 2014; 349: g4387.
2. Connors JM. Thrombophilia Testing and Venous Thrombosis. *N Engl J Med*. 2017; 377: 1177-87.
3. Franchini M. The utility of thrombophilia testing. *Clin Chem Lab Med*. 2014; 52 (4): 495-497.
4. Pintao MC, Ribeiro DD, Bezemer ID, García AA, de Visser MC, Doggen CJ. Protein S levels and the risk of venous thrombosis: results from the MEGA case-control study. *Blood*. 2013; 122: 3210-9.
5. Louis-Jacques AF, Maggio L, Romero S. Prenatal Screening for Thrombophilias. Indications and Controversies, an Update. *Clin Lab Med*. 2016; 36: 421-434.
6. Shen YM, Tsai J, Taiwo E y col. Analysis of Thrombophilia Test Ordering Practices at an Academic Center: A proposal for Appropriate Testing to Reduce Harm and Cost. *Plos One*. 2016 11(5); DOI: 10.1371.
7. Favaloro EJ. The futility of thrombophilia testing. *Clin Chem Lab Med*. 2014; 52(4): 499-503.
8. Liatsikos SA, Tsikouras P, Manav B y col. Inherited thrombophilia and reproductive disorders. *J Turk Ger Gynecol Assoc*. 2016; 17: 45-50.