

# Investigación en el laboratorio de los estados trombofílicos

Martinuzzo M, Forastiero R, Kordich L.



## ACTUALIZACION EN LABORATORIO HEMATOLOGICO

Hematología . Instituto Cardiología y Cirugía Cardiovascular. Fundación Favaloro.  
Departamento Química Biológica. Facultad de Ciencias Exactas. UBA

HEMATOLOGIA, Vol. 3 N° 1: 24-27  
Enero - Abril, 1999

### CONSIDERACIONES GENERALES

La trombosis es una patología que afecta tanto a jóvenes como a personas añosas. La incidencia de los distintos tipos de trombosis varía según la edad, el sexo y la presencia de otros factores de riesgo trombofílico.

El estado trombofílico puede ser por alteración genética en cuyo caso se habla de trombofilia familiar, o puede deberse a situaciones predisponentes adquiridas dando lugar a la trombofilia adquirida. Se define a la trombofilia familiar como una tendencia genéticamente determinada al tromboembolismo venoso. Previamente se ajustaba la definición de trombofilia sólo a un grupo de pacientes con trombosis atípica como son aquellos que la desarrollan a edad temprana, con recurrencias frecuentes, con historia familiar importante, con localización inusual, migratoria o con severidad desproporcionada. Pero en la mayor parte de los pacientes la trombosis es episódica, con períodos prolongados asintomáticos, quizá a través de la interacción del individuo con su entorno o con factores de riesgo fisiológicos o patológicos.

### FACTORES DE RIESGO PARA TROMBOEMBOLISMO VENOSO

La tabla I muestra los factores de riesgo más importantes para el desarrollo de trombo-embolismo venoso (TV)

TABLA I  
FACTORES DE RIESGO DE TROMBOEMBOLISMO VENOSO

Edad > 40 años
Obesidad
Neoplasia
Cirugía
Inmovilización
Embarazo y puerperio
Ingesta de anticonceptivos orales o terapia estrogénica
Fractura
Trauma
IAM
Diabetes
Enfermedad obstructiva respiratoria crónica

Dentro de los factores de riesgo genéticos o adquiridos que deben ser evaluados en un paciente con TV los más importantes por frecuencia y por haber demostrado ser factores de riesgo independientes para el TV se observan en la Tabla II.

Otros candidatos a ser factores de riesgo genético por estudios publicados de familias trombofílicas pero que no han demostrado fehacientemente su poder como factores de riesgo independiente para TV son: deficiencia de plasminógeno, del cofactor II de la heparina, del factor XII y de la  $\beta_2$  glicoproteína I. También las mutaciones en la trombosmodulina, los niveles elevados de glicoproteína rica en histidina, del inhibidor del activador tisular del plasminógeno (PAI-I), alteraciones del receptor endotelial de la pro-

TABLA II  
FACTORES DE RIESGO

Genéticos	Adquiridos
Mutación del factor V: Q <sup>506</sup> o factor V Leiden	Anticuerpos antifosfolípido-proteína Anticoagulante lúpico.
Deficiencia funcional de proteína C	Hiperhomocisteinemia (por deficiencia de ácido fólico, vitamina B12 o B6; o por ingesta de medicaciones que interfieren con el ciclo de los folatos como el metotrexato o los anticonvulsivantes)
Deficiencia funcional de proteína S	Niveles elevados de factor VIII (¿genético o adquirido?)
Deficiencia funcional de antitrombina III	Investigación sistemática de la presencia de neoplasia.
Hiperhomocisteinemia (Por mutación en la cistationin b-sintetasa o polimorfismo de la variante termolábil de la metilen tetrahidrofolato reductasa)	Investigación particular de síndrome mieloproliferativo para trombosis con ciertas localizaciones (S. Budd-Chiari)
Variante alélica del gen de la protrombina 20210 A	
Disfibrinogenemia trombótica	
Niveles elevados de factor VIII (¿genético o adquirido?)	

teína C activada y de la liberación de tPA pueden ser responsables de algunos estados tombofílicos.

**EVALUACIÓN DEL ESTADO TROMBOFÍLICO: ¿A QUÉ PACIENTE, CUÁNDO Y COMO?**

La pregunta que merece plantearse es ¿Debe ser estudiado todo paciente que ha tenido un episodio trombótico agudo? Dado que la incidencia de la enfermedad en Occidente es alta esto conllevaría un impacto importante en los recursos de la seguridad social. La identificación de trombofilia se realiza fundamentalmente para tomar conductas profilácticas y/o terapéuticas importantes ante situaciones predisponentes en aquellos portadores de la alteración (pacientes o familiares). Deben primar en la decisión de realizar el estudio, además las características ya mencionadas de edad temprana del evento (< 45 años), la localización inusual, la historia familiar, la severidad de la enfermedad, etc.

La tabla III esquematiza la clase de pacientes que deben ser considerados para un estudio de trombofilia:

Una vez reconocido el defecto, si este es congénito se aconseja el estudio familiar para confirmar el origen genético de la alteración y además para identificar a los portadores sanos de la alteración y hacer correcta profilaxis en los mismos. Tiene sentido entonces la realización del estudio familiar, cuando

TABLA III  
PACIENTES QUE DEBEN SER EVALUADOS características

Historia familiar de TV
Trombosis idiopática recurrente
Edad temprana del primer episodio
Trombosis después de situaciones predisponentes leves
Asociación de trombosis venosa y arterial
Asociación de trombosis con pérdidas fetales recurrentes
Trombosis en sitios inusuales
Necrosis de piel inducida por anticoagulantes orales
Púrpura fulminante del neonato

la conducta terapéutica a tomar con el paciente pueda modificarse o si tiene miembros de la familia jóvenes asintomáticos en los que conviene tomar medidas profilácticas ante la exposición a factores de riesgo de trombosis como son el embarazo y puerperio, la toma de anticonceptivos orales, cirugía, etc.

Dado que hasta el momento no existe ninguna evidencia de que el tratamiento del evento agudo deba ser distinto en los portadores de algún estado trombofílico, este estudio no reviste el carácter de urgente y no debe realizarse en el momento agudo de la enfermedad. Solo se justifica el dosaje de antitrombina III ante una falla en la respuesta al tratamiento con heparina. El evento trombótico agudo es considerado un evento inflamatorio en el que

muchas proteínas del sistema de coagulación como el factor VIII y el fibrinógeno entre otras se encuentran muy elevadas. Esto hace que las pruebas coagulométricas funcionales para proteína C y S (PC y PS), así como la resistencia a la proteína C activada (expresión fenotípica del factor V Leiden) en su método clásico y aún en la técnica modificada diluyendo el plasma en plasma deficiente en factor V, no reflejen la realidad del sistema que se está evaluando. Por todo esto se recomienda el estudio por lo menos 3 meses alejado del evento agudo. Además el estudio en el momento agudo así como durante el embarazo los elevados niveles de factores pueden producir resultados falsamente normales en algunas pruebas de detección del anticoagulante lúpico como el APTT. Si no puede evitarse el estudio en el momento agudo debe ser repetido luego de discontinuar el tratamiento anticoagulante. Recientemente, se ha descrito un método para el dosaje de proteína C funcional que permitiría obtener un dato seguro en el momento del evento agudo. Es importante recordar que las determinaciones que se realizan por métodos de biología molecular (PCR), no se hallan influenciadas en estas circunstancias.

Con respecto a la proteína S cabe destacar que la fracción que cumple el papel de cofactor de la inactivación del factor V activado es la libre, representando un 40% de la proteína S total, mientras que el resto se une a C<sub>6</sub>BP. Dado que la metodología disponible en nuestro medio para el dosaje de la proteína S por métodos coagulométricos presentan limitaciones en cuanto a sensibilidad y reproducibilidad, en la actualidad se está tendiendo a realizar la determinación de proteína S libre a través de métodos inmunológicos utilizando anticuerpos monoclonales que sólo reconocen a la fracción libre.

Se recomienda no estudiar a los pacientes que reciben anticoagulación. Es conocido que los niveles de ATIII disminuyen durante el tratamiento con heparina no fraccionada por lo que se recomienda no estudiarla en los pacientes que la están recibiendo, si así se hiciese y el resultado fuese disminuído debe verificarse luego de suspendido el tratamiento. Por otra parte la heparina de bajo peso molecular puede interferir algunas pruebas de detección de anticoagulante lúpico como son el tiempo de veneno de víbora Russell diluido o el test de la inhibición de la tromboplastina tisular provocando efectos inhibitorios que corrigen con lisados plaquetarios lo que provoca falsos resultados positivos. En el caso de estar recibiendo heparina no fraccionada o heparina de bajo peso molecular subcutánea cada 12 horas la muestra debe ser tomada a la mañana siguiente de haber suspendido la dosis de la noche, de manera tal que la extracción se realice de 12 a 24 horas de la últi-

ma dosis recibida. En el caso de querer estudiar un paciente que recibe heparina no fraccionada en infusión continua, se debe cerrar el goteo por lo menos durante 4 horas antes de la toma de muestra, pero es preferible cambiar la medicación a subcutánea a los fines de poder suspenderle una dosis.

En el caso de ser un paciente que ha tenido episodios recurrentes aún incluso bajo tratamiento con anticoagulantes orales, y que por lo tanto no pueda dejarse libre de anticoagulación por un período tan prolongado, se recomienda administrar heparina subcutánea durante por lo menos 10 días y luego de suspender la última dosis, hacer la toma de muestra. Como las proteínas C y S son vitamina K dependientes se sintetizarán pero no completamente carboxiladas y por lo tanto, en estas condiciones no son funcionalmente activas y se diagnosticarán falsos déficit de las mismas. No existe una forma segura y sensible de diagnosticar el déficit de estas proteínas cuando el paciente recibe anticoagulación oral, ni relacionándolo a los niveles de otras proteínas vitamina K dependientes (razones con el factor II o el X). Además la disminución de los niveles coagulantes de los factores vitamina K dependientes provoca resultados erróneos en la determinación de la resistencia de la proteína C activada aunque con la técnica modificada este problema se ha solucionado. Por todo esto, para estudiar las PC y PS se debe haber suspendido la anticoagulación oral durante 10 días como mínimo.

En el caso de la toma de muestra, ésta debe ser hecha en pacientes que están en ayunas de 8 horas con poco estasis venoso y con una punción limpia, fácil y única, como es recomendable en cualquier estudio de coagulación. El horario debe ser por la mañana para evitar cualquier variación que se produzca por la actividad del día (por ejemplo para el dosaje de factor VIII) así como por ritmo circadiano. En el caso de la muestra para homocisteína plasmática la toma debe hacerse después de 12 horas de ayuno, la sangre se debe recoger en baño de hielo, manteniéndola en frío durante la centrifugación y luego congelarla. Este requisito se debe a que a temperatura ambiente el metabolismo del glóbulo rojo libera homocisteína al plasma lo que aumenta falsamente sus valores plasmáticos. No obstante se han desarrollado recientemente kits comerciales que poseen inhibidores y permiten tomar y procesar las muestras sin refrigeración. Por otra parte, debe hacerse una correcta anamnesis alimentaria así como obtener todos los datos de medicaciones que recibe el paciente para poder interpretar los valores elevados.

Por último, cualquier dato positivo obtenido debe ser confirmado con una nueva muestra tomada ale-

jada en el tiempo para poder diagnosticar una deficiencia o alteración y abordar los estudios familiares en los casos en que se considerara necesario.

**BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA**

Middeldorp S, Bri t E, Conard J. Familial Thrombophilia. En Cardiovascular Thrombosis: Thrombocardiology and Thrombo-neurology. Editado por M Verstraete, V Fuster y EJ Topol. 2da Edici n. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1998, p.p. 59-75.  
 Rosendaal F R. Thrombosis in the young: epidemiology and risk

factors. A focus on venous thrombosis. **Thromb Haemost** 1997; 78: 1-6.  
 Lane DA, Mannucci PM, Bauer KA, Bertina RM, Bochkov NP, Boulyjenkov V, Chandy M, Dahlb ck B, Ginter EK, Miletich JP, Rosendaal FR, Seligsohn U. Inherited thrombophilia: Part 1. **Thromb Haemost** 1996; 76: 651-662.  
 Lane DA, Mannucci PM, Bauer KA, Bertina RM, Bochkov NP, Boulyjenkov V, Chandy M, Dahlb ck B, Ginter EK, Miletich JP, Rosendaal FR, Seligsohn U. Inherited thrombophilia: Part 2. **Thromb Haemost** 1996; 76: 824-834.  
 De Moerloose P, Bounameaux HR, Manucci PM. Screening tests for thrombophilic patients: Wich tests, for which patient, by whom, when, and why?. **Sem Thromb Hemost** 1998; 24: 321-7.