

Artículo original

Investigación de las mutaciones Leiden del factor V y G20210A de la protrombina en pacientes pediátricos con hemofilia A grave. Informe preliminar

Israel Parra-Ortega,* Vanesa Jonguitud-Díaz,** Briceida López-Martines,* Itamar González-Ávila,*** Celedonio Ramírez-Guerrero,* Alma Rosa Luna-Gaspar,* Rosaura Hernández-Mote****

RESUMEN

Introducción: Se ha descrito que las características clínicas de la hemofilia A grave se ven modificadas favorablemente por el efecto de factores protrombóticos, específicamente las mutaciones Leiden del factor V y la G20210A de la protrombina.

Pacientes y métodos: Se estudiaron 13 pacientes con diagnóstico de hemofilia A grave en quienes se investigó la presencia de las mutaciones: Leiden del factor V y la G20210A de la protrombina por medio de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real.

Resultados: Al investigar la presencia de las mutaciones todos los pacientes presentaron el genotipo homocigoto normal para las mutaciones Leiden del factor V y la G20210A de la protrombina.

Conclusiones: estos 13 pacientes son el inicio de una línea de investigación que tiene como finalidad conocer los cambios que se producen en los pacientes con hemofilia A grave que son también portadores de factores protrombóticos, es necesario incrementar el número de pacientes para obtener la frecuencia de dichas mutaciones en los pacientes con hemofilia A grave.

ABSTRACT

Background: It has been shown that the clinical characteristics of severe hemophilia A are favorably modified by the effect of prothrombotic factors, specifically mutations of factor V Leiden and prothrombin G20210A.

Material and methods: Thirteen patients with a diagnosis of severe hemophilia A were studied and the presence of mutations of Factor V Leiden and prothrombin G20210A were investigated through a real time polymerase chain reaction.

Results: Upon investigating the presence of the mutations, all patients had normal homozygous genotype mutations for factor V Leiden and prothrombin G20210A.

Conclusion: These 13 patients are the beginning of a line of research whose aim is to understand the changes that occur in patients with severe hemophilia A who are also carriers of prothrombotic factors. It is necessary to increase the number of patients to obtain the frequency of such mutations in patients with severe hemophilia A.

La hemofilia A es una coagulopatía hereditaria caracterizada por la deficiencia cuantitativa del factor VIII, ocasionada por una alteración en los genes que se encuentran en el brazo largo del cromosoma X. Clínicamente se manifiesta con la aparición de hemorragias en los músculos y las articulaciones, con una intensidad variable; la clasificación de la gravedad

de la hemofilia A se determina por el valor de la actividad del factor VIII en: grave (<1 UI/dL), moderada (1-5 UI/dL) y leve (> 5 UI/dL).¹⁻²

Se ha descrito que las características clínicas de la hemofilia A grave son modificadas favorablemente por el efecto de factores protrombóticos, específicamente las mutaciones Leiden del factor V y la G20210A de

* Laboratorio Clínico.

** Medicina transfusional.

*** Servicio de hematología.

**** Subdirección de Servicios Auxiliares y Diagnóstico.
Hospital Infantil de México Federico Gómez.

Correspondencia: Q. C. Israel Parra Ortega. Laboratorio Clínico, Hospital Infantil de México Federico Gómez. Dr. Márquez 162, colonia Doctores, CP 06720, México, DF.
Correo electrónico: i_parra29@hotmail.com.

Recibido: septiembre, 2008. Aceptado: noviembre, 2008.

Este artículo debe citarse como: Parra-Ortega I, Jonguitud-Díaz V, López-Martines B, González-Ávila I y col. Investigación de las mutaciones Leiden del factor V y G20210A de la protrombina en pacientes pediátricos con hemofilia A grave. Informe preliminar. Medicina Universitaria 2009;11(42):5-7.

La versión completa de este artículo también está disponible en: www.revistasmedicasmexicanas.com.mx, www.meduconuanl.com.mx

la protrombina.³⁻⁸ En un estudio multicéntrico se identificó que los pacientes con alguna de las mutaciones tuvieron menor frecuencia de sangrados anuales que los no portadores de las mutaciones ($p=0.012$); el daño articular y la artropatía también fueron menores en los pacientes portadores de alguna de las mutaciones, estos resultados fueron estadísticamente significativos.³ En otra publicación concluyen que la mutación G20210A de la protrombina tiene un efecto protector, al atenuar los episodios de sangrado en los pacientes con hemofilia A grave.⁵

Estas observaciones clínicas han sido apoyadas por los resultados obtenidos en modelos animales, en los que se describe la influencia del fenotipo de hemofilia A grave por factores protrombóticos y que las mutaciones Leiden del factor V y la G20210A de la protrombina actúan como un factor protector en este tipo de pacientes.⁶⁻⁸ También se ha informado que la generación de trombina en los sujetos que son portadores del factor V Leiden se incrementa entre tres y siete veces.⁹ El objetivo del presente estudio fue investigar en un grupo de pacientes con hemofilia A grave las mutaciones Leiden del factor V y G20210A de la protrombina.

MATERIAL Y MÉTODOS

De manera prospectiva, se incluyeron 13 pacientes con diagnóstico de hemofilia A grave que acudieron al servicio de hematología del Hospital Infantil de México Federico Gómez. A todos los pacientes, previo ayuno de ocho horas, se les tomaron 2 mL de sangre periférica anticoagulada con EDTA, se les extrajo ADN utilizando para su preparación el kit de extracción de ácidos nucleicos Magna Pure LC DNA Isolation Kit®, en combinación con el equipo Magna Pure®, y se detectaron las mutaciones Leiden del factor V y G20210A de la protrombina utilizando la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR) con los kits comerciales Factor V Leiden kit y Factor II (prothrombin) G20210A kit y el equipo LightCycler® con el software LCS4 versión 4.0.5.415 de Roche Diagnostics Corporation®.

RESULTADOS

En los 13 pacientes se obtuvo material genético viable; al investigar la existencia de las mutaciones todos manifes-

taron el genotipo homocigoto normal para las mutaciones Leiden del factor V y G20210A de la protrombina.

CONCLUSIONES

Al no identificar algún paciente hemofílico que tuviera uno o ambos marcadores de trombofilia investigados en este estudio, no fue posible conocer el comportamiento de este tipo de pacientes; sin embargo, se debe generar más información con un número mayor de pacientes para poder emitir conclusiones fidedignas.

Las experiencias publicadas en otros países (cuadro 1) en la investigación de pacientes con hemofilia A grave que manifiestan de modo concomitante un marcador de trombofilia son pocas;¹⁰⁻¹¹ por tal motivo es importante generar información de las características clínicas de los pacientes hemofílicos que llegan a tener estas alteraciones.

Los resultados que genera la interacción de una coagulopatía como la hemofilia A grave y un marcador de trombofilia son muy interesantes, por el aparente beneficio que muestra el paciente al reducir el número de transfusiones.⁴ En México no hay evidencias generadas por estudios prospectivos que evalúen a largo plazo la calidad de vida en este tipo de pacientes.

Se ha descrito desde hace mucho tiempo que entre 10 y 15% de las personas clasificadas fenotípicamente con hemofilia A grave tienen manifestaciones leves de la enfer-

Cuadro 1. Resultado de la investigación de las mutaciones: Leiden del factor V y G20210A de la protrombina en pacientes con hemofilia grave en otros países

<i>País</i>	<i>Número de pacientes con hemofilia grave</i>	<i>Pacientes con la mutación Leiden del factor V (%)</i>	<i>Pacientes con la mutación G20210A de la protrombina (%)</i>	<i>Referencia</i>
Canadá	137	4.4	–	Lee DH et al. 2000
Alemania	111	6.5	3.2	Escuriola EC et al. 2001
España	125	2.8	3.6	Tizzano EF, et al. 2002
Alemania	107	7.4	5.6	Kurnik K et al. 2007
México	13	0	0	Presente estudio

medad. No en todos estos pacientes ocurre con frecuencia el sangrado espontáneo, e incluso entre los que sangran, el grado de daño articular es variable. La base de esta diferencia no se ha establecido por completo; a pesar de que se han identificado asociaciones de los diferentes factores de la coagulación con los marcadores protrombóticos, hay pruebas que sugieren que las variaciones en las proteínas de coagulación y el sistema fibrinolítico pueden afectar la intensidad de los sangrados. Uno de los principales problemas en el tratamiento de la hemofilia es decidir la manera como se llevará a cabo, sobre todo el inicio y la intensidad de la profilaxis. Una comprensión detallada de todos los factores que pueden contribuir al daño articular en la hemofilia A grave podría ayudar en la adaptación del tratamiento para estos pacientes.¹²

Con este grupo de 13 pacientes se inicia una línea de investigación que tiene como finalidad conocer los cambios y el beneficio que se produce en pacientes con hemofilia A grave que también son portadores de factores protrombóticos, considerando que en futuras investigaciones podrían identificarse otros marcadores genéticos que pudieran modificar o afectar de modo favorable las características clínicas de los pacientes con hemofilia A grave.

REFERENCIAS

1. Bolton MPH, Pasi KJ. Haemophilia A and B. *Lancet* 2003; 361:1801-9.
2. Evatt BI, Back C, Batorova A, Street A, et al. Comprehensive care for haemophilia around the world. *Haemophilia* 2004; 10:9-13.
3. Kurnik K, Kreuz W, Horneff S, Düring C, et al. Effects of the factor V G1691A mutation and the factor II G20210A variant on the clinical expression of severe hemophilia A in children: results of a multicenter study. *Haematologica* 2007;92:982-5.
4. Tizzano EF, Soria JM, Coll M, Guzman B, et al. The prothrombin 20210A allele influences clinical manifestations of hemophilia A in patients with intron 22 inversion and without inhibitors. *Haematologica* 2002;87:279-85.
5. Nichols WC, Amano K, Cacheris PM, Figueiredo MS, et al. Moderation of hemophilia A phenotype by the factor V R506Q mutation. *Blood* 1996;88:1183-7.
6. Escuriola Ettingshausen C, Halimeh S, Kurnik K, Schobess R, et al. Hemophilia phenotype is dependent on the presence of prothrombotic risk factors. A multicenter cohort study. *Thromb Haemost* 2001;85:218-20.
7. Schlachterman A, Schuettrumpf J, Liu JH, Furlan Freguia C, et al. Factor V Leiden improves *in vivo* hemostasis in murine hemophilia models. *J Thromb Haemost* 2005;3:2730-7.
8. Lee DH, Walker IR, Teitel J, Poon MC, et al. Effect of the factor V Leiden mutation on the clinical expression of severe hemophilia A. *Thromb Haemost* 2000;83:387-91.
9. Veer van't C, Golden NJ, Kalafatis M, Simioni P, et al. An *in vitro* analysis of the combination of hemophilia A and factor V Leiden. *Blood* 1997;90:3067-72.
10. Arruda VR, Annichino-Bizzachi JM, Costa FF. Association of severe hemophilia A and factor V Leiden. A report of three cases. *Haemophilia* 1996;2:51-3.
11. Arbini AA, Mannuci PM, Bauer KA. Low prevalence of the factor V Leiden mutation among "severe" hemophiliacs with a "milder" bleeding diathesis. *Thromb Haemost* 1995;74:1255-8.
12. Jayandharan GR, Srivastava A. The phenotypic heterogeneity of severe hemophilia. *Semin Thromb Hemost* 2008;34:128-41.