

Instituto Mexicano del Seguro Social
UMAE Hospital Pediatría CMNO
Servicio de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica



Tesis

**“PERFIL DE TROMBOFILIA EN EL PACIENTE PEDIATRICO
CON CIRROSIS E INSUFICIENCIA HEPATICA DEL
HOSPITAL DE PEDIATRÍA, CENTRO MÉDICO NACIONAL
DE OCCIDENTE”**

Para obtener el grado de Subespecialista en:

Gastroenterología y Nutrición Pediátrica

Presenta:

MARTHA MIDORY RODRÍGUEZ PÉREZ

Guadalajara, Jalisco. 3 de febrero de 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

IDENTIFICACIÓN DE LOS AUTORES

Tesista

Martha Midory Rodríguez Pérez

Residente de Pediatría

UMAE Hospital de Pediatría CMNO IMSS

Tel. 3339689421

e-mail. midory_r@hotmail.com

Tutora

Yolanda Alicia Castillo de León

Médico Pediatra Gastroenterólogo adscrito al servicio de Gastroenterología

UMAE Hospital de Pediatría CMNO IMSS

Tel. 3310974352

e-mail. yolicastdeleon@hotmail.com

Asesor Metodológico

Juan Carlos Barrera de León

Doctor en Ciencias Médicas.

Investigador asociado C IMSS. Investigador nivel I SNI CONACYT.

UMAE Hospital de Pediatría CMNO IMSS

Tel. 3313378280

e-mail. juan.barrerale@imss.gob.mx

Investigadores asociados:

ME Roberto Garibaldí Covarrubias

DC Ana Rebeca Jaloma Cruz

TABLA DE CONTENIDO

	Página
Resumen	1
Marco teórico	2
Justificación	55
Pregunta de investigación ..	59
Material y Métodos	
Objetivos	60
Diseño de investigación	61
Entorno	61
Población	61
Criterios de selección	61
Variables de estudio	62
Procedimiento	65
Estadística	67
Aspectos éticos	68
Resultados	70
Discusión	92
Conclusiones	99
Compromisos	101
Referencias bibliográficas	102
Anexos	
Consentimiento informado	107
Hoja de recolección de datos	108
Cronograma de Actividades	109
Registro del Comité Local de Investigación	110

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Tablas	Página
Puntuación Child-Pugh	3
Causas más frecuentes de trasplante hepático en niños	5
Criterios del King's College para falla hepática aguda	6
Trombofilia primaria	30
Parámetros de coagulación	36
Trombofilia primaria en México en sanos	43
Trombofilia primaria en trombosis	46
Genotipos de trombofilias	50
Operacionalización de variables	63
Figuras	
Módulo de coagulación	7
Nuevo modelo de coagulación (iniciación)	8
Nuevo modelo de coagulación (amplificación)	9
Nuevo modelo de coagulación (propagación)	10
Fibrinólisis	11
Rebalance en enfermedad hepática	21

DEDICATORIA

La vida está llena de retos,
tome la decisión de emprender uno nuevo,
y el haberlo logrado no hubiera sido posible sin el respaldo y el amor de personas
que son mi motor e inspiración.

Con dedicatoria especial para el amor de mi vida
(Carlos Ulrich Hernández Romero),
para mis padres, hermanos y los peques del hogar.

AGRADECIMIENTO

A quienes con paciencia y profesionalismo guiaron y cobijaron mis pasos, gracias a mis profesores, en especial a la autora intelectual de este proyecto, Yolanda Alicia Castillo de León, y a todos los que participaron en que su culminación fuera exitosa, cada uno desde sus diferentes áreas de formación.

RESUMEN

Introducción: El hígado juega un papel central en el sistema hemostático.¹⁶ El sistema de coagulación en los pacientes con cirrosis se encuentra en un estado de “rebalance”. La observación de trombofilias heredadas (deficiencia de proteína C, S, AT, mutación FVL, del gen de la protrombina, polimorfismos MTHFR C677T, A1298C y polimorfismo ECA-1), aumenta el riesgo de trombosis de la vena porta en pacientes con cirrosis y sugiere que la hipercoagulabilidad puede jugar un papel en la trombosis de la arteria hepática después del trasplante de hígado.

Objetivo: caracterizar el perfil de trombofilia del paciente pediátrico con cirrosis e insuficiencia hepática del Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional de Occidente.

Material y Métodos: se realizó estudio en pacientes pediátricos portadores de cirrosis e insuficiencia hepática del Hospital de Pediatría. Se determinaron por coagulometría actividad de proteínas anticoagulantes proteína C, proteína S y antitrombina y del factor VIII y por técnica de PCR las mutaciones del panel de trombofilia que incluyen factor V de Leiden, mutación del gen de la protrombina, polimorfismo MTHFR C677T y MTHFR A1298C y polimorfismo D/D ECA-1.

Resultados: fueron 25 niños, 13 masculinos, 12 femeninos; la media de edad fue 50.76 ± 46.96 (4-189) meses. La principal causa de cirrosis fue la atresia de vías biliares (72%). La distribución en base al Child Pugh fue estadio A 24%, estadio B 48% y estadio C 28%. Se indentificaron varias alteraciones del perfil de trombilia, deficiencia de proteína C (56%), déficit de proteína S (12%), deficiencia de antritrombina (36%), la principal mutación identificada fue polimorfismo D/D ECA-1 en el 34.7%, el polimorfismo MTHFR C677T fue la segunda causa con 21.7%, MTHFR A1298C en el 8.6% y heterocigoto compuesto MTHFR C677T/A1298C en 17.3%. Se documentó factor VIII elevado en el 92% de la población.

Conclusiones: las principales alteraciones en hepatopatía crónica son elevación del factor VIII y deficiencia de proteínas anticoagulantes, así como trombocitopenia, corroborando así el estado de rebalance en este grupo de pacientes.

MARCO TEÓRICO

CIRROSIS HEPÁTICA

Las enfermedades crónicas y terminales del hígado se han establecido, desde hace varios años, entre las primeras 10 causas de morbimortalidad en nuestro país.¹ Es por ello que las instituciones y los hospitales particulares han incrementado su interés en ellas y en los diversos abordajes para su manejo y han apoyado la investigación y la formación de recursos humanos para intentar su curación.^{2, 3} La incidencia de cirrosis hepática reportada en adultos es de 16.99/ 100000 personas por año en el Reino Unido.⁴

Las complicaciones de la cirrosis, expresión última de las enfermedades del hígado, son una fuente de egreso económico, tanto para los pacientes como para las instituciones.²

La cirrosis es el estadio final de todas las enfermedades hepáticas crónicas progresivas. Es un proceso difuso caracterizado por la pérdida de parénquima hepático, formación de septos fibrosos y de nódulos de regeneración que causan la distorsión de la arquitectura y anatomía vascular normal.^{5, 6}

Actualmente se considera que la cirrosis es una enfermedad dinámica y potencialmente reversible en estadios iniciales. Hay dos fases, la cirrosis compensada y la descompensada, cada una de ellas con pronóstico distinto y diferente supervivencia.^{5, 6}

La valoración adecuada del pronóstico de vida en pacientes portadores de cirrosis es de gran relevancia clínica, en cuanto contribuye a tomar decisiones de manejo en diferentes escenarios clínicos tales como la indicación de cirugía, shunt portosistémico intrahepático transyugular (TIPS) o trasplante hepático (TH). En los últimos cincuenta años se han desarrollado diversas herramientas clínicas con este propósito. Una de las más conocidas y utilizadas es la escala de Child-Pugh, diseñada en 1964 por Child y Turcotte y posteriormente modificada por Pugh.⁵

Puntuación de CHILD-PUGH			
	1	2	3
Bilirrubina (mg/dl)	< 4	4-10	> 10
Albúmina (g/dl)	> 3,5	2,8-3,5	< 2,8
INR	< 1,7	1,7-2,3	> 2,3
Ascitis	Ausente	Responde a diuréticos	Ascitis refractaria
Encefalopatía	Ausente	Grado I-II	Grado III-IV
La puntuación de Child-Pugh (5-15 puntos) es el resultado de la suma de la puntuación de cada una de las 5 variables. De esa forma se determina: A: 5-6 puntos; mortalidad 0% a 1 año y 15% a los 2 años; B: 7-9 puntos; mortalidad 20% a 1 año y 40% a los 2 años; C: 10-15 puntos; mortalidad 55% a 1 año y 65% a los 2 años.			

El trasplante hepático es la única opción de tratamiento con excelentes resultados a largo plazo para pacientes con enfermedad hepática terminal y aquellos con falla hepática aguda que no mejoran con tratamiento médico.^{7, 8, 9} Sin duda alguna el trasplante hepático es uno de los grandes logros de la medicina en la segunda mitad del siglo XX. Los pacientes pediátricos, particularmente lábiles y con las peores condiciones pretrasplante, han significado siempre uno de los más grandes retos quirúrgicos y han sido el motor de muchas de las innovaciones técnicas en esta disciplina. No es de extrañarse que el primer trasplante hepático en humanos intentado por Starzl en 1963, fue precisamente en un niño de tres años de edad con atresia de vías biliares, que falleció durante la cirugía. Sus primeros casos exitosos en 1967, también fueron receptores pediátricos. En la actualidad, aproximadamente de 10 a 15% de todos los trasplantes hepáticos realizados en el mundo se llevan a cabo en pacientes menores de 18 años de edad.^{10, 11}

La sobrevida fue muy limitada hasta la década de los ochenta cuando se incrementó a 60% a un año. Adelantos en la preservación de órganos, manejo transoperatorio, experiencia en la técnica quirúrgica, nuevos y más seguros inmunosupresores, así como reconocimiento y tratamiento oportuno de las complicaciones permitieron que la sobrevida mejorara aun más declarándose en 1983 que el TH dejaba de ser un procedimiento experimental para convertirse en una modalidad terapéutica. Desde entonces este procedimiento se realiza en múltiples

centros a nivel mundial con sobrevividas, en centros con gran experiencia, de 85-95% a un año.^{7, 11}

La selección de los candidatos para recibir un TH debe incluir de forma preponderante un análisis del riesgo-beneficio, tomando en cuenta la factibilidad de recurrencia de la enfermedad hepática de base y los riesgos asociados a la inmunosupresión (por ejemplo, aumento en el riesgo de infecciones, neoplasias, etc.). La sola presencia de cirrosis hepática, en ausencia de complicaciones como ascitis, encefalopatía hepática, peritonitis bacteriana espontánea y sangrado variceal, no representa una indicación suficiente para ser sometido a TH, a pesar de ello, el paciente con cirrosis compensada presenta una sobrevida menor en comparación con la población sana.⁹

La aparición de las complicaciones antes mencionadas o el empeoramiento de la función hepática son predictores importantes de la disminución en la supervivencia del paciente cirrótico y representan indicaciones para ser enviados a un centro de trasplante.⁹

La selección adecuada del receptor es fundamental para el éxito del procedimiento. Un comité evaluador constituido por cirujanos, hepatólogos, intensivistas, infectólogos, psiquiatras, coordinadores sociales, etc., es ampliamente recomendado.⁷

Indicaciones y contraindicaciones del trasplante en pediatría

Las indicaciones para un trasplante hepático en niños son completamente diferentes que en los adultos. En los adultos las dos causas más frecuentes son cirrosis secundaria al virus de la hepatitis C y cirrosis alcohólica. En los niños las enfermedades colestásicas son las más frecuentes, con la atresia de vías biliares (AVB) condicionando cerca de 60% del total de los casos, seguidas de las hepatitis fulminantes (15%) y los problemas metabólicos (10%). Todos los otros padecimientos no constituyen más de 10 a 15% de los casos.¹⁰

Datos recientemente publicados por el grupo de Estudios para el Trasplante Hepático Pediátrico (Studies for Pediatric Liver Transplantation SPLIT), que agrupa a 38 centros de trasplante y más de 1,761 receptores pediátricos de Estados Unidos y Canadá, muestran que la enfermedad colestásica fue la indicación más frecuente

con 55.6% del total de los casos, de los cuales, 41.6% fue por AVB. La falla hepática fulminante fue la segunda causa con 12.4%, y de ellos no se conoció la etiología en 89.7%. La indicación más frecuente en el grupo de las enfermedades metabólicas (11.9%) fue la deficiencia de alfa-1-antitripsina, seguido por los defectos en el ciclo de la urea. Los tumores comprendieron 4.7% del total de los casos, siendo el más frecuente el hepatoblastoma, seguido del hemangioendotelioma.¹⁰

Causas más frecuentes de trasplante hepático en niños

Enfermedades colestásicas

Atresia de vías biliares
 Hipoplasia de vías biliares
 Síndrome de Alagille
 Colangitis esclerosante
 Quiste de colédoco (enfermedad de Caroli)
 Hepatitis neonatal
 Enfermedad de Byler
 Colestasis familiar idiopática
 Fibrosis hepática congénita

Falla hepática aguda o fulminante

Hepatitis virales (A, B, C, delta, E, criptogénica)
 Drogas o tóxicos (acetaminofeno, depocane, aminitoxina)
 Enfermedad de Wilson fulminante
 Trombosis de la arteria hepática
 Falla primaria del injerto

Enfermedades metabólicas con enfermedad hepática

Deficiencia de alfa 1 antitripsina
 Enfermedad de Wilson
 Tirosinemia
 Glucogenosis I y IV
 Fibrosis quística
 Protoporfiria eritropoyética
 Hemocromatosis neonatal

Hepatitis

Hepatitis neonatal
 (toxoplasmosis, rubéola, CMV, herpesvirus, enterovirus)
 Hepatitis crónica activa (A, B, C y desconocida)
 Hepatitis autoinmune

Enfermedades metabólicas sin enfermedad hepática

Defectos del ciclo de la urea
 Hiperoxaluria primaria I
 Hipercolesterolemia familiar
 Deficiencia de proteína C
 Hemofilia A
 Enfermedad de Niemann Pick
 Síndrome de Crigler Najjar

Tumorales

Hepatoblastoma
 Hemangioendotelioma
 Carcinoma hepatocelular
 Histiocitosis X

Varela F. Rev Invest Clín 2005;57(2):273-282.

Falla hepática aguda (FHA)

La FHA es una enfermedad que amenaza la vida en la cual un niño previamente sano progresa rápidamente a disfunción hepática severa y falla en la síntesis hepática en las 8 semanas al inicio de los síntomas.¹²

La FHA es una alteración de la función hepatocelular (síntesis, metabolismo y desintoxicación) de forma aguda, en particular, aquella encargada de la síntesis de factores de coagulación (caracterizada por un índice internacional normalizado, INR >1.5) que se asocia con la presencia de encefalopatía hepática e ictericia en un sujeto sin daño hepático crónico previo y con un padecimiento menor a 26 semanas de evolución, el cual conlleva un alto riesgo de mortalidad. La FHA es menos frecuente en países desarrollados (la principal causa es daño hepático inducido por fármacos) en comparación con países en desarrollo, en donde las principales causas son las infecciones virales (hepatitis A, B y E).⁹

La etiología puede variar dependiendo de la zona estudiada, en Latinoamérica, específicamente en Argentina, se encontró que las principales causas fueron la infección aguda por VHB y la hepatitis autoinmune.⁹

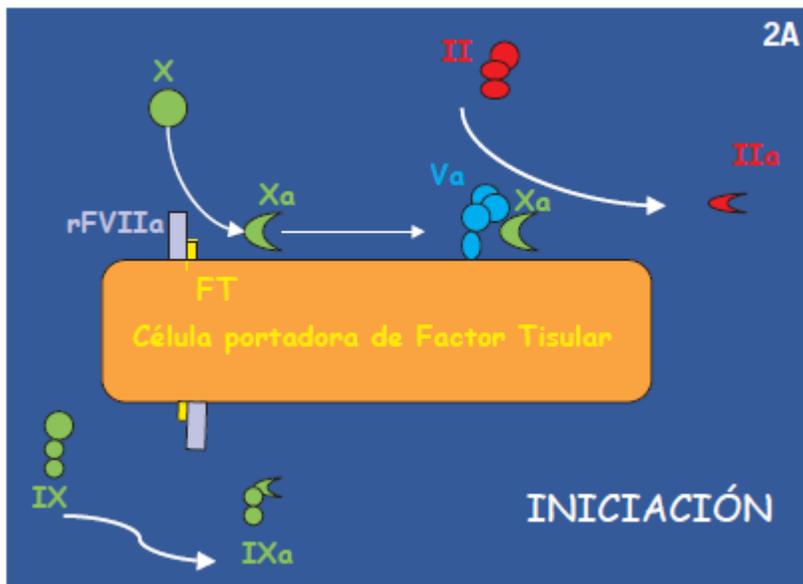
El reto principal durante las primeras horas de evaluación ante una FHA es identificar los pacientes que requerirán un TH, para ello, los criterios del Hospital King's College han sido de gran utilidad. A pesar de su alta especificidad (82%), estos criterios han sido criticados por la baja sensibilidad (68%) para determinar el pronóstico de la FHA no secundaria a la ingesta de paracetamol. Si se cumplen todos los criterios, las posibilidades de supervivencia son menores al 10%.⁹

Criterios del King's College para FHA (Falla hepática aguda)	
Asociado a paracetamol	No asociado a paracetamol
pH arterial <7.3 posterior a una adecuada reanimación con líquidos	Cualquier grado de encefalopatía hepática e INR >6.5
0	0
Dos de los siguientes tres criterios: <ul style="list-style-type: none">- Encefalopatía hepática grado >3- Creatinina sérica >3.4 mg/dL- INR >6.5	Tres de cinco criterios: <ul style="list-style-type: none">- Edad <10 años o >40 años- BT >17 mg/dL- Ictericia >7 días previa a encefalopatía- TP >50 seg o INR >3.5- Etiología no asociada a paracetamol (daño inducido por fármacos, enfermedades seronegativas)

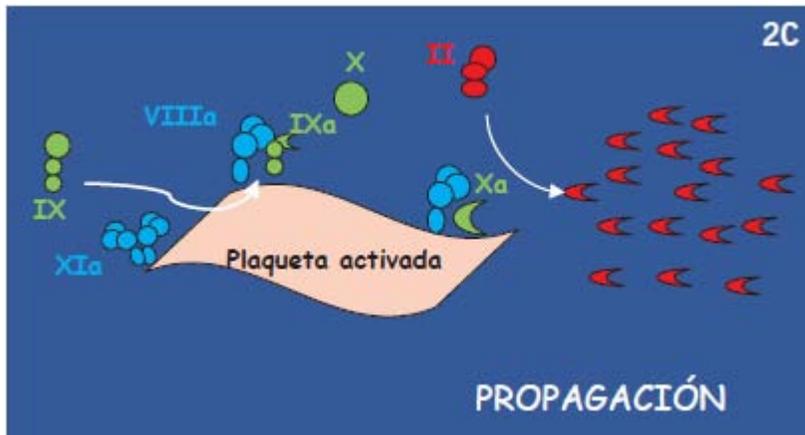
Adicionalmente se ha demostrado que diferentes tipos de células expresan proteínas procoagulantes, anticoagulantes y receptores para múltiples componentes de la hemostasia, lo que ha supuesto un nuevo paradigma para explicar las reacciones que tienen lugar durante el proceso hemostático.¹³

Según la visión actual, la coagulación se produce en tres etapas interrelacionadas (figura 1):

Fase 1 de iniciación: el factor tisular (FT), un componente integral de la membrana celular, es el principal iniciador de la coagulación *in vivo*. Se expresa en numerosos tipos celulares como los monocitos circulantes, neutrófilos, fibroblastos y en células endoteliales. Cuando se presenta una lesión vascular y la sangre entra en contacto con el subendotelio, se da la interacción del FT celular con el factor VII circulante y lo activa. Este complejo (FT-VIIa) activa posteriormente los factores IX y X. El factor Xa se combina con el factor Va, proceso que ocurre en la superficie celular y da como resultado la producción de trombina en pequeñas cantidades, las cuales participan en la activación de las plaquetas y del factor VIII en la siguiente fase.^{13, 15}



Fase de 2 de amplificación: la lesión vascular permite que las plaquetas y componentes plasmáticos entren en contacto con tejidos extravasculares. Una vez esto sucede, las plaquetas se adhieren a la matriz subendotelial y se activan en aquellos sitios donde el FT ha sido expuesto. La trombina generada en la fase 1



Sistemas anticoagulantes: con el fin de evitar la formación de cantidades excesivas de trombina, que son innecesarias y potencialmente perjudiciales, el sistema hemostásico está controlado de forma estricta por los anticoagulantes naturales. Estos compuestos están localizados en el endotelio vascular, de los que se destacan el inhibidor de la vía del factor tisular (TFPI, por su sigla en inglés), la antitrombina y la proteína C.¹³

El TFPI ejerce su función al unirse al complejo FT-FVII, con lo que evita que este active los factores IX y X. La antitrombina tiene una acción doble al actuar directamente sobre la trombina pero también sobre los factores IXa y Xa. La proteína C se halla en dos formas: la endotelial, que necesita de la trombomodulina para que actúe como receptor al momento de la activación por la trombina, y la proteína C circulante, que se une a un receptor endotelial.¹³

Estos dos componentes permiten la transformación de proteína C a proteína C activada, que en presencia de su cofactor, la proteína S, inhibe los factores V y VIII, disminuyendo la generación de trombina, además de poseer otras propiedades anticoagulantes o antiinflamatorias.^{13, 15}

Es interesante señalar que el déficit congénito o adquirido de los sistemas anticoagulantes naturales favorecen el desarrollo de trombosis.¹⁵

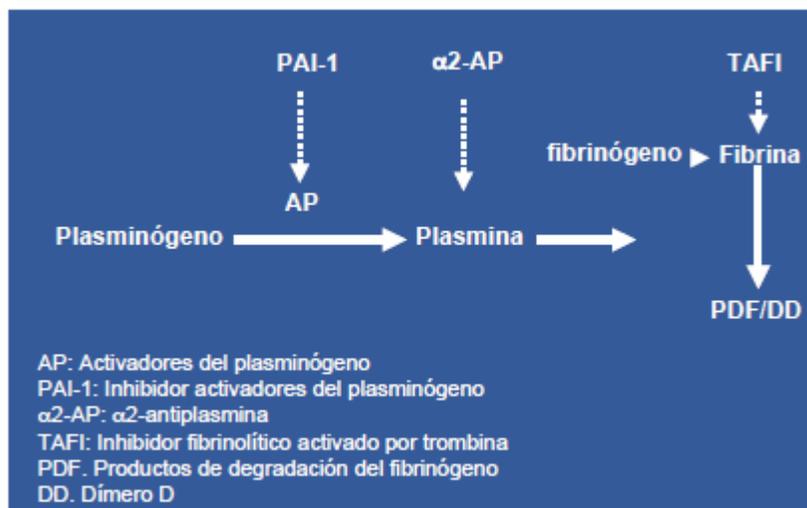
Fibrinólisis

La fibrinólisis es un mecanismo esencial para eliminar los coágulos de fibrina durante el proceso de cicatrización, así como remover los coágulos intravasculares

para impedir la trombosis. El efector final del sistema es la plasmina, que degrada la fibrina en productos de degradación del fibrinógeno (PDF y dímero D). La plasmina es producida a partir de un precursor inactivo, el plasminógeno, por acción de dos activadores del plasminógeno: activador tisular (tPA) y activador tipo urocinasa (u-PA). La regulación de los activadores tiene lugar por la acción de inhibidores (PAI), de los que el más relevante es el PAI-1, mientras que la plasmina circulante es rápidamente inhibida por la α 2-antiplasmina, lo que evita una fibrinólisis sistémica.¹⁵

La fibrinólisis se inicia por el tPA liberado desde el endotelio en respuesta a diversos estímulos (trombina, oclusión venosa, ejercicio físico, etc). Una vez liberado se une a la fibrina donde activa el plasminógeno a plasmina que degrada la fibrina del coágulo. La trombina puede activar otro inhibidor fibrinolítico, el TAFI, el cual elimina residuos de lisina de la fibrina, lo que impide la unión del plasminógeno y ulterior degradación del coágulo.^{13, 15}

Todas las proteínas implicadas en este proceso, a excepción del tPA y PAI-1, son sintetizadas en el hígado.^{13, 15}



COAGULACIÓN EN LA ENFERMEDAD HEPÁTICA

El hígado juega un papel central en el sistema hemostático porque produce la mayoría de los factores de coagulación, anticoagulación, factores fibrinolíticos, y proteínas que se encuentran en el plasma. En consecuencia, las enfermedades hepáticas crónicas o agudas con frecuencia tienen un profundo impacto en el sistema hemostático.¹⁷

El hígado cumple múltiples roles en la coagulación sanguínea, tanto en la hemostasia primaria como secundaria. Es el lugar donde se sintetiza el fibrinógeno y todos los factores de la coagulación II, V, VII, IX, X, XI, XII y XIII, excepto el factor VIII, que es sintetizado principalmente por las células endoteliales sinusoidales y, en menor cantidad, por células endoteliales del pulmón, riñón, bazo y cerebro.¹³

El perfil hemostático de un paciente con insuficiencia hepática normalmente incluye trombocitopenia, reducción de los niveles de factores de coagulación e inhibidores, niveles reducidos de proteínas fibrinolíticas, y el aumento en los niveles plasmáticos de factor de coagulación VIII y factor de vonWillebrand (FvW). Además, pueden estar presentes defectos en la función plaquetaria. Es importante destacar que, la actividad procoagulante de las plaquetas, tal como se evalúo en ensayos de generación de trombina esta completamente preservada en pacientes con cirrosis.¹⁷ Defectos funcionales de factores dependientes de la vitamina K, así como de fibrinógeno tienen relevancia. Los niveles elevados de marcadores de activación de plaquetas, trombina y generación de fibrina, y la fibrinólisis son comunes en pacientes con enfermedad hepática, pero debido a que estas proteínas se eliminan por el hígado, niveles elevados pueden indicar una eliminación defectuosa, que se debe principalmente a la reducida masa de hepatocitos, contribuyendo también la reducción del flujo sanguíneo a través del hígado enfermo. Los niveles plasmáticos elevados de estos marcadores de activación pueden en parte reflejar, una coagulación intravascular diseminada de bajo grado, con la activación concomitante de la fibrinólisis.^{16, 17}

Se ha de señalar que las etiologías de la enfermedad hepática son diversas y que existen diferencias en los cambios hemostáticos según estas etiologías. La coagulopatía de la insuficiencia hepática aguda difiere en cierta medida del de la

insuficiencia hepática crónica, así como entre los pacientes con colestasis y enfermedad hepática sin colestasis. En pacientes con insuficiencia hepática aguda, la trombocitopenia es menos común que en la cirrosis, la disminución en plasma de los factores de coagulación es más severa en la insuficiencia hepática aguda, y la fibrinólisis está presente en cirrosis. En pacientes con enfermedad hepática colestásica el balance hemostático es generalmente más preservado en comparación con los pacientes con enfermedad no colestásica.¹⁶

Hemostasia primaria

Aproximadamente un tercio de los pacientes con enfermedad hepática crónica desarrolla trombocitopenia, la cual empeora a medida que progresa la enfermedad. En pacientes con cirrosis avanzada, hasta el 90% de las plaquetas pueden ser almacenadas en el bazo; sin embargo, en estos pacientes el recuento de plaquetas periféricas, por lo general, permanece solo moderadamente disminuido. Otros mecanismos que están implicados en este fenómeno son la producción disminuida de trombotocitina por el hígado y la vida media plaquetaria reducida, relacionada con la presencia de anticuerpos contra las glicoproteína (GP) IIb-IIIa y GP Ib/I producidas por los linfocitos B, especialmente en las cirrosis causadas por el virus de la hepatitis B (VHB), el virus de la hepatitis C (VHC), la cirrosis biliar primaria y la colangitis esclerosante primaria.¹³

En los pacientes con cirrosis por alcohol, la producción de las plaquetas esta alterada por el déficit de ácido fólico y por los efectos tóxicos del etanol en la megacariopoyesis.¹³

El virus de la hepatitis C (VHC) también está asociado con un efecto mielosupresor que podría sumarse a las lesiones mencionadas previamente. Las alteraciones plaquetarias no se limitan exclusivamente a la disminución en su número, también pueden encontrarse algunos cambios funcionales como la menor producción de tromboxano A₂, defectos en la GPIIb, agregación alterada en respuesta al difosfato de adenosina (ADP), ácido araquidónico, colágeno y trombina, lo que refleja probablemente mecanismos alterados de transducción de señales y disminución en el número de receptores plaquetarios funcionales como consecuencia

de la proteólisis por la plasmina. Adicional a esto, la producción excesiva por parte del endotelio de algunos inhibidores de la agregación plaquetaria como el óxido nítrico y las prostaciclina, además de la proteólisis plaquetaria por la plasmina, contribuyen a la alteración en la activación de estas células.¹³

Por su parte, en la hemostasia primaria del paciente cirrótico, el FvW se encuentra elevado de tal manera que puede alcanzar hasta 10 veces el valor normal y actuar como un elemento compensador para las alteraciones plaquetarias en número y función.¹³

Hemostasia secundaria

Como se mencionó previamente, el hígado es el órgano donde se sintetizan la mayoría de los factores de coagulación, por lo que se puede encontrar una alteración numérica o funcional de estos en enfermedades hepáticas crónicas.¹³

Los factores de la coagulación dependientes de la vitamina K, la protrombina y los factores VII, IX y X pueden estar alterados tanto cuantitativa como cualitativamente a consecuencia de la disminución de la γ -carboxilación, la cual afecta la conversión de residuos de ácido glutámico a ácido γ -carboxiglutámico en los precursores proteicos. La reducción de esta actividad enzimática se debe a la deficiencia de vitamina K o a la alteración en la síntesis de la carboxilasa dependiente de vitamina K en el hígado. Cuando el proceso de γ -carboxilación falla, se sintetizan proteínas inertes denominadas proteínas inducidas por ausencia de vitamina K (PIVKA , por su sigla en inglés), que no pueden ser ligadas por los puentes de calcio.¹³

El fibrinógeno es un reactante de fase aguda y permanece en niveles normales, e incluso elevados, en pacientes con enfermedad hepática leve a moderada, mientras que los niveles disminuidos relacionados con una menor síntesis son vistos únicamente en enfermedad crónica severa o falla hepática aguda. A pesar de estas altas concentraciones, entre el 60% y el 70% de este compuesto es no funcional ya que tiene un contenido excesivo de ácido siálico y cadenas α anormales, lo que altera su polimerización y hace que este aumento en la cantidad no resulte en la mayor formación de fibrina.¹³

Alteraciones en el sistema fibrinolítico

La cirrosis, al igual que otras enfermedades hepáticas crónicas, está asociada con bajos niveles de plasminógeno, α_2 antiplasmina, inhibidor de plasmina, factor XIII y TAFI, pero con concentraciones aumentadas de PAI-1 y tPA, este último debido a la disminución de su eliminación y al aumento de la liberación por el endotelio activado.¹³

El balance del sistema fibrinolítico es de gran importancia para evitar la generación no deseada de plasmina; es así como la perturbación de dicho balance puede resultar en hiper o hipofibrinólisis, que pueden asociarse con eventos hemorrágicos o trombóticos, respectivamente. De manera clásica, en los pacientes cirróticos se ha descrito un estado de hiperfibrinólisis; sin embargo, la evidencia de dicho estado aún no se valida del todo ya que esta afirmación se basa en las mediciones de componentes individuales más que en pruebas globales, lo que no brinda una imagen completa del complejo balance fibrinolítico, regulado de manera estrecha por los activadores y antiactivadores. Ultimamente se le ha prestado mucha atención al papel que el TAFI desempeña; se ha postulado que bajos niveles de este inhibidor podrían explicar la hiperfibrinólisis en los pacientes cirróticos.¹³

Lisman evaluó dicha hipótesis a través de la medición de componentes individuales y con el uso de pruebas globales que estimaban la capacidad fibrinolítica total. Concluyó que la deficiencia de TAFI en cirróticos no está asociada con hiperfibrinólisis; en cambio sugirió que al igual que en la coagulación, en este sistema se logra un nuevo balance entre los factores pro y antifibrinolíticos. A pesar de esto, la controversia no ha sido resuelta debido a que otros autores han reportado resultados opuestos de una relación entre TAFI e hiperfibrinólisis.¹³

La creencia generalizada de que la enfermedad hepática está asociada con una tendencia a la hemorragia se apoya en observaciones que muestran que las complicaciones hemorrágicas son comunes en pacientes con enfermedad hepática avanzada. Sin embargo, el problema de sangrado más relevante en pacientes con cirrosis son las varices esofágicas, se considera que son principalmente consecuencia de anomalías vasculares locales, así como una mayor presión arterial

esplácnica, siendo cuestionable el papel del trastorno de la hemostasia en estos pacientes. Otras complicaciones hemorrágicas, incluyendo hematomas, púrpura, epistaxis, hemorragia gingival, menorragia, y hemorragia asociada a procedimientos invasivos, puede estar relacionada con la hemostasia defectuosa.¹⁶

Curiosamente, la extensión de la coagulopatía, medida por el tiempo de protrombina o índice normalizado internacional (INR) no parece predictivo de complicaciones de sangrado. En pacientes con insuficiencia hepática aguda, en los que el tiempo de protrombina es frecuentemente más prolongado que en pacientes con cirrosis, las complicaciones hemorrágicas espontáneas son poco frecuentes (5%). Los procedimientos invasivos como colocación de catéteres intravenosos o una monitorización de presión intracraneal pueden resultar en sangrados graves. Sin embargo la mayoría de los pacientes reciben cantidades sustanciales de plasma fresco congelado antes, que puede provocar el sangrado mediante la mejora de la presión intracraneal debido a sobrecarga de volumen.¹⁶

Las complicaciones de la enfermedad hepática pueden agravar la coagulopatía y contribuir así a la tendencia hemorrágica. Las infecciones bacterianas son comunes en pacientes con cirrosis y son una causa importante de mortalidad, pero también se asocian con un aumento en el riesgo de hemorragia.¹⁶

La insuficiencia renal también complica con frecuencia la enfermedad hepática, que también puede agravar las anomalías hemostáticas. Varios estudios en pacientes sometidos a trasplante de hígado han demostrado que la función renal es un predictor importante de pérdida de sangre intraoperatoria y la necesidad de transfusión.¹⁶

Las pruebas de laboratorio de rutina de la hemostasia, como el conteo plaquetario, el tiempo de protrombina y el tiempo parcial de tromboplastina activada son con frecuencia anormales en pacientes con enfermedad hepática. La combinación de trombocitopenia con un tiempo de protrombina y tiempo parcial de tromboplastina activada son sugestivos de una diátesis hemorrágica, y tradicionalmente se asume que los pacientes con insuficiencia hepática están en riesgo de hemorragia como resultado de estos cambios hemostáticos. En consecuencia, es práctica común en muchos centros para corregir profilácticamente

un tiempo de protrombina prolongado y tiempo parcial de tromboplastina activada antes de procedimiento invasivos, la administración de plasma fresco congelado.¹⁶

Paralelo a estos hallazgos se postula que el sistema de coagulación en los pacientes con cirrosis se encuentra en un estado de “rebalance” que, si bien es más precario que en las personas sanas, les permite funcionar adecuadamente aun en situaciones de estrés significativo siempre y cuando se ajuste el recuento plaquetario y el hematocrito a los niveles apropiados para su condición. Como las pruebas comúnmente utilizadas para la evaluación del estado de coagulación de estos pacientes no muestran este nuevo rebalance ya que se centran en las alteraciones del componente procoagulante, no deben considerarse herramientas útiles para la predicción del riesgo de sangrado o de complicaciones trombóticas; por ende, no es apropiada la toma de decisiones con base en la alteración de sus resultados.¹³

“REBALANCE” HEMOSTÁSICO EN CIRROSIS

El medio de un paciente con enfermedad hepática, la hemostasis global se reequilibra debido a las alteraciones tanto en el proceso pro y anti-hemostático, pero es probablemente menos estable que en el individuo sano.^{17, 54}

Los pacientes con enfermedad hepática crónica presentan alteraciones de la coagulación, tanto de las vías procoagulantes como anticoagulantes. Aunque las pruebas hemostáticas rutinarias como el recuento de plaquetas, tiempo de protrombina (TP), tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPa) e INR pueden indicar una tendencia hacia el sangrado, diferentes estudios han demostrado que sus valores no se asocian con ni predicen el riesgo de presentar trombosis o hemorragia, con lo que se demuestra poca efectividad y correlación clínica, especialmente si se toma en cuenta que los exámenes de laboratorio actuales no brindan una mirada integral al sistema de coagulación.^{13, 16, 17}

En pacientes con cirrosis, el sistema de hemostasia se encuentra en un estado de “rebalance”, ya que los cambios en alguna de estas vías generan, a su vez, cambios compensatorios en la otra. Es frecuente observar trombocitopenia y defectos en la función de las plaquetas; sin embargo, estos problemas son compensados por los niveles elevados de FvW y la disminución en los niveles de la

proteasa encargada de la degradación de este factor. El resultado de esto es una mejora en la adhesión plaquetaria, evidenciado en las pruebas *in vitro*.^{13, 17}

Se ha demostrado que los pacientes con cirrosis tienen intacta la capacidad para producir trombina. Adicional a esto, existe en los pacientes con enfermedad hepática crónica una resistencia intrínseca a la acción de la trombomodulina, el activador fisiológico de la proteína C.¹³

Finalmente, los niveles reducidos de los inhibidores de la fibrinólisis están balanceados, al menos de manera parcial, con los niveles disminuidos de factores profibrinolíticos, en particular el plasminogeno.¹³

El efecto de todos estos cambios es un sistema hemostásico con un nuevo balance, pero aun funcional. No obstante, este balance es más precario e inestable comparado con el de un individuo sano, de tal manera que es posible que pequeños cambios en alguno de sus componentes puedan alterarlo; esto podría explicar la presentación de complicaciones como sangrado o trombosis.¹³

Una consecuencia clínica importante del concepto hemostasia reequilibrada en la enfermedad hepática, se refiere no sólo a una trasfusión restrictiva durante el trasplante, sino también a la corrección profiláctica de la hemostasia anormal antes de otros procedimientos invasivos, tales como extracción dental, la biopsia hepática y otros.¹⁶

Pruebas de laboratorio

A pesar de su uso ampliamente difundido, se ha demostrado que las pruebas utilizadas para evaluar la hemostasia primaria y secundaria en pacientes con cirrosis no son de utilidad en la práctica clínica por su poco valor como predictores de riesgo de sangrado, particularmente por que estas se afectan cuando los niveles de factores procoagulantes se encuentran entre un 30%-40% de sus valores normales.¹⁶

El tiempo de sangría, considerado de larga data como el examen adecuado para la evaluación de la hemostasia primaria, es prolongado hasta en el 40% de los pacientes con cirrosis; sin embargo, la relevancia clínica de dicho hallazgo no ha sido claramente establecida. Estudios que evaluaron el papel de la desmopresina en el tratamiento estandar de pacientes con cirrosis encontraron que a pesar de que dicho

fármaco disminuyó el tiempo de sangría, no logro reducir el sangrado en pacientes que sometidos a procedimientos de alto riesgo como la hepatectomía; tampoco disminuyó la tasa de hemorragia variceal, lo que indica que la corrección del tiempo de sangría no resulta necesariamente en mejoría de la hemostasia primaria.¹³

El TP evalúa la vía intrínseca de la coagulación detectando deficiencias de factores de coagulación II, V, VII, X y fibrinógeno, mientras que el TTPa evalúa la vía extrínseca. Esta prueba identifica la deficiencia de todos los factores de la coagulación excepto los factores VII y XIII. El TP y el TTPa no reflejan de manera adecuada el nuevo balance en la coagulación que se desarrolla en los pacientes con enfermedad hepática, porque estos solo miden la fase procoagulante y en las hepatopatías crónicas también hay una disminución de los anticoagulantes naturales. Para que ejerza toda su función anticoagulante, la proteína C debe ser activada por la trombina y que este proceso sea aumentado por la trombomodulina, glicoproteína que se encuentra en las células endoteliales. A su vez, la trombomodulina necesita ser activada por glucosaminoglucanos endoteliales como el heparan-sulfato. En este punto cabe anotar que ni el plasma ni los reactivos utilizados para la realización del TP o TTPa contienen trombomodulina o glucosaminoglucanos, motivo por el cual se puede afirmar que estas pruebas representan principalmente la trombina generada por los factores procoagulantes, pero en menor medida la inhibición ejercida por los anticoagulantes naturales.¹³

A pesar de que en los pacientes con cirrosis las pruebas como el TP y el TTPa permanecen alteradas, cuando el balance entre factores pro y anticoagulantes es medido por otros métodos que evalúan de forma más completa el funcionamiento del sistema de la coagulación, este resulta ser normal. Es así como Tripodi y colaboradores demostraron que la formación de trombina en los pacientes cirróticos es normal o no difiere significativamente de la producida por personas sin alteración hepática cuando el recuento plaquetario está entre 50 000 y 60 000 plaquetas por mililitro, de modo que su producción es óptima cuando el recuento es igual o mayor a 100 000 plaquetas por mililitro. Por lo tanto, se puede inferir que la coagulación en pacientes con cirrosis es normal si los niveles de plaquetas son suficientemente altos para sostener la generación normal de trombina; de esta manera se recomienda que

al momento de realizar procedimientos que generen riesgo moderado de sangrado en estos pacientes el recuento plaquetario mínimo sea de 50 000/ μ L, mientras que para procedimientos de riesgo alto este debe estar cerca de los 100 000/ μ L.¹³

También se ha demostrado que bajo condiciones fisiológicas de flujo, las plaquetas de pacientes con cirrosis son capaces de interactuar normalmente con el colágeno y el fibrinógeno, siempre y cuando se ajuste el recuento plaquetario y el hematocrito a niveles normales; por ende *in vivo*, los defectos de número y función plaquetaria parecen no ser tan relevantes como se ha considerado hasta ahora.¹³

Inicialmente el INR fue validado para la estandarización del TP únicamente en pacientes que reciben terapia con antagonistas de vitamina K como la warfarina. Sin embargo, también se usa en la evaluación de los pacientes con enfermedad hepática, e incluso hace parte del modelo para la predicción de supervivencia en pacientes con enfermedad hepática en estado terminal (MELD, por su sigla en inglés). El problema radica en el uso del índice internacional de sensibilidad (ISI) para el cálculo del INR, que genera una variabilidad interlaboratorio entre el 25% y el 78% en la media del INR de pacientes con enfermedad hepática.¹³

Adicionalmente el ISI no está validado en pacientes cirróticos en quienes la coagulopatía es más compleja, ya que además de compartir las deficiencias de factores de la coagulación que presentan los pacientes anticoagulados, también tienen deficiencias de factor V y de síntesis del fibrinógeno.¹³

Dicho lo anterior, es más apropiado pensar que la historia de sangrados previos, la presencia y el tamaño de las varices esofágicas, el grado de hipertensión portal y las comorbilidades tales como la falla renal o anemia, tienen un mayor valor predictivo de sangrado en pacientes cirróticos que la alteración de los exámenes de coagulación rutinarios.¹³

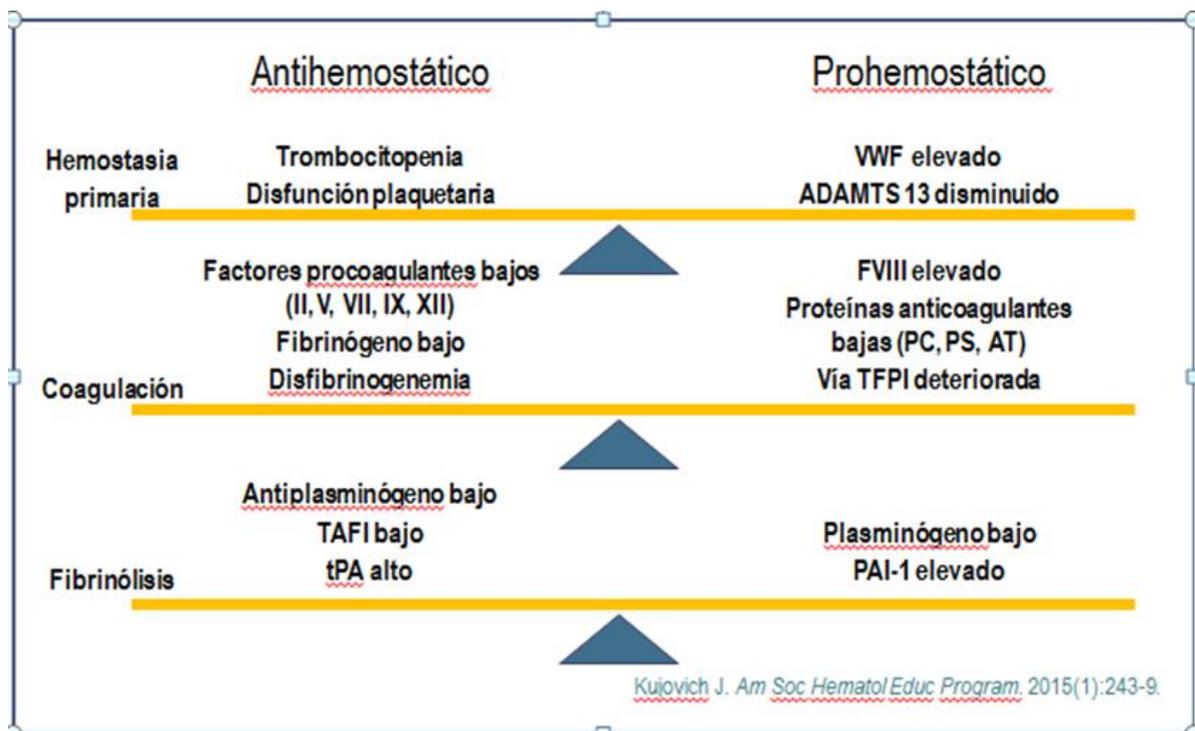
Nuevas pruebas

El analizador de función plaquetaria (FPA, por su sigla en inglés) es una prueba (o *test*) rápida e *in vitro* que permite la medición cuantitativa de la hemostasia primaria. Este dispositivo funciona con sangre que fluye constantemente en un sistema *vacuum* a través de un capilar y una apertura microscópica recubierta por

colágeno y agonistas. El tiempo que demore en cerrar la apertura es un indicador de adhesión y agregación plaquetaria.¹³

Tripodi y colaboradores emplearon la prueba de generación de trombina que, como su nombre lo indica, está diseñada para investigar la generación de esta peptidasa en presencia de inhibidores de la coagulación. En dicha prueba se activa la coagulación con pequeñas cantidades de factor tisular como desencadenante y fosfolípidos como sustitutos de plaquetas. Mediante esta prueba se obtiene la curva de generación de trombina, que es una gráfica de su concentración contra el tiempo, en la que se determina el potencial endógeno de este factor, que es la cantidad de trombina que una muestra de plasma puede generar bajo las condiciones de la prueba y que representa el balance entre factores procoagulantes y anticoagulantes. Es la prueba que más se acerca a las condiciones *in vivo*, aunque requiere de mayor investigación y validación.¹³

La cirrosis hepática se acompaña de anomalías en la hemostasia y coagulación que generalmente dan lugar a la aparición de fenómenos hemorrágicos, no obstante en ocasiones se crean estados de hipercoagulabilidad con el resultado de trombosis venosa profunda y/o embolia pulmonar.¹⁸



HIPERCOAGULACIÓN EN ENFERMEDAD HEPÁTICA

Contrario al paradigma por el que la cirrosis se consideraba una enfermedad en la que la tendencia de los pacientes era principalmente hacia el sangrado, actualmente se ha demostrado que coexiste un estado de hipercoagulabilidad que se manifiesta con desenlaces trombóticos micro o macrovasculares pocas veces atribuidos a esta condición.^{13, 16, 19}

La evidencia clínica de hipercoagulabilidad sobre la base de las complicaciones de sangrado clínico en pacientes con cirrosis y las pruebas de laboratorio de hipocoagulación tales como tiempo de protrombina prolongado y tiempo de tromboplastina parcial activado, ha sido durante mucho tiempo asumido que estos pacientes están “anti-coagulados” y por lo tanto protegidos contra enfermedad trombótica. Estudios recientes han demostrado que los pacientes con enfermedad hepática sí desarrollan trombosis venosa profunda y embolia pulmonar en tasas apreciables (entre 0.5% y 1.9%). Además, en gran estudio poblacional, los pacientes con enfermedad hepática se han mostrado a mayor riesgo de desarrollo de trombosis venosa en comparación con personas sanas.¹⁶

La deficiencia de factores procoagulantes en enfermedad hepática crónica pudiese ser la responsable de la tendencia al sangrado de los pacientes con cirrosis. No obstante, también se ha demostrado una disminución en la producción de anticoagulantes endógenos como la proteína C, proteína S, trombomodulina y tPA. Además, en la cirrosis se presenta una reducción en la producción proteica, que se traduce en una reserva disminuida de factores hacia ambos lados del sistema, lo que a su vez reduce la capacidad de compensar incluso pequeñas variaciones en la hemostasia sanguínea, que en ocasiones favorece un estado de hipercoagulabilidad. Un ejemplo sería la disminución en las reservas de proteína C: pequeñas deficiencias de esta generan alteración del balance hemostático y favorecen el estado protrombótico.^{13, 16}

La cirrosis se asocia con un desequilibrio procoagulante, este desequilibrio se cree que se debe a la disminución de la proteína C y el aumento de factor VIII. Para probar esta hipótesis Tripodi et al 2013 analizaron el plasma de 50 pacientes con cirrosis antes y después de la adición in vitro de la proteína C purificada que

pretende restaurar los niveles normales. Como resultados encontraron que el nivel de proteína C antes de la adición fue de 40% y aumentó a 156% después de la adición ($P < 0.001$). Los resultados proporcionan evidencia de que bajos niveles de proteína C contribuye al desequilibrio procoagulante en el plasma de pacientes con cirrosis. Considerando que estos hallazgos pueden tener implicaciones clínicas en la profilaxis de la trombosis en estos pacientes.²⁰

En la cirrosis se presenta un estado constante de vasodilatación sistémica. Este afecta especialmente el lecho esplácnico, situación que contribuye al desarrollo de estasis vascular, la cual se acompaña de altas concentraciones de factores procoagulantes. De esta manera aporta a la alta prevalencia de trombosis portal. Como manifestaciones clínicas del predominio del estado de hipercoagulabilidad se encuentra la enfermedad trombotica macrovascular, que puede presentarse como tromboembolismo pulmonar (TEP), trombosis venosa profunda (TVP) o trombosis de la vena porta. Debido a que en la práctica clínica se le da mayor importancia a la detección de las anormalidades en la coagulación que favorezcan el sangrado, este fenómeno muy pocas veces se diagnostica antes de que se presenten dichos desenlaces.¹³

Otra manifestación es la trombosis microvascular, cuyas principales características son la hipertensión portal y portopulmonar. Posiblemente su fisiopatología se explica por la pérdida de la barrera endotelial, lo que activa la cascada de la coagulación y expone el musculo liso a señales de vasoconstricción, proliferación y trombosis, con el posterior desarrollo de arteriopatía. La presencia de microtrombos en la microvasculatura hepática se ha asociado con mayor inflamación hepática, fibrosis y rápido establecimiento de cirrosis, fenómeno que hace parte del proceso denominado *extinción de parénquima*.¹³

El tromboembolismo venoso (TEV) en pacientes con cirrosis es reconocido cada vez más como un problema clínico, y los métodos ideales de profilaxis, tratamiento y seguimiento de TEV en esta población de pacientes todavía no se han determinado. Aunque la hemorragia ha sido considerada tradicionalmente como la complicación hemostática más frecuente y grave de la enfermedad del hígado, cada vez hay más conciencia de que una relación normalizada internacional (INR) elevado

en pacientes con cirrosis puede no ser protectora de la trombosis. De hecho, la hipercoagulabilidad es ahora un aspecto reconocido de la enfermedad hepática.¹⁹

Varios centros han intentado evaluar el riesgo de TEV (tromboembolismo venoso) en pacientes con cirrosis. La incidencia de trombosis venosa profunda (TVP) o embolia pulmonar (EP) en pacientes hospitalizados con cirrosis mostró una variación de 0.5 a 6.3%. Los resultados han sido contradictorios.¹⁹

La patogénesis de la enfermedad tromboembólica venosa (TEV) en cirrosis es complejo e implica varios factores, tanto cambios endógenos asociados con cirrosis con aumento de los niveles de los factores VII y también la limitada actividad de la proteína C en ausencia del receptor endotelial trombomodulina y por lo tanto no puede ejercer la actividad anti-coagulante.²¹

Walker 2005 en el estudio Portal vein thrombosis: what is the role of genetics?, refiere que la trombosis de la vena porta asociada o no a cirrosis tiene una etiología multifactorial. De los factores sistémicos hereditarios la deficiencia de antitrombina, deficiencia de proteína C y deficiencia de proteína S son relativamente raros, pero se asocian con un alto riesgo de trombosis. Recientemente las mutaciones del factor V Leiden (FVL), protrombina G20210A y homocigosis para el polimorfismo C677T de la metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR) han demostrado ser más comunes, pero se asocian con un menor riesgo de trombosis de las deficiencias hereditarias de proteínas anticoagulantes. Se estima que estas deficiencias a aumentar el riesgo trombosis venosa profunda en aproximadamente 10 veces. La prevalencia de dichas mutaciones y deficiencias difiere en relación a la población estudiada. La identificación de una trombofilia hereditaria asociada con VTP en el futuro pueden ser considerados en relación con el uso y la duración de la terapia anticoagulante.²²

García-Fuster et al 2007, refiere que la enfermedad tromboembólica venosa es poco frecuente en la cirrosis hepática, no estando su tratamiento contemplado en las guías del *American College of Chest Physicians*, lo que motivo un estudio para documentar la experiencia del Hospital Clínico Universitario de Valencia de pacientes cirróticos con enfermedad tromboembólica de enero de 1992 a diciembre del 2007, reportando una serie de 2074 pacientes, 17 con enfermedad tromboembólica venosa no esplácnica (0.8% de los pacientes cirróticos), observando en ellos

hipoalbuminemia, disminución de factores anticoagulantes (antitrombina III, proteína C y proteína S), presencia de anticuerpos antifosfolípidos e hiperhomocisteinemia, así como la presencia de factores de riesgo adquiridos, presentando complicaciones hemorrágicas graves el 35% de los pacientes tras la anticoagulación.¹⁸

La identificación de marcadores de la coagulabilidad y el seguimiento de la terapia de anticoagulación en la cirrosis es problemática, no hay recomendaciones para guiar la práctica en este sentido. En la revisión realizada por Buresi et al 2012, se concluye que existe evidencia a favor de un mayor riesgo de enfermedad tromboembólica en la cirrosis.¹⁹

Wu et al 2010, evaluaron el riesgo de tromboembolismo venoso (TEV) en pacientes con cirrosis comparado con pacientes sin cirrosis, se evaluó el impacto de TEV en la mortalidad hospitalaria y la estancia intrahospitalaria. Como resultados los pacientes con cirrosis compensada y descompensada estaban en mayor riesgo de TEV hasta la edad de 45 años. Después de los 45 años de edad, la cirrosis compensada se asoció con una modesta disminución de la probabilidad de TEV.²³

Aldawood et al 2011, realizaron un estudio en cual el objetivo fue determinar la incidencia y factores predictores de TEV (tromboembolia venosa) y examinar la práctica de la profilaxis para la trombosis venosa profunda en los pacientes cirróticos hospitalizados. Fue un estudio de cohorte en un hospital de tercer nivel, se incluyeron todos los pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática que ingresaron a hospitalización de enero a diciembre del 2009, agrupados en pacientes cirróticos sin TEV y cirróticos con TEV. Se incluyeron 226 pacientes cirróticos, 6 pacientes desarrollaron TEV (2.7%), 76% de los pacientes cirróticos no habían recibido profilaxis para la TVP. Concluyendo que los pacientes cirróticos están en riesgo de desarrollar TEV y que el uso de la profilaxis es subóptima.²¹

Northup et al 2006, realizan un estudio con el objetivo de determinar la incidencia y factores predictivos para TEV, trombosis venosa profunda y embolia pulmonar en pacientes hospitalizados con cirrosis. Se incluyeron 21 000 con diagnóstico de cirrosis hospitalizados del periodo de 1993 al 2001, documentando en 113 pacientes hospitalizados con cirrosis un evento reciente de TEV. Los resultados mostraron que un 0.5% de los pacientes hospitalizados con cirrosis tuvo un evento

de TEV, el valor de INR y el recuento plaquetario no fueron predictivos de TEV, la albúmina sérica fue significativamente menor en los casos que en los controles. Concluyendo que los niveles bajo de albúmina pueden estar en relación a un menor nivel de anticoagulantes endógenos, y que la coagulopatía propia de la enfermedad hepática crónica no protege del todo a los pacientes con cirrosis de eventos de TEV.

24

Dabbagh et al 2010, evaluaron la incidencia de TEV en pacientes hospitalizados con enfermedad hepática crónica y su relación con el valor de INR, fue un estudio realizado en un hospital de tercer nivel, se incluyeron 190 pacientes adultos que ingresaron con diagnóstico primario de enfermedad hepática crónica durante un periodo de 7 años y que presentaron un evento de TEV durante su estancia, se consideraron factores de riesgo ya conocidos para tromboembolia venosa (obesidad, malignidad, evento previo de TEV, edad mayor a 70 años, hipercoagulabilidad, cirugía y esteroides), se dividieron los pacientes en grupos en base a nivel de INR, se compararon los eventos de TEV y el uso de profilaxis. Como resultados se obtuvieron que 12 de ellos desarrollaron eventos de TEV, con reporte de una incidencia de 6.3%; no hubo diferencia en el valor de INR en relación a la presencia de TEV; un paciente se encontraba en estadio Child A, tres pacientes con Child B y 8 pacientes con Child C, no hubo relación con un estado de hipercoagulabilidad. Concluyendo que la auto-anticoagulación de la enfermedad hepática no protege contra los eventos de tromboembolia y que el uso de profilaxis es extremadamente baja en esta población.²⁵

Tripodi et al 2009, en su estudio An imbalance of pro vs anti-coagulation factors in plasma from patients with cirrhosis, compara el perfil de coagulación de individuos sanos con el de pacientes con cirrosis, encontrando una proporción media de generación de trombina mayor en cirrosis que en los controles lo que se tradujo en una mayor hipercoagulabilidad de plasma de estos pacientes, estableciendo una correlación con el estadio de Child Pugh con mayor hipercoagulabilidad en clase C que de clase A o B; documentó que los niveles de factor VIII aumentaron progresivamente con la puntuación de Child Pugh (de Child Pugh clase A a C), y los niveles de proteína C mostraron la tendencia opuesta. Concluyendo que la

hipercoagulabilidad del plasma de pacientes con cirrosis parece resultar de un aumento en los niveles de factor VIII y disminución de los niveles de proteína C, siendo estos hallazgos una posible explicación para el riesgo de tromboembolismo venoso en pacientes con enfermedad hepática crónica.²⁶

TROMBOFILIA

Desde hace varios siglos se conoce que los defectos de la coagulación causan enfermedades hemorrágicas, pero el estudio de su contraparte, las enfermedades trombóticas, se ha desarrollado con mayor profundidad hace solo algunas décadas. Son estos trastornos del sistema de la coagulación los que constituyen una de las causas más comunes de muerte en el mundo, cada año mueren alrededor de 2 millones de personas por trombosis, ya sea arterial o venosa. Además se consideran fuente importante de morbilidad en las personas que las padecen y sobreviven.²⁷

La trombofilia o estados de hipercoagulabilidad se definen como la predisposición a formar coágulos de manera inapropiada, los cuales puede originarse por factores genéticos, cambios adquiridos en el mecanismo de la coagulación o más comúnmente, por interacción entre factores genéticos y adquiridos.^{27, 28}

En 1856, Virchow señalaba 3 aspectos esenciales para la aparición de trombosis: cambios en la pared vascular, anomalías del flujo sanguíneo y alteración de los factores circulantes que condicionan un estado de hipercoagulabilidad. Estos aspectos dan lugar a la conocida tríada de Virchow, la cual se mantiene vigente en la actualidad para explicar los fenómenos trombóticos.^{14, 27}

Los eventos trombóticos durante la infancia y la niñez se reconocen cada vez como una fuente importante de mortalidad y morbilidad de por vida. El Registro Canadiense de Trombofilia en la Infancia documentó una tasa de mortalidad del 16% en niños con trombosis venosa. La morbilidad es también sustancial, con eventos trombóticos recurrentes en 8.1 % de los niños.²⁹

Epidemiología

La incidencia real de la trombofilia primaria no se conoce bien, puesto que aún no se establecen todas las alteraciones genéticas que ocasionan una tendencia.³⁰

La incidencia global de eventos trombóticos venosos en niños se estima entre 0,7 y 1,9 por cada 100 000 niños; los recién nacidos tienen un riesgo particularmente alto de eventos trombóticos con una incidencia anual estimada de 0,51/10 000 recién nacidos.³¹ Este inherente mayor riesgo se debe presumiblemente a un sistema de

coagulación inmaduro marcado por una disminución actividad de los factores anticoagulantes incluyendo la antitrombina (ATIII), la proteína C (PC), y la proteína S (PS). La actividad fibrinolítica también disminuye relativamente en los lactantes, lo cual se refleja en los niveles de plasminógeno inferiores. A los 6 meses de edad, los niveles de casi todos los factores de coagulación de adultos alcanzan valores y disminuye el riesgo de trombosis.²⁹

Existen diversas condiciones genéticas, adquiridas o ambas, que predisponen a la formación y desarrollo inapropiado de coágulos en la luz vascular, a lo que se le denominó trombofilia. Según su etiología se puede clasificar en 2 grupos: trombofilia primaria o hereditaria, que se define como una tendencia determinada genéticamente a desarrollar trombosis; y trombofilia secundaria o adquirida, que corresponde a una serie de trastornos adquiridos en los que existe un mayor riesgo de desarrollar trombosis, donde se incluyen los procesos tromboembólicos que resultan de la interacción de factores genéticos y ambientales.²⁷

Recientemente se han identificado nuevos trastornos como la mutación del factor V de Leiden (FVL G1691A), la mutación G20210A de la protrombina (FII G20210A), los polimorfismos C677T de la metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR) y el alelo 4G del activador del plasminógeno inhibidor-1 (PAI-1), los cuales se asocia con un mayor riesgo de trombosis venosa.³²

Alteraciones de la coagulación hereditarias

Las alteraciones de la coagulación hereditarios suelen ser sospechadas en los niños con una causa inexplicable para la trombosis, una historia familiar positiva, una historia de la recurrente de eventos tromboticos, o trombosis en un lugar inusual.²⁹

Las alteraciones de la coagulación hereditarios más comunes se deben a mutaciones en el gen del FVL G1691A, del gen del FII G20210A, seguido por las deficiencias de antitrombina, la proteína C y proteína S, y por la hiperhomocisteinemia y disfibrinogenemia.²⁹

La susceptibilidad genética a la trombosis, más a menudo el resultado de una combinación de defectos protromboticos en lugar de un solo defecto genético. Herencia conjunta de la mutación del FVL con deficiencias de proteína C, proteína S,

o antitrombina, la variante de FII G20210A, los polimorfismos de la 5,10 metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR) o con el aumento de la lipoproteína (a) [Lp(a)]. Otras anomalías hereditarias para que las asociaciones son más débiles con eventos tromboticos han sido defectos de plasminógeno, inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1), y la deficiencia en el cofactor de heparina 2.²⁹

Las directrices internacionales recomiendan la detección de factores de riesgo hereditarios y adquiridos como parte importante en el manejo de la trombosis.³¹ Su diagnóstico es de gran importancia porque permite realizar profilaxis para evitar el riesgo de recurrencia e informa sobre la posibilidad de un estado de portador en cualquier miembro de la familia.²⁷

TROMBOFILIA PRIMARIA	
Inhibidores de la coagulación	Mutaciones genéticas
- Déficit de proteína C (PC)	- Mutación G1691A del Factor V (FVLG1691A)
- Déficit de proteína S (PS)	- Polimorfismo G20210A del gen del Factor II (FIIIG20210A)
- Déficit de antitrombina (AT).	- Polimorfismos de la Enzima Metilentetrahidrofolato Reductasa (MTHFR): (MTHFRC677T) y (MTHFRA1298C)
	- Polimorfismo de los G's repetidos en el promotor del Inhibidor del Activador del Plasminógeno (PAI-1 5G/4G)
	- Polimorfismo de Inserción/Delección de 287 pb en intrón 16 de la Enzima Convertidora de Angiotensina 1(ECA-1 I/D Int16)
Fuentes C. 2011. Implementación de un panel para diagnóstico molecular de trombofilia. Centro de Investigación Biomédica de Occidente. Tesis para Maestría.	

Deficiencia de proteína C (PC)

Stenflo en 1976 identificó la proteína C (PC) como una proteína dependiente de la vitamina K, y pronto se demostró que tiene propiedades anticoagulantes después de su activación por trombina.¹⁴

En 1981, Griffin et al fueron los primeros en describir la deficiencia de proteína C heterocigota en una familia con antecedente de trombosis recurrente. Unos años más tarde, la deficiencia de proteína C homocigota se asoció con púrpura fulminante neonatal grave debido a la extensa trombolización intravascular de la microvasculatura.^{14, 27}

En cohortes de pacientes de trombosis, se encontró deficiencia de PC ligeramente más a menudo que la deficiencia de ATIII, pero aún en menos de 5% de los pacientes.¹⁴

La PC es una glicoproteína tipo serpina (inhibidor serín proteasa) de síntesis hepática que pertenece al grupo de las proteínas dependientes de vitamina K, que mediante un proceso de carboxilación convierte el precursor inactivo, PC acarbóxica, en una molécula funcional. La PC carboxilada circula en el plasma en una concentración de 50 a 80 nM y su peso molecular es de aproximadamente 62 kD. Está constituida por 2 cadenas polipeptídicas ligadas una con otra por puentes disulfuros. La cadena de alto peso molecular contiene la zona activa de la molécula, mientras que la cadena de bajo peso molecular contiene los residuos gamma carboxiglutámicos necesarios para la fijación al calcio y fosfolípidos. Como otros factores de la coagulación, se encuentra en el plasma en forma de proenzima. Su transformación en enzima activa requiere la presencia de trombina, calcio y fosfolípidos. Esta activación dependiente de trombina es potencializada por la trombomodulina presente en el endotelio y es inhibida por el inhibidor de la PC y la alfa 1 antitripsina.²⁷

En estado activo, la PC regula el proceso de coagulación al neutralizar la actividad procoagulante de los cofactores V activado (Va) y VIII activado (VIIIa) en presencia de PS. De esta forma ayuda a limitar la extensión del trombo, actuando como el principal regulador del proceso de coagulación.²⁷

La PC activada no solo desempeña una función importante en el proceso de coagulación, sino que también favorece el incremento de la fibrinólisis por inhibición del inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1), del activador tisular del plasminógeno (tPA) y de la uroquinasa. La PC activada y el PAI-1 se unen y forman un complejo que interactúa con la fibrina para bloquear la liberación del PAI-1 del endotelio.²⁷

La deficiencia de PC puede ser causada por la disminución en la síntesis de la molécula, lo que provoca un descenso en los niveles de la proteína y su función (deficiencia de proteína C tipo 1); o por la presencia de una proteína anómala desde el punto de vista funcional, pero con niveles cuantitativos normales (deficiencia de

proteína C tipo 2). Esta última puede subdividirse en 2 tipos: el 2a y el 2b, según se ponga de manifiesto la alteración cuando se determina con el método coagulativo o amidolítico.^{14, 27, 29}

La deficiencia de PC es una alteración autosómica dominante con penetrancia variable, que se localiza en el cromosoma 2. Su expresión genética puede ser homocigota o heterocigota y su prevalencia es muy variable, tanto en controles sanos como en pacientes con trombosis.²⁷

Miletich et al, encontraron que en la forma heterocigota uno de cada 200 o 300 adultos sanos eran portadores de esta deficiencia. En pacientes con hipercoagulabilidad y trombosis venosa la frecuencia es aproximadamente del 5 % y está asociada con el 50 % de posibilidades de tener una trombosis antes de los 30 o 40 años. La morbilidad aumenta con la edad avanzada y cuando los pacientes tienen un riesgo elevado de eventos tromboticos. La trombosis venosa profunda es la manifestación clínica más frecuente.^{14, 27}

En algunos estudios familiares se ha visto que los miembros afectados tienen de 3 a 7 veces más riesgo de sufrir una trombosis venosa que la población no afectada, con un gradiente de riesgo de acuerdo con los niveles de la proteína. Sin ignorar la gran variabilidad de la expresión clínica que se observa en las diferentes familias, en algunos casos los cuadros tromboticos son escasos y afectan a pocos miembros, aunque la anomalía esté ampliamente representada.²⁷

En las familias con expresión homocigota de la deficiencia, la mortalidad es más elevada y se presenta como un estado purpúrico fulminante, condición de extrema gravedad que suele ser incompatible con la vida del recién nacido. Esta condición afecta de 1 a 2 recién nacidos por cada 1 000 000 de nacimientos.²⁷

Las deficiencias adquiridas se han observado fundamentalmente en afecciones hepáticas como las hepatitis agudas o crónicas, en la cirrosis hepática, en tratamientos con medicamentos antivitaminas K, coagulación intravascular diseminada, infecciones agudas o bacterianas de forma transitoria, especialmente en portadores heterocigóticos, distrés respiratorio del adulto, estados posoperatorios y en procesos inflamatorios agudos.²⁷

Para el diagnóstico de esta deficiencia se recomienda el estudio familiar y en caso de valores límites repetir las determinaciones por la gran variabilidad de factores que pueden influir en los niveles de esta proteína. Para ello es necesario emplear un ensayo funcional (cromogénico o coagulométrico) con la presencia de un activador específico de la PC extraído del veneno de víbora *Agkistrodon c contortrix*.

27

Deficiencia de proteína S (PS)

En 1977, Di Scipio et al, descubrieron una proteína vitamina K dependiente a la que llamaron proteína S (PS). Tres años más tarde, Walker demostró que actuaba como cofactor de la PC aumentando su capacidad de inactivar el FVa.²⁷

La PS es una glicoproteína dependiente de vitamina K de 70 kD sin actividad proteolítica. Su única cadena polipeptídica contiene aproximadamente el 7 % de hidratos de carbono y su concentración plasmática es de alrededor de 25 mg/L. Se sintetiza como precursor inactivo en el hígado, en células endoteliales, megacariocitos y células de Leyding testiculares, y su vida media es de 55 horas. La forma activa se obtiene tras la carboxilación de los residuos glutámicos por una carboxilasa dependiente de vitamina K y contiene los residuos gamma carboxiglutámicos que permiten la unión al calcio.^{27, 29, 33}

La PS actúa como cofactor de la PC activada con la que forma un complejo estequiométrico 1:1, potenciando la función anticoagulante de la PC por incrementar su afinidad por los fosfolípidos de la membrana. Cuando es modificada por la trombina pierde su función anticoagulante como cofactor de la PC activada, pero mantiene su afinidad por los fosfolípidos.²⁷

La bioquímica de la PS parece ser bastante complicada debido a que forma un complejo con la proteína que fija la C4b del complemento (proteína fijadora C4b-BP). Bajo condiciones fisiológicas existe un equilibrio de 2 formas diferentes de la PS: una que circula en el plasma en forma libre (forma funcionalmente activa) que representa el 40 % de la PS total con actividad de cofactor de la PC activada (PCA); y otra unida al C4b- BP que representa el 60 % de la PS total y no actúa como cofactor de la PC.

27, 33

La deficiencia de PS se clasifica en 3 categorías:

- Tipo I: caracterizada por disminución del nivel antigénico de la PS total y libre.
- Tipo II: caracterizado por disminución de la actividad de la PS asociada con niveles antigénicos normales de PS total y libre.
- Tipo III: caracterizada por niveles antigénicos y funcionales de PS libre disminuidos con niveles normales de PS total.

La deficiencia puede presentarse en alrededor de 1 de cada 20 000 personas, de forma congénita o adquirida. La base genética de la deficiencia de la proteína S es heterogénea. Hay más de 200 mutaciones en PROS1 descritas. Cualquiera de las 2 formas puede aumentar el riesgo tromboembólico por disminución del potencial anticoagulante de la sangre e inducir a episodios trombóticos recidivantes. El gen está ubicado en el cromosoma 3 y el patrón de herencia es autosómico dominante. El mismo defecto genético puede dar lugar a diferentes variables fenotípicas y a esto se une el efecto de las variables adquiridas, sobre todo la edad. El espectro clínico de trombosis es muy amplio, pero solo el 1 % de todos los fenómenos trombóticos se debe a esta deficiencia. Desde 1984 se han descrito numerosas familias con trombofilia asociada con la deficiencia de PS. Aunque el riesgo real de trombosis en las personas afectadas no se conoce, ya que está sin determinar su prevalencia en la población sana, parece ser un factor de riesgo de muerte intrauterina, crecimiento intrauterino retardado y preeclampsia. También se ha asociado con trombosis venosa profunda recurrente y, aunque la enfermedad arterial es menos frecuente, se han descrito eventos isquémicos cerebrales en adultos jóvenes.²⁷

El riesgo de trombosis venosa en sujetos con deficiencia de proteína S es de 5 a 10 veces mayor que en familiares sin deficiencia de dicha proteína. La deficiencia de proteína S tiene una incidencia de trombosis venosa de 0.7% al año, con un riesgo de recurrencia anual del 6% al 10%.³³

La deficiencia adquirida puede estar asociada con síndromes inflamatorios con elevación de C4b-BP, por ser esta una reactante de fase aguda e influir en los niveles de PS libres; afecciones hepáticas, síndrome nefrótico, tratamientos con medicamentos antivitaminas K, anticonceptivos orales, L-asparaginasa, lupus

eritematoso sistémico, anemia falciforme, embarazo, terapias hormonales y mujeres premenopáusicas.²⁷

Teniendo en cuenta la importancia de estas proteínas anticoagulantes para el mantenimiento del equilibrio del sistema hemostático, su diagnóstico resulta de gran importancia aún cuando su deficiencia no presenta una frecuencia elevada, pues constituye una causa importante de predisposición en la aparición de eventos tromboembólicos. Ello posibilitaría detectar nuevos portadores o enfermos en las familias y prevenir eventos que puedan comprometer la calidad de vida.²⁷

Pintao et al 2013, realizaron un estudio para determinar el riesgo de trombosis venosa en relación con los niveles bajos de proteína S libre y total, emplearon un grupo control, incluyeron 5317 pacientes. Encontraron que los niveles séricos de proteína S libre por debajo de la percentila 2.5 no incrementan el riesgo de trombosis venosa; sin embargo niveles muy bajos de proteína S libre (por debajo de percentil 0.1) confiere mayor riesgo de trombosis venosa profunda, no así los niveles séricos de proteína S total.³³

Deficiencia de antitrombina (ATIII)

En 1905 Morawitz propuso que la antitrombina (ATIII) era la responsable de la pérdida de la actividad de la trombina después de la coagulación sanguínea, pero tomo hasta 1963 después de un ensayo clínico para ATIII en plasma de unos pacientes que fue conocido.¹⁴

La asociación entre el riesgo de trombosis y la deficiencia de ATIII fue reportado por primera vez por Egeberg en 1965, documentando deficiencia de ATIII en una familia en la que varios miembros sufrieron de trombosis. La antitrombina es una serpina multifuncional que inhibe todas las enzimas activas de la vía de la coagulación. El gen ATIII ya ha sido localizado, y varios defectos moleculares se han identificado. La ATIII funciona mediante la formación de un complejo con los factores de coagulación activado trombina, Xa, IXa. La formación de este complejo es relativamente lenta, pero los glucosaminoglucanos de la familia de heparan sulfato presentes en el endotelio intacto y la heparina estimulan su actividad inhibitoria.^{14, 29.}

Se han descrito dos tipos principales de la deficiencia de ATIII. Deficiencia tipo I ATIII es un defecto cuantitativo causado por una mutación que resulta en la disminución de la síntesis y la actividad funcional de ATIII; mientras que la deficiencia de ATIII tipo II, es un defecto cualitativo caracterizado por la disminución de actividad de ATIII con niveles normales.²⁹

No se ha reportado ningún caso de deficiencia de ATIII tipo 1 homocigoto sugiriendo que la deficiencia completa de ATIII es incompatible con la vida. La deficiencia de ATIII tipo 1 heterocigoto es relativamente rara en la población general (aproximadamente 1 en 2000) y esto se ha asociado a un incremento en 10 veces el riesgo de trombosis. Se han descrito un gran número de mutaciones en el gen de AT resultando en defectos funcionales o bajos niveles en plasma.¹⁴

Aunque es poco frecuente antes de la segunda década de la vida, hay reportes de casos aislados de complicaciones trombóticas debidas a la deficiencia de ATIII en lactantes y niños. Se han comunicado menos de 60 casos pediátricos de trombosis venosa asociados con deficiencia heterocigotos de ATIII. Al igual que en otras formas de trombofilia, el riesgo de desarrollar complicaciones trombóticas depende del subtipo particular de deficiencia de ATIII y coexistencia de factores de riesgo adquiridos o heredados. En una pequeña estudio de casos y controles, las probabilidades de desarrollar eventos trombóticos para heterocigotos con deficiencia de AT eran diez veces mayor que en los niños con valores normales de ATIII.²⁹

PROTEINAS ANTICOAGULANTES					
	1 – 6 meses	6 – 12 meses	1 – 5 años	6 – 10 años	11 – 18 años
AT (%)	81-126	90-132	93-128	92-122	90-119
PS (%)	60-103	61-95	65-99	63-97	69-119
PC (%)	41-115	60-117	63-133	62-134	71-144

Coagulometría. AT: antitrombina, PS: proteína S, PC: proteína C
 Appel IM, J Thromb Haemost 2012;10:2254-63.

Mutación del Factor V de Leiden (FVL G1691A)

En estudios de cohortes de trombosis realizados durante los años 1980s, la deficiencias de antitrombina, proteína C, y proteína S fueron identificadas en menos

del 10% de los pacientes aunque las historias familiares positivas se presentaban en 40% de los casos. Esto sugirió que había mas factores de riesgo genético que tendrían que ser identificados, y en 1993 este avance se produjo en con el descubrimiento de la resistencia de la proteína C activada (APC).¹⁴

Una observación clave fue que la adición de APC en el plasma del paciente no dio lugar a la esperada prolongación del tiempo de coagulación. Este fenómeno impulsó a acuñar el término de resistencia APC como una descripción fenotípica de la condición. El trabajo de seguimiento demostró que la resistencia a la PCA era heredada. En estudios posteriores de cohortes de trombosis, se encontró que la resistencia a APC era altamente prevalente (20%-60%), y también relativamente común en poblaciones sanas de control (5%-10%). Se encontró que un extracto de proteína de plasma normal era capaz de normalizar la resistencia a la PCA, lo que llevo a purificar la proteína implicada. A principios de 1994 se informó de que su identidad era el factor de coagulación V, lo que sugiere la resistencia a APC es causada por una mutación en el gen del FV, la cual es causada por una sustitución nucleotídica G por A en posición 1691 en el gen del factor V humano, lo que se traduce en un reemplazo a nivel aminoacídico de Arg por Gln en posición 506. Pronto varios laboratorios informaron de forma independiente la búsqueda de la misma mutación causal en el gen FV, identificando un único punto de mutación, que resulta en la sustitución de arginina en la posición 506 por una glutamina. La mutación del FV es comúnmente conocida como FV Leiden, ya que Bertina et al de la ciudad holandesa de Leiden fueron los primeros en reportar la mutación.¹⁴

Aproximadamente 95% de los pacientes con una prueba de resistencia de proteína C activada positiva tienen la mutación del factor V de Leiden. El 5% restante de los casos son atribuibles al uso de anticonceptivos, la presencia de anticoagulante lúpico, u otra mutación rara en el gen del factor V.^{29, 34}

En los caucásicos, factor V Leiden es el trastorno hereditario más común que predispone a la trombosis. Un 3% a 8 % de los caucásicos son portadores de la mutación del factor V de Leiden y aproximadamente el 0,1 % son homocigotos. En contraste, esta mutación es relativamente poco común en las poblaciones de África y Asia, con una prevalencia combinada de <1%. Majluf et al, documentaron una

prevalencia en la población mestiza mexicana de 0.85% para esta condición.³⁵ Los niños con mutación del factor V de Leiden homocigotos o heterocigotos, por lo general tienen su primer evento trombótico después de la pubertad, con una incidencia anual estimada de 0,28%. El portador heterocigótico de la mutación del factor V Leiden aumenta el riesgo de trombosis 5 a 10 veces, mientras que los individuos homocigotos para dicha mutación tienen 80 veces mayor riesgo. Los eventos trombóticos asociados con la mutación del factor V de Leiden pueden ocurrir ya sea en la circulación venosa o arterial.^{14, 29}

Mutación de la protrombina G20210A (FII G20210A)

En 1996, Poort et al en Leiden identifican otra mutación como un factor de riesgo de trombosis venosa. La mutación puntual corresponde a una sustitución de G por A en la posición 20210 que afecta la región 3' no codificante del gen de la protrombina. Esta mutación se asocia con niveles ligeramente elevados en plasma de protrombina, lo que resulta en un estado de hipercoagulabilidad y una de toda la vida de 3 a 4 veces mayor riesgo de trombosis.^{14, 29}

La mutación se encuentra en 2% a 4% de los individuos sanos en el sur de Europa, la cual es el doble de la del norte de Europa. La frecuencia de la mutación del gen de la protrombina se estima en 2% a 3% en la población caucásica, y 4% a 5% en la población mediterránea, por lo que es el segundo defecto genético protrombótico más prevalente. Quintero et al, reportó una prevalencia en la población sana mexicana de 3% para ésta mutación.³⁶ El estado homocigoto es extremadamente raro. En contraste con los homocigotos para la deficiencia de AT, proteína C y proteína S, que suelen cursar con complicaciones trombóticas graves temprano en la vida, las personas homocigotas para la mutación del gen de la protrombina tienen manifestaciones clínicas menos graves que generalmente se presentan en la edad adulta.^{29, 34}

Debido a la amplia gama de valores considerada normal, las concentraciones de protrombina en plasma no pueden ser utilizadas para el diagnóstico de la mutación del gen del FII G20210A. Por lo tanto, se requiere una prueba genética

utilizando la tecnología de reacción en cadena de la polimerasa para identificar este defecto.²⁹

Bucciarelli et al 2013, evaluaron el riesgo de tromboembolismo venoso en los familiares de quienes son portadores de la mutación FVL G1691A y la mutación del FII G20210A, estableciendo que el riesgo de trombosis difiere en base el polimorfismo genético (heterocigoto u homocigótico) y que la expresión clínica es variable, desde una tromboembolia venosa en una etapa temprana de la vida, un evento de tromboembolia cuando son mayores y otros permanecen asintomáticos. Esta variación es atribuida a factores individuales como son la existencia combinada de deficiencia de proteínas anticoagulantes, factores asociados como cirugía, inmovilización, embarazo, puerperio o ingesta de anticonceptivos orales. Concluyendo que el patrón heterocigoto en los familiares tiene un alto riesgo para tromboembolismo venoso en comparación con el polimorfismo homocigótico.³⁴

Mutación 5,10-metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR): MTHFR C677T y MTHFR A1298C.

El polimorfismo MTHFR es muy común, con una frecuencia alélica del 60% en la población caucásica.²⁹

La homocigosis para el polimorfismo MTHFR se estima entre 5% y 15% de los caucásicos. Aunque se ha reportado que la mutación MTHFR aumenta el riesgo de accidente cerebrovascular en los niños, los resultados son contradictorios y se basan en sólo unos pocos pequeños estudios observacionales.²⁹

Además de la predisposición genética, los niveles de homocisteína también son influenciados por consumo de folato, vitamina B12 y vitamina B6. Los suplementos de vitamina, la cual conlleva riesgos conocidos, parece reducir los niveles de homocisteína, y ha sugerido que los niños con antecedentes de accidente cerebrovascular que son homocigotos para la mutación MTHFR puede beneficiarse de los suplementos de vitamina para reducir el riesgo de recurrencia.²⁹

Una de las alteraciones genéticas que predisponen a trombosis, y que ha sido ampliamente estudiada, es la mutación C677T en el gen que codifica para la enzima 5,10 metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR). Así también, la presencia de la

mutación A1298C en el mismo gen es considerada como un factor genético que predispone a trombosis. En la población caucásica, la incidencia de la mutación C677T en MTHFR es de aproximadamente 40% para los estados heterocigotos, y de 10% para los homocigotos. Existen informes de que los pacientes trombofílicos mexicanos que son portadores de estados hetero u homocigotos para la mutación C677T en MTHFR, no expresan un aumento de homocisteína plasmática.³¹

Inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1 (PAI-1)

El inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1 (PAI-1) es el principal inhibidor fisiológico de la actividad del sistema fibrinolítico mediante la inhibición del activador del plasminógeno tisular (tPA) y del inhibidor del activador tipo urocinasa (uPA), por lo que un incremento en su concentración plasmática se asocia a eventos tromboticos. El polimorfismo que consiste en una sola inserción/delección de una base guanina en la región promotora en la posición 675 da como resultado la presencia de los alelos 4G o 5G y tiene una acción reguladora de la concentración plasmática de PAI-1.⁶ Los individuos homocigotos para el alelo 4G (4G/4G), presentan concentraciones de PAI-1 más elevadas que los sujetos homocigotos para el alelo 5G (5G/5G); las concentraciones en individuos heterocigotos 4G/5G son intermedias. La delección del alelo (4G) produce una incapacidad de unirse a una proteína de represión transcripcional y un incremento en la expresión de PAI-1, lo cual favorece una disminución en la actividad del sistema fibrinolítico.³⁷

Isordia et al, documento en población sana mexicana para polimorfismos de PAI-1, que el genotipo más frecuente fue el heterocigoto 4G/5G (50,4%), seguido del homocigoto para 5G (42,5%); el menor fue el homocigoto 4G (7,1%).³⁷

Polimorfismo por delección de la enzima convertidora de angiotensina 1 (ECA-1)

Fuentes et al 2011, propone la implementación de un panel para diagnóstico molecular de trombofilia en el cual se incluye la determinación de polimorfismos de la ECA el cual se fundamenta en los siguiente:

La trombosis como expresión de disfunción endotelial es el resultado de una compleja interrelación entre estímulos ambientales, inflamatorios y trombóticos que contribuyen a la extensión, persistencia del trombo y a eventos cardiovasculares adversos. Uno de los principales sistemas relacionados con las enfermedades cardiovasculares es el sistema renina-angiotensina (SRA), cuyas acciones principales incluyen la regulación de la presión arterial, remodelación vascular, mantenimiento del tono vascular y hemostasia del sodio; dicho sistema se encuentra regulado por la Angiotensina II. La enzima Convertidora de Angiotensina-1, que existe predominantemente en las células del endotelio vascular, juega un importante rol en la homeostasis circulatoria ya que cataliza la conversión de Angiotensina I a Angiotensina II, e inactiva la bradiquinina (un vasodilatador).³⁸

La Angiotensina II, es un potente vasopresor que se relaciona directamente con el control de retención del agua y la sal. Ahora se conoce también su función como mediador de efectos proinflamatorios vasculares, al estimular la expresión de moléculas de adhesión como la E-selectina, la VCAM-1 (por sus siglas en inglés, *vascular cell adhesion molecule-1*), y la ICAM-1 (por sus siglas en inglés, *intracellular adhesion molecule-1*), y de otras moléculas proinflamatorias como el factor nuclear κ -B (NF κ B) que a su vez regula una gran cantidad de genes relacionados con la inflamación (quimocinas, citocinas, moléculas de adhesión, ciclooxigenasa, sintetasa de óxido nítrico, factor de crecimiento, factor tisular, ciclooxigenasa 2 (COX-2), etc.). Es así, que se ha demostrado que la Angiotensina II es un factor quimiotáctico para monocitos por sí mismo, este reclutamiento y la unión de leucocitos circulantes al endotelio vascular y su posterior migración al espacio subendotelial, es una característica de los primeros estudios de la lesión aterosclerótica y de infarto agudo al miocardio.³⁸

El gen de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) se expande a lo largo de 21 kb, (26 exones y 25 intrones), se ubica en la región cromosómica 17q23(8,9), y pertenece al sistema renina-angiotensina (SRA) junto con los genes de la renina, del angiotensinógeno (AGT), y de los receptores de tipo I y II de la angiotensina II (AGTR1 y AGTR2). La principal función de este sistema es la conversión del angiotensinógeno en angiotensina II por parte de las enzimas renina y ECA. Las

poblaciones presentan un polimorfismo de inserción/delección (I/D) para este gen, que involucra la presencia (alelo I), o la ausencia (alelo D) de una secuencia Alu repetida de 287 pares de bases en el intrón 16. Estas variantes tienen como principal efecto una alteración de las concentraciones celulares y plasmáticas de la enzima codificada por este gen, convirtiéndolo en un posible candidato para la susceptibilidad al desarrollo de afecciones tales como la enfermedad cardiovascular y las complicaciones crónicas de la diabetes. Estudios acerca de la ECA han demostrado diferencias en sus niveles plasmáticos según el genotipo del individuo: los individuos cuyo genotipo es D/D poseen niveles dos veces más altos que los individuos cuyo genotipo es I/I, mientras que los individuos heterocigotas portan niveles intermedios de la enzima circulante. Varios estudios acerca de este polimorfismo I/D de la ECA a nivel poblacional demuestran que su prevalencia varía en los distintos grupos étnicos, y que la frecuencia del alelo D es inferior en las poblaciones de origen asiático que en las poblaciones de origen europeo. Zorrilla et al, documentaron en la población de Montevideo (Uruguay) el genotipo de la ECA predominante es heterocigota I/D (50,9%), encontrándose el genotipo homocigota para la delección (D/D) (30,6%) en mayoría con respecto al genotipo homocigota para la inserción (I/I) (18,5%).³⁹

De ésta manera, los niveles circulantes de ECA en humanos están relacionados con el polimorfismo I/D de su gen. El genotipo DD ha demostrado generar niveles más elevados que el I/D o el I/I, estudios recientes sugieren que el genotipo DD puede estar asociado con un mayor riesgo de enfermedad coronaria. Una elevada producción del inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1) y un incremento en la agregabilidad de las plaquetas puede explicar el alto riesgo de trombosis coronaria en sujetos con altos niveles de ECA.³⁸

Por lo anterior, el gen de la ECA, es considerado entonces dentro del espectro de los genes trombofílicos. El polimorfismo de I/D, registró un nexo importante con el infarto de miocardio en estudios realizados en Francia y E.U.A., mientras que algunos estudios han relacionado el genotipo D/D con complicaciones durante el embarazo en mujeres que tenían un historial de preeclampsia trombofilia clásica

descartada, siendo descrito el genotipo D/D como un factor predictivo de pérdida fetal.³⁸

Moreira et al, refiere que el sistema renina –angiotensina (RAS) es ahora reconocido como un importante modulador de los procesos metabólicos del cuerpo. Algunos estudios revelaron que el desequilibrio del RAS parece promover la fibrogénesis hepática. La activación del receptor de angiotensina 1 por angiotensina II induce contracción de las células estrelladas hepáticas y la proliferación, causa el estrés oxidativo, la disfunción endotelial, el crecimiento celular y la inflamación.

TROMBOFILIA PRIMARIA		
	SANOS	
	México Martínez ³⁰ Majful ³⁵ Quintero ³⁶ Zorilla ³⁹ Ruíz ⁴¹	Caucásicos Bjorn ¹⁴ Parra ³¹ Zorilla ³⁹ Primignani ⁵⁵
PC	1/200 – 1/500 (0.2-0.5%) ³⁰	1/250 (0.4%) ¹⁴
PS	0% ⁴¹	0.2% ⁵⁵
AT	1/300 (0.33%) ³⁰	1% ⁵⁵
FVL	0.85% ³⁵	3% ⁵⁵
FII G 20210 A	3% ³⁶	2% ⁵⁵
MTHFR C 677 T	78% ⁴¹	10% ³¹
ECA-1 D/D	6% ³⁹ 22% ³⁶	37% ³⁹

PC: prorteína C, PS: proteína S, AT: antitrombina, FVL: Factor V Leiden, FII: gen de la protrombina, MTHFR: metiltetrahidrofolato reductasa, ECA-1: enzima convertidora de angiotensina.

Ruíz Arguelles et al 2001, estudiaron un grupo de 37 mestizos mexicanos con características de trombofilia y 50 controles sanos; documentando 39% con resistencia a la proteína C activada, 5% con deficiencia de proteína C, y 2% con deficiencia de proteína S. Se identificaron 4 pacientes heterocigotos para FVL G1691A, 5 heterocigotos para FII G20210A, 16 heterocitos y 6 homocigotos para la mutación C677T de la MTHFR, encontraron 4 individuos con co-segregación de alelos, dos heterocitogotos para FVL G1691A/ FII G20210A, un heterocigoto para FII G20210A/MTHFR C677T y un heterocigoto FII G20210A, homocigoto para MTHFR C677T. El riesgo de trombosis calculado fue de 5.94 para FVL G1691A, >7.66 para

FII G20210A y 0.44 para MTHFR. La baja prevalencia de la mutación del FVL G1691A y alta prevalencia de la mutación del FII G20210A contrasta con la prevalencia identificada en la población caucásica con trombofilia. La alta prevalencia de la mutación MTHFR C677T en población sana (78%) y pacientes con trombosis (61%) no respalda el papel de esta mutación en la trombogenesis del mestizo Mexicano.⁴⁰

Quintero et al 2006, determinaron la prevalencia de los diferentes polimorfismos de genes trombofílicos en población sana, documentando para la mutación del FII G20210A una prevalencia de 3%, para el FVL G1691A un 5%, para la mutación MTHFR C677T un 53% heterocigotos y un 20% homocigotos y para el polimorfismo ECA-1 del 51%.³⁶

Ruiz Arguelles et al 2007, estudiaron un grupo de 100 mestizos mexicanos con algún marcador clínico de trombofilia, encontrando en el 94% de los casos por lo menos alguna alteración, de estos casos con alteración la mayoría tuvo dos o más condiciones trombofílicas asociadas. Se documentó en el 67% la mutación C677T del gen MTHFR, el síndrome de las plaquetas pegajosas en 57%, haplotipo HR2 del gen FV en el 21%, fenotipo de resistencia a la proteína C actividad en 20%, antifosfolípidos 15%, mutación FVL G1691A en 13%, mutación del gen del FII G20210A en 11%, deficiencia de PC en el 7%, deficiencia de PS en 6%, deficiencia de ATIII en el 1% y mutación Hong Kong del gen FV en 1%.⁴¹

Parra-Ortega et al 2009, realizaron en 9 pacientes pediátricos con diagnóstico de trombofilia, 7 sexo masculino, 2 del femenino, edades 1 a 13 años, estudio las mutaciones C677T y A1298C en la enzima MTHFR, mutación FVL G1691A y FII G20210A, así como determinación de PC, PS y ATIII. Todos los pacientes presentaron coexistencia de mutaciones C677T y A1298C en el gen MTHFR, sólo uno de ellos estado homocigoto C677T y heterocigoto para A1298C, los otros 8 pacientes presentaron estados heterocigotos para ambas mutaciones; en ninguno de ellos se mostró mutaciones FVL G1691A y FII G20210A, ni alteraciones en la resistencia a la proteína C activada (RPCa), ATIII y las PC y PS de la coagulación.³¹

En México, Martínez Murillo et al 2010, determinaron la frecuencia de trombofilia en pacientes menores de 45 años de edad con antecedente de eventos

de trombosis, mediante estudios coagulométricos y cromogénicos para determinar proteínas de la coagulación (PC, PS, ATIII, resistencia a la proteína C activada) y estudios de biología molecular (FVL G1691A, FII G20210A y polimorfismos de la MTHFR); reportando una prevalencia total de trombofilia primaria 40.2%, siendo la más prevalente la resistencia a la proteína C activada.³⁰

En el Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional de Occidente, tenemos como antecedente de trombofilia, el trabajo realizado por Lomas et al 2013, quienes reportan la frecuencia de las principales trombofilias primarias en pacientes pediátricos portadores de trombosis venosa portal, la cual fue de 40.6%, documentando la deficiencia de PC en 1 paciente, la deficiencia de PS en 2 pacientes, no se encontró en ningún paciente el déficit de ATIII; en 8 de ellos se documentaron mutaciones genéticas, la principal fue la mutación del gen MTHFR en 7 pacientes y la mutación del FII G20210A en 1 paciente, no se documentó mutación del FVL G1691A.⁴²

La detección de trombofilia hereditaria es objeto de controversia. Hay personas que tienen alto riesgo de tromboembolismo venoso, y son ellos quienes se benefician del cribado. Holzhauer et al 2012, realizaron un estudio en familiares en primer y segundo grado de pacientes pediátricos con evento de tromboembolismo venoso, determinando en ellos niveles de ATIII, PC, PS y mutaciones del FVL G1691A y FII G20210A, concluyendo que el riesgo de tromboembolismo venoso fue mayor entre los miembros de la familia, siendo más alta entre los portadores de deficiencia de ATIII, PC y PS, por lo que se sugiere la detección de formas hereditarias de trombofilia en niños con tromboembolia venosa y sus familiares, que puede ser base para realizar una intervención preventiva en dichos pacientes.⁴³

TROMBOFILIA PRIMARIA					
	TROMBOSIS				
	México Ruiz ⁴¹	México Martínez ³⁰ Quintero ³⁶	México (pediátricos) Lomas ⁴² Parra ³¹	Caucásicos Ruiz ⁴⁰ Primignani ⁵⁵	Cirrosis García ¹⁸ Attenucci ³² Ayala ⁴⁸ Cha ⁵¹
PC	7% ⁴¹	6.9% ³⁰	3.7% ⁴²	5% ⁴⁰	13% ⁵¹ 23% ¹⁸
PS	6% ⁴¹	2.7% ³⁰	7.4% ⁴²	2% ⁴⁰	13% ⁵¹ 23% ¹⁸
AT	1% ⁴¹	2.7% ³⁰	0% ⁴²	3%	42% ⁵¹ 23% ¹⁸
FVL	13% ⁴¹	4.1% ³⁰	0% ⁴²	21% ⁴⁰	2.8% ³²
FII G 20210 A	11% ⁴¹	2.7% ³⁰	3.7% ⁴²	6% ⁴⁰	0% ⁴⁸
MTHRF C 677 T	67% ⁴¹	6.9% (homo) ³⁰	25.9% ⁴² 88% ³¹	10% ⁴⁰	30.7% ⁴⁸
ECA-1 D/D	-	22% ³⁶	-	-	-

PC: prorteína C, PS: proteína S, AT: antitrombina, FVL: Factor V Leiden, FII: gen de la protrombina, MTHFR: metiltetrahidrofolato reductasa, ECA-1: enzima convertidora de angiotensina.

TÉCNICAS PARA EL DIAGNOSTICO MOLECULAR DE ENFERMEDADES HEREDITARIAS

El diagnóstico de muchas enfermedades hereditarias necesita una confirmación a nivel molecular del defecto genético que presenta el paciente. Una vez detectada la mutación y confirmado el diagnóstico clínico, podemos determinar cuál es el efecto de dicha mutación en la proteína codificada (cambio de conformación, alteración o pérdida de función, localización errónea, disminución en su expresión, etc.), y así poder abrir puertas a nuevas terapias dirigidas al defecto específico. Se describen los métodos que se emplean para detectar mutaciones en genes asociados a enfermedades hereditarias. ⁵²

La correcta expresión de un gen puede verse afectada por modificaciones locales (mutaciones o polimorfismos) en la secuencia de DNA del mismo. Hay diferentes tipos de mutaciones, según sus efectos sobre los diferentes pasos que conforman la expresión génica. Cuando el cambio ocurre en la región codificante del gen, podemos hablar, de forma general, de tres tipos de mutaciones: silentes (aquellas donde, a pesar de que ocurra un cambio de un nucleótido por otro, el cambio no supone una alteración en el mensaje codificado por el RNA mensajero, de forma que la secuencia final de la proteína no se ve alterada), de cambio de sentido

(cuando ese cambio nucleotídico sí afecta al mensaje codificado por la molécula de RNA haciendo que se sustituya un aminoácido por otro en la cadena polipeptídica; éste tipo de mutaciones puede afectar gravemente a la conformación de la proteína resultante y, por consiguiente, a su actividad o función) y sin sentido (aquellas en las que el cambio introducido hace que en el mRNA aparezca una señal de parada prematura de la síntesis proteica, generando de este modo una proteína truncada, más corta que la normal y carente de regiones que pudiesen ser importantes para su función o localización. Existen otro tipo de mutaciones como son el caso de las deleciones (donde una región del gen se elimina completamente), inserciones (donde ocurre la incorporación de fragmentos de DNA dentro del mismo gen) y duplicaciones (cuando una región del gen se incluye varias veces seguidas en la región del mismo, afectando a su estructura normal). Finalmente, hay otro tipo de mutaciones cuyo efecto se traduce en un incorrecto procesamiento del RNA mensajero.⁵²

Metodos de extracción y purificación del DNA y RNA

Mediante distintas técnicas podemos purificar el DNA o RNA de diversas muestras biológicas, entre ellas la sangre de nuestros pacientes. De entre los distintos métodos a utilizar, el más sencillo, rápido y limpio es el uso de columnas que capturan de forma específica el ácido nucleico de interés para nuestro estudio. Para ello se procede a la lisis controlada de las células sanguíneas nucleadas (linfocitos) con el fin de liberar el contenido celular al medio. Seguidamente, los extractos celulares se hacen pasar, mediante centrifugación, por las columnas específicas que capturan el DNA o RNA. Una vez adheridos a la superficie de estas columnas, se llevan a cabo diversos pasos de lavado para eliminar el resto de sustancias no deseadas. Finalmente, se lleva a cabo la elución de la columna del DNA o RNA y su recogida para posteriores procesos analíticos.⁵²

Metodos para detectar mutación en DNA

En todos ellos el DNA que se va a analizar es primero amplificado mediante la *reacción en cadena de la DNA polimerasa* (PCR), que a su vez ya es un método de detección si la mutación afecta al tamaño del fragmento (inserción o deleción).⁵²

Reacción en cadena de la polimerasa

Utilizando la reacción en cadena de la DNA polimerasa podemos obtener cantidades adecuadas de un fragmento de DNA para poder analizarlo. Este procedimiento ha revolucionado el diagnóstico molecular ya que, partiendo de una cantidad pequeña de DNA genómico del paciente, podemos amplificar distintas partes de genes en un par de horas. Primero tenemos que sintetizar un par de cebadores (oligonucleótidos de 15-25 nucleótidos) que reconocen los extremos del fragmento que queremos amplificar. Luego tenemos que favorecer que ocurra la síntesis de DNA. Para ello, lo primero que debemos hacer es facilitar la separación de las cadenas (desnaturalización) del DNA molde. A continuación, permitir el apareamiento de los cebadores a su región complementaria en el DNA molde y, por último, facilitar que una DNA polimerasa resistente a altas temperaturas (como la DNApolimerasa Taq) lleve a cabo la síntesis (extensión) de DNA a partir de los cuatro desoxirribonucleótidos trifosfatos (dATP, dGTP, dTTP y dCTP). Estos tres pasos constituyen un ciclo. La repetición de este ciclo unas 40 veces permite obtener, como resultado de un experimento de amplificación, millones de copias del fragmento de interés. Todo esto se realiza de forma automatizada. Para ello, los tubos de reacción se introducen en un termociclador que de forma automática realiza los 40 ciclos de amplificación.⁵²

Secuenciación del DNA

La secuenciación del DNA consiste en determinar el orden exacto de los nucleótidos (bases, G, A, T y C) a lo largo de un segmento de DNA. De esta secuencia se deduce la secuencia de aminoácidos de la proteína codificada. El método que más se utiliza es el de Sanger de síntesis de DNA.

El DNA que se va a secuenciar se desnaturaliza y se mezcla con un cebador (complementario a un sitio en una de las hebras), polimerasa de DNA y los cuatro nucleótidos (dNTPs). También se añaden pequeñas cantidades de los cuatro terminadores de la síntesis (ddNTPs) marcados cada uno con un fluoróforo distinto. Cada vez que uno de ellos se incorpora previene la incorporación de otros nucleótidos a la cadena. De esa manera se genera un conjunto de fragmentos de

DNA marcados con fluorescencia que difieren en tamaño solo en un nucleótido. Los fragmentos se separan mediante electroforesis en un capilar de un analizador automático. Cuando los fragmentos van migrando por el capilar pasan por un rayo láser que los hace fluorescer. Un detector de fluorescencia graba el orden del color de las bandas que luego se traduce en la secuencia. Finalmente, la secuencia de los fragmentos del gen de pacientes se compara con la secuencia normal para determinar la presencia de mutaciones.⁵²

Análisis de conformación de cadenas sencillas de DNA (SSCP)

Es uno de los procedimientos que más se ha utilizado para detectar mutaciones. Los exones y parte de los intrones flanqueantes del gen se amplifican por PCR a partir de DNA de pacientes e individuos sanos. Para obtener resultados óptimos, los fragmentos amplificados deben ser de unos 200 pares de bases. Después de la amplificación los fragmentos se desnaturalizan, se enfrían y se someten a electroforesis.

Cada molécula de DNA de cadena sencilla asume una conformación tridimensional que depende de su secuencia de nucleótidos. Las diferentes conformaciones migran con velocidades distintas durante la electroforesis en gel. Por lo tanto, por cada fragmento amplificado se visualizarán dos bandas después de teñir el gel. Un cambio de un solo nucleótido hará que los fragmentos adquieran una conformación distinta y por tanto una movilidad diferente en el gel.⁵²

GENOTIPOS DE TROMBOFILIA			
	2,2	1,2	1,1
FVL G1691A	G/G	G/A	-
FII G20210A	G/G	G/A	-
MTHFR C677T	T/T	C/T	C/C
MTHFR A1298C	A/A	C/A	C/C
ECA-1 D/D Int 16	D/D	I/D	I/I
FVL G1691A: 1 = A, 2 = G, FII G20210A: 1 = A, 2 = G, MTHFR C677T: 1 = C, 2 = T, MTHFR A1298C: 1 = A, 2 = C, ECA-1: 1 = I, 2 = D			
MUTACIONES DE RIESGO TROMBOTICO			
FVL G1691C	Heterocigoto	1 alelo mutado/1 alelo normal	
FII G20210A	Heterocigoto	1 alelo mutado/1 alelo normal	
MTHFR C677T	Homocigoto	1 alelo mutado/ 1 alelo mutado	
MTHFR A1298C	Homocigoto	1 alelo mutado/ 1 alelo mutado	
MTHFR C677T/ A1298C	Heterocigoto compuesto	(1 alelo mutado/ 1 alelo normal)/ (1 alelo mutado/ 1 alelo normal)	
ECA-1 D/D Int 16	Homocigoto	1 alelo mutado/ 1 alelo mutado	
FVL G1691A: mutación factor V Leiden, FII G20210A: mutación del gen de la protrombina, MTHFR C677T y MTHFR A1298C: polimorfismos de la metiltetrahidrofolato reductasa, ECA-1 D/D: polimorfismo de la enzima convertidora de angiotensina.			

TROMBOSIS Y TRASPLANTE HEPÁTICO

Desde el primer trasplante hepático ortotópico (THO) realizados en la década de 1960, las mejoras en la cirugía y técnicas anestésicas, pre y post-operatorio y un aumento en el grupo de donantes han hecho que sea un procedimiento quirúrgico de rutina.^{16, 44}

Históricamente el sangrado fue uno de los principales retos durante el procedimiento. Sin embargo, también hay cada vez mayor conciencia hacia las complicaciones trombóticas perioperatorias, que en los algunos casos pueden tener un desenlace fatal.⁴⁴

Tradicionalmente, el receptor de trasplante de hígado se considera que esta en un estado hipocoagulable, como lo demuestra anomalías en las pruebas hemostáticas de rutina como el recuento de plaquetas, tiempo de protrombina, y tiempo de tromboplastina parcial activado, y por la masiva necesidad de transfusión perioperatoria. Sin embargo, el concepto de ser receptor de un trasplante de hígado hipocoagulable no se corresponde con la corriente de observaciones clínicas de los

procedimientos de trasplante de hígado con un elevado riesgo de complicaciones trombóticas.⁴⁴

El concepto de "hemostasia reequilibrada" en pacientes con cirrosis hepática, asume que el paciente con cirrosis se encuentra en un nuevo y relativamente inestable balance hemostático debido a una disminución concomitante de ambas vías, pro y anticoagulantes.⁴⁴

La trombosis relacionada con el hígado, en particular, la trombosis portal y de venas mesentéricas, es común en pacientes con cirrosis avanzada. Sin embargo, la observación de trombofilias heredadas, en particular la mutación del FII G20210A, que aumenta el riesgo de trombosis de la vena porta en pacientes con cirrosis, sugiere que la hipercoagulabilidad puede jugar un papel en la trombosis de la arteria hepática después del trasplante de hígado que ha sido considerada como una complicación quirúrgica, pero en los últimos datos de laboratorio y clínicos han implicado un papel para la hipercoagulabilidad en la ocurrencia de estos eventos trombóticos.¹⁶

Aunque anteriormente algunas de las complicaciones trombóticas de la cirugía de trasplante de hígado se habían atribuido a sólo a causas quirúrgicas, puede ser que la activación incontrolada del sistema hemostático también contribuye a la riesgo trombótico, aunque esto ha sido poco estudiado.⁴⁴

Al respecto de la atribución de la trombosis a causas quirúrgicas, Proposito et al 2001 realiza una revisión de los factores de riesgo para trombosis de la arteria hepática en un grupo de pacientes adultos y niños sometidos a trasplante hepático (687 trasplantes ortotópicos de hígado), documentando una incidencia global de 2.47%, siendo mayor en niños con un 5.2% que en adultos con un 2%. No documentaron asociación con la técnica quirúrgica, pero sí incremento en el riesgo de trombosis con variables como incompatibilidad a grupo ABO y menor tiempo de isquemia caliente.⁴⁵

Los altos niveles de la proteína de adhesión de plaquetas factor de von Willebrand, con la baja de los niveles de su regulador ADAMTS13, el incremento en los niveles del factor VIII de la coagulación, con disminución de los niveles plasmáticos de PC y PS, confieren un mayor potencial para generar trombina; así

como la hipofibrinólisis temporal con incremento de los niveles séricos del activador del PAI-1, son todos indicativos de un mayor potencial hemostático después del trasplante.⁴⁴

La evidencia clínica sobre la eficacia de la terapia anticoagulante después del trasplante hepático es escasa; se ha demostrado una disminución significativa en el riesgo de trombosis de la arteria hepática tardía con la terapia antitrombótica con aspirina. Estos hallazgos sugieren que la terapia antihemostática en la prevención o el tratamiento de las complicaciones tromboembólicas después de un trasplante de hígado puede ser relevante.⁴⁴

Los estudios sobre la eficacia y la seguridad de estas intervenciones son necesarias ya que muchas de las complicaciones tromboticas tienen un impacto negativo sobre la supervivencia del injerto y del paciente.⁴⁴

Un evento tromboembólico antes o después de un trasplante hepático conduce a mayor dificultad en la elegibilidad del trasplante, e incrementa el número de pérdidas de injerto, y mayor uso de recursos y costos.⁴⁶

Ackermann et al 2012, reporta de una serie de 590 trasplantes hepáticos realizados, 45 de ellos se complicaron con una trombosis de la arteria hepática en las primeras dos semanas después del trasplante, la detección fue hecha mediante ultrasonido Doppler, realizándose procedimiento de revascularización en el 77% de los casos, resultando una sobrevida del 80%.⁴⁷

En el contexto de un trasplante hepático, a los receptores en quienes se documenten factores de riesgo para trombosis, se les debe realizar la prueba de resistencia a la proteína C activada.⁴⁶

La realización de un estudio diagnóstico de la coagulación en receptores de trasplante hepático con alto riesgo de trombosis puede mejorar significativamente los resultados de los candidatos a trasplante hepático.⁴⁶

Hay diversas trombofilias entre ellas la mutación del FVL G1691A que pueden ser adquiridos durante el trasplante hepático y pueden tener un impacto significativo en los eventos tromboticos clínicos tras el trasplante hepático, asociados con una morbilidad y mortalidad significativas.³²

Se realizó un estudio con el objetivo de investigar el papel de la trombofilia en la patogenia de los episodios trombóticos después del trasplante hepático. Para ello se obtuvo una muestra de sangre del receptor antes del trasplante, del donante y durante el procedimiento. Se determinó en 70 receptores, ADN para FVL G1691A, H1299R mutación (R2) del factor V, la mutación del FII G20210A, la mutación C677T y mutación A1298C de metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR), y el alelo 4G de activador del plasminógeno inhnibitor-1 (PAI-1) por reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Como resultados se obtuvieron que 3 pacientes tenían una trombosis de la vena porta, de estos dos eran heterocigotos para la mutación del factor V de 1299 y uno mostró el alelo 4 del inhibidor del activador del plasminógeno 1 (PAI-1). Después de trasplante nueve pacientes desarrollaron trombosis: arterial 7 (10%) y portal 2 (2,8%). En estos pacientes se observaron dos casos de HAT (trombosis de la arteria hepática) en dos destinatarios cuyo donante hígados fueron heterocigotos para FVL G1691A, su variante se expresan fenotípicamente como la resistencia a la proteína C activada (PCA). Aunque poco se sabe de mutación FV 1299, tres de los destinatarios cuyos hígados de donantes fueron heterocigotos para la mutación FV 1299 mostró dos HAT y uno PVT (trombosis de la vena porta). La proyección de los beneficiarios y sus donantes de hígado para trombofilias hereditarias es controversial. Sin embargo, nuestro estudio sugieren que la presencia de trastornos de la coagulación hereditarios podría permitir al clínico especial cuidado para los receptores hepáticos de acuerdo con factores de riesgo conocidos y deberían disminuir la trombosis vascular hepática.³²

Ayala et al 2011, en su estudio Recipient and donor thrombophilia and the risk of portal venous thrombosis and hepatic artery thrombosis in liver recipients, reporta como eventos trombóticos postrasplante más frecuentes la trombosis de la arteria hepática en un 9% y la trombosis venosa portal en un 1.7%, documentando que la alta concentración de fibrinógeno y la disminución de los niveles de proteína C se asociaron con la trombosis del injerto.⁴⁸

Bustelo et al, llevaron a cabo un estudio en el que determinaron pruebas hemostáticas y protrombóticas en 188 potenciales donadores vivos de hígado, se evaluaron los eventos protrombóticos y de sangrado en donadores y receptores

durante y después del procedimiento. Se documentó al menos alguna anomalía en 38 casos (20.2%) de los potenciales donadores. Se rechazaron como potenciales donadores a 7 pacientes por anomalías en el estudio hemostático y mutaciones genéticas: 3 con factor V de Leiden y 4 la mutación de protrombina G20210. Nueve candidatos mostraron deficiencia de proteínas anticoagulantes, 2 con deficiencia de proteína C, 5 proteína S, 1 antitrombina y 1 con deficiencia de proteína C y S. Ni donadores, ni receptores experimentaron trombosis venosa profunda o embolismo pulmonar los cuales están relacionados a trombofilia. 6 pacientes experimentaron trombosis de la arteria hepática probablemente relacionada a la cirugía. Las anomalías protrombóticas en el donador pueden transmitirse al receptor, conduciendo a un incremento en el riesgo de eventos postoperatorios. Concluyendo que un monitoreo cuidadoso de los trastornos de la coagulación y protrombóticos debe ser parte del proceso de selección del donador, aunque el costo-efectividad no ha sido definido, el monitoreo puede disminuir el riesgo de trombosis y sangrado en el donador y más probablemente en el receptor.⁵⁰

Se cuenta con un estudio llevado a cabo por Cha et al, en Texas, en que se estudiaron a receptores de trasplante hepático pediátricos quienes desarrollaron trombosis vascular y presencia de trombofilia, se trasplantaron 46 pacientes pediátricos, en 21 se documentó trombofilia, de ellos 5 presentaron trombosis de la arteria hepática y 2 trombosis venosa profunda, obteniendo valores estadísticamente significativos al compararlos con los pacientes sin trombosis en quienes en ninguno se documentó trombofilia. Concluyendo que en los pacientes que desarrollan cualquier trombosis vascular puede encontrarse asociación con trombofilia.⁵¹

JUSTIFICACION

Magnitud

Las enfermedades crónicas y terminales del hígado se han establecido desde hace varios años entre las primeras 10 causas de morbilidad y mortalidad en México, representan una fuente de egreso económico para los pacientes y las instituciones y son motivo frecuente de ingreso hospitalario. De acuerdo a información recogida de los archivos del servicio de gastroenterología del Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional de Occidente, el total de ingresos hospitalarios a su cargo durante el año 2014 fue de 278, correspondiendo a patología de hígado un 35% de ellos, de los cuales un 37% cursan con algún grado de disfunción hepática y eventualmente requerirán de trasplante de hígado.

Desde hace varios siglos se conoce que los defectos de la coagulación causan enfermedades hemorrágicas, pero el estudio de su contraparte, las enfermedades trombóticas, se ha desarrollado con mayor profundidad hace solo algunas décadas. Son estos trastornos del sistema de la coagulación los que constituyen una de las causas más comunes de muerte en el mundo de hoy donde cada año mueren alrededor de 2 millones de personas por trombosis, ya sea arterial o venosa. Además se consideran fuente importante de morbilidad en las personas que las padecen y sobreviven.²⁷

Los pacientes con enfermedad hepática crónica presentan alteraciones de la coagulación, tanto de las vías procoagulantes como anticoagulantes.¹³

Contrario al paradigma por el que la cirrosis se consideraba una enfermedad en la que la tendencia de los pacientes era principalmente hacia el sangrado, actualmente se ha demostrado que coexiste un estado de hipercoagulabilidad que se manifiesta con desenlaces trombóticos micro o macrovasculares pocas veces atribuidos a esta condición.¹³

En pacientes con cirrosis, el sistema de hemostasia se encuentra en un estado de “rebalance”, ya que los cambios en alguna de estas vías generan, a su vez, cambios compensatorios en la otra.¹³

El efecto de todos estos cambios es un sistema hemostásico con un nuevo balance, pero aun funcional. No obstante, este balance es más precario e inestable

comparado con el de un individuo sano, de tal manera que es posible que pequeños cambios en alguno de sus componentes puedan alterarlo; esto podría explicar la presentación de complicaciones como sangrado o trombosis.¹³

En la cirrosis como manifestaciones clínicas del predominio del estado de hipercoagulabilidad se encuentra la enfermedad trombótica macrovascular, que puede presentarse como tromboembolismo pulmonar (TEP), trombosis venosa profunda (TVP) o trombosis de la vena porta. Debido a que en la práctica clínica se le da mayor importancia a la detección de las anomalías en la coagulación que favorezcan el sangrado, este fenómeno muy pocas veces se diagnostica antes de que se presenten dichos desenlaces.¹³

Otra manifestación es la trombosis microvascular, cuyas principales características son la hipertensión portal y portopulmonar. La presencia de microtrombos en la microvasculatura hepática se ha asociado con mayor inflamación hepática, fibrosis y rápido establecimiento de cirrosis, fenómeno que hace parte del proceso denominado extinción de parénquima.¹³

La incidencia global de eventos trombóticos venosos en niños se estima entre 0,7 y 1,9 por cada 100.000 niños.²⁹

Existen diversas condiciones genéticas, adquiridas o ambas, que predisponen a la formación y desarrollo inapropiado de coágulos en la luz vascular.^{Zamora} Las alteraciones de la coagulación hereditarias más comunes se deben a mutaciones en el gen del factor V (FVL G1691A) o gen de la protrombina (FII G20210A), seguido por las deficiencias de antitrombina, proteína C y proteína S, y polimorfismos de la metiltetrahidrofolato reductasa.²⁹

En el Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional de Occidente se cuenta con un programa de trasplante hepático desde el año 2000. Se han realizado en el periodo comprendido del 2000 al 2010 un total de 33 trasplantes de hígado, de estos actualmente sobreviven 12 pacientes, reportándose una mortalidad al momento de 64%; Rodríguez et al., reporta en el 2012 como principales complicaciones de la serie de trasplantes realizados en el Hospital de Pediatría, CMNO, el rechazo crónico, la infección por CMV, VEB, rechazo agudo, toxicidad por inmunosupresores y eventos de trombosis.

La trombosis de la arteria hepática, es una de las complicaciones más severas del trasplante hepático ortotópico, frecuentemente compromete el injerto y la supervivencia del niño. Varela et al., reporta la trombosis de la arteria hepática como una complicación en el post trasplante que se presenta en el 7 a 10% de los casos; Ackermann et al., en una serie de 590 trasplantes refiere una frecuencia de presentación de trombosis de la arteria hepática del 7%.

García-Fuster et al., refiere que la enfermedad tromboembólica venosa es poco frecuente en la cirrosis hepática, no estando su tratamiento contemplado en las guías del *American College of Chest Physicians*, lo que motivo un estudio para documentar la experiencia del Hospital Clínico Universitario de Valencia de pacientes cirróticos con enfermedad tromboembólica de enero de 1992 a diciembre del 2007, reportando una serie de 2074 pacientes, 17 con enfermedad tromboembólica venosa no esplácnica (0.8% de los pacientes cirróticos), observando en ellos hipoalbuminemia, disminución de factores anticoagulantes (antitrombina, proteína C y proteína S), presencia de anticuerpos antifosfolípidos e hiperhomocisteinemia, así como la presencia de factores de riesgo adquiridos, presentando complicaciones hemorrágicas graves el 35% de los pacientes tras la anticoagulación.¹⁸

Trascendencia

Un evento tromboembólico antes o después de un trasplante hepático conduce a mayor dificultad en la elegibilidad del trasplante, e incrementa el número de pérdidas de injerto, y mayor uso de recursos y costos.⁴⁶

La información relacionada al tema en niños es escasa.

Su diagnóstico es de gran importancia porque permite realizar profilaxis para evitar el riesgo de recurrencia e informa sobre la posibilidad de un estado de portador en cualquier miembro de la familia.²⁷

En este contexto la realización de un estudio diagnóstico de la coagulación en pacientes con cirrosis e insuficiencia hepática que serán posibles receptores de trasplante hepático puede mejorar significativamente los resultados de los candidatos a trasplante hepático.

Por la escasa información existente relacionada con la trombofilia primaria en pacientes con cirrosis hepática en protocolo para trasplante hepático, éste es un estudio que aporta información original.

La detección de trombofilia hereditaria es objeto de controversia. Hay personas que tiene alto riesgo de tromboembolismo venoso, y son ellos quienes se benefician del cribado. Holzhauer et al 2012, realizaron un estudio en familiares en primer y segundo grado de pacientes pediátricos con evento de tromboembolismo venoso, determinando en ellos niveles de antitrombina, proteína C, proteína S y mutaciones de factor V (FVL G1691A) y factor II G20210A, concluyendo que el riesgo de tromboembolismo venoso fue mayor entre los miembros de la familia, siendo más alta entre los portadores de deficiencia de antitrombina, proteína C y proteína S, por lo que se sugiere la detección de formas hereditarias de trombofilia en niños con tromboembolia venosa y sus familiares, que puede ser base para realizar una intervención preventiva en dichos pacientes.⁴³

Factibilidad

Se realizó en el Hospital de Pediatría, CMNO, el cual es un hospital de tercer nivel, de concentración de pacientes con patologías de hígado en etapa terminal, y se cuenta desde el año 2000 con un programa de trasplante hepático. Así mismo se cuenta con personal especializado en las áreas de interés, con apoyo de los servicios de hematología y el centro de investigación biomédica para determinación de las mutaciones genéticas.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es el perfil de trombofilia del paciente pediátrico con cirrosis e insuficiencia hepática del Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional de Occidente?

OBJETIVOS

Objetivo General

- Identificar el perfil de trombofilia del paciente pediátrico con cirrosis e insuficiencia hepática del Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional de Occidente.

Objetivos Específicos

- Identificar a la población de estudio por variables sociodemográficas, antecedentes patológicos, datos clínicos, de laboratorio y gabinete.
- Determinar la incidencia de la deficiencia de proteínas inhibidoras de la coagulación en un grupo con cirrosis e insuficiencia hepática.
- Determinar la incidencia de las mutaciones genéticas para trombofilia primaria en un grupo con cirrosis e insuficiencia hepática.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño de Estudio

Transversal descriptivo.

Entorno

Pacientes atendidos en el servicio de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica del Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional de Occidente, Guadalajara, Jalisco.

Población estudio

Pacientes de 1 mes a 15 años 11 meses de edad, atendidos en el servicio de Gastroenterología y Nutrición pediátrica del Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional de Occidente, con diagnóstico de cirrosis e insuficiencia hepática, en el periodo de julio a diciembre del 2015.

Criterios de estudio

Criterios de inclusión

- 1) Pacientes pediátricos (1 mes a 15 años 11 meses de edad) con diagnóstico de cirrosis e insuficiencia hepática del Hospital de Pediatría, CMNO.
- 2) Pacientes cuyos padres estén de acuerdo con la participación en el estudio (firma de consentimiento informado).
- 3) Contar con expediente clínico completo.
- 4) No recibir anticoagulantes.
- 5) No haber sido transfundidos en las últimas 4 semanas.

Criterios de no inclusión

- 1) Pacientes con estado de salud grave por condición agregada de sepsis, hemorragia.

Criterios de eliminación

1) Pacientes de quienes no se obtengan muestras adecuadas para amplificación del DNA.

Muestra

Muestreo y tamaño de la muestra por conveniencia, se incluyeron todos los pacientes con el diagnóstico de cirrosis e insuficiencia hepática del servicio de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica del Hospital de Pediatría.

Variables

Variable dependiente.

Trombofilia primaria

- 1) Inhibidores de la coagulación:
 - a. Proteína C (PC)
 - b. Proteína S (PS)
 - c. Antitrombina III (AT III)
- 2) Mutaciones genéticas:
 - a. Mutación del Factor V Leiden (FVL G1691A)
 - b. Mutación del gen de la protrombina G20210A (FII G20210A)
 - c. Polimorfismos C677T y A1298C para el la metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR).
 - d. Polimorfismos de la enzima convertidora de angiotensina (ECA-1)

Variables independientes

- **Personales:** sexo, patología de base, edad al momento del diagnóstico, edad actual, historia familiar de trombosis.
- **Clínicas:** peso, talla, circunferencia media de brazo, estado nutricional.
- **De laboratorio:** hemoglobina, plaquetas, leucocitos, TP, TTPa, INR, fibrinógeno, bilirrubinas directa e indirecta, GGT, TGO, TGP, albúmina, grupo sanguíneo ABO, factor VIII.
- **Estudios de Gabinete.** Ultrasonido doppler, endoscopia alta.

- **Intervención quirúrgica.** Derivación biliodigestiva tipo Kassai, biopsia hepática.

Variables de estudio

Operacionalización de variables				
Variable	Tipo	Concepto Operacional	Unidad	Estadística
Perfil de trombofilia		Se refiere a los parámetros de la coagulación que definen una trombofilia primaria, así como las mutaciones genéticas relacionadas, a considerar: proteína C, proteína S, antitrombina III, mutación factor V Leiden, mutación protrombina G20210A, polimorfismos MTHFR, plimorfismo ECA.1.		
Edad actual	Cuantitativa Discreta	Tiempo transcurrido a partir del nacimiento de un individuo	Años	Media Desviación estándar
Edad al momento del diagnóstico	Cuantitativa Discreta	Tiempo transcurrido desde su nacimiento al momento de establecer el diagnóstico.	Años	Media Desviación estándar
Sexo	Cualitativa Nominal	Características biológicas que definen a un ser humano como hombre o mujer.	1. Hombre 2. Mujer	Frecuencia Porcentajes
Patología de base	Cualitativa Nominal	Se refiere a la enfermedad que llevo a la cirrosis hepática.	Nombre de la enfermedad	Frecuencia Porcentaje
Historia familiar de trombosis	Cualitativa Nominal	Antecedentes en un miembro de la familia de primer o segundo grado de eventos de trombosis.	1. Si 2. No	Frecuencia Porcentaje
Talla	Cuantitativa Continua	Se refiere a la longitud de una persona de la cabeza a los pies determinada con estadímetro.	Centímetros	Media
Peso	Cuantitativa Continua	Se refiere a la masa de una persona medida en bascula.	Kilogramos	Media
Circunferencia a media de brazo	Cuantitativa Continua	Expresa la reserva actual de tejido adiposo. Se determina localizando el punto medio de la longitud medida del vértice superior del acromion hasta el olecranon, haciendo en ese punto la medición de la circunferencia con una cinta métrica.	Centímetros	Media
Estado nutricional	Cualitativa Ordinal	Se refiere a la relación que existe entre la talla, peso y circunferencia media de brazo, con las medias para cada grupo de edad.	Puntuación Z 1. Eutrófico (P/T y CMB/E, -1.99 a +1.99 DS) 2. Desnutrición moderada (P/T y CMB/E, -2 a -2.99 DS) 3. Desnutrición severa (P/T y CMB/E, -3 DS) 3. Malnutrición (P/T y CMB/E, +2 DS)	Desviación estándar
Estadio Child-Pugh	Cualitativa Ordinal	Condición actual en relación a su perfil bioquímico y en base a la escala pronóstica de Child-Pugh. A. Enfermedad bien compensada B. Compromiso funcional significativo C. Enfermedad descompensada.	Child Pugh 1. A 2. B 3. C	Frecuencia Porcentajes
Hemoglobina	Cuantitativa Continua	Proteína en los glóbulos rojos que transporta el oxígeno. Anemia Hemoglobina menor de 10	g/dL	Media
Plaquetas	Cuantitativa Continua	Fragmentos citoplasmáticos pequeños derivados de los megacariocitos. Trombocitopenia plaquetas menor de 150 mil	Miles/ml	Media
Leucocitos	Cuantitativa Continua	Células sanguíneas ejecutoras de la respuesta inmunitaria	Miles/ml	Media
Tiempo de protrombina (TP)	Cuantitativa Continua	Tiempo que tarda la porción líquida de la sangre en coagularse	Segundos	Media
Tiempo parcial de tromboplastina (TTPa)	Cuantitativa Continua	Tiempo que tarda la porción líquida de la sangre en coagularse	Segundos	Media
Fibrinogeno	Cuantitativa Continua	Proteína producida por el hígado que favorece la formación de coágulos. Hipofibrinogenemia menor de 150	Unidades	Media
Factor VIII de la coagulación	Cuantitativa Continua	Proteína el plasma, que actúa como cofactor en la coagulación. Rangos por grupo de edad	Unidades 1. NORMAL El 100% de FVIII en base a la edad. 1-6 meses: (58-144) 6-12 meses: (59-152) 1-5 años: (76-143) 6-10 años: (68-137) 11-18 años: (70-148)	Media
Índice internacional normalizado (INR)	Cuantitativa Continua	Es una forma de estandarizar los valores obtenidos a través del tiempo de protrombina. Prolongado mayor de 1.5		Media
Grupo y Rh	Cuantitativa Ordinal	Determinado por los antígenos de los grupos sanguíneos A, B, O presentes en los glóbulos rojos.	A B	Media

			O AB	
Aminotransferasas hepáticas (TGO, TGP, GGT)	Cuantitativa Continua	Enzimas sintetizadas en el hígado	Unidades/ml	Media
Bilirrubinas	Cuantitativa Continua	Pigmento de la bilis producido por el hígado	Mg/ml	Media
Albumina	Cuantitativa Continua	Proteína del plasma sanguíneo Hipoalbuminemia, albúmina menor de 3.5 g/dL	g/dL	Media
Ultrasonido Doppler	Cualitativa Nominal	Hallazgos del ultrasonido Doppler hepático en relación a datos de hipertensión portal.	1. Si 2. No	Frecuencia Porcentaje
Cirugía Kasai	Cualitativa Nominal	Si tiene antecedente de cirugía tipo Kasai (hepatopuertoenterotomía).	1, Si 2. No	Frecuencia Porcentaje
Endoscopia	Cualitativa Nominal	Cuenta con antecedente de endoscopia alta para valoración de hipertensión portal	1, Si 2. No	Frecuencia Porcentaje
Biopsia hepática	Cualitativa Nominal	Si tiene antecedente de biopsia hepática Reporte de patología en relación a presencia de cirrosis.	1, Si 2. No	Frecuencia Porcentaje
Deficit de proteína C	Cualitativa Nominal	Trastorno clínico caracterizado por un mayor riesgo de sufrir un evento trombótico.	1. NORMAL El 100% de proteína C en base a la edad. 1-6 meses: (41-115) 6-12 meses: (60-117) 1-5 años: (63-133) 6-10 años: (62-134) 11-18 años: (71-144) 2. DEFICIENCIA Cuando se encuentra por debajo de rangos de normalidad para cada grupo de edad.	Frecuencia Porcentaje
Deficit de proteína S	Cualitativa Nominal	Trastorno clínico caracterizado por un mayor riesgo de sufrir un evento trombótico.	1. NORMAL. El 100% de antitrombina en base a la edad: 1-6 meses: (81-126) 6-12 meses: (90-132) 1-5 años: (93-128) 6-10 años: (92-122) 11-18 años: (90-119) 2. DEFICIENCIA Cuando se encuentra por debajo de rangos de normalidad para cada grupo de edad.	Frecuencia Porcentaje
Deficit de anitrombina	Cualitativa Nominal	Trastorno clínico caracterizado por un mayor riesgo de sufrir un evento trombótico.	1. NORMAL El 100% de proteína S en base a la edad. 1-6 meses: (60-103) 6-12 meses: (61-95) 1-5 años: (65-99) 6-10 años: (63-97) 11-18 años: (69-119) 2. DEFICIENCIA Cuando se encuentra por debajo de rangos de normalidad para cada grupo de edad.	Frecuencia Porcentaje
Mutación del Factor V de Leiden	Cualitativa Nominal	Trastorno clínico caracterizado por un mayor riesgo de sufrir un evento trombótico.	1. MUTACION Heterocigoto (RIESGO) -1 alelo normal/ 1 alelo mutado 2..Normal - 2 alelos normales	Frecuencia Porcentaje
Protrombina G20210A	Cualitativa Nominal	Trastorno clínico caracterizado por un mayor riesgo de sufrir un evento trombótico.	1. MUTACION Heterocigoto (RIESGO) -1 alelo normal/ 1 alelo mutado 2..Normal - 2 alelos normales	Frecuencia Porcentaje
Mutación MTHFR C677T	Cualitativa Nominal	Trastorno clínico caracterizado por un mayor riesgo de sufrir un evento trombótico.	1. MUTACION Heterocigoto -1 alelo normal/ 1 alelo mutado 2. Homocigoto (RIESGO) - 2 alelos mutados 3. Normal - 2 alelos normales	Frecuencia Porcentaje
Mutación MTHFR	Cualitativa Nominal	Trastorno clínico caracterizado por un mayor riesgo de sufrir un evento trombótico.	1. MUTACION Heterocigoto	Frecuencia Porcentaje

A1298C			-1 alelo normal/ 1 alelo mutado 2. Homocigoto (RIESGO) - 2 alelos mutados 3. Normal - 2 alelos normales	
Mutación MTHFR A1298C/C67 7T	Cualitativa Nominal	Trastorno clínico caracterizado por un mayor riesgo de sufrir un evento trombótico.	1.MUTACION RIESGO Heterocigoto compuesto -(1 alelo normal/ 1 alelo mutado)/ (1 alelo normal/ 1 alelo mutado).	Frecuencia Porcentaje
Mutación ECA-1 D/D	Cualitativa Nominal	Trastorno clínico caracterizado por un mayor riesgo de sufrir un evento trombótico.	1. MUTACION Heterocigoto -1 alelo normal/ 1 alelo mutado 2. Homocigoto (RIESGO) - 2 alelos mutados 3. Normal - 2 alelos normales	Frecuencia Porcentaje

Procedimiento

1) Se abordó a los pacientes que acudan a consulta externa o área hospitalaria en nuestra unidad (que cumplan los criterios de inclusión).

2) Se dió información sobre el estudio al tutor para obtener su consentimiento por escrito para poder ingresar al protocolo.

3) Se tomaron 2 muestras de sangre periférica por punción venosa.

- La primera de 2.7 ml que se recolectó en un tubo con búfer de citrato de tri-sódico, el cual se llevó al laboratorio del Hospital de Pediatría, para la determinación de proteína C, proteína S, antitrombina y factor VIII.

- La segunda muestra de 5 ml, se recolectó en un tubo con sistema de vacío y EDTA al 10%, la cual fue llevada al Centro de Investigación Biomédica para la extracción del DNA genómico a partir del método de Miller, para determinación de mutaciones genéticas, incluyendo el factor V Leiden (FVL G1691A), mutación G20210A de protrombina (FII G20210A), y polimorfismos de la metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR), y de la enzima convertidora de angiotensina (ECA-1). El DNA se suspende en buffer con preservación Tris-EDTA, se determinó su concentración por espectrofotometría y se almacenó a -20°C para su conservación en una genoteca.

4) En una hoja de captura se vaciaron datos generales y algunos indicadores demográficos (nombre completo del paciente, edad actual, patología de base, estado de salud actual (transaminasas), estado nutricional (peso y talla).

5) Al contar con la información, se llevó a cabo el análisis de la información.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La estadística descriptiva se realizó de acuerdo al tipo de variable

- Para variables cualitativas se utilizaron frecuencias y porcentajes.
- Para variables cuantitativas de acuerdo a la distribución de datos, se utilizó:
 - Para datos con curva de distribución simétrica se utilizaron medias y desviación estándar.
 - Para datos con curva de distribución no simétrica se utilizaron medianas y rangos.

La estadística inferencial se realizó de acuerdo al tipo de variable

- Para variables cualitativas se utilizó chi cuadrada
- Para variables cuantitativas se utilizó U de Mann Whitney

Para la asociación con cada dato importante y la presencia de trombofilia se realizó razón de momios (OR).

Se realizó una base de datos en Excel 2010

Para el análisis la base de datos se transfirió al programa estadístico *SPSS* versión 21.0 para Windows.

Los resultados se presentaron a través de tablas y gráficos.

ASPECTOS ÉTICOS

De acuerdo al Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la salud, Título Segundo, De los Aspectos Éticos de la Investigación en Seres Humanos, Capítulo I, artículos 17 y 23, por las características del diseño se trata de un estudio categoría III con riesgo superior al mínimo, por lo tanto requiere de carta de consentimiento informado.

El estudio se sustenta en los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos, Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial de 1964 y sus enmiendas.

Dictamen de autorizado por el Comité local de investigación y ética de la unidad 1302, con número de registro R-2015-1320-45.

RECURSOS E INFRAESTRUCTURA

Infraestructura: se cuenta en la unidad áreas adecuadas para el procesamiento de las muestras como son el Laboratorio del Hospital de Pediatría y Centro de Investigación Biomédica de Occidente.

Recursos humanos: se cuenta con personal capacitado para el procesamiento de las muestras, laboratorista y genetista, además del propio residente de segundo año de la subespecialidad de Gastroenterología pediátrica y los investigadores asociados.

Materiales: fueron financiados por los propios investigadores, se requirió material de papelería: equipo de computo, impresora, escáner, programas para el análisis de la información, hojas, bolígrafos.

Resultados

En relación a las características sociodemográficas de la población estudiada (n=25) observamos una distribución por sexos en igual proporción, masculino 52% y femenino 48%. El rango de edad va de los 4 meses a los 15 años, con una media de 50.76 ± 46.96 meses. La edad promedio al momento del diagnóstico fue de 12.04 meses con un rango de (1 – 91 meses). La diferencia en los promedios de edad al diagnóstico y edad actual nos permite establecer un tiempo promedio de evolución de la enfermedad de 38.72 meses (3 años).

Tabla 1. Características sociodemográficas de niños con hepatopatía crónica

Sociodemográficas (n=25)	Frecuencia (%)	Media \pm DS	Mediana (rango)
Sexo			
Masculino	13 (52%)		
Femenino	12 (48%)		
Edad actual (meses)		50.76 \pm 46.96	36 (4 – 189)
Edad al diagnóstico		12.04 \pm 21.617	3 (1 – 91)

Dentro de las causas de hepatopatía crónica y cirrosis encontramos con mayor frecuencia a la atresia de vías biliares presente en 18 de los pacientes que corresponde a un 72%, la cirrosis criptogénica en 4 pacientes (16%), 2 pacientes (8%) con hepatitis autoinmune y un paciente con síndrome de Alagille (4%).

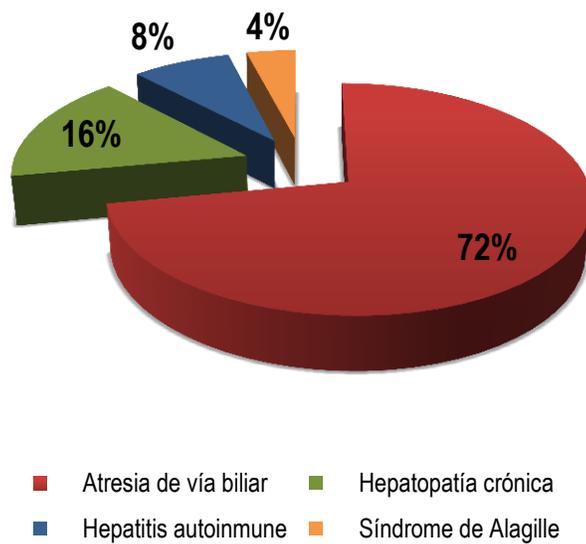
Del total de los pacientes estudiados un 88% se encuentran en protocolo para trasplante hepático de donador de muerte encefálica.

Ninguno de ellos tiene antecedentes familiares, ni personales de eventos de trombosis.

Tabla 2. Antecedentes patológicos

Antecedentes patológicos	Frecuencia (%)
(n=25)	
Diagnóstico de hepatopatía	
Atresia de vías biliares	18 (72%)
Cirrosis criptogénica	4 (16%)
Hepatitis autoinmune	2 (8%)
Síndrome de Alagille	1 (4%)
Protocolo de trasplante	
Si	22 (88%)
No	3 (12%)
Historia trombofilia	
Si	0%
No	25 (100%)

Gráfico 1. Distribución de hepatopatías



Dentro del comportamiento clínico de la población estudiada, la mayoría de los pacientes cuentan con un estado nutricional afectado por su patología de base, 40% con desnutrición grave, 28% con desnutrición moderada y sólo un 32% eutróficos; la ascitis está presente en el 60% de los pacientes al momento de la toma de muestra, ninguno de ellos con encefalopatía y un 52% tienen antecedente de sangrado de tubo digestivo previo.

Tabla 3. Datos clínicos

Datos clínicos (n=25)	Frecuencia (%)
Estado nutricional	
Eutrófico	8 (32%)
Desnutrición moderada	7 (28%)
Desnutrición severa	10 (40%)
Ascitis	
Si	15 (60%)
No	10 (40%)
Encefalopatía	
Si	0
No	25 (100%)
Sangrado	
Si	13 (52%)
No	12 (48%)

Al relacionar el estado nutricional con el estadio de insuficiencia hepática por Child Pugh documentamos una correlación positiva, los pacientes en estadio Child Pugh C tienen mayor afectación de su estado nutricional, con un valor de $p = 0.027$. Un 32% de los pacientes tiene un estado nutricional eutrófico, 12% de ellos en estadio A y 20% en estadio B.

Tabla 4. Estado nutricional y Child Pugh

Estado nutricional (n=25)	Estadio Child Pugh			<i>P</i>
	A	B	C	
Eutrófico	3 (12%)	5 (20%)	0 (0%)	
Desnutrición moderada	3 (12%)	3 (12%)	1 (4%)	
Desnutrición severa	0 (0%)	4 (16%)	6 (24%)	0.027

En relación a parámetros bioquímicos, la distribución por grupo sanguíneo nos muestra que la mayoría corresponden a O Rh positivo con un 44%, se cuenta con pacientes de todos los grupos sanguíneos, a excepción de B Rh negativo del que no se tuvo ningún paciente.

Tabla 5. Grupo y Rh

Grupo y Rh (n=25)	Frecuencia (%)
O positivo	11 (44%)
O negativo	1 (4%)
A positivo	9 (36%)
A negativo	1 (4%)
B positivo	3 (12%)
B negativo	0 (0%)

El 92% de los pacientes estudiados presentaron niveles de factor VIII elevado, lo cual se observó en casi todos los grupos sanguíneos, a excepción del paciente con grupo O Rh negativo en el que el nivel de factor VIII se encontraba normal.

Tabla 6. Grupo y Rh y proteína de la coagulación Factor VIII

Grupo y Rh (n=25)	Factor VIII	
	Elevado	Normal
O positivo	11 (44%)	0 (0%)
O negativo	0 (0%)	1 (4%)
A positivo	8 (32%)	1 (4%)
A negativo	1 (4%)	0 (0%)
B positivo	3 (12%)	0 (0%)
B negativo	0 (0%)	0 (0%)

En relación al comportamiento bioquímico encontramos en la biometría hemática anemia en el 24% de los pacientes (6 pacientes), trombocitopenia en el 60%; pruebas de funcionamiento hepático con transaminasas elevadas con una TGO promedio de 234.72 (rango de 46 – 577), TGP de 156.6 (rango 32 – 387), GGT 394.45 (rango 58 – 2013), bilirrubinas totales de 11.01 (rango de 0.71 – 32.1), hipoalbuminemia en el 56% de ellos, INR prolongado y fibrinógeno bajo en 1 paciente.

Tabla 7. Estudios de laboratorio

Parámetros bioquímicos (n=25)	Frecuencia (%)	Media ± DS	Mediana (rango)
Hemoglobina		11.06 ± 1.67	11 (7.5 – 14.8)
Anemia	6 (24%)		
Hematocrito		32.85 ± 5.00	32.7 (23 – 43.3)
Plaquetas		35.36 ± 25.52	23 (10 – 90)
Trombocitopenia	15 (60%)		
Leucocitos		7.88 ± 5.74	7 (1 – 30)
TGO		234.72 ± 146.71	182 (46 – 577)
TGP		156.6 ± 88.81	143 (32 – 387)
GGT		394.45 ± 369.65	354 (58 – 2013)
BT		11.01 ± 9.13	9.38 (0.71 – 32.1)
BD		9.37 ± 7.88	7.9 (0.71 – 30.23)
Albúmina		3.29 ± 0.72	3.2 (1.9 – 4.6)
Hipoalbuminemia	14 (56%)		
TP		13.4 ± 1.94	12.9 (10.3 – 18.2)
TTPa		36.47 ± 10.85	35.1 (11.7 – 53.8)
INR (n=22)		1.11 ± 0.17	1.07 (0.87 – 1.56)
INR prolongado	1 (4.5%)		
Fibrinógeno (n=23)		306.84 ± 113.28	294 (142 – 686)
Hipofibrinogenemia	1 (4.3%)		

TGO: transaminasa glutámico oxalacética, TGP: transaminasa glutámico pirúvica, GGT: gammaglutamil transpeptidasa, BT: bilirrubinas totales, BD: bilirrubina directa, TP: tiempo de protrombina, TTPa: tiempo parcial de tromboplastina activado, INR: ratio internacional normalizado.

Los eventos de sangrado se presentan tanto en pacientes con trombocitopenia como en aquellos con niveles de plaquetas dentro de rangos normales, valor de $p = 0.87$.

Tabla 8. Eventos de sangrado y conteo de plaquetas

Eventos de sangrado	Plaquetas (n=25)	
	Trombocitopenia	Normal
SI	8 (32%)	5 (20%)
NO	7 (28%)	5 (20%)

Trombocitopenia: plaquetas menores de 150 000/ μ L

Los eventos de sangrado se presentan en pacientes con un INR dentro de rangos normales, valor de $p = 0.26$.

Tabla 9. Eventos de sangrado y valores de INR

Eventos de sangrado	INR (n=22)	
	Prolongado	Normal
SI	0 (0%)	12 (54.4%)
NO	1 (4.5%)	9 (40.9%)

INR: ratio internacional normalizado.
Prolongado: INR > 1.5

Los eventos de sangrado se presentan de forma predominante en pacientes con valores de fibrinógeno dentro de rangos normales, valor $p = 0.28$.

Tabla 10. Eventos de sangrado y niveles de Fibrinógeno

Evento de sangrado	Fibrinógeno (n=23)	
	Bajo	Normal
SI	1 (4.3%)	10 (43.3%)
NO	0 (0%)	12 (52.1%)

Fibrinógeno bajo: menor de 150 mg/dL

Los eventos de sangrado se presentan tanto en pacientes con hipertensión portal, como sin hipertensión portal reportada por ultrasonido doppler, valor $p = 0.59$.

Tabla 11. Eventos de sangrado y Ultrasonido Doppler hepático

Evento de sangrado	US Doppler (n=25)		
	HTP	Sin HTP	NC
SI	3 (12%)	5 (20%)	5 (20%)
NO	1 (4%)	6 (24%)	5 (20%)

US: ultrasonido, HTP: hipertensión portal, NC: no cuenta con ultrasonido Doppler

Los eventos de sangrado se presentan en pacientes que muestran por endoscopia datos de hipertensión portal, valor de $p = 0.057$.

Tabla 12. Eventos de sangrado y Endoscopia

Evento de sangrado	Endoscopia (n=25)				
	NL	Pequeñas	Medianas	Grandes	NC
SI	0 (0%)	6 (24%)	3 (12%)	3 (12%)	1 (4%)
NO	3 (12%)	4 (16%)	0 (0%)	1 (4%)	4(16%)

NL: sin hipertensión portal, NC: no cuenta con endoscopia, Pequeñas: várices esofágicas pequeñas de Baveno, Medianas: várices esofágicas medianas de Baveno, Grandes: várices esofágicas grandes de Baveno.

Tabla 12. Eventos de sangrado

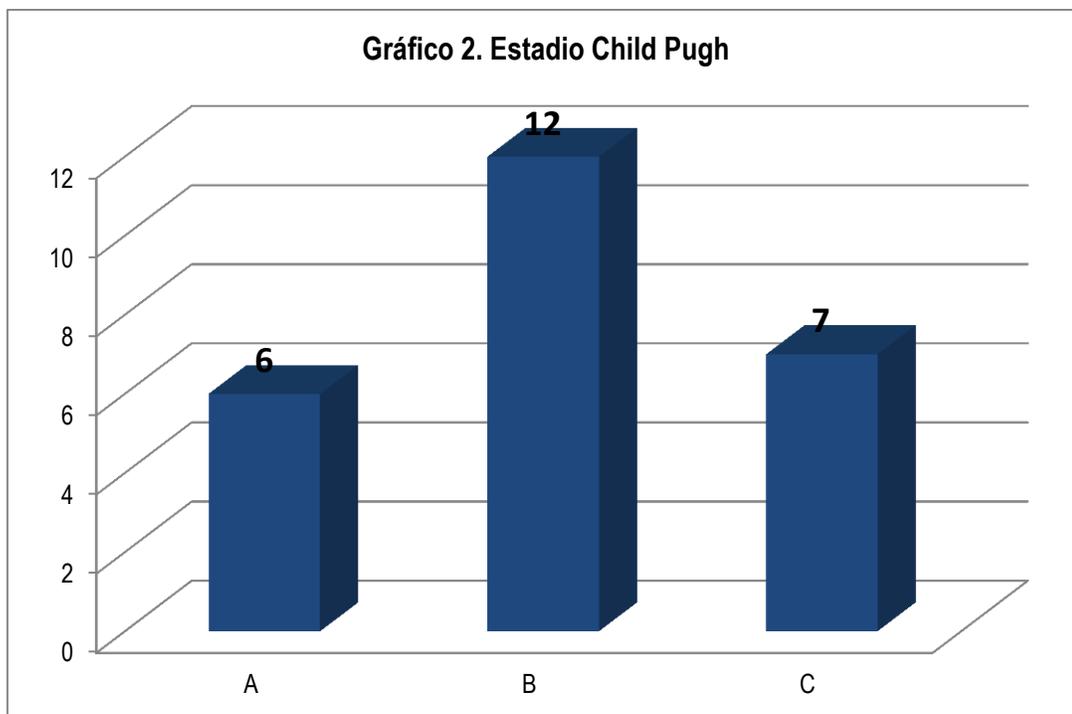
Parámetro (n=25)	valor p
Trombocitopenia	0.87
INR prolongado	0.26
Hipofibrinogenemia	0.28
Ultrasonido doppler	0.59
Endoscopia	0.057

El grado de insuficiencia hepática en base al estadio Child Pugh se comportó de la siguiente manera: un 48% de los pacientes (12 de ellos) se encuentran en estadio Child Pugh B, seguidos de un 28% (7 pacientes) en estadio Child Pugh C y un 24% (6 pacientes) en estadio Child Pugh A.

Tabla 13. Estadificación del grado de insuficiencia hepática

Child Pugh (n=25)	Frecuencia (%)	Media \pm DS	Mediana (rango)
A	6 (24%)		
B	12 (48%)		
C	7 (28%)		
PELD		9.97 \pm 8.75	12 (-7 a 28)

PELD: Pediatric End-Stage Liver Disease



En relación a los estudios de gabinete se reporta por ultrasonido doppler datos de hipertensión portal en 4 pacientes (16%) y por estudio endoscópico se refieren datos de hipertensión portal en el 68% de los pacientes (17 pacientes). En ningún ultrasonido doppler se reportan datos de trombosis del sistema portal.

La biopsia hepática reporta cirrosis o fibrosis severa en el 76% de los pacientes (19 pacientes), fibrosis moderada en el 16% (4 pacientes), hay una biopsia reportada como normal y uno de los pacientes no cuenta con biopsia hepática.

Tabla 14. Estudios de gabinete

Estudios de gabinete (n=25)	Frecuencia (%)
Ultrasonido Doppler	
Con hipertensión portal	4 (16%)
Sin hipertensión portal	11 (44%)
No cuenta	10 (40%)
Cirugía Kasai	
Si	12 (48%)
No	6 (24%)
No aplica	7 (28%)
Endoscopia	
Normal	3 (12%)
Várices pequeñas	10 (40%)
Várices medianas	3 (12%)
Várices grandes	4 (16%)
No cuenta	5 (20%)
Biopsia hepática	
Cirrosis	10 (40%)
Fibrosis moderada	4 (16%)
Fibrosis severa	9 (36%)
No fibrosis	1 (4%)
No cuenta	1 (4%)

De los 18 pacientes con diagnóstico de atresia de vías biliares, 12 pacientes que corresponden al 66% de ellos cuentan con derivación biliodigestiva tipo Kasai, en 11 se realizó de forma oportuna antes los 3 meses de vida y en uno de ellos de forma tardía, a los 4 meses de vida, valor de $p = 0.009$.

Tabla 15. Edad al diagnóstico y Kasai

Edad al diagnóstico (n=18)	Kasai	
	SI	NO
Oportuna	11 (61.1%)	2 (11.1%)
Tardía	1 (5.5%)	4 (22.2%)

Oportuna: antes de los 3 meses de vida, Tardía: después de los 3 meses de vida.

Podemos observar que sólo 3 de los pacientes con derivación biliodigestiva se encuentran en un estadio Child Pugh A, 6 en estadio B y 3 en estadio C, valor de $p = 0.89$.

Tabla 16. Kasai y Child Pugh

Kasai	Estadio Child Pugh (n=25)		
	A	B	C
SI	3 (12%)	6 (24%)	3 (12%)
NO	0 (0%)	2 (8%)	4 (16%)
NC	3 (1%)	4 (16%)	0 (0%)

NO: atresia de vías biliares sin Kasai, NC: hepatopatía crónica que no amerita Kasai

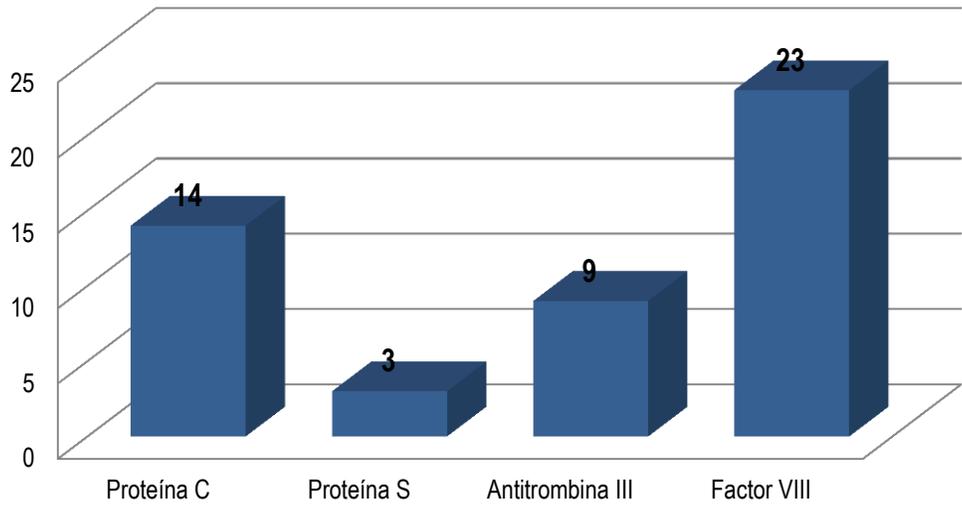
Se documentaron deficiencias adquiridas de las proteínas anticoagulantes, la deficiencia de la proteínas C se presentó en 14 de los pacientes correspondiendo a un 56% de la población; la deficiencia de proteína S se presentó en 3 pacientes que representan el 12%; la deficiencia de antitrombina III se observó en 9 pacientes (36%); el factor VIII se encontró elevado en el 92% de los pacientes estudiados (23 pacientes). Se documentaron deficiencias combinadas de proteínas anticoagulantes en el 36% de la población, 2 pacientes con deficiencia de proteína C y proteína S (8%), y 7 pacientes con deficiencia de proteína C y antitrombina III (28%).

Tabla 17. Proteínas de la coagulación

Deficiencia de proteínas anticoagulantes (n=25)	Frecuencia (%)	Media ± DS	Mediana (rango)
Proteína C	14 (56%)	67.42 ± 34.75	57.49 (25.56 – 149.90)
Proteína S	3 (12%)	85.67 ± 24.6	83.21 (31.5 – 130.35)
Antitrombina	9 (36%)	98.54 ± 31.76	120.5 (20.9 – 125.5)
PC + PS	2 (8%)		
PC + AT	7 (28%)		
Factor de la coagulación (n=25)			
Factor VIII	23 (92%)	376.59 ± 249.75	286.5 (102.9 – 1171)

PC: proteína C, PS: proteína S, AT: antitrombina

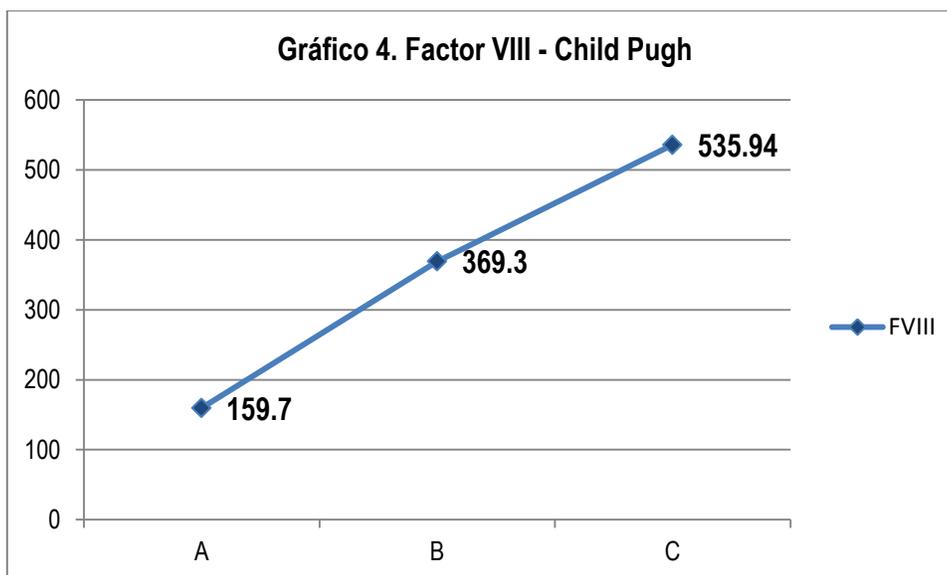
Gráfico 3. Proteínas de la coagulación



Los niveles séricos del factor VIII de la coagulación se encuentran elevados en todos los estadios de Child Pugh, los niveles séricos de factor VIII en estadio A son en promedio de 159.7%, en estadio Child B de 369.3% y en estadio C de 535.94%.

Tabla 18. Niveles de actividad del Factor VIII de coagulación y Child Pugh

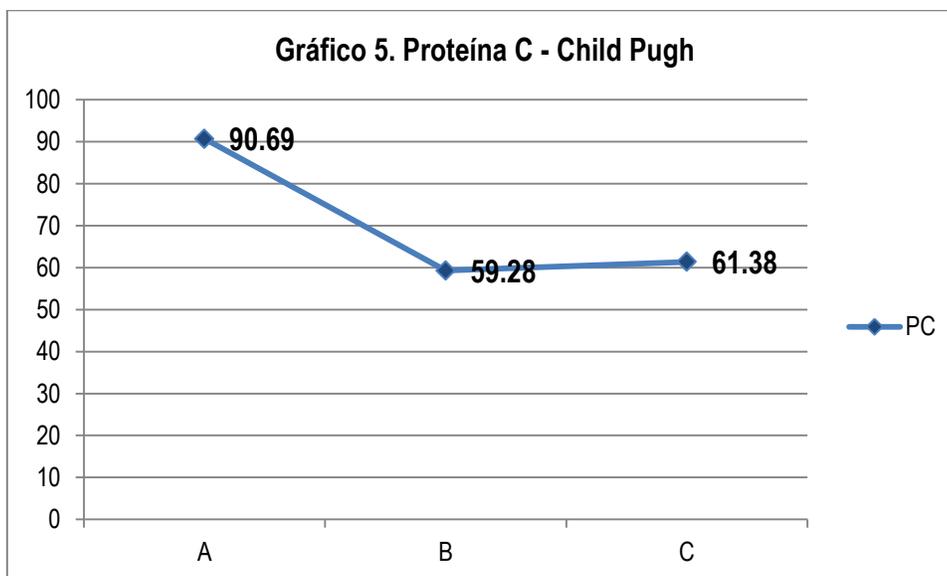
Estadio Child Pugh (n=25)			
Factor VIII	A	B	C
Elevado	4 (16%)	12 (48%)	7 (28%)
Normal	2 (8%)	0 (0%)	0 (0%)



Los niveles séricos de la proteína C se encontraron deficientes en todos los estadios de Child Pugh, los niveles séricos de la proteína C en estadio A son en promedio de 90.69%, en estadio Child B de 59.28% y en estadio C de 61.38%.

Tabla 19. Niveles de actividad proteína C y Child Pugh

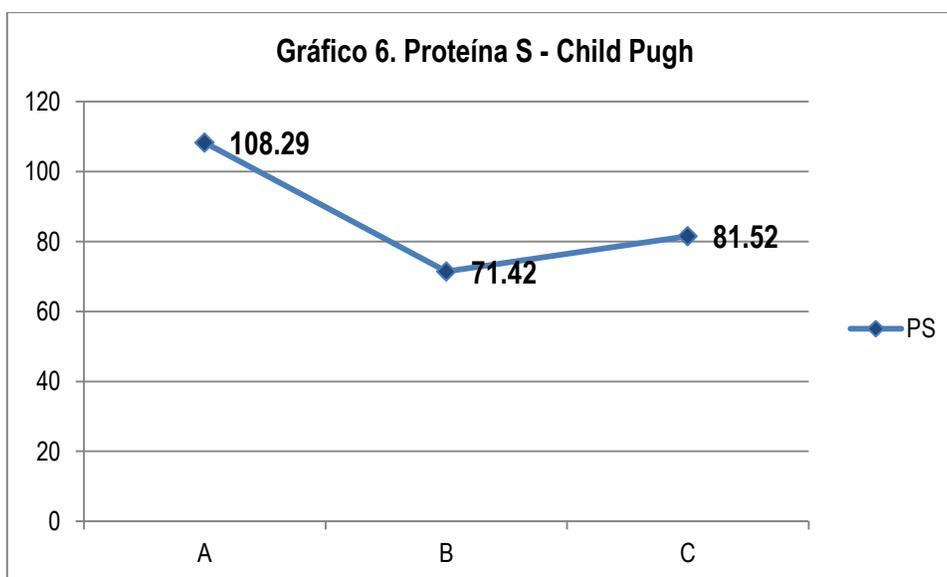
Estadio Child Pugh (n=25)			
Proteína C	A	B	C
Deficiencia	1 (4%)	7 (28%)	5 (20%)
Elevado	1 (4%)	1 (4%)	1 (4%)
Normal	4 (16%)	4 (16%)	1 (4%)



Los niveles séricos de la proteína S se encontraron deficientes en los estadios de Child Pugh más avanzados, los niveles séricos de la proteína S en estadio A son en promedio de 108.29%, en estadio Child B de 71.42% y en estadio C de 81.52%.

Tabla 20. Niveles de actividad proteína S y Child Pugh

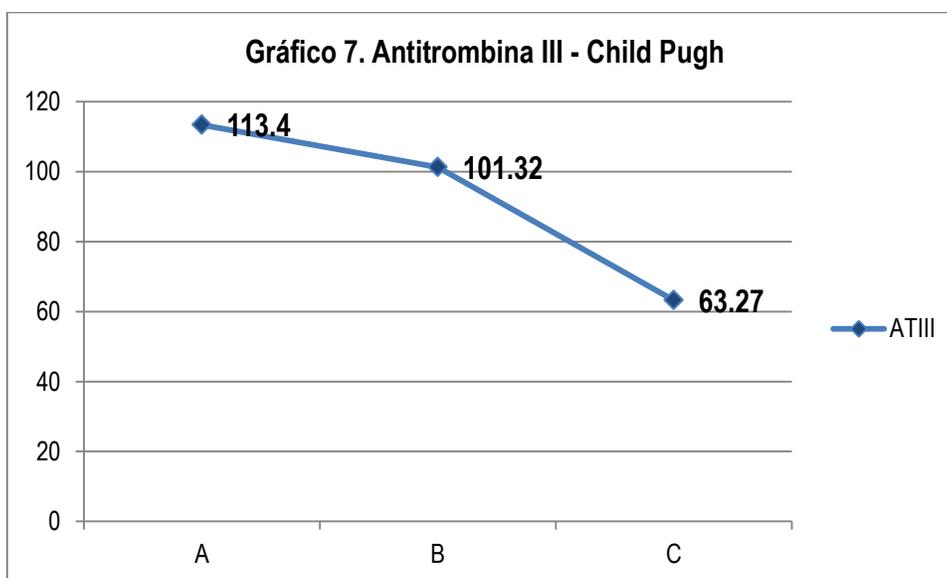
Proteína S	Estadio Child Pugh (n=25)		
	A	B	C
Deficiencia	0 (0%)	1 (4%)	2 (8%)
Elevado	3 (12%)	0 (0%)	1 (4%)
Normal	3 (12%)	11 (44%)	4 (16%)



Los niveles séricos de antitrombina III se encontraron deficientes en todos los estadios de Child Pugh, los niveles séricos de antitrombina III en estadio A son en promedio de 113.4%, en estadio Child B de 101.32% y en estadio C de 63.27%.

Tabla 21. Niveles actividad de antitrombina y Child Pugh

Antitrombina (n=25)	Estadio Child Pugh		
	A	B	C
Deficiencia	1 (4%)	4 (12%)	4 (16%)
Elevado	2 (8%)	3 (12%)	0 (0%)
Normal	3 (12%)	5 (20%)	3 (12%)



Los niveles séricos de albúmina se encuentran disminuidos aún con niveles de factor VIII elevados, valor de $p = 0.09$.

Tabla 22. Niveles de actividad del Factor VIII de la coagulación y niveles de albúmina

Albúmina		
Factor VIII (n=25)	Baja	Normal
Elevado	14 (56%)	9 (36%)
Normal	0 (0%)	2 (8%)

Los niveles séricos de albúmina se encuentran bajos en el grupo de deficiencia de proteína C de la coagulación, valor de $p = 0.34$.

Tabla 23. Niveles de actividad de la proteína C y niveles de albúmina

Albúmina		
Proteína C (n=25)	Baja	Normal
Deficiencia	8 (32%)	5 (20%)
Elevado	2 (8%)	1 (4%)
Normal	4 (16%)	5 (20%)

Los niveles séricos de albúmina se encuentran bajos aún con niveles de proteína S dentro de lo normal, valor de $p = 0.69$.

Tabla 24. Niveles de actividad de proteína S y niveles de albúmina

Albúmina		
Proteína S (n=25)	Baja	Normal
Deficiencia	2(8%)	1 (4%)
Elevado	2 (8%)	2 (8%)
Normal	10 (40%)	8 (32%)

Los niveles séricos de albúmina se encuentran predominantemente normales con niveles séricos normales de antitrombina III, valor de $p = 0.10$.

Tabla 25. Niveles de actividad de antitrombina y niveles de albúmina

Antitrombina (n=25)	Albúmina	
	Baja	Normal
Deficiencia	7 (28%)	2 (8%)
Elevado	1 (4%)	4 (16%)
Normal	6 (24%)	5 (20%)

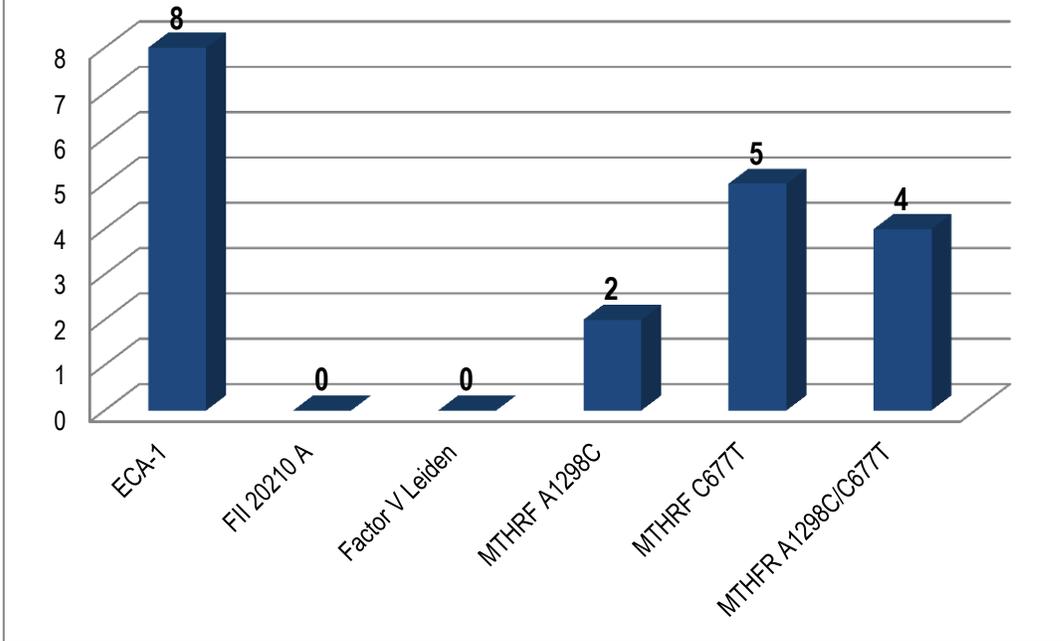
En el estudio se documentaron 8 pacientes (34.7%) con la mutación por delección para ECA-1; 2 pacientes (8.6%) con polimorfismo homocigoto MTHFR A1298C; 5 pacientes (21.7%) con el polimorfismo homocigoto para MTHFR C677T, polimorfismo heterocigoto para MTHFR A1298C/C677T en 17.3% (4 pacientes), heterocigoto compuesto ECA-1/MTHFR A1298C 2 pacientes (8.6%) y heterocigoto compuesto para ECA-1/MTHFR C677T 2 pacientes (8.6%). No se documentaron mutaciones del factor V de Leiden, ni del gen de la protrombina.

Tabla 26. Alteraciones genéticas del panel de trombofilia

Alteraciones genéticas del panel de trombofilia (n=23)	Frecuencia (%)
ECA-1 D/D Int 16	
Homocigoto no mutante	5 (21.7%)
Heterocigoto mutante (sin riesgo)	10 (43.4%)
Homocigoto mutante (delección de riesgo)	8 (34.7%)
FII G20210A	
Homocigoto no mutante (sin riesgo)	23 (100%)
Heterocigoto mutante (riesgo)	0 (0%)
FVL G1691A	
Homocigoto no mutante (sin riesgo)	23 (100%)
Heterocigoto mutante (riesgo)	0 (0%)
MTHRF A1298C	
Homocigoto mutante (de riesgo)	2 (8.6%)
Heterocigoto mutante	7 (30.4%)
Homocigoto no mutante	14 (60.8%)
MTHRF C677T	
Homocigoto mutante (de riesgo)	5 (21.7%)
Heterocigoto mutante	12 (52.1%)
Homocigoto no mutante	6 (26%)
MTHFR C677T/ A1298C	
Heterocigoto compuesto (de riesgo)	4 (17.3%)

ECA-1 D/D Int 16: polimorfismo de la enzima convertidora de angiotensina 1, FII G202A: mutación del gen de la protrombina, FVL G1691A: mutación del Factor V Leiden, MTHFR: polimorfismos de la metiltetrahidrofolato reductasa C677T, A1298C.

Gráfico 4. Mutaciones trombofilia



Discusión

- ✓ La principal causa de hepatopatía crónica y cirrosis en nuestro grupo de estudio fue la atresia de vías biliares con un 72% de los pacientes, no hay deferencia en la distribución por sexo, lo cual corresponde a lo reportado en la literatura donde se habla de que las enfermedades colestásicas son las causas más frecuentes de cirrosis con indicación de trasplante hepático en la edad pediátrica, con la atresia de vías biliares condicionando cerca del 60% de los casos.¹⁰
- ✓ El tiempo promedio de evolución de la enfermedad en nuestro grupo de estudio fue de 38 meses, lo que equivale a 3 años 2 meses, lo cual puede explicar porque la mayoría se encuentran en estadios Child Pugh B o C, siendo esperado un deterioro de la función hepática a mayor tiempo de evolución de la enfermedad.
- ✓ Los niños con hepatopatía crónica tienen una afectación importante de su estado nutricional, aunque llama la atención que el 32% de la población estudiada se encuentre eutrófica, lo cual atribuimos a que la determinación del estado nutricional en estos pacientes se realizó en función de la relación de peso y talla, al no contar con la circunferencia media de brazo, y sabemos que en este grupo de pacientes por la condición de visceromegalias y ascitis, el peso no es confiable para concluir el diagnóstico nutricional. Se observó una asociación positiva en relación a mayor afectación del estado nutricional en pacientes con estadio Child Pugh C.
- ✓ Gonzalez ⁵³ señala que uno de los factores de riesgo para enfermedad tromboembólica es el grupo sanguíneo, se refiere que las personas del grupo sanguíneo O tienen menor tendencia a la trombosis que los grupos no O, debido a las concentraciones de factor vonWillebrand y a la actividad del factor VIII en plasma hasta un 30% menores; en la población estudiada un 44% (12 pacientes) son del grupo sanguíneo O, sin embargo se documentó en el 92% de todos los pacientes (con independencia del grupo sanguíneo), una elevación de los niveles de actividad del factor VIII de la coagulación, sin

poder establecer una relación al respecto porque ninguno de ellos ha presentado eventos de trombosis.

- ✓ Kujovich ⁵⁴ refiere que el perfil hemostático de un paciente con insuficiencia hepática normalmente incluye trombocitopenia, reducción de los niveles de factores de coagulación e inhibidores de la coagulación, niveles reducidos de proteínas fibrinolíticas y el aumento en los niveles plasmáticos del factor VIII de la coagulación y del factor de von Willebrand, puede haber disfunción plaquetaria, defectos funcionales de factores K dependientes, así como del fibrinógeno, la producción de trombina se conserva cuando el recuento plaquetario es superior a 50 000.
- ✓ En relación al perfil bioquímico de nuestra población de estudio documentamos alteraciones en biometría hemática y pruebas de funcionamiento hepático que son comunes a los pacientes con este tipo de patología y coincide con lo referido en la literatura, tales como anemia, trombocitopenia, transaminasas y bilirrubinas elevadas con patrón colestásico, llamando la atención que sólo en un paciente se encontró INR prolongado y fibrinógeno disminuido, lo cual puede hablar en relación a una estabilidad de los pacientes, menor riesgo de sangrado y situación de rebalance hemostático.
- ✓ En el 52% de los niños de nuestro grupo se tiene un antecedente de sangrado de tubo digestivo alto, llamando la atención que indicadores como fibrinógeno e INR se encuentren dentro de rangos normales, Kujovich ⁵⁴, Saavedra ¹³ y Lisman ¹⁶, refieren que el estado de rebalance hemostático que existe en pacientes con hepatopatía crónica no puede ser evaluado por las pruebas de la laboratorio con que actualmente se cuenta, ya que sus valores no se asocian, ni predicen el riesgo de desarrollar hemorragia o trombosis. Se están desarrollando nuevas pruebas para la medición de la coagulación de forma eficiente, entre las que se encuentra la prueba de generación de trombina.
- ✓ El estadio Child Pugh que predominó es el B, seguido del C y en menor proporción el A, lo que traduce una mortalidad sin trasplante hepático a un año de 20% para el estadio B, 55% para el estadio C y un 15% a dos años para el

estadio A.⁵ Por lo que es esperado que la casi totalidad de la muestra (92%) se encuentren en protocolo de trasplante hepático.

- ✓ Se incluyeron dentro del protocolo 5 paciente en quienes por biopsia (biopsia tomada al momento del diagnóstico) no se documenta aún cirrosis, sin embargo con datos de hipertensión portal en uno de ellos, y por patología de base (atresia de vías biliares) se espera una evolución a cirrosis de etapas tempranas con necesidad de trasplante hepático a mediano plazo.
- ✓ En relación a los estudios de gabinete hay una diferencia importante en la detección de hipertensión portal en relación al ultrasonido doppler (16%) y por endoscopia (68%), lo cual puede estar en función de que los estudios de imagen son dependientes del operador y que algunos hallazgos endoscópicos son de hipertensión portal incipiente (várices pequeñas).
- ✓ Sólo el 66% de los pacientes con atresia de vías biliares cuenta con derivación biliodigestiva tipo Kasai, lo cual nos habla de que existe una detección tardía de este tipo de patología. La funcionalidad de la derivación biliodigestiva no es la óptima y esto se puede inferir por el estadio Child Pugh, tenemos 3 pacientes (16%) con atresia de vías biliares derivados en estadio A, 6 pacientes (32%) en estadio B y 3 pacientes (16%) en estadio C, lo cual nos sugiere que no es sólo la oportunidad con que se realice la derivación lo que determina la funcionalidad, sino que en el pronóstico influyen situaciones como técnica quirúrgica y procesos infecciosos agregados.
- ✓ La mayor parte de la literatura encontrada describe el comportamiento de la trombofilia en pacientes con cirrosis que ya presentaron un evento de trombosis, y son en población adulta, en quienes se agregan factores de riesgo como obesidad, inmovilización y patologías crónico degenerativas. Tripodi refiere que la enfermedad hepática crónica se asocia a un desequilibrio procoagulante, este desequilibrio se cree que se debe a la disminución de la proteína C y aumento del factor VIII de la coagulación; por su lado García-Fuster identificó en pacientes con cirrosis que sufrieron un evento de tromboembolia venosa la presencia de hipoalbuminemia, deficiencia de proteínas anticoagulantes (proteína C, proteína S y antitrombina), niveles

elevados de anticuerpos antifosfolípicos e hiperhomocisteinemia. En nuestro estudio de los factores estudiados y con relación a lo referido por Tripodi y García Fuster, documentamos hipoalbuminemia en el 56% de los pacientes, deficiencia de proteína C en el 56%, deficiencia de proteína S en el 12%, deficiencia de antitrombina en el 36% y niveles séricos incrementados de factor VIII de la coagulación en el 92%, la información es descriptiva, ya que en nuestra población no hay antecedentes ni familiares, ni personales de eventos de trombosis.

- ✓ La deficiencia de las proteínas anticoagulantes, proteína C (56%), proteína S (12%) y antitrombina (36%) se observaron en una mayor proporción que en la población sana y aún en aquellos con antecedente de evento de trombosis, de acuerdo a lo reportado por Ruíz ⁴¹ y Lomas ⁴². El haberlas encontrado en mayor frecuencia que en la población sana e incluso que en aquellos con antecedente de evento trombotico obedece a que en nuestro grupo la deficiencia de las proteínas anticoagulantes es adquirida, por la falta de síntesis por la condición de falla hepática a diferencia de los grupos referidos.
- ✓ La deficiencia de las proteínas anticoagulantes, proteína S (12%) y antitrombina (36%) se observaron en una proporción similar a lo reportado en estudios de pacientes con daño hepático; Cha ⁵¹ reporto deficiencia de proteína S en 13% y deficiencia de antitrombina en 42%; por su lado García ¹⁸ reporto deficiencia de proteína S y antitrombina en 23%; sin embargo para la deficiencia de proteína C se observó una mayor frecuencia; en nuestro estudio fue de 56% comparativamente con 13% y 23% reportados por Cha ⁵¹ y García ¹⁸ respectivamente.
- ✓ Los niveles de actividad del factor VIII de la coagulación se observan incrementados de manera general en la población estudiada, observando un mayor incremento en estadios avanzados de la enfermedad (Child Pugh C), lo cual coincide con lo reportado por Tripodi. ²⁶
- ✓ Se documentó deficiencia de proteína C en el 56% de la población estudiada, la cual al relacionarse con el estadio Child Pugh nos permite observar que sus niveles son mayores en el estadio Child Pugh A (promedio de 90.69, seguida

del estadio C (promedio de 61.38) y notablemente más disminuidos en Child Pugh B (promedio de 59.28), lo cual contrasta a lo reportado por Tripodi²⁶ en el que se habla de una tendencia a la inversa en relación al estadio Child Pugh.

- ✓ Los niveles séricos de antitrombina guardan una tendencia de mayores niveles de actividad en relación al estadio Child Pugh, mayores en estadio A y menores en estadio C, esto no está descrito en la literatura. Los niveles séricos de proteína S son mayores en estadio Child Pugh A, seguidos de Child Pugh C y son menores en Child Pugh B, lo cual no guarda una relación a mayor afectación de la función hepática, situación que tampoco se ha descrito en la literatura.
- ✓ Los niveles séricos de albúmina bajos no guardan relación con la deficiencia de proteínas anticoagulantes como proteínas C, proteína S y antitrombina, lo cual contrasta con lo referido por Northup, quien comenta que la hipoalbumemia se relaciona con un mayor riesgo de tromboembolia venosa en pacientes cirróticos que puede traducir deficiencia de las proteínas anticoagulantes.²⁴
- ✓ En nuestro estudio la mutación más frecuente fue el polimorfismo por delección ECA-1, presente en el 34.7% de los pacientes, se ha atribuido al sistema renina angiotensina un papel en la inmunomodulación de los procesos metabólicos, su desequilibrio puede promover la fibrogénesis, el eje regulador enzima convertidora de angiotensina se ha relacionado con la prevención de lesiones hepáticas (Moreira⁵⁵), con una mayor prevalencia de enfermedades coronarias y como factor predictivo de pérdidas fetales y es considerado dentro de espectro de los genes trombofílicos. Quintero³⁶ reporta una frecuencia de presentación del polimorfismo por delección ECA-1 en población con pérdidas fetales de 22% y en población mexicana sana de 22%; en población sana Zorrilla³⁹ reporta variaciones importante en base a la región geográfica, en México por ejemplo su frecuencia es de un 6%, contrastando con un 37% en población Caucásica. Se realizó una comparación de la frecuencia de presentación de la mutación ECA-1 entre nuestro grupo y 50

mujeres sanas mexicanas, obteniendo un valor de $p = 0.10$, que aunque no es estadísticamente significativo, es comparativamente con los resultados de las otras alteraciones genéticas del panel de trombofilia, es el que tiende a ofrecer una mayor diferencia entre las poblaciones.

- ✓ En nuestro estudio no se documentaron pacientes con la mutación del factor V Leiden, similar a lo reportado por Lomas ⁴² en población pediátrica con trombosis de la vena porta; en la población sana Mexicana se reporta una frecuencia de 0.85% ³⁵. En la población Caucásica la mutación del factor V de Leiden es el trastorno hereditario más común que predispone a trombosis. La frecuencia de presentación de la mutación del factor V Leiden en pacientes con antecedente de trombosis en población Mexicana es de un 13% ⁴¹, en Caucásicos de un 21% ⁴⁰, y en pacientes con cirrosis de un 2.8% ³², lo cual padece obedecer a variaciones raciales. El portador heterocigoto de la mutación del factor V Leiden aumenta el riesgo de trombosis 5 a 10 veces, mientras que los individuos homocigotos para dicha mutación tiene 80 veces mayor riesgo. ²⁹ La comparación entre nuestro grupo y 50 mujeres mexicanas para la mutación del factor V Leiden nos arroja un valor de $p = 1.00$, lo cual no ofrece diferencia estadísticamente significativa, siendo la presentación similar entre grupos.
- ✓ La mutación del gen de la protrombina se refiere que se presenta en la población general en México con una frecuencia de 3% ³⁶, se considera que es el segundo defecto genético protrombótico más prevalente en la población Caucásica presente en el 6% en pacientes con antecedente de trombosis ⁴⁰. En nuestra población no se documentaron mutaciones en el gen de la protrombina, similar a lo reportado por Ayala ⁴⁸ en el estudio que realizó a pacientes con daño hepático crónico en España, lo cual contrasta a lo reportado por Lomas ⁴² en el estudio realizado en población pediátrica con trombosis de la vena porta donde la frecuencia de presentación fue de un 3.7% para esta mutación. Las diferencias en la frecuencia de presentación se pueden atribuir nuevamente a condiciones raciales. La comparación entre nuestro grupo y 50 mujeres mexicanas para la mutación del gen de la

protrombina nos arroja un valor de $p = 1.00$, lo cual no ofrece diferencia estadísticamente significativa, siendo la frecuencia de presentación similar entre grupos.

- ✓ La segunda trombofilia documentada en nuestra población fueron los polimorfismos de la metiltetrahidrofolato reductasa en su forma homocigota documentamos un 8% para A1298C y 20% para C677T, y en su forma heterocigota compuesta se presentó en un 16%. Este comportamiento es similar al 30.7% reportado por Ayala ⁴⁸ en población adulta con afectación hepática; sin embargo contrasta con lo referido por Ruíz ⁴¹ en población Mexicana mestiza con marcados clínicos de trombofilia donde se refiere al polimorfismo metiltetrahidrofolato reductasa C677T fue el de más prevalente reportándose en un 78% de los pacientes estudiados, sin embargo también se encuentra presente en el 68% de los controles sanos por lo que no se puede atribuir como factor causal de trombosis la presencia de esta condición genética. La comparación entre nuestro grupo y 50 mujeres mexicanas para el polimorfismo metiltetrahidrofolato reductasa C677T, para el polimorfismo A1298C y para el polimorfismo heterocigoto compuesto MTHFR C677T/A1298C, nos arroja un valor de $p = 0.80$, $p = 0.11$, $p = 1.00$ respectivamente, lo cual no ofrece diferencia estadísticamente significativa, siendo la presentación similar entre grupos.
- ✓ Documentamos deficiencias combinadas de las proteínas de la coagulación con mutaciones genéticas del panel de trombofilia, siendo esto es relevante ya que se refiere que la susceptibilidad genética a la trombosis, es más a menudo el resultado de una combinación de defectos protrombóticos en lugar de un solo defecto genético. ²⁹

Conclusiones

- ✓ La atresia de vías biliares sigue siendo la causa número uno de hepatopatía crónica y cirrosis en la edad pediátrica.
- ✓ Aunque se conoce sobre la menor tendencia a trombosis en grupos sanguíneo O en relación a los no O, en nuestro estudio no se puede establecer una conclusión a este respecto ya que ninguno de los pacientes tiene antecedente de evento de trombosis.
- ✓ La población de estudio se encuentra en estadios avanzados de la enfermedad. Los pacientes con hepatopatía crónica requerirán en algún momento de la evolución de su enfermedad la realización de un trasplante hepático, como opción terapéutica.
- ✓ Los niños con hepatopatía crónica en un estadio avanzado de la enfermedad, tienen mayor afectación de su estado nutricional.
- ✓ El porcentaje de detección de hipertensión portal mediante ultrasonido doppler es muy bajo, al compararlo con los hallazgos endoscópicos.
- ✓ La derivación biliodigestiva tipo Kasai en los niños con atresia de vías biliares no se realiza en todos los pacientes, condición que se atribuye al diagnóstico tardío.
- ✓ Las deficiencias de las proteínas anticoagulantes en este grupo de pacientes se consideran adquiridas, secundarias a la falta de síntesis hepática.
- ✓ Debido a la complejidad del rebalance hemostático en los pacientes con daño hepático, no es posible tener una evaluación de la coagulación de forma precisa con los recursos con que se cuenta actualmente, los métodos ideales de profilaxis, tratamiento y seguimiento de tromboembolia venosa en pacientes con cirrosis todavía no se han determinado.
- ✓ El grupo de hematólogos de la unidad deberá valorar a este grupo de pacientes, de momento se sugiere que no amerita intervención terapéutica, ya que las deficiencias en uno de los sistemas se ve compensada con la elevación en otros factores de la coagulación.
- ✓ La determinación de una trombofilia no establece como tal un factor de asociación causal en relación a un evento de trombosis, se ha visto que es

más frecuente que esta situación se presente cuando hay deficiencias de las proteínas anticoagulantes como proteína C y S, que con las mutaciones del panel de trombofilia.

- ✓ La deficiencia de las proteínas de la coagulación tiende a correlacionar con una tendencia en positivo con el estadio Child Pugh, a mayor afectación de la condición hepática, menor producción de proteínas anticoagulantes y mayor de factor VIII de la coagulación.
- ✓ Los niveles séricos de albúmina bajos no se correlaciona con deficiencias de las proteínas anticoagulantes.
- ✓ En nuestra población la trombofilia de mayor prevalencia fue el polimorfismo por delección de la enzima convertidora de angiotensina 1, seguido de los polimorfismos heterocigotos para la metiltetrahidrofolato reductasa C677T, en contraste con las poblaciones Caucásicas donde el primer defecto protrombótico es la mutación del factor V Leiden, seguido de la mutación del gen de la protrombina, considerando que estas diferencias se debe a situaciones raciales.

Compromisos

COMPROMISOS Y LINEAS DE INVESTIGACION	
DE INVESTIGACION	LINEAS DE INVESTIGACION
<i>Incluir reporte oficial de resultados en expediente clínico.</i>	<i>Investigar polimorfismos ECA-1 en hepatopatía por asociación con fibrosis. Complementar con medición de PAI-1, como riesgo trombótico.</i>
<i>Realizar la medición de homocisteína en las mutaciones de riesgo (polimorfismos MTHFR homocigotos y heterocigotos compuestos)</i>	<i>Profilaxis antitrombótica en cirrosis</i>
<i>Iniciar suplementación con ácido fólico y vitamina B12 en aquellos en quien se documente hiperhomocisteinemia.</i>	PERSONALES
<i>Considerar incluir el panel de trombofilia dentro del protocolo de trasplante hepático.</i>	<i>Presentación en Congreso NASPHAGAN 2016.</i>
<i>Capacitación a radiólogos en relación a ultrasonido doppler hepático en la identificación de hipertensión portal.</i>	<i>Iniciar publicación en Hepatology o JPGN.</i>

Referencias bibliográficas

1. INEGI. Estadísticas de mortalidad en México: muertes registradas en el año 2012. <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/sisept/Default.aspx?t=mdemo107&s=est&c=23587>
2. Chan Nuñez Carlos, Olivera Martínez Marco Antonio. Trasplante hepático en México. *Rev Gastroenterol Mex* 2003;68(Supl.2):06.
3. Rodríguez Magallán A, Valencia Romero Heber Said y Altamirano José Trinidad. Etiología y complicaciones de la cirrosis hepática. *Rev Hosp Jua Mex* 2008;74(4):257-263.
4. Wang X, Lin SX, Tao J, Wei XQ, Liu YT, Chen YM, Wu B. Study of liver cirrosis over ten consecutive years in Southern China. *World J Gastroenterol*. 2014;20(37):13546-55.
5. García Buey L., González Mateos F. y Moreno Otero R. Cirrosis hepática. *Medicine* 2012;11(11):625-33.
6. Zamora N, Aguirre V, Chávez T, Torre A. Acute on chronic liver failure: review. *Ther Clin Risk Manag* 2014.10:295-303.
7. Contreras Juan Luis, Chan Carlos, Vilatoba Mario, Anthon Francisco Javier, Podgaetz Eitan, Eckhoff Devin E. Trasplante hepático: Consideraciones generales. *Rev Gastroenterol Mex* 2003;68(Supl. 2):7-18.
8. Vilatobá Mario, Eckhoff Devin E., Contreras Juan Luis. Selección del receptor para trasplante hepático. *Revista de Investigación Clínica* 2005;57(2):244-251.
9. Aguirre VJ, Torre A, Vilatobá M, Contreras AG, Sánchez CA, Antolinez MJ, García JI. Indicaciones de trasplante hepático. *Rev Invest Clin* 2014;66(6):534-546.
10. Varela Fascinetto Gustavo, Dávila Pérez Roberto, Hernández Plata Alejandro, Castañeda Martínez Pedro, Fuentes García Victor, Nieto Zermeño Jaime. Trasplante hepático en niños. *Revista de Investigación Clínica* 2005;57(2):273-282.
11. Mendoza Sánchez Federico, Haro Haro Francisco Javier, Sandoval Alvarado Jesus, Zepeda González Alonso, Herrera Rodríguez Roberto, Bassols Ricardez Ángel. Trasplante hepático ortotópico. Resultados en un centro de trasplantes. *Cir Ciruj* 2007;75:281-285.
12. Lu BR, Zhang S, Narkewicz MR, Belle SH, Squires RH, Sokol RJ. Evaluation of the Liver Injury Unit Scoring System to Predict Survival in a Multinational Study of Pediatric Acute Liver Failure. *J Pediatr* 2013;162(5):1010-6.
13. Saavedra González Yesid Alberto, Ovidia Cardona Laura Margarita, Muñoz Maya Octavio Germán, Correa Arango Gonzalo. Alteraciones de la coagulación en cirrosis, viejos y nuevos paradigmas. *Rev Col Gastroenterol* 2012;27(2):104-112.
14. Björn Dahlbäck. Advances in understanding pathogenic mechanisms of thrombophilic disorders. *Blood* 2008;112(1):18-27.
15. Páramo J, Panizo E, Pegenaute C, Lecumberri R. Coagulación 2009: una coagulación moderna de la hemostasia. *Rev Med Univ Navarra* 2009;53(1):19-23.

16. Lisman T. and Porte Robert J. Rebalanced hemotasis in patients with liver disease evidence and clinical consequences. *Blood* 2010;116(6):878-885.
17. Wicklund. Bleeding and Clotting Disorders in Pediatric Liver Disease. *Hematology* 2011:170-177.
18. García Fuster MJ., Abdilla N., Fabiá MJ., Fernández C., Oliver V. y Forner MJ. Enfermedad tromboembólica venosa y cirrosis hepática. *Rev Esp Enferm Dig (Madrid)* 2008;100(5):259-262.
19. Buresi M, Hull R, Coffin CS. Venous thromboembolism in cirrhosis: a review of the literature. *Can J Gastroenterol*; 26(12): 905-8, 2012.
20. Tripodi A, Primiguani M, Lemma L, Chantaragkulv, Mannucci PM. Evidence that low protein C contributes to the procoagulant imbalance in cirrhosis. *J Hepatol* 2013 Aug; 59(2):265-70.
21. Aldawood A, Arabi Y, Aljumah A, et al. The incidence of venous thromboembolism and practice of deep venous thrombosis prophylaxis in hospitalized cirrhotic patients. *Thromb J* 2011;9(1):1.6.
22. Walker Ann P. Portal vein thrombosis: what is the role of genetics?. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005;17:705–707.
23. Wu H, Nguyen GC. Liver cirrhosis is associated with venous thromboembolism among hospitalized patients in a nationwide US study. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2010;8:800-5.
24. Northup PG, McMahon MM, Ruhl AP, et al. Coagulopathy does not fully protect hospitalized cirrhosis patients from peripheral venous thromboembolism. *Am J Gastroenterol* 2006;101:1524-8.
25. Dabbagh O, Oza A, Prakash S, Sunna R, Saettele TM. Coagulopathy does not protect against venous thromboembolism in hospitalized patients with chronic liver disease. *Chest* 2010;137:1145-9.
26. Tripodi A, Primignani M, Chantarangkul V, Dell'Era A, Clerici M, de Franchis R, Colombo M, Mannucci PM. An imbalance of Pro vs Anti- coagulation factors in plasma from patients with cirrhosis. *Gastroenterology* 2009;137(6):2105-11.
27. Zamora González Yaneth, Agramonte Llanes Olga M., Rodríguez Pérez Loreta. Deficiencia de proteínas C y S: marcadores de riesgo trombótico. *Revista Cubana Hematología, Inmunología y Hemoterapia* 2013;29(1):40-47.
28. Khan Salwa y Dickerman Joseph. Hereditary thrombophilia. *Thrombosis Journal* 2006;4:15.
29. Hoppe Carolyn, Matsunaga Alison. Pediatric thrombosis. *Pediatr Clin N Am* 2002;49:1257-1283.
30. Martínez Murillo Carlos, Romo Jiménez Angélica, Zavala Hernández César, Gaminio Gómez Elizabeth, Montañó Figueroa Efreon Horacio, Ramos Peñafiel Christian, Collazo Jaloma Juan. Trombofilia primaria en México: experiencia de una institución. *Rev Med Hosp Gen Mex* 2010;73(4):225-230.

31. Parra Ortega Israel, López Martínez Briceida, González Avila Itamar, Rodríguez Castillejos Cecilia, Jonguitud Diaz Vanesa, Luna Gaspar Alma, Sanchez Huerta Jose Luis, Vilchis Ordoñez Armando. Coexistencia de las mutaciones C677T y A1298C en la enzima 5,10 metiltetrahidrofolato reductasa en pacientes pediátricos con trombosis. *Bol Med Hosp Infant Mex* 2009;66:229-233.
32. Antenucci Anna, Conti Laura, Ettore Giuseppe, Vennarecci Giovanni, Santoro Roberto, Vercillo Giuseppe, Vitelli Gaetano, Antonini Mario, et al., Thrombophilia and Liver Transplantation. The 2006 Joint International Congress, Milan, Italy. C-17, 67.
33. Pintao MC, Riberio DD, Bezemer ID, García AA, de Visser MCH, Doggen CJM, Lijfering WM, Reitsma PH y Rosendaal FR. Protein S levels and the risk of venous thrombosis results from the MEGA case-control study. *Blood* 2013;122(18):3210-3219.
34. Bucciarelli P, De Stefano V, Passamonti SM, Tormene D, Legnani C, Rossi E, Castaman G, Simioni P, Cini M y Martinelli I. Influence of proband's characteristics on the risk for venous thromboembolism in relatives with factor V Leiden or prothrombin G20210A polymorphisms. *Blood* 2013;122(15):2555-2561.
35. Majluf A, Moreno M, Ruiz A, Monroy R, Majluf K, Guardado R, Molina A, Isordia I, Corona N, Vargas F, Vela J y G J. Activated Protein C Resistance and Factor V Leiden in Mexico. *Clinical and Applied Thromb Haemost* 2008;(14):428-437.
36. Quintero A, Valdez LL, Hernández G, Baltazar LM, Padilla JR, Valle Y, Rodarte K, Ortiz R, Ortiz M, Olivares N, Rivas F. Evaluación de cinco polimorfismos de genes trombofílicos en parejas con aborto habitual. *Gac Méd Méx* 2006;142(2):95-98.
37. Isordia I, Leaños A, Sainz I, Reyes E, Borrayo G. Asociación entre el polimorfismo 4G/5G en el gen del inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1) y el infarto agudo de miocardio con elevación del ST en pacientes jóvenes. *Rev Esp Cardiol*. 2009;62(4):365-72.
38. Fuentes C. 2011. Implementación de un panel para diagnóstico molecular de trombofilia. Centro de Investigación Biomédica de Occidente. Tesis de Maestría. Universidad de las Américas de Puebla.
39. Zorrilla P, Mimbacas A, Gascue C, Javier G, Cardoso H. Prevalencia del polimorfismo I/D del gen de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) en la población de Montevideo. *Rev Med Uruguay* 2006;22:17-21.
40. Ruiz Arguelles G, Garcés-Eisele J, Reyes-Núñez V and Ramírez-Cisneros FJ. Primary Thrombophilia in Mexico. II. Factor V G1691A (Leiden), Prothrombin G20210A, and Methylenetetrahydrofolate Reductase C677T Polymorphism in Trombophilic Mexican Mestizos. *American Journal of Hematology*. 2001;66:28-31.
41. Ruiz Arguelles G, González-Carrillo M, Estrada-Gomez R, Valdés-Tapia P, Parra-Ortega I y Porras-Juárez A. Trombofilia primaria en México. Parte IV: Falta de asociación estadística entre las condiciones trombofílicas heredadas. *Gac Méd Méx* 2007;143(4):317-322.

42. Lomas R, Castillo de León Y. 2013. Trombofilia primaria en niños con hipertensión portal extrahepática. Centro Médico Nacional de Occidente. Tesis para subespecialidad en Gastroenterología y Nutrición Pediátrica.
43. Holzhauser S, Goldenberg NA, Junker R, Heller C, Stoll M, Manner D, Mesters R, Krümpel A, Stacha M, Nowak-Göttl U. Inherited thrombophilia in children with venous thromboembolism and the familial risk of thromboembolism: an observational study. *Blood*; 120(7):1510-5, 2012.
44. Arshad F, Lisman T, Porte RJ. Hypercoagulability as a contributor to thrombotic complications in the liver transplant recipient. *Liver Int* 2013 Jul; 33(6):820-7.
45. Proposito D, Loinaz Seguro C, García García I, Jiménez C, González Pinto I, Gomez Sanz R, De La Cruz J, Moreno González E. Assessment of risk factors in the incidence of hepatic artery thrombosis in a consecutive series of 687 liver transplantations. *Ann Ital Chir.* 2001;72(2):187-205.
46. Spaggiari Mario. The Impact of Inherited Thrombophilia on Liver Transplantation. Letters to the Editor. Lippincott Williams & Wilkins. December 2009.
47. Ackermann O., Branchereau S., Franchi-Abella S., Pariente D., Chevret L., Debray D., Jacquemin E., Gauthier F., Hill C. and Bernard O. The Long-Term Outcome of Hepatic Artery Thrombosis After Liver Transplantation in Children: Role of Urgent Revascularization. *American Journal of Transplantation* 2012;12:1496-1503.
48. Ayala R, Martínez López J, Cedena T, Bustelos R, Jiménez C, Moreno E, Ribera C. Recipient and donor thrombophilia and the risk of portal venous thrombosis and hepatic artery thrombosis in liver recipients. *BMC Gastroenterol* 2011;11:130.
49. Appel IM, Grimminck B, Geerts J, Stigter R, Cnossen MH, Beishuizen A. Age dependency of coagulation parameters during childhood and puberty. *J Thrombo Haemost* 2012;10:2254-63.
50. Bustelos R, Ayala R, Martínez J, Martín M.A, Toledo T, Grande S, Garfia C, Moreno A, Perez B, Meneu J.C, Moreno E, Ribera C. Usefulness of Hemostatic and Prothrombotic Screening in Potential Donors. *Transplantation Proceedings* 2009; 41:3791–3795.
51. Cha D, Alfrey E, Desai D, MacConmara M, Hwang C. Increased risk of vascular thrombosis in pediatric liver transplant recipients with thrombophilia. *Journal of Surgical Research* 2015;199:671-675.
52. Claverie M, Ramos T, Gonzalez P. Revisión Técnicas para el diagnóstico molecular de enfermedades hereditarias. *Bol Pediatr* 2008;48(205):235-241.
53. Gonzalez Ordoñez A. Grupos sanguíneos y enfermedad. *Med Clin (Barc).* 2005;125(10):382-8.
54. Kujovich JL. Coagulopathy in liver disease: a balancing act. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2015(1):243-9.
55. Moreira S, Antunes T, Feltenberger J, Sousa S. The role of renin-angiotensin system modulation on treatment and prevention of liver diseases. *Peptides* 2014;62:189-196.

ANEXOS



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN
Y POLITICAS DE SALUD
COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD
CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN

Guadalajara, Jalisco a ____ de _____ del _____.

Por medio de este documento acepto la participación de mi hijo:

de manera voluntaria y libre, en el proyecto de investigación **PERFIL DE TROMBOFILIA EN EL PACIENTE PEDIATRICO CON CIRROSIS E INSUFICIENCIA HEPATICA DEL HOSPITAL DE PEDIATRIA, CENTRO MEDICO NACIONAL DE OCCIDENTE.**

El estudio tiene como propósito identificar la incidencia de trombofilia en pacientes con enfermedad hepática crónica y pacientes sin afectación hepática, ya que se ha observado que en paciente con cirrosis existe un rebalance en el sistema de coagulación, que puede predisponer a la formación de trombos, siendo importante tener conocimiento de estos parámetros, a fin de actuar de forma oportuna con medidas profilácticas si así fuera necesario. El estudio se realiza con fines de investigación no lucrativos.

La participación en el estudio consiste en donar una muestra sanguínea por punción venosa, la cual será sometida a estudio molecular de DNA (muestra de 5 ml, en frasco con EDTA al 10%, enviado a Centro de Investigación Biomédica) y perfil bioquímico (muestra de 2.7 ml, tubo con búfer de citrato trisódico, enviado a laboratorio del Hospital de Pediatría). El cual será conservado en un banco de material genético.

El investigador principal se ha comprometido a responder cualquier pregunta y aclarar cualquier duda que le plantee acerca de los procedimientos que se llevarán a cabo, asimismo, estoy enterado sobre los posibles riesgos e inconvenientes derivados de mi participación en el estudio, que implican las molestias y posible hematoma por la punción venosa y el riesgo de que no obtener un diagnóstico preciso con los marcadores genéticos empleados. El investigador principal me ha garantizado la confidencialidad de mis datos personales y se ha comprometido a mantener mi anonimato de manera que no se me identificará en las presentaciones o publicaciones científicas que se generen de este estudio. También se ha comprometido a proporcionarme la información actualizada que se obtenga durante el estudio, aunque ésta pudiera hacerme cambiar de parecer respecto a mi permanencia en el mismo. Los resultados del estudio se darán al paciente correspondiente en cita de seguimiento a la consulta externa. En caso de no aceptar participar en el estudio de ninguna forma se verá afectada la atención médica que requiero.

Nombre y firma del tutor

Investigador

Testigo

Testigo

HOJA DE RECOLECCION DE DATOS

DATOS PERSONALES

Fecha			
Nombre	Sexo	M	F
NSS			
Diagnóstico	Protocolo para TH	SI	NO
Edad al momento del diagnóstico	Edad actual		

ANTECEDENTES PATOLOGICOS

Historia familiar de trombofilia primaria	SI	NO
Evento de trombosis personal	SI	NO

DATOS CLINICOS

Peso	Talla	CMB	Estado nutricional	EU	DM	DG
Ascitis	SI	NO	Encefalopatía	SI	NO	
Evento de STD	SI	NO	Fecha de último evento de STD			
CHILD PUGH	A	B	C			

DATOS DE LABORATORIO

Hemoglobina	Hematócrito	Plaquetas	Leucocitos	Grupo y Rh
TGO	TGP	GGT	BT	BD
Albumina	TP	TTP	INR	Fibrinógeno
Factor VIII	Vwf			

INHIBIDORES DE LA COAGULACION

Proteína C	Proteína S	Antitrombina III
------------	------------	------------------

MUTACIONES GENETICAS

Factor V Leiden	PTHR FII 20210 ^a	ECA-1	PAI-1
MTHFR	C677T		A1298C

ESTUDIOS DE GABINETE

USG Doppler	Fecha	Hallazgo
-------------	-------	----------

CIRUGIA

Kasai	Fecha	Hallazgo
-------	-------	----------

ENDOSCOPIA

Fecha	Hallazgo
-------	----------

BIOPSIA HEPATICA

Fecha	Hallazgo
-------	----------

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES											
	2015										
	Abril	May	Jun	Julio	Ago	Sept	Oct	Nov	Dic	Ene	Feb
Elaboración del Protocolo	X	X	X								
Presentación al Comité				X							
Recolección y Captura de Datos					X	X	X	X	X		
Análisis de la Información									X		
Presentación de Resultados y conclusiones										X	
Elaboración de la Tesis										X	
Publicación de la Tesis											X



Dirección de Prestaciones Médicas
Unidad de Educación, Investigación y Políticas de Salud
Coordinación de Investigación en Salud



"2015, Año del Generalísimo José María Morelos y Pavón".

Dictamen de Autorizado

Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud 1302
HOSPITAL DE PEDIATRIA, CENTRO MEDICO NACIONAL DE OCCIDENTE LIC. IGNACIO GARCIA TELLEZ, GUADALAJARA
JALISCO, JALISCO

FECHA **23/07/2015**

DR. OMLHXUP 1 1

P R E S E N T E

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título:

Perfil de trombofilia en el paciente pediátrico con cirrosis e insuficiencia hepática del Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional de Occidente.

que sometió a consideración de este Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de Ética y de investigación, por lo que el dictamen es **A U T O R I Z A D O**, con el número de registro institucional:

Núm. de Registro
R-2015-1302-45

ATENTAMENTE

DR.(A). JOSÉ DE JESÚS ARRIAGA DÁVILA
Presidente del Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud No. 1302

IMSS

SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL