

## La existencia de las mutaciones Leiden del factor V y G20210A de la protrombina es infrecuente en pacientes pediátricos mexicanos con hemofilia A grave

### The existence of the mutations Leiden of factor V and G20210A of prothrombin is infrequent in Mexican pediatric patients with severe hemophilia A.

Israel Parra-Ortega,<sup>1</sup> Karina Elvira López-Valladares,<sup>1</sup> Tania Angeles-Floriano,<sup>1</sup> Aída Máshenka Moreno-González,<sup>2</sup> Briceida López-Martínez<sup>3</sup>

#### Resumen

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

**OBJETIVO:** Comunicar los resultados de una serie de pacientes con hemofilia A grave a los que se les investigó la existencia de las mutaciones Leiden del factor V y la G20210A de la protrombina.

**PACIENTES Y MÉTODO:** Estudio prospectivo que de enero de 2008 a diciembre de 2017 incluyó pacientes con diagnóstico de hemofilia A grave, en ellos se investigaron las mutaciones Leiden del factor V y la G20210A de la protrombina por medio de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real.

**RESULTADOS:** Se incluyeron 43 pacientes en los que no se identificaron las mutaciones Leiden del factor V y la G20210A de la protrombina.

**CONCLUSIONES:** La existencia de las mutaciones Leiden del factor V y G20210A de la protrombina es infrecuente en pacientes pediátricos mexicanos con hemofilia A grave.

**PALABRAS CLAVE:** Hemofilia A; mutación del factor V Leiden.

#### Abstract

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

**OBJECTIVE:** To present a series of patients with severe hemophilia A, in which the presence of factor V Leiden and prothrombin G20210A mutations were investigated.

**PATIENTS AND METHOD:** A prospective study was done from January 2008 to December 2017 with patients with a diagnosis of severe haemophilia A. The presence of the mutations was investigated: factor V Leiden and G20210A of prothrombin by means of real-time polymerase chain reaction.

**RESULTS:** Forty-three patients were included, in which no Leiden mutations of factor V and prothrombin G20210A were identified.

**CONCLUSION:** The existence of the mutations Leiden of factor V and G20210A of prothrombin is infrequent in Mexican pediatric patients with severe hemophilia A.

**KEYWORDS:** Hemophilia; Factor V Leiden mutation.

<sup>1</sup> Laboratorio Clínico.

<sup>2</sup> Servicio de Hematología.

<sup>3</sup> Subdirección de Servicios Auxiliares y Diagnóstico, Hospital Infantil de México Federico Gómez, Ciudad de México.

**Recibido:** 12 de febrero 2019

**Aceptado:** 27 de mayo 2019

#### Correspondencia

Briceida López Martínez  
brisalopezmtz@gmail.com

#### Este artículo debe citarse como

Parra-Ortega I, López-Valladares KE, Angeles-Floriano T, Moreno-González AM, López-Martínez B. La existencia de las mutaciones Leiden del factor V y G20210A de la protrombina es infrecuente en pacientes pediátricos mexicanos con hemofilia A grave. Hematol Méx. 2019 julio-septiembre;20(3):198-203. <https://doi.org/10.24245/rhematol.v20i3.2979>

## ANTECEDENTES

La hemofilia A es una coagulopatía hereditaria caracterizada por la deficiencia cuantitativa o cualitativa del factor VIII, es ocasionada por una alteración en los genes que se encuentran en el brazo largo del cromosoma X, clínicamente se manifiesta con la aparición de hemorragias en músculos y articulaciones con intensidad variable. La clasificación de la gravedad de la hemofilia A se realiza de acuerdo con el valor de la actividad del factor VIII en grave (< 1 UI/dL), moderada (1-5 UI/dL) y leve (5-40 UI/dL).<sup>1,2</sup>

En países europeos se ha descrito que las características clínicas de los pacientes con hemofilia A grave pueden verse modificadas de manera favorable por la existencia de factores protrombóticos, considerando específicamente las mutaciones Leiden del factor V y la G20210A de la protrombina.<sup>3-8</sup> En Alemania se realizó un estudio multicéntrico en el que se identificó que un grupo de pacientes con hemofilia A grave con las mutaciones Leiden del factor V y la G20210A de la protrombina tuvieron menor tasa anualizada de sangrado que los no portadores de las mutaciones ( $p = 0.012$ ), el daño articular y la artropatía ocurrieron en menor grado en los pacientes con alguna de las mutaciones, estos resultados fueron estadísticamente significativos.<sup>3</sup> La existencia de la mutación G20210A de la protrombina en pacientes con hemofilia A grave se ha catalogado como un efecto protector, porque los pacientes con hemofilia A con esta alteración molecular pueden llegar a tener reducción o atenuación de los episodios de sangrado.<sup>5</sup> Estas observaciones clínicas se han reproducido en modelos animales en los que se describe que existe influencia del fenotipo de hemofilia A grave por factores protrombóticos y que las mutaciones Leiden del factor V y la G20210A de la protrombina actúan como factor protector en este tipo de pacientes.<sup>6-8</sup> La

importancia de la mutación Leiden del factor V se basa en lo siguiente: el factor V de la coagulación es una proteína que se sintetiza en el hígado y el gen que lo codifica está situado en la región 23 del brazo largo del cromosoma 1, este factor circula en sangre periférica de manera inactiva hasta que interactúa con el factor X activado formando un complejo que convierte al factor II (protrombina) en trombina, que va a tener su acción sobre el fibrinógeno convirtiéndolo en fibrina. La regulación del factor V activado se da por la actividad de la proteína C activada, cuando el factor V tiene una mutación (nombrada Leiden) que es ocasionada por el cambio de una adenina por una guanina en el nucleótido 1691 del factor V (G1691A), que causa que se sustituya una arginina por una glutamina en el residuo 506 de la proteína factor V, la proteína resultante es un factor V anómalo, mismo que no puede inactivarse por la proteína C activada, por lo que el factor V continúa activado y no puede impedir que el proceso de coagulación se detenga.

La mutación Leiden del factor V tiene efecto en la generación de trombina, lo que puede llegar a incrementar su producción de tres a siete veces y en los pacientes con hemofilia A puede tener un efecto positivo.<sup>9</sup> El objetivo de este estudio es comunicar los resultados de una serie de pacientes con hemofilia A grave a los que se les investigó la existencia de las mutaciones Leiden del factor V y la G20210A de la protrombina y dar continuidad a un reporte preliminar generado en 2009.<sup>10</sup>

## MATERIAL Y MÉTODO

Estudio prospectivo realizado de enero de 2008 a diciembre de 2017 que incluyó pacientes con diagnóstico de hemofilia A grave que acudieron al Departamento de Laboratorio Clínico del Hospital Infantil de México Federico Gómez.

A todos los pacientes, previo ayuno de ocho horas, se les extrajeron 2 mL de sangre periférica anticoagulada con EDTA, para realizar la extracción de ADN (ácido desoxirribonucleico) se utilizó el paquete de extracción de ácidos nucleicos Magna Pure LC DNA Isolation Kit®, la investigación de las mutaciones Leiden del factor V (detección del cambio de arginina por una glutamina en el residuo 506) y la G20210A de la protrombina se realizó utilizando reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR) con los equipos comerciales: Factor V Leiden kit y Factor II (prothrombin) G20210A kit y el equipo LightCycler® con el programa LCS4 versión 4.0.5.415 de la marca Roche Diagnostics Corporation® en combinación con el equipo Magna Pure®.

## RESULTADOS

Se incluyeron 43 pacientes en los que no se identificaron las mutaciones Leiden del factor V y la G20210A de la protrombina.

## DISCUSIÓN

Al no identificar algún paciente hemofílico con uno o ambos marcadores de trombofilia investigados en nuestro grupo de pacientes no es posible conocer el comportamiento de este tipo de pacientes; sin embargo, debemos generar más información con un número mayor de pacientes, lo que hace evidente la necesidad de un estudio multicéntrico para poder emitir conclusiones fidedignas, pues la diversidad genética que tiene la población mexicana ha sido motivo de controversias en diferentes estudios.<sup>11</sup> En nuestro país (considerando varias afecciones) se ha descrito en diversas publicaciones de investigadores mexicanos que las mutaciones Leiden del factor V y la G20210A de la protrombina no son frecuentes, como lo son en los países europeos, específicamente en el caso de los pacientes con hemofilia, Jaloma-Cruz y su equipo de investi-

gadores han generado información importante acerca del comportamiento de los pacientes mexicanos.<sup>12-17</sup>

Las experiencias publicadas en otros países (**Cuadro 1**) en la investigación de pacientes con hemofilia A grave que muestran en forma concomitante un marcador de trombofilia han ido en aumento y sugieren que las mutaciones Leiden del factor V y la G20210A de la protrombina tienen participación en la fisiopatología de la coexistencia de dos o más anomalías en el sistema homeostático. Por tal motivo, es necesario generar información de las características clínicas de los pacientes hemofílicos que muestran estas alteraciones. Los resultados que genera la interacción de una coagulopatía, como la hemofilia A grave, y un marcador de trombofilia son muy interesantes, por el aparente beneficio que obtiene el paciente al reducir el número de transfusiones debidas a sangrados.<sup>4,18-34</sup> En México existen pocas publicaciones de estudios prospectivos que evalúan los requerimientos transfusionales, características clínicas y fenómenos biológicos de los pacientes con la coexistencia de estas dos afecciones.<sup>10,15-17</sup>

Se ha descrito desde hace más de una década que 10 a 15% de los pacientes clasificados fenotípicamente como hemofilia A grave tienen reducción en el patrón de sangrado y la artropatía; este grupo de pacientes puede tener un factor protrombótico asociado. Este grupo de pacientes no manifiestan con frecuencia sangrado espontáneo; incluso, entre los que sangran, el grado de daño articular es variable y no siempre necesitan un tratamiento profiláctico.<sup>33,34</sup> La gran heterogeneidad del fenotipo clínico en la hemofilia grave parece ser multifactorial, incluida la variación en las concentraciones de diversos factores procoagulantes y anticoagulantes, el equilibrio entre los sistemas de coagulación y fibrinólisis, la farmacocinética de los productos terapéuticos, los factores ambientales que incluyen la actividad

**Cuadro 1.** Investigación de la existencia de la mutación Leiden del factor V en pacientes con hemofilia grave

Año	País de estudio	Número de pacientes con hemofilia	Pacientes con la mutación Leiden del factor V, n (%)	Referencia
1995	Estados Unidos	21	1 (4.8)	19
1996	Estados Unidos	6	2 (33.3)	5
1996	Brasil	113	3 (2.7)	20
2000	Canadá	137	6 (4.4)	8
2001	Alemania	92	6 (6.5)	6
2001	Italia	11	1 (9.1)	21
2001	India	31	1 (3.2)	22
2001	Bulgaria	21	3 (14.3)	23
2002	España	125	2 (1.6)	4
2003	India	48	0	26
2003	Portugal	37	1 (2.7)	27
2005	Reino Unido	33	0	17
2007	India	72	5 (6.9)	32
2007	Alemania	107	8 (7.5)	3
2008	Turquía	38	5 (13.2)	28
2008	Suiza	100	5 (5)	29
2009	México	257	3 (1.2)	16
2009	México	13	0	10
2018	México	43	0	Estudio actual

del estilo de vida y el tipo de mutación que muestra el paciente hemofílico en el factor VIII.<sup>32,33</sup> Uno de los principales problemas en el manejo de la hemofilia es decidir la forma en que se llevará a cabo la terapia, sobre todo el inicio y la intensidad de la profilaxis; la comprensión detallada de todos los factores que pueden contribuir al daño articular en la hemofilia A grave podría ayudarnos en la adaptación de la terapia para estos pacientes.<sup>31,32,34</sup> En el futuro, mediante la combinación de la medición un mayor número de factores procoagulantes y anticoagulantes de manera individual y la evaluación de la función

de coagulación global, podría comprenderse mejor el potencial de coagulación hemostásica en pacientes con hemofilia de manera individual, lo que favorecerá la predicción del fenotipo hemorrágico y la designación de un tratamiento hemostático adecuado a lo largo de su vida y en algún momento llegar a establecer una terapia personalizada basada en las características mencionadas.<sup>28,30,31,34</sup>

El informe de estos 43 pacientes forma parte de una línea de investigación que tiene como finalidad conocer los cambios y el beneficio que se produce en los pacientes con hemofilia A grave que también son portadores de factores protrombóticos, considerando que en futuras investigaciones podrían identificarse otros marcadores genéticos que pudieran modificar o afectar de forma favorable las características clínicas de los pacientes con hemofilia A grave.

## CONCLUSIONES

La existencia de las mutaciones Leiden del factor V y G20210A de la protrombina es infrecuente en pacientes pediátricos mexicanos con hemofilia A grave.

Es necesario investigar la existencia de otros factores protrombóticos, considerando que futuras investigaciones podrían aportar información que ayude a conocer más las características clínicas de los pacientes con hemofilia A grave.

## REFERENCIAS

1. Bolton MPH, Pasi KJ. Haemophilia A and B. *Lancet* 2003;361:1801-1809.
2. Evatt BL, Back C, Batorova A, Street A, Srivastava A. Comprehensive care for haemophilia around the world. *Haemophilia* 2004;10:9-13.
3. Kurnik K, Kreuz W, Horneff S, Düring, C, Schobess R, Bidlingmaier C, et al. Effects of the factor V G1691A mutation and the factor II G20210A variant on the clinical expression of severe hemophilia A in children – results of a multicenter study. *Haematologica* 2007;92:982-985.

4. Tizzano EF, Soria JM, Coll M, Guzman B, Cornet M, Altisent C, et al. The prothrombin 20210A allele influences clinical manifestations of hemophilia A in patients with intron 22 inversion and without inhibitors. *Haematologica* 2002;87: 279-285.
5. Nichols WC, Amano K, Cacheris PM, Figueiredo MS, Michaelides K, Schwaab R, et al. Moderation of hemophilia A phenotype by the factor V R506Q mutation. *Blood* 1996;88:1183-7.
6. Escuriola-Ettingshausen C, Halimeh S, Kurnik K, et al. Symptomatic onset of severe hemophilia A in childhood is dependent on the presence of prothrombotic risk factors. *Thromb Haemost* 2001;85:218-220.
7. Schlachterman A, Schuettrumpf J, Liu JH, Furlan Freguia C, Toso R, Poncz M, et al. Factor V Leiden improves *in vivo* hemostasis in murine hemophilia models. *J Thromb Haemost* 2005;3:2730-2737.
8. Lee DH, Walker IR, Teitel J, Poon MC, Ritchie B, Akabutu J, et al. Effect of the factor V Leiden mutation on the clinical expression of severe hemophilia A. *Thromb Haemost* 2000;83:387-391.
9. Veer van't C, Golden NJ, Kalafatis M, Simioni P, Bertina R, Mann G. An *in vitro* analysis of the combination of hemophilia A and factor V Leiden. *Blood* 1997;90:3067-3072.
10. Parra-Ortega I, Jonguitud-Díaz V, López-Martínez B, González-Ávila I y col. Investigación de las mutaciones Leiden del factor V y G20210A de la protrombina en pacientes pediátricos con hemofilia A grave. Informe preliminar. *Med Univ* 2009;11(42):5-7.
11. Moreno A, Sandoval K. Diversidad genómica en México: Pasado indígena y mestizaje. *Cuicuilco* 2013;20(58):249-275.
12. Majluf-Cruz A, Moreno-Hernández M, Ruiz-de-Chávez-Ochoa A, et al. Activated protein C resistance and factor V Leiden in Mexico. *Clin Appl Thromb Hemost* 2008;14:428-37.
13. Vallejo-Villalobos MF, León-Peña A, León-González M, Núñez-Cortés AK, Olivares-Gazca JC, Valdés-Tapia P, Garcés-Eisele J, Ruiz-Argüelles A, Ruiz-Argüelles GJ. Primary thrombophilia in Mexico XI: Activated protein C resistance phenotypes are multifactorial. *Indian J Hematol Blood Transfus* 2017;33:375-379.
14. Lacayo-Leñero D, Hernández-Hernández D, Valencia-Martínez A, Barrales-Benítez O, Vargas-Ruiz AG. Primary thrombophilia in Mexico: a single tertiary referral hospital experience. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2016;27:920-924.
15. Jaloma-Cruz AR, Beltrán-Miranda CP, González-Ramos IA, López-Jiménez, Luna-Záiza RH, Mantilla-Capacho JM, Mundo-Ayala JN, Valdés Galván MJ. Genotype-phenotype interaction analyses in hemophilia. *Hemophilia* 2012;15:32.
16. López-Jiménez JJ, Beltrán-Miranda CP, Mantilla-Capacho JM, Esparza-Flores MA, López González LC, Jaloma-Cruz AR. Clinical variability of haemophilia A and B in Mexican families by factor V Leiden G1691A, prothrombin G20210A and MTHFR C677T/A1298C. *Haemophilia* 2009 Electronic publication ahead of print.
17. Beltrán-Miranda CP, Khan A, Jaloma-Cruz AR, Laffan MA. Thrombin generation and phenotypic correlation in haemophilia. *Haemophilia* 2005;11:326-34.
18. Franchini M, Lippi G. Factor V Leiden and hemophilia. *Thromb Res* 2010;125:119-23.
19. Arbini AA, Mannucci PM, Bauer KA. Low prevalence of the factor V Leiden mutation among "severe" hemophiliacs with a "milder" bleeding diathesis. *Thromb Haemost* 1995;74:1255-8.
20. Arruda VR, Annichino-Bizzachi JM, Costa FF. Association of severe hemophilia A and factor V Leiden. A report of three cases. *Haemophilia* 1996;2:51-3.
21. Vianello F, Belvini D, Dal Bello F, Tagariello G, Zanon E, Lombardi AM, et al. Mild bleeding diathesis in a boy with combined severe haemophilia B (C10400→T) and heterozygous factor V Leiden. *Haemophilia* 2001;7:511-4.
22. Ghosh K, Shetty S, Mohanty D. Milder clinical presentation of haemophilia A with severe deficiency of factor VIII as measured by one-stage assay. *Haemophilia* 2001;7:9-12.
23. Petkova R, Chakarov S, Horvath A, Ganey V, Kremensky I. Coexistence of a common prothrombotic risk factor and hemophilia in the Bulgarian hemophilic population: genotype/phenotype correlations. *Balk J Med Genet* 2001;4:37-40.
24. Grünwald M, Siegemund A, Grünwald A, Konegan A, Kokschi M, Griesshammer M. Paradoxical hyperfibrinolysis is associated with a more intensely haemorrhagic phenotype in severe congenital haemophilia. *Haemophilia* 2002;8:768-75.
25. Vezendi K, Tapai K, Erdodi E, Szabó I, Tomek A, Oszlacs J, et al. Thrombophilic markers in patients with congenital bleeding disorders. *Haematologia* 2002;32:467-73.
26. Ahmed R, Kannan M, Choudhry VP, Saxena R. Does the MTHFR 677 T allele alter the clinical phenotype in severe haemophilia A? *Thromb Res* 2003;109:71-2.
27. Araújo F, Fraga M, Henriques I, Monteiro F, Meireles E, Pereira C, et al. The clinical phenotype modulation of haemophilia by prothrombotic gene mutations. *Haemophilia* 2003;9:235-6.
28. Ar MC, Baykara O, Buyru AN, Baslar Z. The impact of prothrombotic mutations on factor consumption in adult patients with severe hemophilia. *Clin Appl Thromb Hemost* 2008;6:660-665.
29. Schulman S, Eelde A, Holmström M, Ståhlberg G, Odeberg J, Blombäck M. Validation of a composite score for clinical severity of hemophilia. *J Thromb Haemost* 2008;6:1113-21.
30. Jayandharan GR, Srivastava A. The phenotypic heterogeneity of severe hemophilia. *Semin Thromb Hemost* 2008;34:128-141.
31. Nogami K, Shima M. Phenotypic heterogeneity of hemostasis in severe hemophilia. *Semin Thromb Hemost* 2015;41:826-31.
32. Shetty S, Vora S, Kulkarni B, Mota L, Vijapurkar M, Quadros L, et al. Contribution of natural anticoagulant and

- fibrinolytic factors in modulating the clinical severity of haemophilia patients. *Br J Haematol* 2007;138:541-4.
33. Jayandharan GR, Srivastava A. the phenotypic heterogeneity of severe hemophilia. *Semin Thromb Hemost* 2008;34:128-141.
34. van Dijk K, Fischer K, van der Bom JG, Grobbee DE, van den Berg HM. Variability in clinical phenotype of severe haemophilia: the role of the first joint bleed. *Haemophilia* 2005;11(5):438-443.