

El laboratorio de hemostasia en pediatría

Hemostasis laboratory in pediatrics

Hepner M

Hospital de Pediatría "Prof. Dr. Juan P. Garrahan"

mhepner@garrahan.gov.ar



SIMPOSIO SIMULTÁNEO A
PEDIATRÍA

HEMATOLOGÍA
Volumen 22 • Número Extraordinario
XIII Congreso del Grupo CAHT: 88-92
Septiembre 2018

Palabras claves: pediatría,
hemostasia,
laboratorio.

Keywords: pediatrics,
hemostasis,
laboratory.

El equilibrio hemostático es un proceso dinámico que cambia y madura a lo largo de la vida desde el período fetal hasta la ancianidad.

El "desarrollo de la hemostasia" es un concepto que fue acuñado por la Dra. Maureen Andrew⁽¹⁻³⁾ hace más de 20 años y que actualmente es reconocido por los expertos en el campo de la hemostasia, pero es poco conocido por muchos profesionales de la medicina.

Estas variaciones son fisiológicas y deben ser consideradas en neonatología y pediatría cuando se interpretan los resultados de laboratorio, se analiza la fisiopatología de los diversos trastornos de la hemostasia y cuando se evalúa la acción de las drogas utilizadas en niños y adolescentes⁽⁴⁾.

Los factores de coagulación durante el desarrollo intrauterino no atraviesan la barrera placentaria⁽⁵⁾, y

la síntesis del fibrinógeno fetal comienza durante la quinta semana de gestación⁽⁶⁾, con actividad hemostática después de las once semanas de gestación⁽⁷⁾. Los rangos de referencia de algunos parámetros de coagulación fetales se estudiaron para diferentes grupos de edad gestacional, y los resultados de las pruebas en fetos entre las 19 y 23 semanas de gestación fueron entre 10% y 30% de los valores de adultos según el parámetro evaluado, y aumentó progresivamente a niveles de 10% a 50% entre las 30 y 38 semanas de gestación⁽⁸⁾.

Los hallazgos fundamentales de la Dra. M. Andrew y col⁽¹⁻³⁾ fueron confirmados por varios estudios que evaluaron diferentes poblaciones en diversas condiciones técnicas⁽⁹⁻¹²⁾. Todos ellos demostraron que, al nacer, los niveles plasmáticos de la mayoría de

las proteínas de la coagulación eran, en promedio, la mitad de los medidos en adultos y que los recién nacidos prematuros tenían niveles más bajos que los recién nacidos a término^(3,4). Los valores de adultos se alcanzan entre los 3 y 6 meses de edad y hasta más de los 16 años para parámetros específicos como el factor VII y factor V de coagulación⁽¹¹⁾. Las concentraciones plasmáticas de factores de coagulación vitamina K dependientes y los factores de contacto en neonatos son en promedio el 50% de los valores de adultos.

En relación a los inhibidores fisiológicos, los niveles de antitrombina y cofactor II de heparina están reducidos en neonatos, pero alcanzan los niveles de adultos después de los seis meses de edad, mientras que los niveles plasmáticos de α -2 macroglobulina son significativamente más altos al nacer y permanecen aumentados dos veces con respecto a los adultos hasta los 6 meses de edad, disminuyendo gradualmente hacia la adolescencia. Los niveles de los inhibidores fisiológicos dependientes de la vitamina K, proteína C y proteína S son muy bajos en el período neonatal y aumentan durante la infancia, aunque no alcanzan los niveles de los adultos hasta la adolescencia. Es importante destacar que la concentración de la proteína S total en neonatos es muy reducida, pero con un nivel relativamente alto de proteína S libre debido a que la proteína de unión C4b es casi indetectable⁽⁴⁾.

La capacidad de los recién nacidos para generar trombina está reducida comparada con los adultos sanos⁽¹³⁾. Sin embargo, el sistema hemostático en el período neonatal está equilibrado por el efecto protector de las deficiencias fisiológicas de los inhibidores de la coagulación, así como por la capacidad fibrinolítica disminuida en los lactantes. Las concentraciones de plasminógeno y α 2-antiplasmina están descendidas a entre 50% y 70% comparada con adultos. Los niveles del activador tisular del plasminógeno (tPA) y del inhibidor del activador tisular del plasminógeno (PAI-1) están aumentados al nacimiento con respecto a los adultos⁽¹⁻⁴⁾.

La evaluación de la hemostasia primaria involucra la función plaquetaria (adhesión y agregación), la participación del factor de von Willebrand (FVW) y los componentes de las células endoteliales, que es el aspecto menos estudiado pero también emergente⁽¹⁴⁾. La función plaquetaria de los neonatos merece una atención especial, ya que en algunos estudios

se informó que las plaquetas neonatales son hiporreactivas, pero en otros se reportaron dentro de los límites de los adultos⁽¹⁵⁾. Las posibles razones para informar la hiporreactividad incluyen la disminución de la densidad de receptores de plaquetas, una síntesis deficiente de tromboxano y transducción de señal alterada^(16,17). La función plaquetaria, evaluada por método de agregometría de transmisión de luz en niños sanos, después del año de edad es similar a la de los adultos⁽¹⁸⁾.

El tiempo de sangría es una medida de la interacción de la pared del vaso y las plaquetas y es más corto en recién nacidos sanos en comparación con adultos, probablemente debido al hematocrito elevado, la presencia de glóbulos rojos grandes nucleados y una mayor concentración FVW⁽¹⁹⁾. En un estudio reciente de cohortes de 128 neonatos (48 de los cuales nacieron prematuros), se observó un aumento significativo de FVW antigénico (VWF:Ag) en comparación con los adultos, mientras que la ADAMTS-13 fue significativamente mayor en neonatos en comparación con los controles adultos⁽¹⁹⁾. Esto contrasta con publicaciones previas, donde se observó la presencia de FVW con multímeros de mayor peso molecular en neonatos⁽²⁰⁾. Los cambios en el sistema hemostático se reconocieron incluso en adultos, por ejemplo, los niveles de FVW aumentan con el envejecimiento, a una tasa de 1-2% por año⁽²¹⁾.

Es un hecho bien establecido que el concepto de “desarrollo de la hemostasia” no solamente incluye a los recién nacidos, niños y adolescentes hasta la adultez, sino que, además, se extiende a los adultos mayores. Recientemente se demostró en una cohorte de 1.011 donantes de sangre un aumento adicional de los niveles plasmáticos de factores de coagulación en adultos jóvenes y ancianos comparados con los adolescentes, alcanzando un nivel de significación entre los 35 y 50 años de edad. Por lo tanto, la concentración de los factores varía a lo largo de toda la vida ampliando aún más el concepto del “desarrollo de la hemostasia”⁽²²⁾.

Mientras que las tendencias globales fueron consistentes a través de los estudios publicados en pediatría y han sido confirmados recientemente⁽⁸⁻¹⁰⁾, las diferencias encontradas en los valores absolutos se debe probablemente, a las combinaciones de reactivos y/o instrumentos utilizados para medir los diferentes parámetros⁽¹¹⁾. Esto podría ser particularmente significativo para las pruebas de coagulación globa-

les, como el tiempo de protrombina (TP) y el tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPA)⁽¹¹⁾.

Estos cambios en el “desarrollo de la hemostasia” tienen un impacto clínico importante.

En primer lugar, los rangos de referencia, tal como los utilizamos para definir la “normalidad”, deberían ser apropiados para la población investigada. Esencialmente, entonces, un rango de referencia para adultos no siempre es apropiado para los bebés o para los niños y, de hecho, puede no ser apropiado para todos los adultos. Una interpretación errónea de los resultados podría tener consecuencias no solamente para el paciente y la familia sino para el sistema de salud y la comunidad en general. Por ejemplo, la investigación de un TTPA “anormal” generalmente incluirá una segunda evaluación (nueva extracción de sangre, pruebas de mezclas, dosajes de factores, VWF:Ag, etc.) con costos directos e indirectos innecesarios para el sistema de salud. Los costos indirectos podrían incluir la cancelación de la cirugía, consultas clínicas adicionales, costos de traslado, alojamiento y lucro cesante. Además, si el diagnóstico no es preciso, se podría “etiquetar” como un posible desorden de coagulación y tener numerosas implicancias para la familia durante un largo tiempo.

En segundo lugar, los cambios en el “desarrollo de la hemostasia” pueden alterar el riesgo relativo de sangrado o trombosis en los pacientes evaluados e impactar en el tratamiento y seguimiento de los mismos. Por ejemplo, en los recién nacidos, previo al tratamiento con el activador tisular del plasminógeno recombinante (rTPA), está recomendado dosar el nivel del plasminógeno para considerar la transfusión de plasma fresco congelado y, de esta manera, alcanzar niveles plasmáticos de plasminógeno que permitan la acción del agente fibrinolítico.

Las diferencias de género y etnia así como otros modificadores epigenéticos (grupo sanguíneo) son factores que pueden conducir a variaciones adicionales en los rangos de referencia, además de la configuración analítica de cada laboratorio.

De acuerdo con las pautas actuales, la definición de los rangos de referencia debería comprender los resultados de al menos 120 individuos sanos verificables teniendo en cuenta variables tales como la edad, el sexo, ensayos e instrumentos⁽²³⁾. Por lo tanto, establecer los rangos de referencia es un desafío en pediatría. La identificación y el reclutamiento de

un número suficiente de niños sanos lleva mucho tiempo y los costos analíticos son sustanciales. Un aspecto importante a tener en cuenta es que recolectar sangre de los niños sin beneficio para su salud personal es éticamente imposible. En consecuencia, la mayoría de los laboratorios utilizan los rangos de referencia publicados o los proporcionados por el fabricante.

Para evitar estas situaciones, el Subcomité de Hemostasia Perinatal y Pediátrica del Comité Científico y de Normalización de la Sociedad Internacional de Hemostasia y Trombosis (ISTH) recomienda que los laboratorios definan sus propios rangos de referencia dependientes de la edad utilizando su propia condición técnica⁽²⁴⁾.

En los últimos años, centros de salud de Canadá, Alemania, Estados Unidos y Escandinavia han iniciado varios proyectos de colaboración multicéntricos a nivel nacional con el objetivo de establecer intervalos de referencia pediátricos basados en una gran cantidad de datos⁽²⁵⁻²⁸⁾. Desafortunadamente, todos estos grandes proyectos de valores de referencia se centraron principalmente en la química clínica o en parámetros hematológicos, pero no así en las determinaciones de hemostasia. Sólo un estudio reciente estableció rangos de referencia pediátricos de 5 parámetros (TTPA, tiempo de protrombina, tiempo de trombina, antitrombina y fibrinógeno), utilizando grandes bases de datos de laboratorio de hospitales universitarios de Viena y Salzburgo con un enfoque continuo indirecto y retrospectivo⁽²⁹⁾.

Se han publicado algunos estudios con ensayos de sangre entera, como la generación de trombina y las pruebas de tromboelastografía. Sin embargo, estos ensayos en su mayoría son de un solo centro y todavía necesitan ser validados para diferentes situaciones clínicas, así como calcular los valores de referencia para los recién nacidos, niños y adolescentes. El desarrollo de la hemostasia durante los primeros años de vida podría proporcionar mecanismos de protección en recién nacidos y niños, lo que contribuiría a la disminución del riesgo de trombosis y/o hemorragia en estos grupos de edad. Sin embargo, cuando ocurre un evento de este tipo, es probable que los niveles plasmáticos de factores de coagulación o inhibidores que generalmente están disminuidos comparados con los niveles de los adultos, puedan tener un efecto desencadenante. Además, el “desarrollo de la hemostasia” podría afectar la

interacción entre los fármacos anticoagulantes y el sistema de coagulación y, por lo tanto, explicar en parte la discrepancia en las dosis utilizadas en la terapia anticoagulante entre adultos y niños.

Consideraciones para la preparación de los niños antes del estudio de hemostasia

El ayuno necesario para los estudios de hemostasia consiste en no ingerir ningún tipo de alimento sólido o lácteo. No hay interferencia con agua o líquidos azucarados (té, café, mate o jugos de frutas).

En niños menores de 6 meses, el ayuno debe ser de dos horas antes de realizar la extracción de la muestra de sangre, entre los 6 meses de edad y 2 años es de 3 horas y en los niños mayores de 2 años se deben cumplir por lo menos 4 horas de ayuno. En caso de tener programado otros estudios de laboratorio junto con el de hemostasia, el ayuno que deberá respetar es aquél solicitado por el otro laboratorio.

Si el estudio incluye función plaquetaria en pacientes con manifestaciones de sangrado, no se deben ingerir medicamentos que afecten el metabolismo plaquetario (ácido acetilsalicílico, antiinflamatorios no esteroideos, etc.) salvo prescripción médica, 10 días antes de la extracción de la muestra de sangre.

El personal que realiza las extracciones de sangre debe estar entrenado para que, previo a la toma de muestra a los pacientes, registre los siguientes datos para que el profesional responsable interprete si es el momento adecuado para realizar el estudio de hemostasia:

- 1- presencia de fiebre y/o dolor durante los 15 días previos.
- 2- ingesta de medicación por vía oral, subcutánea, colirio, pomada o ungüento.
- 3- inmunización durante el mes previo.
- 4- diarrea o vómitos durante la última semana en pacientes con terapia anticoagulante.
- 5- el horario en que recibió las dos últimas dosis en pacientes con terapia anticoagulante con heparina de bajo peso molecular.

Extracción de la muestra de sangre

El proceso de la extracción de la muestra de sangre es importante para cualquier grupo de edad, pero en recién nacidos y niños es un punto problemático. Obtener una cantidad de muestra suficiente con una correcta punción venosa es otro desafío. Si las muestras de sangre se obtienen a través de disposi-

tivos centrales arteriales es obligatorio descartar los primeros 3 a 4 ml de sangre para evitar la contaminación con heparina.

Para realizar una extracción directa por venopunción, la elección de agujas tipo mariposa de G23 o G25 podrían facilitar la misma, debido a que la aguja está unida a un tubo flexible que permite que el niño pueda moverse con cierta facilidad sin perjudicar el procedimiento.

Además, debido a que los niños pueden presentar poliglobulia o anemia, la relación citrato-sangre 9:1 debe mantenerse ajustando el citrato de sodio de 3.2% al hematocrito del paciente.

En conclusión, el “desarrollo de la hemostasia” es un concepto importante que tiene un impacto específico en el diagnóstico de los desórdenes hemostáticos en niños. El sobre-diagnóstico y la no detección de las alteraciones hemostáticas son frecuentes cuando no se utilizan los rangos de referencia específicos apropiados para la edad. Además, a medida que se desarrollen nuevas metodologías/algoritmos, sin tener en cuenta este aspecto crucial del desarrollo humano normal a través de una adecuada validación, la utilidad clínica será incierta.

Una medicina personalizada es el pilar de la futura medicina⁽³⁰⁾ como así también la interacción de los médicos hematólogos pediatras con el equipo de laboratorio para realizar una evaluación de cada paciente en relación a la prevención, diagnóstico, identificación de factores de riesgo y tratamiento óptimo en las enfermedades tromboticas y hemorrágicas.

Declaración de conflictos de interés:

La autora declara que no posee conflictos de interés.

Bibliografía

1. Andrew M, Paes B, Milner R y col. Development of the human coagulation system in the full-term infant. *Blood*. 1987;70:165-72.
2. Andrew M, Paes B, Milner R y col. Development of the human coagulation system in the healthy premature infant. *Blood*. 1988;72:1651-7.
3. Andrew M, Vegh P, Johnston M, Bowker J, Ofosu F, Mitchell L. Maturation of the hemostatic system during childhood. *Blood*. 1992;80:1998-2005.
4. Andrew M. Developmental hemostasis: relevance to hemostatic problems during childhood. *Semin Thromb Hemost*. 1995;21:341-56.

5. Cade JF, Hirsh J, Martin M. Placental barrier to coagulation factors: its relevance to the coagulation defect at birth and to hemorrhage in the newborn. *Br Med J.* 1969;2:2813.
6. Gitlin D, Biasucci A. Development of gamma G, gamma A, gamma M, beta ICbeta IA, C1 esterase inhibitor, ceruleoplasmin, transferrin, hemopexin, haptoglobin, fibrinogen, plasminogen, alpha 1-antitrypsin, orosomucoid, beta-lipoprotein, alpha 2-macroglobulin, and prealbumin in human conceptus. *J Clin Invest.* 1969;48:1433-46.
7. Zilliacus H, Ottelin AM, Mattson T. Blood clotting and fibrinolysis in human fetuses. *Biol Neonat.* 1966;10:108-12.
8. Reverdiau-Moalic P, Delahousse B, Body G, Bardos P, Leroy J, Gruel Y. Evolution of blood coagulation activators and inhibitors in the healthy human fetus. *Blood.* 1996;88:900-6.
9. Flanders MM, Crist RA, Roberts WL, Rodgers GM. Pediatric reference intervals for seven common coagulation assays. *Clin Chem.* 2005;51:1738-42.
10. Monagle P, Barnes C, Ignjatovic V y col. Developmental haemostasis. Impact for clinical haemostasis laboratories. *Thromb Haemost.* 2006;95:362-72.
11. Appel IM, Grimminck B, Geerts J, Stigter R, Cnossen MH, Beishuizen A. Age dependency of coagulation parameters during childhood and puberty. *J Thromb Haemost.* 2012;10:2254-63.
12. Toulon P, Berruyer M, Brionne-Francois M y col. Age dependency for coagulation parameters in pediatric populations. Results of a multicenter study aimed at defining the age-specific reference ranges. *Thromb Haemost.* 2016;116.
13. Kremers RM, Wagenvoort RJ, de Laat HB, Monagle P, Hemker HC, Ignjatovic V. Low paediatric thrombin generation is caused by an attenuation of prothrombin conversion. *Thromb Haemost.* 2016; 115:1090-1100.
14. Hvas AM, Favaloro EJ. Platelet function testing in pediatric patients. *Expert Rev Hematol.* 2017;10:281-8.
15. Saxonhouse MA, Sola MC. Platelet function in term and preterm neonates. *Clin Perinatol.* 2004;31:15-28.
16. Rajasekhar D, Barnard MR, Bednarek FJ, Michelson AD. Platelet hyporeactivity in very low birth weight neonates. *Thromb Haemost.* 1997;77:1002-7.
17. Israels SJ, Odaibo FS, Robertson C, McMillan EM, McNicol A. Deficient thromboxane synthesis and response in platelets from premature infants. *Pediatr Res.* 1997;41:218-223.
18. Bonduel M, Frontroth JP, Hepner M, Sciuccati G, Feliu Torres A. Platelet aggregation and adenosine triphosphate release values in children and adults. *J Thromb Haemost.* 2007;5:1782-3.
19. Del Vecchio A, Latini G, Henry E, Christensen RD. Template bleeding times of 240 neonates born at 24 to 41 weeks gestation. *J Perinatol.* 2008;28:427-31.
20. Strauss T, Elisha N, Ravid B y col. Activity of von Willebrand factor and levels of VWF- leaving protease (ADAMTS13) in preterm and full term neonates. *Blood Cells Mol Dis.* 2017;67:14-7.
21. Konkle BA. Von Willebrand factor and aging. *Semin Thromb Hemost.* 2014;40:640-4.
22. Favaloro EJ, Franchini M, Lippi G. Aging hemostasis: changes to laboratory markers of hemostasis as we age - a narrative review. *Semin Thromb Hemost.* 2014;40:621-33.
23. Defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory, in: CLSI, IFCC (Eds.), *Approved Guideline*, 3rd ed., 2010 CLSI document. (C28-A3c).
24. Ignjatovic V, Kenet G, Monagle P. Developmental hemostasis: recommendations for laboratories reporting pediatric samples, *J. Thromb. Haemost.* 2012;10:298-300.
25. Tahmasebi H, Higgins V, Fung AWS, Truong D, White-Al Habeeb NMA, Adeli K. Pediatric reference intervals for biochemical markers: gaps and challenges recent national initiatives and future perspectives. *EJIFCC.* 2017;28:43-63.
26. Adeli K, Higgins V, Trajcevski K, White-Al Habeeb N. The Canadian laboratory initiative on pediatric reference intervals: a CALIPER white paper. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2017;54:358-413.
27. Higgins V, Chan MK, Nieuwesteeg M, Hoffman BR y col. Transference of CALIPER pediatric reference intervals to biochemical assays on the Roche cobas 6000 and the Roche Modular P. *Clin Biochem.* 2016;49:139-49.
28. Colantonio DA, Kyriakopoulou L, Chan MK y col. Closing the gaps in pediatric laboratory reference intervals: a CALIPER database of 40 biochemical markers in a healthy and multiethnic population of children. *Clin Chem.* 2012;58:854-68.
29. Weidhofer C1, Meyer E2, Ristl R2 y col. Dynamic reference intervals for coagulation parameters from infancy to adolescence. *Clin Chim Acta.* 2018;482:124-35.
30. Lippi G, Bassi A, Bovo C. The future of laboratory medicine in the era of precision medicine. *J Lab Precis Med.* 2016;1:7.