

4. INTRODUCCIÓN

4.1 El Sistema de coagulación

“El sistema de coagulación es un sistema homeostático que mantiene la sangre en estado líquido, que reacciona ante cualquier daño vascular para sellar el defecto inmediatamente y que además, promueve la posterior recanalización del vaso reparado.” (Ruiz-Argüelles, 1998). Está formado por dos subsistemas: hemostasia y fibrinólisis, los cuales trabajan en conjunto, activándose para responder ante un daño vascular. Para mantener una buena integridad vascular es necesaria la participación de los siguientes factores biológicos:

- Endotelio vascular
- Plaquetas
- Factores de coagulación plasmática.

4.1.1 Endotelio vascular

El endotelio regula el flujo sanguíneo mediante la expresión de agentes anticoagulantes y fibrinolíticos produciendo vasodilatadores para prevenir la adhesión de las plaquetas. Además, expresa glucosaminoglicanos que favorecen la inhibición de factores hemostáticos activados, así como trombomodulina (Tm) para inhibir la función prohemostática de la trombina. El endotelio también secreta sustancias moduladoras de la fibrinólisis, y así en una lesión vascular, suprime la expresión de ligandos y factores antihemostáticos para presentar los prohemostáticos. (Ruiz-Argüelles, 1998).

4.1.2 Plaquetas

Las plaquetas son fragmentos citoplasmáticos que carecen de un núcleo y se producen como consecuencia de la ruptura de los megacariocitos de la médula ósea, que son células grandes con un núcleo poliploide y un citoplasma subdividido por capas de membranas onduladas.

Las plaquetas circulan en la sangre y poseen forma de disco biconvexo (discocitos) y poseen una carga eléctrica negativa en su superficie. Su concentración normal en la sangre es de 150 a 350 x 10⁶/ml y su tiempo de vida media en sangre es de 7 a 10 días. Su membrana es responsable de la interacción de la célula con el medio circundante a través de receptores entre los que figuran las integrinas, que se caracterizan por enlazarse a proteínas que tienen la secuencia arginina-glicina-aspartato, por ejemplo: fibrinógeno, fibronectina, vitronectina, factor de von Willebrand y colágeno. (García et al., 2000).

4.1.3 Factores hemostáticos

Los factores hemostáticos son glicoproteínas y muchos de ellos se sintetizan en el hígado y después son secretados a la sangre. Los factores hemostáticos se agrupan de acuerdo a su función en zimógenos de serín proteasas y cofactores. (Ruiz-Argüelles, 1998). (Consultar Apéndice 1).

Las serín proteasas son una familia de enzimas que utilizan residuos de serina activados para unirse al sustrato y catalizar la hidrólisis de grupos peptídicos. Su actividad es realizada por la triada catalítica formada por los residuos de aminoácidos aspartato (Asp), histidina (His) y serina (Ser). El mecanismo catalítico anterior, así como la estructura tridimensional del sitio activo, muestran gran similitud en todas las serín proteasas. Las

diferencias de función entre ellas se atribuyen a cambios de especificidad de sustrato. El grupo de las serín proteasas es muy amplio y entre ellas se encuentran factores de coagulación (II, VII, IX, X, XI, XII), activador de plasminógeno, trombina (Tb), la proteína C (PC), y factores del sistema del complemento.

Los cofactores son componentes adicionales que requieren las enzimas para poder llevar a cabo su función catalítica. (Nelson et al, 2000). Ejemplos de estos componentes son los factores V (FV), VIII (FVIII), factor tisular (FT) y metabolito del quininógeno de alto peso molecular (CAPM). El FT extravascular se activa al hacer contacto con la sangre, mientras que los otros deben activarse antes para poder llevar a cabo su función. (Ruiz-Argüelles, 1998).

4.1.4 Cascada de coagulación

Al presentarse un daño vascular, deben ocurrir tres eventos para lograr una hemostasia adecuada: contracción vascular, producción del coágulo plaquetario y la formación de una malla de fibrina estabilizadora.

Para la formación del coágulo se requiere que las plaquetas cumplan tres funciones: adhesión, secreción de sustancias procoagulantes y agregación. En este punto, las plaquetas expresan ligandos para los factores Va, VIIIa, IX, IXa y Xa, lo que crea un ambiente favorable para la generación de fibrina. La red de fibrina insoluble se forma en la fase fluida de la hemostasia y sirve para dar solidez al coágulo. Esta fase fluida consiste en una cascada de reacciones bioquímicas de los factores hemostáticos. (Ruiz-Argüelles, 1998).

La fibrina (insoluble) se obtiene a partir de la conversión del fibrinógeno (soluble). Esta conversión es catalizada por la Tb, la cual se encuentra como zimógeno en el plasma (protrombina ó FII), tal como mostramos en la Figura 1. (Ruiz-Argüelles, 1998).

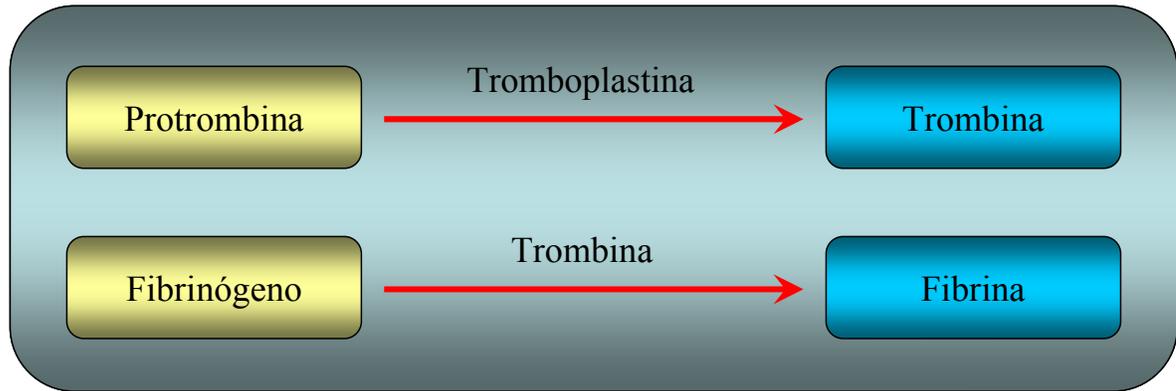


Figura 1. Reacciones de la fase fluida de la hemostasia. (Ruiz-Argüelles, 1998).

Existen dos vías para la formación de Tb: extrínseca e intrínseca, que juntas forman la vía común, dando como resultado final fibrina entrecruzada, que es la formadora del coágulo.

La vía extrínseca es activada cuando la sangre entra en contacto con los tejidos, ya que el FT es el único factor que no se encuentra en la circulación. En la vía intrínseca, la totalidad de las proteínas que participan están en la sangre y comienza cuando el factor XII (FXII) entra en contacto con superficies extrañas a la pared vascular. La principal diferencia entre estos dos mecanismos es el modo de activación del factor X (FX), ya que posteriormente siguen una misma ruta, como ilustramos en la Figura 2. (Ruiz-Argüelles, 1998).

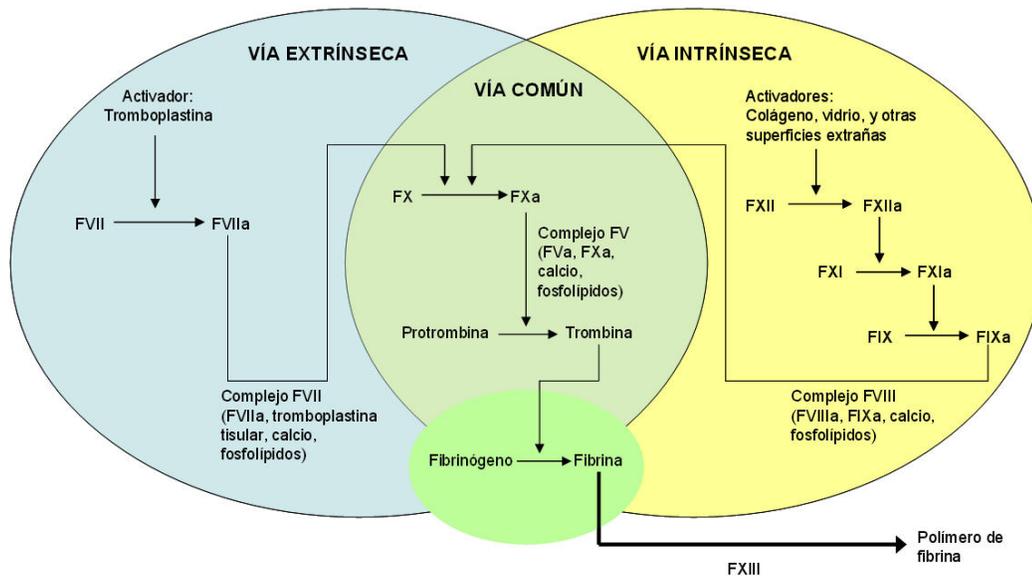


Figura 2. Cascada de coagulación. (Creación propia).

4.2 Mecanismos de control del sistema de coagulación

Cualquier pequeño estímulo que active la fase fluida de la hemostasia da como resultado una gran producción de trombina, debido al efecto de amplificación logrado por las cascadas hemostáticas.

Para evitar la obstrucción de los vasos, es necesaria la regulación temporal y espacial de dichas cascadas. El patrón anticoagulante del endotelio, y la dependencia de la hemostasia y la fibrinólisis de una superficie celular, son dos mecanismos que limitan la propagación del coágulo. Además, existen factores en la fase fluida y en la fibrinólisis que contribuyen a esta regulación, que ilustramos en la Figura 3.

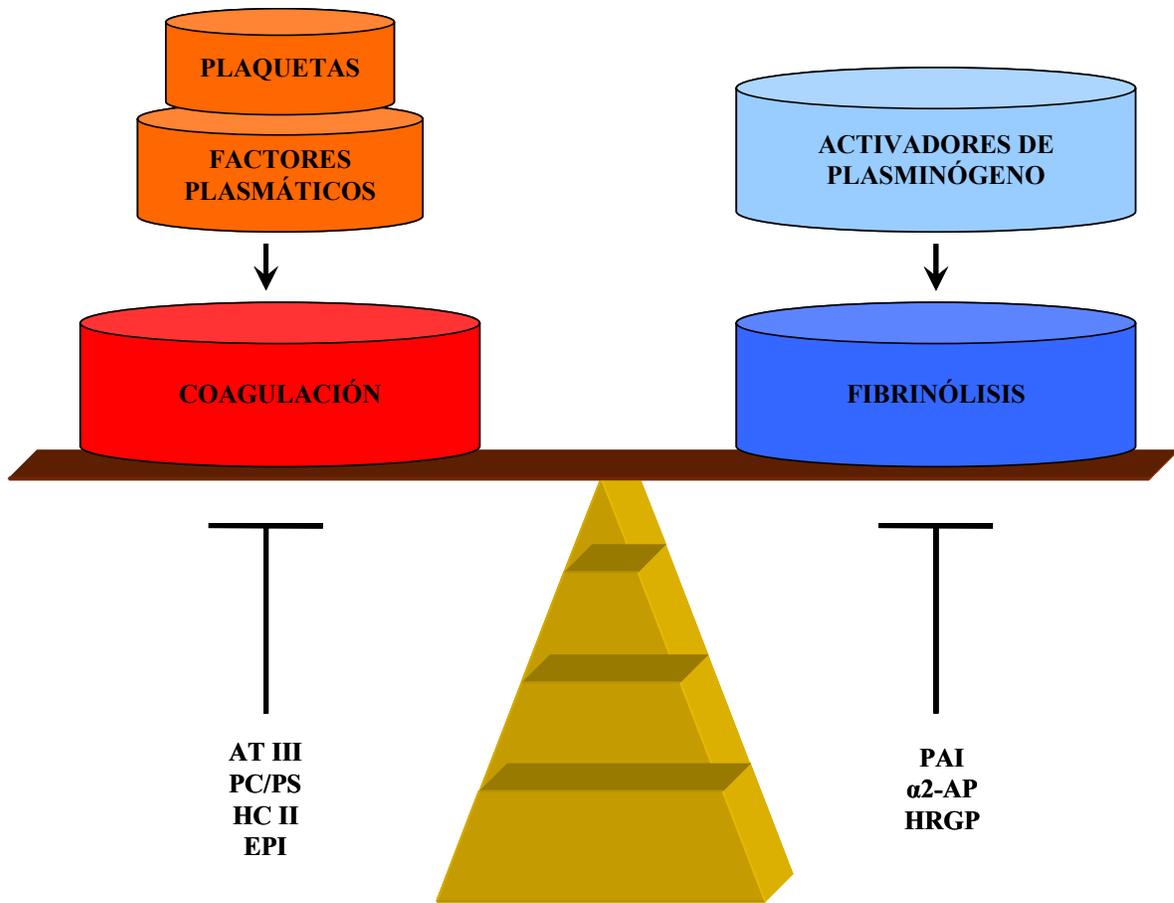


Figura 3. Balance entre los mecanismos procoagulantes y anticoagulantes. (PAI: inhibidor del activador del plasminógeno; HC II: cofactor II de la heparina; HRGP: glucoproteína rica en histidina; EPI: inhibidor de la vía extrínseca; α 2-AP: α 2-antiplasmina). (Ruiz-Argüelles, 1998).

El flujo sanguíneo remueve el exceso de factores y plaquetas activados una vez que el daño ha sido reparado. Se ha demostrado que para que ocurra la formación de un trombo, es necesario que se haya interrumpido el flujo sanguíneo, así como la presencia de sustancias protrombóticas. El plasma sanguíneo contiene inhibidores naturales que interrumpen la actividad de factores hemostáticos y enzimas fibrinolíticas. (Ruiz-Argüelles, 1998). (Consultar Anexo 1).

4.2.1 El sistema de la PC

La PC provee el principal mecanismo de retroalimentación para inhibir la coagulación por medio de la inactivación de factores de coagulación, como el FVa y el FVIIIa, en la presencia de una membrana de fosfolípidos y de sus cofactores, la proteína S (PS) y el FV. (Gale et al., 2004).

Las PC y PS son miembros de la familia de las proteínas dependientes de vitamina K. Las proteínas de coagulación dependientes de la vitamina K que se encuentran en el plasma, poseen un dominio de ácido γ -carboxiglutámico (Gla) en la región N-terminal. La vitamina K se requiere en la carboxilación post-traducciona de los residuos de ácido glutámico para formar el dominio Gla. Los dominios Gla son estructuralmente muy similares en las diferentes proteínas K-dependientes y consisten de aproximadamente 45 residuos de aminoácidos. Los dominios se unen a fosfolípidos cargados negativamente, en la presencia de Ca^{2+} . Esto se debe, en parte, a que sus cadenas laterales hidrofóbicas permanecen expuestas al solvente, anclando la proteína a la membrana. (Pellequer et al., 2000). A pesar de su extensa similitud estructural, los dominios Gla varían mucho en su afinidad para unirse a fosfolípidos de la membrana. (Sun et al., 2003).

El efecto anticoagulante de la proteína C activada (PCa), es potenciado por su cofactor, la PS, ya que por sí sola la PCa interactúa con la membrana de fosfolípidos con una afinidad relativamente baja. (Sun et al., 2003). La PS presenta una alta afinidad por fosfolípidos cargados negativamente y se ha sugerido que forma un complejo de unión a membrana de estequiometría 1:1 con la PCa. La importancia fisiológica de la PS como anticoagulante se ha demostrado por la asociación entre la deficiencia de PS y trombosis. (Shen et al., 1994).

Las membranas fosfolípicas cargadas negativamente juegan un papel importante en la coagulación de la sangre, ya que proveen una superficie adecuada para el ensamblaje de complejos enzima-cofactor, los cuales convierten eficientemente zimógenos circulantes en enzimas activas. (Sun et al., 2003).

El exceso de trombina en los vasos, se une a la Tm formando un complejo que activa a la PC, que circula como zimógeno inactivo. Al unirse la trombina a la Tm endotelial, se convierte en una enzima antihemostática. (Ruiz-Argüelles, 1998).

Se ha sugerido que el efecto principal de la Tm sobre la trombina es prevenir la unión de agentes procoagulantes, al bloquear sus sitios de unión y creando un sitio de unión óptimo para la PC. También se ha demostrado que la Tm compite con el fibrinógeno para la unión a la trombina. (Gale et al., 2004).

Al formarse el complejo Tb-Tm, la PC se une a la PS en la superficie de las plaquetas o del endotelio y así logra inhibir a los factores Va y VIIIa. La activación del sistema de la PC es esencial en la respuesta antihemostática, especialmente en la microcirculación, donde hay una mayor concentración de Tm. (Ruiz-Argüelles, 1998). En la Figura 4 se ilustra el funcionamiento del sistema de la PC.

Una superficie básica extensa en el dominio de serín proteasa de la PC, provee sitios de unión potenciales para las interacciones de la PC y la PCa con otras proteínas. Estos residuos comprenden un sitio de unión extendido para Tm en la superficie de la PC, que se traslapa de manera significativa con el sitio de unión del FVa en la PCa. Dado que el FVa es un sustrato para la PCa, éste se une al sitio activo inmediato de la PCa. El modelo de la PCa unida al FVa por medio del puente Arg 506 en el sitio activo de la PCa demuestra

interacciones extensas del FVa, tanto con la región del sitio activo inmediato como con las regiones de la superficie básica. (Gale et al., 2004).

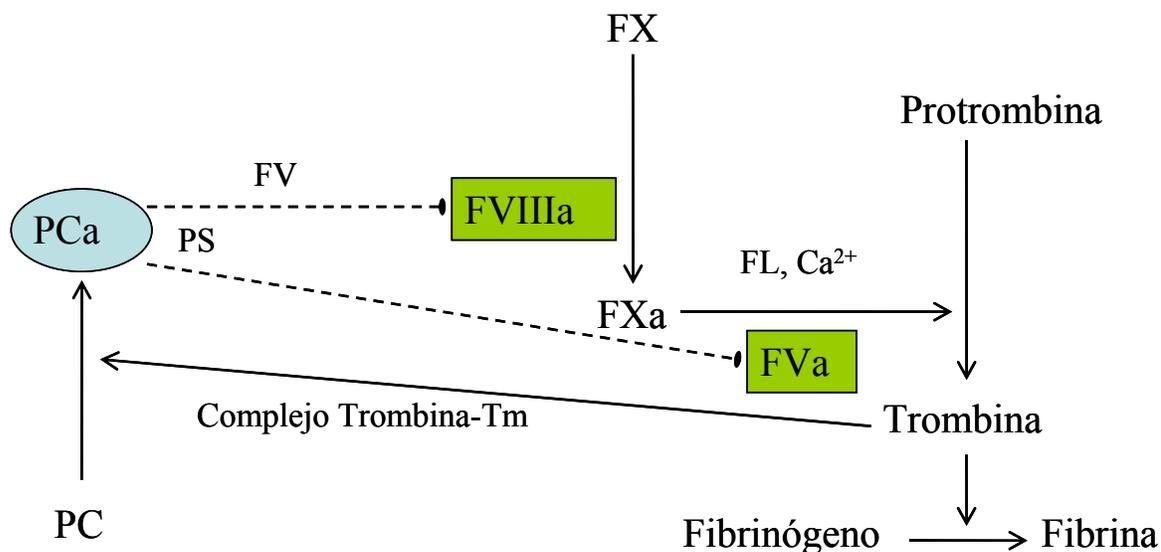


Figura 4. El sistema de la PC. Las flechas continuas indican activación y las punteadas inactivación. (Creación propia).

4.3 Trombofilia

Las anomalías en los mecanismos de regulación de la coagulación tienen como consecuencia enfermedades opuestas que se presentan dependiendo del proceso que se encuentra alterado. Dichas enfermedades son la hemofilia y la trombofilia. El término *hemofilia* se utiliza para designar a un grupo de enfermedades hemorrágicas, donde los mecanismos hemostáticos están alterados, ya sea por causas hereditarias o adquiridas.

La trombosis se define como la presencia patológica de un coágulo sanguíneo (trombo) en un vaso sanguíneo o en el corazón. (Rosendaal, 1999). La formación de trombos se da en sitios dañados en el endotelio de las arterias o en las venas, como resultado de estasis del flujo sanguíneo y exceso de coagulación. (Ruiz-Argüelles, 1998).

La trombosis arterial y la trombosis venosa son consideradas como padecimientos distintos, ya que tienen diferentes mecanismos patogénicos y factores de riesgo. (Rosendaal, 1999). La diferencia entre los trombos arteriales y los venosos radica en que los primeros tienen un mayor contenido de plaquetas y fibrina, mientras que los segundos presentan menos plaquetas y un menor daño endotelial. Los trombos venosos son menos firmes, por lo tanto pueden romperse fácilmente, dando lugar a émbolos que comúnmente causan daños a distancia (tromboembolia venosa). (Ruiz-Argüelles, 1998). En Tabla 1 se mencionan los factores de riesgo trombótico arterial y venoso más comunes.

Tabla 1. Factores de riesgo trombótico arterial y venoso.

<i>Factores de riesgo trombótico arterial</i>	<i>Factores de riesgo trombótico venoso</i>
Sexo masculino	Hipercoagulabilidad sanguínea
Historia familiar	
Hiperlipidemia	
Hipertensión arterial	
Diabetes mellitus	
Hiperuricemia	
Eritrocitosis	
Tabaquismo	
Trastornos electrocardiográficos	
Incremento en las concentraciones de FVII y fibrinógeno	

(Ruiz-Argüelles, 1998).

En 1965 Egeberg utilizó el término *trombofilia* para referirse a una enfermedad asociada con trombosis venosa, en particular a la deficiencia familiar de AT-III. Desde entonces, el término se emplea para nombrar padecimientos donde existe un mayor riesgo de trombosis, tanto venosa como arterial.

“Trombofilia es un término correcto que incluye varias entidades que se han descrito como situaciones de hipercoagulabilidad o estados pretrombóticos. Los padecimientos trombóticos son responsables de más de la mitad de los fallecimientos de los miembros de sociedades bien desarrolladas”. (Ruiz-Argüelles, 1998).

La trombosis es una enfermedad compleja y episódica, siendo comunes las recurrencias. La incidencia anual estimada de tromboembolismo venoso en individuos menores a 40 años, es de 1 en 10,000, y en aquellos mayores de 75 años es de 1 en 100. (Nicolaes et al, 2002).

En los últimos años, se ha comprendido que la trombosis venosa es multigénica y que la patogénesis comúnmente incluye varios factores hereditarios. Además, los factores adquiridos y ambientales modulan el riesgo de trombosis y generalmente están involucrados en la patogénesis de la enfermedad. (Nicolaes et al, 2002).

Así, se cree que la trombosis se desarrolla cuando se rebasa cierto umbral, como resultado de las interacciones entre distintos factores de riesgo, con la combinación total de riesgos excediendo la suma de sus contribuciones individuales. Por encima de este umbral, los sistemas anticoagulantes naturales son insuficientes para balancear las fuerzas procoagulantes, dando como resultado el desarrollo de una enfermedad trombótica. (Rosendaal, 1999). Este desequilibrio se ve reflejado de diferentes formas.

Puede presentarse hipercoagulabilidad debida a:

- Aumento de número y/o función de las plaquetas
- Incremento en los niveles de los factores procoagulantes
- Disminución en la actividad de los inhibidores fisiológicos de la coagulación (por su ausencia o activación disminuida).

También puede ocurrir hipofibrinólisis por:

- Disminución de la activación del plasminógeno
- Incremento en los inhibidores de la fibrinólisis
- Capacidad disminuida de lisis del coágulo de fibrina.

Cuando hablamos de trombofilia primaria nos referimos a aquella que es heredada, es decir, se presentan anomalías genéticas en estos individuos, mientras que en la trombofilia secundaria no hay un papel genético, sino que se debe a causas adquiridas.

Algunos de los factores de riesgo conocidos hasta el momento para trombofilia primaria se encuentran las variantes de los alelos de los genes que codifican para la PC, la PS, AT-III, fibrinógeno, HRGP, plasminógeno, PAI, HCII, Tm y protrombina (Poort et al., 1996).

Los factores de riesgo adquiridos incluyen desde inmovilizaciones prolongadas, cirugías, enfermedades malignas, traumatismos, el uso de anticonceptivos orales y embarazo/puerperio, hasta la presencia de anticuerpos antifosfolípidos. Historias personales de trombosis, así como edad avanzada, también han sido reconocidas como factores de riesgo para trombosis venosa. (Bertina, 2001). En la Tabla 2 se muestran estos factores de riesgo.

Tabla 2. Factores de riesgo para la trombofilia.

<i>Anormalidades</i>	<i>Mecanismos</i>
HEREDITARIAS	
1. Resistencia a la PCa (RPCa)	Falla de inhibición proteolítica de FVa
2. Deficiencia de PC o PS	Falla de inhibición proteolítica de FVa y FVIIa
3. Deficiencia de AT-III	Neutralización inadecuada de proteasas (trombina, FIXa, FXa)
4. Homocistinuria	Daño endotelial
5. Disfibrinogemias	Neutralización inadecuada de trombina
6. Displasminogenemia	Producción insuficiente de plasmina
ADQUIRIDAS	
1. Cirugía, traumatismo	Varios factores de riesgo puerperio
2. Cáncer	Exposición de la sangre a células tumorales o sus productos tromboplásticos
3. Padecimientos hematológicos malignos	

(Ruiz-Argüelles, 1998).

Se ha determinado que la incidencia de trombofilia primaria en poblaciones caucásicas se debe a diversas causas, las cuales se muestran en la Tabla 3.

En la Figura 5 se ilustra la participación de la PC, la PS y la AT-III en la inhibición de la coagulación.

Tabla 3. Causas de trombofilia primaria en poblaciones caucásicas.

<i>Causa</i>	<i>Frecuencia (%)</i>
RPCa	20-60
Deficiencia de PC	5-6
Deficiencia de PS	5-6
Deficiencia de AT-III	1-2
Otras (deficiencia de HCII, disfibrinogemia, deficiencia de plasminógeno, deficiencia de activador tisular del plasminógeno, así como exceso de actividad PAI, homocisteinemia, etc.)	Menor a 2

(Ruiz-Argüelles, 1999).

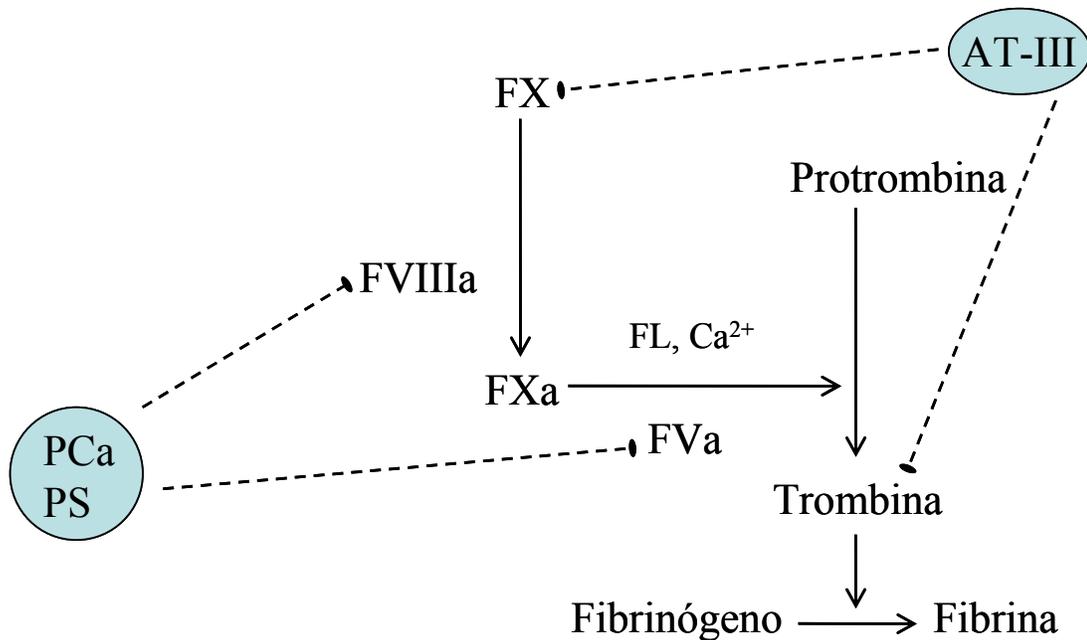


Figura 5. Participación de la PC, la PS y la AT-III en la inhibición de la coagulación. Las flechas contínuas indican activación y las punteadas inactivación. (Creación propia).

4.3.1 Deficiencia heredada de PC

El gen que codifica para la síntesis de la PC se encuentra en el cromosoma 2. La deficiencia heredada de PC presenta transmisión autosómica dominante, aunque no todos los heterocigotos presentan episodios de obstrucción de vasos sin causas externas, como el uso de anticonceptivos, embarazo, infecciones graves, lupus eritematoso, quimioterapias, etc. Sin embargo, en estos casos sí hay un incremento de riesgo para padecer trombosis venosa. (Gale et al., 2004).

Los pacientes homocigotos para la deficiencia de PC, desarrollan coagulación intravascular diseminada en el período neonatal. Este síndrome es fatal si no hay tratamiento. (Koeleman et al., 1994).

El riesgo para padecer trombosis varía entre familias con deficiencia de PC. Es poco probable que esta diferencia en el riesgo trombótico, se deba a diferencias en el defecto del gen de la PC, ya que los niveles de PC en el plasma son idénticos en familias con deficiencia de PC recesiva y dominante.

Además, mutaciones idénticas en el gen de la PC han sido encontradas en familias clínicamente recesivas (homocigotos) y clínicamente dominantes (heterocigotos). Por lo tanto, la trombofilia en familias clínicamente dominantes, probablemente sea causada por la acción combinada de la heterocigosidad en la deficiencia de PC y factores de riesgo adicionales. Debido al carácter familiar que tiene la trombofilia, es posible considerar que los factores de riesgo adicionales son también genéticos. (Koeleman et al., 1994).

4.3.2 Deficiencia heredada de PS

Este tipo de padecimiento presenta una transmisión de carácter autosómico codominante y se presenta con menor frecuencia que la deficiencia heredada de PC. Esta condición esta presente en el 2 al 5% de los pacientes con trombofilia primaria.

4.3.3 Deficiencia heredada de AT-III

Su transmisión es de carácter autosómico dominante. En los heterocigotos las concentraciones de AT-III son menores al 50% y aproximadamente el 50% de los pacientes presentan un episodio trombótico. Los homocigotos para esta deficiencia no se pueden desarrollar.

4.4 Resistencia a la proteína C activada

La ruta de la PC es un mecanismo anticoagulante muy importante, que regula los complejos de activación de la protrombina y del FX, inactivando sus respectivos cofactores (FVa y FVIIIa). La inactivación de estos cofactores ocurre por una proteólisis en los aminoácidos 306, 506 y 679 en el FVa y en los sitios 336, 562 y 740 del FVIIIa. Estas reacciones son catalizadas por la PCa con ayuda de su cofactor, la PS. (Castoldi et al., 2004).

En 1993, en Suiza, Dahlbäck y colaboradores encontraron que los plasmas sanguíneos de un grupo de pacientes, con historias familiares de enfermedades tromboembólicas, mostraban una respuesta anticoagulante reducida al añadir PCa. Debido a la resistencia parcial o total hacia la PCa, lo nombraron fenotipo de resistencia a la proteína C activada y demostraron su naturaleza hereditaria. (Dahlbäck et al., 1995).

La RPCa ha sido reconocida como la causa más importante de trombosis venosa, presente en un 20 a 60% de pacientes con tromboembolismo venoso. En los primeros estudios, parecía que los individuos resistentes a la PCa carecían de un cofactor esencial de la PCa, y posteriormente se sugirió que este cofactor podía ser el FV. La evidencia que apoyaba esta hipótesis se obtuvo al observar la corrección de este fenotipo al añadir FV.

Con base en estos estudios, se propuso que el FV actúa como un cofactor en la prolongación de tiempos de coagulación catalizados por la PCa en el plasma. (Dahlbäck et al., 1994).

La función anticoagulante del FV se caracterizó en 1994, cuando se demostró que el FV intacto posee el potencial para funcionar sinérgicamente con la PS como un cofactor para la PCa, en la inactivación del FVIIIa. (Shen et al., 1994). De este modo, el FV, la PS y la PCa regulan la actividad del complejo asociado a membrana, formado por el FIXa y el FVIIIa, el cual activa eficientemente al FX. (Nicolaes et al., 2002).

Los antecedentes genéticos del fenotipo de RPCa también se demostraron en 1994. Se encontró que un polimorfismo en el gen del FV (FV Leiden, Arg506Gln) estaba asociado con RPCa. (Zoller et al., 1994).

Los factores genéticos responsables del fenotipo de RPCa asociados con el FV se describirán más adelante.

4.5 Factor V

Históricamente, los estudios enfocados en el FV de coagulación describían exclusivamente tendencias hemorrágicas como resultado de una deficiencia de esta proteína procoagulante.

De hecho, el descubrimiento del FV por el noruego Paul Owren en 1947, estuvo basado en la identificación de un paciente con una tendencia hemorrágica severa, debida a una deficiencia de un factor de coagulación previamente desconocido.

En los últimos años, a partir del descubrimiento de la RPCa, se ha incrementado el interés científico en el FV, dándole más importancia al papel que juega en problemas trombóticos en vez de hemorrágicos. (Dahlbäck et al., 1993).

4.5.1 Biosíntesis y estructura

El FV es una glicoproteína grande de cadena sencilla de aproximadamente 330 kDa. Su concentración en el plasma es alrededor de 20 nmol/L (7 mg/L). Además de circular libremente en el plasma, el FV constituye el 25% del contenido total de los gránulos α de las plaquetas, que son organelos que propician la interacción entre plaquetas a través de la liberación de su contenido. (Nicolaes et al., 2002).

Durante la coagulación, las plaquetas activadas secretan el FV, aunque hasta el momento no se sabe si las plaquetas son capaces de producir el FV o si lo toman del medio circulante. También se ha reportado que varios tipos celulares sintetizan FV, pero se considera que el hígado es el sitio principal de biosíntesis, donde el FV humano es sintetizado como una molécula de cadena sencilla, sufriendo extensas modificaciones post-traduccionales antes de ser secretado a la sangre. (Nicolaes et al., 2002).

El gen del FV está localizado en el cromosoma 1q23 y abarca más de 80 kilobases (kb) y contiene 25 exones. El cDNA aislado tiene una longitud de 6672 pares de bases (pb) y codifica una preproteína de 2224 aminoácidos, incluyendo un péptido señal con una longitud de 28 residuos de aminoácidos. (Nicolaes et al., 2002).

El FV tiene una estructura tipo mosaico, con una organización que consta de 6 dominios (A1-A2-B-A3-C1-C2) y es similar a la del FVIII, que es otra proteína esencial para la coagulación. Las secuencias de los dominios A y C de ambos factores son similares en un 40%. Los dominios A presentan un arreglo triangular, y los dominios C se encuentran ligados al A3. (Nicolaes et al., 2002).

La molécula de FV contiene 19 cisteínas, de las cuales 14 están involucradas en la formación de puentes disulfuro. Estos puentes forman tres bucles α , dos bucles β , y dos bucles γ en la proteína, todos ellos provenientes de regiones altamente conservadas. Los tres bucles α , casi idénticos, están formados por 26 aminoácidos, y se encuentra uno en cada dominio A. (Le et al., 2000).

A continuación se describe la función ambivalente que desempeña el FV en la ruta de coagulación.

4.5.2 Actividad procoagulante del FV

El complejo de la protrombinasa está formado por el FXa y FVa, que en presencia de iones de calcio se ensamblan en membranas de fosfolípidos cargadas negativamente y cuya función es la conversión de protrombina en trombina. La participación del FVa como cofactor en el complejo de la protrombinasa, incrementa trescientas mil veces la tasa de generación de trombina, comparado con el FXa actuando solo. (Adams,et.al., 2004).

El FVa se une fuertemente a la membrana de las plaquetas y actúa como un pegamento, ya que incrementa en gran medida la afinidad del FXa por la membrana y aumenta la eficiencia de la transformación de protrombina en trombina. (Adams,et.al., 2004). Los datos obtenidos hasta el momento, indican que la unión del FVa y/o el FXa a la bicapa

lipídica, provoca cambios conformacionales en una o en ambas proteínas, lo cual favorece a la interacción y formación del complejo de la protrombinasa, ya que se logran exponer múltiples puntos de contacto entre ambos factores (Singh et.al., 2003).

El FV que circula en el plasma es un procofactor inactivo, expresando menos del 1% de la actividad procoagulante máxima que puede obtener al ser activado por el FXa. Un incremento en la actividad del FV como cofactor del FXa, está asociado con la proteólisis limitada de varios enlaces peptídicos en el FV, mediada por enzimas procoagulantes como la trombina y el FXa. (Nicolaes et al., 2002).

Como resultado, el dominio B se disocia del FVa, el cual está formado por una cadena pesada (A1-A2) y una ligera (A3-C1-C2), que se asocian de manera no covalente. El dominio C2 es indispensable para la interacción de la molécula con la membrana de fosfolípidos. Así, es posible que el dominio A3 juegue también un papel en la interacción con la membrana. (Nicolaes et al, 2002). Este mecanismo se muestra en la Figura 6.

La regulación río abajo de la actividad procoagulante del FVa es lograda por la proteólisis del FVa mediada por la PCa en las posiciones Arg 306, Arg 506 y Arg 679. Los cortes en estos sitios están bajo estricto control cinético, donde la proteólisis de la Arg 506 es favorecida a bajas concentraciones tanto de PCa como de FVa. Sin embargo, este rompimiento da como resultado una inactivación parcial del FVa, siendo necesario el corte en la Arg 306 para lograr una inactivación completa. El tercer corte, en la Arg 679, es de menor importancia en la inactivación del FVa. (Nicolaes et al., 2002).

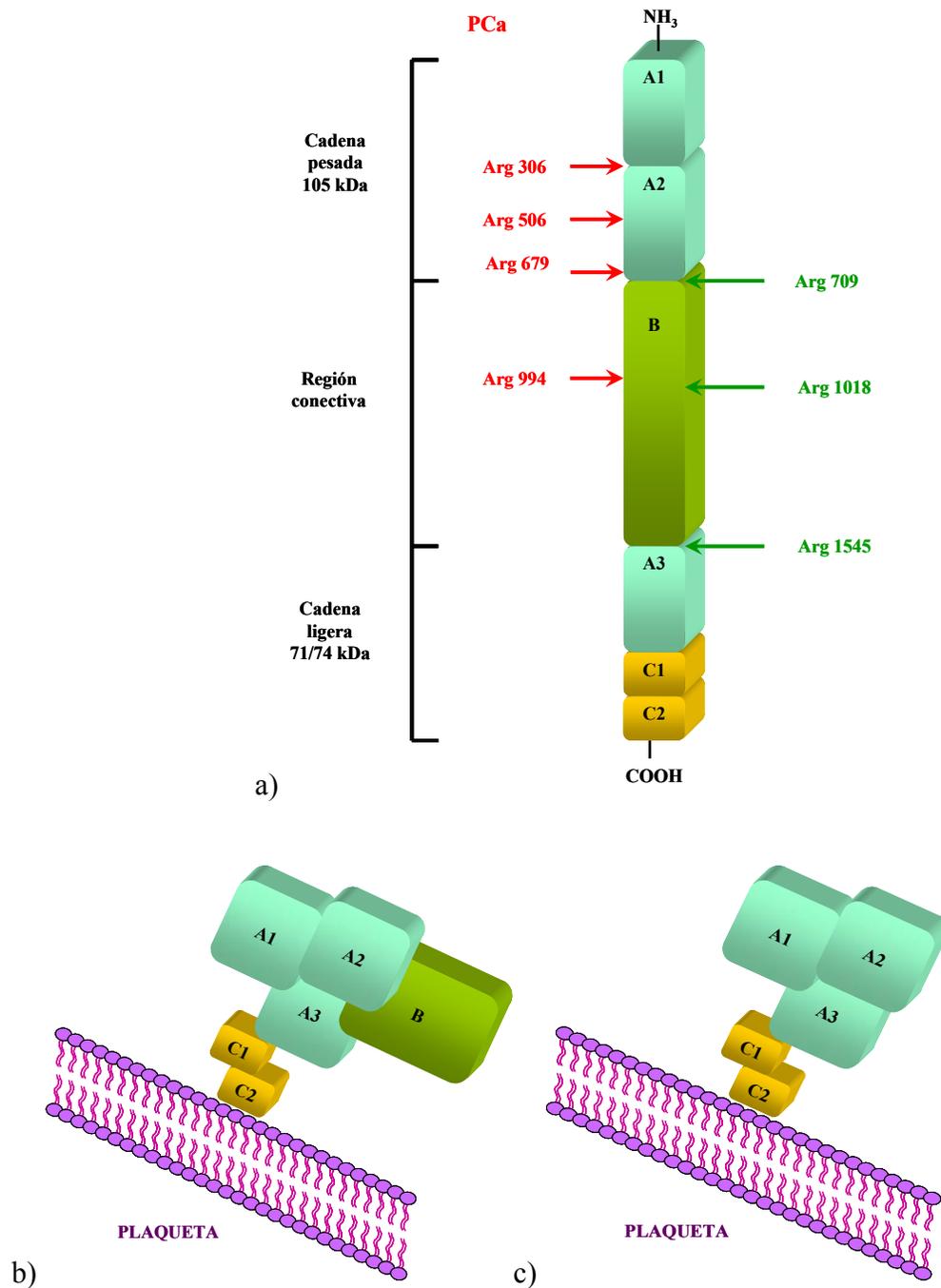


Figura 6. Modelos esquemáticos del FV. a) Las flechas verdes de la derecha muestran los sitios de corte para liberar el dominio B (Arg 709, Arg 1018 y Arg 1545) y lograr la activación del FV. Las flechas rojas de la izquierda indican los sitios de corte para la PCa en el FV ó FVa (Arg 306, Arg 506, Arg 679 y Arg 994). b) FV inactivo. c) FV activado (FVa). (Creación propia).

La inactivación del FVa se ve aumentada por la PS, la cual como ya mencionamos, funciona como cofactor de la PCa y tiene gran afinidad por membranas de fosfolípidos cargadas negativamente. A pesar de esto, los cortes proteolíticos en el FVa difieren en su dependencia de la PS. La PS no afecta la tasa de rompimiento del sitio Arg 506, mientras que la adición de PS a sistemas con proteínas coagulantes purificadas, incrementó 20 veces la tasa de rompimiento del sitio Arg 306. (Rosing et al., 1995). Esto indica la importancia de la PS como cofactor en la regulación de la actividad procoagulante del FVa.

Las deficiencias de PS y PC son reconocidas como factores de riesgo en trombosis venosa, demostrando la importancia de una regulación cuidadosa de las actividades del FV y del FVIII en vivo. (Lane et al., 1996). Hasta el momento, se han identificado algunas mutaciones en el gen del FV asociadas a la RPCa. Estas mutaciones pueden causar resistencia, ya sea porque reducen la susceptibilidad del FVa a ser inactivado por la PCa o porque interfiere con la actividad anticoagulante del FV como cofactor de la PCa en la inactivación del FVIIIa. (Castoldi et al., 2004).

4.5.3 Actividad anticoagulante del FV

Cuando se reportó que el FV Leiden era un cofactor ineficiente de la PCa en la inactivación del FVIIIa, se propuso que esta actividad reducida como cofactor podría contribuir al fenotipo de RPCa asociada al FV Leiden. Castoldi y colaboradores demostraron que el FV juega un papel crucial en la inactivación del FVIIIa mediada por la PCa en el plasma, y la actividad anticoagulante del FV se pierde en el FV Leiden. También demostraron que aunque la susceptibilidad reducida del FVa Leiden a ser hidrolizado por la PCa sigue siendo un factor determinante para la RPCa, la falta de actividad del FV Leiden como cofactor en la inactivación del FVIIIa es aún más importante. Esto se debe a que a bajas

concentraciones de FV, la actividad procoagulante es la que predomina. Al incrementar la concentración de FV, aumenta la generación de trombina; sin embargo, al alcanzarse un 60% de FV en el plasma, su actividad procoagulante se satura y cualquier incremento posterior en la concentración, da como resultado un incremento en la actividad anticoagulante, y como consecuencia un decremento en la generación de trombina. (Castoldi et al., 2004).

Esta interpretación está sustentada por experimentos hechos con el FV Leiden, donde no hubo inhibición de la generación de trombina en la presencia de PCa en concentraciones altas de FV, lo cual confirma que el FV Leiden no presenta actividad anticoagulante. El riesgo trombótico más elevado que presentan los individuos homocigotos, en comparación con los heterocigotos, no se debe a que todo el FV está mutado, sino a la ausencia de FV normal capaz de expresar actividad anticoagulante. (Castoldi et al., 2004).

Se ha confirmado que la activación procoagulante completa del FV (cortes en Arg 709, Arg 1018 y Arg 1545 asociados con la liberación del dominio B) resulta en una pérdida de la actividad anticoagulante del FV como cofactor de la PCa, sugiriendo la participación del dominio B en esta función. Esto último se ha comprobado en estudios con variantes del FV recombinante, que demuestran que la parte C-terminal del dominio B (los últimos 70 aminoácidos) son esenciales para la actividad anticoagulante del FV. (Thorelli et al., 1998).

El rompimiento mediado por la PCa del FV intacto en el aminoácido Arg 506, también está involucrado en la generación del FV anticoagulante, esto se demostró con variantes recombinantes de FV, con lo cual se comprobó que los rompimientos en la Arg 306 y Arg 679 no tienen efecto sobre la actividad anticoagulante del FV. (Thorelli et al., 1999). Esto

explica la función reducida como cofactor del FV Leiden ya que no puede ser cortado en la Arg 506.

Estos datos indican que existe un balance delicado entre las propiedades procoagulantes y anticoagulantes del FV, donde la activación da como resultado una proteína procoagulante y la proteólisis del FV intacto, catalizada por la PCa, genera una proteína anticoagulante. Con base en lo anterior, se propuso una ruta dual que determina el destino del FV en la coagulación sanguínea. En esta ruta, las concentraciones locales y la disponibilidad de enzimas procoagulantes y anticoagulantes, como la trombina, FXa y PCa, determinan el destino de cada molécula de FV. De esta manera, el FV actúa como un sensor local de las fuerzas procoagulantes y anticoagulantes. (Nicolaes et al., 2002).

En dicha ruta, el precursor inactivo del FV está sujeto a una proteólisis limitada por enzimas, tanto procoagulantes como anticoagulantes, dependiendo de las concentraciones locales de las proteasas efectoras. El rompimiento del FV intacto en la Arg 506 dirige la molécula a una dirección anticoagulante (FVac). Esta molécula puede proceder en dos direcciones: la ruta semi-procoagulante, por medio de los rompimientos Arg 709, Arg 1018 y Arg 1545, dando lugar a una molécula (FVa_{int}) que todavía posee actividad limitada como cofactor en la activación de la protrombina; o sufre un rompimiento posterior en la Arg 306, lo cual elimina su potencial procoagulante (FVi). El corte en la Arg 1545 es muy importante, ya que al romperse, se pierde toda actividad anticoagulante como cofactor de la PCa. (Nicolaes et al., 2002).

Por otra parte, el FV se activa directamente a un cofactor procoagulante (FVa) por los rompimientos en la Arg 709, Arg 1018 y Arg 1545, para liberar el dominio B (indispensable para la actividad anticoagulante del FV).

El control de la actividad procoagulante del FVa se logra por la proteólisis por la PCa; el rompimiento en la Arg 506 resulta en una inactivación parcial de la molécula, cuya actividad es completamente anulada por el rompimiento subsecuente en la Arg 306.

La actividad del FVa también puede ser regulada directamente por medio de un rompimiento inicial de la Arg 306. (Nicolaes et al., 2002). Estos mecanismos los mostramos en la Figura 7.

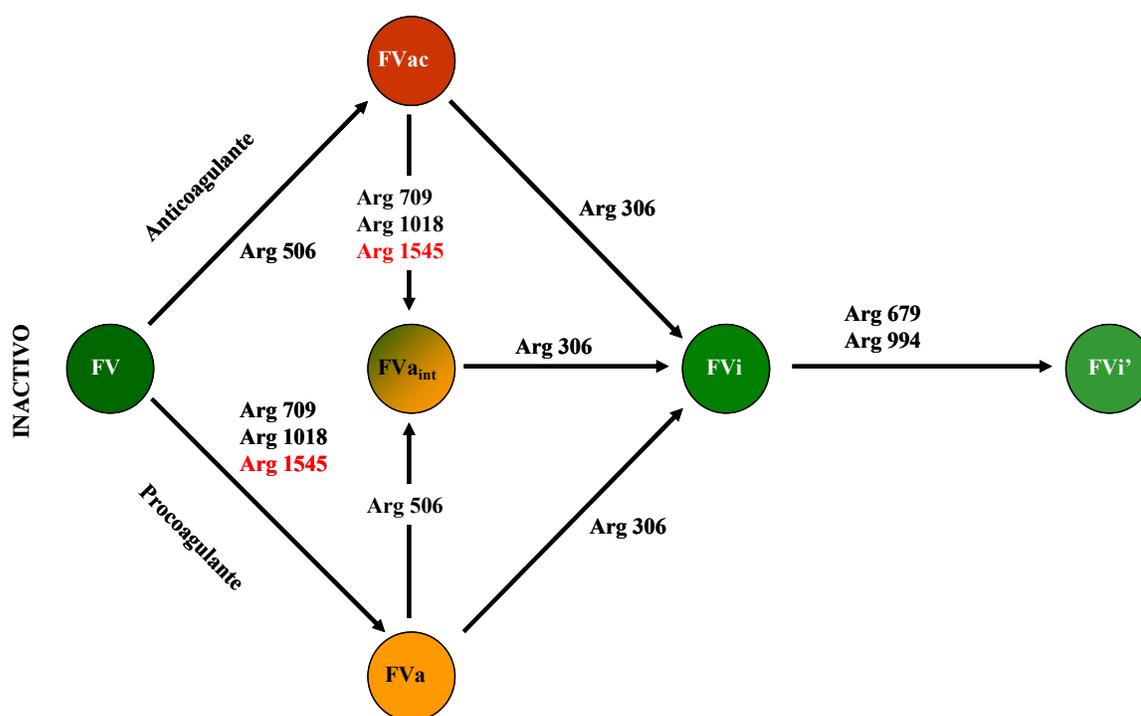


Figura 7. Esquema de la ruta dual del FV. Cortes posteriores en el FVi en las posiciones Arg 679 y/o Arg 994 dan lugar al FVi' sin afectar la actividad de la molécula como cofactor.

En 1993, se reportó que la sangre humana y las plaquetas contienen dos formas de FV (FV₁ y FV₂), las cuales difieren en sus pesos moleculares y afinidades por membranas de fosfolípidos. Las propiedades de unión a membrana de las dos formas, afectan sus actividades como cofactor tanto procoagulantes como anticoagulantes.

En sistemas modelo imitando condiciones fisiológicas, FV₁ parece ser la forma más trombogénica, siendo la generación de trombina siete veces mayor en comparación con la forma FV₂. Recientemente, se demostró que la diferencia molecular de las dos formas, reside en la glicosilación parcial del aminoácido Asn 2181. A diferencia del FV₂, el FV₁ contiene un carbohidrato en este residuo. (Nicolaes et al., 2002).

4.6 Factores genéticos responsables de RPCa

4.6.1 FV Leiden

Existe una correlación significativa entre la RPCa y una mutación puntual en el gen del FV, lo cual establece la importancia de cualquier anomalía en el FV. (Nicolaes et al, 2002). En la posición 1691 del gen (exón 10), una mutación sin sentido, donde una guanina es reemplazada por una adenina, resultó en el cambio de la arginina en la posición 506 de la proteína por una glutamina (Arg506Gln), dando lugar al genotipo conocido como FV Leiden.

Esta mutación tiene una ocurrencia muy alta en la raza caucásica, con frecuencias en la población general de un 2 al 15% y hasta un 60% en pacientes seleccionados con tromboembolismo venoso. Esta prevalencia fue diez veces mayor que la suma de las frecuencias de todas las causas hereditarias de trombofilia conocidas hasta ese momento. (Nicolaes et al., 2002).

A la fecha, la mutación Leiden es el factor de riesgo genético más común para trombosis. Notablemente, la variación en la frecuencia alélica para FV Leiden es muy extensa, presentándose exclusivamente en poblaciones de origen caucásico. (Nicolaes et al., 2002).

Debido a que todos los alelos FV Leiden tienen el mismo haplotipo, se puede concluir que la mutación ocurrió sólo una vez y que se ha involucrado un efecto fundador. La edad estimada de la mutación es de alrededor de 30,000 años (Nicolaes et al., 2002), es decir, ocurrió después de que el hombre migró de África hace aproximadamente 100,000 años.

Puesto que la mutación Leiden afecta uno de los sitios principales para la inactivación del FVa catalizada por la PCa, se podría asumir que el único resultado sería un incremento en el riesgo de trombosis, ya que no se tiene una regulación eficiente de la actividad del FVa como cofactor del FXa en el complejo de la protrombinasa. Sin embargo, este no es el único mecanismo molecular involucrado, ya que también se pierde la función del FVa como cofactor de la PCa en la inactivación del FVIIIa. (Nicolaes et al., 2002).

Por lo tanto, el FV se comporta como una proteína ambivalente. Por una parte, en su forma activa tiene funciones esenciales en las rutas procoagulantes, sin las cuales pueden ocurrir tendencias hemorrágicas severas. Por otro lado, el precursor no activado del factor, al circular en el plasma, posee propiedades anticoagulantes funcionando como un cofactor de la PCa en la regulación de la actividad del FVIIIa. La incapacidad para expresar esta función anticoagulante puede llevar a trombosis. (Nicolaes et al, 2002).

Los episodios tromboembólicos asociados con FV Leiden son casi exclusivamente de naturaleza venosa. Aunque algunos casos reportan asociación del FV Leiden a trombosis arterial, son raros y probablemente son debido a otros factores patogénicos sin reconocer.

Un gran número de estudios han estimado que el riesgo de incremento de trombosis venosa para los portadores de la mutación Leiden es de 5 a 7 veces para individuos heterocigotos y de 80 veces para homocigotos. (Nicolaes et al, 2002). Enseguida, en la Tabla 4, presentamos el riesgo relativo de estos factores de riesgo.

Tabla 4. Prevalencia y riesgo relativo de los factores de riesgo.

<i>Factor de riesgo</i>	<i>Prevalencia en la población %</i>	<i>Pacientes con trombosis %</i>	<i>Riesgo relativo</i>
FV Leiden	2 - 15	20	6.6*
Deficiencia de PS	0.03 - 0.13	1 – 2	0.7
Deficiencia de PC	0.2 - 0.4	3	6.5
Deficiencia de AT-III	0.02	1	5.0
Protrombina (PT) 20210A	2	6	2.8
Niveles elevados de FVIII	11	25	4.8

(*)Riesgo para portadores heterocigotos, el riesgo para homocigotos es aproximadamente 80 veces mayor. (Nicolaes, 2002).

La severidad y localización de trombosis en portadores de FV Leiden son muy diversas. Los lugares más comunes donde se presentan los trombos son en las venas de las piernas, siendo menos frecuentes los casos en vena portal, venas superficiales y cerebrales. Sin embargo, parece no haber asociación entre FV Leiden y embolismo primario pulmonario o trombosis de vena retinal. (Nicolaes et al., 2002).

Se ha sugerido que la mutación FV Leiden es una mutación de ganancia de función, conservándose los niveles y funciones del FV, lo cual la distingue de las mutaciones denominadas pérdida de función, que se observan en las deficiencias de PC o PS.

(Rosendaal, 1999). Sin embargo, tomando en cuenta la pérdida de actividad como cofactor de la PCa del FV Leiden, se puede argumentar que esta mutación induce una deficiencia en cuanto a las propiedades anticoagulantes del FV. (Nicolaes et al., 2002).

La alta prevalencia de FV Leiden en la población blanca, relacionada con la relativamente baja incidencia de tromboembolismo venoso, sugiere que la mutación provee un incremento moderado en el riesgo de trombosis por si misma. Dada la alta frecuencia de FV Leiden en la población, las combinaciones con otros factores de riesgo heredados o adquiridos son relativamente comunes. (Nicolaes et al, 2002).

Debido a que los factores de riesgo parecen incrementar sinérgicamente el riesgo de trombosis, muchos pacientes con trombosis están afectados por más de un factor de riesgo. Por ejemplo, la prevalencia del polimorfismo G20210A en la región 3' no traducida del gen de la protrombina (PT) es aproximadamente de 2% en la población general, sugiriendo que mutaciones dobles están presentes en el rango de 0.1 a 0.3% en individuos blancos. (Nicolaes et al., 2002).

La naturaleza multigenética de la trombosis, involucrando al FV Leiden como factor de riesgo, se demostró por la alta prevalencia de FV Leiden en familias trombofílicas que presentaban simultáneamente deficiencia de AT-III, PC, PS o la mutación PT G20210A (25%, 19%, 38% y 10%, respectivamente). Ya que estas prevalencias son mucho mayores que aquellas en la población general, se puede concluir que FV Leiden está involucrado en el desarrollo de trombosis en estas familias. También se ha observado que en familias afectadas por múltiples factores de riesgo genéticos, los individuos que presentan dos o más

defectos genéticos sufren de eventos trombóticos con mayor frecuencia y más temprano en su vida que aquellos con defectos únicos. (Nicolaes et al., 2002).

Uno de los factores de riesgo adquirido más comunes, asociados con FV Leiden, es probablemente el uso de anticonceptivos orales. Se estima que alrededor del 40% de las mujeres fértiles en Suecia y Noruega usan anticonceptivos orales. Esto sugiere que muchas mujeres fértiles portan por lo menos dos factores de riesgo de trombosis. (Nicolaes et al, 2002).

4.6.2 FV Cambridge y FV Hong Kong

Además del FV Leiden, se han descrito diversas variantes alélicas del gen del FV. Dos variantes particularmente interesantes se encontraron en pacientes con trombosis, FV Arg306Thr (FV Cambridge) (Williamson et al, 1998) y FV Arg306Gly (FV Hong Kong) (Chan et al, 1998). Ambas mutaciones resultan en la pérdida del sitio de corte de la PCa Arg306, el cual es un sitio de rompimiento importante para la pérdida completa de actividad en FVa. FV Cambridge se identificó en un individuo con RPCa sin explicación, y al parecer es extremadamente rara. En contraste, FV Hong Kong es común en ciertas poblaciones chinas, pero no parece ser factor de riesgo para trombosis. Además, FV Hong Kong no se reporta asociada con RPCa. (Nicolaes et al., 2002).

De acuerdo a la evidencia, se sospecharía que la pérdida de sitio de corte Arg306 sería un factor de riesgo para trombosis y posiblemente también generar RPCa. Asimismo, se esperaría que el reemplazo de la Arg306, por una glicina y una treonina, tendría esencialmente el mismo efecto sobre la degradación del FVa. Recientemente, FV Cambridge y FV Hong Kong se han recreado in vitro con técnicas de ADN recombinante.

En las pruebas que se hicieron no hubo diferencia apreciable entre las dos variantes de FV, pues ambos fenotipos presentaron respuestas intermedias a la PCa entre FV normal y FV Leiden. A pesar de que un sitio de corte importante para la PCa se pierde en estas mutaciones, todavía no se sabe si estas variantes de FV son factores de riesgo importantes para trombosis venosa. (Norstrom et al., 2002).

4.6.3 FV Liverpool

Existe otra mutación del gen del FV que está asociada con trombosis, FV Liverpool, Ile359Thr. El FV Liverpool expresa una cadena adicional de carbohidratos. En un estudio de degradación de FVa por parte de la PCa, la presencia de esta mutación redujo significativamente el rompimiento en la Arg 306 en presencia y ausencia de PS, mientras que el rompimiento en la Arg 506 no se vio afectado. En un estudio de degradación de FVIIIa, esta variante exhibió una actividad reducida como cofactor de la PCa, al igual que FV Leiden. Por lo tanto, esta mutación afecta la vía anticoagulante por medio de dos mecanismos: impide la regulación río abajo del FVa por la PCa, y por otro lado no es eficiente como cofactor de la PCa en la regulación del FVIIIa. (Steen et al., 2004).

4.6.4 FV HR2

Recientemente, algunos investigadores han asociado el llamado alelo R2 (FV HR2) con un riesgo ligeramente incrementado de trombosis venosa. Este alelo está caracterizado por varias mutaciones ligadas (sin sentido y silenciosas) que dan lugar a trece polimorfismos a lo largo del gen del FV. Seis de estos cambios de bases causan el cambio de un aminoácido por otro en el FV y dan lugar a modificaciones funcionales en la proteína. Estas mutaciones

se encuentran en los exones 13, 16 y 25, los cuales codifican para los dominios B, A3 y C2, respectivamente. (Castaman et al., 2003).

El alelo R2 está asociado con una pequeña disminución en los niveles de FV circulante que, en combinación con FV Leiden, puede aumentar el fenotipo de RPCa e incrementar el riesgo de trombosis. (Nicolaes et al., 2002).

Además, el FV HR2 tiene actividad disminuida como cofactor en la degradación del FVIIIa mediada por la PCa. Asimismo, el plasma de los portadores del alelo R2 parece contener una mayor cantidad de FV₁, la cual es aparentemente más trombogénica que FV₂. Este haplotipo tiene una frecuencia alélica del 5 al 17% en poblaciones asiáticas, europeas y africanas, y se presenta con una incidencia de hasta un 50% en tribus indígenas en Costa Rica. (Castaman et al., 2003).

Sin embargo, se siguen presentando resultados contrastantes en cuanto a su papel en el riesgo de trombosis venosa.

4.6.5 Otras situaciones que influyen la RPCa

Otras condiciones relacionadas con el gen del FV que influyen la RPCa incluyen combinaciones de FV Leiden y deficiencias cuantitativas de FV. La deficiencia heterocigoto de FV combinada con FV Leiden resulta en un estado pseudohomocigoto de RPCa extremadamente raro. Ya que solo el alelo FV Leiden es expresado, todo el FV circulante está mutado, dando lugar a un fenotipo que es similar al de los individuos homocigotos para FV Leiden, teniendo ambos un riesgo similar para trombosis. (Nicolaes et al., 2002).

Adicionalmente, se han realizado estudios para analizar si niveles altos de FV circulante incrementan el riesgo de trombosis. Sin embargo, a diferencia de algunos reportes con respecto al FVIII (homólogo), los niveles de FV en el plasma no mostraron una importancia significativa en relación al riesgo de trombosis. Además, los niveles de FV no modificaron el riesgo de trombosis asociado con altos niveles de FVIII. (Nicolaes et al., 2002).

En otros estudios, se encontró en tres pacientes, el desarrollo espontáneo de autoanticuerpos contra FV, que se asoció con la ocurrencia de trombosis. En uno de estos pacientes se pudo detectar actividad anticoagulante de lupus. En el segundo paciente se encontró un nivel elevado de anticuerpos anticardiolipina. Sin embargo, los mecanismos moleculares que generaron el riesgo incrementado de trombosis en estos pacientes son desconocidos. Aún así, es posible que los autoanticuerpos en estos pacientes bloquearan la actividad anticoagulante de la molécula de FV. Este es un fenómeno raro y la mayoría de los individuos que presentan estos anticuerpos muestran manifestaciones clínicas que varían desde ningún síntoma a hemorragias posiblemente fatales. (Nicolaes et al., 2002).

4.7 Justificación

Dada la importancia clave del FV en las rutas procoagulantes y anticoagulantes, se puede asumir que cualquier condición que afecte la inactivación de FVa por un lado, o la expresión de actividad anticoagulante como cofactor en la inactivación del FVIIIa por el otro, incrementará el riesgo de tromboembolismo venoso.

Por otra parte, debido al gran tamaño del gen del FV, es probable que dentro de los próximos años se encuentren más variantes del FV con niveles alterados, ya sea de función o de expresión. (Nicolaes et al., 2002).

En México, el fenotipo de RPCa está presente en el 40% de los pacientes con trombofilia, mientras que el FV Leiden se encuentra en menos del 10% de los individuos trombofílicos, una cifra muy por debajo de la que se tiene reportada para caucásicos (20 a 60%). Sin embargo, al realizar un estudio con 10 personas que presentaban RPCa, se encontró que el 40% portaban la mutación Leiden. (Ruiz-Argüelles et al., 2004).

En un estudio con 46 pacientes mestizos, se encontró que sólo el 12 % presentó una sola anomalía, mientras que en el resto (88%) se identificaron de dos a cinco anomalías a la vez, como mostramos en la Tabla 5.

Tabla 5. Factores de riesgo en la población mestiza mexicana.

<i>Anormalidades</i>	<i>Frecuencia en pacientes (%)</i>	<i>Frecuencia en normales (%)</i>
Mutación en el gen MTHFR	69	78
Síndrome de plaquetas cohesivas	48	0
RPCa	24	2
Presencia de anticuerpos antifosfolípidos	24	3
Haplotipo FV HR2	24	8
Mutación en el gen de la protrombina	15	0
Deficiencia de PC	13	0
Mutación FV Leiden	11	0.3
Deficiencia de PS	9	0
Deficiencia de AT-III	2	0
Mutación FV Hong Kong	2	0

(Ruiz-Argüelles et al., 2005).

Al parecer, la variante C677T del gen MTHFR no es un factor de riesgo importante para trombosis venosa por sí sola, pero puede llegar a serlo cuando está asociada a otras condiciones trombofílicas. Además, mutaciones en el gen MTHFR son muy frecuentes en mestizos mexicanos. (Ruiz-Argüelles et al., 2005).

Al buscar las mutaciones FV HR2, Cambridge, Hong Kong y Liverpool en los pacientes mestizos mexicanos, se encontró que ninguna está claramente relacionada con el fenotipo de RPCa en mestizos mexicanos. (Ruiz-Argüelles et al., 2005).

Además, los datos obtenidos en el estudio confirman la baja prevalencia de FV Leiden, deficiencia de PC, deficiencia de PS y deficiencia de AT-III, así como una alta prevalencia de la mutación PT G20210A en mestizos mexicanos, lo cual difiere de las distribuciones de estas condiciones para caucásicos. (Ruiz-Argüelles et al., 2005).

Los autores apoyan un modelo propuesto por Schafer, en el cual es posible que los pacientes con tromboembolismo venoso tengan una predisposición genética debido a uno o más factores. En estos casos, los estados de hipercoagulabilidad están determinados por el tipo y la cantidad de factores que se han heredado. De igual forma, es posible que los episodios de tromboembolismo venoso sean favorecidos por factores adquiridos. (Ruiz-Argüelles et al., 2005).

Williamson y colaboradores, apoyan la idea de que el fenotipo de RPCa puede resultar de una variedad de mutaciones que afectan sitios críticos en el FV, lo que hace suponer la existencia de causas genéticas adicionales desconocidas de la RPCa, debidas a mutaciones adicionales en el FV. (Williamson et al., 1998).

Por las reflexiones expuestas anteriormente, es evidente que es de gran importancia la identificación de aquellas otras mutaciones que puedan explicar la presencia de RPCa en ausencia de la mutación Leiden en nuestra población.

Por este razonamiento, fue de nuestro interés investigar y desarrollar nuestra tesis en este campo de investigación, con la intención de obtener y aportar conocimientos y bases al respecto. Pero para encontrar las mutaciones que pueden afectar al FV sería necesario secuenciar todo el gen, lo que implicaría un gran esfuerzo y tiempo, que rebasaría el nivel de esta tesis.

No obstante, nuestro estudio está enfocado a investigar condiciones específicas, basándonos en que existe una probabilidad más elevada de que las mutaciones que se encuentren en sitios críticos del FV sean las responsables del fenotipo de RPCa, aún cuando los sitios de corte no estén afectados por ninguna mutación (de las descritas hasta el momento). En los pacientes mestizos mexicanos objetos de este estudio y que no presentan la mutación Leiden, es posible que cualquier mutación en puntos cercanos al sitio de corte interfiera en la interacción del FV con la PCa.

Esto se debe a que las proteasas, como la PC, son enzimas con una especificidad muy alta, donde las secuencias de aminoácidos alrededor del sitio de corte son factores determinantes para el reconocimiento y la hidrólisis de un enlace.

En esta tesis nos enfocamos al estudio del exón 10, ya que en él está codificado el sitio de corte Arg 506, el cual es un sitio sumamente importante en el reconocimiento del FV por parte de la PCa.

Con la finalidad de encontrar mutaciones que puedan explicar la RPCa, secuenciamos el exón 10 para buscar mutaciones que afecten ya sea, el sitio de corte, o las secuencias de aminoácidos aledañas que interfieran con la hidrólisis del enlace. (Consultar Apéndice 2).

4.8 Hipótesis

La hipótesis que planteamos en nuestra tesis es:

En la población mestiza mexicana existen mutaciones en el exón 10 del gen del FV, distintas a las previamente descritas, que son causantes del fenotipo de RPCa.