



¿Que sabemos sobre el factor XIII del sistema hemostático?

MANLAB®

Diagnóstico Bioquímico y Genómico

 9 min.



La hemostasia es el fenómeno fisiológico que detiene el sangrado. Un mecanismo de defensa que junto con la respuesta inflamatoria y de reparación ayudan a proteger la integridad del sistema vascular después de una lesión tisular. En el siguiente trabajo el Dr. Forastiero - consultor del Área de Hemostasia de Laboratorios MANLAB – nos presenta una actualización sobre el factor XIII del sistema hemostático. En esta oportunidad nos detalla su fisiología, los métodos cuali y cuantitativos para evaluarlo, las guías actualizadas que se recomiendan para el laboratorio, entre otros temas.



Ricardo Raúl Forastiero
Dr. en Bioquímica
Consultor del Área Hemostasia – Manlab



E-mail: ricardo.forastiero@manlab.com.ar



Fisiología del FXIII

El mecanismo hemostático consiste en una serie de reacciones proteolíticas que en forma secuencial y amplificadora genera una gran variedad de enzimas. Varios mecanismos intervienen para lograr el equilibrio óptimo entre sangrado y trombosis. Cuando se forma el coágulo sanguíneo en forma fisiológica, este es generalmente resistente sugiriendo la

presencia de un coágulo insoluble. Desde hace más de 50 años se sabe que el factor responsable de este efecto de insolubilidad es el factor XIII (FXIII, también denominado factor estabilizante de la fibrina).

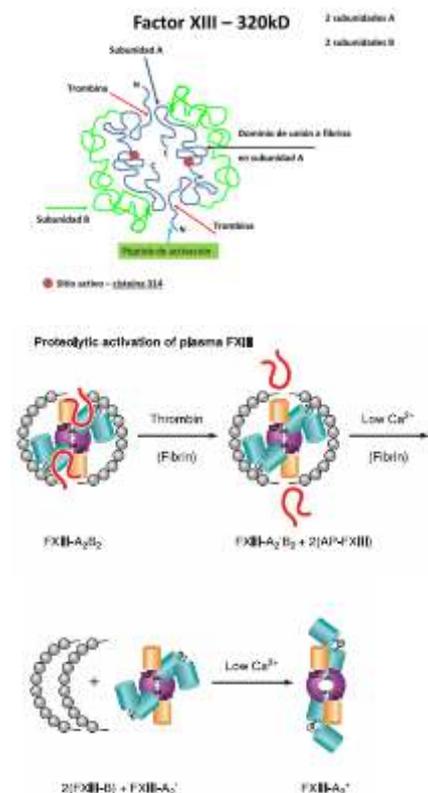
El factor XIII de coagulación es un zimógeno de dos subunidades A y dos subunidades B (FXIII(A₂B₂). En plasma la mayor parte del FXIII circula unido al fibrinógeno. La subunidad A de 83 kD contiene el sitio activo cisteína, un sitio de unión a calcio (Ca²⁺), el péptido de activación y grupos sulfhidrilo libres. La subunidad B de 80 kD actúa en realidad como transportadora de la subunidad A y es la que se une al fibrinógeno (Figura 1). El gen de la subunidad A se localiza en el cromosoma 6 y consiste de 160Kb y 15 exones. El gen de la subunidad B se encuentra en el cromosoma 1 y consiste de 28Kb y 12 exones. Se han descrito más de 100 mutaciones en el gen de la subunidad A que producen deficiencia de la misma. Por el contrario se han reportado pocas mutaciones que generan deficiencia de la subunidad B. EL FXIII está presente y se expresa en todas las células que se originan en la médula ósea. Las plaquetas al igual que los monocitos y macrófagos expresan la subunidad A pero no la B. Los hepatocitos contribuyen también al pool de FXIII(A en plasma y en el caso del FXIII(B solo el hígado contribuye al pool plasmático.

Por acción de la trombina generada en la activación del sistema de coagulación y en presencia de Ca²⁺, el FXIII es convertido en la enzima FXIIIa que es una transglutaminasa. La trombina cliva un péptido de la subunidad A en la posición Arg37-Gly38. De esa manera en presencia de Ca²⁺ las subunidades B se disocian y el dímero FXIII(A₂B₂) cambia de forma y se

transforma en la transglutaminasa activa (Figura 1). La presencia de fibrina polimerizada incrementa más de 100 veces la velocidad y eficiencia de la activación por parte de la trombina.



Figura 1. Modelo de la estructura y activación del factor XIII



La principal función del FXIIIa es fortalecer la fibrina a través de la unión covalente de monómeros de fibrina y

proteger a la fibrina de la fibrinólisis adhiriendo al inhibidor α_2 -antiplasmina a la malla de fibrina. Una de las diferencias del FXIII respecto a los otros factores de coagulación es que él hace puentes peptídicos en vez de romperlos. La polimerización de la fibrina ocurre a través de la interacción de la glutamina de una cadena y la lisina de otra cadena de fibrina (Figura 2).



Figura 2. Esquema de la reacción química llevada a cabo por el FXIIIa sobre la malla de fibrina



Deficiencias de FXIII

La forma congénita es autosómica recesiva y es rara con una prevalencia estimada de 1 caso cada 4 millones de individuos. Puede ser debida a deficiencias de las subunidades A o B pero en la mayoría de los casos el defecto es en la subunidad A.

Es responsable del 6% de los desórdenes hemorrágicos raros. Es más frecuente en familias/países donde se dan casamientos consanguíneos. La mayor incidencia se da en Japón y Pakistán. La forma clínica severa se da en homocigotas del defecto. La forma congénita puede ser de tipo I cuando hay defecto cuantitativo (síntesis disminuida) del FXIII o de tipo II (defecto cualitativo). Esta deficiencia se caracteriza por sangrado intracraneal severo cuando el paciente no es tratado. El primer síntoma es el sangrado en el cordón umbilical. Los sangrados tardíos son también signos de la deficiencia de FXIII. El sangrado muscular y en tejidos blandos subcutáneos también se observa. La deficiencia de FXIIIa se asocia a defectos en la reparación tisular y en mujeres embarazadas induce abortos tempranos.

La deficiencia se considera severa cuando hay $<5\%$ de FXIII, moderada entre 5-10% y leve cuando el FXIII es superior al 10%. En un registro internacional de pacientes con deficiencia de FXIII se reporta que el 49% de los casos se presenta con sangrado severo tipo 3 (hematoma intramuscular, hemorragia intracraneal, hemartrosis y sangrado del cordón umbilical y gastrointestinal). El 6% presenta sangrado menor tipo 2 (metrorragia, epistaxis, sangrado en cavidad bucal, etc) y el 6% sangrado leve tipo 1 (solo ocurre cuando hay consumo de agentes antiplaquetarios o anticoagulantes o luego de un trauma. Casi el 40% de los casos son asintomáticos. El promedio de concentración de FXIII para ser asintomático es de 30% (11-51% de actividad funcional).

La forma adquirida ha sido reportada en varias condiciones clínicas. Entre ellas: cirugía mayor, embolismo pulmonar, trombosis cerebral, leucemia, mielodisplasias, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, cirrosis hepática, colagenopatías, sepsis y coagulación intravascular diseminada. En la mayoría de estos casos el nivel de FXIII cae a 30% debido a síntesis disminuida o consumo incrementado pero los pacientes no requieren terapia de reemplazo. Hay algunos pocos casos de formas adquiridas por autoanticuerpos (neutralizantes o no neutralizantes) en algunas enfermedades autoinmunes y en estos pacientes la clínica hemorrágica suele ser más severa que en las causas adquiridas no por anticuerpos.

Métodos para evaluar FXIII

Cualitativos

El primer método descrito en 1960 fue cualitativo y conocido como "solubilidad del coágulo frente a urea 5M". Este ensayo es poco sensible y solo da alterado en casos de deficiencias severas del FXIII (menor del 1%). Se basa en la menor resistencia del coágulo de fibrina formado in vitro cuando el plasma del paciente tiene alteración del FXIII al enfrentarse a un medio con alta molaridad que hace que el coágulo se disuelva más rápido. En este método el valor normal de referencia es >18 horas. Más recientemente se propuso usar ácido acético 2% en vez de urea y el rango de referencia es >12 horas. No está bien estandarizado y depende de la concentración de



QuantiFERON® TB Gold

tecnolab

La percepción de la Tuberculosis está cambiando en el mundo



Enfermedad Tuberculosis Activa 5-10%

Infección Tuberculosis Latente 90-95 %



ANMAT

fibrinógeno, el reactivo coagulante que puede trombina o calcio, etc. En caso de usar estos metidos cualitativos es importante recordar que ambas soluciones (urea o ácido acético) deben ser preparadas en el momento previo a usar.

Cuantitativos

- Funcionales

Hay dos equipos comerciales (solo 1 de ellos está disponible en Argentina) que usan la metodología fotométrica. Se basan en la medición de la liberación de amoniaco producida durante la reacción de transglutaminación entre una amina y una glutamina. El amoniaco es determinado espectrofotométricamente en una reacción dependiente de NAD. El límite de detección de este método es de 3-5%. El rango de referencia del FXIII funcional esta entre 60-150%.

Existe otro método (no disponible en Argentina) que se basa en la medición de la incorporación de aminos en forma covalente a un sustrato proteico. Sin embargo este es más difícil de estandarizar a pesar de su mayor sensibilidad.

Un ensayo fluorométrico (no disponible en Argentina) fue recientemente desarrollado y está basado en la actividad de isopeptidasa del FXIIIa.

- Antigénicos

Estos ensayos permiten determinar la concentración de la molécula completa de FXIII o de las subunidades A o B. El ensayo de ELISA se usa en estos casos.

- El análisis de anticuerpos puede determinarse en ensayos de mezcla de plasma del paciente y de un pool normal en el caso de anticuerpos neutralizantes a través de un ensayo funcional de FXIII. Los del tipo no neutralizantes se evalúan por ensayos de unión por técnicas inmunológicas.

Las guías actuales en lo que respecta al laboratorio recomiendan:

1. para el estudio inicial de la deficiencia no deben usarse los métodos cualitativos ni los antigénicos
2. los ensayos de primera línea deben ser

aquellos basados en la liberación de amoniaco o la incorporación de aminos

3. en el caso de ensayos de liberación de amoniaco se debe considerar la evaluación del blanco de la muestra y descontar la actividad porque si no los resultados pueden ser sobreestimados en particular en el rango inferior

4. el ensayo basado en la incorporación de aminos es influenciado por el polimorfismo FXIII A-Val34Leu

Los ensayos para FXIII son útiles para:

1. diagnosticar deficiencias congénitas o adquiridas
2. establecer la severidad de la deficiencia
3. monitorear la efectividad de la terapia de reemplazo
4. detectar la presencia de inhibidores anti-FXIII

En qué tipos de pacientes se debe solicitar determinación de FXIII:

1. casos de sangrado cuando los ensayos de coagulación y de función plaquetaria son normales
2. cuando hay sangrado umbilical o hemorragia intracraneal en niños
3. mujeres con clínica combinada de sangrado y abortos
4. pacientes con sangrado durante circulación extracorpórea o cirugía mayor
5. aquellos en los cuales se quiere monitorear la eficacia de la terapia de reemplazo con FXIII



Referencias

- Tahlan A, Ahluwalia J. Factor XIII. Congenital Deficiency Factor XIII, Acquired Deficiency, Factor XIII A-Subunit, and Factor XIII B-Subunit. Arch Pathol Lab Med 2014; 138: 278-281.
- Muszbek L, Berczky Z, Bagoly Z, Komáromi I, Katona E. Factor XIII: a coagulation factor with multiple plasmatic and cellular functions. Physiol Rev 2011;91: 931-972.
- Naderi M, Dorgalaleh A, Tabibian S, Alizadeh S, Eshghi P, Solaimani G. Current understanding in diagnosis and management of factor XIII deficiency. Iran J Ped Hematol Oncol 2013; 3: 164-172.
- Wolfgang Korte W. Catridecagoc: a breakthrough in the treatment of congenital factor XIII A-subunit deficiency? J Blood Med 2014; 5: 107-113.
- Fadoo Z, Merchant Q, Abdur Rehman K. New developments in the management of congenital Factor XIII deficiency. J Blood Med 2013; 4: 65-73.