

CASO CLÍNICO

HEMOFILIA A EN UNA FAMILIA DE YORKSHIRE TERRIER

María Iazbik P. (M.V.)*, María Silva R. (M.V.)*, Adrián Márquez S. (M.V.)*

HEMOPHILIA A IN A YORKSHIRE TERRIER FAMILY

In this article we have studied a Yorkshire Terrier family with some hemophilic members. The diagnosis was done through some studies: hemogram, Protrombin time, Activated Tromboplastine Time, platelets number as well as measurements of Factor VIII and Factor IX. These results and the pedigree, allowed us to detect the carriers of this family.

Palabras claves: hemofilia, hemostasia, Factor VIII.

Key words: haemophilia, hemostasis, Factor VIII.

INTRODUCCIÓN

La Hemofilia A es un trastorno de la hemostasia debido al déficit de factor VIII, factor plasmático que interviene en el mecanismo intrínseco de la coagulación (Fogh, 1988; Kaneko, 1989). La bibliografía describe tanto a la Hemofilia A como a la enfermedad de Von Willebrand como los trastornos hereditarios más comunes de la coagulación en el canino (Ettlinger, 1990; Carr, 1994).

Esta enfermedad está descrita en muchas razas de perros (Stefanon, 1993; Stokol, 1994), incluso animales mestizos y gatos (Littlewood, 1986; Carr, 1994). La hemofilia se hereda ligada al cromosoma X en forma recesiva. Los machos presentan signos clínicos como sangrado excesivo ante la caída de los dientes, corte de cola, hematomas, hemartrosis, de acuerdo al grado de deficiencia del factor (Fogh, 1988). Las hembras son portadoras asintomáticas de la enfermedad (Blanco, 1981), por lo que se hace necesario el estudio de los pedrees de los animales afectados.

Es importante recordar que en esta afección se considera portadora, según las pruebas de laboratorio, a aquella paciente que tiene menos de 50% de actividad de factor VIII (Blanco a, 1981). Todas las hijas de un padre hemofílico son portadoras obligadas (Blanco a, 1981 y 1989). Toda hembra con más de un hijo hemofílico es portadora obligada (Blanco a, 1981 y 1989). Las hembras con antecedentes familiares de hemofilia que no hayan tenido descendencia o que la misma haya sido normal se consideran portadoras potenciales (Blanco a, 1981). Toda hembra sin ante-

cedentes familiares pero con un solo hijo hemofílico se considera portadora potencial. Un solo hijo no la hace portadora obligada, ya que en ocasiones la enfermedad puede desarrollarse por mutación génica sin mediar factor alguno hereditario (Blanco, 1981 y 1989). Los machos hemofílicos no transmitirán esta deficiencia a sus hijos (Blanco b, 1981).

Si bien existe amplia información sobre casos aislados de hemofilia A, no es habitual encontrar reportes que incluyan toda una familia afectada (Denn y col., 1978; Johnstone y col., 1984; Littlewood, 1988; Fitch y col., 1992; Stefanon, 1993).

El objetivo de este trabajo es informar sobre el estudio realizado en dos pacientes de la raza Yorkshire Terrier con diagnóstico de hemofilia, donde se analizó a todos los animales emparentados y no emparentados, pertenecientes a cinco criaderos de la Ciudad de Buenos Aires, con el fin localizar a posibles hembras portadoras y otros machos hemofílicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

A partir de la detección de hemofilia en dos caninos de la raza Yorkshire Terrier, se convocó a todos los caninos emparentados con ambos pacientes y también a aquellos animales de esta raza cuyos antecedentes los relacionaban a algún animal posiblemente portador o enfermo. Del estudio de estos 37 caninos se pudo establecer fehacientemente que 15 de ellos tenían un parentesco certero. Se trabajó sobre estos 15 caninos, cuyas edades comprendían entre 9 meses a 14 años, machos y hembras. Se les extrajo sangre, sin ninguna medicación anterior, de la vena yugular, tomando la precaución de punzar en un único sitio con la mínima presión, para no contaminar la muestra con tromboplastina tisular. La sangre se recogió en un

*Área de Patología Clínica. Departamento de Medicina. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Buenos Aires. Chorroarín 280. 1427 - Cap. Fed. Argentina.

tubo de plástico con anticoagulante TP de Wiener (R) (citrato trisódico dihidratado 130 mMol/l pH 7,2) en una relación de 2 gotas por ml de sangre extraída, y se centrifugó por 10 minutos a 3.000 rpm, separándose el plasma y refrigerándolo rápidamente. Este proceso es importante debido a que en la sangre entera se produce una activación de los factores plasmáticos de la coagulación e interfiere con los resultados. Con el plasma se realizó el Tiempo de Protrombina (TP), Tiempo de tromboplastina parcial activada (TPTA) y la medición de los factores VIII y IX.

Parte de la sangre extraída se volcó en un tubo plástico con EDTA como anticoagulante W de Wiener (R): (EDTA dipotásico 0,342 mol/l pH 7,2). La sangre con anticoagulante se utilizó para realizar un hemograma y un recuento plaquetario, en una relación de 20 µl de anticoagulante cada 2 ml de sangre.

El recuento plaquetario se realizó con sangre entera en cámara de Neubauer, utilizando como reactivo de trabajo el oxalato de amonio 0,1 M. En el hemograma se incluyó un hematocrito, medición de hemoglobina, recuento y fórmula leucocitaria.

Para el estudio de las pruebas de coagulación, en cada animal problema, se procedió a la medición conjunta de un testigo normal, para control de la prueba y comparación de los resultados obtenidos. El criterio para la elección de los testigos fue tomar animales adultos sin medicación, clínicamente sanos.

Para el Tiempo de Protrombina (TP) se utilizó el reactivo de Tromboplastina Cálctica de Laboratorios Bio-Mérieux (R), según el método de Quick (1938). Los valores de las pruebas de Quick en los testigos fueron tomados como referencia, considerándose anormal en los pacientes cuya medición se alejase más de un 20% del valor de referencia obtenido.

Para el Tiempo Parcial de Tromboplastina Activada (TPTA) se utilizó el reactivo de Baxter Diagnostic (R), con cefalina (obtenida de cerebro de conejo) activada con Actina, según el método de Bell y Alton (1954). Para la evaluación de los resultados y controles se siguió el mismo criterio que para el TP.

La medición de Factor VIII y Factor IX se hizo a partir de plasma humano deficiente en factores VIII y IX (usando reactivo de Baxter Diagnostic (R), medido por TPTA tras el agregado del plasma problema y cloruro de calcio, según el método de Soulier y Larrieu (1953). Los resultados obtenidos fueron trasladados a una curva que se realizó a partir de un "pool" de animales normales de la misma raza sometidos a distintas diluciones. A través de esta curva se obtuvieron los porcentajes de actividad de cada factor para cada animal estudiado y para los testigos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El estudio comenzó a partir de la detección de 2 caninos hermanos, machos, de la raza Yorkshire Terrier de 1 año

de edad (N 1 y 2). Ellos concurren a la consulta veterinaria por presentar una historia de hematomas subcutáneos ante mínimos golpes, sangrado excesivo al cambio de dientes y uno de ellos, el macho 2, presentaba hemartrosis al momento de la consulta.

Ante la sospecha de un trastorno de la coagulación se les realizaron las siguientes determinaciones: hemograma, recuento plaquetario, Tiempo de Protrombina (TP) y Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (TPTA). Ante la elevación del TPTA con un TP normal se sospechó de un déficit de algún factor involucrado en el mecanismo intrínseco de la coagulación. Ya que la hemofilia es el trastorno hereditario más común, se procedió como primera instancia a la medición de los factores VIII y IX. Los resultados se presentan en la Tabla 1, donde se observa un alargamiento del TPTA producto de una baja actividad del factor VIII (sólo 6%). Para descartar una posible influencia de agentes inhibidores del factor VIII se agregó plasma normal al problema, corrigiéndose el TPTA luego del agregado. De esta manera confirmamos que los trastornos de coagulación de los pacientes 1 y 2 se debieron a déficit de Factor VIII, por lo que se realizó un diagnóstico de Hemofilia A.

Con estos antecedentes se trató de estudiar a todos los animales pertenecientes a criaderos de Yorkshire, emparentados o no, para detectar hembras portadoras y machos enfermos. Los resultados de este estudio se hallan comprendidos en la Tabla 1 y en el Gráfico 1 y se detallan a continuación.

Los padres de los ejemplares 1 y 2 son la hembra 5 y el macho 6. El padre 6 tiene valores normales de coagulación, esto descarta que sea hemofílico. La madre 5 tiene un bajo porcentaje de factor VIII, lo que muestra su condición de portadora. A su vez, los datos que se pudieron obtener acerca de la historia del padre de esta hembra (el macho 7) son muy interesantes.

En efecto, el macho 7 murió a los cinco años de edad con una hemorragia pulmonar y durante toda su vida tuvo reiterados hematomas y sangrado excesivo ante mínimos traumas. Es posible que hubiese sido hemofílico a pesar de no tener pruebas de coagulación de él, ya que, como describe Fogh (1988), al tener hijos machos sanos e hijas hembras (5 y 12) portadoras obligadas (ambas tuvieron más de un hijo hemofílico), se crea evidencia de hemofilia.

A su vez, la hembra 5, en su apareamiento con el macho 15 tuvieron un hijo (macho 13) (que por sus características clínicas y su historia familiar podría también presentar alteración en la coagulación sanguínea y ser considerado como hemofílico) y una hija portadora (hembra 14: Tabla 1). Por lo tanto la hembra 5 es portadora por haber tenido varios hijos hemofílicos (1 y 2) y bajo porcentaje de factor VIII: C como se observa en la Tabla 1.

Otra hija del macho 7, la hembra 12, se cruzó con el macho sano 11 y tuvieron dos machos (el 3 y 4) en

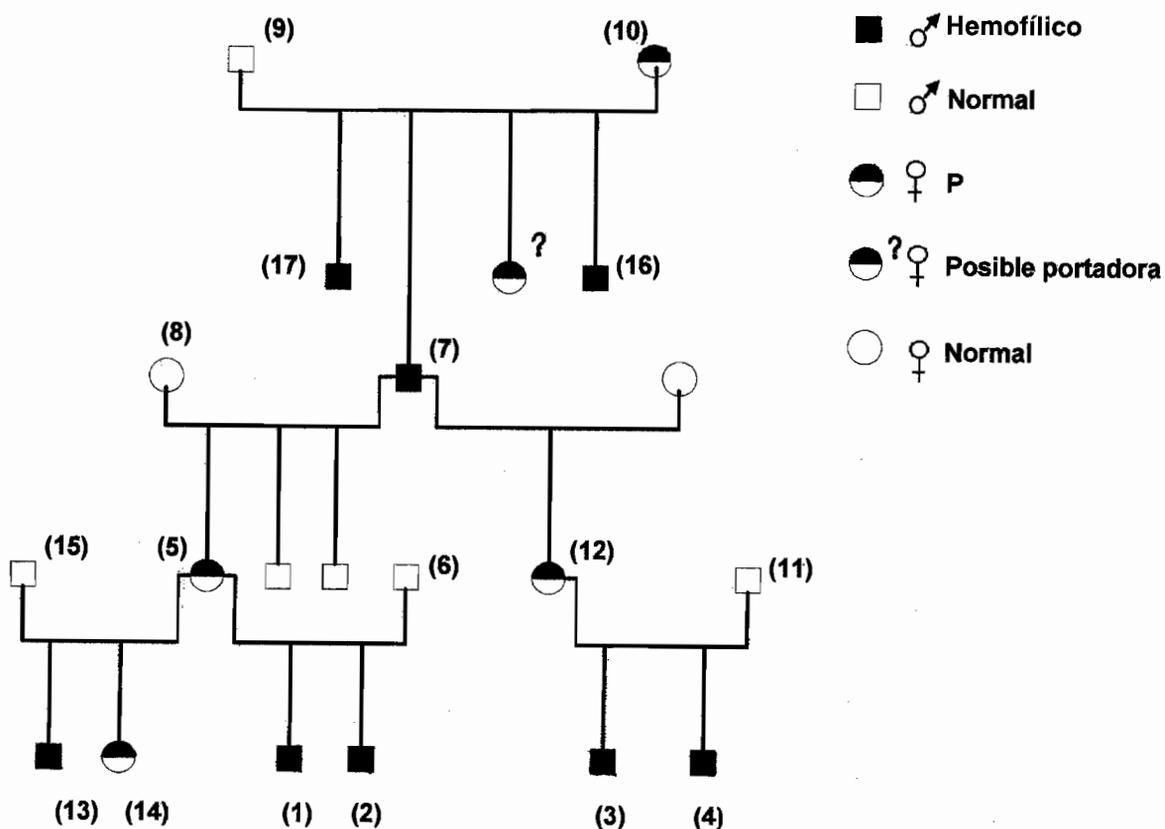
TABLA 1
 TIEMPO DE PROTROMBINA (TP), TIEMPO PARCIAL DE TROMBOPLASTINA
 ACTIVADA (TPTA) Y FACTORES VIII Y IX EN MIEMBROS DE UNA FAMILIA DE
 YORKSHIRE TERRIER SOSPECHOSOS DE HEMOFILIA A

Caso	T.P. Testigo	T.P. Problema	T.P.T.A. Testigo	T.P.T.A. Problema	F. VIII en %	F. IX en %
1	9 seg	9 seg	17 seg	53 seg	6	90
2	9 seg	9 seg	17 seg	47 seg	6	90
3	8 seg	9 seg	17 seg	43 seg	6	90
4	9 seg	9 seg	19 seg	34 seg	8	80
5	8 seg	9 seg	22 seg	30 seg	20	50
6	9 seg	9 seg	16 seg	16 seg	100	100
8	10 seg	9 seg	22 seg	23 seg	90	100
10	8 seg	10 seg	19 seg	22 seg	60	100
11	9 seg	8 seg	19 seg	17 seg	100	100
12	9 seg	9 seg	19 seg	20 seg	80	100
14	9 seg	9 seg	22 seg	22 seg	40	80
15	8 seg	9 seg	19 seg	17 seg	100	100

Los datos de TP y TPTA de los pacientes se confrontan con valores testigos. Los porcentajes de actividad de los factores VIII y IX se refieren a los pacientes y se obtienen por curvas de "pool" de caninos sanos de la raza.

Gráfico 1. Esquema del pedigree que representa la relación entre animales sanos, enfermos y portadores de hemofilia, miembros de la familia de caninos Yorkshire estudiada.

() número del animal.



distintas camadas, ambos hemofílicos (datos Tabla 1). La hembra 12 tiene un porcentaje de actividad normal, al ser hija de macho hemofílico y tener dos hijos hemofílicos, es portadora de hemofilia (Blanco, 1981; Fogh, 1988). La madre del macho 7 (hembra 10) también fue estudiada. Si bien la actividad del VIII está en el límite inferior normal, el hecho de que su hijo sea un abuelo de al menos cinco hemofílicos y madre de otros dos machos (el 17 y 16) con historias repetidas de sangrado, la convierte en portadora (Blanco, 1981; Fogh, 1988).

Cabe señalar que si bien los resultados de laboratorio que hacen a la confección del "pedigree" se hallan comprendidos en la Tabla 1, los datos de hemograma y recuento de plaquetas no se muestran en la tabla debido a que fueron normales en todos los casos y no tienen relevancia en este estudio.

La importancia del estudio realizado reside en la detección de los portadores para proceder a su eliminación de la reproducción. Siendo la hemofilia una enfermedad hereditaria recesiva, adquiere significación cuando la misma se detecta en criaderos, ya que el alto "inbreeding" es causal de aparición de la enfermedad con riesgo de alta diseminación.

Esto pudo detectarse en esta familia de Yorkshire Terrier en donde se observa una gran proporción de sus miembros afectados. El diagnóstico de hemofilia en estos casos es claro, no sólo por los signos clínicos presentados y los hallazgos de laboratorio (Willard, 1993), sino también por su historia familiar.

RESUMEN

En este trabajo se informa sobre el estudio realizado en una familia de Yorkshire Terrier en donde se detectaron animales hemofílicos. A todos los miembros de la familia se les realizó un hemograma y pruebas de coagulación que mostraron, en algunos, carencias del factor VIII en su actividad procoagulante. A partir de la historia clínica y los hallazgos de laboratorio de los miembros estudiados, se confeccionó un árbol genealógico en donde figuran las hembras

portadoras obligadas y potenciales, y los machos enfermos.

REFERENCIAS

- BELL, W.N. y ALTON H.G., 1954. A brain extract as substitute for platelet suspensions in the thromboplastine generation test. *Nature*. 174: 880-881.
- BLANCO, A.N., 1981 (a). Detección de portadoras de Hemofilia A. Estudio comparativo. *Medicina (Bs. As.)*. 41: 233-241.
- BLANCO, A.N., 1981 (b). Estudio probabilístico para la detección de portadoras de Hemofilia A. *Medicina (Bs. As.)*. 59: 337-342.
- BLANCO, A.N., 1989. Análisis de ADN: aplicación al diagnóstico prenatal y a la detección de portadoras de Hemofilia A y B. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*. XIII: 109-115.
- CARR, A.P., 1994 A review of hemostatic abnormalities in dogs and cats. *J.A.A.H.A.* VII: 475-481.
- DENN, G. y JOHNSTONE, G., 1978. Classic Hemophilia A in a family of collies. *Can. Vet. J.* 19: 221-5.
- KANEKO, J., 1989. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 4th Ed. USA. Academic Press, Inc.
- ETTINGER, S., 1990. *Tratado de Medicina Interna Veterinaria*. 3ª ed. Argentina. Intermédica.
- FITCH, R. y WARDOP, J., 1992. Another case of Hemophilia A in the German Shepherd Dog. *Canine Pract.* 17: 19-23.
- FOGH, J., 1988. A study of Hemophilia A in German Shepherd dogs in Denmark. *Vet. Clin. North. Amer.* 18: 245-254.
- JOHNSTONE, I. y NORRIS, A., 1984. A moderately severe expression of classical hemophilia in a family. *Can. Vet. J.* 25: 191-4.
- LITTLEWOOD, J., 1986. Haemophilia A (Factor VIII deficiency) in the cat. *J. Small Anim. Pract.* 27: 541-546.
- LITTLEWOOD, J., 1988. Haemophilia A (Factor VIII deficiency) in German Shepherd dogs. *J. Small Anim. Pract.* 29: 117-28.
- QUICK, A., 1938. Use of thromboplastine in hemostatics tests. *J. Am. Med. Assoc.* 110: 1658-1662.
- SOULIER, J. y LARRIEU, M., 1953. Nouvelle méthode de diagnostic de l'hémophilie. Dosage des facteurs antihémophiliques A et B. *Le Sang*. XXIV: 205-215.
- STEFANON, G., 1993. Inherited and acquired canine bleeding disorders in Northeastern Italy. *Canine Pract.* 18: 15-23.
- STEFANON, G., 1993. Case studies of dogs with bleeding disorders in Northeastern Italy. *Canine Pract.* 18: 11-15.
- STOKOL, T., 1994. Hemorrhachis associated with Hemophilia A in three German Shepherd Dogs. *JAAHA*. 30: 239-243.
- WILLARD, J., 1993. Diagnóstico clínico patológico práctico en los animales pequeños. Argentina. Intermédica.

Recibido el 12 de diciembre de 1996
Aceptado el 30 de mayo de 1997