

XXXI Congreso Nacional de la Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia

Ponencias y Comunicaciones

Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia

Valencia, 22-24 de octubre de 2015



Local handout produced and distributed
in Spain with the permission of:

**Thrombosis
and
Haemostasis**
International Journal
for Vascular Biology and Medicine

2015

Valencia

LVII Congreso Nacional de la SEHH
XXXI Congreso Nacional de la SETH

Cómo acceder a la revista de ponencias y comunicaciones de la SEHH y la SETH

La Revista de Ponencias y Comunicaciones del LVII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia y del XXXI Congreso Nacional de la Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia está disponible únicamente *on line*. Esta modalidad ofrece muchas posibilidades, como hacer búsquedas por autor, o temas, etc. y la posibilidad de imprimir.



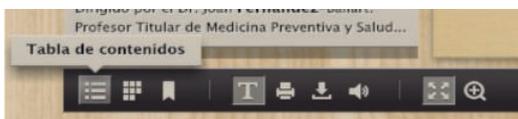
Buscador

La opción del buscador se encuentra en la parte superior derecha. Simplemente se escribe la palabra que se desee buscar y automáticamente se desplegará un menú en la parte lateral izquierda con las distintas páginas en las que se encuentra el término buscado. Si queremos acceder a dicha página basta con situar el cursor encima y hacer "click". Si no fuese la página que estamos buscando podemos continuar la búsqueda en el menú que nos ha aparecido anteriormente en el lateral izquierdo o iniciar una nueva búsqueda.

MENÚ PARTE INFERIOR IZQUIERDA

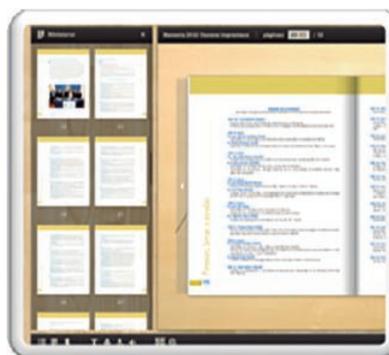
Tabla de contenidos

Aquí encontraremos el sumario. Podremos acceder directamente a las comunicaciones, ponencias o pósters.



Miniaturas

Desde esta opción del menú podremos visualizar toda la revista en miniatura y ver todas sus páginas.



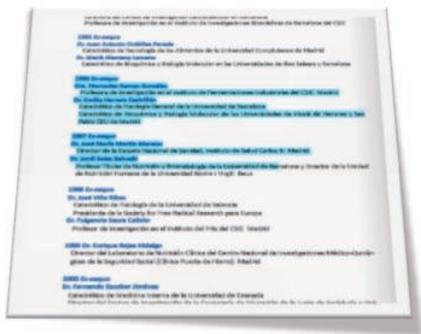
Marcadores

Permite marcar las páginas en las que veamos algo interesante y guardarlas en esta opción. También se pueden guardar e imprimir todas las páginas que hemos marcado.



Seleccionar texto

Nos permite seleccionar el texto que deseamos para copiar en otro archivo o imprimir.

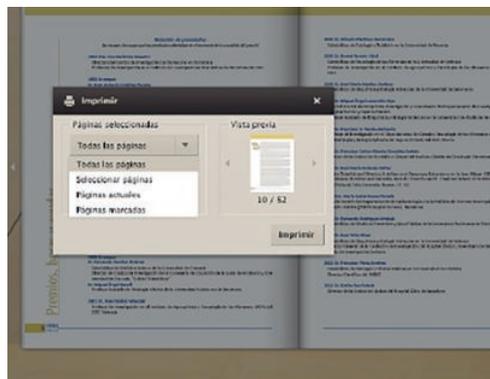


Impresión

Hay varias opciones de impresión. Desde el mismo menú de acceso se muestran todas las posibilidades:

1. Imprimir toda la revista.
2. Imprimir las páginas marcadas.

3. Imprimir un intervalo. En esta opción tendríamos que señalar las páginas que deseamos. Por ejemplo, queremos imprimir nuestra comunicación que se encuentra entre las páginas 8-12. Marcaríamos: imprimir desde 8 hasta 12.
4. Imprimir página/s actual/es.



Zoom

Si queremos ampliar la página basta con hacer "doble click" en la página en la que estamos situados y automáticamente se ampliará. Si queremos minimizar, repetiremos el mismo proceso.



MENÚ PARTE INFERIOR DERECHA

Pasapáginas

Permite ir a la página siguiente o anterior, así como situarse en la primera o última página.

Pase con diapositivas

Las páginas pasan solas automáticamente en un intervalo de 3 o 4 segundos.



ARÁN EDICIONES, S.L.

28006 MADRID - Castelló, 128, 1.º

Tel.: 91 782 00 35 - Fax: 91 561 57 87

e-mail: edita@grupoaran.com - <http://www.grupoaran.com>

Imprint

© 2015. Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia.

Spanish handout produced for and distributed in the Spanish market with the kind permission of Schattauer GmbH, Publishers for Medicine and Natural Sciences, Hoelderlinstr. 3, 70174 Stuttgart, Germany. Neither Schattauer GmbH, the Publisher, nor the Editors-in-Chief of Thrombosis and Haemostasis are responsible or in any way liable for the currency of the information, for any errors, omissions, inaccuracies or for any consequences arising from the information published herein.

Depósito legal: M-34026-2012

Comités

Comité Organizador

Presidente

Miguel Ángel Sanz Alonso

Vicepresidentes

María Ángeles Dasí Carpio

Vocales

Cristina Arbona Castaño

Santiago Bonanad Boix

Guillermo Cañigral Ferrando

Félix Carbonell

Nelly Carpio Martínez

Francisco España Furió

Federico Gomis Bernal

Enric Grau Segura

Luis Larrea González

Pascual Marco Vera

José Mayans

Roberto Roig

Javier de la Rubia Comos

Guillermo Sanz Santillana

Carlos Solano Vercet

María José Terol Casterá

Juana Vallés

Comité Científico

Presidente

Josep María Ribera Santasusana

Vicepresidente

José Antonio Páramo Fernández

Presidente del Comité Científico de la SETH

José Antonio Páramo Fernández

Vocales de la SETH

Santiago Bonanad Boix

Isabel S. Caparrós Miranda

Javier Corral de la Calle

(Lección Ricardo Castillo)

José Ramón González Porras

José M.^a Guinea de Castro

Anders Hamsten

Víctor Jiménez Yuste (Programa Educativo)

Ramón Lecumberri Villamediana

Pilar Medina Badenes

Andrés Muñoz Martín

José Manuel Soria Fernández

Juan Carlos Souto Andrés

Junta Directiva de la SETH

Presidente

Vicente Vicente García

Vicepresidentes

Javier Corral de la Calle

Pere Domènech Santasusana

Secretario

José Mateo Arranz

Tesorera

M.^a Ángeles Dasí Carpio

Vocales

Víctor Jiménez Yuste

Ramón Lecumberri Villamediana

Pilar Medina Badenes

Antonio Moscardó Martínez

Silvia Navarro Rosales

Dolors Tàssies Penella

Expresidentes

Carlos Alonso Villaverde Grote

Justo Aznar Lucea

Francisco Javier Batlle Fonrodona

†Antonio López Borrasca

Pascual Marco Vera

Fernando Martínez Brotons

Miguel Rutllant Bañeres

Índice SETH

Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia

XIV LECCIÓN CONMEMORATIVA RICARDO CASTILLO-ANTONIO LÓPEZ BORRASCA

| | |
|---|------------|
| • Nuevas lecciones de una molécula clásica: antitrombina J. Corral..... | 3 |
| PONENCIAS..... | 11 |
| • Plaquetas y endotelio | 13 |
| • Enfermedad tromboembólica arterial y venosa..... | 23 |
| • Podemos mejorar la predicción del riesgo trombótico | 38 |
| • Patología hemorrágica: del presente al futuro..... | 48 |
| • Ampliando horizontes en tratamiento antitrombótico | 64 |
| SESIÓN PLENARIA | 71 |
| COMUNICACIONES ORALES | 83 |
| • Trombosis..... | 85 |
| • Diátesis hemorrágica..... | 92 |
| • Conceptos básicos en hemostasia y métodos de diagnóstico y marcadores | 99 |
| • Trombosis II..... | 106 |
| • Tratamientos antitrombóticos | 110 |
| • Plaquetas/biología vascular..... | 114 |
| PÓSTERES..... | 119 |
| • Conceptos básicos en hemostasia | 121 |
| • Diátesis hemorrágica..... | 123 |
| • Métodos de diagnóstico y marcadores..... | 135 |
| • Plaquetas/biología vascular..... | 140 |
| • Tratamientos antitrombóticos | 146 |
| • Trombosis | 162 |
| PUBLICACIÓN..... | 175 |
| • Conceptos básicos en hemostasia | 177 |
| • Diátesis hemorrágica..... | 177 |
| • Métodos de diagnóstico y marcadores..... | 184 |
| • Plaquetas/biología vascular..... | 187 |
| • Tratamientos antitrombóticos | 191 |
| • Trombosis | 195 |

XIV LECCIÓN CONMEMORATIVA
RICARDO CASTILLO -
ANTONIO LÓPEZ BORRASCA

Nuevas lecciones de una molécula clásica: antitrombina

J. Corral

Universidad de Murcia. Hospital Universitario Morales Meseguer. Centro Regional de Hemodonación. IMIB-Arrixaca. Murcia

Introducción

En 2015 celebramos el 50º aniversario del descubrimiento del primer defecto trombofílico. Normalmente, los elementos más relevantes son los primeros en dar la cara desde el punto de vista patológico. Cuando en 1965 Egeberg describe la asociación entre la deficiencia de antitrombina y la incidencia de trombosis en una familia noruega, realmente está mostrando la primera evidencia, la más clara, del importante papel que este anticoagulante tiene en el sistema hemostático. Terry Rabbitts me comentaba hablando de cáncer que lo realmente importante en cualquier sistema no es quien tiene la fuerza, la trombina en el sistema hemostático, sino los que controlan a quien tiene la fuerza. La antitrombina (AT) es uno de los controladores del sistema hemostático y por ello su deficiencia, incluso moderada, tiene gran impacto sobre el riesgo trombotico¹.

Y con esta importancia y los años que han pasado, podemos correr el riesgo, sobre todo los más jóvenes o desencantados, de pensar que ya se ha estudiado todo, que ya se sabe todo, que hay poco más que conocer o hacer, a lo sumo descubrir una nueva mutación. Y que sólo puede haber en estas líneas una revisión más o menos acertada de una molécula clásica.

Mi objetivo no es mostrar lo que se conoce sobre antitrombina, que intentaré resumir, sino todo lo que falta por conocer. Veremos cómo la vida de esta molécula no parece terminar en sus primeros 50 años.

Características generales de la antitrombina

La antitrombina es una N-glicoproteína de síntesis hepática que se secreta al plasma donde alcanza concentraciones de 150 µg/mL. El gen que codifica la antitrombina, *SERPINC1*, se localiza en el cromosoma 1 (1q25.1) y consta de 7 exones, por lo que su estudio molecular es relativamente sencillo. La proteína madura pierde un péptido señal de 32 aminoácidos y consta de 432 residuos, con una masa molecular tras la incorporación de los 4 N-glicanos biantenarios de 58 KDa. Dos puentes disulfuro intramoleculares completan las modificaciones post-traduccionales que experimenta (Figura 1). La AT fue la primera serpina activa en conseguir resolver su estructura cristalográfica, resuelta en 1994 por dos grupos (Figuras 1-3).

La antitrombina pertenece a la superfamilia de las serpinas, inhibidores de serín proteasas, un grupo de más de 1.000 proteínas con un elevado grado de homología estructural. Para poder desempeñar su papel inhibitorio se pliegan en una estructura metaestable, que no es la que mayor estabilidad estructural puede alcanzar. La razón no es otra que favorecer un efectivo y singular mecanismo de inhibición de la proteasa diana: un mecanismo de inhibición por suicidio. El centro reactivo de la serpina (RCL) actúa como cebo para la proteasa, que lo reconoce y ataca como a cualquier sustrato. Sin embargo, el corte del RCL facilita la transición de la molécula a una configuración más

estable mediante la internalización del RCL cortado en el interior de la lámina beta central, donde forma una nueva hebra. En ese movimiento el RCL arrastra a la proteasa que sufre cambios estructurales que provocan la formación del complejo covalente trombina-antitrombina en el que la trombina pierde su actividad proteolítica⁴ (Figura 1).

A diferencia de otras serpinas, en la forma nativa de la AT, el RCL está parcialmente insertado, estructura que le resta capacidad inhibitoria. Para conseguir una actividad anticoagulante máxima la AT requiere de la participación de un cofactor, que en la naturaleza son ciertos glicosaminoglicanos. La unión de un pentasacárido específico al dominio de unión a heparina de la AT desencadena un pequeño cambio estructural, que culmina en la exposición completa del RCL, con la consiguiente activación⁵ (Figura 1). Esta característica ha sido el fundamento del uso clínico de las heparinas, uno de los fármacos más empleados en la historia⁶.

En contra de lo que sugiere su nombre, la AT no sólo inhibe a la trombina. Hasta 6 proteasas procoagulantes son diana de esta serpi-

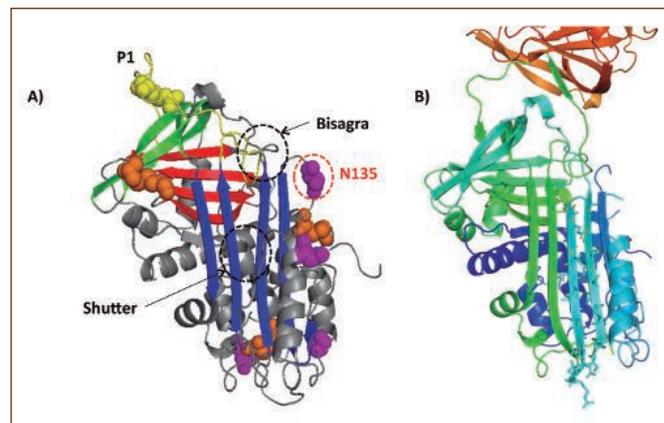


Figura 1. Representación estructural de la antitrombina. A. Conformación nativa (Código PDB: 1T1F). Las láminas A, B y C se muestran en azul, rojo y verde respectivamente. El centro reactivo (RCL) está marcado en amarillo, con el residuo reactivo P1 (Arg393) indicado específicamente. Los residuos de cisteína implicados en la formación de los puentes disulfuro intermoleculares se muestran en naranja. Los residuos de arginina con N-glicosilación se indican en magenta, y el residuo Asn135, con glicosilación ineficaz, responsable de la glicofoma beta rodeado por un círculo rojo. Finalmente, las zonas móviles de la molécula, implicadas en el mecanismo inhibitorio se señalan con círculos negros: la región bisagra, donde el RCL está parcialmente internalizado y la región *shutter* central que albergará al RCL roto. Esta estructura se generó con Pymol (www.pymol.com). B. Estructura cristalográfica del mutante con una larga inserción formando la hebra central de la lámina beta A (Código PDB: 4EB1).

na, incluyendo el FXa (Figura 2). Puede que seamos conscientes del poder anticoagulante de la AT y la importancia que tiene su estudio y modulación como veremos después, al indicar que la AT es el principal inhibidor endógeno de FXa y trombina, las dianas de los más recientes fármacos anticoagulantes (apixaban, ribaroxaban, dabigatrán y edoxaban). Por ello, defectos cuantitativos o cualitativos que afecten a este poderoso anticoagulante tendrán consecuencias significativas en el riesgo trombotico. Existen situaciones adquiridas, como el tratamiento con L-asparaginasa, o los grandes quemados, en los que los niveles de AT se reducen por diferentes mecanismos⁷. Pero la principal situación en la que se ha estudiado la deficiencia de AT tiene base molecular. La deficiencia congénita de AT tiene una baja incidencia en la población general (1/600-1/5.000)⁸, y se debe principalmente a mutaciones y deleciones que afectan a *SERPINC1*. La sensibilidad estructural y funcional de la AT hace que prácticamente cualquier cambio genético, incluso puntual que afecte a un solo aminoácido, tenga consecuencias deletéreas sobre la molécula. De hecho no existen polimorfismos misense en *SERPINC1*. Hasta 336 alteraciones genéticas diferentes se encuentran depositadas en la principal base de datos de mutaciones asociadas con deficiencia de AT, y dos son los trabajos, ambos realizados en Alemania que incluyen las mayores series de pacientes con deficiencia de AT caracterizados molecularmente^{9,10}.

La deficiencia de AT se clasifica en dos grandes tipos: tipo I, cuando los niveles antigénicos y funcionales son paralelos y bajos (en torno al 50%) y no se detectan variantes de AT en plasma; y tipo II, cuando se detectan niveles significativos de formas variantes con menor o nula actividad anticoagulante en plasma. A su vez, dependiendo de la localización de la mutación y de sus consecuencias funcionales, las deficiencias tipo II se clasifican en: a) tipo IIa o reactivas, si la mutación afecta al RCL e interfiere con la reactividad de la AT con las proteasas diana; b) tipo IIb o del dominio de unión a heparina, si la mutación afecta a la interacción con la heparina o al cambio conformacional inducido por esta; y c) tipo IIc o pleiotrópicas, mutaciones localizadas en la lámina C que afectan tanto a la reactividad como a la afinidad por heparina¹¹.

Existen diferentes modelos animales para estudiar la deficiencia de AT. En el ratón, la deficiencia completa de AT en modelos clásicos *knock out*, provoca letalidad embrionaria¹². En zebrafish la deficiencia de AT provoca trombosis venosa espontánea en las larvas¹³. En humanos no se ha identificado ningún caso con deficiencia completa de AT, por lo que se asume que causa letalidad embrionaria. Finalmente destacamos el reciente modelo de silenciamiento de AT en ratones adultos. Sorprendentemente, en ratones, es necesaria la deficiencia casi completa de AT y PC para que se objetiven eventos tromboticos espontáneos¹⁴.

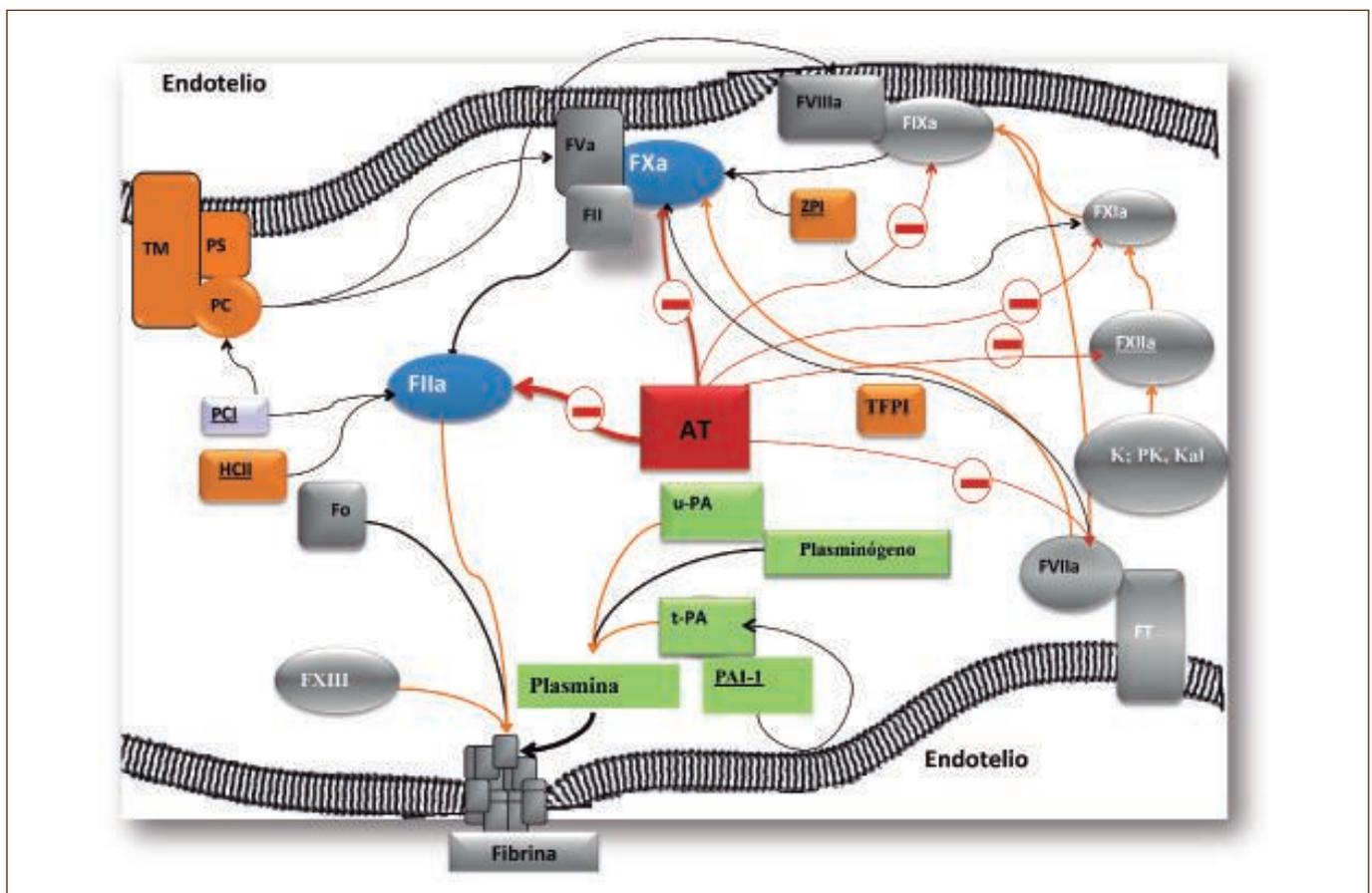


Figura 2. Representación de la cascada de la coagulación, destacando las funciones anticoagulantes de la antitrombina y las proteasas procoagulantes que son su diana.

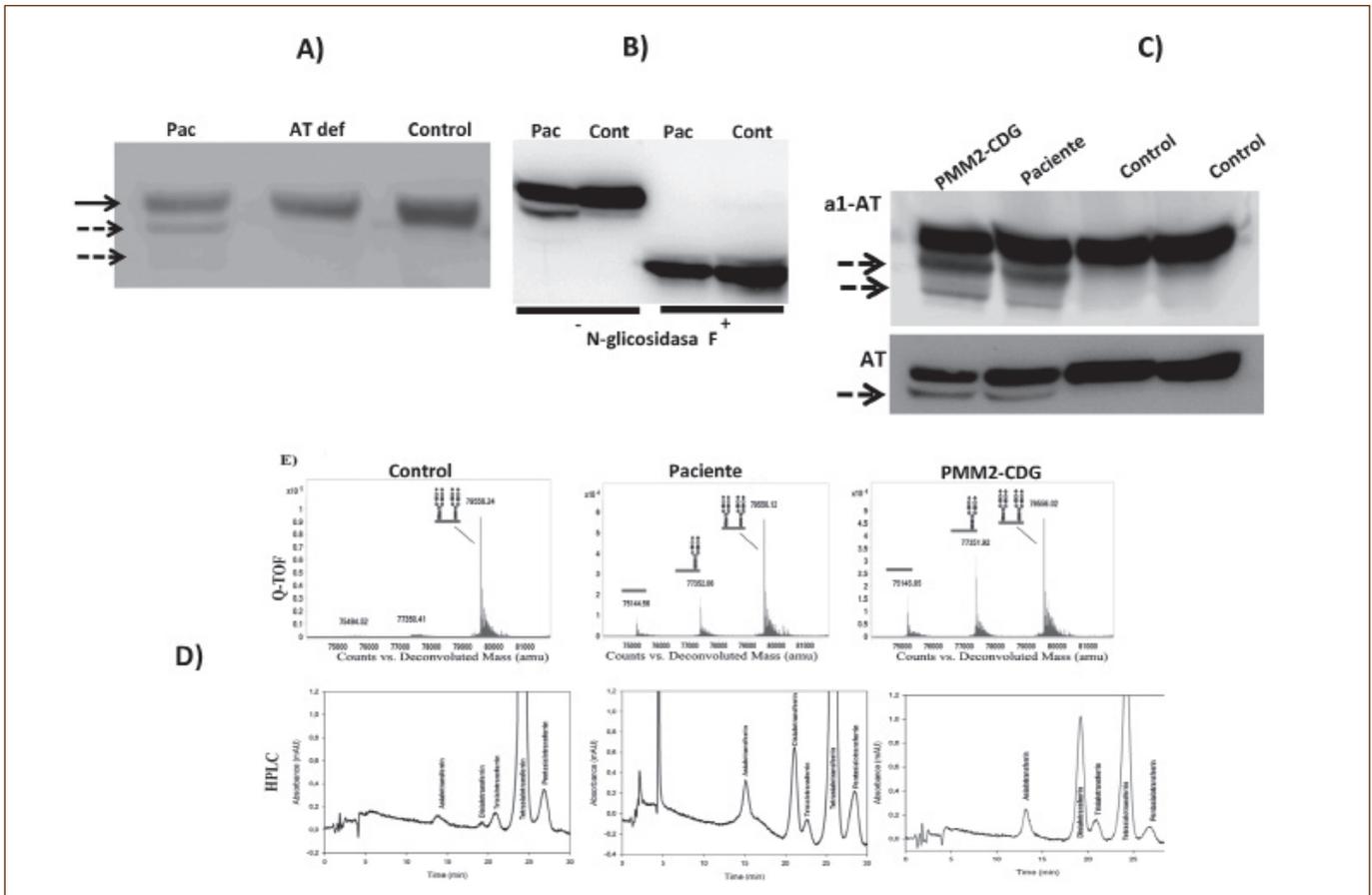


Figura 3. Desórdenes de glicosilación en pacientes con deficiencia de antitrombina sin mutaciones en *SERPINC1*. A. Detección de la antitrombina plasmática mediante Western blot en un paciente con estas características, un paciente con deficiencia de antitrombina clásica (AT def) y un control sano. Las flechas discontinuas muestran las formas hipoglicosiladas detectadas en el paciente. B. Tratamiento con N-glicosidasa F del plasma del paciente (Pac) y un control (Cont). C. Glicofomas de antitrombina (AT) y α 1-antitripsina (α 1-AT) en el paciente, un sujeto con trastornos de glicosilación congénito (PMM2-CDG) y 2 controles. D. Glicofomas de transferrinas detectadas por HPLC (arriba) y Q-TOF (abajo) en el paciente, un sujeto con trastornos de glicosilación congénito (PMM2-CDG) y un control.

Muchas dudas, desconocimiento y aparentes contradicciones

Plantear hipótesis desde el laboratorio es arriesgado, requiere multitud de aproximaciones y experimentación, y las conclusiones a las que se llegan, por muy sustentadas que estén pueden no tener implicaciones clínicas o incluso ser artefactuales. La mayor parte de nuestro trabajo sobre esta vieja molécula se basa en emplear a la naturaleza como verdadero laboratorio de experimentación, como el mejor escenario de un experimento. La mayor parte de nuestro trabajo se inicia con pacientes, identificados por hematólogos de muchos hospitales españoles y de otros países que nos han aportado a lo largo de 10 años más de 200 casos con sospecha de deficiencia de AT, muchos casos verdaderamente excepcionales. Esta forma de trabajo tiene muchas limitaciones: la escasez de muestra, la imposibilidad de acceder al hígado (y por tanto la dificultad de realizar estudios de ARN y expresión), o la complejidad de cada paciente (lo que puede ser también una fortaleza para este modelo). Estas dificultades se intentan compensar

con diferentes modelos experimentales que son posibles por la multidisciplinariedad de nuestro grupo y gracias a las colaboraciones que mantenemos con otros grupos. Pero esta forma de trabajo tiene una fortaleza incuestionable: ¡son situaciones reales! Lo que encontremos realmente existe. Cada uno de los pacientes estudiados son joyas biológicas que contribuyen a completar un puzzle complejo, gigante, del que con seguridad todavía sólo hemos completado una pequeña parte. Porque pese a conocerse mucho sobre la AT, existen muchas incógnitas y aspectos que nos sorprenden sobre esta molécula.

Incidencia de la deficiencia de antitrombina en patología trombótica. Limitaciones de los métodos diagnósticos actuales

Si la deficiencia de antitrombina fue el primer defecto trombofílico y hasta la fecha el más potente, ¿porqué la incidencia de deficiencia de antitrombina es tan baja en pacientes con trombosis? Estudios clásicos del grupo de hemostasia de Sant Pau demostraron que apenas un 1%

de los pacientes consecutivos con trombosis venosa presentan deficiencia de antitrombina¹⁵. Una justificación a esta aparente contradicción es que la deficiencia de antitrombina pudiera estar subestimada. De hecho, recientes trabajos sugirieron que los métodos disponibles actualmente en la práctica clínica para el diagnóstico de la deficiencia de antitrombina tienen limitaciones y no detectan ciertas mutaciones que sí tienen efecto deletéreo¹⁶. La concentración y tiempo de incubación con la heparina y la proteasa diana empleada en métodos funcionales cromogénicos pueden influir en la detección de ciertas mutaciones que afectan al dominio de unión a heparina o al centro reactivo¹⁶. Por eso, pacientes diagnosticados en ciertos laboratorios pasarían desapercibidos en otros. Son necesarias nuevas aproximaciones diagnósticas, de las que hablaremos más adelante.

Nuevos mecanismos responsables de deficiencia de antitrombina

Los efectos funcionales de ciertas mutaciones son obvios: la asociación de mutaciones que generan codones *stop*, los que afectan al procesamiento de intrones o las grandes deleciones es razonable que provoquen deficiencia tipo I. También que las mutaciones *missense* en dominios funcionales como el RCL o el dominio de unión a heparina causen deficiencias tipo II. No obstante, es posible que este tipo de “localización” encorsete el efecto funcional de una mutación. Por ejemplo, nuestro grupo ha identificado mutaciones que a pesar de estar en el polo opuesto al RCL podrían clasificarse de reactivas ya que transforman a la serpina en sustrato al dificultar el movimiento del RCL roto. Varias mutaciones que afectan residuos conservados en serpinas provocan la deficiencia de antitrombina por un efecto conformacional, favorecen el plegamiento a formas hiperestables sin actividad anticoagulante (latente) o que ni siquiera llegan a secretarse porque se retienen intracelularmente (polímeros)¹⁷. Sin embargo, nuestro grupo identificó una repetición de 24 pares de bases que provoca la inserción manteniendo la fase de lectura de 8 residuos en la lamina beta central A, que sorprendentemente se pliega y secreta casi con normalidad (por tanto causa una deficiencia tipo II), pero con una insospechada configuración estructural, definida cristalográficamente: una conformación hiperestable con RCL en configuración nativa¹⁸ (Figura 1).

Además, nuestro grupo ha demostrado que existen otros mecanismos responsables de la deficiencia de antitrombina. Una incorrecta maduración de la glicosilación causada por mutaciones *missense* en la hebra C explica el defecto de afinidad por heparina de las mutaciones pleiotrópicas¹⁹.

Finalmente, quizás por el momento, también hemos comprobado en un estudio que se presenta en este Congreso, que las mutaciones que provocan procesamiento de intrones aberrantes son más frecuentes de lo descrito (hasta el 20% de los casos con deficiencia de antitrombina), pueden tener consecuencias completamente inesperadas, como una mutación en un intrón que genera un nuevo procesamiento que resulta en una proteína mayor, y por tanto una deficiencia tipo II; la primera duplicación de un exón que causa una deficiencia moderada, o mutaciones que se consideraban *missense* pero en realidad nunca provocan el cambio de aminoácido pues el exón ni se procesa.

Las clasificaciones son muy dogmáticas y quizás están planteadas para buscar excepciones. Por tanto, el análisis de nuevos casos o el estudio profundo de casos ya descritos pueden aportar información novedosa al mecanismo responsable de la deficiencia de antitrombina.

Nuevos conceptos en la trombofilia basados en el estudio de la deficiencia de antitrombina

Deficiencia transitoria: un nuevo concepto de trombofilia congénito-adquirido

La separación entre deficiencia congénita y adquirida es en nuestra opinión demasiado radical. Las deficiencias o son congénitas o son adquiridas se ha dicho toda la vida. El estudio de pacientes con valores contradictorios, deficientes en ciertos momentos (normalmente cercanos al evento trombótico) y completamente normales en otros, nos llevó a secuenciar el gen *SERPINC1* y descubrir diferentes mutaciones con mínimo efecto en el plegamiento, secreción o función de la proteína en condiciones normales, pero que en ciertas condiciones o factores que no afectan a la proteína silvestre, causan un efecto deletéreo en la forma variante. Normalmente estas mutaciones desestabilizan la estructura nativa de la antitrombina y facilitan, en determinadas condiciones, la transición a formas hiperestables que carecen de actividad anticoagulante²⁰. Por tanto, el estudio de la deficiencia de antitrombina 6 meses después del evento trombótico, cuando se realizan los estudios de trombofilia pueden perder este tipo de deficiencias, que de acuerdo con nuestros resultados tienen menor riesgo trombótico asociado pero son mucho más frecuentes que las deficiencias congénitas clásicas.

Identificación de nuevas trombofilias: trastornos de glicosilación

La búsqueda de nuevas trombofilias ha sido frustrante en los últimos 20 años. Los estudios GWAS han demostrado que no existen más polimorfismos protrombóticos en población caucásica, al menos con alto riesgo (OR > 2) y elevada MAF (> 2%)²¹. El estudio de familias trombofílicas ha permitido identificar solo dos nuevas trombofilias severas en los genes del FIX y FII que prácticamente se restringen a las familias en las que se han descrito^{22,23}. Por último, la secuenciación masiva sin duda identificará nuevas trombofilias, pero todavía no ha dado resultados claros²⁴. Son por tanto necesarias nuevas aproximaciones para identificar nuevos genes implicados en trombosis y caracterizar el mecanismo implicado. En este contexto, el estudio del primer y mayor defecto trombofílico, la deficiencia de antitrombina podría ser excelente modelo. Especialmente porque hasta un 25% de los casos con deficiencia de antitrombina no presentan alteraciones moleculares (mutaciones o deleciones) en los exones de *SERPINC1*. Nosotros recogimos durante 10 años 30 casos con trombosis y deficiencia de antitrombina con estas características. Pueden existir alteraciones en otras regiones de *SERPINC1* con implicaciones reguladoras, de las que hablaremos posteriormente, y mutaciones profundas en intrones que puedan afectar al procesamiento de intrones, de las que ya hemos hablado con anterioridad, que expliquen algunos de estos casos. Pero el estudio de las características bioquímicas de la antitrombina plasmática en estos casos nos llevó a identificar, en el 27% de los casos, un aumento significativo de la forma de antitrombina con 3 glicanos y la presencia de formas con 2 glicanos (Figura 3A). El defecto de glicosilación fue verificado al confirmar que esta heterogeneidad desaparecía cuando se trataba el plasma de estos pacientes con N-glicosidasa F (Figura 3B). La alteración post-traduccional no se restringía a la antitrombina, ya que detectábamos formas hipoglicosiladas en todas las N-glicoproteínas evaluadas, α 1-antitripsina y transferrina (Figura 3C y D), FXI y protrombina. El patrón electroforético era idéntico al del

trastorno de glicosilación congénito (CDG) más frecuente dentro de su rareza (1/20000): PMM2-CDG (Figura 3C). De hecho, el estudio de las glicofomas de transferrina por HPLC y Q-TOF muestra inequívocamente el mismo patrón tipo I de hipoglicosilación que tienen los pacientes PMM2-CDG (Figura 3D). El estudio genético dirigido (a *PMM2*) y masivo (exoma completo) reveló que diferentes genes involucrados en N-glicosilación estaban implicados: *PMM2*, *ALG12*, *SCLA*, *ALG6*. De hecho, identificamos dos situaciones con el mismo efecto final pero con dos mecanismos diferentes. Por una parte los tres casos que tenían una deficiencia severa y permanente de antitrombina y un desorden de glicosilación permanente presentaban dos mutaciones en genes implicados en N-glicosilación (*PMM2* y *ALG12*). Serían verdaderos CDG, aunque con una clínica inusual ya que no da la cara neurológica y por tanto no se diagnostican por pediatras. Un tercer caso con idénticas características presentaba un perfil de alteraciones en diferentes genes implicados en N-glicosilación, mostrando que estas enfermedades también pueden ser complejas genéticamente. Por el contrario, la mayoría de los casos con deficiencia de antitrombina y defectos de glicosilación, tenían un fenotipo (de la deficiencia y del desorden de glicosilación) transitorio, que en momentos era radicalmente normal. En estos casos, la combinación de un solo defecto genético en genes de N-glicosilación y un factor adquirido, el moderado alcoholismo, que también afecta a esta modificación post-traduccional, provocaba el mismo fenotipo (transitorio) que dos mutaciones. La incidencia de estas alteraciones en trombosis, especialmente las transitorias que potencialmente pueden ser relativamente frecuentes, debe ser definida en estudios posteriores, y posiblemente por estudios moleculares de secuenciación masiva.

Implicaciones clínicas

Heterogeneidad clínica

Aunque la deficiencia de antitrombina es el defecto trombofílico más potente, existe una evidente heterogeneidad clínica. Ciertas deficiencias de antitrombina, con los mismos valores de actividad anticoagulante determinada por los métodos actuales que otros casos (50%), tienen bajo riesgo trombofílico. Los casos más evidentes son los que afectan a la afinidad por heparina. Son los casos en los que se han descrito mutaciones en homocigosis (que normalmente son muy severas), son los más frecuentes en la población general y normalmente requieren de factores adicionales (FV Leiden, protrombina) para que desencadenen un evento trombofílico. Estas mutaciones afectan a la activación por heparina y por tanto tienen íntegra la actividad anticoagulante progresiva. Además, nuestro grupo demostró que estas mutaciones tienen consecuencias sobre una glicofoma de antitrombina, la alfa, pero la glicofoma beta sigue siendo capaz de unirse y activarse con heparina. Por tanto, describimos un mosaicismo funcional que contribuye al menor riesgo trombofílico de los portadores de estas mutaciones²⁵.

Pero también existen mutaciones que se asocian con una clínica muy severa (temprana, recurrente, arterial...). El primer ejemplo se identificó en los portadores de la delección Arg393, el residuo P1 del RCL. Aunque esta antitrombina se pliega y secreta con normalidad no tiene actividad anticoagulante. Pero su mayor afinidad por heparina hace que en condiciones de baja concentración de heparina (las que se estima existe en condiciones fisiológicas) compite con la forma silvestre codificada por el alelo normal impidiendo su activación y por

tanto restando capacidad anticoagulante global²⁶. También las mutaciones que facilitan el paso a conformación latente podrían, además de provocar una pérdida de función (la forma latente recordemos no tiene actividad anticoagulante), causar una ganancia de función ya que la forma latente podría formar un dímero con la forma nativa y reducir la actividad anticoagulante de la forma nativa¹⁷. Nosotros sugerimos otro mecanismo de ganancia de función que también afecta a mutaciones con efecto conformacional. Aquellas mutaciones que facilitan la formación de polímeros podrían ser infectivas, y en condiciones de estrés no sólo permitir la incorporación de monómeros mutados, sino también de formas nativas al polímero en crecimiento. De esta forma, no sólo identificamos el mecanismo que justifica una clínica más severa, sino también damos razones para explicar porqué en muchos casos con estas mutaciones la trombosis se produce precisamente en momentos de estrés (infección, inflamación embarazo). Por tanto, identificamos nuevas situaciones de riesgo para ciertas alteraciones genéticas²⁷.

Debemos reflexionar de nuevo sobre la necesidad de desarrollar nuevos métodos diagnósticos que además de detectar la deficiencia de antitrombina, permitan definir el pronóstico asociado con el defecto de cada paciente.

Recomendaciones clínicas en portadores de deficiencia de antitrombina

La deficiencia de antitrombina es de las pocas trombofilias cuyo diagnóstico tiene claras ventajas que ayudan al manejo de portadores. En primer lugar porque existe un tratamiento específico; los concentrados de antitrombina, que pueden emplearse en condiciones de riesgo como terapia sustitutiva sin afectar a otros elementos o sistemas²⁸. También es, junto a la deficiencia de proteína C y S, una trombofilia en la que la evidencia científica sustenta prolongar el tratamiento anticoagulante en pacientes sintomáticos²⁹ o la profilaxis antitrombótica en situaciones de riesgo para portadores asintomáticos³⁰. El estudio de una pareja de gemelos dicigóticos que se presenta también en este Congreso, ambos con la misma mutación responsable de la deficiencia de antitrombina y sin diferencias en el resto de factores trombofílicos (FV Leiden, protrombina ABO), ha identificado una situación nueva, en la que la detección de la deficiencia de antitrombina pueda recomendar un manejo clínico diferente. Uno de los gemelos, el que tuvo un parto complicado que precisó del uso de fórceps, desarrolló una trombosis de senos venosos a los 9 días de vida, que le dejó graves secuelas. Esta observación, junto al elevado porcentaje de neonatos con trombosis de venas en los que coincide el uso de fórceps (60%)³¹ aconsejan evitar el uso de estos dispositivos en hijos de portadores de la deficiencia congénita de antitrombina (tanto madre como padre).

Otras funciones de la antitrombina

Una serpina que tiene tan escasa especificidad de interacción difícilmente podría tener una función restringida al sistema hemostático. Nuestro grupo demostró que la antitrombina también tiene un destacado papel antiapoptótico, y tiene capacidad de inhibir una proteasa intracelular³², y hemos comprobado que también tiene funciones anti-tumorales, inhibiendo a la enteropoptidasa, una proteasa implicada en los procesos de degradación de la matriz extracelular y por tanto en la metástasis. Pero también la antitrombina tiene otras funciones independientes de su actividad inhibitoria. Así, hace ya casi 20 años se descubrió su potente acción antiangiogénica, restringida a formas

con estructura hiperestable (latente, rota y polímeros)³³ y también se ha descrito una función anti-inflamatoria que depende de su interacción, a través del dominio de unión a heparina, a receptores de membrana que disparan una serie de transmisión de señales intracelulares que culminan con la producción de prostaciclina³⁴. Muy recientemente, la línea de trabajo que lidera la Dra. Irene Martínez-Martínez está investigando el posible papel que pudiera tener en la regulación a distancia la antitrombina contenida en el interior de exosomas.

Conocimiento básico

El estudio profundo de la antitrombina nos puede también proporcionar información que trascienda a esta molécula. La identificación del dímero de antitrombina unido por puentes disulfuro que detectamos en casos con mutaciones polimerizantes¹⁷ sirvió para proponer un nuevo mecanismo de polimerización de serpinas completamente original mediante intercambio de dominios³⁵. El estudio de una familia con severa clínica trombotica con la mutación Met11Ile, que afecta al codón iniciador de la antitrombina, más bien el modelo recombinante que generamos para evaluar el efecto de esta mutación, nos ha mostrado resultados sorprendentes que abren nuevas perspectivas en el conocimiento básico del inicio de traducción y en la importancia del péptido señal en la localización celular y plegamiento de las serpinas.

Desarrollo de nuevas aproximaciones terapéuticas empleando antitrombina

La forma de suplir la carencia de antitrombina es actualmente la terapia sustitutiva, y la de potenciar su capacidad anticoagulante el tratamiento con heparina. Nuestro grupo ha buscado alternativas a estas posibilidades terapéuticas. Por una parte, estamos buscando factores que induzcan la actividad transcripcional del gen *SERPINC1*. Dos aproximaciones nos han servido para identificar potenciales agentes transcripcionales: por una parte la secuenciación de regiones potencialmente reguladoras (promotor y primeros intrones) en pacientes con deficiencia sin mutaciones en exones, nos ha permitido identificar mutaciones en regiones de respuesta a vitamina D, que avalan el papel de esta vitamina en el control de este gen. Por otra parte, el estudio de pacientes con niveles inusualmente elevados de antitrombina nos ha permitido identificar a las sales biliares como otros elementos reguladores. La idea es buscar combinaciones de estos compuestos que permitan elevar los niveles endógenos de antitrombina. Por otra parte, hemos buscado compuestos capaces de unirse al sitio de unión a heparina para encontrar nuevos agentes anticoagulantes. Mediante *docking* estructural identificamos un compuesto que provoca una activación parcial de la antitrombina³⁶. Por otra parte, mediante purificación por FPLC en columnas con antitrombina, y posterior secuenciación masiva de RNA, hemos identificado una serie de pequeñas moléculas de ARN con homología de secuencia que se unen y activan a la antitrombina.

Conclusiones

La crisis de los 50 no le viene mal a la antitrombina. Novedades diagnósticas, perspectivas de identificación de nuevos mecanismos de deficiencia e incluso nuevas trombofilias, conocimiento básico y desarrollo de nuevas aproximaciones terapéuticas, así como la identificación de nuevas funciones para un viejo anticoagulante animan a continuar con el estudio de la antitrombina. Nunca debemos olvidar a los clásicos.

Bibliografía

- Bucciarelli P, Passamonti SM, Biguzzi E, et al. Low borderline plasma levels of antithrombin, protein C and protein S are risk factors for venous thromboembolism. *J Thromb Haemost* 2012;10:1783-91.
- Carrell RW, Stein PE, Fermi G, et al. Biological implications of a 3 A structure of dimeric antithrombin. *Structure* 1994;2:257-70.
- Schreuder HA, de Boer B, Dijkema R, et al. The intact and cleaved human antithrombin III complex as a model for serpin-proteinase interactions. *Nat Struct Biol* 1994;1:48-54.
- Huntington JA, Read RJ, Carrell RW. Structure of a serpin-protease complex shows inhibition by deformation. *Nature* 2000;407: 923-6.
- Huntington JA, McCoy A, Belzar KJ, et al. The conformational activation of antithrombin. A 2.85-Å structure of a fluorescein derivative reveals an electrostatic link between the hinge and heparin binding regions. *The Journal of biological chemistry*. 2000;275:15377-83.
- Ng L, Monagle K, Monagle P, et al. Topical use of antithrombotics: Review of literature. *Thromb Res* 2015;135:575-81.
- Maclean PS, Tait RC. Hereditary and acquired antithrombin deficiency: Epidemiology, pathogenesis and treatment options. *Drugs* 2007;67:1429-40.
- Tait RC, Walker ID, Perry DJ, et al. Prevalence of antithrombin deficiency in the healthy population. *Br J Haematol* 1994;87:106-12.
- Caspers M, Pavlova A, Driesen J, et al. Deficiencies of antithrombin, protein C and protein S - practical experience in genetic analysis of a large patient cohort. *Thromb Haemost* 2012;108:247-57.
- Luxembourg B, Delev D, Geisen C, et al. Molecular basis of antithrombin deficiency. *Thromb Haemost* 2011;105:635-46.
- Lane DA, Bayston T, Olds RJ, et al. Antithrombin mutation database: 2nd (1997) update. For the Plasma Coagulation Inhibitors Subcommittee of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. *Thromb Haemost* 1997;77:197-211.
- Ishiguro K, Kojima T, Kadomatsu K, et al. Complete antithrombin deficiency in mice results in embryonic lethality. *J Clin Invest* 2000;106:873-8.
- Liu Y, Kretz CA, Maeder ML, et al. Targeted mutagenesis of zebrafish antithrombin III triggers disseminated intravascular coagulation and thrombosis, revealing insight into function. *Blood* 2014;124:142-50.
- Safdar H, Cheung KL, Salvatori D, et al. Acute and severe coagulopathy in adult mice following silencing of hepatic antithrombin and protein C production. *Blood* 2013;121:4413-6.
- Mateo J, Oliver A, Borrell M, et al. Laboratory evaluation and clinical characteristics of 2,132 consecutive unselected patients with venous thromboembolism - results of the Spanish Multicentric Study on Thrombophilia (EMET-Study). *Thromb Haemost* 1997;77:444-51.
- Corral J, Vicente V. Puzzling questions on antithrombin: Diagnostic limitations and real incidence in venous and arterial thrombosis. *Thromb Res* 2015;135:1047-8.
- Corral J, Vicente V, Carrell RW. Thrombosis as a conformational disease. *Haematologica* 2005;90:238-46.
- Martínez-Martínez I, Johnson DJ, Yamasaki M, et al. Type II antithrombin deficiency caused by a large in-frame insertion: Structural, functional and pathological relevance. *J Thromb Haemost* 2012;10:1859-66.
- Aguila S, Navarro-Fernández J, Bohdan N, et al. Role of the C-sheet in the maturation of N-glycans on antithrombin: Functional relevance of pleiotropic mutations. *J Thromb Haemost* 2014;12:1131-40.
- Beauchamp NJ, Pike RN, Daly M, et al. Antithrombins Wibble and Wobble (T85M/K): archetypal conformational diseases with in vivo latent-transition, thrombosis, and heparin activation. *Blood* 1998; 92:2696-706.
- Germain M, Chasman DI, de Haan H, et al. Meta-analysis of 65,734 individuals identifies TSPAN15 and SLC44A2 as two susceptibility loci for venous thromboembolism. *Am J Hum Genet* 2015;96:532-42.

22. Miyawaki Y, Suzuki A, Fujita J et al. Thrombosis from a prothrombin mutation conveying antithrombin resistance. *N Engl J Med* 2012;366:2390-6.
23. Simioni P, Tormene D, Tognin G, et al. X-linked thrombophilia with a mutant factor IX (factor IX Padua). *N Engl J Med* 2009;361:1671-5.
24. Lotta LA, Tuana G, Yu J, et al. Next-generation sequencing study finds an excess of rare, coding single-nucleotide variants of ADAMTS13 in patients with deep vein thrombosis. *J Thromb Haemost* 2013;11:1228-39.
25. Martínez-Martínez I, Navarro-Fernández J, Østergaard A, et al. Amelioration of the severity of heparin-binding antithrombin mutations by posttranslational mosaicism. *Blood* 2012;120:900-4.
26. Raja SM, Chhablani N, Swanson R, et al. Deletion of P1 arginine in a novel antithrombin variant (antithrombin London) abolishes inhibitory activity but enhances heparin affinity and is associated with early onset thrombosis. *J Biol Chem* 2003;278:13688-95.
27. Martínez-Martínez I, Navarro-Fernández J, Aguila S, et al. The infective polymerization of conformationally unstable antithrombin mutants may play a role in the clinical severity of antithrombin deficiency. *Mol Med* 2012;18:762-70.
28. Rodgers GM. Role of antithrombin concentrate in treatment of hereditary antithrombin deficiency. An update. *Thromb Haemost* 2009;101:806-12.
29. Lijfering WM, Brouwer JL, Veeger NJ, et al. Selective testing for thrombophilia in patients with first venous thrombosis: Results from a retrospective family cohort study on absolute thrombotic risk for currently known thrombophilic defects in 2479 relatives. *Blood* 2009;113:5314-22.
30. Mahmoodi BK, Brouwer JL, Ten Kate MK, et al. A prospective cohort study on the absolute risks of venous thromboembolism and predictive value of screening asymptomatic relatives of patients with hereditary deficiencies of protein S, protein C or antithrombin. *J Thromb Haemost* 2010;8:1193-200.
31. Berfelo FJ, Kersbergen KJ, van Ommen CH, et al. Neonatal cerebral sino-venous thrombosis from symptom to outcome. *Stroke* 2010;41:1382-8.
32. Guerrero JA, Teruel R, Martínez C, et al. Protective role of antithrombin in mouse models of liver injury. *J Hepatol* 2012;57:980-6.
33. O'Reilly MS, Pirie-Shepherd S, Lane WS, et al. Antiangiogenic activity of the cleaved conformation of the serpin antithrombin. *Science* 1999;285:1926-8.
34. Mizutani A, Okajima K, Uchiba M, et al. Antithrombin reduces ischemia/reperfusion-induced renal injury in rats by inhibiting leukocyte activation through promotion of prostacyclin production. *Blood* 2003;101:3029-36.
35. Yamasaki M, Li W, Johnson DJ, et al. Crystal structure of a stable dimer reveals the molecular basis of serpin polymerization. *Nature* 2008;455:1255-8.
36. Navarro-Fernández J, Pérez-Sánchez H, Martínez-Martínez I, et al. In silico discovery of a compound with nanomolar affinity to antithrombin causing partial activation and increased heparin affinity. *J Med Chem* 2012;55:6403-12.

Ponencias

Plaquetas y endotelio

COORDINADORES: P. Medina Badenes. Instituto de Investigación Sanitaria La Fe. Valencia
J. Rivera Pozo. Centro Regional de Hemodonación. Murcia

Las micropartículas, recientemente renombradas vesículas extracelulares, son vesículas de membrana de pequeño tamaño que se liberan al torrente sanguíneo a partir de células activadas o apoptóticas. En condiciones fisiológicas, la concentración de microvesículas en sangre periférica es relativamente baja pero, en ciertas condiciones asociadas a activación celular y daño vascular, se produce un aumento de microvesículas circulantes. Estas microvesículas tienen un efecto procoagulante fundamentalmente debido a la presencia de fosfolípidos cargados negativamente en su superficie como la fosfatidil serina y el factor tisular. Además, las microvesículas participan en mecanismos de comunicación intercelular, puesto que son capaces de transferir a las células circundantes las moléculas biológicamente activas que contienen en su interior. Actualmente existe una gran controversia acerca de la clasificación y denominación de los diferentes tamaños de microvesículas, los métodos de aislamiento y detección más óptimos, y las condiciones preanalíticas para su estudio.

Recientemente se ha descrito la compleja interconexión entre el sistema hemostático y los mecanismos de defensa inmunitaria para el mantenimiento de la integridad vascular. Así, tras la rotura de un vaso, las plaquetas y el sistema de la coagulación actúan junto con las células del sistema inmunitario en la formación de un coágulo que detenga el sangrado, limite la diseminación incontrolada de patógenos y facilite su eliminación localizada. Todo ello ha dado lugar al concepto de inmunotrombosis, que se define como la respuesta inmunitaria inducida por la formación de un trombo venoso, especialmente en la microvasculatura.

Este simposio pretende compilar los últimos descubrimientos sobre las funciones de las plaquetas en modelos animales, el estado actual del tema y los principales avances en el estudio de las microvesículas circulantes, así como su interconexión con la función plaquetaria y, por último, su relación con la inmunotrombosis y el papel que el endotelio y el sistema del complemento juegan en este complejo mecanismo.

La Dra. Josune Orbe realizará una puesta al día sobre el tema controvertido de las vesículas extracelulares. Así, nos presentará los diferentes tipos de vesículas extracelulares, los recientes cambios en su nomenclatura y los esfuerzos que están realizando las sociedades científicas para estandarizar los protocolos de aislamiento y detección.

La Dra. Gemma Vilahur ahondará en las funciones protrombóticas y proinflamatorias de las vesículas extracelulares secretadas por las plaquetas puesto que, tal y como nos mostrará, son una pieza clave en el papel que ejercen las plaquetas en la aterosclerosis y en sus complicaciones trombóticas.

El Dr. Pablo de Frutos nos presentará sus recientes resultados en modelos animales de ratones modificados genéticamente, *knockouts* y *knockin*, los cuales han aportado datos muy relevantes al conocimiento de la función plaquetaria.

Finalmente, el Dr. Bernard Engelmann realizará una completa revisión sobre la inmunotrombosis y los mecanismos que participan en ella. Fundamentalmente, se centrará en el papel que juegan el sistema del complemento y el endotelio vascular, puesto que quizás son los componentes más desconocidos de la inmunotrombosis.

Actualidad de la estandarización para el estudio de microvesículas circulantes

J. Orbe, C. Roncal, J.A. Páramo

Línea de Aterotrombosis, Programa de Enfermedades Cardiovasculares. Centro de Investigación Médica Aplicada. Clínica Universidad de Navarra. Pamplona

Introducción

Cada vez son más las evidencias que indican que las vesículas extracelulares juegan un papel importante en diversos aspectos de la biología (tráfico intracelular de vesículas, inmunidad, desarrollo, coagulación, angiogénesis, etc.), contribuyen al desarrollo de enfermedades (cáncer, enfermedades neurodegenerativas, trombosis, etc.) y tienen un gran potencial biotecnológico^{1,2}. Pero ¿qué son las vesículas extracelulares, cómo podemos obtenerlas y qué métodos tenemos para caracterizarlas y cuantificarlas?

Definición

Existen varias formas de denominar a las vesículas extracelulares. Los términos más empleados son *exosomas* y *microvesículas*, y hacen referencia a la forma de producción³. Los exosomas son aquellas vesículas derivadas de cuerpos multivesiculares que tras la fusión de su membrana con la membrana celular se vuelcan al espacio extracelular. Su principal característica es su menor tamaño, comprendido entre 100 y 300 nm, por lo que sedimentan tras centrifugación a 70.000-100.000 xg. Los exosomas participan en distintos procesos biológicos normales y patológicos, y se detectan en diferentes fluidos biológicos (saliva, sangre u orina).

Por otro lado, están las denominadas microvesículas (MV), que provienen de la modificación de la membrana celular tras un estímulo externo o interno que conlleva una alteración de su estructura que permite la evaginación y la formación de la vesícula. Las MV tienen tamaño mayor, comprendido entre 100 nm y 1 µm, y sedimentan tras centrifugación a 10.000 xg⁴.

Numerosos estudios sugieren que ambos tipos de vesículas tienen más similitudes que las que se pensaba en cuanto a la composición de membrana y al solapamiento de densidad y diámetro⁵. Es por ello que actualmente, basándonos en la recomendación de la Sociedad Internacional de Vesículas Extracelulares, lo más correcto es utilizar un término más amplio como vesículas extracelulares (EV) para denominar al conjunto de vesículas (tanto exosomas como MV). Todas ellas contienen proteínas, ácidos nucleicos, lípidos (no solo en la superficie) y azúcares. Se ha descrito que algunas de estas vesículas, que se pensaba inicialmente que eran transportadoras de material de desecho, son capaces también de ejercer funciones en las células receptoras. Las EV juegan un papel importante en la comunicación celular, se secretan por distintos tipos celulares y portan y exponen sustancias bioactivas que pueden estar implicadas en la presentación antigénica, la activación, la inhibición y la diferenciación celular⁶⁻⁸. Existen niveles elevados de EV en diversas patologías, como enfermedades de componente inmune, cáncer o enfermedades cardiovasculares, y se ha propuesto que la detección de las EV y su análisis podrían mejorar la comprensión de

estas patologías y constituir una herramienta muy útil en la predicción, el diagnóstico, el pronóstico y el seguimiento. Sin embargo, el tamaño nanométrico supone una gran limitación y a la vez un reto que requiere un esfuerzo de investigación para superar las dificultades existentes para su aislamiento y detección, mediante procesos estandarizados que aún no se han alcanzado.

Obtención

Las EV se detectan en diferentes fluidos biológicos como la saliva, la sangre o la orina; por tanto, tomando muestras de estos pueden diagnosticarse determinadas enfermedades, sin que ello suponga ninguna prueba agresiva para el paciente⁴.

El aislamiento de las EV de los fluidos corporales se ve afectada por la recogida, la manipulación y la presencia de contaminantes de tamaño similar, tales como complejos de proteínas/agregados y lipoproteínas. La técnica ampliamente utilizada para separar y recoger vesículas secretadas es la centrifugación diferencial⁹. De hecho, muchos investigadores utilizan esta técnica para definir las microvesículas y los exosomas. Sin embargo, existen problemas de estandarización por la aplicación inapropiada y la interpretación de la centrifugación diferencial en el análisis de las vesículas extracelulares, la variabilidad introducida por el uso de rotores con diferentes factores *k* y la sustitución de la centrifugación diferencial sin una posterior verificación de las técnicas. Además, las altas fuerzas centrífugas pueden fragmentar o activar las células, lo que conduce a la liberación artefactual de vesículas.

Por otra parte, las EV aisladas por centrifugación diferencial contienen lipoproteínas y complejos de proteínas, que afectan a la determinación del tamaño y también a su caracterización por *Western blot* o proteómica.

Para mitigar estas deficiencias, se deben establecer unos requisitos mínimos: a) eliminación de las células y grandes restos celulares por centrifugación a baja velocidad del fluido extracelular (por ejemplo, aproximadamente 200-1000 xg durante 3-15 minutos); b) peletar las vesículas grandes, por centrifugación a velocidad media (por ejemplo, 10.000 xg durante 30 minutos, un mínimo de 2 veces); c) recoger vesículas pequeñas por ultracentrifugación a 70.000-100.000 xg, y d) definir el factor *k* y el tipo de rotor utilizado en los experimentos³. Además, se recomienda el uso de métodos complementarios como el gradiente de sucrosa y la cromatografía de exclusión por tamaño para minimizar el efecto de los contaminantes que coprecipitan con las EV, así como microscopía de luz y microscopía electrónica para determinar su naturaleza¹⁰.

En el caso de muestras de sangre, lo mejor es analizar la EV en el plasma. El anticoagulante de elección según el comité de estandarización de la International Society on Thrombosis and Haemostasis es el

citrato, aunque también se puede emplear el EDTA y no se recomienda la heparina, ya que interfiere con las reacciones en cadena de polimerasa y se puede unir a las EV. Durante la extracción se debe emplear aguja de 21 G o mayores, con extracción directa para evitar fuerzas de rozamiento. Una vez extraída la muestra, se mezcla con el anticoagulante por inmersión 8-10 veces sin agitar y se procesa antes de los 30 min. Se recomienda la centrifugación seriada a temperatura ambiente para evitar la activación plaquetaria y el almacenaje a -80 °C, tras una congelación rápida de la muestra en hielo seco o nitrógeno líquido, en tubos siliconados para evitar su adhesión a las paredes⁴.

Cuantificación y caracterización

La determinación de la distribución del tamaño de las EV es importante desde el punto de vista de la clasificación de vesículas y especialmente necesario para elegir el mejor método para medirlas con precisión. El tamaño y la caracterización de las EV es un reto por su pequeño tamaño y heterogeneidad. El diámetro de la mayoría de las vesículas es de tamaño “nano” y están fuera del límite de detección de métodos como los citómetros de flujo convencionales. Esto supone una limitación importante que requiere recurrir a otras técnicas sofisticadas y costosas entre las que destacan (Tabla 1):

- *Nano-particle tracking analysis* o NTA: es una técnica emergente para una caracterización de la distribución de tamaños y concentración de las poblaciones de EV. Consiste en un microscopio óptico convencional, que utiliza una fuente de luz láser de 640 nm para iluminar nanopartículas de 10-100 nm. Las partículas aparecen sobre un fondo negro de forma individual como puntos de luz moviéndose bajo el movimiento browniano reconocible y medible por el sistema que permite el seguimiento automático y proporciona el tamaño de las nanopartículas de manera individualizada. Ofrece una visualización en tiempo real de la dinámica de las nanopartículas, el análisis de cada partícula, su

contaje así como la distribución de tamaños de las partículas. En los ajustes iniciales y el calibrado se emplean bolas de silicona de 100 nm de concentración conocida¹¹.

- *Cryo-electron microscopy* (Cryo-EM): es una técnica muy útil de imagen biológica de las EV en su ambiente acuoso nativo sin fijar. La muestra se congela en unos pocos milisegundos, lo que inhibe la formación de cristales en muestras acuosas y preserva la morfología original. Esta técnica no requiere fijación ni tinción, procedimientos que muy probablemente afecten a la muestra, y por tanto ofrece una imagen más realista sobre las EV en suspensión^{12,13}.
- *Tunable resistive pulse* o TRPS: comercializado como qNano (Izon), es la técnica más precisa para determinar la distribución de tamaño de las vesículas. En el TRPS, la resistencia de un pequeño poro lleno de medio conductor se mide continuamente. Para medir la resistencia de estos, se aplica un voltaje a través de los poros y se mide la corriente eléctrica a través del poro. Mientras la vesícula se está moviendo, se incrementa la resistencia del poro y se observa una disminución transitoria de la corriente. El tamaño más pequeño detectable por el TRPS está limitado por el tamaño de poro, la conductividad del medio, la estabilidad de la corriente de línea de base y el ruido de la electrónica de detección, por lo que se requiere un tamaño reproducible y estable. Las partículas más grandes causan la obstrucción del poro, que obliga a detener la medición, desbloquear y volver a colocar la membrana, lo que puede alterar las dimensiones del poro. Esta técnica no puede detectar partículas menores de 100 nm y requiere que estas no sean conductivas en relación al medio¹⁴.
- *Small-angle X-ray scattering* o SAXS: el SAXS puede proporcionar información estructural sobre los nanomateriales en el rango de 1-200 nm de tamaño. El SAXS se basa en la dispersión elástica de los fotones de rayos X en los electrones de la muestra. Requiere una concentración muy alta de micropartículas, está en el límite de detección de la técnica y necesita infraestructuras muy específicas que solo existen en pocos laboratorios del mundo¹⁵.
- *Dymanic light scattering* o DLT: determina el tamaño de las MV en rango de 1 nm a 6 µm. Consiste en la iluminación de la muestra con un láser y la determinación de su tamaño por la dispersión de la luz y el movimiento browniano. Permite obtener la distribución de tamaños de la muestra, pero no su concentración¹⁶.
- Por último, mencionaremos la *citometría de flujo*: es el método más común para medir MV, es rápido y permite la cuantificación y la determinación de su origen celular. Es una técnica que mide las características de dispersión de luz y fluorescencia que poseen las MV conforme se las hace pasar a través de un rayo de luz. Para su análisis por citometría de flujo, las MV deben encontrarse individualmente en suspensión en un fluido. Su conteo se basa en la dispersión de la luz producida por cada vesícula, que es proporcional a su tamaño y complejidad¹⁷. Como las MV son heterogéneas en tamaño y complejidad, el principal reto de la citometría de flujo es la detección de vesículas menores a su límite de detección (200-500 nm) o la discriminación de agregados de MV que dan una idea errónea del tamaño y la complejidad de las MV contenidas en la muestra a analizar. Sin embargo, los nuevos citómetros como el Galios (Beckman Coulter), BD-Influx (BD Biosciences) o el Apogee (Apogee) permiten la discriminación de MV de hasta 100 nm de diámetro¹⁸⁻²⁰. Para el cálculo de

Tabla 1. Técnicas para la caracterización de EV

| Metodología | Resolución | Tiempo | Comentarios |
|---------------------|-------------|-----------------|---|
| NTA | ~50 nm-2 µm | Minutos a horas | Puede combinarse con sondas fluorescentes para determinar el tamaño y contenido |
| Cryo-EM | ~1 nm | Horas | Información precisa de tamaño y morfología |
| TRPS | ~100 nm | Minutos a horas | Información de distribución de tamaño y concentración. Numerosas obstrucciones del poro |
| SAXS | 1-200 nm | Minutos a horas | Precisa concentración alta de EV y necesita infraestructuras muy específicas |
| DLT | 1 nm-6 µm | Minutos a horas | Muestras monodispersas. Solo determina tamaño |
| Citometría de flujo | ~200 nm | Segundos | Rápida y permite la caracterización de EV con sondas fluorescentes |

la concentración se emplean microesferas de poliestireno/látex de tamaño y concentración conocidos que son fluorescentes en un amplio rango de excitación/emisión; sin embargo, su índice de refracción es diferente al de las MV, por lo que siguen siendo una técnica imperfecta para establecer el umbral de tamaño de la población de MV²¹. Esta técnica es rápida y tiene ventajas en la caracterización de EV, principalmente cuando se usan sondas fluorescentes que permite determinar el origen de las EV y la exposición de fosfatidil serina. Sin embargo, la cuantificación de las MV por citometría de flujo no solo es dependiente de los factores analíticos (láser, anticuerpo, instrumento, calibración, etc.), sino también de factores relacionados con la preparación de la muestra, el almacenamiento, la centrifugación, etc.

Conclusiones

Es necesario revisar los métodos de diseño de la muestra, obtención, procesamiento y aislamiento, así como el desarrollo de estándares artificiales que mimeticen el tamaño y contenido de las EV para una caracterización y cuantificación precisas. Se están desarrollando técnicas, que se basan en principios de carga de vesículas, que podrían ser detectadas, por ejemplo, por citometría de flujo o por algún tipo de sistema que además sea mucho más rápido y fiable, ya que en la actualidad no se ha comercializado un sistema de detección fiable al 100%. Por ello, debemos definir en cada estudio qué término se utiliza (exosomas, MV o EV) y especificar el método de obtención, almacenamiento y aislamiento que permita comparar resultados entre laboratorios, aunque aún se precisan mejoras en la estandarización para poder detectar las EV pequeñas con significado fisiopatológico.

Bibliografía

1. Yuana Y, Sturk A, Nieuwland R. Extracellular vesicles in physiological and pathological conditions. *Blood Rev* 2013;27:31-9.
2. Lacroix R, Dubois C, Leroyer AS, Sabatier F, Dignat-George F. Revisited role of microparticles in arterial and venous thrombosis. *J Thromb Haemost* 2013;11(Supl. 1):24-35.
3. Gould SJ, Raposo G. As we wait: coping with an imperfect nomenclature for extracellular vesicles. *J Extracell Vesicles* 2013;2.
4. Witwer KW, Buzas EI, Bemis LT, Bora A, Lasser C, Lotvall J, et al. Standardization of sample collection, isolation and analysis methods in extracellular vesicle research. *J Extracell Vesicles* 2013;2.
5. Colombo M, Raposo G, Thery C. Biogenesis, secretion, and intercellular interactions of exosomes and other extracellular vesicles. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2014;30:255-89.
6. Keller S, Sanderson MP, Stoeck A, Altevogt P. Exosomes: from biogenesis and secretion to biological function. *Immunol Lett* 2006;107:102-8.
7. Gyorgy B, Szabo TG, Pasztoi M, Pal Z, Misjak P, Aradi B, et al. Membrane vesicles, current state-of-the-art: emerging role of extracellular vesicles. *Cell Mol Life Sci* 2011;68:2667-88.
8. Lo Cicero A, Stahl PD, Raposo G. Extracellular vesicles shuffling intercellular messages: for good or for bad. *Curr Opin Cell Biol* 2015;35:69-77.
9. Dey-Hazra E, Hertel B, Kirsch T, Woywodt A, Lovric S, Haller H, et al. Detection of circulating microparticles by flow cytometry: influence of centrifugation, filtration of buffer, and freezing. *Vasc Health Risk Manag* 2010;6:1125-33.
10. Boing AN, Van der Pol E, Grootemaat AE, Coumans FA, Sturk A, Nieuwland R. Single-step isolation of extracellular vesicles by size-exclusion chromatography. *J Extracell Vesicles* 2014;3.
11. Dragovic RA, Gardiner C, Brooks AS, Tannetta DS, Ferguson DJ, Hole P, et al. Sizing and phenotyping of cellular vesicles using nanoparticle tracking analysis. *Nanomedicine* 2011;7:780-8.
12. Tatischeff I, Larquet E, Falcon-Perez JM, Turpin PY, Kruglik SG. Fast characterisation of cell-derived extracellular vesicles by nanoparticles tracking analysis, cryo-electron microscopy, and raman tweezers microspectroscopy. *J Extracell Vesicles* 2012;1.
13. Yuana Y, Koning RI, Kuil ME, Rensen PC, Koster AJ, Bertina RM, et al. Cryo-electron microscopy of extracellular vesicles in fresh plasma. *J Extracell Vesicles* 2013;2.
14. Coumans FA, Van der Pol E, Boing AN, Hajji N, Sturk G, Van Leeuwen TG, et al. Reproducible extracellular vesicle size and concentration determination with tunable resistive pulse sensing. *J Extracell Vesicles* 2014;3:25922.
15. Varga Z, Yuana Y, Grootemaat AE, Van der Pol E, Gollwitzer C, Krumrey M, et al. Towards traceable size determination of extracellular vesicles. *J Extracell Vesicles* 2014;3.
16. Van der Pol E, Coumans F, Varga Z, Krumrey M, Nieuwland R. Innovation in detection of microparticles and exosomes. *J Thromb Haemost* 2013;11(Supl. 1):36-45.
17. Yuana Y, Bertina RM, Osanto S. Pre-analytical and analytical issues in the analysis of blood microparticles. *Thromb Haemost* 2011;105:396-408.
18. Lacroix R, Robert S, Poncelet P, Dignat-George F. Overcoming limitations of microparticle measurement by flow cytometry. *Semin Thromb Hemost* 2010;36:807-18.
19. Van der Vlist EJ, Nolte-'t Hoen EN, Stoorvogel W, Arkesteijn GJ, Wauben MH. Fluorescent labeling of nano-sized vesicles released by cells and subsequent quantitative and qualitative analysis by high-resolution flow cytometry. *Nat Protoc* 2012;7:1311-26.
20. Nolte-'t Hoen EN, Van der Vlist EJ, Aalberts M, Mertens HC, Bosch BJ, Bartelink W, et al. Quantitative and qualitative flow cytometric analysis of nanosized cell-derived membrane vesicles. *Nanomedicine* 2012;8:712-20.
21. Lacroix R, Robert S, Poncelet P, Kasthuri RS, Key NS, Dignat-George F. Standardization of platelet-derived microparticle enumeration by flow cytometry with calibrated beads: results of the international society on thrombosis and haemostasis SSC collaborative workshop. *J Thromb Haemost* 2010;8:2571-4.

Micropartículas y plaquetas

G. Vilahur García

Cardiovascular Research Center, CSIC-ICCC. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. IIB-Sant Pau. Barcelona

La rotura de las placas seguida de la formación de trombos (*aterotrombosis*) lleva a la oclusión vascular y es causa de la mayoría de síndromes coronarios agudos¹. Y las plaquetas, junto con la fibrina, forman una parte esencial de este proceso². Recientemente, se ha sugerido que la secreción de micropartículas plaquetarias (pMP) puede mediar, en parte, el papel que ejercen las plaquetas en la aterosclerosis y sus complicaciones trombóticas.

Las micropartículas circulantes se consideran marcadores de activación celular con efectos moduladores de la enfermedad aterosclerótica³. Son fragmentos de invaginaciones de membranas celulares con un tamaño que va desde 0,1 a 1 μm , liberadas por procesos de activación y de apoptosis tanto por células de la sangre como residentes en la pared vascular⁴. Las plaquetas son la principal fuente de MP positivas para fosfatidilserina en la sangre y representan el 70-90% de las micropartículas circulantes⁵. Las MP derivadas de plaquetas son CD41⁺, aunque hay controversia dado que los megacariocitos también la liberan⁶. Tras la activación ocurren procesos celulares internos que llevan a un aumento de calcio intracelular, a la reorganización del citoesqueleto y a la pérdida de simetría lipídica de la membrana⁷, lo que causa la liberación de MP, con la fosfatidilserina translocada en el exterior, lo que les confiere actividad procoagulante y capacidad de unión a factores de coagulación⁸. Aparte de los fosfolípidos aniónicos en su superficie, las MP contienen marcadores antigénicos de la célula origen y también se ha mostrado la presencia de proteínas como factor tisular, pequeñas cantidades de ácido ribonucleico (RNA) mensajero y, recientemente, microRNA, favoreciendo procesos de señalización y comunicación celular y actuando como un sistema de comunicación celular⁹. En adición a estos efectos, también pueden causar la diseminación de potenciales efectores protrombóticos y proinflamatorios en sitios remotos a su lugar de origen además de causar disfunción endotelial entre otras funciones¹⁰. Mause *et al.* indicaron que las pMP también pueden considerarse como un sistema de transporte y liberación transcelular de diversos mediadores proinflamatorios y receptores plaquetarios¹⁰. Específicamente, en este estudio se demostró que la activación plaquetaria causa la liberación de pMP cargadas con contenido de los gránulos α como el RANTES, citocina quimiotáctica atractiva para diversos tipos de leucocitos. Las interacciones de las pMP con el endotelio activado por procesos de *rolling* promueven tanto la adhesión de las pMP como la deposición del RANTES bajo condiciones de flujo, diseminando mensajes proinflamatorios e induciendo el reclutamiento de monocitos al endotelio¹⁰.

En cuanto sus propiedades protrombóticas, a pesar de que está claro que intervienen en la promoción y amplificación de la cascada de coagulación¹¹, se desconoce hasta qué grado participan en la perpetuación y el mantenimiento del proceso trombótico. No obstante, diversos estudios clínicos asocian positivamente altos niveles de MP circulantes con la patología cardiovascular (CV) incluyendo los síndromes coro-

narios agudos¹²⁻¹⁴. Y no solo se asocian las MP con la enfermedad CV, sino también se detectan en pacientes con elevados factores de riesgo cardiovascular^{15,16}, lo que indica una correlación entre la cantidad de MP y la severidad clínica de la enfermedad aterosclerótica.

En nuestro grupo investigamos si el papel de las micropartículas en la aterotrombosis era una mera asociación o implicaba un efecto causal. Para ello se determinó la deposición plaquetaria con una alta concentración de MP circulantes y plaquetarias mediante estudios de perfusión en la cámara Badimon bajo condiciones de flujo controladas, semejantes a las que se encuentran en las arterias estenosadas, y con sustratos vasculares lesionados y con placa aterosclerótica, como modelo de lesión más próximo a las situaciones clínicas¹⁷. Se comprobó que las MP favorecen la adhesión plaquetaria, y que a igual concentración de MP, las plaquetarias tenían un efecto superior. Además, los estudios de adhesión plaquetaria mediante inmunohistofluorescencia demostraron que concentraciones patológicas de MP plaquetarias en sangre inducen a un aumento significativo de la deposición plaquetaria y de fibrinógeno así como de la altura media de los trombos y del grosor de la capa de fibrinógeno presentes sobre el subendotelio vascular, a alta velocidad de cizalladura¹⁷. Por lo tanto, las pMP son funcionalmente activas en relación a la formación de trombos. Finalmente, estudios de perfusión en la cámara plana exponiendo la sangre a una superficie altamente trombogénica como el colágeno tipo I también demostraron el efecto potenciador de una alta concentración de MP no solo en la adhesión plaquetaria, que es clave en los procesos trombóticos, sino también en la interacción plaquetaria, favoreciendo la formación y crecimiento del trombo¹⁷.

Las complicaciones trombóticas son la principal causa de los eventos CV. La hipercolesterolemia familiar (HF) está asociada a la enfermedad vascular¹⁸. De hecho, los pacientes HF, debido a una exposición prolongada a altos niveles de colesterol en el plasma y a un desarrollo temprano de lesiones ateroscleróticas que puede ocasionar la rotura de placas vulnerables que lleva a los procesos trombóticos, presentan un mayor riesgo de padecer eventos CV¹⁹. Así pues, la hiperlipemia es un factor causal en la etiopatogenia de la aterosclerosis. Y en este sentido, la reducción del colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad en sangre es de gran importancia. Las estatinas constituyen los fármacos hipolipemiantes más comúnmente usados²⁰. Varios ensayos clínicos han demostrado su eficacia contra la presentación de eventos cardiovasculares, tanto para la prevención primaria como secundaria de la enfermedad CV²¹. Además, también exhiben efectos beneficiosos independientes de la reducción de lípidos, los llamados *efectos pleiotrópicos*, que incluyen efectos antiinflamatorios, antiaterogénicos y antitrombóticos^{22,23}. Por este motivo, investigamos el efecto del tratamiento con estatinas en relación a la liberación microvesicular de pacientes con hipercolesterolemia secundaria. Las MP plaquetarias disminuyeron significativamente en la sangre de pacientes tratados

comparados con los no tratados, con lo que se demuestra una vez más el papel de las estatinas en la pasivación de la activación celular independiente de la reducción de colesterol²⁴.

Además, los pacientes con HF heterocigota, a los que se les administra estatinas según recomendaciones de las guías clínicas, presentan una tasa de eventos CV reducida. Aun así, existe una gran variabilidad en la respuesta al tratamiento en estos pacientes, que presentan un mayor riesgo de enfermedad arterial coronaria prematura¹⁸. En otro estudio, evaluamos el papel de las MP celulares en pacientes con alto riesgo cardiovascular y enfermedad aterosclerótica subclínica debido a la presencia de este factor de riesgo mayor^{25,26}. Para ello se llevó a cabo un estudio caso-control con pacientes genética y clínicamente diagnosticados de HF heterocigota y pacientes con hipercolesterolemia secundaria no-HF, todos ellos seleccionados de la cohorte del estudio SAFEHEART (HF). El número total de MP de la sangre fue significativamente mayor en los pacientes HF que en los no-HF²⁵. En estos pacientes también se caracterizaron aquellas micropartículas con características trombogénicas. Los niveles de MP circulantes con marcadores de activación plaquetaria fueron significativamente mayores en los pacientes HF, específicamente los positivos para los marcadores de trombospondina-1 e integrina $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ activada junto con la P-selectina²⁶. Dado el papel crítico del factor tisular (FT) como uno de los principales iniciadores de la trombosis en las placas ateroscleróticas, también determinamos las MP ricas en FT. Y, de forma interesante, los pacientes HF presentaban significativamente números elevados de MP positivas para FT, no solo MP totales, sino también aquellas derivadas tanto de plaqueta como de monocito, comparado con sus controles²⁶. El FT se puede encontrar en su forma activa y no activa. También se aislaron las MP ricas en FT y se evaluó su actividad procoagulante, demostrando que las MP llevan FT funcionalmente activo. A nivel de lesión en pacientes sin manifestación clínica, las MP con marcadores de activación y presencia de FT están aumentadas en la placa lipídica comparado con la no lipídica²⁶. Además, mediante las curvas ROC de las probabilidades combinadas de las MP de activación plaquetaria y de las ricas en FT se demostró que estas MP son capaces de discernir el tipo de lesión, con un poder discriminatorio de placa lipídica muy alto²⁶. Y cuando esta probabilidad combinada de MP ricas en FT con marcadores de activación plaquetaria se añadió a un modelo de factores de riesgo, le añade valor predictivo de forma significativa, demostrando su efecto predictivo de presencia de lípidos en la placa aterosclerótica²⁶.

Se ha propuesto que las MP FT+ juegan un papel en el crecimiento del coágulo. La importancia de las MP FT+ circulantes radica en que pueden proveer una fuente alternativa de FT, que puede ser reclutada en el trombo en crecimiento reiniciando la coagulación y por lo tanto contribuyendo aún más en su crecimiento²⁷. El modelo de la trombosis microvascular inducida por láser en la arteriola es el principal modelo para estudiar el rol de las MP en la formación del trombo porque hay un daño mínimo en la pared del vaso. Falati *et al.* observaron una rápida acumulación de FT y fibrina en la parte proximal del trombo (en la interfase trombo-pared del vaso), consistente con el reclutamiento de MP FT+ al trombo. Mediante el uso de ratones *knockout* (nulos) para el ligando glucoproteico 1 para la P-selectina (PSGL-1) y para la P-selectina, se demostró que el reclutamiento de MP es dependiente de la interacción del PSGL-1 de las MP con la P-Selectina de la plaqueta²⁸.

En conclusión, estos resultados ponen de manifiesto que: a) una alta concentración de pMP potencian los procesos de adhesión, activación y agregación plaquetaria en placas ateroscleróticas y áreas de

lesión vascular inducida, modulando la trombogenicidad sanguínea en la enfermedad CV; y b) la liberación de pMP está directamente asociada a la carga aterosclerótica subclínica de pacientes de alto riesgo con HF, lo que indica su potencial como nuevos biomarcadores.

Bibliografía

1. Badimon L, Vilahur G. Thrombosis formation on atherosclerotic lesions and plaque rupture. *J Intern Med* 2014;276(6):618-32.
2. Badimon L, Vilahur G, Padro T. Lipoproteins, platelets and atherothrombosis. *Rev Esp Cardiol* 2009;62(10):1161-78.
3. Rautou PE, Vion AC, Amabile N, Chironi G, Simon A, Tedgui A, Boulanger CM. Microparticles, vascular function, and atherothrombosis. *Circ Res* 2011;109(5):593-606.
4. Boulanger CM. Microparticles, vascular function and hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2010;19(2):177-80.
5. Mause SF. Platelet microparticles: reinforcing the hegemony of platelets in atherothrombosis. *Thromb Haemost* 2013;109(1):5-6.
6. Flaumenhaft R, Dilks JR, Richardson J, Alden E, Patel-Hett SR, Battinelli E, et al. Megakaryocyte-derived microparticles: direct visualization and distinction from platelet-derived microparticles. *Blood* 2009;113(5):1112-21.
7. Flaumenhaft R. Formation and fate of platelet microparticles. *Blood Cells Mol Dis* 2006;36(2):182-7.
8. Morel O, Morel N, Freyssinet JM, Toti F. Platelet microparticles and vascular cells interactions: a checkpoint between the haemostatic and thrombotic responses. *Platelets* 2008;19(1):9-23.
9. Mause SF, Weber C. Microparticles: protagonists of a novel communication network for intercellular information exchange. *Circ Res* 2010;107(9):1047-57.
10. Mause SF, Von Hundelshausen P, Zerneck A, Koenen RR, Weber C. Platelet microparticles: a transcellular delivery system for RANTES promoting monocyte recruitment on endothelium. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25(7):1512-8.
11. Sinauridze EL, Kireev DA, Popenko NY, Pichugin AV, Panteleev MA, Krymskaya OV, et al. Platelet microparticle membranes have 50- to 100-fold higher specific procoagulant activity than activated platelets. *Thromb Haemost* 2007;97(3):425-34.
12. Ederhy S, Di Angelantonio E, Mallat Z, Hugel B, Janower S, Meuleman C, et al. Levels of circulating procoagulant microparticles in nonvalvular atrial fibrillation. *Am J Cardiol* 2007;100(6):989-94.
13. Morel O, Pereira B, Averous G, Faure A, Jesel L, Germain P, et al. Increased levels of procoagulant tissue factor-bearing microparticles within the occluded coronary artery of patients with ST-segment elevation myocardial infarction: role of endothelial damage and leukocyte activation. *Atherosclerosis* 2009;204(2):636-41.
14. Nieuwland R, Berckmans RJ, Rotteveel-Eijkman RC, Maquelin KN, Roozendaal KJ, Jansen PG, et al. Cell-derived microparticles generated in patients during cardiopulmonary bypass are highly procoagulant. *Circulation* 1997;96(10):3534-41.
15. Nomura S, Imamura A, Okuno M, Kamiyama Y, Fujimura Y, Ikeda Y, et al. Platelet-derived microparticles in patients with arteriosclerosis obliterans: enhancement of high shear-induced microparticle generation by cytokines. *Thromb Res* 2000;98(4):257-68.
16. Nomura S, Inami N, Kimura Y, Omoto S, Shouzu A, Nishikawa M, et al. Effect of nifedipine on adiponectin in hypertensive patients with type 2 diabetes mellitus. *J Hum Hypertens* 2007;21(1):38-44.
17. Suades R, Padro T, Vilahur G, Badimon L. Circulating and platelet-derived microparticles in human blood enhance thrombosis on atherosclerotic plaques. *Thromb Haemost* 2012;108(6):1208-19.
18. Sjouke B, Kusters DM, Kastelein JJ, Hovingh GK. Familial hypercholesterolemia: present and future management. *Curr Cardiol Rep* 2011;13(6):527-36.

19. Mata N, Alonso R, Badimon L, Padro T, Fuentes F, Muniz O, et al. Clinical characteristics and evaluation of LDL-cholesterol treatment of the Spanish Familial Hypercholesterolemia Longitudinal Cohort Study (SAFEHEART). *Lipids Health Dis* 2011;10:94.
20. Undas A, Brummel-Ziedins KE, Mann KG. Statins and blood coagulation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25(2):287-94.
21. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet* 1994;344(8934):1383-9.
22. Sposito AC, Chapman MJ. Statin therapy in acute coronary syndromes: mechanistic insight into clinical benefit. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22(10):1524-34.
23. Sukhova GK, Williams JK, Libby P. Statins reduce inflammation in atheroma of nonhuman primates independent of effects on serum cholesterol. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22(9):1452-8.
24. Suades R, Padro T, Alonso R, Mata P, Badimon L. Lipid-lowering therapy with statins reduces microparticle shedding from endothelium, platelets and inflammatory cells. *Thromb Haemost* 2013;110(2):366-77.
25. Suades R, Padro T, Alonso R, Lopez-Miranda J, Mata P, Badimon L. Circulating CD45+/CD3+ lymphocyte-derived microparticles map lipid-rich atherosclerotic plaques in FH patients. *Thromb Haemost* 2014;111(1).
26. Suades R, Padro T, Alonso R, Mata P, Badimon L. High levels of TSP1+/CD142+ platelet-derived microparticles characterize young patients with high cardiovascular risk and subclinical atherosclerosis. *Thromb Haemost* 2015 [In press].
27. Del Conde I, Shrimpton CN, Thiagarajan P, Lopez JA. Tissue-factor-bearing microvesicles arise from lipid rafts and fuse with activated platelets to initiate coagulation. *Blood* 2005;106(5):1604-11.
28. Falati S, Liu Q, Gross P, Merrill-Skoloff G, Chou J, Vandendries E, et al. Accumulation of tissue factor into developing thrombi in vivo is dependent upon microparticle P-selectin glycoprotein ligand 1 and platelet P-selectin. *J Exp Med* 2003;197(11):1585-98.

Novedades sobre el estudio de plaquetas en modelos animales

P. García de Frutos

Department of Cell Death and Proliferation. Institute of Biomedical Research of Barcelona. IIBB-CSIC, IDIBAPS. Barcelona

Introducción

Los modelos animales han sido tradicionalmente una gran fuente de conceptos en el estudio de los procesos fisiológicos. Los modelos de los que disponemos actualmente para el estudio de la trombosis y la función plaquetaria han traído una gran cantidad de nuevos conceptos a nuestro conocimiento de dicha función plaquetaria. En la presente comunicación revisaremos dos ejemplos en el que los modelos de ratones modificados genéticamente, *knockouts* y *knockin*, han aportado datos decisivos al estudio de la función plaquetaria.

La posibilidad de manipular el genoma de un mamífero de manera específica ha revolucionado la investigación biomédica desde finales de los ochenta¹. Esta tecnología cambió por completo el estudio de las enfermedades más prevalentes y graves en humanos, al permitirnos disponer de modelos animales precisos para determinar la interacción genotipo-fenotipo. Es además una revolución que ha ido incorporando técnicas cada vez más sofisticadas de manipulación del arsenal tecnológico inicial. Así, en los noventa se pusieron a punto sistemas para la introducción de mutaciones condicionales en el tiempo y el espacio (sistema cre-loxP)², la tecnología del ribonucleico (RNA) de interferencia para modificar la función génica³ y la actual revolución que supone el sistema de modificación genética por CRISPR/cas9⁴. Aunque no la única, la especie de mamífero que más ampliamente se emplea en este tipo de estrategias es el ratón.

La inactivación y/o modificación de genes dirigida por recombinación homóloga es un método poderoso para obtener información que permita evaluar la función génica, lo que conocemos como animales *knockout* y *knockin*. Aunque existen limitaciones inherentes a la técnica, como la baja eficiencia de la recombinación homóloga, los consorcios internacionales han permitido estandarizar las técnicas y que podamos contar con un gran porcentaje de genes mutados en el genoma del ratón⁵. Otra restricción es la existencia de efectos mutagénicos adversos no identificados en la estrategia inicial, como aquellos que afectan a regiones lejanas en el cromosoma. Sin embargo, la limitación fundamental de estos modelos es la propia homeostasis del organismo. Los animales mutados en un gen desarrollan mecanismos compensatorios que permiten la viabilidad del individuo y de muchas de sus funciones, o bien empleando genes similares para llevar a cabo la función del gen ausente o bien mediante mecanismos más complejos de adaptación.

Debido a estas limitaciones, el empleo de técnicas que inhiben genes diana mediante interferencia de RNA (RNAi) ha proporcionado a los investigadores una alternativa rápida, de bajo coste y de alto rendimiento a la recombinación homóloga⁶. Sin embargo, este tipo de estrategia también tiene limitaciones: su eficacia varía entre los experimentos y laboratorios, tiene efectos impredecibles fuera de los genes diana objetivo y proporciona solamente inhibición temporal de la función génica. De alguna manera, sus limitaciones son similares a los inhibidores de

tipo farmacológico. Si bien por una parte la técnica de RNAi deriva su especificidad de la secuencia complementaria de las moléculas de ácidos nucleicos, los fármacos suelen actuar directamente sobre la función de las proteínas, y son más directos en su acción celular.

Uno de los campos que se han beneficiado de estos avances en modelos animales son los estudios sobre la hemostasia⁷. Al igual que los estudios de inmunología, los mecanismos hemostáticos son funciones fisiológicas que, en situaciones de ausencia de agresión, son parcial o totalmente prescindibles para la supervivencia del organismo, lo que permite su eliminación mediante mutaciones que generan modelos viables de deficiencia génica. Actualmente, prácticamente todos los genes implicados en las vías de la coagulación y la fibrinólisis han sido modificados genéticamente en el ratón⁸. La caracterización de los modelos resultantes ha incorporado nuevos conceptos sobre la funcionalidad de los diferentes genes de la coagulación en el contexto del animal vivo, aportando datos sobre el efecto de estos factores sobre los procesos de vasculogénesis⁹, angiogénesis^{10,11}, sanado de heridas y respuesta inflamatoria¹².

A pesar de su importancia, es posible que los estudios que han empleado estos modelos para estudiar la función de las plaquetas sean aún más importantes en términos de su efecto en la visión de la biología de estos corpúsculos⁷. En la presente revisión repasaremos algunos ejemplos de modelos modificados genéticamente y los cambios que han producido en nuestro conocimiento de la biología de las plaquetas. Estos ejemplos ilustran varias técnicas que se han empleado para el estudio de la función plaquetaria en ratón y creo que dan una idea de los importantes conceptos que se han derivado de estos modelos.

Los receptores PAR y sus KO

La generación de trombina es el paso regulador de la formación del coágulo sanguíneo. Sin embargo, además de actuar sobre el fibrinógeno para generar fibrina y activar otros factores de la coagulación, se sabe que la trombina es capaz de activar directamente receptores celulares que señalizan en diferentes tipos celulares. De hecho, la trombina es el activador más potente de la función de las plaquetas, provocando una reorganización del citoesqueleto que permite la liberación de gránulos que contienen activadores plaquetarios, componentes de la coagulación y otras proteínas que actúan como ligandos de receptores de membrana.

A mediados de los noventa, se había determinado que el principal receptor de trombina en las plaquetas era un receptor ligado a proteínas G^{13,14}. Estos receptores se denominaron activados por proteasas por su peculiar mecanismo de activación. Al unirse a su receptor, las proteasas de serina como la trombina hidrolizan un péptido en la cola amino terminal, permitiendo la unión de una secuencia del propio receptor con el lugar de activación. De esta manera se produce una activación irreversible del receptor. Este receptor se denominó receptor de trombina (tr) y posteriormente PAR1.

Cuando se generaron los ratones *knockout* para el gen *PAR1*, entonces denominado receptor de trombina *tr*, se observó que los animales tenían un severo fenotipo embrionario, y la mitad de ellos sobrevivía hasta el final de la gestación¹⁵. Sin embargo, aquellos que sobrevivían no presentaban signos de sangrado, y las plaquetas de estos animales presentaban la misma activación por trombina que los silvestres. Se observó que las plaquetas de estos ratones se activaban por trombina de manera similar a lo que sucedía en los ratones silvestres. Estudios previos habían determinado que los péptidos activadores de PAR1 en plaquetas humanas no podían activar las plaquetas murinas. Por lo tanto, los autores plantearon la posibilidad de que existiera un segundo receptor para trombina en plaquetas, que pudiera explicar su respuesta en ausencia del receptor humano de trombina. Un año antes se había descubierto un nuevo miembro de la familia, PAR2, que, sin embargo, no era activado por trombina, sino que tenía un lugar de corte específico para tripsina¹⁶. El receptor was activated by low concentrations of trypsin (EC 3.4.21.4). Empleando los resultados del ratón *knockout* para PAR1, el mismo grupo fue capaz de clonar un nuevo miembro de la familia que podía actuar como segundo receptor de trombina en plaquetas humanas y el receptor de esta en las plaquetas de ratón¹⁷.

Una vez clonado, se generó un ratón deficiente en el gen *PAR3*. Esta cepa, a diferencia de la deficiente en PAR1, sí tenía una disminución en la activación de sus plaquetas por trombina. Sin embargo, la trombina era todavía capaz de activar las plaquetas deficientes en PAR3. Los autores atribuyeron esta diferencia a la existencia en plaquetas de ratón de un segundo receptor, PAR4, de la misma familia, y empleando plaquetas deficientes en PAR3 se pudo demostrar que el péptido de activación de PAR4 era capaz de activarlas. De esta manera se pudo determinar que ambos receptores mediaban el efecto de la trombina sobre las plaquetas¹⁸. De estos estudios emerge un modelo de interacción dual de la trombina en las plaquetas, en las que el receptor PAR3 actúa como modulador de la respuesta sobre PAR4¹⁹. Estos resultados se transfirieron a las plaquetas humanas, donde se determinó la presencia de PAR4 y se demostró que un mecanismo de activación por la interacción trombina PAR4 también existía²⁰. En este caso, el receptor de trombina a baja concentración era PAR1, mientras que PAR4 actuaba como modulador de la respuesta y se activaba a alta concentración de trombina²¹.

El ejemplo de los PAR y su función en la plaqueta ilustra la utilidad de los modelos clásicos de ratones *knockout*. Aunque en algunos casos el efecto esperado no se obtuvo (*knockouts* de PAR1), los resultados con plaquetas aisladas de estas cepas permitieron formular hipótesis sobre la existencia de otros genes similares que pudieran comprobarse en experimentos posteriores. La existencia de respuesta a trombina en las plaquetas de los ratones deficientes en uno de los genes de la familia, *PAR3*, permitió demostrar directamente la función cooperativa de los dos receptores en la activación de la plaqueta. Finalmente, teniendo en cuenta las diferencias entre especies, nuevos modos de acción de la trombina fueron propuestos basados en la comparación de los modelos de ratón y plaquetas humanas, lo que ha tenido repercusión en la farmacología de la inhibición plaquetaria.

Proteínas dependientes de vitamina K en las plaquetas

El siguiente ejemplo que propongo es el de dos proteínas dependientes de vitamina K que se encuentran en el plasma y también se ha descrito su presencia en plaquetas, proteína S y GAS6. La función de proteína S (ProS) como inhibidor de la cascada de la coagulación está bien esta-

blecida desde los años ochenta, cuando se demostró que individuos que presentaban deficiencia heterocigota de esta proteína abundante en plasma sufrían trombofilia²². Sin embargo, desde los primeros estudios sobre el gen de ProS (*PROS1*) y su patrón de expresión se pudo determinar que este componente de la coagulación difería del resto de factores dependientes de la vitamina K de la cascada, ya que no tenía un dominio serina proteasa ni actividad enzimática, actuando como cofactor en diferentes complejos de la cascada de la coagulación. Además, su patrón de expresión era mucho más amplio que el de los factores de la coagulación, y probablemente la proteína plasmática deriva en buena parte de células endoteliales y no de hepatocitos, aproximadamente un 50% en el caso del ratón²³.

Además de la función anticoagulante de ProS, el clonaje de un gen similar en ratón, *GAS6*, permitió descubrir una serie de interacciones de ProS con receptores de tipo tirosina de la familia TAM (Tyro3, Axl y MerTK), lo que amplía las funciones de ProS y *GAS6*^{24,25}. Entre las funciones que se atribuyen a este sistema de ligando-receptor está la regulación de la inmunidad innata^{26,27}. Las plaquetas expresan receptores TAM en su superficie y *GAS6* ha sido implicado en la activación de las plaquetas al caracterizar ratones *knockout* para *gas6*²⁸. De manera similar, la mutación de cualquiera de los receptores TAM, y especialmente MerTK, inhibía la activación plaquetaria^{29,30}. Esto implicaba al sistema *GAS6/ProS-TAM* en la función plaquetaria, probablemente como un sistema de refuerzo positivo de los estímulos primarios de la activación plaquetaria, especialmente en la activación por ADP. Sin embargo, aunque la presencia de *GAS6* se había detectado en plaquetas de ratón y de rata, un cuidadoso estudio en plaquetas humanas descartó que la concentración de *GAS6* en las plaquetas fuera importante, siendo al menos un orden de magnitud menor que la detectada en plasma³¹. A pesar de este dato, estudios posteriores han confirmado un efecto del sistema como potenciador de la activación de las plaquetas humanas por ADP, fundamentalmente a través del *pool* de *GAS6* que se encuentra en el plasma³². Finalmente, un detallado estudio empleando cepas de ratones a los que se les habían eliminado las plaquetas mediante un anticuerpo antitrombocitos y posteriormente trasplantados con plaquetas de animales sanos permitió demostrar que el efecto de *GAS6* sobre la formación del trombo era debido en parte a la acción de *GAS6* producido por el endotelio, ya que esto estimula la producción de factor tisular en el endotelio³³. Por otra parte, este estudio demostró que las plaquetas deficientes en *GAS6* eran menos trombogénicas que las plaquetas silvestres, incluso en un contexto que expresaba *GAS6*. Como suele ser habitual, los mecanismos biológicos implicados eran más complejos que lo que habíamos pensado en un principio.

Sin embargo, el sistema es todavía más complejo, ya que el otro ligando reconocido de los receptores TAM, ProS, es un componente reconocido de las plaquetas³⁴. Aunque no se atribuye una función específica a esta fracción de ProS, se asume que debe tener una función anticoagulante a través de su interacción con la proteína C y el factor Xa, aumentada por la fosforilación directa de esta proteína por proteínas cinasas de la propia plaqueta³⁵. Su posible interacción con los receptores TAM plaquetarios podía producir efectos activadores, como en el caso de *GAS6*. Aunque se disponía de ratones deficientes en ProS, a diferencia de los *knockouts* de *GAS6*, esta cepa no era viable²³. Para realizar el estudio de la función de ProS en plaquetas se empleó la técnica de *knockouts* condicionales, cruzando una cepa *knockin* en el locus de *PROS1* en la que se habían incluido dos lugares *loxP* empleados por la recombinasa *cre* del bacteriófago P1 con una cepa que expresa la recombinasa bajo la acción del promotor del gen del factor plaquetario 4 (*pf4*), una de las proteínas más abundantes de

las plaquetas y específica de la línea megacariocítica³⁶. Y, de nuevo, los resultados fueron sorprendentes. Aunque las plaquetas aisladas presentaban una disminución en la agregabilidad y la activación inducida por ADP y colágeno, los ratones deficientes en presentaban una formación de trombos claramente mayor cuando recibían el mismo estímulo. Esto era indicativo de que en la propagación del coágulo, la ProS plaquetaria actuaba limitando el estímulo protrombótico. Ello puede tener implicaciones clínicas, ya que el pequeño porcentaje de ProS que se encuentra en la plaqueta parece tener un efecto más directo sobre la formación del trombo que el mucho mayor efecto de la ProS del plasma.

Genes y más genes

Estos dos ejemplos dan una idea de cómo el uso de ratones modificados genéticamente ha permitido aumentar el conocimiento que poseemos de la función plaquetaria. En ambos ejemplos, la idea que teníamos sobre la función de determinados genes en la biología de la plaqueta se ha demostrado demasiado sencilla respecto al funcionamiento real. La capacidad de estudiar en condiciones controladas la formación del trombo en su entorno natural ha permitido la ampliación de nuestra visión del proceso de trombosis. Finalmente, nuevas dianas han sido propuestas gracias a estos estudios, lo que añadirá componentes a nuestro actual arsenal farmacológico contra la enfermedad trombótica.

Bibliografía

1. Capecchi MR. Gene targeting in mice: functional analysis of the mammalian genome for the twenty-first century. *Nat Rev Genet* 2005;6(6):507-12.
2. Rossant J, Nagy A. Genome engineering: the new mouse genetics. *Nat Med* 1995;1(6):592-4.
3. Kleinhammer A, Deussing J, Wurst W, Kühn R. Conditional RNAi in mice. *Methods* 2011;53(2):142-50.
4. Sternberg SH, Doudna JA. Expanding the Biologist's Toolkit with CRISPR-Cas9. *Mol Cell* 2015;58(4):568-74.
5. Skarnes WC, Rosen B, West AP, Koutsourakis M, Bushell W, Iyer V, et al. A conditional knockout resource for the genome-wide study of mouse gene function. *Nature* 2011;474(7351):337-42.
6. Xia X-G, Zhou H, Xu Z. Transgenic RNAi: accelerating and expanding reverse genetics in mammals. *Transgenic Res* 2006;15(3):271-5.
7. Thijs T, Deckmyn H, Broos K. Model systems of genetically modified platelets. *Blood* 2012;119(7):1634-42.
8. Hogan KA, Weiler H, Lord ST. Mouse models in coagulation. *Thromb Haemost* 2002;87(4):563-74.
9. Beck L, D'Amore PA. Vascular development: cellular and molecular regulation. *FASEB J* 1997;11(5):365-73.
10. Tsopanoglou NE, Maragoudakis ME. Thrombin's central role in angiogenesis and pathophysiological processes. *Eur Cytokine Netw* 2009;20(4):171-9.
11. Sidhu G, Soff GA. The coagulation system and angiogenesis. *Cancer Treat Res* 2009;148:67-80.
12. Danckwardt S, Hentze MW, Kulozik AE. Pathologies at the nexus of blood coagulation and inflammation: thrombin in hemostasis, cancer, and beyond. *J Mol Med (Berl)* 2013;91(11):1257-71.
13. Rasmussen UB, Vouret-Craviari V, Jallat S, Schlesinger Y, Pagès G, Pavirani A, et al. cDNA cloning and expression of a hamster alpha-thrombin receptor coupled to Ca²⁺ mobilization. *FEBS Lett* 1991;288(1-2):123-8.
14. Vu TK, Hung DT, Wheaton VI, Coughlin SR. Molecular cloning of a functional thrombin receptor reveals a novel proteolytic mechanism of receptor activation. *Cell* 1991;64(6):1057-68.
15. Connolly AJ, Ishihara H, Kahn ML, Farese R V, Coughlin SR. Role of the thrombin receptor in development and evidence for a second receptor. *Nature* 1996;381(6582):516-9.
16. Nystedt S, Emilsson K, Wahlestedt C, Sundelin J. Molecular cloning of a potential proteinase activated receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91(20):9208-12.
17. Ishihara H, Connolly AJ, Zeng D, Kahn ML, Zheng YW, Timmons C, et al. Protease-activated receptor 3 is a second thrombin receptor in humans. *Nature* 1997;386(6624):502-6.
18. Kahn ML, Zheng YW, Huang W, Bigornia V, Zeng D, Moff S, et al. A dual thrombin receptor system for platelet activation. *Nature* 1998;394(6694):690-4.
19. Hamilton JR, Cornelissen I, Coughlin SR. Impaired hemostasis and protection against thrombosis in protease-activated receptor 4-deficient mice is due to lack of thrombin signaling in platelets. *J Thromb Haemost* 2004;2(8):1429-35.
20. Kahn ML, Nakanishi-Matsui M, Shapiro MJ, Ishihara H, Coughlin SR. Protease-activated receptors 1 and 4 mediate activation of human platelets by thrombin. *J Clin Invest* 1999;103(6):879-87.
21. Coughlin SR. Protease-activated receptors in vascular biology. *Thromb Haemost* 2001;86(1):298-307.
22. García de Frutos P, Fuentes-Prior P, Hurtado B, Sala N. Molecular basis of protein S deficiency. *Thromb Haemost* 2007;98:543-56.
23. Burstyn-Cohen T, Heeb MJ, Lemke G. Lack of Protein S in mice causes embryonic lethal coagulopathy and vascular dysgenesis. *J Clin Invest* 2009;119(10):2942-53.
24. Suleiman L, Négrier C, Boukerche H. Protein S: a multifunctional anticoagulant vitamin K-dependent protein at the crossroads of coagulation, inflammation, angiogenesis, and cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 2013;1-18.
25. Fernández-Fernández L, Bellido-Martín L, García de Frutos P. Growth arrest-specific gene 6 (GAS6). An outline of its role in haemostasis and inflammation. *Thromb Haemost* 2008;100(4):604-10.
26. Tjwa M, Bellido-Martín L, Lin Y, Lutgens E, Plaisance S, Bono F, et al. GAS6 promotes inflammation by enhancing interactions between endothelial cells, platelets, and leukocytes. *Blood*. 2008;111(8):4096-105.
27. Van der Meer JHM, Van der Poll T, Van 't Veer C. TAM receptors, GAS6 and protein S: roles in inflammation and hemostasis. *Blood*. 2014;123(16):2460-9.
28. Angelillo-Scherrer A, De Frutos PG, Aparicio C, Melis E, Savi P, Lupu F, et al. Deficiency or inhibition of GAS6 causes platelet dysfunction and protects mice against thrombosis. *Nat Med*. 2001;7(2):215-21.
29. Angelillo-Scherrer A, Burnier L, Flores N, Savi P, DeMol M, Schaeffer P, et al. Role of GAS6 receptors in platelet signaling during thrombus stabilization and implications for antithrombotic therapy. *J Clin Invest*. 2005;115:237-46.
30. Gould WR, Baxi SM, Schroeder YW, Peng YW, Leadley RJ, Peterson JT, et al. GAS6 receptors Axl, Sky and Mer enhance platelet activation and regulate thrombotic responses. *J Thromb Haemost*. 2005;3:1-10.
31. Balogh I, Hafizi S, Stenhoff J, Hansson K, Dahlbäck B. Analysis of GAS6 in human platelets and plasma. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25(6):1280-6.
32. Cosemans JM, Van Kruchten R, Olieslagers S, Schurgers LJ, Verheyen FK, Munnix IC, et al. Potentiating role of GAS6 and Tyro3, Axl and Mer (TAM) receptors in human and murine platelet activation and thrombus stabilization. *J Thromb Haemost*. 2010;8(8):1797-808.
33. Robins RS, Lemarié CA, Laurance S, Aghourian MN, Wu J, Blostein MD. Vascular GAS6 contributes to thrombogenesis and promotes tissue factor up-regulation after vessel injury in mice. *Blood*. 2013;121(4):692-9.
34. Schwarz HP, Heeb MJ, Wencel-Drake JD, Griffin JH. Identification and quantitation of protein S in human platelets. *Blood*. 1985;66(6):1452-5.
35. Stavenuiter F, Gale AJ, Heeb MJ. Phosphorylation of protein S by platelet kinases enhances its activated protein C cofactor activity. *FASEB J*. 2013;27(7):2918-25.
36. Hurtado B, Burstyn-Cohen T, Escolar G, Lemke G, García de Frutos P. C0490: role of platelet protein s in primary hemostasis in mice. *Thromb Res*. 2014;133:S25.

Enfermedad tromboembólica arterial y venosa

COORDINADORES: J.C. Souto Andrés. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona
S. Bonanad Boix. Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia

La epidemiología reconoce desde hace décadas que la enfermedad tromboembólica, en sentido amplio con afectación tanto arterial como venosa, es la primera causa de morbilidad y mortalidad en la especie humana, al menos en los países desarrollados. Sin lugar a dudas, esta consideración se extenderá también en un futuro próximo a la totalidad de regiones del planeta. La condición de preeminencia cuantitativa en la patología se ha visto reforzada en los últimos años por una serie de avances tanto fisiopatológicos como epidemiológicos que relacionan la trombosis con otras enfermedades de alta prevalencia y con un impacto muy profundo en la salud, como son el cáncer y las enfermedades autoinmunes. Tal circunstancia incrementa aún más el interés tanto científico como asistencial de las entidades trombóticas. El estado actual de conocimiento sobre estos procesos apunta a los mecanismos inflamatorios e inmunológicos como primera explicación para la estrecha relación entre las enfermedades mencionadas. Como ejemplo de los avances más recientes en la comprensión de la complejidad subyacente a estas conexiones (y a la propia complejidad de la enfermedad tromboembólica), podemos aludir al papel crucial que las células sanguíneas especializadas en la inmunidad innata (neutrófilos y monocitos) desempeñan en la generación de trombos.

El presente simposio pretende incidir en varios de estos aspectos novedosos, en la necesidad de ampliar los actuales conocimientos sobre las bases genéticas subyacentes a la enfermedad tromboembólica y en los esfuerzos para establecer mejores modelos predictivos del riesgo individual.

Así, el Dr. Muñoz se interesa en un tema poco tratado, pero también de gran impacto, como son las complicaciones trombóticas arteriales que padecen los pacientes neoplásicos, y que de nuevo plantean interrogantes sobre las profundas relaciones entre cáncer y hemostasia. El Dr. Hamsten presenta una revisión sobre las bases genéticas de la enfermedad arterial coronaria, los datos obtenidos tras estudios gigantescos internacionales, con éxito modesto pese a los esfuerzos realizados y la necesidad de plantear nuevas vías de investigación. Por su parte, el Dr. Soria nos presenta un tema de gran proyección futura, como es el desarrollo de modelos predictivos individuales basados en la interacción de circunstancias sobrevenidas y el trasfondo genético individual, haciendo énfasis también en los pacientes oncológicos. Y, finalmente, la Dra. Caparrós realiza una revisión exhaustiva de los datos epidemiológicos y los mecanismos fisiopatológicos que vinculan las enfermedades autoinmunes e inflamatorias crónicas con la enfermedad tromboembólica.

Algunos de estos temas son presentados por primera vez en el marco de un congreso de la Sociedad española de Trombosis y Hemostasia, pero estamos convencidos de que en los próximos años asistiremos a progresos científicos en todos los ámbitos propuestos en esta reunión y que obligarán a retomar asuntos biomédicos tan apasionantes como los aquí abordados.

Enfermedad tromboembólica arterial paraneoplásica

A. J. Muñoz Martín¹, M. Lobo de Mena², G. García González²

¹Grupo de Trabajo Cáncer y Trombosis SEOM. Unidad de Tumores Digestivos. Servicio de Oncología Médica. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. ²Servicio de Oncología Médica. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid

El cáncer es un estado protrombótico. La relación entre enfermedad tromboembólica venosa y cáncer es ampliamente conocida desde hace más de un siglo. Sin embargo, la relación entre cáncer y enfermedad tromboembólica arterial existe, pero el conocimiento y la información de los que se dispone es mucho más limitada. Esta relación puede estar menos definida por el hecho de que el cáncer acontece con frecuencia en pacientes mayores de 65 años que a su vez comparten los mismos factores de riesgo de la enfermedad tromboembólica arterial. Diversos estudios, que han incluido un limitado número de pacientes, han descrito que los eventos trombóticos arteriales comprenden entre el 10-60% de los eventos trombóticos globales diagnosticados en pacientes oncológicos^{1,2}. El riesgo de ictus isquémico en los pacientes con cáncer a 6 meses es 2,2 superior (intervalo de confianza [IC] 95% 2,0-2,3), ictus hemorrágico 1,5 (IC 95% 1,5-1,6) y enfermedad coronaria 1,7 (IC 95% 1,66-1,75) respecto a los pacientes sin cáncer^{3,4}.

La incidencia de enfermedad tromboembólica tanto arterial como venosa en pacientes oncológicos no está bien establecida. En un estudio de autopsias en pacientes con cáncer, el 14,6% de los pacientes presentaban un ictus isquémico⁵; sin embargo, el significado clínico de estos hallazgos que incluían enfermedad vascular difusa o infartos silentes no está bien definido. Análisis de toxicidad de ensayos clínicos randomizados de fase II-III han demostrado una incidencia global de trombosis arterial entre el 0,2-4%. En cambio, la incidencia de trombosis venosa en los pacientes oncológicos es significativamente superior, y alcanza incidencias mayores del 10-15%⁶. La prevalencia actual de esta enfermedad se estima en el 1,5-3,1%. Los datos más recientes de incidencia de ictus y cáncer han sido publicados en noviembre de 2014. En este estudio americano, procedente de Memorial Sloan Kettering Cancer Center, se objetivó una incidencia de ictus a 3 meses del 5,1% en cáncer de pulmón, del 3,4% en cáncer de páncreas y del 3,3% en cáncer colorrectal⁷ (Tabla 1), siendo el tipo de ictus más frecuente el isquémico, al igual que sucede en la población general.

La fisiopatología que relaciona el cáncer y la enfermedad tromboembólica arterial no está bien definida. Diversos mecanismos se han propuesto para explicar esta relación, entre los que destacan la activación de la hemostasia o hipercoagulabilidad, la activación de la vía de la inflamación, el daño vascular directo tanto por la propia neoplasia como por los diferentes tratamientos empleados en el tratamiento del cáncer (quimioterapia, agentes antiangiogénicos, etc.) y, por último, a través de un incremento de la viscosidad sanguínea. Diferentes estudios han correlacionado el riesgo de ictus con la agresividad del tumor, lo que sugiere una fisiopatología común entre cáncer y fenómeno trombótico arterial. Se puede especular que la activación de la inflamación e hipercoagulabilidad generada por el cáncer precipita el desarrollo de estas complicaciones en pacientes previamente predispuestos, tanto por sus factores de riesgo clínicos como por sus características genéticas.

Por otro lado, tradicionalmente la enfermedad tromboembólica venosa y la arterial han sido consideradas dos entidades clínicas y fisiopatológicas diferentes^{8,9}, a pesar de que estas dos complicaciones vasculares comparten factores de riesgo como la obesidad, diabetes mellitus, edad, hipertensión arterial, hipertrigliceridemia y síndrome metabólico. La trombosis arterial ha sido considerada como un fenómeno de activación plaquetaria, mientras que la enfermedad venosa ha sido evaluada como un evento relacionado con la activación de la coagulación. Sin embargo, en la última década una evidencia creciente parece demostrar que la cardiopatía isquémica, la arteriopatía periférica, la enfermedad cerebrovascular y la enfermedad tromboembólica venosa son manifestaciones de un síndrome común pancardiovascular y que esta división fisiopatológica es una simplificación de eventos más complejos y claramente interrelacionados. Un ejemplo es la prevención de eventos trombóticos venosos con agentes antiplaquetarios. Otro ejemplo clínico se encuentra en pacientes con diagnóstico de trombosis de la vena central de la retina, cuyas causas principales de mortalidad en el seguimiento de estos pacientes son los eventos trombóticos arteriales. Uno de los primeros estudios que proporcionó información sobre esta relación fue publicado en 2003. Analizó, en casi 300 pacientes con diagnóstico de trombosis venosa profunda (TVP) sin arterioesclerosis sintomática, la incidencia de placas de ateroma en las arterias carotídeas mediante ecografía Doppler y lo comparó con 150 sujetos controles. La *odds ratio* para placas carotídeas en pacientes con TVP fue 2,4 veces superior en comparación con los controles¹⁰. De forma paralela se ha demostrado que pacientes con ictus o infarto agudo de miocardio presentan un incremento del riesgo de desarrollar un evento tromboembólico venoso a corto plazo, 3 meses, con un incremento del riesgo relativo de 4,22 (IC 95% 2,33-7,64) tras infarto agudo de miocardio y 4,41 (IC 95% 2,92-6,65) tras ictus¹¹.

Los pacientes con ictus y diagnóstico de cáncer presentan una mortalidad superior a los pacientes con ictus y sin cáncer¹², y, de for-

Tabla 1. Incidencia de ictus a 3 meses tras diagnóstico de cáncer

| Tipo de cáncer | Incidencia de ictus en pacientes con cáncer (%) | Incidencia de ictus en pacientes sin cáncer (controles, %) | p |
|----------------|---|--|-----------|
| Mama | 1,5 | 1,1 | p < 0,001 |
| Colon-recto | 3,3 | 1,3 | p < 0,001 |
| Pulmón | 5,1 | 1,2 | p < 0,001 |
| Páncreas | 3,4 | 1,3 | p < 0,001 |
| Próstata | 1,2 | 1,1 | p = 0,085 |

ma similar, el riesgo de recurrencia es superior en los pacientes con diagnóstico oncológico e ictus (27,5% vs. 12,9%; $p = 0,003$)¹³.

Los factores clásicos de recurrencia de ictus, como la enfermedad arterial extensa, no fueron evidentes en los pacientes con cáncer. Los ictus descritos en pacientes con cáncer se asociaron a patrones morfológicos diferenciados con un incremento de la multifocalidad y no asociados a un único territorio vascular, junto a localizaciones o patrones no convencionales¹¹. La carga de arterioesclerosis descrita fue superior en los pacientes con ictus no asociado a cáncer. Si nos centramos en los parámetros de la coagulación, se observa un incremento significativo de las alteraciones de los diferentes parámetros de la coagulación (dímero D, tiempo de protrombina y tiempo de tromboplastina parcial activada)¹⁴. En cuanto a los marcadores de la inflamación, se ha observado un incremento estadísticamente significativo de la proteína C reactiva de alta sensibilidad en los pacientes con ictus y cáncer respecto a pacientes sin diagnóstico oncológico. Todos estos hechos junto con la menor representación de los diferentes factores de riesgo cardiovasculares clásicos (hipertensión arterial, diabetes mellitus, hiperlipemia) y una menor incidencia de enfermedades íntimamente relacionadas con los eventos tromboticos como la fibrilación auricular sugieren la posibilidad de una etiología diferenciada de los ictus asociados al cáncer. En pacientes con cáncer de testículo tratados con quimioterapia que desarrollaron un evento tromboembólico arterial, un tercio de ellos no presentaban ningún factor de riesgo cardiovascular, lo que sugiere una etiología diferente a la estenosis arterioesclerótica (vasoespasmos o evento tromboembólico)¹⁵. Este mismo grupo presentó una mediana de edad de pacientes con diagnóstico de infarto agudo de miocardio de 42 años, que es significativamente inferior a la descrita en la población general (71 años).

La existencia de enfermedad metastásica incrementa el riesgo de padecer eventos tromboticos arteriales en comparación con tumores no diseminados³. Este hecho, que es similar al descrito en la enfermedad trombotica venosa, sugiere una relación directa entre actividad tumoral y riesgo de trombosis arterial y venosa. Otro hecho similar a los eventos venosos es el patrón cronológico: el riesgo de trombosis arterial es significativamente superior en los primeros 6 meses en comparación con más de 6 meses⁴. Más allá de 6-12 meses, se observa un riesgo mantenido. Los tumores con una mayor relación con riesgo de trombosis arterial son similares a los descritos para la asociación con trombosis venosa; a la cabeza están los tumores de páncreas, pulmón y cerebrales. A pesar de la relación del tabaco con la enfermedad trombotica arterial, no se ha establecido una relación entre los tumores causados por el tabaco y esta complicación, lo que sugiere de nuevo una fisiopatología independiente más relacionada con la propia biología del tumor.

Hace más de 20 años, inicialmente, se sugirió que el hecho de padecer un ictus no incrementaba el riesgo de padecer un cáncer¹⁶. En cambio, recientemente, en un estudio presentado en la International Stroke Conference 2015¹⁷ se ha demostrado la relación inversa: los pacientes diagnosticados de ictus tienen un incremento significativo del riesgo (1,4 veces, IC 95% 1,2-1,6) de padecer un cáncer a 2 años en comparación con la población general. Esta relación se puede explicar porque el ictus y el cáncer comparten factores de riesgo comunes como la obesidad y el tabaco, y puede existir un sustrato común de alteraciones biológicas o patológicas entre las dos enfermedades. También se puede sugerir que el ictus es una manifestación precoz de un estado protrombogénico o proinflamatorio en pacientes con cáncer oculto aún

no diagnosticado. Otra explicación a estos hallazgos se debe a que los pacientes que han sobrevivido a un ictus están bajo una supervisión médica más estrecha. La siguiente cuestión que sugieren estos datos es si debemos de establecer algún método de *screening* de cáncer o bien realizar un seguimiento o vigilancia específica en estos pacientes.

A diferencia de lo que ocurre con la enfermedad tromboembólica venosa (*score* de Khorana), no se dispone de ningún *score* de riesgo que nos permita cuantificar la posibilidad de padecer un evento tromboembólico arterial. Tampoco existen estudios randomizados que hayan valorado la necesidad de profilaxis en las poblaciones de alto riesgo.

Los tratamientos utilizados habitualmente en oncología, como la quimioterapia o la terapia antiangiogénica, amplifican el estado protrombotico. En cuanto a la quimioterapia clásica, no todos los fármacos presentan el mismo de riesgo de incrementar el riesgo de trombosis arterial. Entre los fármacos con mayor riesgo de trombosis arterial se encuentran las fluoropirimidinas, el cisplatino y la gemcitabina.

La radioterapia externa también incrementa el riesgo de padecer eventos tromboticos arteriales. La descripción de aumento de la incidencia de cardiopatía isquémica a largo plazo en pacientes que han recibido radioterapia torácica con campos que incluían el corazón es un hecho bien conocido (cáncer de mama, pulmón y linfomas). El mecanismo implicado parece estar relacionado con una arterioesclerosis acelerada a través del estrés oxidativo ocasionado por la radiación ionizante. Los muchos supervivientes de este tipo de terapia deberán ser controlados de forma específica en relación con los factores de riesgo clásicos de cardiopatía isquémica (tabaco, diabetes, hipercolesterolemia, obesidad, etc.) con el objetivo de reducir el riesgo de padecer un evento isquémico coronario.

La deprivación hormonal en cáncer de próstata es un tratamiento ampliamente utilizado y se ha sugerido como un posible factor de riesgo de enfermedad cardiovascular. En un estudio de cohortes observacional con más de 230.000 pacientes incluidos, se comparó la incidencia de eventos cardiovasculares entre pacientes con cáncer de próstata tratados con deprivación hormonal con un grupo control de pacientes sin cáncer de próstata. Se demostró un incremento en la incidencia de eventos cardiovasculares en pacientes tratados con análogos LHRH (cociente de riesgos [HR] 1,21 IC 95% 1,18-1,25) y mortalidad cardiovascular (HR 1,06 IC 95% 1,08-1,25). Este riesgo fue especialmente evidente durante los primeros 6 meses tras el inicio de esta terapia y en hombres con historia previa de enfermedad cardiovascular. Por el contrario, los pacientes tratados con antiandrógenos experimentaron una reducción de eventos cardiovasculares significativa (HR 0,87 IC 95% 0,82-0,91).

La terapia antiangiogénica se ha asociado a un incremento de los eventos tromboembólicos. El bevacizumab, un anticuerpo monoclonal anti-vascular *endotelial growth factor* (anti-VEGF), fue el primer anticuerpo monoclonal anti-VEGF con indicación en el tratamiento de tumores sólidos. Su combinación con quimioterapia ha demostrado una actividad significativa en una gran variedad de tumores incluyendo cáncer de colon, pulmón, ovario, riñón, etc. Inicialmente, con los resultados de seguridad de los estudios pivotales, se consideró que el tratamiento con bevacizumab se relacionaba con eventos tromboembólicos arteriales y venosos. En los últimos 10 años se ha confirmado el incremento significativo del riesgo de trombosis arterial inicialmente observado en múltiples ensayos clínicos y al menos 3 metaanálisis^{18,19} (Tabla 2). Sin embargo, esta asociación no se ha demostrado en los

eventos venosos^{20,21} (Tabla 3), incluso en los últimos estudios se ha sugerido el tratamiento con bevacizumab como un factor protector de enfermedad tromboembólica venosa. Datos similares han sido descritos con otros dos anticuerpos monoclonales de la vía del VEGF (aflibercept y ramucirumab) sin demostrar un incremento en la incidencia de trombosis venosa y de nuevo afirmando un incremento significativo en el riesgo de trombosis arterial. El mecanismo preciso de incrementar la trombosis arterial no es bien conocido; se postulan, entre otros: daño endotelial directo, limitación de la capacidad de renovación endotelial, exposición al colágeno subendotelial, activación del factor tisular, sobreexpresión agentes proinflamatorios como la ciclooxigenasa-2 y la selectina-E. Como factores de riesgo para desarrollar esta complicación se han descrito: antecedente de enfermedad tromboembólica arterial, edad mayor de 65 años y pobre *performance status*. El tratamiento con aspirina a baja dosis parece prevenir el desarrollo de esta enfermedad²²; sin embargo, ninguna guía clínica recomienda este tratamiento como medida preventiva ni se han desarrollado ensayos específicos.

Los inhibidores de la tirosina-cinasa con actividad antiangiogénica también han sido relacionados con un incremento de la enfermedad tromboembólica arterial. Los fármacos con mayor información disponible son el sorafenib y el sunitinib, aprobados en el tratamiento de cáncer renal, hepatocarcinoma y tumor neuroendocrino pancreático. El principal metaanálisis publicado hasta el momento encontró un incremento del riesgo de trombosis arterial con un riesgo relativo de 3,03 con IC 95% 1,25-7,37 ($p = 0,015$), con una incidencia global del 1,4%²³. Al igual que ocurre con los anticuerpos monoclonales anti-VEGF, estos fármacos no aumentan el riesgo de trombosis venosas²⁴.

Khorana et al. analizaron una población de más de 70.000 pacientes y describieron que tanto la transfusión de células rojas como la de plaquetas se asocian a un incremento del riesgo de padecer trombosis arterial: transfusión de células rojas *odds ratio* (OR) 1,53, IC 95% 1,46-1,61 ($p < 0,001$); transfusión de plaquetas OR 1,55, IC 95% 1,40-1,71 ($p > 0,001$). Los mecanismos posiblemente asociados a la trombosis arterial vinculada a la transfusión incluyen la administración inadvertida

de mediadores protrombóticos como las plaquetas activadas, micro-partículas plaquetarias y sCD40L, estasis vascular, vasoconstricción secundaria a la depleción de óxido nítrico. El tratamiento con estimulantes de los agentes eritropoyéticos también se ha relacionado con los eventos arteriales, especialmente cuando son usados en combinación con la quimioterapia²⁵.

Por el momento, no existe ningún estudio que haya evaluado la profilaxis de esta enfermedad en los pacientes oncológicos, en parte debido a la baja incidencia global de esta complicación ($< 5\%$ en pacientes no seleccionados). Tampoco se dispone de ninguna herramienta o *score* que analice el riesgo de padecer esta complicación.

En resumen:

- El cáncer incrementa el riesgo de enfermedad tromboembólica arterial de forma significativa; sin embargo, los mecanismos fisiopatológicos no son bien conocidos.
- La fisiopatología de la enfermedad tromboembólica arterial y venosa en los pacientes con cáncer parece estar relacionada.
- La fisiopatología de la enfermedad tromboembólica arterial parece tener características diferentes en los pacientes con cáncer en comparación con los pacientes no oncológicos.
- La incidencia de enfermedad tromboembólica arterial en los pacientes con cáncer es globalmente baja y claramente inferior a la descrita en trombosis venosa.
- El riesgo de padecer un evento es superior en los primeros 3-6 meses tras el diagnóstico y en la enfermedad avanzada y se asocia con la agresividad tumoral.
- No existe indicación de profilaxis específica de estos eventos en la población general con cáncer ni se dispone de ningún biomarcador o *score* específico de riesgo.
- De forma inversa, el padecer un ictus parece incrementar el riesgo de desarrollar un cáncer.
- El tratamiento con quimioterapia (cisplatino, fluoropirimidinas), la terapia antiangiogénica con anticuerpos anti-VEGF (bevacizumab) e inhibidores de la tirosina-cinasa (sorafenib, sunitinib)

Tabla 2. Metaanálisis de bevacizumab y riesgo de enfermedad tromboembólica arterial

| Metaanálisis | Año | Pacientes/número de estudios | Tipo de tumor | Riesgo de trombosis arterial |
|--------------------|------|------------------------------|--|---|
| Scappaticci et al. | 2007 | 1745/5 | Mama, colorrectal, pulmón | RR 2,0; IC 95%: 1,05-3,75; $p = 0,031$ |
| Ranpura et al. | 2010 | 12.617/20 | Tumores sólidos avanzados | RR 1,44; IC 95%: 1,08-1,91; $p = 0,013$ |
| Schutz et al. | 2011 | 13.026/20 | Mama, colorrectal, pulmón, riñón, páncreas y mesotelioma | RR 1,46; IC 95%: 1,11-1,93; $p = 0,007$ |

RR: razón de riesgo; IC 95%: intervalo de confianza 95%.

Tabla 3. Metaanálisis de bevacizumab y riesgo de enfermedad tromboembólica venosa

| Metaanálisis | Año | Pacientes/número de estudios | Tipo de tumor | Riesgo de trombosis venosa |
|--------------------|------|------------------------------|--|---|
| Scappaticci et al. | 2007 | 1745/5 | Mama, colorrectal, pulmón | RR 0,89; IC 95%: 0,66-1,20; $p = 0,031$ |
| Nalluri et al. | 2008 | 7.956/15 | Mama, colorrectal, pulmón, riñón, páncreas y mesotelioma | RR* 1,10; IC 95%: 0,89-1,36; $p > 0,05$ |
| Hurwitz et al. | 2011 | 6.055/10 | Mama, colorrectal, pulmón, riñón y páncreas | RR 0,91; IC 95%: 0,77-1,06; $p = 0,23$ |

RR: razón de riesgo; IC 95%: intervalo de confianza 95%. *: Ajustado por tiempo de exposición al fármaco.

y los análogos LHRH incrementan el riesgo de padecer eventos tromboembólicos arteriales.

Bibliografía

1. Kuenen BC, Rosen L, Smit EF, Parson MRN, Levi M, Ruijter R, et al. Dose-finding and pharmacokinetic study of cisplatin, gemcitabine, and SU5416 in patients with solid tumors. *J Clin Oncol* 2002;20:1657-67.
2. Weijl NL, Rutten MFJ, Zwinderman AH, Keizer HJ, Nooy MA, Rosendaal FR, et al. Thromboembolic events during chemotherapy for germ cell cancer: a cohort study and review of the literature. *J Clin Oncol* 2000;18:2169-78.
3. Zöller B, Ji J, Sundquist J, Sundquist K. Risk of coronary heart disease in patients with cancer: a nationwide follow-up study from Sweden. *Eur J Cancer* 2012;48(1):121-8.
4. Zöller B, Ji J, Sundquist J, Sundquist K. Risk of haemorrhagic and ischaemic stroke in patients with cancer: a nationwide follow-up study from Sweden. *Eur J Cancer* 2012;48:1875-83.
5. Graus F, Rogers LR, Posner JB. Cerebrovascular complications in patients with cancer. *Medicine (Baltimore)* 1985;64:16-35.
6. Khorana AA, Dalal M, Lin J, Connolly GC. Incidence and predictors of venous thromboembolism (VTE) among ambulatory high-risk cancer patients undergoing chemotherapy in the United States. *Cancer* 2013;119:648-55.
7. Navi BB, Reiner AS, Kamel H, Iadecola C, Elkind MS, Panageas KS, DeAngelis LM. Association between incident cancer and subsequent stroke. *Ann Neurol* 2015;77:291-300.
8. Prandoni P. Venous and arterial thrombosis: two aspects of the same disease? *Clin Epidemiol* 2009;1:1-6.
9. Goldhaber SZ. Venous thromboembolism: epidemiology and magnitude of the problem. *Best Pract Res Clin Haematol* 2012;25:235-42.
10. Prandoni P, Bilora F, Marchiori A, Bernardi E, Petrobelli F, Lensing AW, et al. An association between atherosclerosis and venous thrombosis. *N Engl J Med* 2003;348:1435-41.
11. Sørensen HT, Horvath-Puho E, Sogaard KK, Christensen S, Johnsen SP, Thomsen RW, et al. Arterial cardiovascular events, statins, low-dose aspirin and subsequent risk of venous thromboembolism: a population-based case-control study. *J Thromb Haemost* 2009;7:521-8.
12. Zhang YY, Cordato D, Shen Q, Sheng AZ, Hung WT, Chan DK. Risk factor, pattern, etiology and outcome in ischemic stroke patients with cancer: a nested case-control study. *Cerebrovasc Dis* 2007;23:181-7.
13. Kim JM, Jung KH, Park KH, Lee ST, Chu K, Roh JK. Clinical manifestation of cancer related stroke: retrospective case-control study. *J Neurooncol* 2013;111:295-301.
14. Zhang YY1, Chan DK, Cordato D, Shen Q, Sheng AZ. Stroke risk factor, pattern and outcome in patients with cancer. *Acta Neurol Scand* 2006;114:378-83.
15. Dieckmann KP, Gerl A, Witt J, Hartmann JT. Myocardial infarction and other major vascular events during chemotherapy for testicular cancer. *Ann Oncol* 2010;21:1607-11.
16. Lindvig K, Moller H, Mosbech J, Jensen OM. The pattern of cancer in a large cohort of stroke patients. *Int J Epidemiol* 1990;19:498-504.
17. International Stroke Conference (ISC) 2015. Abstract 210. Presented February 12, 2015.
18. Scappaticci FA, Skillings JR, Holden SN, Gerber H-P, Miller K, Kabbinavar F, et al. Arterial thromboembolic events in patients with metastatic carcinoma treated with chemotherapy and bevacizumab. *J Natl Cancer Inst* 2007;99:1232-9.
19. Schutz FA, Je Y, Azzi GR, Nguyen PL, Choueiri TK. Bevacizumab increases the risk of arterial ischemia: a large study in cancer patients with a focus on different subgroup outcomes. *Ann Oncol* 2011;22:1404-12.
20. Nalluri SR, Chu D, Keresztes R. Risk of venous thromboembolism with the angiogenesis inhibitor bevacizumab in cancer patients. A meta-analysis. *JAMA* 2008;300:2277-85.
21. Hurwitz HI, Saltz LB, Van Cutsem E, Cassidy J, Wiedemann J, Sirzén F, et al. Venous thromboembolic events with chemotherapy plus bevacizumab: a pooled analysis of patients in randomized phase II and III studies. *J Clin Oncol* 2011;29:1757-64.
22. Pereg D, Lishner M. Bevacizumab treatment for cancer patients with cardiovascular disease: a double edged sword? *Eur Heart J* 2008;29:2325-6.
23. Choueiri TK, Schutz FA, Je Y, Rosenberg JE, Bellmunt J. Risk of arterial thromboembolic events with sunitinib and sorafenib: a systematic review and meta-analysis of clinical trials. *J Clin Oncol* 2010;28:2280-5.
24. Sonpavde G, Je Y, Schutz F, Galsky MD, Paluri R, Rosenberg JE, Bellmunt J, Choueiri TK. Venous thromboembolic events with vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Crit Rev Oncol Hematol* 2013;87:80-9.
25. Sanon S, Lenihan DJ, Mouhayar E. Peripheral arterial ischemic events in cancer patients. *Vasc Med* 2011;16:119-30.

Modelización del riesgo de ETEV. Efecto de factores adquiridos sobre la base genética individual

J.M. Soria Fernández

Unitat de Genòmica de Malalties Complexes (UGMC). Institut de Investigació Biomèdica Sant Pau (IIB-Sant Pau). Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona

Enfermedad tromboembólica venosa

En la última década se han invertido grandes esfuerzos en el estudio de la enfermedad tromboembólica venosa (ETV) y, aunque hemos avanzado en los conocimientos sobre la base molecular de esta patología, aún queda mucho camino por recorrer, más si se tiene en cuenta que el 60% de la predisposición a la trombosis es atribuible a factores genéticos¹. En nuestros días la trombofilia hereditaria se considera una enfermedad multifactorial (interacción de factores genéticos y ambientales) y compleja, donde la suma de múltiples genes y cada uno de ellos con un efecto variable con el ambiente determinarán en cada individuo el grado de susceptibilidad a la trombosis^{2,3}.

Bases genéticas de la trombofilia

Actualmente, además de las deficiencias en inhibidores de coagulación y las mutaciones FVL y G20210A, disponemos de importantes evidencias científicas de la implicación de otros factores genéticos en el riesgo de trombosis (Tabla 1).

Uno de estos factores es el grupo sanguíneo ABO, donde los portadores del grupo sanguíneo no O presentan un riesgo entre 2 y 4 veces superior de padecer eventos tromboembólicos. Estos sujetos también tienen niveles más altos de factor de Von Willebrand y factor VIII y, posi-

blemente, este sea el mecanismo fisiopatológico por el cual el grupo sanguíneo ABO está relacionado con el riesgo tromboembólico.

Otro factor genético implicado en el riesgo de trombosis, inicialmente controvertido, es la mutación C46T en el gen *F12*. Su implicación en la enfermedad tromboembólica fue reportada en un estudio familiar con una estrategia combinada de análisis de ligamiento genético y asociación⁴. Estudios posteriores de asociación caso-control han confirmado que la mutación C46T del *F12* es un factor de riesgo de padecer trombosis venosa⁵ o arterial⁶⁻⁸.

También, se han identificado en estudios caso-control, a partir de una estrategia de genes candidatos, varias mutaciones poco frecuentes en la población general, pero que confieren un riesgo alto de desarrollar eventos tromboembólicos. Estas mutaciones son la R67X en el gen *SERPINA10* (inhibidor de la proteína Z) y la mutación A384S en el gen *SERPINC1* (antitrombina). Los portadores de la mutación R67X tienen un riesgo 3,3 veces superior de padecer un evento tromboembólico que los no portadores⁹, y los portadores de la A384S tienen un riesgo de padecer un evento tromboembólico 10 veces superior al de los no portadores¹⁰.

Otras mutaciones poco frecuentes en la población general son la R306T (FV Cambridge) y la R306G (FV Hong Kong) en el gen *F5*, asociadas al fenotipo resistencia a la proteína C activada (APCR). Teniendo en cuenta que entre el 10-20% de los casos de APCR no son

Tabla 1. Factores genéticos de riesgo tromboembólico

| SNPs | Mutación | Gen | Prevalencia pacientes TVP | Riesgo relativo |
|-------------|----------|-------------------|---------------------------|------------------|
| rs1801020 | C46T | F12 | 6%* | 5 |
| rs8176719 a | A1 | ABO | nr | 2-4 |
| rs7853989 a | A1 | ABO | nr | nr |
| rs8176743 a | A1 | ABO | nr | nr |
| rs8176750 a | A1 | ABO | nr | nr |
| rs2232698 | R67X | SERPINA10 | 4,4% | 3,3 |
| rs121909548 | A384S | SERPINC1 | 1,7% | 10 |
| rs6025 | R506Q | F5 (FV Leiden) | 15-25% | 5 |
| rs118203906 | R306T | F5 (FV Cambridge) | nr | nr (similar FVL) |
| rs118203905 | R306G | F5 (FV Hong Kong) | nr | nr (similar FVL) |
| rs5985 | V34L | F13 | 2%* | Factor protector |
| rs1799963 | G20210A | F2 (Protrombina) | 6-16% | 2-3 |

* Individuos homocigotos para estas variantes.

A1: portadores del alelo A1.

nr: no reportado.

ª El conjunto de los cuatro SNPs del gen *ABO* evalúa la presencia del alelo A1.

portadores de la mutación FVL, debería estudiarse la presencia de estas mutaciones en estos pacientes.

Por último, otra alteración genética con importantes evidencias científicas de su implicación en el riesgo de trombosis es la mutación V34L en el gen *F13*. En este caso, el alelo de riesgo sería el más prevalente, ya que la mutación tendría un efecto “protector”^{11,12}. Al no existir ningún test plasmático que detecte el efecto funcional de la variante Leu34 sobre la formación del coágulo, la detección a nivel genético de esta alteración puede suponer un dato relevante en la cuantificación del riesgo individual de enfermedad tromboembólica.

De factores de riesgo a perfiles de riesgo

Los estudios actuales sobre el peso que estos factores genéticos tienen en el riesgo de trombosis^{13,14} nos ayuda a entender que un polimorfismo genético por sí mismo no tendrá un gran efecto sobre el riesgo real de padecer la enfermedad; será la suma de factores genéticos y sus interacciones con otros factores genéticos y ambientales los que proporcionarán la información necesaria para estratificar los individuos según su riesgo, lo que se conoce como perfiles de riesgo. Solo integrando esta información (perfiles de riesgo) podremos trasladar la genómica al paciente. Precisamente, teniendo en cuenta la información de la que ya disponemos, es en el campo de la trombofilia donde los perfiles de riesgo están aportando información muy valiosa para la toma de decisiones terapéuticas, identificando pacientes de alto riesgo que se enfrentan a situaciones protrombóticas, como puede ser el cáncer. Es en este contexto donde se establece un interesante y amplio campo de estudio sobre el riesgo de trombosis en pacientes oncológicos.

Trombosis y quimioterapia como modelo de interacción gen-ambiente

La estrecha relación entre cáncer y ETV se conoce desde 1865, cuando el Dr. A. Trousseau describió por primera vez una asociación clínica entre la trombosis y un tumor aún no diagnosticado¹⁵. Desde entonces, la relación entre cáncer y ETV ha sido ampliamente estudiada y ahora está claro que la trombosis es una de las principales causas de muerte en pacientes con cáncer¹⁶. Coagulación y cáncer interactúan bidireccionalmente en un círculo vicioso en el que el tumor es capaz de activar la coagulación mediante la producción de factores procoagulantes (p. ej., factor tisular, proteína procoagulante del cáncer, micropartículas, moléculas de adhesión, factores proangiogénicos y citocinas) que promueven la generación de trombina y la formación de fibrina y, a su vez, estos factores hemostáticos favorecen la progresión y el crecimiento del tumor¹⁷.

Aunque los pacientes con cáncer pueden experimentar tanto trombosis venosa como arterial, la ETV se ha estudiado más extensamente y los datos disponibles sobre la enfermedad tromboembólica arterial (ETA) son más limitados^{18,19}. Es importante tener en cuenta que la trombosis se ha descrito mayormente en pacientes con tumores sólidos, pero más recientemente esta se ha reconocido como una complicación importante también en neoplasias hematológicas. Por ejemplo, en pacientes con neoplasias mieloproliferativas, los eventos trombóticos ocurren en el 10-40% de los pacientes, y de estos hasta el 70% son el resultado de ETA, incluyendo accidente cerebrovascular isquémico²⁰. Por tanto, las complicaciones tromboembólicas en pacientes con cáncer representan un problema de salud importante que consume

gran cantidad de recursos económicos y, sobre todo, contribuyen significativamente a la morbilidad y mortalidad de estos pacientes. En este contexto, es de gran importancia dirigir esfuerzos y recursos a la prevención de estas complicaciones oncohematológicas. Sabemos que la ETV se puede prevenir con el uso adecuado de anticoagulantes profilácticos²¹.

Modelos predictivos de riesgo de trombosis en pacientes oncológicos

Por todo lo anteriormente expuesto, es sumamente importante evaluar el riesgo trombótico en pacientes oncológicos que se van a someter a quimioterapia. Abordar esta problemática puede aportar un buen modelo de interacción gen-ambiente. Los modelos predictivos actuales para identificar a los pacientes con cáncer de alto riesgo trombótico que podrían beneficiarse de tratamiento anticoagulante se basan en cinco parámetros clínicos²²:

- Tipo de cáncer.
- Recuento de plaquetas.
- Niveles de hemoglobina o uso de agentes estimulantes de la eritropoyesis.
- Índice de masa corporal.
- Recuento de leucocitos.

Sin embargo, este modelo²² predice un riesgo a corto plazo de ETV sintomática del 7% en los pacientes sometidos a quimioterapia, lo cual muestra un poder de predicción claramente insuficiente²². Recientemente, la adición a este modelo de otros parámetros o factores de riesgo, como la P-selectina y el dímero D, mejoró la estimación del riesgo trombótico^{23,24}.

Es importante destacar que, actualmente, los modelos de estimación del riesgo de trombosis en pacientes oncológicos ignoran la variabilidad genética de los factores de riesgo trombótico que confiere susceptibilidad a la ETV. Esta información genética, que hasta la fecha no se ha tenido en cuenta, es imprescindible para evaluar el riesgo trombótico, ya que la ETV es una enfermedad multifactorial y compleja, que resulta de la interacción de factores genéticos y ambientales, con una heredabilidad estimada del 60%¹.

Como hemos visto en la primera parte de este artículo, las causas genéticas subyacentes al riesgo trombótico incluyen mutaciones que dan lugar a un fenotipo protrombótico, como FVL en el gen *F5* y G20210A en el gen *F2* de la protrombina, que tienen un fuerte efecto en el desarrollo de la patología tromboembólica²⁵. Además, hay evidencias de nuevas variantes genéticas asociadas con ETV que modifican la función de la vía de coagulación^{4,10}. También, se han identificado variantes comunes de baja penetrancia asociadas a la ETV mediante estudios de asociación a nivel de todo el genoma (GWAS, *genome wide association analysis*)²⁶. Es interesante destacar que recientemente se ha desarrollado un algoritmo de predicción que combina factores genéticos y clínicos de riesgo de trombosis que mejora significativamente la capacidad de predicción del riesgo tromboembólico a nivel de población¹³. Es esperable que esta base genética tan importante que subyace al riesgo trombótico en la población general pueda ser aplicable también a los pacientes con cáncer. De hecho, las mutaciones FVL y G20210A se han asociado a un aumento del riesgo trombótico en pacientes con cáncer²⁷.

Factores genéticos en la predicción del riesgo de trombosis en cáncer

Las observaciones anteriores apoyan la hipótesis que postula una mejora significativa de la estimación del riesgo trombótico individual asociado al cáncer, gracias a la inclusión de factores genéticos de riesgo trombótico. En este sentido, tenemos en marcha el proyecto Oncothromb, cuyo objetivo es estimar el riesgo individual de padecer enfermedad tromboembólica en pacientes con cáncer que reciben quimioterapia en un medio extrahospitalario, analizando variables genómicas y clínicas (los resultados preliminares se presentan en este congreso). Concretamente, Oncothromb es un proyecto prospectivo, observacional y longitudinal que incluirá 400 pacientes diagnosticados con cáncer (colorrectal, estómago, páncreas o pulmón) que recibirán quimioterapia sistémica. Se recogerán datos demográficos, clínicos y biológicos (plasmáticos y genéticos). Con base en esta información, se calculará el *score* de Khorana y se comparará con un *score* que incluye factores genéticos de riesgo de trombosis incluidos en el perfil genético²⁷. Esta información nos servirá para construir un modelo de predicción de riesgo de trombosis en estos pacientes. Los resultados preliminares de este proyecto muestran que tanto el *score* genético²⁷ como el de Khorana, de forma individual, tienen una escasa capacidad de predicción. Sin embargo, cuando al *score* genético²⁷ le añadimos variable clínicas (interacción gen-ambiente), la capacidad predictiva del riesgo de trombosis mejora significativamente en comparación con el *score* de Khorana.

Conclusiones

Predecir el riesgo individual de una enfermedad compleja como la ETV no es tarea sencilla. Básicamente, la dificultad radica en la existencia de múltiples factores genéticos de riesgo trombótico (muchos de ellos aún desconocidos) y la interacción entre ellos, y en la existencia de factores ambientales de riesgo: unos ya reconocidos en la población general (inmovilización, cirugía, edad, obesidad) y otros factores de riesgo específicos del paciente en el caso del cáncer (tipo de cáncer, quimioterapia, terapia antiangiogénica).

Solo si integramos múltiples capas de información (clínica, plasmática y genética) específica de cada paciente²⁸ seremos capaces de obtener una visión global de la fisiopatología subyacente a la asociación entre cáncer y ETV y, así, progresar significativamente en la comprensión de esta complicación oncohematológica, que nos permita prever el riesgo y administrar un tratamiento profiláctico adecuado solo a los pacientes que lo necesiten.

Bibliografía

- Souto JC, Almasy L, Borrell M, Blanco-Vaca F, Mateo J, Soria JM, et al. Genetic susceptibility to thrombosis and its relationship to physiological risk factors: the GAIT study. *Genetic Analysis of Idiopathic Thrombophilia*. *Am J Hum Genet* 2000;67(6):1452-9.
- Bovill EG, Hasstedt SJ, Leppert MF, Long GL. Hereditary thrombophilia as a model for multigenic disease. *Thrombosis and Haemostasis* 1999;82(2):662-6.
- Rosendaal FR. Venous thrombosis: a multicausal disease. *Lancet* 1999;353(9159):1167-73.
- Tirado I, Soria JM, Mateo J, Oliver A, Souto JC, Santamaria A, et al. Association after linkage analysis indicates that homozygosity for the 46C->T polymorphism in the F12 gene is a genetic risk factor for venous thrombosis. *Thromb Haemost* 2004;91(5):899-904.
- Santamaria A, Martinez-Rubio A, Mateo J, Tirado I, Soria JM, Fontcuberta J. Homozygosity of the T allele of the 46 C->T polymorphism in the F12 gene is a risk factor for acute coronary artery disease in the Spanish population. *Haematologica* 2004;89(7):878-9.
- Santamaria A, Mateo J, Tirado I, Oliver A, Belvis R, Marti-Fabregas J, et al. Homozygosity of the T allele of the 46 C->T polymorphism in the F12 gene is a risk factor for ischemic stroke in the Spanish population. *Stroke* 2004;35(8):1795-9.
- Roldán V, González-Conejero R, Marín F, Pineda J, Vicente V, Corral J. Five prothrombotic polymorphisms and the prevalence of premature myocardial infarction. *Haematologica* 2005;90(3):421-3.
- Corral J, Gonzalez-Conejero R, Soria JM, Gonzalez-Porras JR, Perez-Ceballos E, Lecumberri R, et al. A nonsense polymorphism in the protein Z-dependent protease inhibitor increases the risk for venous thrombosis. *Blood* 2006;108(1):177-83.
- Corral J, Hernandez-Espinosa D, Soria JM, Gonzalez-Conejero R, Ordoñez A, Gonzalez-Porras JR, et al. Antithrombin Cambridge II (A384S): an underestimated genetic risk factor for venous thrombosis. *Blood* 2007;109(10):4258-63.
- Franco RF, Reitsma PH, Lourenco D, Maffei FH, Morelli V, Tavella MH, et al. Factor XIII Val34Leu is a genetic factor involved in the etiology of venous thrombosis. *Thromb Haemost* 1999;81(5):676-9.
- Catto AJ, Kohler HP, Coore J, Mansfield MW, Stickland MH, Grant PJ. Association of a common polymorphism in the factor XIII gene with venous thrombosis. *Blood* 1999;93(3):906-8.
- Soria JM, Morange P-E, Vila J, Souto JC, Moyano M, Trégouët D-A, et al. Multilocus genetic risk scores for venous thromboembolism risk assessment. *Journal of the American Heart Association* 2014;3(5):e001060.
- Van Hylckama Vlieg A, Flinterman LE, Bare LA, Cannegieter SC, Reitsma PH, Arellano AR, et al. Genetic variations associated with recurrent venous thrombosis. *Circulation Cardiovascular Genetics* 2014;7(6):806-13.
- Buller HR, Van Doornaal FF, Van Sluis GL, Kamphuisen PW. Cancer and thrombosis: from molecular mechanisms to clinical presentations. *J Thromb Haemost* 2007;5(Suppl. 1):246-54.
- Khorana AA, Francis CW, Culakova E, Kuderer NM, Lyman GH. Frequency, risk factors, and trends for venous thromboembolism among hospitalized cancer patients. *Cancer* 2007;110(10):2339-46.
- Falanga A, Russo L, Verzeroli C. Mechanisms of thrombosis in cancer. *Thrombosis Research* 2013;131 Suppl:S59-62.
- Di Nisio M, Ferrante N, Feragalli B, De Tursi M, Iacobelli S, Cuccurullo F, et al. Arterial thrombosis in ambulatory cancer patients treated with chemotherapy. *Thromb Res* 2011;127(4):382-3.
- Sanon S, Lenihan DJ, Mouhayar E. Peripheral arterial ischemic events in cancer patients. *Vasc Med* 2011;16(2):119-30.
- Falanga A, Marchetti M, Vignoli A. Coagulation and cancer: biological and clinical aspects. *J Thromb Haemost* 2013;11(2):223-33.
- Francis CW. Clinical practice. Prophylaxis for thromboembolism in hospitalized medical patients. *N Engl J Med* 2007;356(14):1438-44.
- Khorana AA, Kuderer NM, Culakova E, Lyman GH, Francis CW. Development and validation of a predictive model for chemotherapy-associated thrombosis. *Blood* 2008;111(10):4902-7.
- Ay C, Dunkler D, Marosi C, Chiriac AL, Vormittag R, Simanek R, et al. Prediction of venous thromboembolism in cancer patients. *Blood* 2010;116(24):5377-82.
- Ay C, Pabinger I. Predictive potential of haemostatic biomarkers for venous thromboembolism in cancer patients. *Thromb Res* 2012;129 Suppl:S6-9.
- Soria JM, Fontcuberta J. New approaches and future prospects for evaluating genetic risk of thrombosis. *Haematologica* 2005;90(9):1212-22.
- Germain M, Saut N, Greliche N, Dina C, Lambert JC, Perret C, et al. Genetics of venous thrombosis: insights from a new genome wide association study. *PLoS One* 2011;6(9):e25581.
- Blom JW, Doggen CJ, Osanto S, Rosendaal FR. Malignancies, prothrombotic mutations, and the risk of venous thrombosis. *JAMA* 2005;293(6):715-22.
- Souto JC, Soria JM. Predicting individual risk of venous thrombosis. *Blood* 2012;120(3):500-1.

Enfermedad autoinmune y complicaciones tromboembólicas. Mecanismos y epidemiología

I.S. Caparrós Miranda

UGCIC Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Virgen de la Victoria. Málaga

Introducción

La evidencia actual sugiere que el sistema inmune y la hemostasia tienen un origen evolutivo común, lo que explica la amplia conexión entre las citocinas inflamatorias y los factores de coagulación. Esta relación se ha estudiado ampliamente en la sepsis, un importante estado inflamatorio. Sin embargo, la enfermedad autoinmune también puede ser considerada como un estado protrombótico. Cada vez más estudios demuestran que las enfermedades autoinmunes son un factor de riesgo para la enfermedad cardiovascular (ECV) y también para eventos tromboembólicos venosos (ETV). La inflamación y su efecto sobre la hemostasia probablemente sea el vínculo entre estas enfermedades¹.

La mayoría de los estudios se encuentran en patologías sistémicas como el lupus eritematoso sistémico (LES) y la artritis reumatoide (AR). Sin embargo, la literatura es escasa en pacientes con vasculitis sistémicas primarias (PSV) y en otras no sistémicas. Así, los mecanismos relacionados con otras enfermedades autoinmunes sistémicas se han extrapolado a los pacientes con PSV.

Uno de los principales factores de riesgo de trombosis está vinculado a la presencia de anticuerpos antifosfolípidos (AAF), cuya prevalencia se incrementa entre las personas con enfermedades autoinmunes. Sin embargo, en la enfermedad autoinmune sin presencia de AAF también se ve incrementado el riesgo de tromboembolismo, como veremos más adelante. Dado que el síndrome antifosfolípido (SAF) se caracteriza precisamente por su clínica fundamentalmente trombótica, haremos mención aparte a esta entidad.

Epidemiología

Las enfermedades autoinmunes, como el LES y la AR, tienen un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares arterioscleróticas, particularmente de cardiopatía isquémica. Ambas tienen el mayor peso de la literatura disponible que describe el aumento del riesgo de ECV, pero otros estudios más pequeños también sugieren dicho riesgo en otras enfermedades autoinmunes como la esclerosis sistémica, la dermatomiositis/polimiositis y la enfermedad de Behçet, entre otras.

Enfermedad cardiovascular

Según datos de la Organización Mundial de la Salud², las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte en todo el mundo. Cada año mueren más personas por ECV que por cualquier otra causa. Se calcula que en 2012 murieron por este motivo 17,5 millones de personas, lo cual representa un 31% de todas las muertes registradas en el mundo (7,4 millones de esas muertes se debieron a la cardiopatía coronaria, y 6,7 millones, a los accidentes cerebrovasculares).

El LES es el prototipo de las enfermedades autoinmunes, debido a su rica expresión clínica e inmunológica, que se caracteriza por la producción de múltiples autoanticuerpos. Afecta principalmente a las mujeres (mujeres:hombres 9:1). Su prevalencia es variable, desde 159/100.000 entre las mujeres del Caribe, a 34/100.000 habitantes en la población española y de 18/100.000 habitantes en Japón³. Los pacientes tienen un incremento considerable de la morbilidad y la mortalidad relacionada con ECV que ha superado a la de la enfermedad en sí misma o por complicaciones del tratamiento, tales como infecciones⁴. Existe un patrón bimodal de la mortalidad, con un pico inicial (dentro de los primeros 3 años del diagnóstico) en relación con la enfermedad activa, la sepsis y la nefritis y un pico más tardío (más de 5 años desde el diagnóstico) debido a infarto de miocardio⁵. Los pacientes con LES tienen incrementado en cinco o seis veces el riesgo de eventos CV en comparación con la población general. En un estudio retrospectivo, las mujeres jóvenes con LES tuvieron dos veces más riesgo de presentar un infarto agudo de miocardio (IAM) en comparación con las mujeres jóvenes sin LES. Aquellas con edades comprendidas entre 35 a 44 años tenían un riesgo relativo de infarto de miocardio 50 veces mayor que el observado en los controles de la misma edad^{6,7}.

La prevalencia de la AR se estima en aproximadamente el 1% en los caucásicos. La incidencia anual es de alrededor de 40 por cada 100.000 habitantes. La mujer con AR tienen mayor riesgo de IAM que los hombres con AR. Un metaanálisis, que abarca 24 estudios observacionales de mortalidad en AR entre 1970 y 2005, encontró que la mortalidad por ECV fue significativamente superior (tasa de mortalidad global estándar de 1,50 con un 95% intervalo de confianza [IC]). La razón de mortalidad estándar para la enfermedad cardíaca isquémica se incrementó de manera similar al 1,59 (IC del 95%). Los datos publicados indican que la mortalidad por ECV aumenta un 50% en los pacientes con AR en comparación con la población general⁸. Este mismo grupo, en un metaanálisis posterior publicado en 2012, registró que el riesgo de ECV fue significativamente mayor en un 48% de los pacientes con AR en comparación con la población general (riesgo relativo [RR] agrupado 1,48 (IC del 95%: 1,36 a 1,62). Era debido a un aumento del riesgo de IAM (68%), accidente cerebrovascular (ACV) (41%) e insuficiencia cardíaca (70%). Los riesgos de IAM y ACV se incrementaron en ambos sexos⁹. En un estudio de cohorte prospectivo publicado por Solomon y colaboradores en el que participaron más de 110.000 mujeres, las mujeres con AR tenían un riesgo doble de IAM¹⁰. Así mismo, los pacientes diagnosticados de AR tienen una probabilidad tres veces mayor de presentar un IAM de forma más precoz en comparación con los individuos no AR¹¹. Esto sugiere que puede existir una arteriosclerosis prematura antes o al inicio de los síntomas de la enfermedad, incluso antes del diagnóstico de la AR. Otro grupo, de Van Doornum y colaboradores, demostró

que los pacientes con AR tenían una mayor mortalidad en los 30 días posteriores al IAM con respecto a los casos de no AR. En conjunto, esta evidencia sugiere que los individuos con AR tienen un mayor riesgo de desarrollo de nuevos eventos cardiovasculares a una edad más temprana y una relación muerte/caso superior¹².

En pacientes con esclerosis sistémica, en un estudio de cohorte publicado en 2013, la incidencia de IAM se incrementó aproximadamente el doble en comparación con controles pareados¹³. En otro estudio chino reciente, la esclerosis sistémica se asoció con un mayor riesgo de IAM; sin embargo, menos del 40% tenían enfermedad de la arteria coronaria obstructiva, lo que indicaba que las anomalías microvasculares podían ser el mecanismo primario en lugar de la estenosis de la arteria coronaria epicárdica¹⁴.

Enfermedad tromboembólica venosa

De forma general, la incidencia exacta de la enfermedad tromboembólica venosa (ETV) no se conoce, pero aproximadamente es de 900.000 pacientes cada año en los Estados Unidos y el TEP es responsable de ≈300.000 muertes, lo que supera la mortalidad por infarto de miocardio o un accidente cerebrovascular^{15,16}.

En los últimos años, importantes estudios epidemiológicos han puesto de relieve que la ETV tiene una mayor incidencia en enfermedades autoinmunes en comparación con individuos sanos¹⁷.

Uno de los principales factores de riesgo está vinculado a la presencia de AAF, cuya prevalencia se incrementa entre las personas con enfermedades autoinmunes sistémicas. Sin embargo, el riesgo de ETV también está incrementado en aquellas con AAF negativos.

Como ya se ha comentado, la ETV es más frecuente en los pacientes con LES que en los grupos de control. En la cohorte de Euro-lupus, entre el 5 y el 10% de la población estudiada presentó trombosis en un período de seguimiento de 10 años¹⁸. Junto con las exacerbaciones de la enfermedad y las infecciones, la trombosis es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en el LES. Las primeras se encuentran principalmente en los primeros 5 años de la enfermedad, mientras que la trombosis generalmente aparece después de este período.

Algunos estudios epidemiológicos poblacionales se han realizado en Europa y los Estados Unidos¹⁷. Ramagopalan et al. publicaron un estudio sobre el riesgo de TEV en personas admitidas en el hospital con enfermedades autoinmunes. En comparación con los controles, los pacientes con varias patologías autoinmunes mostraron tasas más altas de ETV de forma estadísticamente significativa, como el LES (IC del 95%; 3,43 a 4,02 3,71), el síndrome de Sjögren (2,02 IC del 95%, 1,80-2,26), esclerodermia (CI 1,97 [95%; 1,73-2,23]), la AR (IC 1,75 [95%; 1,70 a 1,80]), poliarteritis nudosa (CI 3,53 [95%; 2,76 a 4,44]), dermatomiositis/polimiositis (3,04 [IC del 95%, 2,60-3,54]) y espondilitis anquilosante (CI 1,93 [95%; 1,74- 2,14])¹⁹.

En un estudio sobre el riesgo de TEP en pacientes con enfermedad autoinmune en Suecia realizado por Zöller y colaboradores se registraron los datos desde 1964 hasta 2008. Analizaron las razones de incidencia estandarizada (SIR) que se ajustaron por sexo, edad, tiempo y comorbilidad. Los resultados mostraron que las 33 enfermedades autoinmunes incluidas en el estudio tenían mayor incidencia de TEP en el primer año del primer ingreso hospitalario. Entre las enfermedades reumatológicas, particularmente poliarteritis nudosa (SIR 13,26; IC del 95%, 9,33-18,29), polimiositis/dermatomiositis (SIR 16,44; IC del 95%, 11,57-22,69) y LES (SIR 10,23; IC del 95%, 8,31-12,45) se

asociaron con un mayor riesgo. El riesgo global de ETV en pacientes con las 33 enfermedades autoinmunes se redujo con el tiempo de 6,38 (IC del 95%, 6,19-6,57) durante el primer año de seguimiento a 1,53 (IC del 95%, 1,48-1,57) en 1-5 años de seguimiento, 1,15 (IC 95%; 1,11-1,20) a los 5-10 años de seguimiento y 1,04 (IC del 95%, 1,00-1,07) en ≥ 10 años²⁰.

En Estados Unidos, Yusuf y colaboradores realizaron un estudio sobre el riesgo de ETV en cuatro enfermedades autoinmunes que incluían anemia hemolítica autoinmune (AHAI), púrpura trombocitopénica inmune (PTI), AR y LES, utilizando un registro nacional de 2010 de pacientes hospitalizados. Para AHAI, PTI, AR o LES, o más de una de estas enfermedades, el riesgo de por lo menos un evento de ETV fue 19,74, 7,72, 4,90, 9,89 y 13,35 por cada 1.000 personas-año, respectivamente, mientras que en el grupo control, el riesgo fue 1,91 por 1.000 personas-año. Los cocientes de riesgo ajustados (AHRs) de ETV entre los pacientes con AHAI, PTI, AR o LES, o > 1 de estas enfermedades, tendían a disminuir con el tiempo de seguimiento²¹.

En estos estudios, los datos mostraban un mayor riesgo de ETV asociado con enfermedades autoinmunes, especialmente relacionados con la hospitalización.

En el caso de PTI, el grupo de Severinsen estudió la incidencia de eventos trombóticos venosos en 391 pacientes con PTI crónica comparándolos con 3.128 pacientes de población general, obteniendo un RR de 2,65²². Sin embargo, en un estudio retrospectivo multicéntrico sobre la incidencia de eventos trombóticos durante 5 años con 986 pacientes, no se determinó un aumento del riesgo de trombosis excepto en esplenectomizados y en pacientes de edad avanzada²³.

En un metaanálisis publicado recientemente, se ha investigado el riesgo de ETV en enfermedades autoinmunes. En total, se seleccionaron para el análisis 25 estudios. Los tres estudios anteriormente citados se incluyeron también en este metaanálisis¹⁹⁻²¹. Diez estudios incluyeron la artritis reumatoide con una incidencia acumulada TEV del 2,18% (IC del 95%: 1,82% a 2,54%) y una *odds ratio* de 2,23 (IC 95%: 2,02 a 2,47) en comparación con poblaciones emparejadas por edad y sexo. Diez estudios hacían referencia al LES con una incidencia acumulada de TEV del 7,29% (IC del 95%: 5,82% a 8,75%). Cuatro estudios de síndrome de Sjögren demostraron una incidencia acumulada de TEV del 2,18% (IC del 95%: 0,79% a 3,57%). Cuatro estudios de miositis inflamatoria presentaron una incidencia acumulada de TEV del 4,03% (IC del 95%: 2,38% a 5,67%). Las tasas acumuladas de ETV en esclerosis sistémica y vasculitis asociada a ANCA (cuatro estudios cada uno) fueron del 3,13% y del 7,97%, respectivamente. Así, las enfermedades autoinmunes estudiadas se asociaron con altas tasas de TEV, más de tres veces mayor que en la población general y con un aumento de la *odds ratio* de 3,4²⁴.

Dentro de las vasculitis sistémicas primarias, la enfermedad de Behçet (EB) ha sido la más estudiada¹⁷. Esta vasculitis puede afectar a arterias de todos los tamaños, así como a las venas. La frecuencia de afectación vascular en varios estudios oscila entre el 1,8% y el 51,6%²⁵. La tasa de afectación venosa varía entre el 4% y el 38%²⁶. Un estudio realizado en España comparando los niveles de proteína C activada (PCa) en 39 pacientes con EB, 12 de ellos presentaron TEV. La PCa y la trombomodulina fueron significativamente inferiores en los pacientes con EB y TEV²⁷. Otro estudio retrospectivo de Francia analizó 807 pacientes con EB, de los cuales 296 (36,7%) habían sufrido trombosis venosa. Este estudio demostró además que el tratamiento con inmunosupresores reducía el riesgo de recurrencia de

trombosis venosa²⁸. Todavía no hay datos disponibles en otras formas de vasculitis sistémicas, pero los datos actuales disponibles sugieren un aumento del riesgo de TEV en estos pacientes, especialmente durante la fase aguda de la enfermedad activa y el período perihospitalización.

Síndrome antifosfolípido

Uno de los principales factores de riesgo para la trombosis está vinculado a la presencia de AAF, cuya prevalencia se incrementa entre las personas con enfermedades autoinmunes sistémicas, sobre todo en LES²⁹.

El SAF se define por la aparición de trombosis venosas y arteriales, a menudo múltiples, pérdidas fetales recurrentes y complicaciones vasculares gestacionales. La prevalencia de AAF en la población general oscila entre el 1 y el 5%. Sin embargo, solo una minoría de estas personas va a desarrollar SAF. Algunas estimaciones indican que la incidencia de SAF es de alrededor de 5 nuevos casos por cada 100.000 personas por año, y la prevalencia, de alrededor de 40 a 50 casos por cada 100.000 personas³⁰. Recientemente, el Grupo APS ACTION (AntiPhospholipid Syndrome Alliance For Clinical Trials and International Networking) publicó una revisión de la literatura centrada en la prevalencia de AAF. Los autores estimaron que los AAF son positivos en aproximadamente el 13% de los pacientes con ictus, el 11% con infarto de miocardio, el 9,5% de los pacientes con TVP y el 6% de las pacientes con morbilidad durante el embarazo³¹. Los pacientes con SAF primario rara vez progresan a LES. Solo el 8% de los 128 pacientes, que fueron seguidos durante más de 9 años, desarrolló LES.

En el estudio recientemente publicado por el Euro-Phospholipid Project Group sobre 1.000 pacientes, el 53,1% tenían SAF primario, el 36,2% tenían SAF asociado con LES, y el 10,7%, SAF asociado con otras enfermedades. Los eventos trombóticos aparecieron en el 16,6% de los pacientes durante el primer período de 5 años, y el 14,4%, durante el segundo período. Los eventos trombóticos más frecuentes fueron accidentes cerebrovasculares (5,3% de la cohorte total), accidentes isquémicos transitorios (4,7%), TVP (4,3%) y embolismo pulmonar (3,5%). Las proporciones fueron similares en el primer y segundo período³².

Mecanismos

La inflamación es una característica clave de las enfermedades autoinmunes y que va a relacionarse de una manera bidireccional con la coagulación. Esta asociación es la base de la trombosis (tanto arterial como venosa) en las enfermedades autoinmunes. Sin embargo, otros factores de riesgo, tales como los factores de riesgo cardiovascular clásicos, la presencia de arteriosclerosis prematura y la contribución de autoanticuerpos, como AAF, pueden jugar un papel importante. Por otra parte, el papel que tienen los elementos celulares como las plaquetas y los leucocitos, entre otros, en los mecanismos de acción de la trombosis en las enfermedades autoinmunes no está todavía claro. Así, todos estos factores pueden contribuir a crear un estado protrombótico que incrementaría el riesgo tromboembólico en estas enfermedades.

Inflamación y hemostasia

La relación entre la activación de la coagulación y la inflamación se ha estudiado ampliamente en la infección. En esta situación se produce

una serie de condiciones protrombóticas como la disfunción endotelial, la expresión del factor tisular (FT) y la activación de la coagulación así como la inhibición de la fibrinólisis y del sistema de la proteína C³³. También, indirectamente, puede haber una relación entre la adiposidad, la resistencia a la insulina, inflamación y coagulación, ya que las citocinas como el factor de necrosis tumoral α (FNT α) y la interleucina 6 (IL-6) se liberan en el tejido adiposo y juegan un papel importante en toda la activación de la coagulación y el depósito de fibrina. Esto se puede ver como parte de la defensa del huésped del organismo contra agentes infecciosos en un intento de contener una infección sistémica. Además, la activación del sistema de la coagulación extrínseca y el deterioro de la vía fibrinolítica puede ayudar a perpetuar y ampliar la respuesta inflamatoria³³. En enfermedades inflamatorias crónicas, como el LES y la AR, estos mecanismos son menos claros, pero también parecen tener un papel importante en relación con la trombosis venosa o arterial.

El activador más importante de la coagulación es el FT, que se encuentra en las células extravasculares. Mediadores de la inflamación, como la proteína C reactiva, FNT α , IL-6 y la activación del complemento pueden activar la síntesis de FT en células intravasculares, tales como monocitos y células endoteliales. Así, se han detectados niveles altos de FT en estudios de pacientes con AR, sobre todo con enfermedad activa. Además, los niveles plasmáticos de los factores de coagulación como el fibrinógeno, factor de Von Willebrand (vWF), factor VIII, factor XIIa, fragmentos de protrombina 1 + 2 (F1 + 2) y trombina-antitrombina se ha demostrado que pueden estar incrementados. Muchos de estos marcadores se asocian con la disfunción endotelial, que es el primer paso en la patogénesis de la aterosclerosis, y la progresión de dicha disfunción endotelial está estrechamente relacionada con la inflamación. Durante la inflamación, las células endoteliales experimentan cambios y empiezan a expresar mayores niveles de moléculas de adhesión y FT y también niveles bajos de óxido nítrico y trombomodulina, perdiendo así sus propiedades anti-trombóticas³⁴. A todo ello se le añade una menor regulación por parte de las tres vías principales de la anticoagulación como son el inhibidor del factor tisular (TFPI), la antitrombina y el sistema de la proteína C. Sin embargo, el papel de estas vías en la AR no está claro. Algunos de los factores de la vía fibrinolítica, como fibrinógeno, activadores del plasminógeno (t-PA) e inhibidor del activador del plasminógeno 1 (PAI-1), se han asociado con un mayor riesgo de eventos coronarios o accidente cerebrovascular. Todos estos factores se han encontrado más elevados en pacientes con LES y AR, sobre todo en enfermedad activa³⁵.

La trombina formada es capaz de provocar todas estas respuestas en diferentes células a través de sus receptores activados por proteasas (PAR), otro nexo de unión entre la coagulación y la inflamación. Estas proteasas se localizan en las células endoteliales, células mononucleares, plaquetas, fibroblastos y células del músculo liso. La activación de estos receptores PAR induce la liberación de citocinas proinflamatorias, que modulan posteriormente aún más la coagulación y la fibrinólisis. Se han identificado hasta la fecha cuatro subtipos principales de la familia PAR: PAR-1, PAR-3, y PAR-4, que son receptores de la trombina, y PAR-2, que se activa por la tripsina, el factor Xa triptasa, y el factor VIIa³³. El grupo español de López-Pedraza y colaboradores ha sido el primero en mostrar *in vivo* el incremento en la expresión de PAR-1 y PAR-2 en monocitos de pacientes con SAF primario³⁶.

Las plaquetas

Las plaquetas participan además de la hemostasia, en procesos como la trombosis, la inflamación y la inmunidad innata. Cuando se activan, facilitan el reclutamiento de leucocitos a los sitios de lesión vascular y la inflamación, la expresión del complemento y la liberación de citoquinas, quimiocinas y proteínas antibacterianas. Así, podemos hablar de una actividad proinflamatoria de las plaquetas que está vinculada a la defensa del huésped y a una gran variedad de enfermedades autoinmunes y enfermedades inflamatorias³³.

Debido a su tamaño, las plaquetas son el tipo celular que primero va a responder al daño endotelial e iniciará la respuesta inflamatoria. En las enfermedades autoinmunes, las plaquetas están expuestas crónicamente a estímulos potentes, lo que resulta en una mayor activación de estas. La presencia de autoanticuerpos o el depósito de complemento, como se observa en la AR o el LES, o simplemente la presencia sostenida de colágeno como resultado de daño vascular en la esclerosis sistémica, potencian la activación plaquetaria. Además, las plaquetas son los mayores reservorios circulantes de varios factores reguladores inmunes como el TGF-beta, CD40L, IL-1, la serotonina y quimiocinas³⁷. El CD40L posee un papel fundamental en la arteriosclerosis y su forma soluble se encuentra en el interior de las plaquetas. El sCD40L es uno de los mediadores más importantes de la inflamación. Pone en marcha la activación y la inflamación del endotelio mediante el aumento de la expresión de las moléculas de adhesión endoteliales (VCAM-1 e ICAM-1), induciendo la producción de quimiocinas (CCL-2, IL-6 e IL-8) y facilitando así, en conjunto, el reclutamiento y la adhesión de los leucocitos al endotelio activado³³. Se ha observado una desregulación de la vía CD40/CD40L en enfermedades autoinmunes e inflamatorias, presentando niveles elevados de sCD40L en plasma en enfermedades como LES, AR y EB, entre otras. Varios estudios han mostrado un aumento de marcadores de activación plaquetaria como una mayor expresión de P-selectina en pacientes con LES y AR^{1,38}.

Las plaquetas también son esenciales para la propagación de la TVP, ya que soportan la acumulación de leucocitos y promueven la formación de trampas extracelulares de neutrófilos (NET), que a su vez desencadena la propagación del trombo FXII-dependiente, como veremos más adelante³⁹.

Micropartículas

Las micropartículas (MP), pequeñas vesículas de membrana, se pueden liberar de muchos tipos diferentes de células tales como plaquetas, linfocitos, monocitos, células endoteliales y células tumorales. Las micropartículas pueden contribuir a este estado de hipercoagulabilidad inducida por la inflamación, que tiene un papel clave en la patogénesis de los fenómenos trombóticos asociados con LES, AR, SAF y vasculitis sistémicas⁴⁰. Las MP derivadas de plaquetas han sido las más investigadas en relación con la trombosis. Interactúan con el factor Va, el factor VIII y el factor IXa para jugar un papel en la cascada de coagulación. El FT y la fosfatidilserina están expuestos en las membranas externas de las MP. En enfermedades sistémicas autoinmunes como la AR, LES y vasculitis, se registraron niveles elevados de MP derivadas de plaquetas⁴¹.

En el SAF, la activación de células endoteliales por anticuerpos anti-β2GPI juega un papel importante en el desarrollo de trombosis debida también, entre otras, a la liberación de MP⁴².

En la EB, un estudio demostró un mayor número de MP circulantes en comparación con controles sanos y una correlación entre el porcentaje de MP derivadas de plaquetas y la actividad de la enfermedad⁴³.

Trampas extracelulares de los neutrófilos

El mecanismo de desarrollo de la trombosis venosa es poco conocido. Los estudios en modelos animales han permitido conocer los procesos que tiene lugar al inicio y durante la propagación de la trombosis venosa. En un modelo en ratones se evaluaron los eventos celulares iniciales que desencadenan la formación de TVP. Se identificó que la reducción del flujo sanguíneo induce un fenotipo endotelial proinflamatorio que provoca el reclutamiento de células inmunes innatas, en particular los neutrófilos y monocitos (70% y 30%, respectivamente). Los leucocitos reclutados comienzan la formación de fibrina a través del FT derivado de células, que es el desencadenante decisivo para la masiva deposición de fibrina característica en la TVP. Además, demostraron que los neutrófilos presentes en el trombo son indispensables para la propagación de la TVP mediante la unión del factor XII y a través de la formación y liberación de NET^{39,44,45}. Las NET son redes extracelulares de ácido desoxirribonucleico (DNA), histonas y proteínas que son liberadas por los neutrófilos, como respuesta ante un estímulo inflamatorio o ante la presencia de patógenos. Las histonas se degradan por la elastasa del neutrófilo y se produce la liberación de los gránulos que provocan la descondensación de la cromatina, citólisis y extravasación del contenido nuclear y citoplasmático al medio extracelular. Este mecanismo de muerte celular se denomina NETosis. Este fenómeno, que se identificó inicialmente como un mecanismo de defensa para atrapar y eliminar a patógenos invasores, también tiene un importante papel en la trombosis venosa. Las NET pueden contribuir a la formación de trombos a través de la interacción con las plaquetas que estimulan la adhesión y agregación plaquetaria, interactúan con el endotelio, los factores de coagulación para la formación y deposición de fibrina y además pueden ser capaces de influir en la trombólisis⁴⁵. Es muy interesante que el tratamiento de los ratones en estos estudios con DNAasas I prevenía la formación del trombo^{39,45}.

Curiosamente, la generación de las NET recientemente se ha estudiado en enfermedades con un mayor riesgo de complicaciones trombóticas, como el LES, el cáncer o la sepsis³⁹. Sin embargo, el papel del neutrófilo en la patogénesis de la LES no estaba claro hasta que estudios recientes descubrieron una regulación anormal de las NET en estos pacientes. Se ha visto un desequilibrio entre la formación de NET y su aclaramiento en pacientes con LES, lo cual puede jugar un papel importante en la perpetuación de la autoinmunidad y la exacerbación de la enfermedad, así como la inducción de manifestaciones de órganos diana incluida la trombosis⁴⁵. Así, las plaquetas de los pacientes con LES tienen complejos inmunes de anticuerpos anti-DNA y DNA en su superficie, que pueden ser liberados por incubación con DNAasa. La degradación de las NET está dañada en pacientes con LES atribuido a una reducción de la actividad DNAasa I en el suero. Futuros estudios abordarán si la incapacidad para degradar las NET correlaciona con el aumento del riesgo de trombosis venosa en estos pacientes⁴⁶.

Según lo dicho, las NET podrían convertirse en una nueva diana terapéutica, de manera que fármacos que inhiban su formación o faciliten la degradación podrían prevenir o tratar la TVP. De la misma manera, la modulación de la NETosis abre nuevas posibilidades en la estrategia terapéutica del LES y otras enfermedades autoinmunes⁴⁵. Son muchas las dudas que deben aún clarificarse.

Anticuerpos antifosfolípidos

Los AAF más estudiados en la práctica clínica son los anticuerpos anticardiolipina (aCL), a β 2GPI y anticoagulante lúpico (AL). Son autoanticuerpos dirigidos contra las proteínas del plasma que se unen a fosfolípidos aniónicos. A pesar de que se ha detectado una amplia variedad de AAF, existe un consenso general en que los autoanticuerpos dirigidos contra β 2GPI son los clínicamente relevantes. En un estudio multicéntrico, la detección de anticuerpos IgG que se dirigen contra el dominio I de beta2GPI resultó estar más fuertemente asociada con trombosis y complicaciones obstétricas⁴⁷, lo cual puede identificar a pacientes que están en riesgo más alto de presentar complicaciones trombóticas.

La presencia de anticoagulante lúpico determina un aumento del riesgo para el desarrollo de episodios tromboembólicos y de morbilidad obstétrica de 5 a 16 veces.

Los pacientes con pruebas persistentemente positivas para AAF en el tiempo presentan un mayor riesgo trombótico así como en el contexto de LES³. La triple positividad para AAF se asocia con un mayor riesgo de desarrollar eventos trombóticos, con lo que se identifica a pacientes de alto riesgo. En un estudio realizado por Pengo y colaboradores, la incidencia acumulada de un primer evento trombótico en 10 años se estimó en el 37,1% (IC del 95%: 19,9%-54,3%)⁴⁸.

A pesar de la fuerte asociación entre el SAF y la trombosis, el papel patogénico de los AAF en el desarrollo de trombosis no se ha aclarado completamente.

La arteriosclerosis

Otro aspecto estudiado es el papel de la arteriosclerosis en las enfermedades autoinmunes. Hallazgos recientes indican que la presencia de células inmunes competentes activadas y la inflamación son típicas de la arteriosclerosis, la causa principal de la ECV. La arteriosclerosis tiene muchas características en común con una enfermedad inflamatoria, que se caracteriza por la infiltración en la íntima de monocitos activados/macrófagos y linfocitos T. En la zona de la lesión se produce la liberación de citocinas proinflamatorias por las células como moléculas de adhesión de leucocitos, tales como VCAM-1, factores de crecimiento endoteliales vasculares y citocinas. Las citocinas proinflamatorias, IL-6 y FNT α expresados por el endotelio promueven aún más la infiltración de leucocitos, la proliferación y la activación. La disregulación inmune contribuye a mantener este proceso⁴⁹, pero las causas de esta respuesta inflamatoria se conocen solo parcialmente.

En general, existe una combinación de factores de riesgo tradicionales y no tradicionales, incluyendo la dislipemia (y en un grado variable, la hipertensión, la diabetes y el tabaquismo), la inflamación, los AAF y la oxidación de los lípidos, que contribuyen a la ECV en estas enfermedades⁵⁰.

La arteriosclerosis precoz es probable que sea uno de los mecanismos subyacentes importantes, aunque las características distintivas entre la aterosclerosis relacionada con autoinmunidad en comparación con la arteriosclerosis "normal" no son claras. Una posibilidad interesante es que factores tales como la inflamación, neoepítomos en las células endoteliales o AAF hacen a las lesiones arterioscleróticas en la enfermedad autoinmune más propensas a la rotura que en la arteriosclerosis "normal". Queda por demostrar si la arteriosclerosis prematura es una característica general de las enfermedades autoinmu-

nes como el LES o solo afecta a un subgrupo de pacientes². Entre los factores de riesgo no clásicos están los autoanticuerpos, que incluyen AAF, anticuerpos contra la lipoproteína de baja densidad oxidada (Ac OxLDL) y anticuerpos contra proteínas de choque térmico (HSP, del inglés *heat shock proteins*), que están presentes en las placas de aterosclerosis. Se ha descrito que los AAF interfieren en la unión de la anexina V a los fosfolípidos aniónicos expuestos en el endotelio lesionado, promoviendo la aterotrombosis^{50,51}. Entre los factores de riesgo "clásicos", la dislipemia con colesterol HDL (lipoproteínas de alta densidad) bajo, triglicéridos altos o solo LDL (lipoproteína de baja densidad) ligeramente elevada y la lipoproteína (a) elevada es típico del LES y especialmente en la enfermedad activa. Este patrón de lípidos se ha descrito como el "patrón de lupus de dislipoproteinemia," pero los mecanismos subyacentes no se conocen bien⁵². Frostegård y colaboradores demostraron además que el daño acumulativo en la enfermedad está asociado con niveles altos de colesterol y de triglicéridos (TG) (posible papel de los lípidos en sangre como marcadores de la enfermedad en el LES). Otro hallazgo de este grupo fue que la actividad del FNT α induce incrementos en los niveles de TG y HDL bajos en pacientes con LES, mediante su capacidad para inhibir la lipoproteína lipasa (LPL), la principal enzima que degrada partículas de VLDL en la circulación. La actividad de la LPL se reduce en un 50% en comparación con los individuos sanos en el LES⁵⁰. Así, el FNT α puede jugar un papel importante en la dislipoproteinemia del LES, mediante la inducción *de novo* de lipogénesis hepática y la inhibición de la LPL (y probablemente también otras citocinas inflamatorias).

Otro de los mecanismos implicados es un aumento de la peroxidación lipídica y del estrés oxidativo, que se eleva en el LES y la ECV⁵³, así como otros factores clásicos ya conocidos como la hipertensión arterial y la función renal. La peroxidación lipídica se presenta con frecuencia en pacientes con enfermedades autoinmunes sistémicas y contribuye a la inflamación vascular. La OxLDL interactúa con β 2GPI, que forman complejos OxLDL/ β 2GPI. Estos complejos circulantes y los autoanticuerpos frente a ellos se han demostrado en pacientes con LES y SAF. Estos hallazgos sugieren una naturaleza inmunogénica de los complejos y un papel proaterotrombótico en la autoinmunidad. La caracterización bioquímica de los complejos y los estudios de inmunohistoquímica de las lesiones ateroscleróticas sugieren que la mayoría de los complejos se originan en la pared arterial y se liberan a la circulación. Estos hallazgos ofrecen una explicación inmunológica para el desarrollo acelerado de la arteriosclerosis que se ve en el LES y en el SAF⁵¹. El papel del complemento en la aterosclerosis es menos conocido.

Conclusiones

Las enfermedades autoinmunes tienen un mayor riesgo de complicaciones tromboembólicas, las cuales se consideran un factor de riesgo independiente. Las relaciones entre la inmunidad y la coagulación son cada vez más evidentes, y hoy en día está aceptado que la inflamación y la trombosis (tanto arterial como venosa) están estrechamente relacionadas. Por otra parte, la trombosis inducida por la inflamación es considerada no solo una característica de varias enfermedades autoinmunes, como el LES, la AR o la esclerosis sistémica, sino también de la vasculitis sistémica.

Sería interesante poder interrumpir esta interacción entre la inflamación, la inmunidad y la coagulación con nuevas dianas terapéuticas.

Así, se necesita más investigación dirigida a los procesos bioquímicos que conducen a esta situación y que deberían ayudar en la comprensión y en la búsqueda de nuevas vías para el desarrollo de estrategias terapéuticas en las enfermedades autoinmunes, así como a caracterizar mejor el riesgo trombótico de los pacientes para poder proporcionar el mejor tratamiento.

Bibliografía

1. Van den Oever IAM, et al. Thromboembolic and cardiovascular risk in rheumatoid arthritis: role of the haemostatic system. *Ann Rheum Dis* 2014;73:954-7.
2. Organización Mundial de la Salud. Nota informativa, enero 2015. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/>.
3. Silvariano R, Danza Á, Mérola V, Bérez A, Méndez E, Espinosa G, et al. Venous thromboembolic disease in systemic autoimmune diseases: an association to keep in mind. *Autoimmunity Reviews* 2012;12:289-94.
4. Eiji Matsuura, Kobayashi K, Lopez LR. Atherosclerosis in autoimmune diseases. *Current Rheumatology Reports* 2009;11:61-9.
5. Mankad R. Atherosclerotic vascular disease in the autoimmune rheumatologic patient. *Curr Atheroscler Rep* 2015;17: 21.
6. Manzi S, Meilahn EN, Rairie JE, Conte CG, Medsger TA Jr, Jansen-McWilliams L, et al. Age-specific incidence rates of myocardial infarction and angina in women with systemic lupus erythematosus: comparison with the Framingham study. *Am J Epidemiol* 1997;145:408-15.
7. Asanuma Y, Oeser A, Shintani AK, Turner E, Olsen N, Fazio S, et al. Premature coronary-artery atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2003;349:2407-15.
8. Aviña-Zubieta JA. Risk of cardiovascular mortality in patients with rheumatoid arthritis: a meta-analysis of observational studies. *Arthritis & Rheumatism*. *Arthritis Care & Research* 2008;59(12):1690-7.
9. Aviña-Zubieta JA. Risk of incident cardiovascular events in patients with rheumatoid arthritis: a meta-analysis of observational studies. *Ann Rheum Dis* 2012;71:1524-9.
10. Solomon DH, Karlson EW, Rimm EB, Cannuscio CC, Mandl LA, Manson JE, et al. Cardiovascular morbidity and mortality in women diagnosed with rheumatoid arthritis. *Circulation* 2003;107:1303-7.
11. Maradit-Kremers H, Crowson CS, Nicola PJ, Ballman KV, Roger VL, Jacobsen SJ, et al. Increased unrecognized coronary heart disease and sudden deaths in rheumatoid arthritis: a population based cohort study. *Arthritis Rheum* 2005;52:402-11.
12. Van Doornum S, Brand C, King B, Sundararajan V. Increased case fatality rates following a first acute cardiovascular event in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2006;54(7):2061-8.
13. Man A, Zhu Y, Zhang Y, Dubreuil M, Rho YH, et al. The risk of cardiovascular disease in systemic sclerosis: a population-based cohort study. *Ann Rheum Dis* 2013;72:1188- 93.
14. Chu S-Y, Chen YJ, Liu CJ, Tseng WC, Lin MW, Hwang CY, et al. Increased risk of acute myocardial infarction in systemic sclerosis: a nationwide population-based study. *Am J Med* 2013;126:982-8.
15. Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, Benjamin EJ, Berry JD, Borden WB, et al.: American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Executive summary: heart disease and stroke statistics—2012 update: a report from the American Heart Association. *Circulation* 2012;125:188-97.
16. Raskob GE, Silverstein R, Bratzler DW, Heit JA, White RH. Surveillance for deep vein thrombosis and pulmonary embolism: recommendations from a national workshop. *Am J Prev Med* 2010;38(4 Suppl):S502-S509.
17. Tamaki H, Khasnis A. Venous thromboembolism in systemic autoimmune diseases: a narrative review with emphasis on primary systemic vasculitides. *Vascular Medicine* 2015;1-8.
18. Cervera R, Khamashta MA, Font J, Sebastiani GD, Gil A, Lavilla P, et al.; European Working Party on Systemic Lupus Erythematosus. Morbidity and mortality in systemic lupus erythematosus during a 10-year period: a comparison of early and late manifestations in a cohort of 1,000 patients. *Medicine* 2003;82(5):299-308.
19. Ramagopalan SV, Wotton CJ, Handel AE, Yeates D, Goldacre MJ. Risk of venous thromboembolism in people admitted to hospital with selected immune-mediated diseases: record-linkage study. *BMC Med* 2011;9:DOI: 10.1186/1741-7015-9-1.
20. Zoller B, Li X, Sundquist J, Sundquist K. Risk of pulmonary embolism in patients with autoimmune disorders: a nationwide follow-up study from Sweden. *Lancet* 2012;379:244-9.
21. Yusuf HR, Hooper WC, Beckman MG, Zhang QC, Tsai J, Ortel TL. Risk of venous thromboembolism among hospitalizations of adults with selected autoimmune diseases. *J Thromb Thrombolysis* 2014;38(3):306-13.
22. Severinsen MT, Engebjerg MC, Farkas DK, Jensen AØ, Nørgaard M, Zhao S, et al. Risk of venous thromboembolism in patients with primary chronic immune thrombocytopenia: a Danish population-based cohort study. *Br J Haematol* 2011;152:630-2.
23. Ruggeri M, Tosoletto A, Palandri F, Polverelli N, Mazzucconi MG, Santoro C, et al.; GIMEMA study ITP0311. Thrombotic risk in patients with primary immune thrombocytopenia is only mildly increased and explained by personal and treatment-related risk factors. *J Thromb Haemost* 2014;12:1266-73.
24. Lee JJ, Pope JE. A meta-analysis of the risk of venous thromboembolism in inflammatory rheumatic diseases. *Arthritis Res Ther* 2014;16(5):435.
25. Fei Y, Li X, Lin S, Song X, Wu Q, Zhu Y, et al. Major vascular involvement in Behcet's disease: a retrospective study of 796 patients. *Clin Rheumatol* 2013;32:845-52.
26. Ideguchi H, Suda A, Takeno M, Ueda A, Ohno S, Ishigatsubo Y. Characteristics of vascular involvement in Behcet's disease in Japan: a retrospective cohort study. *Clin Exp Rheumatol* 2011;29:S47-53.
27. Navarro S, Ricart JM, Medina P, Vayá A, Villa P, Todolí J, et al. Activated protein C levels in Behcet's disease and risk of venous thrombosis. *Br J Haematol* 2004;126:550-6.
28. Desbois AC, Wechsler B, Resche-Rigon M, Piette JC, Huong Dle T, Amoura Z, et al. Immunosuppressants reduce venous thrombosis relapse in Behcet's disease. *Arthritis Rheum* 2012;64:2753-60.
29. Gómez-Puerta JA, Cervera R. Diagnosis and classification of the antiphospholipid syndrome. *J Autoimmun* 2014 Feb-Mar;48(49):20-5.
30. Mehriani T, Petri M. Epidemiology of the antiphospholipid syndrome. Elsevier, Amsterdam 2009;10: 3-34.
31. Andreoli L, Chighizola CB, Banzato A, Pons-Estel GJ, Ramire de Jesus G, Erkan D. The estimated frequency of antiphospholipid antibodies in patients with pregnancy morbidity, stroke, myocardial infarction, and deep vein thrombosis. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2013;65:1869-73.
32. Cervera R, Serrano R, Pons-Estel GJ, Cervera R, Hualde L, Shoenfeld Y, De Ramón E, et al. Morbidity and mortality in the antiphospholipid syndrome during a 10-year period: a multicentre prospective study of 1000 patients. Euro-Phospholipid Project Group (European Forum on Antiphospholipid Antibodies). *Ann Rheum Dis* 2015;74:1011-8.
33. Levi M, Van der Poll T, Büller HR. Bidirectional relation between inflammation and coagulation. *Circulation* 2004;109:2698-704.
34. Santos MJ, Carmona-Fernandes D, Canhão H, Canas da Silva J, Fonseca JE, Gil V. Early vascular alterations in SLE and RA patients—a step towards understanding the associated cardiovascular risk. *PLoS One* 2012;7:e44668.
35. McEntegart A, Capell HA, Creran D, Rumley A, Woodward M, Lowe GD. Cardiovascular risk factors, including thrombotic variables, in a population with rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2001;40:640-4.
36. López-Pedrería C, Aguirre MA, Buendía P, Barbarroja N, Ruiz-Limón P, Collantes-Estevez E, et al. Differential expression of protease-activated receptors in monocytes from patients with primary antiphospholipid syndrome. *Arthritis & Rheumatism* 2010;62(3):869-87.

37. Habets K, Huizinga TW, Toes RE. Platelets and autoimmunity. *Eur J Clin Invest* 2013;43(7):746-57.
38. Duffau P, Seneschal J, Nicco C, Richez C, Lazaro E, Douchet I, et al. Platelet CD154 potentiates interferon-alpha secretino by plasmacytoid dendritic cells in systemic lupus erythematosus. *Sci Transl Med* 2010;2(47):47-63.
39. Von Brühl, Stark K, Steinhart A, Chandraratne S, Konrad I, Lorenz M, et al. Monocytes, neutrophils, and platelets cooperate to initiate and propagate venous thrombosis in mice in vivo. *J Exp Med* 2012;209(4):819-35.
40. Niccolai E, Emmi G, Squatrito D, Silvestri E, Emmi L, Amedei A, et al. Microparticles: bridging the gap between autoimmunity and thrombosis. *Semin Thromb Hemost* 2015;41(4):413-22. doi: 10.1055/s-0035-1549850.
41. Ardoin SP, Shanahan JC, Pisetsky DS. The role of microparticles in inflammation and thrombosis. *Scand J Immunol* 2007;66:159-65.
42. Niccolai E, Emmi G, Squatrito D, Silvestri E, Emmi L, Amedei A, et al. Microparticles: bridging the gap between autoimmunity and thrombosis. *Semin Thromb Hemost* 2015;41(4):413-22. doi: 10.1055/s-0035-1549850.
43. Macey M, Hagi-Pavli E, Stewart J, Wallace GR, Stanford M, Shirlaw P, et al. Age, gender and disease related platelet and neutrophil activation ex vivo in whole blood samples from patients with Behçet's disease. *Rheumatology (Oxford)* 2011;50(10):1849-59.
44. Fuchs TA, Brill A, Duerschmied D, Schatzberg D, Monestier M, Myers DD Jr, et al. Extracellular DNA traps promote thrombosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010;107:15880-5.
45. Fuchs TA, Brill A, Wagner DD. Neutrophil extracellular trap (NET) impact on deep vein thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012;32:1777-83.
46. Yu Y, Su K. Neutrophil extracellular traps and systemic lupus erythematosus. *J Clin Cell Immunol* 2013 Apr;4. pii: 139.
47. De Laat B, Pengo V, Pabinger I, Musial J, Voskuyl AE, Bultink IE, et al. The association between circulating antibodies against domain I of beta2-glycoprotein I and thrombosis: an international multicenter study. *J Thromb Haemost* 2009;7:1767-73.
48. Pengo V. Incidence of a first thromboembolic event in asymptomatic carriers of high-risk antiphospholipid antibody profile: a multicenter prospective study. *Blood* 2011;118(17):4714-8.
49. Mankad R. Atherosclerotic vascular disease in the autoimmune rheumatologic patient. *Curr Atheroscler Rep* 2015;17(4):497.
50. Frostegård J. Atherosclerosis in patients with autoimmune disorders. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:1776-85.
51. Matsuura E, Kobayashi K, Lopez LR. Atherosclerosis in autoimmune diseases. *Current Rheumatology Reports* 2009;11:61-9.
52. Borba EF, Bonfa E. Dyslipoproteinemias in systemic lupus erythematosus: influence of disease, activity, and anticardiolipin antibodies. *Lupus* 1997;6:533-9.
53. Iuliano L, Praticò D, Ferro D, Pittoni V, Valesini G, Lawson J, et al. Enhanced lipid peroxidation in patients positive for antiphospholipid antibodies. *Blood* 1997;90:3931-5.

Podemos mejorar la predicción del riesgo trombótico

COORDINADORES: **J.R. González Porras**. Unidad de Trombosis y Hemostasia. Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Salamanca-IBSAL. Salamanca
L.J. García Frade. Servicio de Hematología. Hospital Universitario Río Hortega. Valladolid

La enfermedad trombótica es la causa más común, y altamente prevenible, de muerte en los países de desarrollados. La implementación de marcadores medibles que se relacionen con el pronóstico de la enfermedad y la respuesta al tratamiento constituye el factor más importante para disminuir la morbimortalidad de este problema. En este simposio pretendemos profundizar en la búsqueda, por un lado, de nuevos biomarcadores sanguíneos que mejoren la predicción del riesgo trombótico y, por otro lado, de nuevas estrategias específicas de trombopprofilaxis. Específicamente, la Dra. Roldán abordará el estudio de biomarcadores sanguíneos en la arritmia cardíaca más frecuente, la fibrilación auricular, dado que el poder discriminatorio de las escalas clínicas de predicción trombótica (CHADS₂ y CHA₂DS₂-VASc CHADVS₂) es moderado. El ADAMST13 es el componente esencial de la púrpura trombótica trombocitopénica. Los hallazgos recientes del papel de ADAMST13 en la fisiopatología del infarto agudo de miocardio y el ictus serán discutidos por el Dr. Crawley. Los antiagregantes plaquetarios (AAP) constituyen la piedra angular del tratamiento y la prevención de la aterotrombosis. En los últimos años se ha generado gran preocupación acerca de la eficacia, en especial, del ácido-acetil-salicílico y el clopidogrel. La presencia de una respuesta insuficiente a estos fármacos y/o reactividad plaquetaria residual elevada podría relacionarse con la aparición de nuevos eventos trombóticos a pesar del tratamiento con AAP. El Dr. Mateo nos indicará si una estrategia antiplaquetaria individualizada que permita evaluar la reactividad plaquetaria tiene beneficio clínico en la estratificación del riesgo trombótico, cambio de dosis del AAP o, incluso, cambio de un AAP por otro. La llegada de los anticoagulantes orales de acción directa (ACOD) ha supuesto una revolución en la patología trombótica. Con respecto a los antivitaminas K (acenocumarol o warfarina), el manejo perquirúrgico de los ACOD podría ser más fácil pero hay una necesidad urgente de modelos de actuación claros y fáciles de usar basados en la información clínica del paciente. En este sentido, el Dr. Llau, actualizará el manejo perquirúrgico de los ACOD.

Biomarcadores y riesgo de ictus en fibrilación auricular

V. Roldán¹, F. Marín²

¹Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia. ²Servicio de Cardiología. Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Universidad de Murcia. Murcia

La fibrilación auricular (FA) es la arritmia cardíaca más frecuente y está asociada a una gran morbimortalidad¹; multiplica por 5 el riesgo de ictus y tromboembolismo sistémico². La prevalencia de la FA aumenta con la edad y se dobla por cada década a partir de los 50 años; afecta aproximadamente al 10% de los sujetos mayores de 80 años³. Además, estos pacientes tienen una alta incidencia de otras complicaciones cardiovasculares, sobre todo síndrome coronario agudo y muerte vascular, por la coexistencia de otros factores de riesgo cardiovascular como son la hipertensión arterial o la diabetes mellitus⁴.

La fisiopatología de la FA es compleja y multifactorial. Por una parte, se produce un remodelado estructural donde hay un depósito de colágeno y fibrosis, a la vez que se alteran las propiedades electrofisiológicas de la auricular facilitando el inicio y la perpetuación de la FA⁵. Junto a ello hay una disfunción ventricular y un aumento de la presión ventricular que también contribuye al remodelado auricular⁶. Por otro lado, la FA confiere un estado protrombótico o hipercoagulable, ya que cumple los tres brazos de la tríada de Virchow: estasis vascular, daño endotelial y alteración de los componentes sanguíneos⁷.

En este escenario, los biomarcadores pueden jugar un papel importante. La Food and Drug Administration define un biomarcador como un indicador medible que potencialmente puede ser útil a lo largo del proceso de una enfermedad, para el desarrollo de nuevas terapias, diagnóstico, pronóstico, monitorización de la progresión de la enfermedad o respuesta al tratamiento. En las últimas décadas, los biomarcadores han alcanzado gran relevancia en la práctica médica, tanto por su interés científico como clínico. El biomarcador ideal debe ser obtenido fácilmente y con el mínimo malestar para el paciente, debe aparecer o desaparecer a lo largo de la enfermedad y debe ser útil para determinar el pronóstico del individuo. Otros biomarcadores deben cambiar cuando se comienza un tratamiento o se varían las dosis de los fármacos, de tal forma que son útiles para la monitorización de dicho tratamiento. Finalmente, el método de determinación del biomarcador debe ser sensible, específico y reproducible entre diferentes laboratorios⁸.

Por otro lado, y volviendo a la FA, la anticoagulación oral es muy eficaz en la reducción del riesgo tromboembólico así como la mortalidad⁹. Para ayudar a la toma de decisiones respecto a la trombopprofilaxis de estos pacientes, se han desarrollado varios esquemas de estratificación del riesgo utilizando factores de riesgo clínicos. Durante décadas, la escala más utilizada fue la escala CHADS₂ (que da un punto por la presencia insuficiencia cardíaca congestiva, hipertensión, edad > 75 años y diabetes, y 2 puntos por la presencia de un accidente cerebrovascular o tromboembolismo periférico)¹⁰. Sin embargo, dadas las limitaciones de dicha escala, es la escala CHA₂DS₂-VASc (que añade un punto por la presencia de enfermedad vascular, edad entre 65-74 años y sexo femenino, y dobla la puntuación de la edad superior a 75 años) la actualmente aceptada para la indicación de trombopprofilaxis¹¹,

tal y como lo recomienda la guía de manejo de la FA de la Sociedad Europea de Cardiología¹².

Sin embargo, el poder discriminatorio de estas escalas clínicas sigue siendo moderado, y es ahí donde la medida de distintos biomarcadores sanguíneos, que abarquen diferentes aspectos fisiopatológicos de la FA, podría jugar un excelente papel en la mejora de la estratificación del riesgo de estos pacientes. Por otra parte, el estudio de biomarcadores puede contribuir a un mejor conocimiento de la fisiopatología de la FA y de sus complicaciones.

Bibliografía

1. Wolf PA, Abbott RD, Kannel WB. Atrial fibrillation as an independent risk factor for stroke: the Framingham Study. *Stroke* 1991;22:983-8.
2. Stroke Risk in Atrial Fibrillation Working Group. Independent predictors of stroke in patients with atrial fibrillation: a systematic review. *Neurology* 2007;69:546-54.
3. Go AS, Hylek EM, Phillips KA, Chang Y, Henault LE, Selby JV, et al. Prevalence of diagnosed atrial fibrillation in adults: national implications for rhythm management and stroke prevention: the AnTicoagulation and Risk Factors in Atrial Fibrillation (ATRIA) Study. *JAMA* 2001;285:2370-5.
4. Benjamin EJ, Wolf PA, D'Agostino RB, Silberhatz H, Kannel WB, Levy D. Impact of atrial fibrillation on the risk of death: the Framingham Heart Study. *Circulation* 1998;98:946-52.
5. Frustaci A, Chimenti C, Belocci F, Morgante E, Russo MA, Maseri A. Histological substrate of atrial biopsies in patients with lone atrial fibrillation. *Circulation* 1997;96:1180-4.
6. Savelieva I, John Camm A. Atrial fibrillation and heart failure: natural history and pharmacological treatment. *Europace* 2004; (Supl. 1):S5-S19.
7. Watson T, Shantsila E, Lip GY. Mechanisms of thrombogenesis in atrial fibrillation: Virchow's triad revisited. *Lancet* 2009;373:155-66.
8. Goodsaid F, Frueh F. Biomarker Qualification Pilot Process at the US Food and Drug Administration. *The AAPS Journal* 2007;9:E105-E108.
9. Hart RG, Pearce LA, Aguilar MI. Meta-analysis: antithrombotic therapy to prevent stroke in patients who have nonvalvular atrial fibrillation. *Ann Intern Med* 2007;146:857-67.
10. Gage BF, Waterman AD, Shannon W, Boechler M, Rich MW, Radford MJ. Validation of clinical classification schemes for predicting stroke. Results from the National Registry of Atrial Fibrillation. *JAMA* 2001;285:2864-70.
11. Lip GY, Nieuwlaet R, Pisters R, Lane DA, Crijns HJ. Refining clinical risk stratification for predicting stroke and thromboembolism in atrial fibrillation using a novel risk factor-based approach: the euro heart survey on atrial fibrillation. *Chest* 2010;137:263-72.
12. Camm AJ, Lip GY, De Caterina R, Savelieva I, Atar D, Hohnloser SH, et al; ESC Committee for Practice Guidelines (CPG). 2012 focused update of the ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation: an update of the 2010 ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation. Developed with the special contribution of the European Heart Rhythm Association. *Eur Heart J* 2012;33:2719-47.

ADAMTS13 y riesgo trombótico

J.T. Crawley

Imperial College London. London, UK

Von Willebrand factor (VWF) is a multimeric plasma glycoprotein that facilitates platelet recruitment to sites of blood vessel damage. VWF multimeric size is a major determinant of its platelet tethering function. Larger VWF multimers are more haemostatically competent as they contain more collagen/platelet binding sites, and more readily unravel in response to rheological shear. An appreciable proportion of VWF is synthesised in hyperreactive UL forms, which, if left unregulated in plasma, are highly thrombotic and potentially pathogenic. VWF plasma multimeric size/function is therefore proteolytically regulated in the blood by ADAMTS13.

ADAMTS13 is a multidomain plasma metalloprotease. Unusually, it is secreted as an active enzyme and yet has a long plasma half life (~3 days) and no plasma inhibitor. The proteolysis of VWF is highly dependent upon specific exosites in ADAMTS13, as well as conformational

changes in both the substrate (VWF) and the enzyme (ADAMTS13). This talk will provide an overview of how ADAMTS13 specifically recognises and proteolyzes VWF through a complex molecular zipper mechanism.

ADAMTS13 deficiency is associated with thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP). TTP most frequently develops through the development of autoantibodies that recognize ADAMTS13. This talk will present recent data reveal novel insights into the pathogenic mechanisms (enzyme inhibition vs. enzyme clearance) underlying these antibodies, which may suggest novel treatment strategies.

Within the normal population, ADAMTS13 levels vary. Given the importance of ADAMTS13 in regulating VWF function, ADAMTS13 has been suggested as a risk factor for myocardial infarction and ischaemic stroke. This talk will review the data in this area and present results from a recent meta-analysis.

Terapia antiagregante plaquetaria individualizada

J. Mateo Arranz

Unidad de Hemostasia y Trombosis. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona

Introducción

Los antiagregantes plaquetarios son fundamentales en el tratamiento y la prevención de la aterotrombosis en sus diferentes manifestaciones clínicas, como la cardiopatía isquémica, la enfermedad cerebrovascular y la enfermedad arterial periférica. El ácido acetil-salicílico y los antiagregantes inhibidores del receptor P2Y₁₂, como clopidogrel, prasugrel y ticagrelor, constituyen la base del tratamiento antiagregante en estos casos. La identificación de pacientes con respuesta insuficiente al clopidogrel debida a diferencias genéticas, interferencias farmacológicas...¹ y la identificación de pacientes con reactividad plaquetaria residual elevada en el curso del tratamiento antiagregante en algunos de los ensayos clínicos principales, generó preocupación acerca de la eficacia del tratamiento farmacológico en esos pacientes. Debido a esto se han realizado diversos estudios en los que se han evaluado estrategias de monitorización y ajuste de dosis. La variabilidad de esta respuesta hace que aparezca el concepto de terapia antiagregante individualizada. La reactividad plaquetaria excesiva evaluada durante el tratamiento con antiagregantes se ha asociado con mala evolución de los pacientes, especialmente con clopidogrel, pero también con los nuevos antiagregantes²⁻⁷. Los antiagregantes más recientes, ticagrelor y prasugrel, han demostrado inducir una mayor inhibición de la reactividad plaquetaria que el clopidogrel y disminuir la proporción de pacientes con hiperreactividad residual excesiva⁹⁻¹⁴. Estos 2 fármacos han demostrado también superioridad en la disminución de eventos cardiovasculares mayores (MACE) en el contexto del síndrome coronario agudo en comparación con clopidogrel^{15,16}.

En consecuencia, estos 2 fármacos se recomiendan en el tratamiento de elección en el síndrome coronario agudo tanto en guías europeas como americanas^{17,18}.

El estudio GRAVITAS (*Gauging Responsiveness with A VerifyNow assay—Impact on Thrombosis And Safety*) demostró que la reactividad plaquetaria excesiva durante el tratamiento tenía un impacto desfavorable después de la implantación de *stent* coronarios y el fracaso de la estrategia de duplicar la dosis de clopidogrel en los pacientes considerados no respondedores a clopidogrel¹⁹. Sin embargo, después del estudio GRAVITAS, aún podía considerarse que la personalización de los procedimientos basados en la reactividad plaquetaria podría ser una opción. Una limitación del estudio GRAVITAS era la combinación de una población de bajo riesgo junto con la evaluación después del procedimiento percutáneo coronario (PCI). El estudio TRIGGER-PCI (*Testing Platelet Reactivity in Patients Undergoing Elective Stent Placement on Clopidogrel to Guide Alternative Therapy with Prasugrel*) tenía un diseño similar al GRAVITAS, pero con una intervención más agresiva ya que en lugar de aumentar la dosis de clopidogrel, se cambiaba a prasugrel. El estudio se detuvo prematuramente por una tasa

de eventos baja, aunque la hiperreactividad plaquetaria se relacionó de manera consistente con eventos cardiovasculares mayores, incluyendo mortalidad²⁰.

Se observó que el riesgo asociado a la hiperreactividad era mayor en pacientes con síndrome coronario agudo que en los que presentaban angina estable. Se relacionó con el 60% de la trombosis del *stent*^{21,22}.

Esto podría justificar la monitorización de la reactividad plaquetaria en la cabecera del paciente, especialmente si se presentan eventos inesperados o graves, especialmente en los casos en los que no se dispone de los nuevos inhibidores del receptor P2Y₁₂^{23,24}.

El estudio ARCTIC (*Assessment with a double Randomization of a fixed dose versus a monitoring-guided dose of aspirin and Clopidogrel after drug-eluting stent implantation and Treatment Interruption versus Continuation, 1 year after stenting*) evaluó de manera aleatorizada si la estrategia basada en la evaluación de la reactividad plaquetaria para ajustar el tratamiento antiagregante, era superior al tratamiento inicial en 2.440 pacientes con angor estable o SCASEST sometidos a PCI²⁵. A diferencia del estudio GRAVITAS, este estudio aleatorizaba la realización de test de función plaquetaria con intervención terapéutica (brazo con monitorización) contra el tratamiento estándar sin monitorización. En el brazo con monitorización, se realizaron test seriados y tratamiento ajustado según un algoritmo predefinido, además de una intensificación según resultados de los test. A pesar de reducir a la mitad la tasa de hiperreactividad, la variables principales de eficacia eran similares al año en las 2 estrategias (HR 1,13; 95% IC 0,98-1,29; $p = 0,10$).

Es probable que la reactividad plaquetaria no sólo sea la medición de la respuesta farmacológica, sino que integre la respuesta de los antagonistas del receptor P2Y₁₂ con comorbilidades como la edad avanzada, diabetes e insuficiencia renal. La reactividad plaquetaria podría ser de ayuda en los estudios en la explicación de los resultados.

Esto ha sido confirmado en el estudio TRILOGY-ACS (*A Comparison of Prasugrel and Clopidogrel in Acute Coronary Syndrome Subjects with Unstable Angina/Non-ST-Elevation Myocardial Infarction Who Are Medically Managed*) donde se demostró un efecto real de la intensificación del tratamiento, pero una falta de relación clara entre la reactividad plaquetaria y los eventos clínicos²⁶. Estos resultados apoyaban la falta de beneficio de la intensificación guiada por la reactividad plaquetaria²⁷.

Datos de un reciente metaanálisis de los estudios que han evaluado ticagrelor y prasugrel, que incluían medición de la reactividad plaquetaria. En total se incluyeron 14 estudios con 1.822 pacientes (805 tratados con ticagrelor y 1017 con prasugrel). La tasa de pacientes con hiperreactividad plaquetaria fue inferior en el grupo que recibió ticagrelor (1,5% contra 9,8%; RR 0,27; 95% IC 0,14-0,50). A pesar de estos hallazgos, no se puede identificar un impacto clínico en este estudio.

Futuro de la evaluación de la reactividad

Las recomendaciones de la evaluación del funcionalismo plaquetario van en línea con los resultados negativos de los estudios clínicos aleatorizados^{19,20,25}. La evaluación de la reactividad plaquetaria más bien podría ayudar en la estratificación del riesgo que en una herramienta para modificar la estrategia de tratamiento antiagregante y mantener a los pacientes con en un intervalo que les evite eventos isquémicos y hemorragias^{28,29}.

El conocimiento del perfil genético, farmacológico o clínico que comporte resistencia a los inhibidores del receptor P2Y₁₂¹ pueden generar nuevas hipótesis. En algunos casos, la reactividad residual muy reducida se ha correlacionado con sangrado, aunque en algunos estudios se ha descartado esta asociación^{30,31}.

El tratamiento antiagregante personalizado hasta la fecha no ha encontrado la mejor estrategia en la clínica rutinaria. Probablemente se trata de encontrar qué población y qué test puede ayudar en escoger el régimen antiagregante más eficaz y seguro³².

Bibliografía

- Siller-Matula JM, Trenk D, Schrör K, et al. Response variability to P2Y₁₂ receptor inhibitors: Expectations and reality. *JACC Cardiovasc Interv* 2013;6:1111-28.
- Bonello L, Mancini J, Pansieri M, et al. Relationship between post-treatment platelet reactivity and ischemic and bleeding events at 1-year follow-up in patients receiving prasugrel. *J Thromb Haemost* 2012;10:1999-2005.
- Bonello L, Pansieri M, Mancini J, et al. High on-treatment platelet reactivity after prasugrel loading dose and cardiovascular events after percutaneous coronary intervention in acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol* 2011;58:467-73.
- Brar SS, ten Berg J, Marcucci R, et al. Impact of platelet reactivity on clinical outcomes after percutaneous coronary intervention. A collaborative meta-analysis of individual participant data. *J Am Coll Cardiol* 2011;58:1945-54.
- Cuisset T, Cayla G, Frere C, et al. Predictive value of post-treatment platelet reactivity for occurrence of post-discharge bleeding after non-ST elevation acute coronary syndrome. Shifting from antiplatelet resistance to bleeding risk assessment? *EuroIntervention* 2009;5:325-9.
- Gurbel PA, Bliden KP, Guyer K, et al. Platelet reactivity in patients and recurrent events post-stenting: Results of the prepare post-stenting Study. *J Am Coll Cardiol* 2005;46:1820-6.
- Matetzky S, Shenkman B, Guetta V, et al. Clopidogrel resistance is associated with increased risk of recurrent atherothrombotic events in patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 2004;109:3171-5.
- Price MJ, Endemann S, Gollapudi RR, et al. Prognostic significance of post-clopidogrel platelet reactivity assessed by a point-of-care assay on thrombotic events after drug-eluting stent implantation. *Eur Heart J* 2008;29:992-1000.
- Angiolillo DJ, Badimon JJ, Saucedo JF, et al. A pharmacodynamic comparison of prasugrel vs. high-dose clopidogrel in patients with type 2 diabetes mellitus and coronary artery disease: Results of the Optimizing anti-Platelet Therapy In diabetes Mellitus (OPTIMUS)-3 Trial. *Eur Heart J* 2011;32:838-46.
- Jernberg T, Payne CD, Winters KJ, et al. Prasugrel achieves greater inhibition of platelet aggregation and a lower rate of non-responders compared with clopidogrel in aspirin-treated patients with stable coronary artery disease. *Eur Heart J* 2006;27:1166-73.
- Storey RF, Angiolillo DJ, Patil SB, et al. Inhibitory effects of ticagrelor compared with clopidogrel on platelet function in patients with acute coronary syndromes: The PLATO (PLATElet inhibition and patient Outcomes) PLATELET substudy. *J Am Coll Cardiol* 2010;56:1456-62.
- Wallentin L, Varenhorst C, James S, et al. Prasugrel achieves greater and faster P2Y₁₂receptor-mediated platelet inhibition than clopidogrel due to more efficient generation of its active metabolite in aspirin-treated patients with coronary artery disease. *Eur Heart J* 2008;29:21-30.
- Wiviott SD, Trenk D, Frelinger AL, et al. Prasugrel compared with high loading and maintenance-dose clopidogrel in patients with planned percutaneous coronary intervention: The prasugrel in comparison to clopidogrel for inhibition of platelet activation and aggregation-thrombolysis in myocardial infarction 44 trial. *Circulation* 2007;116:2923-32.
- Cannon CP, Husted S, Harrington RA, et al. Safety, tolerability, and initial efficacy of AZD6140, the first reversible oral adenosine diphosphate receptor antagonist, compared with clopidogrel, in patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndrome: Primary results of the DISPERSE-2 trial. *J Am Coll Cardiol* 2007;50:1844-51.
- Wallentin L, Becker RC, Budaj A, et al. Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2009;361:1045-57.
- Wiviott SD, Braunwald E, McCabe CH, et al. Prasugrel versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2007;357:2001-15.
- Steg PG, James SK, Atar D, et al. ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST segment elevation. *Eur Heart J* 2012;33:2569-619.
- O'Gara PT, Kushner FG, Ascheim DD, et al. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of ST-elevation myocardial infarction: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol* 2013;61:e78-140.
- Price MJ, Berger PB, Teirstein PS, et al. Standard vs high-dose clopidogrel based on platelet function testing after percutaneous coronary intervention: The GRAVITAS randomized trial. *JAMA* 2011;305:1097-105.
- Trenk D, Stone GW, Gawaz M, et al. A randomized trial of prasugrel versus clopidogrel in patients with high platelet reactivity on clopidogrel after elective percutaneous coronary intervention with implantation of drug-eluting stents: Results of the TRIGGER-PCI (Testing Platelet Reactivity In Patients Undergoing Elective Stent Placement on Clopidogrel to Guide Alternative Therapy With Prasugrel) study. *J Am Coll Cardiol* 2012;59:2159-64.
- Brar SS, ten Berg J, Marcucci R, et al. Impact of platelet reactivity on clinical outcomes after percutaneous coronary intervention. A collaborative meta-analysis of individual participant data. *J Am Coll Cardiol* 2011;58:1945-54.
- Parodi G, Marcucci R, Valenti R, et al. High residual platelet reactivity after clopidogrel loading and long-term cardiovascular events among patients with acute coronary syndromes undergoing PCI. *JAMA* 2011;306: 1215-23.
- Kirtane AJ, Parise H, Witzenbichler B, et al. Does platelet function testing add significant incremental risk stratification to unselected patients undergoing DES implantation? The ADAPT-DES study. *J Am Coll Cardiol* 2012;59:E292-E92.
- Pena A, Collet JP, Hulot JS, et al. Can we override clopidogrel resistance? *Circulation* 2009;119:2854-7.
- Collet JP, Cuisset T, Range G, et al. Bedside monitoring to adjust anti-platelet therapy for coronary stenting. *N Engl J Med* 2012;367:2100-9.
- Gurbel PA, Erlinge D, Ohman EM, et al. Platelet function during extended prasugrel and clopidogrel therapy for patients with ACS treated without revascularization: The TRILOGY ACS platelet function substudy. *JAMA* 2012:1-10.

27. Roe MT, Armstrong PW, Fox KA, et al. Prasugrel versus clopidogrel for acute coronary syndromes without revascularization. *N Engl J Med* 2012;367:1297-309.
28. Cayla G, Hulot JS, O'Connor SA, et al. Clinical, angiographic, and genetic factors associated with early coronary stent thrombosis. *JAMA* 2011;306:1765-74.
29. Roberts JD, Wells GA, Le May MR, et al. Point-of-care genetic testing for personalization of antiplatelet treatment (RAPIDGENE): A prospective, randomized, proof-of-concept trial. *Lancet* 2012;379:1705-11.
30. Cuisset T, Grosdidier C, Loundou AD, et al. Clinical implications of very low on-treatment platelet reactivity in patients treated with thienopyridine: The POBA study (predictor of bleedings with antiplatelet drugs). *JACC Cardiovasc Interv* 2013;6:854-63.
31. Cayla G, Cuisset T, Silvain J, et al. Prasugrel monitoring and bleeding in real world patients. *Am J Cardiol* 2013;111:38-44.
32. Siller-Matula JM, Trenk D, Schrör K, et al. How to improve the concept of individualised antiplatelet therapy with P2Y₁₂ receptor inhibitors - is an algorithm the answer? *Thromb Haemost* 2015;113:37-52.

Manejo de anticoagulantes orales directos en pacientes que precisan cirugía

J.V. Llau^{1,2}, R. Ferrandis^{1,2}, M. Garzando¹, T. Socorro¹

¹Servicio de Anestesia-Reanimación. Hospital Clínic. Valencia. ²Departamento de Fisiología Humana. Universidad de Valencia. Valencia

Introducción

La administración de fármacos que alteran la hemostasia, ya sean antiagregantes plaquetarios o anticoagulantes, es cada día más frecuente en el periodo perioperatorio. Esta situación supone un reto importante porque se debe valorar de forma cuidadosa el balance entre el riesgo trombótico implícito en la suspensión del fármaco y el riesgo hemorrágico inherente a su acción terapéutica.

Su manejo debe implicar necesariamente una decisión consensuada entre los servicios quirúrgicos y el de anestesiología, con la participación activa de otros servicios hospitalarios como hematología, cardiología, neurología o medicina interna. La decisión final, en cada caso, tendrá en cuenta siempre las circunstancias personales de cada paciente.

En este capítulo se han pretendido recoger las tendencias más recientes en el manejo de los anticoagulantes orales de acción directa (ACOD) en el periodo perioperatorio en pacientes que van a ser sometidos a cirugía no cardíaca. Es necesario tener en cuenta que el nivel de evidencia científica de muchas de las recomendaciones aquí realizadas es bajo, basadas en estudios retrospectivos, guías de práctica clínica y opiniones de grupos de expertos, ante la falta de ensayos clínicos diseñados específicamente para mejorar tanto el nivel de evidencia como el grado de recomendación.

Por último, también hay que resaltar que, dado que la medicina es una ciencia en permanente evolución, estas recomendaciones, si bien son perfectamente válidas para el momento actual, pueden requerir una revisión en los próximos años.

Manejo de los anticoagulantes orales directos en el perioperatorio

Los ACOD tienen como características esenciales no solo su administración oral, sino, más importante, su mecanismo de acción directa sobre una diana específica de la coagulación. Así, sin mediación de la antitrombina, como en el caso de las heparinas de bajo peso molecular, los ACOD se pueden clasificar en inhibidores directos de la trombina (dabigatran) o inhibidores directos del factor Xa (los denominados genéricamente “xabanes”, que en el momento actual están representados por rivaroxaban, apixaban y edoxaban). Sus características farmacocinéticas hacen que precisen un apartado especial en las recomendaciones de su manejo, basándose fundamentalmente en los riesgos hemorrágicos de la intervención quirúrgica a la que va a ser sometido el paciente y trombótico de la situación clínica por la que el paciente ha sido anticoagulado¹⁻³ (Tabla 1). No es este el lugar ideal para hacer una revisión completa de estos, pero sí para, al menos, recoger algunos de sus datos esenciales^{4,5} (Tabla 2).

Tabla 1. Propuesta de estratificación del riesgo hemorrágico en función del tipo de cirugía a la que va a ser sometido el paciente y del riesgo trombótico en los pacientes en tratamiento anticoagulante (adaptación a partir de las propuestas de las referencias 1-3)

| | Bajo | Moderado | Alto |
|---|---|---|--|
| Riesgo hemorrágico en pacientes que van a ser intervenidos quirúrgicamente | Procedimientos quirúrgicos que no suelen precisar transfusión y en los que el sangrado no pone en riesgo la vida ni el resultado de la cirugía: <i>cirugía menor, biopsia, extracción dental, cirugía del segmento anterior del ojo, etc.</i> | Procedimientos quirúrgicos con riesgo elevado de transfusión: <i>cirugía cardíaca, cirugía mayor ortopédica/visceral/urológica/ORL / reconstructora</i> | Procedimientos quirúrgicos con riesgo de sangrado en un espacio cerrado y/o que puede poner en riesgo el resultado de la cirugía: <i>neurocirugía, cirugía espinal, cirugía del polo posterior del ojo</i> |
| Riesgo trombótico en pacientes anticoagulados | Fibrilación auricular | | |
| | Puntuación CHA ₂ DS ₂ -VASc 0-2 sin otro factor de riesgo ni ACV previo | Puntuación CHA ₂ DS ₂ -VASc 3-5 | Puntuación CHA ₂ DS ₂ -VASc > 5. ACV < 3 meses. Enfermedad valvular reumática |
| | Tromboembolismo venoso | | |
| Episodio único de ETEV > 12 meses sin otro factor de riesgo | ETEV hace 3-12 meses. TVP recurrente. Enfermedad neoplásica activa. Trombofilia tipo: factor V Leiden heterocigoto, mutación heterocigota del factor II | ETEV reciente (< 3 meses). Trombofilia tipo: déficit de proteína C, S o antitrombina, anticuerpos antifosfolípidos o alteraciones múltiples | |

ORL: otorrinolaringología; IAM: infarto agudo de miocardio; DM: diabetes mellitus; FE: fracción de eyección; FA: fibrilación auricular; ACV: accidente cerebrovascular; HTA: hipertensión arterial; ICC: insuficiencia cardíaca congestiva; CHA₂DS₂-VASc: *Congestive heart failure/left ventricular dysfunction, Hypertension, Age ≥ 75 (doubled), Diabetes Mellitus, Stroke (doubled), Vascular disease, Age 65-74, Sex category (female)*; ETEV: enfermedad tromboembólica venosa.

Tabla 2. Aspectos esenciales de la farmacocinética de los ACOD

| | Apixaban (Eliquis®) | Rivaroxaban (Xarelto®) | Dabigatran (Pradaxa®) |
|--|---------------------|------------------------|-----------------------|
| Mecanismo de acción | Anti-Xa | Anti-Xa | Anti-IIa |
| Pico de acción (Tmax) | 3-4 h | 2-4 h | 1/2-2 h |
| Metabolización hepática/ excreción fecal-biliar | 75% | 66% | 20% |
| Excreción renal de fármaco activo | 25% | 33% | 80% |
| Vida media plasmática | 8-15 h | 7-11 h | 14-17 h |

Entre sus indicaciones actuales como anticoagulantes para tratamiento crónico, en función de cada uno de los ACOD, podemos encontrar la prevención de complicaciones tromboembólicas en pacientes en fibrilación auricular, tratamiento de la enfermedad tromboembólica venosa (trombosis venosa profunda o embolismo pulmonar) y prevención de las complicaciones tromboembólicas tras un episodio de trombosis. Las dosis en cada caso son diferentes, y se debe destacar que en función del fármaco se administrarán una o dos veces al día (Tabla 3).

A partir de lo publicado hasta el momento, y a pesar de las discrepancias entre las diferentes publicaciones, se pueden hacer las siguientes recomendaciones globales y “de consenso” de manejo de los ACOD, basándonos en la farmacocinética de cada ACOD, en los análisis *post hoc* de algunos ensayos clínicos y en los datos preliminares de algunos registros ya publicados⁴⁻¹⁶.

Función renal

A los pacientes en tratamiento crónico con alguno de los ACOD, particularmente con dabigatran, que vayan a ser sometidos a una intervención quirúrgica, se les deberá valorar la función renal con base en su aclaramiento de creatinina.

Manejo de los ACOD en cirugía programada (Tabla 4)

Para el manejo habitual, se recomienda la estratificación del riesgo trombótico y hemorrágico (Tabla 1):

- En los pacientes que van a ser intervenidos de una cirugía de riesgo hemorrágico mínimo, como cirugía dental o dermatológica menor, y en aquellos pacientes programados para cirugía de cataratas o que se van a someter a un procedimiento endoscópico sin polipsectomía,

se sugiere mantener el tratamiento anticoagulante con el ACOD hasta 24 horas antes de la cirugía y reiniciarlo lo antes posible.

- En pacientes con bajo riesgo trombótico (CHA₂DS₂-VASc inferior a 2) y hemorrágico, y en los que además la función renal no esté alterada (aclaramiento de creatinina \geq 50 ml/min) se sugiere la supresión del ACOD con base en el siguiente esquema: rivaroxaban y apixaban 24 horas, dabigatran 2 días. En estos mismos supuestos, si el aclaramiento de creatinina se sitúa entre 30 y 50 ml/min, se sugiere incrementar el tiempo de supresión de los ACOD: rivaroxaban y apixaban 2 días, dabigatran 3 días.
- En pacientes que van a ser sometidos a una cirugía de moderado/alto riesgo hemorrágico, el esquema de supresión se realizará de la siguiente forma:
 - Aclaramiento de creatinina \geq 50 ml/min: 2 días para apixaban o rivaroxaban, 3 días para dabigatran.
 - Aclaramiento de creatinina $<$ 50 ml/min: 3 días para apixaban o rivaroxaban, 4 días para dabigatran.
 - En pacientes que vayan a ser intervenidos de un procedimiento neuroquirúrgico, los intervalos de supresión serán al menos los mismos que los anteriormente citados, aunque pueden incrementarse en 24 horas en función de la valoración individual de cada caso
- A pesar de que se ha publicado que la terapia puente parece incrementar el riesgo hemorrágico sin disminuir el riesgo trombótico en estos pacientes y hay autores que no la recomiendan^{17,18}, la evidencia de esta práctica específicamente en pacientes de alto riesgo trombótico (CHA₂DS₂-VASc superior a 5) es muy baja. Por ello, en estos momentos, se puede sugerir que

Tabla 4. Intervalos de supresión de cada uno de los ACOD en el periodo perioperatorio, basados en la función renal y en el riesgo hemorrágico de la intervención quirúrgica

| Tiempo mínimo sugerido de supresión desde la última toma del ACOD | | | | |
|---|-------------------------------------|-------|------------|-------|
| Fármaco | Apixaban Rivaroxaban | | Dabigatran | |
| ClCr (ml/min) | > 50 | 30-50 | > 50 | 30-50 |
| Riesgo hemorrágico bajo* | 1 d | 2 d | 2 d | 3 d |
| Riesgo hemorrágico moderado/alto | 2 d | 3 d | 3 d | 4 d |
| Riesgo trombótico alto | Valorar terapia puente con una HBPM | | | |

*En pacientes con función renal normal sometidos a procedimientos de “muy bajo riesgo hemorrágico”, los ACOD no se interrumpirán, aunque la última toma se deberá hacer un mínimo de 24 horas antes de la cirugía.

Tabla 3. Dosis de los ACOD en función de sus indicaciones

| | Apixaban (Eliquis®) | Rivaroxaban (Xarelto®) | Dabigatran (Pradaxa®) |
|--|--|-------------------------------------|-------------------------------------|
| Trombopprofilaxis en cirugía ortopédica | 2,5 mg /12 h (12-24 h postoperatorias) | 10 mg/24 h (6-10 h postoperatorias) | 220 mg/24 h (1-4 h postoperatorias) |
| Prevención de ictus en fibrilación auricular | 5 mg/12 h | 20 mg/24 h | 110-150 mg/12 h |
| Tratamiento de ETEV | | | |
| Primera semana | 10 mg/12 h | 15 mg/12 h (3 semanas) | 150 mg/12 h |
| Primeros 6 meses | 5 mg/12 h | 20 mg/24 h | |
| 6-12 meses | 2,5-5 mg/12 h | 20 mg/24 h | |

en aquellos pacientes con alto riesgo trombótico se valore la realización de terapia puente con una heparina de bajo peso molecular (HBPM), suprimiendo el ACOD 5 días antes de la cirugía y administrando la HBPM durante 3-4 días antes de esta, en función del aclaramiento de creatinina. La reintroducción del ACOD se hará en los días siguientes a la cirugía, manteniendo la anticoagulación con HBPM hasta ese momento.

Manejo de los ACOD en cirugía urgente no demorable

Un aspecto esencial del manejo de los ACOD es la cirugía urgente no demorable. Es importante tener en cuenta las siguientes sugerencias esenciales:

- El inicio de la cirugía se demorará, si es posible, al menos 24-36 h desde la administración de la última dosis del fármaco correspondiente (dos vidas medias).
- No se recomienda administrar ningún componente hemostático (plasma fresco, concentrado de complejo protrombínico, factor VIIa) de forma profiláctica. En el caso en que el paciente presente una hemorragia vital como consecuencia directa o indirecta del tratamiento anticoagulante (p. ej., hemorragia cerebral espontánea o traumática), valorar la administración de alguno de los componentes hemostáticos que se consideran a continuación para tratamiento del sangrado.
- Se sugiere el inicio de la cirugía con un manejo del eventual sangrado empleando el tratamiento hemostático habitual si fuera necesario. Como guía para este no es adecuado el empleo de los tests de coagulación. Sin embargo, su normalidad asegura la competencia hemostática.
- No existe, en el momento actual, ningún antídoto comercializado para los ACOD ni ningún hemostático capaz de revertir de forma completa su acción anticoagulante. El control local de la hemorragia (incluyendo la actuación quirúrgica) y el tratamiento de soporte estándar deben ser los aspectos fundamentales para el manejo de la hemorragia asociada a la administración de cualquiera de los ACOD.
- Entre los distintos hemostáticos se ha propuesto la administración de concentrado de complejo protrombínico (especialmente en el caso de rivaroxaban o apixaban, a dosis inicial de 25 UI/kg, que puede repetirse en caso necesario) o factor VIIa (escasa evidencia). El dabigatran es dializable, por lo que se puede plantear como opción, en su caso.

Manejo de los ACOD ante técnicas anestésicas neuraxiales

Los pacientes en tratamiento con un ACOD no son buenos candidatos para la realización de un bloqueo neuraxial. Sin embargo, si se considera imprescindible, se pueden seguir las siguientes sugerencias básicas:

- Deberá haber pasado un intervalo mínimo de 3 vidas medias en cada caso para plantear la realización del bloqueo; se ha propuesto incluso que para la realización de una anestesia neuraxial segura deben transcurrir al menos 6 vidas medias del fármaco que se considere¹⁹.

- Se sugiere que los tests de hemostasia se encuentre en el rango de la normalidad (inferior a una *ratio* de 1,2); es recomendable el tiempo de tromboplastina parcial activado para dabigatran y el tiempo de protrombina para rivaroxaban y apixaban. Si ha transcurrido un intervalo de 3 días para rivaroxaban o apixaban, o de 4 días para dabigatran, no parece necesario realizar los tests de coagulación mencionados.
- Un caso especial es la realización de los bloqueos periféricos sobre territorio no compresible (fundamentalmente los bloqueos de plexo lumbar posterior, ciático con abordaje parasacro, infraclavicular, retroorbitario), en los que se recomienda que sigan las mismas recomendaciones que para la realización de los bloqueos neuraxiales. Si el bloqueo periférico es sobre territorio compresible, no existe la necesidad de ventana de seguridad en relación con los fármacos que alteran la hemostasia.
- En todos los casos, se deberá valorar estrictamente la necesidad y la relación beneficio/riesgo de la realización del bloqueo.

Conclusiones

El manejo de los ACOD en el periodo perioperatorio es una cuestión de enorme actualidad, tanto por el creciente número de pacientes que son intervenidos quirúrgicamente mientras están en tratamiento con alguno de ellos como por la, todavía, escasa evidencia de que se dispone sobre el manejo óptimo de estos.

Estas recomendaciones, lejos de ser dogmáticas, pretenden ser meramente orientativas; están basadas mayoritariamente en la propia farmacocinética del fármaco en cuestión. Se trata, pues, de recomendaciones que deben ser valoradas en el contexto particular de cada paciente, y cuyo dinamismo hace que puedan variar con el tiempo.

Bibliografía

1. Baron TH, Kamath PS, McBane RD. Management of antithrombotic therapy in patients undergoing invasive procedures. *N Engl J Med* 2013;368:2113-24.
2. Douketis JD, Spyropoulos AC, Spencer FA, Mayr M, Jaffer AK, Eckman MH, et al. Perioperative management of antithrombotic therapy. *Chest* 2012;141(2 Supl.):e326S-e350S.
3. Llau JV, Ferrandis R, López-Forte C. Antiagregantes y anticoagulantes – Manejo del paciente quirúrgico anticoagulado. *Cir Esp* 2009;85(Supl. 1):7-14.
4. Llau JV, Ferrandis R, Castillo J, De Andrés J, Gomar C, Gómez-Luque A, et al. Manejo de los anticoagulantes orales de acción directa en el periodo perioperatorio y técnicas invasivas. *Rev Esp Anestesiol Reanim* 2012;59:321-31.
5. Ferrandis R, Castillo J, De Andrés J, Gomar C, Gómez-Luque A, Hidalgo F, et al. Perioperative management of new direct oral anticoagulants: a question without answers. *Thromb Haemost* 2013;110:515-22.
6. Weltermann A, Brodmann M, Domanovits H, Eber B, Gottsauner-Wolf M, Halbmayer WM, et al. Dabigatran in patients with atrial fibrillation: perioperative and periinterventional management. *Wien Klin Wochenschr* 2012;124:340-7.
7. Sié P, Samama CM, Godier A, Rosencher N, Steib A, Llau JV, et al. Surgery and invasive procedures in patients on long-term treatment with direct oral anticoagulants: thrombin or factor-Xa inhibitors. Recommendations of the Working Group on Perioperative Haemostasis and the French Study Group on Thrombosis and Haemostasis. *Arch Cardiovasc Dis* 2011;104:669-76.

8. Pengo V, Crippa L, Falanga A, Finazzi G, Marongiu M, Palareti G, et al. Questions and answers on the use of dabigatran and perspectives on the use of other new oral anticoagulants in patients with atrial fibrillation. *Thromb Haemost* 2011;106:868-76.
9. Llau JV, Ferrandis R. Letter by Llau and Ferrandis Regarding Article, "Bridging Evidence-Based Practice and Practice-Based Evidence in Peri-procedural Anticoagulation". *Circulation* 2013;127:e616.
10. Gallego P, Apostolakis S, Lip GY. Bridging evidence-based practice and practice-based evidence in periprocedural anticoagulation. *Circulation* 2012;126:1573-6.
11. Levy JH, Faraoni D, Spring JL, Douketis JD, Samama CM. Managing new oral anticoagulants in the Perioperative and Intensive Care Unit Setting. *Anesthesiology* 2013;118:1466-74.
12. Hidalgo F, Gómez-Luque A, Ferrandis R, Llau JV, De Andrés J, Gomar C, et al. Manejo perioperatorio de los anticoagulantes orales directos en cirugía urgente y sangrado. Monitorización y tratamiento. *Rev Esp Anestesiol Reanim* 2015. doi: 10.1016/j.redar.2015.01.002.
13. Ferrandis R, Llau JV. Old and new anticoagulants: what are the guidelines saying? *Reg Anesth Pain Med* 2014;39(Supl. 1):e63-e65.
14. Faraoni D, Samama CM, Ranucci M, Dietrich W, Levy JH. Perioperative management of patients receiving new oral anticoagulants. *Clin Lab Med* 2014;34:637-54.
15. Van Veen JJ, Makris M. Perioperative management of anti-thrombotic therapy. *Anaesthesia* 2015;70(Supl. 1):58-67.
16. Breuer G, Weiss DR, Ringwald J. "New" direct oral anticoagulants in the perioperative setting. *Curr Opin Anesthesiol* 2014;27:409-19.
17. Beyer-Westendorf J, Forster K, Pannach S, Ebertz F, Gelbricht V, Thieme C, et al. Rates, management and outcome of rivaroxaban bleeding in daily care: results from the dresden NOAC Registry. *Blood* 2014;124:955-62.
18. Schulman S, Carrier M, Lee AYY, Shivakumar S, Bklostein M, Spencer FA, et al. Perioperative management of dabigatran: a prospective cohort study. *Circulation* 2015. doi:10.1161/circulationaha.115.015688.
19. Benzoni HT, Avram MJ, Green D, Bonow RO. New oral anticoagulants and regional anesthesia. *Br J Anaesth* 2013;111(S1):i96-i113.

Patología hemorrágica: del presente al futuro

COORDINADORES: J.M. Guinea de Castro. Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario de Araba. Vitoria
M.J. Paloma Mora. Sección de Coagulación. Complejo Hospitalario de Navarra. Pamplona

En la primera parte de este simposio se va abordar la situación actual de patologías hemorrágicas, aunque conocidas, como el trastorno de la hemostasia en la hepatopatía y la disfibrinogenemia, en las que conviene realizar una puesta al día con los nuevos descubrimientos aportados por las técnicas de estudio actuales. En la segunda parte, se hablará de los esperados concentrados de factor de vida media larga para la hemofilia y se revisarán los potenciales usos de los agonistas del receptor de la trombopoyetina en patologías diferentes a la PTI.

En primer lugar, el Dr. Javier Crespo del Servicio de Digestivo del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla de Santander abordará el tema “Inestabilidad del sistema hemostático en la cirrosis. Potenciales implicaciones clínicas”.

En la segunda ponencia, la Dra. Virtudes Villa, del Instituto de Investigación Sanitaria La Fe de Valencia, nos describe la situación actual de la disfibrinogenemia congénita. Los defectos congénitos del fibrinógeno son enfermedades raras, y la disfibrinogenemia congénita es el tipo más frecuente. La mayoría de los pacientes son asintomáticos, pero dentro de los que presentan sintomatología clínica, esta puede ser tanto hemorrágica como trombótica. La caracterización de las mutaciones así como la participación en registros nacionales e internacionales puede contribuir al mejor conocimiento de esta patología.

A continuación, la Dra. Arlete Ruiz-Sáez, jefa del Centro Nacional de Hemofilia y del Departamento de Investigación y Docencia del Banco Municipal de Sangre de Caracas, nos describe las novedades en el tratamiento de la hemofilia. En su exposición, aborda las diferentes tecnologías que se están desarrollando para mejorar la vida media del factor VIII y IX, como son las proteínas de fusión y la pegilación. Posteriormente, nos plantea una serie de aspectos prácticos, pendientes de resolver, que afectan a la modificación futura de los esquemas de tratamiento (qué pacientes se beneficiarán del cambio de tratamiento, cómo se realizará la transición, qué dosis emplear, la frecuencia de administración en la profilaxis, el nivel valle ideal o efectos secundarios a largo plazo).

Por último, la Dra. María Luisa Lozano, de la Unidad de Oncología y Hematología del Hospital Morales Meseguer de Murcia, realiza una revisión sobre el mecanismo de acción de los agonistas del receptor de la trombopoyetina (A-R-TPO) y su uso en patologías, que cursan con trombopenia, diferentes a la PTI. Además del importante efecto de los A-R-TPO en promover la producción de plaquetas, existen datos que sugieren que también poseen actividad inmunomoduladora y un efecto inhibitorio de la proliferación de células leucémicas. En la segunda parte de su exposición aborda el posible empleo de estos agentes en el tratamiento de la hepatitis C, la aplasia medular o síndromes mielodisplásicos.

Inestabilidad del sistema hemostático en la cirrosis. Potenciales implicaciones clínicas

J. Crespo, Á. Puente

Servicio de Digestivo. Hospital Universitario Valdecilla. Santander

El hígado, como es conocido, tiene numerosas funciones hemostáticas, entre ellas la síntesis de todos los factores de la cascada de la coagulación, excepto el factor VII. El balance entre factores pro y anticoagulantes es esencial para la generación adecuada de trombina en condiciones fisiológicas y una correcta homeostasis, por ello en la enfermedad hepática avanzada existe un débil equilibrio entre la descoagulación con el déficit de factores procoagulantes y la presencia de trombocitopenia secundaria a hiperesplenismo, y la hipercoagulación, con el déficit de factores anticoagulantes de síntesis hepática (proteína C, proteína S y antitrombina III) con un aumento de factores procoagulantes (factor VIII o factor de Von Willerbrand). Este hecho, explica que, a pesar de que la cirrosis hepática haya sido considerada desde hace años como una enfermedad hipocoagulante, con tendencia al sangrado, los pacientes cirróticos no presenten realmente un aumento del riesgo de sangrado espontáneo ni tampoco las complicaciones típicas de pacientes con alteraciones de la coagulación por otras etiologías, sino que presentan con cierta frecuencia (en torno al 25%) fenómenos trombóticos en diversos territorios.

La trombosis portal (TP) no tumoral es una complicación frecuente y potencialmente grave en los pacientes con cirrosis hepática que conlleva un empeoramiento de la función hepatocelular, la aparición de ascitis, sangrado por varices esofágicas y es un hándicap en el manejo de estos pacientes ya que puede modificar el esquema del tratamiento y las posibilidades de curación en estos pacientes principalmente en el contexto de la valoración para trasplante hepático. A pesar de que la TP se asocia generalmente a un mayor deterioro de la función hepática, no se ha aclarado si la TP es la verdadera causa del empeoramiento de la función hepática o es un marcador del estadio de la enfermedad. Uno de los principales problemas en el manejo de la trombosis portal es su diagnóstico tardío. En un 67% se presenta en forma de agravamiento de la hipertensión portal, infarto intestinal o dolor abdominal. Un diagnóstico rápido y un tratamiento adecuado logran la recanalización completa en el 40% de los casos.

En cuanto al riesgo de aparición de eventos trombóticos en el territorio sistémico, la incidencia es variable (0,5 y 6,1% en pacientes cirróticos hospitalizados). En el año 2009, un estudio danés determinó que los pacientes con enfermedad hepática presentaban de forma global un riesgo claro de TVP RR: 1.74 (95 % CI, 1,54-1,95) *versus* población no cirrótica. Un año después, se realizó un análisis de 190 pacientes cirróticos hospitalizados y estratificados en función del valor INR, en cuanto a la incidencia de TVP y mortalidad relacionada con el evento, objetivando que el riesgo de desarrollo de TVP era similar en todos los grupos (en torno al 5%) pero que la mortalidad intrahospitalaria fue significativamente mayor. El bajo número de pacientes bajo profilaxis farmacológica (n = 179) o mecánica (n = 31) no permite evaluar su efecto en la prevención de los eventos trombóticos. En resumen, no parece que los pacientes cirróticos pese a su coagulopatía presenten una mayor riesgo hemorrágico *per se*, sino que la cirrosis hepática podría considerarse como una enfermedad procoagulante, no sólo a nivel de los grandes

vasos del eje esplenoportal o la circulación sistémica, sino también a nivel intrahepático en donde la trombosis de los capilares intrahepáticos se ha asociado con la progresión de la enfermedad hepática.

Actualmente, las indicaciones de profilaxis de fenómenos tromboembólicos en pacientes hospitalizados se resumen en tres grupos: riesgo bajo, medio y riesgo alto. Los pacientes con patologías médicas no relacionadas con el hígado sometidos a hospitalización (insuficiencia cardíaca, IAM, insuficiencia respiratoria grave, encamamiento o parálisis de extremidades inferiores, antecedentes de ETEV previa, u otros factores que incrementan el riesgo de trombosis (cáncer, estados de hipercoagulabilidad, obesidad mórbida, venas varicosas) deben ser incluidos en el grupo de riesgo medio (riesgo de TVP entre el 15-20%) y se debe administrar profilaxis con HBMP. Sin embargo, clásicamente los pacientes cirróticos descompensados no han sido incluidos en este grupo de riesgo moderado.

En los últimos años han aparecido numerosas publicaciones en las que se ha intentado analizar qué parámetros pueden ser considerados factores de alto riesgo para el desarrollo de trombosis en pacientes cirróticos, tanto factores hereditarios, factores adquiridos como locales/anatómicos. Son bien conocidos los factores hereditarios que pueden considerarse de riesgo para el desarrollo de trombosis portal, como el déficit genético de proteína S, proteína C, ác. antifosfolípido/ác. anticardiolipina, estimándose una prevalencia global del 9,1% en población sana. Sin embargo, la incidencia de trombosis en pacientes cirróticos secundaria a factores hereditarios no supone más de 20% del total de las trombosis portales, por lo que es importante identificar cuáles son los factores adquiridos responsables del 80% del total de TP benignas.

Clásicamente el sexo varón, cirugía previa del eje esplenoportal, la presencia de una enfermedad sistémica de perfil inflamatorio (como la enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad celiaca...) episodios previos de sangrado por varices esofágicas, plaquetopenia, o incluso el tratamiento con escleroterapia del episodio de sangrado han sido considerados como factores de riesgo para el desarrollo de trombosis portal. Hace años se han añadido otros factores como un MELD < 13 puntos, una deficiencia en la síntesis de proteína C y antitrombina y una velocidad portal baja (< 15 cm/sg).

Respecto a la seguridad en el uso de fármacos anticoagulantes (heparinas de bajo peso molecular o dicumarínicos) en el seno de la enfermedad hepática, tanto a dosis anticoagulante o dosis profiláctica, son numerosos los estudios que han avalado la eficacia y seguridad de estos fármacos en el contexto de la TP. Hasta la fecha no existe ningún estudio controlado y randomizado que evalúe la eficacia en la prevención de TVP en pacientes cirróticos hospitalizados. En los últimos años se han publicado numerosos estudios respecto a los potenciales efectos beneficiosos de la heparina de bajo peso molecular en la enfermedad hepática: a) efecto trombolítico directo; b) efecto antifibrótico y antiinflamatorio; y c) influencia en la evolución natural de la enfermedad hepática gracias a una acción antibacteriana que evitaría la translocación bacteriana intestinal.

Estado actual de las disfibrinogemias congénitas

V. Vila Liante

Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, Valencia

Introducción. Estructura y síntesis del fibrinógeno

El fibrinógeno es una proteína de 340 kD de peso molecular, compuesta por dos copias de tres cadenas peptídicas ($A\alpha$, $B\beta$, γ)₂, codificadas por los genes *FGA*, *FGB* y *FGG* que se expresan en los hepatocitos (4q31.3-q32.1 UCSC Genome Browser; <http://genome.ucsc.edu/>; GRCh38/hg38 Human Genome Assembly, diciembre 2013)¹⁻³. Las tres cadenas se someten a la escisión de un péptido señal de 19 aminoácidos (aa) en la $A\alpha$, 30 en la $B\beta$, y 26 en la γ para constituir la proteína madura compuesta por cadenas $A\alpha$ de 610 aa, $B\beta$ de 461 y γ de 411⁵⁻⁷. Existe una cadena γ' minoritaria con una extensión de 16 aa en el extremo C-terminal (γ' : 427 aa). Los tres pares de cadenas se unen entre sí por 29 puentes disulfuro, 17 intercatenarios y 12 intracatenarios que forman el fibrinógeno maduro⁸. Su estructura es alargada y simétrica con dos nódulos extremos idénticos "D" (C-terminal) y uno central "E" (N-terminal)⁹ (Figura 1). Esta simetría proporciona al fibrinógeno su capacidad de hacer de puente entre sus propias moléculas y unirse a otras distintas y receptores celulares por sitios específicos. Juega un papel fundamental en el proceso hemostático, y representa el sustrato para la formación del coágulo de fibrina y el puente entre plaquetas durante la agregación^{2,10,11}. Para poder comprender el impacto clínico de los defectos de fibrinógeno, es necesario tener un amplio conocimiento de su estructura en relación con su función. De hecho, el hallazgo de cambios en su molécula ha facilitado el conocimiento de algunas de sus funciones¹²⁻¹⁶.

Sitios específicos de las cadenas $A\alpha$, $B\beta$ y γ implicados en la función del fibrinógeno

Conversión de fibrinógeno a fibrina

El sitio del fibrinógeno sobre el que la trombina ejerce su acción catalítica se localiza en los residuos $A\alpha$ 16Arg y $B\beta$ 14Arg; los fibrinopéptidos

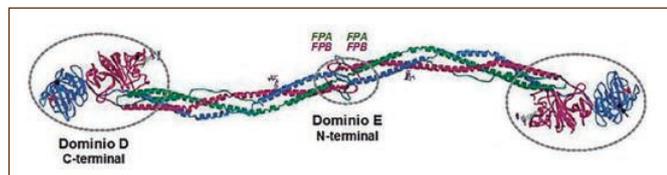


Figura 1. Estructura de la molécula de fibrinógeno. Se muestran las tres dobles cadenas, $A\alpha$ (verde), $B\beta$ (rojo) y γ (azul), que, unidas por la zona N-terminal, forman el dominio central "E", donde soportan la constitución dimérica del fibrinógeno y donde se encuentran los fibrinopéptidos A (FPA) y B (FPB). La zona globular C-terminal de las cadenas $B\beta$ y γ constituyen los dominios extremos simétricos "D". Modelo modificado de: Doolittle RF. X-ray crystallographic studies on fibrinogen and fibrin. *J Thromb Haemost* 2003;1:1559-65.

tidos A (FPA) y B (FPB) se liberan para formar fibrina¹⁷ (Tabla 1). Otro sitio del fibrinógeno que une trombina se localiza entre los residuos $A\alpha$ 1-23 por los que se facilita su acción proteolítica¹⁸. La unión de la trombina a fibrina se localiza en la parte N-terminal de las cadenas α , β , γ (α 33, α 35, α 38, α 39) (β 15-42, β 68, β 69) (γ 27, γ 30). La cadena- γ' posee un nuevo sitio de unión a la trombina en la secuencia 414-427¹⁹. La fibrina regula su propia formación y puede limitar la extensión del coágulo actuando como antitrombina¹⁹. Mutaciones que causen un cambio en estos sitios específicos pueden alterar la formación de fibrina o la neutralización de la trombina.

Polimerización y estabilización del coágulo de fibrina

En el proceso de formación de fibrina están implicados los sitios de polimerización "A:a" y "B:b" que unen las moléculas de fibrina²⁰. El sitio de polimerización "A" se expone tras la liberación del FPA y se localiza en los residuos α 17-20²¹, β 15 y β 42. El sitio de polimerización "a" se localiza entre los residuos γ 319-320, γ 337 y γ 379²²⁻²⁵ (Tabla 1). El sitio de polimerización "B" se expone tras la liberación del FPB y se localiza en la secuencia β 15-18. El sitio de polimerización "b" se localiza en la zona C-terminal de la cadena β y de la cadena α ($A\alpha$ 392, $A\alpha$ 610)²⁶⁻²⁸. La estructura del coágulo se refuerza entre los residuos γ 275 y γ 300 de dominios D:D²⁹ y se estabiliza por la acción transglutaminasa del factor XIIIa mediante enlaces glutamyl-lisina de cadenas γ (γ - γ) y cadenas α (polímeros α)³⁰. Mutaciones que causen un cambio en estos sitios específicos pueden alterar la polimerización y estabilización de la fibrina.

Degradación de fibrinógeno y fibrina

La plasmina realiza la lisis de uniones entre Arg y Lys en las tres cadenas de la molécula de fibrinógeno y fibrina³¹⁻³⁴. Los sitios donde se une el plasminógeno y su activador tisular, tPA, están colocados en la cadena α 148-160 y α 392-610, donde se genera plasmina. Adicionalmente, la secuencia γ 312-324 une tPA (Tabla 1). La molécula de fibrinógeno/fibrina interacciona con inhibidores fibrinolíticos alfa-2 antiplasmina (α 303) y PAI-2 (α 148, α 230, α 413)^{35,36}. Mutaciones que causen un cambio en estos sitios específicos pueden alterar la degradación de fibrina.

Unión de fibrinógeno a plaquetas

La interacción del fibrinógeno con las plaquetas se realiza a través de la secuencia Arg-Gly-Asp (RGD), presente en dos sitios de la cadena α (α 95-97; α 572-574) y en la secuencia γ 400-411 (Tabla 1). Por estos residuos, el fibrinógeno se une al receptor plaquetario α Ib β ^{37,38}. La cadena γ' pierde el sitio de unión a las plaquetas por incluir 16 aminoáci-

Tabla 1. Aminoácidos específicos de las cadenas A α , B β y γ implicados en interacciones moleculares del fibrinógeno en relación con la hemostasia

| Interacciones | A α (610 aa) | B β (461 aa) | γ (411 aa) γ' (427 aa) |
|--|--|-----------------------------------|--|
| Trombina: • Sitio catalítico • Ligando | 16 7,9,12,15,16,33, 35,38,39 | 14 15-42, 68, 69 | 27, 30, 414-427 |
| Polimerización: • A • a • B • b • DD | 17-20 392-610 | 15, 42 15-18 C-terminal | 319-320, 337, 374-376 275, 280, 300 |
| FXIII: • α -polímeros • γ - γ | 221, 237, 328 539, 556,580,601 | | 406, 398 |
| Fibrinólisis: • Plasmina/ plasminógeno • t-PA • PAI-2 • α 2-antiplasmina | 148-160, 392-610 148-160, 392-610 148, 230, 413 303 | | 312-324 |
| Plaquetas: • α IIb β 3 | 95-97 572-574 | | 400-411 |
| Calcio | | | 311-336 |
| CE: • α IIb β 3, α V β 3 • VE-cadherina | 95-97, 572-574 | 15-42 | |

dos en el extremo C-terminal que bloquea el sitio de afinidad al receptor α IIb β 3³⁹. Mutaciones que causen un cambio en los sitios de interacción con el receptor α IIb β 3 pueden alterar la agregación plaquetaria.

Defectos congénitos del fibrinógeno. Disfibrinogenemias

Las anomalías hereditarias de fibrinógeno son patologías raras que comprenden dos clases de defectos: tipo I, afibrinogenemia o hipofibri-

nogenemia, que presentan niveles de antígeno de fibrinógeno plasmático ausentes o bajos (deficiencias de fibrinógeno cuantitativas), y tipo II, disfibrinogenemia o hipodisfibrinogenemia, que muestra los niveles normales o reducidos de antígeno asociadas con actividad funcional disminuida (deficiencias de fibrinógeno cualitativas). Las afibrinogenemias e hipofibrinogenemias están causadas por mutaciones nulas o por mutaciones puntuales que producen fallo del ensamblaje intracelular de fibrinógeno o de su secreción. Las disfibrinogenemias están causadas principalmente por mutaciones puntuales que producen cambio de aminoácidos asociados a defectos funcionales^{16,40-42}.

La disfibrinogenemia congénita (DC) es el tipo más frecuente de trastorno congénito de fibrinógeno. Su prevalencia entre la población general se considera que varía entre 1-2 casos por millón de habitantes, aunque es difícil de establecer por la gran cantidad de casos asintomáticos no declarados⁴²⁻⁴³. Su heredabilidad es autosómica dominante, causada por mutaciones heterocigotas o por mutaciones combinadas que causan cambios de nucleótidos en FGA, FGB o FGG. La primera DC se publicó en 1958⁴⁴, y en 1968 se conoció su primera causa molecular⁴⁵. La caracterización de mutaciones causantes de DC se realizó a partir de 1984, cuando se identificaron los tres genes, FGA, FGB y FGG⁴⁶. Hasta comienzos del año 2000 se publicaron diferentes recopilaciones de casos con defecto congénito de fibrinógeno y se recogieron más de 400, aunque muchos de ellos sin tener caracterizada la alteración molecular^{12-16,47}. En el año 2001 se desarrolló una base de datos de los defectos congénitos de fibrinógeno *on line*, en la que están registradas las variantes que tienen caracterizado el defecto molecular y la mutación que lo causa⁴⁸. Este registro se puede consultar en la web de la International Society on Thrombosis and Hemostasis. Se han incluido más de 660 casos: 378 DC, 151 afibrinogenemias y 132 hipofibrinogenemias. Los casos de DC recogidos en el registro están causados por 127 defectos genéticos: 41 mutaciones localizadas en el gen FGA, 25 en FGB y 61 en FGG (Tabla 2). De especial interés son los 35 casos caracterizados en el Reino Unido, 25 casos originados por siete mutaciones del gen FGA, nueve casos por tres mutaciones del gen FGG y solo un caso por una mutación en el gen FGB^{48,49}.

Entre los nuevos pacientes con DC caracterizados hay que destacar los descritos en un estudio multicéntrico europeo publicado en 2015, que recoge 101 casos de DC no incluidos en el registro *on line*⁵⁰. Están causadas por 22 mutaciones en FGA, FGB y FGG, seis de ellas noveles (Tabla 2). Además del estudio multicéntrico, se han publicado en los últimos meses 13 nuevas DC causadas por siete mutaciones en FGA, FGB y FGG, cuatro de ellas noveles⁵¹⁻⁵³ (Tabla 2).

Tabla 2. Casos y mutaciones de disfibrinogenemias congénitas caracterizadas hasta junio de 2015

| | FGA + FGB + FGG | | FGA OMIM134820 | | | FGB OMIM134830 | | | FGG OMIM134850 | | |
|------------------------------|-----------------|------------|----------------|------------|-----------|----------------|-----------|-----------|----------------|------------|-----------|
| | Mutación | Casos | Mutación | Casos | % | Mutación | Casos | % | Mutación | Casos | % |
| Registro <i>on line</i> 2014 | 127* | 378 | 41* | 196 | 52 | 25* | 51 | 13 | 61* | 131 | 35 |
| Estudio multicéntrico 2015 | 22/6* | 101 | 10/2* | 35 | 35 | 2 | 2 | 2 | 10/4* | 64 | 63 |
| Registro español 2015 | 11/3* | 52 | 3 | 19 | 36 | 2/1* | 4 | 7 | 6/2* | 29 | 56 |
| Otros casos 2015 | 6/4* | 13 | 3/2* | 3 | 25 | 2/1* | 5 | 33 | 2/1* | 5 | 42 |
| Total | 140* | 544 | 45* | 253 | 47 | 27* | 62 | 11 | 68* | 229 | 42 |

*Mutaciones noveles.

Actualmente, en los grupos de trabajo de la Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia se ha propuesto un proyecto para elaborar el registro español de defectos de fibrinógeno en el que participan más de 20 hospitales. Hasta el momento se han diagnosticado 104 casos de DC. De ellas, se han caracterizado genéticamente 52 casos, causados por 11 mutaciones en los genes FGA, FGB y FGG, tres de ellas noveles (Tabla 2).

Considerando todos estos casos, se han recogido 544 pacientes con DC, originadas por un espectro amplio de mutaciones: 45 en FGA, 27 en FGB y 68 en FGG (Tabla 2). Las producidas en los genes FGA y FGG son los responsables del 47% y del 42% de los casos, respectivamente, mientras que en FGB se producen solo un 11%. Este hecho refleja la importancia de las estructuras de la cadena α y de la cadena γ en la función del fibrinógeno (Tabla 1).

Mutaciones en FGA

El gen FGA está constituido por seis exones que codifican la cadena α . Ha sufrido 45 mutaciones causantes de 253 casos de DC. El 81% de los casos son debidos a 19 mutaciones en el exón 2 que producen alteración de la zona N-terminal (α 1-20) y representan el 38% de todos los casos de DC (Tabla 3). La mutación más frecuente origina un cambio en α Arg16. Representan el 65% de las DC debidas a defectos de cadena α y el 30% de todos los casos de DC. El residuo Arg cambia a Cys (81 casos), His (70 casos), Ser (9 casos) y Pro (5 casos). Este defecto altera el sitio donde se produce la acción catalítica de la trombina y la liberación del FPA¹⁷ causando un retraso en la cinética de formación de fibrina⁴⁵. La clínica que presentan es hemorrágica (Cys, 36%; His, 30%) más que trombótica (Cys, 9%; His, 8%), aunque en su mayoría son casos asintomáticos (Cys, 55%; His, 62%). Las mutaciones que causan cambios entre α 17-20 (25 casos) tienen gran interés, ya que alteran el sitio de polimerización "A"²¹. Se asocian en su mayoría con fenotipo hemorrágico (60%), aunque también se observa clínica trombótica (16%) o ausencia de síntomas (24%)^{48,50}. Mutaciones en el exón 5 originan cambios de aminoácidos entre α 165-554. Se han identificado 20 mutaciones en 41 casos que

representan el 16% de las DC debidas a defectos de la cadena α y el 8% de todos los casos de DC (Tabla 3). Los cambios producidos a este nivel pueden alterar el sitio de polimerización "b", localizado en la zona C-terminal de la cadena α (α 392-610)²⁸, y también se ha demostrado que pueden alterar la capacidad de la fibrina para inducir la fibrinólisis⁵⁴. Se asocian más con fenotipo trombótico (60%) que hemorrágico (25%)⁴⁸. Las mutaciones que producen el cambio en α 554 de Arg por Cys (12 casos) o His (1 caso) se asocian todas ellas con fenotipo trombótico^{48,55}.

Además de las mutaciones del gen FGA que causan defectos congénitos del fibrinógeno relacionados con la hemostasia, se han caracterizado nueve mutaciones del exón 5 de FGA asociados a amiloidosis hereditaria. Las mutaciones que producen cambios entre α 517-554 han causado 113 casos^{48,56}. El cambio α Glu526Val es el más frecuente (86%). Otra mutación interesante es la que produce el cambio en α 554 de Arg por Leu, identificada en cinco casos con amiloidosis, cuyo defecto también se ha identificado en casos de DC en el que la Arg cambia a Cys o His.

Mutaciones en FGB

El gen FGB está constituido por ocho exones que codifica la cadena β . Ha sufrido 27 mutaciones causantes de 62 casos de DC (Tabla 3). El 40% de los casos son debidos a ocho mutaciones en el exón 2 que producen alteración de la zona N-terminal de la cadena β (β 1-68), y representan el 5% de todos los casos de DC. El cambio de β Arg14Cys (10 casos) o β Gly15Cys (5 casos) se asocia con fenotipo trombótico en un 69%. Los cambios de β Arg44Cys y β Ala68Thr también se asocian con fenotipo trombótico. Otra mutación causa delección del exón 2 y pérdida de aa desde β 9-72. Estos defectos originan una alteración funcional del fibrinógeno por pérdida de capacidad de secuestro de trombina^{19,26,57}. La inadecuada neutralización de la trombina circulante puede ser importante para determinar el fenotipo trombótico de estas alteraciones. Las mutaciones entre los exones 3 al 8 causan defectos de la cadena β desde β 111 hasta β 461 y se asocian más con fenotipo hemorrágico (57%) que trombótico (29%), al contrario de lo que ocurre en los defectos de la zona N-terminal.

Mutaciones en FGG

El gen FGG está constituido por nueve exones que codifica la cadena γ . Ha sufrido 68 mutaciones causantes de 229 casos de DC, desde el exón 3 al 9 (Tabla 3). El 84% de las mutaciones se producen en el exón 8, por cambios de aminoácidos entre los residuos γ 275- γ 341 y representan el 35% de todos los casos de DC. La más frecuente (54%) es la mutación que causa la sustitución de Arg en γ 275 por Cys (59 casos) o His (61 casos). La mayoría de estas DC son asintomáticas (65%), aunque también se han caracterizado casos asociados a episodios trombóticos (21%) y hemorrágicos (14%). Este defecto altera las uniones entre los residuos γ 275 y γ 300 de dominios D:D que consolidan la estructura del coágulo^{29,58-60}. El cambio de γ 308Asn por Lys (ocho casos) produce cambios en la polimerización D:D y estabilización por FXIII⁶¹. Son casos asintomáticos (66%), aunque el 22% se asocia a fenotipo trombótico, y el 12%, a hemorrágico. Mutaciones entre γ 314-322 (ocho casos) causan pérdida de afinidad al calcio, fallo de polimerización de fibrina y de interacción plaquetaria^{62,63}. Los cambios en γ 326 y 327 producen resistencia a la degradación de fibrina y feno-

Tabla 3. Mutaciones causantes de disfibrinogenemias

| | FGA | | | FGB | | | FGG | | |
|--------|------|-------|------|------|-------|------|------|-------|------|
| | Mut. | Casos | % | Mut. | Casos | % | Mut. | Casos | % |
| Exón 1 | | | | | | | | | |
| Exón 2 | 19 | 205 | 38 | 8 | 24 | 5 | | | |
| Exón 3 | 4 | 5 | 1 | 1 | 1 | << 1 | 1 | 1 | << 1 |
| Exón 4 | 2 | 2 | << 1 | 6 | 15 | 3 | 1 | 2 | << 1 |
| Exón 5 | 20 | 41 | 8 | 3 | 3 | << 1 | 2 | 2 | << 1 |
| Exón 6 | | | | 1 | 2 | << 1 | 1 | 3 | < 1 |
| Exón 7 | - | - | - | 3 | 3 | << 1 | 2 | 2 | << 1 |
| Exón 8 | - | - | - | 5 | 14 | 3 | 46 | 192 | 35 |
| Exón 9 | - | - | - | - | - | - | 15 | 27 | 5 |
| Total | 45 | 253 | 47 | 27 | 62 | 11 | 68 | 229 | 42 |

FGA: 6 exones; FGB: 8 exones; FGG: 9 exones.

tipo trombotico en un 66% por la alteración en la zona de interacción del fibrinógeno con el tPA^{34,64}. El cambio en γ 411 produce un retraso en la agregación plaquetaria debido a la participación de los aminoácidos γ 400-411 en la interacción con el receptor α Ib β 3^{37,38,65}. También se han caracterizado varios casos de hipodisfibrinogenemias con alteración en la zona C-terminal (γ 313, γ 326, γ 341, γ 351, γ 378) en los que se produce un doble efecto de fallo de secreción^{66,67} y de alteración funcional por fallo en la polimerización "A-a", en la interacción con tPA y en la interacción con plaquetas^{24,25,29,32,38,39}.

Manifestación clínica de las disfibrinogenemias congénitas

La mayoría de pacientes con DC son asintomáticos, y los que padecen síntomas desarrollan tanto episodios hemorrágicos (34%) como tromboticos (20%) (Tabla 4)^{48-50,68,69}. Los episodios hemorrágicos incluyen sangrado postoperatorio, sangrado posparto, metrorragias, menorragias, hemartrosis, hematomas y retraso en cicatrización de heridas. La severidad de los síntomas varía de moderada a grave. Las manifestaciones tromboticas incluyen trombosis venosas de las extremidades inferiores, tromboflebitis, tromboembolismo venoso, trombosis arterial y trombosis venosa y arterial^{48-50,68-74}. La asociación de la DC con episodios tromboticos se puso de manifiesto en un gran estudio del SSC Subcommittee on Fibrinogen, en el que se describe una incidencia de DC en casos de trombosis venosas del 0,8%⁷². En el estudio multicéntrico que incluye 101 casos de DC, se ha observado una incidencia de tromboembolismo venoso de 5,58/1.000 paciente-año⁵⁰ superior a la de la población general (1,5/1.000 paciente-año)⁷⁵. Las complicaciones obstétricas también son frecuentes en mujeres con DC. Incluyen abortos de repetición durante el primer trimestre de gestación, metrorragias, desprendimiento de placenta y trombosis^{72,76,77}. El manejo de los pacientes con DC se debe basar esencialmente en la historia personal y familiar. Se ha de tener en cuenta que incluso los pacientes asintomáticos pueden estar en riesgo de desarrollar alguno de los síntomas durante el curso de la enfermedad. En general, situaciones particulares, como el embarazo, el parto y la cirugía, requieren un enfoque multidisciplinario porque los riesgos precisos de eventos hemorrágicos o tromboticos y de complicaciones relacionadas con el embarazo para la mayoría de los pacientes con CD permanecen por determinar⁶⁹.

Asociación entre genotipo y fenotipo

Se observa que los pacientes pueden presentar síntomas hemorrágicos (34%) y tromboticos (20%), aunque cerca del 50% de los casos son

asintomáticos (Tabla 4). Los defectos de la cadena A α y de la cadena γ dan origen a DC en su mayoría asintomáticas, y los que presentan síntomas clínicos son más hemorrágicos que tromboticos (Tabla 4). Las DC con defectos en la cadena B β presentan síntomas clínicos asociados tanto a fenotipo trombotico (30%) como hemorrágico (33%).

Las bases moleculares de hemorragia parecen deberse a la mutación del exón 2 del gen *FGA*, que causa alteraciones localizadas en los sitios específicos implicados en la liberación del FPA (A α Arg16). Representa el 30% de todos los defectos caracterizados, y aunque la mayoría de ellos son asintomáticos, un 35% se asocia con manifestaciones hemorrágicas. Las mutaciones que alteran el sitio de polimerización "A" (A α 17-20) y la formación de fibrina también se asocian en su mayoría con fenotipo hemorrágico (60%).

Las bases moleculares de trombosis se podrían asociar con mutaciones que conducen a una disminuida unión de la trombina a la fibrina (B β Arg14, β 15-42, β 68) lo que implicaría una peor neutralización de la trombina circulante con posible repercusión en la aparición de accidentes tromboticos^{19,20,26,57}. Estas mutaciones se asocian en un 69% a clínica trombotica. Otro mecanismo asociado con la trombosis en el 84% de los casos está relacionado con mutaciones que alteran la estructura y la estabilidad del coágulo de fibrina y la fibrinólisis (A α Arg554, γ 326, γ 327)^{55,64,73,74}. Sin embargo, la segunda mutación mayoritaria que causa el 22% de casos de DC, producida en el exón 8 del gen *FGG* (γ Arg275), no se puede asociar claramente a un fenotipo trombotico (22%), ya que la mayoría de los casos son asintomáticos (65%)^{48,50}.

Consideraciones finales

La DC es una enfermedad rara, que se asocia con un amplio espectro de alteraciones de la función hemostática. La caracterización de mutaciones que producen cambios de fenotipo ha proporcionado datos que amplían el conocimiento de las funciones del fibrinógeno. Su repercusión en la clínica no es frecuente; sin embargo, puede ser compleja y se da la paradoja de que defectos congénitos causados por una misma mutación manifiestan clínica trombotica o hemorrágica. Actualmente, los datos epidemiológicos de las DC se recogen en diferentes bases de datos internacionales, como es el proyecto Rare Bleeding Disorders (PRO-RBDD) (<http://eu.rbdd.org/>), cuyos resultados pueden mejorar nuestro conocimiento del riesgo de hemorragia y trombosis que presentan las DC, así como facilitar la aplicación de estrategias terapéuticas más adecuadas.

Bibliografía

1. Doolittle RF. Fibrinogen and fibrin. *Annu Rev Biochem* 1984;53:195-229.
2. Mosesson MW. Fibrinogen and fibrin structure and functions. *J Thromb Haemost* 2005;3:1894-904.
3. Standeven KF, Ariens RA, Grant PJ. The molecular physiology and pathology of fibrin structure/function. *Blood Rev* 2005 19:275-88.
4. Redman CM, Xia H. Fibrinogen biosynthesis. Assembly, intracellular degradation, and association with lipid synthesis and secretion. *Ann NY Acad Sci* 2001;936:480-95.
5. Blomback B, Hogg DH, Gardlund B, Hessel B, Kudryk B. Fibrinogen and fibrin formation. *Thromb Res* 1976;8(Suppl. 2):324-46.
6. Henschen A, Lottspeich F, Topfer-Peterson E, Warbinek R. Primary structure of fibrinogen. *Thromb Haemost* 1979;41:662-70.

Tabla 4. Clínica de disfibrinogenemias relacionadas con mutación en A α , B β y γ

| | Hemorragias | | Trombosis | | Asintomáticas | | Total | |
|--------------|-------------|------------|-----------|------------|---------------|------------|-------|------------|
| | % | Casos | % | Casos | % | Casos | % | Casos |
| A α | 36 | 90 | 19 | 49 | 45 | 114 | 47 | 253 |
| B β | 33 | 20 | 30 | 18 | 37 | 24 | 11 | 62 |
| γ | 33 | 76 | 19 | 44 | 48 | 109 | 42 | 229 |
| Total | 34 | 186 | 20 | 111 | 46 | 245 | | 544 |

7. Doolittle RF, Watt KW, Cottrell BA, Strong DD, Riley M. The amino acid sequence of the alpha-chain of human fibrinogen. *Nature* 1979;280:464-8.
8. Blomback B, Hessel B, Hogg D. Disulfide bridges in NH₂-terminal part of human fibrinogen. *Thromb Res* 1976;8:639-58.
9. Doolittle RF. X-ray crystallographic studies on fibrinogen and fibrin. *J Thromb Haemost* 2003;1:1559-65.
10. Weisel JW, Litvinov RI. Mechanisms of fibrin polymerization and clinical implications. *Blood* 2013;121:1712-9.
11. Podolnikova NP, Yakovlev S, Yakubenko VP, et al. The interaction of integrin IIB3 with fibrin occurs through multiple binding sites in the IIB-propeller domain. *J Biol Chem* 2014;289:2371-83
12. Beck EA, Furlan M. Variants of human fibrinogen. *Current problems in clinical biochemistry*. Vol. 14. Berna: Hans Huber; 1984.
13. Ebert R. Index of variant human fibrinogens. Boca Raton: CRC Press; 1994.
14. Henschen AH. Human fibrinogen structural variants and functional sites. *Thromb Haemost* 1993;70:42-7.
15. Matsuda M, Sugo T, Yoshida N, Terukina S, Yamazumi K, Niwa K, et al. Structure and function of fibrinogen: Insights from dysfibrinogens. *Thromb Haemost* 1999;82:283-90.
16. Mosesson MW. Hereditary fibrinogen abnormalities. En: Lichtman MA, Beutler E, Kaushansky K, Kipps TJ, Seligsohn U, Prchal J, editors. *Williams Hematology*. 7th ed. Nueva York: McGraw-Hill; 2005. p. 1909-2721.
17. Blomback B, Hessel B, Hogg D. Disulfide bridges in NH₂-terminal part of human fibrinogen. *Thromb Res* 1976;8:639-58.
18. Ni F, Konishi Y, Frazier RB, Scheraga HA, Lord ST. High-resolution NMR studies of fibrinogen-like peptides in solution: interaction of thrombin with residues 1-23 of the Aa chain of human fibrinogen. *Biochemistry* 1989;28:3082-94.
19. Meh DA, Siebenlist KR, Brennan SO, Holyst T, Mosesson MW. The amino acid sequence in fibrin responsible for high affinity thrombin binding. *Thromb Haemost* 2001;85:470-4.
20. Weisel JW, Litvinov RI. Mechanisms of fibrin polymerization and clinical implications. *Blood* 2013;121:1712-9.
21. Laudano AP, Doolittle RF. Studies on synthetic peptides that bind to fibrinogen and prevent fibrin polymerization. *Proc Natl Acad Sci USA* 1978;75:3085-9.
22. Pandya BV, Cierniewski CS, Budzynski AZ. Conservation of human fibrinogen conformation after cleavage of the Bb-chain NH₂-terminus. *J Biol Chem* 1985;260:2994-3000.
23. Siebenlist KR, DiOrto JP, Budzynski AZ, Mosesson MW. The polymerization and thrombin-binding properties of des-(B beta 1-42)-fibrin. *J Biol Chem* 1990;265:18650-5.
24. Shimizu A, Nagel GM, Doolittle RF. Photoaffinity labeling of the primary fibrin polymerization site: isolation of a CNBr fragment corresponding to 337-379. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:2888-92.
25. Pratt KP, Côté HC, Chung DW, Stenkamp RE, Davie EW. The primary fibrin polymerization pocket: three-dimensional structure of a 30-kDa C-terminal gamma-chain fragment complexed with the peptide gly-pro-arg-pro. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:7176-81.
26. Pechik I, Madrazo J, Mosesson MW, Hernandez I, Gilliland GL, Medved L. Crystal structure of the complex between thrombin and the central "E" region of fibrin. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:2718-23.
27. Everse SJ, Spraggon G, Veerapandian L, Riley M, Doolittle RF. Crystal structure of fragment double-D from human fibrin with two different bound ligands. *Biochemistry* 1998;37:8637-42.
28. Litvinov RI, Yakovlev S, Tsurupa G, Gorkun OV, Medved L, Weisel JW. Direct evidence for specific interactions of the fibrinogen alphaC-domains with the central E region and with each other. *Biochemistry* 2007;46:9133-42.
29. Spraggon G, Everse SJ, Doolittle RF. Crystal structures of fragment D from human fibrinogen and its crosslinked counterpart from fibrin. *Nature* 1997;389:455-62.
30. Siebenlist KR, Meh D, Mosesson MW. Protransglutaminase (factor XIII) mediated crosslinking of fibrinogen and fibrin. *Thromb Haemost* 2001;86:1221-8.
31. Medved L, Nieuwenhuizen. Molecular mechanisms of initiation of fibrinolysis by fibrin. *Thromb Haemost* 2003;89:409-19.
32. Yakovlev S, Makogonenko E, Kurochkina N, Nieuwenhuizen W, Ingham K, Medved L. Conversion of fibrinogen to fibrin: Mechanism of exposure of tPA- and plasminogen-binding sites. *Biochemistry* 2000;39:15730-41.
33. Tsurupa G, Medved L. Identification and characterization of novel tPA- and plasminogen-binding sites within fibrin(ogen) alpha C-domains. *Biochemistry* 2001;40:801-8.
34. Yonekawa O, Voskuilen M, Nieuwenhuizen W. Localization in the fibrinogen gamma-chain of a new site that is involved in the acceleration of the tissue-type plasminogen activator- catalysed activation of plasminogen. *Biochem J* 1992;283:187-91.
35. Kimura S, Aoki N. Cross-linking site in fibrinogen for alpha 2-plasmin inhibitor. *J Biol Chem* 1986;261:15591-5.
36. Ritchie H, Lawrie LC, Crombie PW, Mosesson MW, Booth NA. Cross-linking of plasminogen activator inhibitor 2 and alpha2-antiplasmin to fibrin(ogen). *J Biol Chem* 2000;275:24915-20.
37. Bennett JS, Shatil SJ, Power JW, Gartner TK. Interaction of fibrinogen with its platelet receptor. Differential effects of alpha and gamma chain fibrinogen peptides on the glycoprotein IIB-IIIa complex. *J Biol Chem* 1988;263:12948-53.
38. Hawiger J, Kloczewiak M, Bednarek MA, Timmons S. Platelet receptor recognition domains on the alpha chain of human fibrinogen: Structure-function analysis. *Biochemistry* 1989;28:2909-14.
39. de Willige US, Standeven KF, Philippou H, Ariens RA. The pleiotropic role of the fibrinogen {gamma}' chain in hemostasis. *Blood* 2009;114:3994-4001.
40. Neerman-Arbez M, de Moerloose P. Hereditary fibrinogen abnormalities. In: Kaushansky K, Lichtman M, Beutler E, Kipps T, Prchal J, Seligsohn U, editors. *Williams Hematology*. New York: McGraw-Hill; 2010 . p. 2051-68.
41. Galanakis DK. Afibrinogenemias and dysfibrinogenemias. In: Marder V, White GC, Aird WC, editors. *Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2012. p. 693-708.
42. de Moerloose P, Casini A, Neerman-Arbez M. Congenital fibrinogen disorders: An update. *Semin Thromb Hemost* 2013;39(6):585-95.
43. Mannucci PM, Duga S, Peyvandi F. Recessively inherited coagulation disorders. *Blood* 2004;104:1243-52.
44. Imperato C, Dettori AG. Hipofibrinogenemia congénita con fibrinostenia. *Helv Paediatr Acta* 1958;13:380-99.
45. Blombäck M, Blombäck B, Mammen EF, Prasad AS. Fibrinogen Detroit: a molecular defect in the N-terminal disulphide of human fibrinogen? *Nature* 1968;218:134-7.
46. Kant JA, Fornace Jr AJ, Saxe D, Simon MI, McBride OW, Crabtree GR. Evolution and organization of the fibrinogen locus on chromosome 4: Gene duplication accompanied by transposition and inversion. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985;82:2344-8.
47. Martinez J. Congenital dysfibrinogenemia. *Curr Opin Hematol* 1997;4:357-65.
48. Hanss M, Biot F. A database for human fibrinogen variants. *Ann N Y Acad Sci* 2001;936:89-90. Available at: <http://www.geht.org/databaseang/fibrinogen>
49. Shapiro SE, Phillips E, Manning RA, Morse CV, Murden SL, Laffan MA, et al. Clinical phenotype, laboratory features and genotype of 35 patients with heritable dysfibrinogenemia. *Br J Haematol* 2013;160:220-7.

50. Casini A, Blondon M, Lebreton A, Koegel J, Tintillier V, de Maistre E, et al. Natural history of patients with congenital dysfibrinogenemia. *Blood* 2015;125:553-61.
51. Hua B, Li K, Lee A, Poon MC, Zhao Y. Coexisting congenital dysfibrinogenemia with a novel mutation in fibrinogen γ chain (γ 322 Phe \rightarrow Ile, Fibrinogen Beijing) and haemophilia B in a family. *Haemophilia* 2015 May 16. DOI: 10.1111/hae.12712.
52. Jiang M, Wang X, Shu K, Jiang W, Huang Y, Lin Y, et al. Clinical and genetic analysis of 8 Chinese pedigrees with inherited dysfibrinogenemia. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi* 2014;31:134-9.
53. Riedelová-Reicheltoová Z, Kotlín R, Suttner J, Geierová V, Riedel T, Májek P, et al. A novel natural mutation α CpHe98Ile in the fibrinogen coiled-coil affects fibrinogen function. *Thromb Haemost* 2014;111:79-87.
54. Marchi R, Lundberg U, Grimbergen J, Koopman J, Torres A, de Bosch NB, et al. Fibrinogen Caracas V, an abnormal fibrinogen with an Aalpha 532 Ser \rightarrow Cys substitution associated with thrombosis. *Thromb Haemost* 2000;84:263-70.
55. Wada Y, Lord ST. A correlation between thrombotic disease and a specific fibrinogen abnormality (A alpha 554 Arg \rightarrow Cys) in two unrelated kindred, Dusart and Chapel Hill III. *Blood*, 1994;84:3709-14.
56. Stangou AJ, Banner NR, Hendry BM, Rela M, Portmann B, Wendon J, et al. Hereditary fibrinogen A {alpha}-chain amyloidosis: Phenotypic characterization of a systemic disease and the role of liver transplantation. *Blood* 2010;115:2998-3007.
57. Mosesson MW. Update on antithrombin I (fibrin). *Thromb Haemost* 2007;98:105-8.
58. Mosesson MW, Siebenlist KR, DiOrio JP, Matsuda M, Hainfeld JF, Wall JS. The role of fibrinogen D domain intermolecular association sites in the polymerization of fibrin and fibrinogen Tokio II (γ 275 Arg \rightarrow Cys). *J Clin Invest* 1995;389:455-62.
59. Linenberger ML, Kindelan J, Bennett RL, Reiner AP, Côté HC. Fibrinogen bellingham: A gamma-chain R275C substitution and a beta-promoter polymorphism in a thrombotic member of an asymptomatic family. *Am J Hematol* 2000;64:242-50.
60. Rein CM, Anderson BL, Ballard MM, Domes CM, Johnston JM, Jared Madsen R, et al. Severe bleeding in a woman heterozygous for the fibrinogen γ R275C mutation. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2010;21:494-7.
61. Okumura N, Gorkun OV, Terasawa F, Lord ST. Substitution of the γ -chain Asn 308 disturbs the D:D interface affecting fibrin polymerization, fibrinopeptide B release, and FXIII catalyzed cross-linking. *Blood* 2004;103:4157-63.
62. Remijn JA, Lounes KC, Hogan KA, Lord ST, Galanakis DK, Sixma JJ, et al. Mutations on fibrinogen (gamma 316-322) are associated with reduction in platelet adhesion under flow conditions. *Ann N Y Acad Sci* 2001;936:444-8.
63. Robert-Ebadi H, Le Querrec A, de Moerloose P, Gandon-Laloum S, Borel Derlon A, Neerman-Arbez M. A novel Asp344Val substitution in the fibrinogen gamma chain (fibrinogen Caen) causes dysfibrinogenemia associated with thrombosis. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2008;19:697-9.
64. Cheah CY, Brennan SO, Kennedy H, Januszewicz EH, Maxwell E, Burbury K. Fibrinogen Melbourne: A novel congenital hypodysfibrinogenemia caused by γ 326Cys-Phe in the fibrinogen γ chain, presenting as massive splanchnic venous thrombosis. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2012;23(6):563-5. DOI: 10.1097/MBC.0b013e328354a23b.
65. Flood VH, Al-Mondhiry HA, Rein CM, Alexander KS, Lovely RS, Shackleton KM, et al. Fibrinogen Hershey IV: A novel dysfibrinogen with a gammaV411I mutation in the integrin alpha(IIb)beta(3) binding site. *Thromb Haemost* 2008;99:1008-12.
66. Dear A, Brennan SO, George PM. Familial hypodysfibrinogenemia associated with second occurrence of gamma326 Cys \rightarrow Tyr mutation. *Thromb Haemost* 2005;93:612-3.
67. Okumura N, Terasawa F, Tanaka H, Hirota M, Ota H, Kitano K, et al. Analysis of fibrinogen gamma-chain truncations shows the C-terminus, particularly gammalle387, is essential for assembly and secretion of this multichain protein. *Blood* 2002;99:3654-60.
68. Casini A, Neerman-Arbez M, Ariens RA, de Moerloose P. Dysfibrinogenemia: From molecular anomalies to clinical manifestations and management. *J Thromb Haemost* 2015 Mar 28. DOI: 10.1111/jth.129
69. Ruiz-Saez A. Occurrence of thrombosis in rare bleeding disorders. *Semin Thromb Hemost* 2013;39:684-92.
70. Acharya SS, Dimichele DM. Rare inherited disorders of fibrinogen. *Haemophilia* 2008;14:1151-8.
71. Hayes T. Dysfibrinogenemia and thrombosis. *Arch Pathol Lab Med* 2002;7126:1387-90.
72. Haverkate F, Samama M. Familial dysfibrinogenemia and thrombophilia. Report on a study of the SSC Subcommittee on Fibrinogen. *Thromb Haemost* 1995;73:151-61.
73. de Moerloose P, Boehlen F, Neerman-Arbez M. Fibrinogen and the risk of thrombosis. *Semin Thromb Hemost* 2010;36:7-17.
74. Ariens RA. Fibrin(ogen) and thrombotic disease. *J Thromb Haemost* 2013;11(Supl. 1):294-305.
75. Naess IA, Christiansen SC, Romundstad P, Cannegieter SC, Rosendaal FR, Hammerstrøm J. Incidence and mortality of venous thrombosis: A population-based study. *J Thromb Haemost* 2007;5:692-9.
76. Miesbach W, Galanakis D, Scharrer I. Treatment of patients with dysfibrinogenemia and a history of abortions during pregnancy. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2009;20:366-70.
77. Munoz J, Schering J, Lambing A, Neal S, Goyert G, Green PM, et al. The dilemma of inherited dysfibrinogenemia during pregnancy. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2012;23:775-7.

Nuevos concentrados antihemofílicos. ¿Una solución para todos los pacientes?

A. Ruiz de Sáez

Departamento de Investigaciones y del Centro Nacional de Hemofilia. Banco Municipal de Sangre. Caracas, Venezuela

Introducción

El tratamiento moderno de la hemofilia se basa en dos aspectos fundamentales; el primero es el manejo del paciente por un equipo multidisciplinario, lo cual fomenta la salud integral a la vez que disminuye la morbilidad y mortalidad de esta población. El segundo es la disponibilidad de tratamiento con concentrados liofilizados seguros, que permitan el tratamiento oportuno en el hogar y, especialmente, la administración profiláctica, regular y prolongada, y prevengan el sangrado y el desarrollo de la artropatía hemofílica¹.

Con los avances conseguidos en las técnicas de seguridad de los concentrados utilizados, el interés de la comunidad de hemofilia se ha dirigido a optimizar el tratamiento para evitar las complicaciones, iniciar la profilaxis en forma temprana, personalizar o individualizar los esquemas de profilaxis utilizando datos de farmacocinética (PK) y/o desenlaces clínicos generalmente medidos como episodios hemorrágicos anuales (ABR) y en mejorar la calidad de vida. Sin embargo, la adherencia al tratamiento y su eficacia pueden verse afectados o limitados por el hecho de que los productos disponibles, plasma derivados o recombinantes, comparten propiedades farmacocinéticas similares, tienen una vida media ($t_{1/2}$) biológica corta y deben ser administrados por infusiones intravenosas frecuentes y, en ocasiones, usando accesos venosos centrales².

En la **Tabla 1**, se señalan las diferentes tecnologías utilizadas para mejorar el tratamiento de la hemofilia A (HA) y B (HB). Los mayores avances en desarrollo clínico de concentrados de larga duración (CLD) se basan en la elaboración de productos de fusión con albúmina recombinante o con Fc de la IgG1 y uso de polietilenglicol³⁻⁵.

Proteína de fusión-Fc

La capacidad funcional del receptor Fc neonatal (FcRn) en prolongar la vida media de la IgG, guio la producción por bioingeniería de nuevas proteínas mediante fusión a la región fragmento cristalizante (Fc) de la IgG. La presencia del dominio Fc incrementa significativamente la vida media plasmática de la proteína fusión, lo cual prolonga la actividad terapéutica por interacción con el receptor neonatal FcRn. Las proteínas que son internalizadas por las células endoteliales se unen al receptor Fc presente en el endosoma acidificado y son recicladas a la superficie a pH neutral, evitando así la degradación lisosomal de la IgG y de la proteína. La fusión de una forma monomérica de IgG1 Fc a FIX, FVIIa o a FVIII dominio B truncado, con excreción como forma dimérica de una molécula de Fc y una de la proteína coagulante, aumenta la $t_{1/2}$ plasmática. Otra ventaja es que el dominio Fc mejora la solubilidad y la estabilidad de la molécula acompañante y facilita los procesos de purificación⁶.

Las características de los factores FVIIIrFc (efraloctocog alfa) y FIXrFc (eftrenonacog alfa) y la descripción de los estudios clínicos

relacionados^{7,8} se describen en la **Tabla 2**. Ambos productos mostraron seguridad y eficacia en la prevención y el tratamiento de episodios hemorrágicos, incluyendo cirugía mayor, en pacientes previamente tratados⁹. Con FVIIIrFc, la media de la $t_{1/2}$ (95% IC) en niños menores de 6 años fue 12,67 horas (11,23-14,11) y 14,88 (11,98-17,77), respectivamente¹⁰. Se encuentra en curso el estudio de extensión con FVIIrFc en sujetos que participaron en el estudio A-Long y Kid-A-Long y continuaron en tratamiento, la mayoría más de 80 semanas y de 100 DE. En el ínterin, no se han observado inhibidores y ABR fue menor en sujetos bajo régimen individualizado: 25-65 UI/kg (hasta 80 UI/kg en niños) cada 3 a 5 días o 20-65 UI/kg el día 1 y 40-65 UI/kg el día 4.

Los resultados con FIXrFc sugieren que una dosis semanal de 20 UI/kg, o cada 10 días a 40 UI/kg, o cada 2 semanas a 100 UI/kg, es

Tabla 1. Estrategias para desarrollar nuevos tratamientos en hemofilia^{4,5}

| Tecnología | Mecanismo de acción |
|--|--|
| Pegilación | Aumento de masa/peso molecular. Modificaciones que reducen la filtración glomerular, degradación proteolítica y aclaramiento por receptores específicos, todo lo cual resulta en prolongación de la vida media terminal de la proteína |
| Fusión a Fc o a albúmina | Unión al receptor Fc neonatal (FcRn) que se ubica en las células endoteliales y facilita el reciclaje de la proteína a la superficie celular para ser liberada a la circulación |
| Polisialilación | Método alternativo a pegilación. Mejora la estabilidad enzimática |
| Polímero de proteínas XTEN | Incorpora polipéptido no estructurado |
| Péptido carboxi-terminal | Fusión de péptido C-terminal de gonadotropina coriónica a proteínas |
| Modificación de secuencia de aminoácidos | Mejora la estabilidad. Usada en diseño de FVIII recombinante de una cadena |
| Aptámeros o anticuerpos específicos dirigidos a inhibidores naturales de la coagulación (antitrombina, inhibidor de la vía del factor tisular) | Mejora la generación de trombina por supresión de anticoagulación |
| Anticuerpos biespecíficos a FIXa y FX | Mimetiza la acción de FVIIIa. Posible uso en pacientes con o sin inhibidores. Fase I |

Tabla 2. Características de los concentrados de factores de larga duración aprobados para uso clínico*

| Factor** | Prolongación de la vida media terminal | Media del tiempo en días (95% IC) para nivel del 1% rFc vs estándar | Estudios clínicos | Porcentaje de pacientes sin sangrado Profilaxis |
|--|--|---|---|---|
| FVIII-BDD rFVIII-Fc Efralocog alfa | 19 horas vs 12,4 horas 1,5 veces | 4,9 (4,4-5,5) vs 3,3 (3-3,7) | A-Long ⁷ Profilaxis individualizada: 25-65 UI/kg 3 a 5 días ABR (RIC): 1,6 (0,0-4,7) Profilaxis semanal: 65 UI/kg/7 d ABR (RIC): 3,6 (1,9-8,4) A demanda: ABR (RIC) 33,6 (21,1-48,7) | Grupo 1: 45,3 Grupo 2: 17,4 |
| FIX- rFIXFc Eftrenonacog alfa | 57- 82,1 horas 3 veces | 11,2 (10,2-12,4) vs 5,12 (4,6-5,7) | B-Long ⁸ Grupo 1: Profilaxis 50 UI/kg/7 días ABR (RIC): 3,0 (1,0-4,4). 1,6 (0,0-4,7) Grupo 2. Intervalo ajustado 100 UI/kg 10 a 14 días ABR (RIC): 1,38 (0,0-3,4) A demanda ABR (RIC): 17,7 (10,8-23,2) Nivel basal FIX ≥ 1 UI/dl 50 UI/kg/semanal en el 95,4% de los pacientes 100 UI/kg cada 10 a 14 días: 89,2 y 52,8%, respectivamente | Grupo 1: 23 Grupo 2: 42,3 |

*Aprobados en Estados Unidos, Canadá, Australia, Japón. **Ambos obtenidos en línea celular HEK 293 por Biogen Idec.
ABR: mediana de la tasa de hemorragia anualizada (RIC: rango intercuartílico).

suficiente para mantener nivel de FIX de 1 UI/dl en la mayoría de los pacientes adultos. El análisis retrospectivo encontró asociación ente el tiempo con FIX < 1, < 3 y < 5 UI/dl con sangrados intercurrentes¹¹ como ha sido descrito para hemofilia A¹².

Fusión con albúmina

La albúmina es una molécula estable y con vida media prolongada, lo cual ha permitido su uso mediante asociación, conjugación o fusión genética a fin de extender la vida media de proteínas, mediante su interacción con el receptor neonatal Fc. Se ha utilizado para prolongar la t½ del FIX^{13,14} y del FVII (fase I).

Pegilación

La unión covalente de proteínas a polímeros de polietilenglicol se realiza mediante diferentes procesos: al azar por unión a grupos épsilon amino de los residuos de lisina o específica por unión a residuos libres de cisteína o por bioingeniería. Se ha utilizado para FVIII¹⁵ y FIX^{16,17}; los intentos con FVII han sido infructuosos. El uso de pegilación específica preserva la eficacia del FVIII y minimiza la reducción en la unión al FVW. A nivel experimental se ha descrito toxicidad renal y recientemente formación de anticuerpos anti-PEG con el uso de otras proteínas pegiladas. Actualmente, no se han descrito con FVIIIr PEG. Por otra parte, se ha sugerido que FVIII pegilado pudiera ser menos inmunogénico. Con N9-GP en estudio fase I, un paciente presentó reacción anafiláctica severa (Tablas 3 y 4).

Aspectos por resolver

La PK de los nuevos productos plantea una revisión de los esquemas de tratamiento actuales, especialmente en lo referente a frecuencia de las dosis, nivel valle ideal, control de episodios hemorrágicos y, por

ende, en la individualización de la terapia.

El uso de los nuevos CLD debe mantener los beneficios de la profilaxis utilizando la dosis adecuada, evitar dosis mayores de lo necesario y reducir la frecuencia de las infusiones.

El FIXrFc aprobado recomienda dos esquemas, y el FVIIIrFc, una dosis inicial y luego un rango de dosis y de intervalo. Estas estrategias pueden no ser equivalentes en lo referente a cantidad total de factor, número de infusiones y coste. En la práctica, el aspecto más importante debe ser disminuir o prevenir los sangrados¹⁸.

En HA, debido a que el FVIII circula unido al FVW y su aclaramiento está determinado por el nivel de FVW¹⁹, con todos los CLD la t½ varía entre 18 a 19 horas, ~1,5 veces el valor del FVIIIr estándar. Por esta razón, el uso de CLD de FVIIIr no tendrá impacto significativo en los regímenes de profilaxis en la mayoría de los pacientes. Si los intervalos entre dosis son mayores, pudiera ser posible que algunos pacientes tengan hemorragias subclínicas o se encuentren en mayor riesgo de sangrado²⁰. El nivel valle óptimo durante profilaxis es motivo de debate: un nivel valle del 1% pudiera no ser suficiente para prevenir sangrados en pacientes con estilo de vida activo o en quienes ya presentan artropatía. Con el nuevo FVIIIrFc en modelos teóricos de PK poblacional, el régimen que mantiene al paciente mayor tiempo con FVIII < 10 UI/dl y menos con 3 UI/dl fue FVIIIrFc 30 UI/kg cada 72 h²⁰.

Reducir el número de infusiones es un avance; en HB sería posible mantener profilaxis con 1 dosis/semana o menos, lo cual significa una disminución en el número de infusiones de 104/año a 18 a 52/año. La mayoría de los pacientes con HA necesitarán dos infusiones semanales (102/año) o una cada 3 a 5 días para mantener nivel valle > 1 UI/dl, mientras que actualmente reciben entre 152-182/año, una reducción importante para niños y pacientes con problemas de acceso venoso²⁶.

Actualmente, se plantean diversas estrategias para la administración en profilaxis de estos nuevos concentrados: a) reducir la frecuencia de las infusiones y mantener un nivel valle similar; b) reducir la

Tabla 3. Estudios clínicos en curso con concentrados de FVIII de larga duración¹⁵

| Producto | Proteína recombinante | Modificación | Línea celular | Estado |
|-------------------------------------|--------------------------------|---|---------------|--|
| BAY94-9027 Damoctocog alfa pegol | rFVIII-BDD (Ser743-Gln1638) | Pegilación específica PEG 60kDa en dominio A3 | BHK21 | Estudio Fase 3 112 pacientes profilaxis y 20 a demanda Inicial 25 UI/kg 2 veces por semana Luego de 1 sangrado pasaron a 45 UI/kg c/5 d o 60 UI/kg cada 7 d Luego de 2 sangrados 30-40 IU/kg 2/semana ABR disminuyó en grupos de profilaxis Sugiere individualización según fenotipo |
| N8-GP Turoctocog alfa pegol | rFVIII-BDD (Ser750-Gln1638) | Pegilación específica PEG 40kDa en región dominio B | CHO | Fase 3 Profilaxis 50 UI/kg/4 días ABR: 1,3 vs 30,9 a demanda2 1 paciente desarrolló inhibidor3 |
| BAX 855 | rFVIII | Pegilación 20kDa | CHO | Fase 2/3 138 pacientes con FVIII <1 UI/dl Profilaxis 45 UI/kg 2 veces/semana, cada 3,6 d ABR: 1,9 vs 41,5 en grupo a demanda |
| CSL 627* | rFVIII cadena única | Unión covalente entre cadenas liviana y pesada Mayor afinidad por FVW | CHO | Fase I/III Pacientes previamente tratados5 |

Vida media terminal: 1,4* a 1,6 veces vs rFVIII. ABR: mediana de la tasa de hemorragia anualizada.

Tabla 4. Estudios clínicos en curso con concentrados de FIX de larga duración

| Producto/línea celular | Modificación | Media t _{1/2} * | Estudios |
|---------------------------------|------------------------|--------------------------|--|
| N9-GP Nonacog β pegol CHO | Pegilación | 6 veces | Fase 3¹⁶ 74 pacientes > 12 años con FIX < 2 UI/dl Profilaxis 40 UI/Kg semanal. Media nivel valle FIX: 8,5 (7,7-9,3) ABR: 1. Sin articulación diana: 67% Profilaxis 10 UI/kg semana. Media nivel valle FIX: 27 (25-30) ABR: 3. Sin articulación diana: 8% Fase 3¹⁷ 25 niños < 12 años. (12 ≤ 6 años). Dosis 40 UI/kg/semana por 50 días de exposición ABR: 1,0 (0,0-6,5). t _{1/2} 69,6 horas en ≤ 6 años y 76,3 horas (7-12 años) |
| CSL654 CHO | Fusión con albúmina | 5 veces | Fase 2¹³ 17 sujetos FIX ≤ 2UI/dl. Edad: 12 a 65 años Dosis ~ 50 UI/kg. t _{1/2} : 94,8 horas Fase 3¹⁴ Incluyó niños de 1-11 años Dosis 50 IU/kg t _{1/2} . 104, 92 y 84 horas con RI: 1,3; 1,1 y 1 UI/dl/UI/kg para 12-61 años, 6 a 11 años y 1 a 5 años, respectivamente. Tiempo para FIX 5 UI/dl: ~ 10 y 14 días para niños y adultos |

frecuencia de infusiones pero con nivel valle mayor, y c) mantener la frecuencia con nivel valle mayor. Esta forma pudiera ser conveniente para pacientes jóvenes muy activos o de forma temporal para tratar la articulación diana. En todos los casos, es recomendable individualizar el tratamiento basado en el patrón de sangrados, edad, estilo de vida y presencia de artropatía.

Cómo realizar la transición y qué pacientes se beneficiarían con el cambio es un aspecto controvertido. En algunos centros se recomienda determinar la vida media del factor que actualmente utiliza el paciente

antes de tomar la decisión y facilitar el cálculo de la dosis y frecuencia con el CLD.

Los riesgos deben ser evaluados con cada producto, ya que son diferentes; la farmacovigilancia debe ser continua, especialmente la formación de anticuerpos y la toxicidad potencial del uso de pegilados en población pediátrica y por tiempo prolongado.

En pacientes previamente no tratados (PUP) se desconoce la efectividad y la seguridad, especialmente su inmunogenicidad. Un aspecto de gran relevancia, aun cuando está por definirse, en este grupo de

pacientes, es la influencia del tipo de producto en el desarrollo de inhibidores.

Es importante definir la metodología que se va a utilizar para asignar la potencia de los productos y para realizar la determinación de los niveles de FVIII o FIX en pacientes, algo necesario para estudiar PK, niveles valle durante el tratamiento y en el manejo perioperatorio. Los resultados de laboratorio pueden variar según se utilicen diferentes métodos: coagulante en una o dos etapas o el cromogénico³.

Otro aspecto es el económico: el precio por unidad es mayor que la terapia estándar. Es importante disponer de viales con amplio rango de presentación para evitar niveles mayores de lo necesario. En este sentido, también se plantea la disyuntiva de qué producto usar en caso de sangrado intercurrente: si utilizar el FVIIIr o el FIXr estándar para disminuir los costes del tratamiento y dejar el CLD para profilaxis¹⁹. Además, se debe considerar el coste de tratar un sangrado y sus consecuencias y la calidad de vida del paciente.

La comunidad de hemofilia necesita aprender a utilizar los CLD. La participación del paciente y su familia y la capacitación para el uso de estos agentes es crucial. En este sentido, la adherencia al tratamiento también puede mejorar con la participación del paciente/familia ajustando la profilaxis según su estilo de vida y las necesidades individuales.

Para finalizar, es necesario recordar que los CLD pueden ser una opción para países desarrollados pero la mayoría de los pacientes con hemofilia a escala mundial no tiene acceso a concentrados de factores.

Conclusiones

La aplicación de la biotecnología en la producción de nuevos factores de la coagulación recombinantes permite a pacientes y a sus médicos disponer de nuevas proteínas terapéuticas con vida media prolongada, lo cual facilitará los regímenes de profilaxis, al reducir la frecuencia de las dosis y de esta forma extender sus beneficios. Esto es especialmente cierto en HB, donde se ha conseguido una sustancial prolongación de la vida media permitiendo el uso de dosis a intervalos semanales o mayores. En HA la situación es diferente, y la mayoría de los pacientes necesitarán de infusiones dos veces por semana y solo una minoría podría beneficiarse con una dosis semanal. Las diferencias en sus características estructurales y mecanismo de acción hace necesario evaluar en cada uno de los productos los aspectos clínicos y de laboratorio relacionados con su uso.

Bibliografía

1. Srivastava A, Brewer AK, Mauser-Bunschoten EP, Key NS, Kitchen S, Llinas A, et al. Treatment Guidelines Working Group on Behalf of The World Federation Of Hemophilia. Guidelines for the management of hemophilia. *Haemophilia* 2013;19(1):e1-47.
2. Carcao M. Changing paradigm of prophylaxis with longer acting factor concentrates. *Haemophilia* 2014;20 (Supl. 4):99-105.
3. Oldenburg J, Albert T. Novel products for haemostasis - current status. *Haemophilia* 2014;20 (Supl. 4):23-8.
4. Shetty S, Ghosh K. Novel therapeutic approaches for haemophilia. *Haemophilia* 2015;21(2):152-61.
5. Peyvandi F, Garagiola I. Treatment of hemophilia in the near future. *Semin Thromb Hemost* 2015 Feb 19. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 25703518.
6. Powell JS. Lasting power of new clotting proteins. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2014;2014(1):355-63.
7. Mahlangu J, Powell JS, Ragni MV, Chowdhary P, Josephson NC, Pabinger I, et al. A-LONG Investigators. Phase 3 study of recombinant factor VIII Fc fusion protein in severe hemophilia A. *Blood* 2014;123(3):317-25.
8. Powell JS, Pasi KJ, Ragni MV, Ozelo MC, Valentino LA, Mahlangu JN, et al. B-LONG Investigators. Phase 3 study of recombinant factor IX Fc fusion protein in hemophilia B. *N Engl J Med* 2013;369(24):2313-23.
9. Powell JS, Apte S, Chambost H, Hermans C, Jackson S, Josephson NC, et al. Long-acting recombinant factor IX Fc fusion protein (rFIXFc) for perioperative management of subjects with haemophilia B in the phase 3 B-LONG study. *Br J Haematol* 2015;168(1):124-34.
10. Young G, Mahlangu J, Kulkarni R, Nolan B, Liesner R, Pasi J, et al. Recombinant factor VIII Fc fusion protein for the prevention and treatment of bleeding in children with severe hemophilia A. *J Thromb Haemost* 2015;13(6):967-77.
11. Shapiro A, Potts J, Li S, Valentino LA, Diao L, Wang P, et al. Association of bleeding tendency with time under target FIX activity levels in severe hemophilia B patients treated with recombinant factor IX Fc fusion protein. *Blood* 122, 2349.
12. Collins PW, Blanchette VS, Fischer K, Björkman S, Oh M, Fritsch S, Schroth P, et al. Break-through bleeding in relation to predicted factor VIII levels in patients receiving prophylactic treatment for severe hemophilia A. *J Thromb Haemost* 2009;7(3):413-20.
13. Martinowitz U, Lissitchkov T, Lubetsky A, Jotov G, Barazani-Brutman T, Voigt C, et al. Results of a phase I/II open-label, safety and efficacy trial of coagulation factor IX (recombinant), albumin fusion protein in haemophilia B patients. *Haemophilia* 2015 May 20. doi: 10.1111/hae.12721. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 25990590.
14. Santagostino E, Jacobs I, Voigt C, Feussner A y Limsakun T. Pharmacokinetic (PK) results of two phase III clinical studies of coagulation FIX (recombinant) albumin fusion protein (RIXFP) in previous treated patients with haemophilia B. *Haemophilia* 2015;21(Supl. 2):27-8.
15. Mahdi AJ, Obaji SG, Collins PW. Role of enhanced half-life factor VIII and IX in the treatment of haemophilia. *Br J Haematol* 2015;169(6):768-76.
16. Collins PW, Young G, Knobe K, Karim FA, Angchaisuksiri P, Banner C, et al. Recombinant long-acting glycoPEGylated factor IX in hemophilia B: a multinational randomized phase 3 trial. *Blood* 2014;124(26):3880-6.
17. Carcao M, Zak M, Karim FA, Hanabusa H, Kearney S, Lu MY, et al. Nonacog beta pegol (N9-GP) in prophylaxis and treatment of bleeding episodes in previously treated patients with hemophilia B. *Haemophilia* 2015;21(Supl.2):28-9.
18. Croteau SE, Neufeld EJ. Transition considerations for extended half-life factor products. *Haemophilia* 2015;21(3):285-8.
19. Shapiro AD, Ragni MV, Kulkarni R, Oldenburg J, Srivastava A, Quon DV, et al. Recombinant factor VIII Fc fusion protein: extended-interval dosing maintains low bleeding rates and correlates with von Willebrand factor levels. *J Thromb Haemost* 2014;12(11):1788-800.
20. Gringeri A, Wolfsegger M, Steinitz KN, Reininger AJ. Recombinant full-length factor VIII (FVIII) and extended half-life FVIII products in prophylaxis - new insight provided by pharmacokinetic modelling. *Haemophilia* 2015;21(3):300-6.

Potenciales usos y mecanismos de acción de los agonistas del receptor de la trombopoyetina

M.L. Lozano, V. Vicente

Unidad de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Centro Regional de Hemodonación. IMIB-Arrixaca. Universidad de Murcia. Murcia

Introducción

Desde que en 1958 se sugirió por vez primera la presencia de una citocina con efectos específicos sobre la trombopoyesis hasta la clonación de la trombopoyetina (TPO) pasaron más de 35 años. Teniendo en cuenta la eficacia del factor estimulador de colonias granulocíticas (G-CSF) y de la eritropoyetina en promover la hematopoyesis específica de línea, existía una gran esperanza en que los agentes trombopoyéticos tuvieran un importante potencial terapéutico en las diferentes patologías que cursan con trombopenia. Los primeros agentes que se desarrollaron fueron formas recombinantes de la TPO humana, la rHuTPO (basada en la molécula completa) y también su forma pegilada, PEG-rHUMGDF (consistente en los primeros 163 aminoácidos de la molécula unida químicamente al polietilenglicol). Aunque los ensayos clínicos en unos 500-1.000 voluntarios sanos y pacientes mostraron un efecto inequívoco sobre la cifra de plaquetas¹, el desarrollo de estas moléculas se interrumpió, debido a la inducción de trombopenia por generación de anticuerpos en aproximadamente un 8% de los sujetos tratados. Se desarrollaron entonces dos agonistas del receptor de TPO que no compartían homología con la TPO endógena: a) Romiplostim (N-Plate), un análogo peptídico de la trombopoyetina que se administra por vía subcutánea semanalmente (1-10 mg/kg, media 3-4 mg/kg); y b) Eltrombopag (Revolade), una molécula oral no peptídica que se administra diariamente a dosis de 25, 50 o 75 mg (media 50 mg). Ambos fueron aprobados en 2009 y 2010 por la Food and Drug Administration (FDA) y la Agencia Europea de Medicamentos (EMA), respectivamente, para el tratamiento de pacientes adultos con trombopenia inmune primaria (PTI) con base en los resultados de estudios multicéntricos aleatorizados controlados con placebo, incluso en pacientes esplenectomizados y refractarios^{2,3}. Estos agentes han mostrado una reducción significativa de los eventos hemorrágicos, disminución en los requerimientos de tratamientos de rescate y posibilidad de discontinuación de otras terapias, y una mejora en la calidad de vida en pacientes con PTI. En noviembre de 2012 y en julio de 2013 la FDA y la EMA, respectivamente, aprobaron el empleo de Eltrombopag en pacientes con hepatitis C para inicio/mantenimiento de interferón. Recientemente, la FDA pero no la EMA autorizó Eltrombopag en pacientes con aplasia medular severa con respuesta insuficiente a tratamiento inmunosupresor. Existen descripciones de casos ya completados que han evidenciado la utilidad de estos fármacos en trombopenias congénitas, como el síndrome de Wiskott-Aldrich y la enfermedad relacionada con alteraciones en MYH9. Ambos agentes también han mostrado ser capaces de inducir incrementos en los recuentos plaquetarios de pacientes con síndrome mielodisplásico (SMD) y en enfermos tratados con quimioterapia no mieloablativa. Es importante resaltar que los agonistas de primera generación mostraron ser ineficaces tras tratamiento con quimioterapia mieloablativa, como

por ejemplo en pacientes con leucemia mieloblástica aguda⁴, por lo que se dedujo que para que estos fármacos puedan inducir respuestas plaquetarias es precisa la presencia de precursores en la médula ósea. Potencialmente, también podrían ser empleados en trombopenias inmunes no primarias, como las asociadas al lupus eritematoso sistémico, al virus de la inmunodeficiencia humana o para la estimulación de producción de plaquetas en donantes sanos, aunque la evidencia en estos casos es menor.

Puesto que el tratamiento de pacientes con PTI con agonistas del receptor de la trombopoyetina es una terapia plenamente establecida y en la actualidad constituye un tratamiento habitual en estos enfermos, repasaremos brevemente el mecanismo de acción de estos agentes y abordaremos particularmente su utilidad en condiciones clínicas diferentes a esta enfermedad autoinmune.

El papel de la trombopoyetina en la producción de plaquetas y mecanismo de acción de estos agentes

La TPO es el principal regulador de la producción de plaquetas, y la ausencia bien del factor de crecimiento o de su receptor (c-mpl) da lugar a una reducción de las cifras de plaquetas del 90% respecto a los valores normales. Aproximadamente la mitad de la TPO circulante es producida de forma constante (“constitutiva”) en el hígado, no es almacenada, y se libera a la circulación. La síntesis del resto de TPO es “inducible” y secundaria al reconocimiento por receptores específicos hepáticos de plaquetas que como consecuencia del envejecimiento han perdido el ácido siálico terminal⁵. Una vez en circulación, la mayor parte de la TPO se elimina por la ávida unión de esta a los receptores en plaquetas y posiblemente a megacariocitos, que internalizan y degradan la hormona. La TPO plasmática estimula la producción de plaquetas, por lo que los niveles circulantes de esta suelen estar inversamente relacionados, en caso de que no haya daño medular, a la trombopoyesis.

La TPO se une a su receptor y ejerce su efecto en la mayor parte de estadios de crecimiento megacariocítico; estimula la endomitosis de las células megacariocíticas y la ploidía de estas, favoreciendo su maduración y previniendo su apoptosis. Adicionalmente, este factor de crecimiento es también necesario para la viabilidad de los progenitores hematopoyéticos más inmaduros o indiferenciados. En ausencia del receptor de TPO, la trombopenia al nacimiento se sucede de aplasia medular en las décadas posteriores de la vida del enfermo.

La unión de TPO a su receptor inicia una amplia batería de rutas de transmisión de señales⁶. La más conocida es la de JAK-STAT, que se fosforila y promueve el crecimiento celular. Adicionalmente, la ruta de MAP cinasas (MAPK) se activa, lo que potencia la maduración. Menos estudiadas, pero igualmente importantes, son las rutas antiapoptóticas que se ponen en marcha tras la activación de fosfatidilinositol-3-ci-

nasa (PI3K) y AKT. Así, la unión de TPO a megacariocitos resulta en mitosis, endomitosis, maduración y una amplia variedad de efectos antiapoptóticos en megacariocitos y en sus precursores.

Tanto Romiplostim como Eltrombopag pueden promover la producción de plaquetas, aunque de forma no exactamente similar. Romiplostim compite con la TPO endógena sobre el mismo sitio de unión del receptor y activa las rutas de transmisión de señal JAK-STAT, PI3K-AKT y MAPK. A diferencia de la TPO endógena y de Romiplostim, Eltrombopag se une a un dominio diferente del receptor (acción aditiva con la TPO endógena), activa de forma más lenta y reducida la ruta de AKT y es un activador mucho menos potente de las rutas JAK-STAT, favoreciendo el incremento de recuento plaquetario sin provocar la activación plaquetaria inducida por TPO o Romiplostim.

Adicionalmente a su importante efecto en la megacariopoyesis, cada vez surgen más datos que apuntan a que los agonistas del receptor de TPO poseen una actividad inmunomoduladora. Como es bien conocido, en la PTI, se produce una disregulación generalizada inmune con un desplazamiento de respuesta inmune a Th1 y posiblemente Th17 junto con una alteración del compartimento regulador. De forma interesante, varios tratamientos que incluyen el uso de agentes trombopoyéticos parecen asociarse con mejorías en el compartimento regulador⁷. Además, APRIL, un factor plasmático que promueve la proliferación y supervivencia de células B, cuyos niveles se encuentran elevados en pacientes con PTI, reduce de forma sustancial su concentración exclusivamente tras tratamiento con agonistas de TPO, y no con inmunoglobulinas⁸. Modelos animales también muestran que el tratamiento con TPO induce además de la recuperación de las cifras de plaquetas, una supresión completa de la producción de autoanticuerpos y de respuestas de células T a antígenos plaquetarios, promoviendo asimismo la generación de células Tregs al igual que un incremento en los niveles circulantes de TGF- β ⁹.

Un efecto adicional de Eltrombopag distinto a la estimulación de la producción plaquetaria es la inhibición de la proliferación de células leucémicas, tanto en líneas celulares humanas y murinas como en modelos animales de ratones¹⁰. Puesto que Eltrombopag es específico de especie y solamente se une al receptor de TPO en células de humanos y de primates, estos hallazgos antileucémicos y antiproliferativos son independiente del receptor de TPO y están mediados por la capacidad de esta molécula de reducir los niveles intracelulares de hierro, favoreciendo la diferenciación celular. Además, Eltrombopag parece sensibilizar a las células leucémicas al efecto antiproliferativo tanto de los citostáticos¹⁰ como de la lenalidomida¹¹ ejerciendo un efecto sinérgico, a la vez que revierte el efecto antimegacariocítico de estos agentes.

Empleo de agonistas del receptor de trombopoyetina en patologías diferentes a la PTI

Eltrombopag en hepatitis C

La aprobación de Eltrombopag para pacientes con hepatitis C para el inicio/mantenimiento de peginterferon/ribavirina se ha basado en dos estudios de fase III aleatorizados con placebo que incluyen a más de 1.500 pacientes (ENABLE 1 y 2)¹². Los ensayos mostraron que, a diferencia del placebo, el tratamiento con Eltrombopag no requiere una disminución de dosis de antivirales por la trombopenia frecuentemente asociada a estos pacientes, lo que repercute en mejores respuestas

viroológicas (aunque el beneficio frente a placebo es marginal y menor del 10%). No obstante, los pacientes tratados con el agonista de TPO presentaron una tasa más elevada de eventos hepatobiliares que podían causar descompensación hepática (13% vs 6% en placebo) y también de complicaciones tromboembólicas venosas y arteriales, siendo la trombosis venosa portal un hecho frecuente (4% vs < 1% con placebo). Por ello, hay que sopesar el balance riesgo/beneficio en el tratamiento de estos pacientes, y existe una advertencia en la ficha de riesgo de hepatotoxicidad y de eventos trombóticos.

Cuando se diseñaron y llevaron a cabo los estudios pivotaes de Eltrombopag en pacientes con hepatitis C, no se disponía todavía de los nuevos agentes antivirales de acción directa (p. ej., regímenes que incluyan boceprevir o telaprevir), que actualmente constituyen la elección para el tratamiento de la mayor parte de pacientes con hepatitis C. Estudios clínicos farmacológicos recientes que evalúan la potencial interacción entre Eltrombopag e inhibidores de proteasas del virus de la hepatitis C parecen indicar que estos agentes podrían ser empleados de forma conjunta¹³, aunque hay que tener presente que la combinación de agonistas del receptor de TPO con antivirales de acción directa no está aprobada.

Eltrombopag en aplasia medular

Como es conocido, el tratamiento de la aplasia medular severa de los pacientes a los que no se les puede ofrecer un trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos consiste en terapia inmunosupresora con globulina antitimocítica y ciclosporina. Sin embargo, un porcentaje importante de enfermos no responde a este tipo de terapia. Los estudios previos han mostrado que la adición a este esquema de citocinas como el G-CSF o la eritropoyetina no han mejorado los resultados clínico-biológicos. Un estudio de fase I/II de Eltrombopag en 25 pacientes con enfermedad refractaria a inmunosupresión¹⁴ que fue posteriormente ampliado a 43 enfermos¹⁵ mostró respuesta hematológica en al menos una línea hematopoyética, incluyendo algunas bilineales y otras trilineales en el 40% de los pacientes a los 3-4 meses. Durante el tratamiento a largo plazo de los respondedores, cerca de la mitad alcanzaron respuestas trilineales, y un 29% de los respondedores mantuvieron los recuentos hematológicos tras la retirada del fármaco. El agonista de la TPO parecía estimular la expansión clonal de las células con anomalías citogenéticas, ya que el 19% de los pacientes tratados desarrollaron anomalías citogenéticas clonales, más frecuentemente anomalías del cromosoma 7, que se asocian a alto riesgo de transformación a SMD o a leucemia aguda. Sin embargo, solo una cuarta parte de los pacientes con evolución clonal mostraron cambios displásicos (diseritropoyesis leve). Aunque, como se ha comentado, la FDA (pero no la EMA) ha autorizado el empleo de Eltrombopag en este contexto, hasta el momento solo un pequeño número de pacientes ha sido tratado en ensayos clínicos controlados, y es precisa más información para determinar si hay un incremento de riesgo de displasia o de leucemia aguda con el empleo de Eltrombopag en este contexto.

Romiplostim y eltrombopag en síndrome mielodisplásico

La trombocitopenia es un problema clínico frecuente en pacientes con SMD, que puede reducir la tasa de supervivencia, retrasar el tratamiento y afectar a la calidad de vida de los pacientes. Los ensayos clínicos de agonistas del receptor de TPO, como de otros agentes en

SMD, encuentran las dificultades particulares de esta población de pacientes, debidas a la heterogeneidad de esta patología, enfermos generalmente ancianos y frágiles, biología de la enfermedad no completamente caracterizada y objetivos de tratamiento que son diferentes en los ensayos clínicos.

En general, los ensayos clínicos se encuentran en una situación más avanzada en este contexto con Romiplostim que con Eltrombopag, con el que la experiencia es más limitada. Acerca del empleo de Romiplostim como agente único en pacientes con SMD de bajo riesgo y trombocitopenia, los resultados de dos ensayos de fase II y fase III apoyan un papel para el empleo de altas dosis de Romiplostim subcutáneo en pacientes con SMD de bajo riesgo con predominantemente trombopenia¹⁶. El principal efecto secundario observado en cerca del 15% de pacientes es un incremento en el porcentaje de blastos en médula ósea, lo que parece ocurrir en las primeras semanas del tratamiento, y justifica una monitorización de cerca del paciente durante este periodo. Se ha desarrollado un modelo preliminar y posteriormente validado de pacientes con riesgo IPSS bajo/intermedio-1, en el que los niveles de TPO basales y los requerimientos previos de transfusión de plaquetas contribuyen a un *score* de fallo de respuesta bajo (tasas de respuesta del 65,2% al 73,3%), intermedio o alto (probabilidad de respuesta del 17,4% al 26,7%)¹⁷. Respecto al empleo de Romiplostim en combinación con otros agentes, se han llevado a cabo estudios aleatorizados en pacientes con SMD (bajo o alto riesgo) tratados con los hipometilantes azacitidina o decitabina y también con lenalidomida¹⁸. Los tres estudios publicados incluyeron un número bajo de enfermos, y aunque los resultados sugerían un posible papel para el empleo de Romiplostim en esas situaciones, no constituyeron una demostración definitiva, lo que justifica la realización de estudios confirmatorios en este sentido.

Como se ha comentado, Eltrombopag *in vitro* estimula la producción de megacariocitos normales en cultivos de médula de leucemia aguda y SMD y no parece favorecer la proliferación de blastos, sino que, al contrario, puede disminuir su número¹⁰, lo que debe ser corroborado en estudios adicionales. En la actualidad se está llevando a cabo un estudio de fase II sobre la utilidad de Eltrombopag en monoterapia en pacientes con SMD riesgo bajo/intermedio-1 y plaquetas $< 30 \times 10^9/l$ (EQoL-MDS) que aspira a reclutar a 171 pacientes aleatorizados 2:1 con placebo. El análisis preliminar de 31 pacientes indica que en los pacientes respondedores esta terapia se asocia con mejora en parámetros de calidad de vida, aunque estos resultados no han sido publicados aún. Otros estudios están incluyendo actualmente pacientes para evaluar la respuesta del agente en monoterapia en SMD (NCT00961064), como tratamiento concomitante con lenalidomida (NCT01772420) o con decitabina (NCT02010645). Adicionalmente, se está llevando a cabo un estudio aleatorizado controlado con placebo de fase I/II de pacientes con SMD avanzado/leucemia mieloblástica aguda no candidatos para tratamiento antileucémico. Se han incluido 98 pacientes (n = 64 Eltrombopag, n = 34 placebo), en el que existe una tendencia a menor número de transfusiones de plaquetas, de hemorragias importantes y mejora en la supervivencia global, aunque la mediana de esta era baja para ambos grupos (27 semanas para Eltrombopag, 16 semanas para placebo)¹⁹.

Otros usos potenciales de A-TPO

Aparte de lo comentado en el contexto de PTI, trombopenia asociada a hepatitis C, anemia aplásica y SMD, no hay estudios controlados rele-

vantes que evalúen el uso potencial de Romiplostim o de Eltrombopag en otras patologías que cursen con trombopenia, salvo descripciones de pequeñas series de casos retrospectivos y también ensayos aleatorizados de fase I sobre el empleo profiláctico de estos agentes en pacientes oncológicos que reciben quimioterapia²⁰. En pacientes con cáncer, la trombopenia severa que requiere transfusión de plaquetas es rara (menos del 3% de pacientes), aunque, sin embargo, la reducción de dosis de citostáticos al tratar a estos enfermos es relativamente frecuente, lo que claramente podría repercutir en respuestas clínicas. Puesto que el tiempo requerido por los agentes trombopoyéticos para diferenciar los progenitores hematopoyéticos a megacariocitos que produzcan plaquetas es de 7 a 14 días, deberían emplearse de forma profiláctica en pacientes oncológicos, antes de que la trombopenia se desarrolle. Hay trabajos que sugieren que el empleo profiláctico de agonistas del receptor de la TPO podría reducir el grado y la duración de la trombopenia inducida por quimioterapia. Sin embargo, el impacto a largo plazo que esto puede tener en la supervivencia de pacientes con cáncer no ha sido todavía establecido. Un aspecto tampoco abordado, con base en el papel antiapoptótico de estos agentes, al igual que la trombopoyetina, es su empleo potencial como agente radio y quimio protector y como potenciador del mantenimiento del compartimento de células hematopoyéticas.

Con base en estudios previos con trombopoyetinas recombinantes, es poco probable que los agonistas se asocien a beneficio clínico en el contexto de quimioterapia mieloablativa o trasplante de progenitores hematopoyéticos, lo que supone la mayor parte de indicaciones de concentrados de plaquetas. Para nuevos regímenes de tratamiento de pacientes oncológicos (p. ej., el empleo de bortezomib o lenalidomida) en los que la trombopenia puede ser más marcada, los agentes trombopoyéticos pueden tener un empleo más justificado. En estudios preclínicos en muestras de primarias de pacientes con SMD, cuando Eltrombopag se administra de forma conjunta con lenalidomida, es capaz de revertir los efectos antimegacariocíticos de esta y de potenciar de forma significativa la proliferación de colonias leucémicas¹¹. Este efecto parece ser consecuencia de su mecanismo quelante de hierro, lo que puede conllevar el beneficio clínico adicional de disminuir la cantidad de sobrecarga férrica en pacientes muy transfundidos.

Conclusiones

Los agonistas del receptor de TPO son altamente eficaces en inducir incrementos de recuentos plaquetarios en pacientes con PTI. Aunque se cree que estos agentes fundamentalmente promueven la producción de plaquetas, un pequeño subgrupo de enfermos con PTI exhibe recuentos plaquetarios mantenidos tras la suspensión del fármaco. El mayor conocimiento del mecanismo de acción de estos agentes indica que los agentes trombopoyéticos son capaces de inducir tolerancia inmune a autoantígenos plaquetarios y, por ello, de suprimir la patología autoinmune de la PTI.

Con base en la capacidad de estimulación de la hematopoyesis trilineal independientemente del mero incremento de la megacariopoyesis, recientemente Eltrombopag ha sido aprobado por la FDA para el tratamiento de pacientes con anemia aplásica severa refractarios a terapia inmunosupresora. En ensayos clínicos, tanto Romiplostim como Eltrombopag han mostrado eficacia en promover incrementos de recuentos plaquetarios en enfermos con SMD, tanto como agentes únicos como en asociación con hipometilantes. En la actualidad es objeto de debate si el incremento transitorio del número de blastos

observado en enfermos con SMD tratados con Romiplostim realmente se correlaciona con la transformación a leucemia. Adicionalmente a los efectos antileucémicos de Eltrombopag, que hasta el momento han sido establecidos exclusivamente en ensayos preclínicos, habría que añadir la de que es un agente con capacidad potencialmente de quelar el exceso de hierro.

Actualmente, existe un gran interés en investigar el papel de estos agentes empleados de forma profiláctica en evitar o reducir la trombopenia asociada a tratamientos quimio o radioterápicos, al igual que en explorar el efecto protector de la reserva medular en pacientes que reciban estas terapias y en analizar la sinergia existente con otros fármacos con funciones antiproliferativas. Es esencial que esta potencial expansión en el acceso a estos tratamientos por parte de los enfermos se acompañe de una evaluación detallada de los mecanismos de acción de estos potentes agentes estimuladores de la trombopoyesis y de ensayos clínicos que corroboren los efectos biológicos.

Bibliografía

1. Kuter DJ, Goodnough LT, Romo J, DiPersio J, Peterson R, Tomita D, et al. Thrombopoietin therapy increases platelet yields in healthy platelet donors. *Blood* 2001;98:1339-45.
2. Kuter DJ, Bussel JB, Lyons RM, Pullarkat V, Gernsheimer TB, Senecal FM, et al. Efficacy of romiplostim in patients with chronic immune thrombocytopenic purpura: a double-blind randomized controlled trial. *Lancet* 2008;371:395-403.
3. Bussel JB, Provan D, Shamsi T, Cheng G, Psaila B, Kovaleva L, et al. Effect of eltrombopag on platelet counts and bleeding during treatment of chronic idiopathic thrombocytopenic purpura: a randomized, double blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2009;373:641-8.
4. Kuter DJ, Begley CG. Recombinant human thrombopoietin: basic biology and evaluation of clinical studies. *Blood* 2002;100:3457-69.
5. Grozovsky R, Begonja AJ, Liu K, Visner G, Hartwig JH, Falet H, et al. The Ashwell-Morell receptor regulates hepatic thrombopoietin production via JAK2-STAT3 signaling. *Nat Med* 2015;21:47-54.
6. Kuter DJ. The biology of thrombopoietin and thrombopoietin receptor agonists. *Int J Hematol.* 2013;98:10-23.
7. Bao W, Bussel JB, Heck S, He W, Karpoff M, Boulard N, et al. Improved regulatory T-cell activity in patients with chronic immune thrombocytopenia treated with thrombopoietic agents. *Blood* 2010;116:4639-45.
8. Álvarez Román MT, Fernández Bello I, Arias-Salgado EG, de Paz R, Jiménez Yuste V, Martín Salces M, et al. Effect of thrombopoietin-receptor agonists on a proliferation-inducing ligand (APRIL) plasma levels in patients with immune thrombocytopenia. *Br J Clin Pharmacol* 2014;78:674-6.
9. Nishimoto T, Numajiri M, Nakazaki H, Okazaki Y, Kuwana M. Induction of immune tolerance to platelet antigen by short-term thrombopoietin treatment in a mouse model of immune thrombocytopenia. *Int J Hematol* 2014;100:341-4.
10. Roth M, Will B, Simkin G, Narayanagari S, Barreyro L, Bartholdy B, et al. Eltrombopag inhibits the proliferation of leukemia cells via reduction of intracellular iron and induction of differentiation. *Blood* 2012;120:386-94.
11. Tamari R, Schinke C, Bhagat T, Roth M, Braunschweig I, Will B, et al. Eltrombopag can overcome the anti-megakaryopoietic effects of lenalidomide without increasing proliferation of the malignant myelodysplastic syndrome/acute myelogenous leukemia clone. *Leuk Lymphoma* 2014;55:2901-6.
12. Afdhal NH, Dusheiko GM, Giannini EG, Chen PJ, Han KH, Mohsin A, et al. Eltrombopag increases platelet numbers in thrombocytopenic patients with HCV infection and cirrhosis, allowing for effective antiviral therapy. *Gastroenterology* 2014;146:442-52.
13. Wire MB, Fang L, Hussaini A, Kleha JF, Theodore D. Lack of clinically significant pharmacokinetic interaction between the thrombopoietin receptor agonist eltrombopag and hepatitis C virus protease inhibitors boceprevir and telaprevir. *Antimicrob Agents Chemother* 2014;58:6704-9.
14. Olnes MJ, Scheinberg P, Calvo KR, Desmond R, Tang Y, Dumitriu B, et al. Eltrombopag and improved hematopoiesis in refractory aplastic anemia. *N Engl J Med* 2012;367:11-9.
15. Desmond R, Townsley DM, Dumitriu B, Olnes MJ, Scheinberg P, Bevans M, et al. Eltrombopag restores trilineage hematopoiesis in refractory severe aplastic anemia that can be sustained on discontinuation of drug. *Blood* 2014;123:1818-25.
16. Sekeres MA, Kantarjian H, Fenaux P, Becker P, Boruchov A, Guerci-Bresler A, et al. Subcutaneous or intravenous administration of romiplostim in thrombocytopenic patients with lower risk myelodysplastic syndromes. *Cancer* 2011;117:992-1000.
17. Giagounidis A, Mufti GJ, Fenaux P, Sekeres MA, Szer J, Platzbecker U, et al. Results of a randomized, double-blind study of romiplostim versus placebo in patients with low/intermediate-1-risk myelodysplastic syndrome and thrombocytopenia. *Cancer* 2014;120:1838-46.
18. Sekeres MA, Giagounidis A, Kantarjian H, Mufti GJ, Fenaux P, Jia C, et al. Development and validation of a model to predict platelet response to romiplostim in patients with lower-risk myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol* 2014;167:337-45.
19. Santini V, Fenaux P. Treatment of myelodysplastic syndrome with thrombopoietic drugs. *Semin Hematol* 2015;52:38-45.
20. Mavroudi I, Pyrovolaki K, Pavlaki K, Kozana A, Psyllaki M, Kalpadakis C, et al. Effect of the nonpeptide thrombopoietin receptor agonist eltrombopag on megakaryopoiesis of patients with lower risk myelodysplastic syndrome. *Leuk Res* 2011;35:323-8.

Ampliando horizontes en tratamiento antitrombótico

COORDINADORES: R. Lecumberri Villamediana. Servicio de Hematología y Hemoterapia. Clínica Universidad de Navarra. Pamplona
P. Marco Vera. Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital General Universitario. Alicante

En los últimos años hemos sido testigos de importantes avances en el campo del tratamiento antitrombótico, particularmente la incorporación de los anticoagulantes orales de acción directa (ACOD). Los ensayos clínicos realizados han puesto de manifiesto de forma consistente una menor incidencia de complicaciones hemorrágicas con ACOD en comparación con los antagonistas de la vitamina K. Sin embargo, a pesar de esa reducción, la incidencia de estas complicaciones continúa siendo un importante problema para clínicos y pacientes.

En consecuencia, se deben seguir realizando esfuerzos en dos direcciones:

1. Identificación de nuevas dianas terapéuticas que permitan la síntesis de nuevas moléculas con acción antitrombótica pero con mínimo efecto hemorrágico.
2. Optimizar la utilización de los fármacos actualmente disponibles para mejorar su perfil de eficacia/seguridad.

Con respecto al primer punto, en este simposio, el Dr. José Hermida, del Centro de Investigación Médica Aplicada de la Universidad de Navarra, presentará interesantes resultados obtenidos en su laboratorio con la inducción de la expresión de *heat shock protein-70*. Por su parte, el Dr. Thomas Renné, del Instituto Karolinska de Estocolmo (Suecia), abordará la inhibición del sistema de contacto, en particular del factor XII, como una estrategia potencialmente útil en patología trombótica e inflamatoria, sin interferir en la funcionalidad de la hemostasia.

Con respecto al segundo punto, el Dr. David Jiménez, del Hospital Universitario Ramón y Cajal (Madrid) describirá las indicaciones actuales del tratamiento fibrinolítico en la embolia de pulmón, a la luz de los últimos estudios clínicos, así como las perspectivas de futuro que podrían mejorar los resultados. Finalmente, el Dr. Manuel Monreal, del Hospital Universitario Germans Trias i Pujol (Badalona), ofrecerá interesantes datos de utilización de los ACOD en condiciones de práctica clínica habitual, que permitirán extraer conclusiones dirigidas a un mejor uso de estos.

Tratamiento fibrinolítico de la embolia pulmonar

D. Barrios¹, D. Jiménez^{1,2}

¹Servicio de Neumología. Hospital Universitario Ramón y Cajal. IRYCIS, Madrid. ²Departamento de Medicina. Universidad de Alcalá. Madrid

Introducción

La terapia estándar para los pacientes con tromboembolia pulmonar (TEP) aguda consiste en la anticoagulación con heparina de bajo peso molecular, heparina no fraccionada (HNF), fondaparinux o un anticoagulante oral de acción directa (p. ej., rivaroxaban, apixaban, dabigatran o edoxaban). La anticoagulación evita la progresión del trombo y las recurrencias trombóticas, pero es el sistema fibrinolítico endógeno el que lisa dicho trombo y resuelve la obstrucción vascular.

Tratamiento trombolítico para la TEP de alto riesgo

El tratamiento trombolítico acelera la lisis del coágulo cuando se compara con el tratamiento con HNF, aunque no hay diferencias en la trombosis residual después de 5 a 7 días. El análisis de un subgrupo de pacientes del ensayo UPET, que comparó urocinasa seguida de heparina o heparina solamente, demostró que el tratamiento fibrinolítico disminuye la mortalidad en pacientes con shock secundaria a TEP de alto riesgo. Solo se ha publicado un ensayo clínico aleatorizado que haya demostrado el beneficio de la fibrinólisis respecto a la heparina en términos de supervivencia en la TEP de alto riesgo. Jerjes-Sánchez et al. aleatorizaron ocho pacientes con sospecha clínica de TEP de alto riesgo a tratamiento con estreptocinasa o a tratamiento anticoagulante convencional con heparina. El ensayo fue detenido porque los cuatro pacientes que recibieron heparina fallecieron, mientras que los cuatro que recibieron estreptocinasa sobrevivieron. Sin embargo, no se evidenció este beneficio en la supervivencia en el metaanálisis de Wan et al., cuando se analizaron los cinco ensayos que incluyeron pacientes con TEP grave. El tratamiento fibrinolítico tampoco demostró un beneficio estadísticamente significativo en la supervivencia en un subgrupo de 1.112 pacientes inestables hemodinámicamente del registro internacional RIETE. A pesar de la falta de evidencia de alta calidad, se recomienda el uso de la fibrinólisis en pacientes con TEP de alto riesgo si no hay contraindicaciones para su uso.

Tratamiento trombolítico para la TEP de riesgo intermedio

Los pacientes con estabilidad hemodinámica representan más del 95% de los pacientes con TEP. La mortalidad a corto plazo de estos pacientes es baja, sobre todo cuando la anticoagulación se inicia precozmente. Sin embargo, los pacientes hemodinámicamente estables con disfunción de ventrículo derecho (VD) o con positividad en la determinación de troponinas presentan una mortalidad intermedia que puede llegar hasta el 15%. El ensayo clínico PEITHO evaluó el beneficio clínico de tenecteplasa en los pacientes con TEP de riesgo intermedio. En este ensayo, un total de 1.006 pacientes normotensos con

evidencia de disfunción de VD en la ecocardiografía o en la tomografía computarizada y positividad en la determinación de troponinas fueron aleatorizados a recibir tenecteplasa o placebo, añadido al tratamiento anticoagulante con heparina. El ensayo no detectó un beneficio en términos de mortalidad en favor del tratamiento fibrinolítico (2,4% vs. 3,2%, respectivamente) durante los primeros 7 días después de la aleatorización. Aunque no se recomienda de rutina, la decisión de utilizar tratamiento trombolítico en este grupo de pacientes dependerá de su riesgo de sangrado y de la gravedad del cuadro clínico.

Perspectivas futuras

Debido al desequilibrio entre el beneficio clínico y el riesgo hemorrágico de la trombólisis, se han propuesto algunas estrategias alternativas. Entre estas, cabe destacar el uso de dosis reducidas de fibrinolíticos y la administración del fármaco fibrinolítico de forma local y potenciada por la administración concomitante de ultrasonidos.

Dosis reducidas

El tropismo del tratamiento trombolítico sobre la circulación pulmonar permite hipotetizar que el empleo de dosis reducidas podría ejercer el mismo efecto beneficioso en la lisis del coágulo que las dosis completas, y una disminución del riesgo hemorrágico asociado a dicho tratamiento. En el ensayo MOPETT, 121 pacientes con TEP moderada fueron aleatorizados a recibir alteplasa a dosis de 50 mg vs. placebo sobre el tratamiento anticoagulante con heparina. No se detectó ningún sangrado mayor en ninguno de los grupos. Además, el grupo que recibió alteplasa a dosis reducidas presentó una disminución significativa de la variable combinada de mortalidad y TEP recurrente.

Fibrinólisis potenciada por ultrasonidos

La técnica de la fibrinólisis potenciada por ultrasonidos ha sido evaluada en el reciente ensayo multicéntrico ULTIMA, donde 59 pacientes fueron aleatorizados a recibir anticoagulación estándar vs anticoagulación y fibrinólisis acelerada por ultrasonidos mediante el sistema EkoSonic. Los pacientes que recibieron la fibrinólisis acelerada por ultrasonidos presentaron una reducción del cociente VD/ventrículo izquierdo de $1,28 \pm 0,19$ a $0,99 \pm 0,17$ a las 24 h ($p < 0,001$), mientras que no hubo mejoría significativa en el grupo control. Además, esta mejoría se mantuvo a los 90 días de seguimiento. No se produjo ningún sangrado mayor en los dos grupos del estudio. Una reciente revisión sistemática sobre el uso de esta técnica incluyó 197 pacientes. En esta revisión se evidencia una mejoría de diferentes parámetros hemodinámicos, con un bajo riesgo de sangrado mayor asociado (3,6%).

Bibliografía

1. Goldhaber SZ, Haire WD, Feldstein ML, Miller M, Toltzis R, Smith JL, et al. Alteplase versus heparin in acute pulmonary embolism: randomised trial assessing right-ventricular function and pulmonary perfusion. *Lancet* 1993;341:507-11.
2. Meyer, G, Vicaut E, Danays T, Agnelli G, Becattini C, Beyer-Westendorf J, et al.; for the PEITHO Investigators. Fibrinolysis for patients with intermediate-risk pulmonary embolism. *N Engl J Med* 2014;370:1402-11.
3. Chatterjee S, Chakraborty A, Weinberg I, Kadakia M, Wilensky RL, Sardar P, et al. Thrombolysis for pulmonary embolism and risk of all-cause mortality, major bleeding, and intracranial hemorrhage: a meta-analysis. *JAMA* 2014;311:2414-21.
4. Sharifi M, Bay C, Skrocki L, Rahimi F, Mehdipour M; "MOPETT" Investigators. Moderate pulmonary embolism treated with thrombolysis (from the "MOPETT" Trial). *Am J Cardiol* 2013;111:273-7.
5. Kucher N, Boekstegers P, Muller OJ, Kupatt C, Beyer-Westendorf J, Heitzer T, et al. Randomized, controlled trial of ultrasound-assisted catheter-directed thrombolysis for acute intermediate-risk pulmonary embolism. *Circulation* 2014;129:479-86.

Potencial antitrombótico de la inducción de *heat shock proteins*

J. Hermida, M. Allende, E. Molina

Área de Ciencias Cardiovasculares. Laboratorio de Hemostasia y Trombosis. Centro de Investigación Médica Aplicada. Universidad de Navarra. Pamplona

Introducción

Las enfermedades vasculares son la primera causa de muerte en España (<http://www.ine.es/>). Además, son la primera causa de invalidez permanente. La edad es un factor que se asocia con estas enfermedades, por lo que es previsible un aumento muy importante en su incidencia y prevalencia en el futuro próximo. Las enfermedades vasculares relacionadas con la trombosis arterial se tratan fundamentalmente con fármacos antiplaquetarios, y las enfermedades relacionadas con la trombosis venosa y el infarto cerebral cardioembólico, con fármacos anticoagulantes. El origen del émbolo en los infartos cardioembólicos suele estar en la aurícula izquierda y su causa más frecuente es la fibrilación auricular (FA)¹ y es esta la indicación más importante de los fármacos anticoagulantes.

Tratamiento anticoagulante para prevenir el infarto cardioembólico y sus complicaciones hemorrágicas

El tratamiento de elección para prevenir el infarto cardioembólico en pacientes con FA es el uso de anticoagulantes orales clásicos (acenoacumarol, warfarina) o nuevos (dabigatran, rivaroxaban, etc.). Este tratamiento reduce el riesgo de ictus al menos un 60%^{2,3}. Sin embargo, la hemorragia es un efecto secundario frecuente y grave de los anticoagulantes orales, lo que motiva que estén incluidos dentro del grupo de fármacos más tóxicos y que más defunciones producen⁴. El problema de las hemorragias sigue siendo grave incluso con los nuevos anticoagulantes a los que hemos aludido: aunque se asocian con menos hemorragias cerebrales que los clásicos, siguen acarreado una tasa de hemorragias mayores muy similares a las de estos (4,9% y 5,5%, respectivamente) y una tasa muy elevada de hemorragias clínicamente relevantes (en torno al 20%)⁵. Debido a esto, se renuncia con frecuencia al empleo de anticoagulantes orales en pacientes con FA y alto riesgo de infarto cerebral⁶⁻⁸, lo que conlleva una tasa de infarto cardioembólico muy elevado entre estos pacientes.

Otro problema clínicamente relevante es que el 30% de los pacientes con FA que están anticoagulados deben recibir, además, tratamiento antiagregante por alguna enfermedad cardíaca, lo que aumenta sustancialmente el riesgo hemorrágico de estos pacientes^{9,10}.

Finalmente, los pacientes anticoagulados por FA necesitan con mucha frecuencia interrumpir temporalmente la anticoagulación oral: sucede en un tercio de los pacientes y se debe a un procedimiento invasivo o quirúrgico, o a la aparición de un episodio hemorrágico. Dicha interrupción se asocia con un aumento en el riesgo de padecer ictus y hemorragias¹¹.

Además, recientemente se ha comprobado que, en el caso de los pacientes con insuficiencia renal terminal, los nuevos anticoagulantes producen incluso más hemorragias que la warfarina, lo que subraya la necesidad de encontrar nuevos antitrombóticos que sean más seguros que los actualmente disponibles¹².

Búsqueda de anticoagulantes con riesgo hemorrágico mínimo

A la vista de los efectos hemorrágicos graves y frecuentes asociados a los anticoagulantes orales actualmente disponibles, existe la necesidad de identificar nuevas dianas terapéuticas para diseñar fármacos que sean capaces de ejercer un efecto antitrombótico sin aumentar necesariamente el riesgo hemorrágico. En los últimos años se han identificado una serie de dianas que podrían cumplir este requisito.

Los factores XII y XI son esenciales en el desarrollo de la trombosis, al menos en ratones, en los que la deficiencia genética de estos factores los protege de la trombosis¹³. Sin embargo, parecen tener un papel menor o nulo en la hemostasia, como lo demuestra el hecho de que los pacientes con déficit de alguno de estos factores no presenten tendencia hemorrágica o esta tendencia sea muy leve. A la vista de estos resultados se han diseñado en los últimos años inhibidores de los factores XII y XI, que interfieren con la trombosis y abren la perspectiva de nuevos anticoagulantes bien tolerados, con pocos efectos hemorrágicos. Entre las diferentes estrategias destaca una muy prometedora: la inhibición de la transcripción del factor XI mediante un oligonucleótido antisentido: FXI-ASO (ISIS 416858). Los resultados de un ensayo de fase I sugieren que la administración de FXI-ASO a pacientes sometidos a artroplastia de rodilla es un eficaz antitrombótico con bajo riesgo hemorrágico¹⁴. Además, recientemente se ha demostrado que los polifosfatos son un poderoso activador del factor XII y se han diseñado moléculas pequeñas que los bloquean y pueden tener un interesante efecto antitrombótico¹⁵.

En los últimos años se han identificado moléculas, aparentemente poco relacionadas con el sistema de la coagulación, cuya inhibición protege a los animales de experimentación de padecer una trombosis sin aumentar necesariamente el riesgo de hemorragia. Entre estas moléculas destaca particularmente la peptidilarginina desaminasa 4 (PAD4). Las *neutrophil extracellular traps* (NET), que resultan de la liberación de cromatina descondensada por parte de los neutrófilos, forman parte de la estructura de los trombos y promueven la coagulación y la trombosis^{16,17}. La PAD4 es una enzima clave en la descondensación de la cromatina al citrunilar las histonas. El déficit de esta enzima en animales los protege de la trombosis sin aumentar la tendencia hemorrágica, por lo que se piensa que su inhibición farmacológica puede tener interés como medida antitrombótica¹⁸.

La regulación de la *heat shock protein-70* como nueva estrategia antitrombótica sin riesgo hemorrágico

Recientemente, se ha observado que un aumento transitorio de la temperatura corporal, maniobra que induce la expresión de *heat shock protein-70* (hsp-70), tiene efecto antitrombótico en ratas¹⁹. En relación

con estos resultados, nosotros hemos encontrado que los pacientes con ictus cardioembólico tienen niveles de expresión más bajos de hsp-70 que los pacientes con FA sin ictus. La hsp-70 es una proteína chaperona de localización citoplasmática, presente en prácticamente todos los tipos celulares y codificada por los genes *HSPA1A* y *HSPA1B*. También hemos comprobado que los ratones *knock-out* (KO) de hsp-70 poseen una susceptibilidad muy alta a la trombosis, aunque aparentemente no presentan alterado el sistema de la coagulación. En esta misma línea, la administración a ratones de un compuesto inductor de la expresión de hsp-70 los protege frente a la trombosis sin alterar la hemostasia ni aumentar las hemorragias en estos animales.

La regulación de la expresión de hsp-70 depende fundamentalmente del factor de transcripción *heat shock factor 1* (HSF1), que reconoce una secuencia específica en el promotor de los genes que codifican hsp-70 y activa así su transcripción²⁰. Los mecanismos de regulación de la actividad de HSF1 incluyen su fosforilación, sumoilación y acetilación. El mecanismo que puede tener más interés para su regulación farmacológica es la regulación realizada a través de la liberación de HSF1 de su unión a *heat shock protein-90* (hsp-90) que permite, de esta manera, que trimerice (el trímero es la forma activa)²⁰. Esto se puede conseguir de dos maneras: a) mediante la inhibición de la unión de ATP a hsp-90. La inhibición del sitio de unión de ATP a hsp-90 libera HSF1, que entonces trimeriza y puede realizar su misión de factor de transcripción induciendo hsp-70²¹, y b) inhibición de la histona desacetilasa 6 (HDAC6). La enzima HDAC6 es responsable de la desacetilación de hsp-90. Si se inhibe su actividad, aumenta la acetilación de hsp-90 y se libera HSF1, que trimeriza y realiza su actividad transcripcional²². Los resultados preliminares de nuestro laboratorio sugieren que las moléculas inhibitoras de HDAC6 tienen importante efecto antitrombótico sin alterar aparentemente la hemostasia.

Conclusión

La búsqueda de nuevas dianas terapéuticas para el diseño de fármacos antitrombóticos con mínimo efecto hemorrágico está justificada por la elevada tasa de hemorragias que presentan los fármacos actualmente disponibles. En este sentido, los inductores de la expresión de hsp-70 se perfilan como moléculas antitrombóticas muy prometedoras.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos del Instituto de Salud Carlos III (PI08/1349, PI11/01458 y RD12/0042/0009), el Departamento de Salud del Gobierno de Navarra (2008), el Departamento de Salud del Gobierno de Navarra (15/09), la Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia (2010) y MCYT ERANET-NEURON "PROTEA" PRI-PIMNEU-2011-1334.

Bibliografía

1. Ferro JM. Cardioembolic stroke: an update. *Lancet Neurol* 2003;2:177-88.
2. Fuster V, Ryden LE, Cannon DS, Crijs HJ, Curtis AB, Ellenbogen KA, et al. ACC/AHA/ESC 2006 Guidelines for the Management of Patients with Atrial Fibrillation: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and the European Society of Cardiology Committee for Practice Guidelines (Writing Committee to Revise the 2001 Guidelines for the Management of Patients With Atrial Fibrillation): developed in collaboration with the European Heart Rhythm Association and the Heart Rhythm Society. *Circulation* 2006;114:e257-354.
3. Connolly SJ, Ezekowitz MD, Yusuf S, Eikelboom J, Oldgren J, Parekh A, et al. Dabigatran versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *N Engl J Med*. 2009;361:1139-51.
4. Wysowski DK, Nourjah P, Swartz L. Bleeding complications with warfarin use: a prevalent adverse effect resulting in regulatory action. *Arch Intern Med* 2007;167:1414-9.
5. Dentali F, Riva N, Crowther M, Turpie AG, Lip GY, Ageno W. Efficacy and safety of the novel oral anticoagulants in atrial fibrillation: a systematic review and meta-analysis of the literature. *Circulation* 2012;126:2381-91.
6. Sudlow M, Thomson R, Thwaites B, Rodgers H, Kenny RA. Prevalence of atrial fibrillation and eligibility for anticoagulants in the community. *Lancet* 1998;352:1167-71.
7. Hylek EM, Evans-Molina C, Shea C, Henault LE, Regan S. Major hemorrhage and tolerability of warfarin in the first year of therapy among elderly patients with atrial fibrillation. *Circulation* 2007;115:2689-96.
8. Flaherty ML, Kissela B, Woo D, Kleindorfer D, Alwell K, Sekar P, et al. The increasing incidence of anticoagulant-associated intracerebral hemorrhage. *Neurology* 2007;68:116-21.
9. Steinberg BA, Kim S, Piccini JP, Fonarow GC, Lopes RD, Thomas L, et al. Use and associated risks of concomitant aspirin therapy with oral anticoagulation in patients with atrial fibrillation: insights from the Outcomes Registry for Better Informed Treatment of Atrial Fibrillation (ORBIT-AF) Registry. *Circulation* 2013;128:721-8.
10. Dans AL, Connolly SJ, Wallentin L, Yang S, Nakamya J, Brueckmann M, et al. Concomitant use of antiplatelet therapy with dabigatran or warfarin in the Randomized Evaluation of Long-Term Anticoagulation Therapy (RE-LY) trial. *Circulation* 2013;127:634-40.
11. Sherwood MW, Douketis JD, Patel MR, Piccini JP, Hellkamp AS, Lokhnygina Y, et al. Outcomes of temporary interruption of rivaroxaban compared with warfarin in patients with nonvalvular atrial fibrillation: results from the rivaroxaban once daily, oral, direct factor Xa inhibition compared with vitamin K antagonism for prevention of stroke and embolism trial in atrial fibrillation (ROCKET AF). *Circulation* 2014;129:1850-9.
12. Chan KE, Edelman ER, Wenger JB, Thadhani RI, Maddux FW. Dabigatran and rivaroxaban use in atrial fibrillation patients on hemodialysis. *Circulation* 2015;131:972-9.
13. Kleinschnitz C, Stoll G, Bendszus M, Schuh K, Pauer HU, Burfeind P, et al. Targeting coagulation factor XII provides protection from pathological thrombosis in cerebral ischemia without interfering with hemostasis. *J Exp Med* 2006;203:513-8.
14. Buller HR, Bethune C, Bhanot S, Gailani D, Monia BP, Raskob GE, et al. Factor XI antisense oligonucleotide for prevention of venous thrombosis. *N Engl J Med* 2015;372:232-40.
15. Smith SA, Choi SH, Collins JN, Travers RJ, Cooley BC, Morrissey JH. Inhibition of polyphosphate as a novel strategy for preventing thrombosis and inflammation. *Blood* 2012;120:5103-10.
16. Von Bruhl ML, Stark K, Steinhart A, Chandraratne S, Konrad I, Lorenz M, et al. Monocytes, neutrophils, and platelets cooperate to initiate and propagate venous thrombosis in mice in vivo. *J Exp Med* 2012;209:819-35.
17. Fuchs TA, Brill A, Wagner DD. Neutrophil extracellular trap (NET) impact on deep vein thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012;32:1777-83.
18. Martinod K, Demers M, Fuchs TA, Wong SL, Brill A, Gallant M, et al. Neutrophil histone modification by peptidylarginine deiminase 4 is critical for deep vein thrombosis in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013;110(21):8674-9.
19. Li PC, Yang CC, Hsu SP, Chien CT. Repetitive progressive thermal preconditioning hinders thrombosis by reinforcing phosphatidylinositol 3-kinase/Akt-dependent heat-shock protein/endothelial nitric oxide synthase signaling. *J Vasc Surg* 2012;56:159-70.
20. Ankar J, Sistonen L. Regulation of HSF1 function in the heat stress response: implications in aging and disease. *Annu Rev Biochem* 2011;80:1089-115.
21. Neckers L, Workman P. Hsp90 molecular chaperone inhibitors: are we there yet? *Clin Cancer Res* 2012;18:64-76.
22. Kastle M, Woschke E, Grune T. Histone deacetylase 6 (HDAC6) plays a crucial role in p38MAPK-dependent induction of heme oxygenase-1 (HO-1) in response to proteasome inhibition. *Free Radic Biol Med* 2012;53:2092-101.

Inhibition of factor XII: A novel strategy for antithrombosis

T. Renné

Karolinska Institute, Stockholm, Sweden and University Medical Center, Hamburg, Germany

Combinations of proinflammatory and procoagulant reactions are the unifying principle for a variety of disorders affecting the cardiovascular system. Factor XII (FXII, Hageman factor) is a plasma serine protease that initiates the contact system. This system starts a cascade of procoagulant and proinflammatory reactions via the intrinsic pathway of coagulation, and the bradykinin producing kallikrein-kinin system, respectively. The biochemistry of the contact system *in vitro* is well understood, however its *in vivo* functions are just beginning to emerge. This presentation will summarize roles of the FXII-driven contact system *in vivo*.

Genetically altered mice and large animal models have shown that FXII is essential for thrombus formation while being dispensable for hemostatic processes that terminate blood loss. Challenging the dogma of a coagulation balance, targeting FXII protected from cerebral ische-

mia and ischemic heart disease without interfering with hemostasis. In contrast, excess FXII activity is associated with a life threatening inflammatory disorder, hereditary angioedema. Platelet polyphosphate (an inorganic polymer), neutrophil extracellular traps (NETs) and mast cell heparin activate FXII with implications on the initiation of thrombosis and edema.

A key aspect of the presentation will be the analysis of common principles, regulation and cross-talk of FXII-driven protease cascades in coagulation and inflammation and its therapeutic implications. Targeting FXII proteolytic activity by the recombinant humanized antibody 3F7 interferes with thrombosis and inflammation in cardiopulmonary bypass system without increasing bleeding risk. Elucidating the FXII-driven contact system offers the exciting opportunity to develop strategies for safe interference with both thrombotic and inflammatory diseases.

Sesión Plenaria

Coordinadores:

José M.^a Moraleda Jiménez

Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia

Vicente Vicente García

Servicios de Hematología y Oncología Médica. Hospital General Universitario Morales Meseguer. Murcia

Josep María Ribera Santasusana

Servicio de Hematología. ICO. Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona (Barcelona)

José Antonio Páramo Fernández

Servicios de Hematología y Oncología Médica. Hospital General Universitario Morales Meseguer. Murcia. Centro Regional de Hemodonación. Murcia

SP-001 Utilidad de la “next generation sequencing” en la optimización del diagnóstico de las anemias hemolíticas congénitas

Del Orbe Barreto R. (1), Arrizabalaga B. (2), de la Hoz A.B. (1), Tejada I. (2), Aragües P. (2), Silva C. (3), Almeida H. (3), Fidalgo T. (3), Bento C. (3), Manco L. (3), García Ruiz J.C. (2), Ribeiro L. (3)

(1) Instituto de Investigación Sanitaria BioCruces. Barakaldo, Vizcaya. España.

(2) Hospital Universitario Cruces. Barakaldo, Vizcaya. España. (3) Centro

Hospitalar e Universitário de Coimbra. Portugal

Introducción: El diagnóstico morfológico y bioquímico de las anemias hemolíticas congénitas puede ser muy complejo y no siempre los laboratorios asistenciales de los Servicios de Hematología disponen de las múltiples técnicas necesarias para llevarse a cabo. El análisis genético constituye el método confirmatorio de estas patologías, sin embargo su alta laboriosidad no ha permitido su implantación en la práctica clínica rutinaria. La secuenciación

masiva en paralelo de genes candidatos supone una alternativa innovadora, accesible y coste efectiva para realizar el abordaje diagnóstico en estas enfermedades.

Objetivo: Diseñar y validar un panel de genes para la implementación de una técnica diagnóstica genética basada en secuenciación masiva para la detección de mutaciones involucradas en la patogénesis de las anemias hemolíticas corpusculares.

Pacientes y métodos: Posterior a realizar una revisión exhaustiva de la literatura publicada hasta la fecha, se diseñó un panel que incluyó 40 genes implicados en anemias hemolíticas secundarias a membranopatías, hemoglobinopatías, déficit enzimáticos, anemias diseritropoyéticas congénitas y microangiopatías trombóticas. El diseño se hizo mediante la utilización de la herramienta informática Ampliseq designer-Life Technologies. Además se incluyeron un 20% de amplicones adicionales en diferentes regiones del genoma (no solapante con los genes incluidos en el panel), con el fin de tener controles internos de normalización de los datos en la búsqueda de CNVs. Con el fin de tener resultados lo suficientemente robustos a la hora del análisis bioinformático, decidimos darle a cada amplicón una cobertura de 100, para asegurarnos de que el 100% de los amplicones se han secuenciado al menos 20 veces.

Tabla 1. Genes incluidos en el panel

| Gen | Enfermedad |
|---|--|
| CDAN1 | Anemia diseritropoyética congénita tipo I |
| SEC23B | Anemia diseritropoyética congénita tipo II |
| KLF1, GATA1 | Otras anemias diseritropoyéticas congénitas |
| HBB | Hemoglobinopatías, síndromes talasémicos |
| SPTA1, SPTB | Eliptocitosis, esferocitosis, piropoiuilocitosis hereditarias (espectrina alfa y beta) |
| ANK1 | Esferocitosis hereditaria (ankirina-1) |
| EPB72, PIEZO1 | Estomatocitosis hereditaria (estomatina, prot. piezo 1) |
| GYPA, GYPC | Eliptocitosis hereditaria (glicoforina A y C) |
| EPB3 | Esferocitosis hereditaria (banda-3) |
| EL11 | Eliptocitosis hereditaria (proteína 4.1) |
| EB42 | Esferocitosis hereditaria (proteína 4.2) |
| G6PD | Anemia por déficit de glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa |
| HK1 | Anemia por déficit de hexokinasa |
| GPI | Anemia por déficit de glucosa-6-fosfato-isomerasa |
| AK1 | Anemia por déficit de adenilato-kinasa |
| GSS | Anemia por déficit de glutation-sintetasa |
| PKLR | Anemia por déficit de piruvato-kinasa |
| PGK | Anemia por déficit de fosfoglicerato-kinasa |
| TPI1 | Anemia por déficit de triosefosfato-isomerasa |
| ALDOA | Anemia por déficit de aldolasa |
| PFKFB1 | Anemia por déficit de fosfofructokinasa |
| BPGM | Anemia por déficit de bifosfoglicerato-mutasa |
| NT5C3A | Anemia por déficit de pirimidina 5'-nucleotidasa |
| CFH, CFHR1, CFHR3, CFHR4, CFI, CFB, MIC10 (MCP), THBD, ASP (C3), DGKE, ADAMTS13, PIGA, PIGT | Microangiopatías trombóticas (PTT, SHUa, HPN) |

Una vez creada la librería, se realizaba una PCR en emulsión por cada grupo de muestras a analizar y se secuenciaron en un Ion Torrent-PGM.

Se incluyeron en el análisis un total de 53 pacientes. Para la fase de validación se utilizaron 16 muestras de ADN de pacientes no relacionados, diagnosticados y con estudio molecular previo de la mutación causante de la enfermedad ya secuenciada y 3 controles sanos. Una vez confirmada la aplicabilidad de la técnica, estudiamos 34 muestras, 29 de ellas correspondientes a pacientes afectados de anemia hemolítica congénita y 5 muestras de familiares no afectados. Veintitrés de los 29 pacientes incluidos tenían un diagnóstico clínico, sin estudio molecular y en 6 se desconocía la etiología de la anemia. El análisis de las variantes encontradas se realizó mediante la utilización del software Ion Reporter – Life technologies (Tabla 1).

Resultados: Se obtuvo un 94% de correlación en la fase de validación, al poder detectar con nuestro panel 15 de las 16 mutaciones identificadas por secuenciación Sanger con anterioridad. En los pacientes previamente diagnosticados incluidos en el estudio (n = 23) se identificó la presencia de mutaciones causantes de la enfermedad en 21 casos, las cuales se confirmaron tanto por secuenciación convencional como por estudios funcionales enzimáticos, morfológicos o de membrana. En los 6 casos en los que se desconocía la etiología, se logró detectar la mutación causal de la enfermedad en 4 de ellos. Adicionalmente se encontraron 7 mutaciones no descritas en la literatura, que al ser valoradas por diferentes herramientas informáticas (Polyphen, SIFT, Mutation Taster) se predicen ser patogénicas (Tabla 2).

Conclusiones: La validación del presente panel de genes demuestra la utilidad de la secuenciación masiva de genes candidatos en la identificación de mutaciones implicadas en la patogénesis de las anemias hemolíticas congénitas. El empleo de esta tecnología supone una notable mejoría en el diagnóstico de este tipo de eritropatías ya que hemos podido identificar la alteración molecular en la mayoría de los casos analizados. Por otra parte es de hacer notar que este estudio puede llevarse a cabo con poca muestra de sangre y sin importar que sea de reciente extracción, además que no se ve alterada por transfusiones recientes ni por un elevado recuento reticulocitario, condiciones que con las técnicas habituales inciden de manera negativa en la interpretación de los resultados.

SP-002 CM352, un nuevo antifibrinolítico, reduce el crecimiento del hematoma e induce mejoría funcional en un modelo experimental de hemorragia intracranial

Orbe Lopategui J. (1), Sobrino T. (2), Rodríguez J.A. (1), Campos F. (2), Oyarzabal J. (1), Castillo J. (2), Páramo J.A. (3)

(1) CIMa, Universidad de Navarra. Pamplona. (2) Laboratorio de Investigación en Neurociencias (IDIS). (3) Clínica Universidad de Navarra. Pamplona

Introducción: La hemorragia intracranial (HIC) es un grave problema neurológico que conlleva elevada morbi-mortalidad y supone un 15% de todos los ictus. Además del episodio agudo inicial, la recurrencia de sangrado y la expansión del hematoma se asocian con un gran empeoramiento del pronóstico de pacientes que experimentan HIC. Se ha sugerido un papel de la metaloproteasas (MMP) en inflamación, daño tisular y fibrinólisis, implicado en un mayor riesgo de sangrado.

Objetivo: Analizar la eficacia de una nueva estrategia con el agente CM352, una pequeña molécula inhibidora de MMP con acciones antifibrinolíticas y corta vida media (1,4 horas), en un modelo experimental de HIC en ratas.

Modelo experimental y métodos: Se indujo HIC en ratas mediante la inyección de colagenasa en el cuerpo estriado y, 1 hora después, los animales recibieron una inyección intravenosa de suero salino (n = 6) o CM-352 (1 mg/kg, n = 6). Se cuantificó el volumen del hematoma en situación basal, a las 3 y 24 horas, y el tamaño de la lesión a los 14 días mediante resonancia magnética-T2. Además se determinó el grado de recuperación funcional y déficit neurológico utilizando la escala de Bederson, y la función motora mediante la prueba del cilindro, cuantificada como índice de lateralidad en situación basal, a las 24 horas y 14 días.

Resultados: El tratamiento con CM-352 consiguió una reducción significativa de la expansión del hematoma en relación al salino a las 3 h (310 ± 62 vs. $200 \pm 86\%$, $p < 0,01$) y más evidente a las 24 h (305 ± 51 vs. $133 \pm 63\%$, $p < 0,001$). La reducción de la hemorragia se asoció con un menor volumen de lesión a los 14 días ($27,8 \pm 4,1$ vs. $14,4 \pm 2,4$ mm³, $p < 0,001$). CM352 consiguió una gran reducción en la alteración de la capacidad sensorial y motora inducida por la HIC, desde 73% a 16% a las 24 h, $p < 0,01$

Tabla 2. Nuevas mutaciones encontradas no descritas previamente en la literatura

| Enfermedad | Gen | Mutación | Referencia (HG19) |
|---------------------------|----------|---|-------------------|
| Esferocitosis hereditaria | SPTB | c.167A>G (p.Gln56Arg) | NM_001024858.2 |
| Esferocitosis hereditaria | ANK1 | c.2926C>T (p.Arg976Ter) | NM_001142446.1 |
| Esferocitosis hereditaria | SLC4A1 | c.1250T>C (p.Leu417Pro) | NM_000342.3 |
| Eliptocitosis hereditaria | EPB41 | c.1326T>A (p.Tyr442Ter) | NM_001166005.1 |
| Deficiencia de G6PD | G6PD | c.917C>T (p.Pro306Leu) | NM_000402.4 |
| Deficiencia de GPI | GPI | c.242G>A (p.Arg81Gln) / c.1238_1238delA (p.Gln413fs) | NM_000175.3 |
| PTT congénita | ADAMTS13 | c.3728T>C (p.Leu1243Pro) | NM_139025.4 |

y desde 49% a 6% a los 14 días ($p < 0,01$). Además, mejoró significativamente el déficit neurológico a las 24 h (71 vs. 14%, $p < 0,01$) y a los 14 días (43 vs. 0%, $p < 0,01$).

Conclusión: Se describe por primera vez en la literatura el efecto beneficioso de un nuevo agente antifibrinolítico e inhibidor de MMP en un modelo experimental de HIC, asociado con reducción del tamaño del hematoma y mejoría neurológica funcional. Los resultados de este estudio abren la posibilidad de investigar el papel de CM352 como una nueva estrategia terapéutica en pacientes con HIC.

SP-003 Estudio del interactoma de la leucemia mieloide aguda

Ibáñez M. (1), Carbonell-Caballero J. (2), García-Alonso L. (2), Such E. (1), Barragán E. (3), López-Pavía M. (4), Llop M. (3), Alonso C. (5), Montesinos P. (1), Sanz M.A. (1), Dopazo J. (2), Cervera J. (6)

(1) Hematology Service. Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia. (2) Computational Genomics Department. Centro de Investigación Príncipe Felipe. Valencia. (3) Laboratory of Molecular Biology. Department of Clinical Chemistry. Hospital Universitario La Fe. Valencia. (4) Hospital General Universitario. Valencia. (5) Servicio de Hematología. Hospital Arnau de Vilanova. Valencia. (6) Functional Genomics Node. Spanish National Institute of Bioinformatics at CIPF. Valencia

Introducción: La leucemia mieloide aguda (LMA) se asocia con la acumulación progresiva de alteraciones genéticas en los progenitores hematopoyéticos. El consorcio del TCGA estableció alteraciones recurrentes en 23 genes en la LMA. Sin embargo, muchos pacientes con un cariotipo normal (CN) no son portadores de mutaciones en estos genes fundadores, sugiriendo la existencia de cambios relevantes todavía por definir.

Objetivos: Identificar nuevas mutaciones somáticas fundadoras en pacientes con CN y sin mutaciones en los genes NPM1, CEBPA y FLT3-ITD, mediante secuenciación exómica completa (WES). Re-secuenciar los nuevos genes candidatos, junto con los previamente descritos por el TCGA, en una cohorte independiente de pacientes con LMA de riesgo citogenético intermedio (RI) para su análisis funcional de redes.

Métodos: Se realizó WES en muestras pareadas (tumoral/normal) de 7 pacientes con LMA-CN *de novo*, sin mutaciones en los genes NPM1, CEBPA ni FLT3-ITD, en una plataforma Illumina. El análisis bioinformático primario se realizó con un protocolo propio. La selección de variantes del análisis secundario tuvo en cuenta la presencia en población sana, efecto en la proteína, grado de conservación y asociación funcional. Las variaciones se confirmaron mediante secuenciación masiva dirigida usando un Ion AmpliSeq™ Custom Panel para la plataforma de Ion Torrent (Life-Technologies). Además un panel de 87 genes (55 candidatos de la WES y 32 mutados en $\geq 2\%$ de los pacientes del TCGA) fue analizado en 100 pacientes con LMA-RI *de novo* mediante SureDesign Tool (Agilent). La priorización de los genes candidatos se realizó mediante un análisis de enriquecimiento de rutas génicas (SNOW, Babelomics). Las muestras las proporcionó el Biobanco La Fe.

Resultados:

- **WES:** tras el análisis primario se seleccionaron 94 SNV no sinónimas y 8 indels, con una media de 30 mutaciones/muestra (rango 22-37). Se confirmaron el 60% de las variaciones detectadas en 56 genes, 15 reportados previamente como recurrentes.
- **Re-secuenciación dirigida:** se detectaron 158 variantes con efecto deletéreo (88 SNVs no sinónimas y 70 indels) en 46 genes (media: 4,89 mut/muestra; rango: 0-10), presentando 28 de ellos mutaciones en más de un paciente. Los análisis de las rutas génicas implicadas revelaron que 19 de estos 28 genes estaban más relacionados entre ellos de lo esperado por el azar ($p = 0,02$) con un gran potencial de implicación en la leucemogénesis, 13 de ellos (NPM1, DNMT3A, NRAS, PTPN11, IDH2, KRAS, WT1, IDH1, RUNX1, U2AF1, CEBPA, TP53, CHD4) con un porcentaje de mutaciones mayor que los controles sanos de los 1.000 genomas ($p \leq 0,01$). La priorización de genes permitió definir un modelo in silico que agrupa las alteraciones encontradas según su interacción física, regulación, funcionalidad y rutas celulares alteradas (Figura 1).

Conclusiones: El estudio muestra un análisis exhaustivo de la LMA combinando WES con el análisis de mutaciones somáticas detectadas con un panel de 87 genes seleccionados. Hemos identificado 13 genes con una elevada implicación en la patogénesis de la LMA-RI. El análisis del interactoma permitió definir un modelo in silico de alteración de la célula leucémica en la LMA-RI. Su relevancia requiere de estudios de validación funcionales.

Estudio financiado por Fundación Española de Hematología (FEHH); Red Temática de Investigación Cooperativa en Cáncer

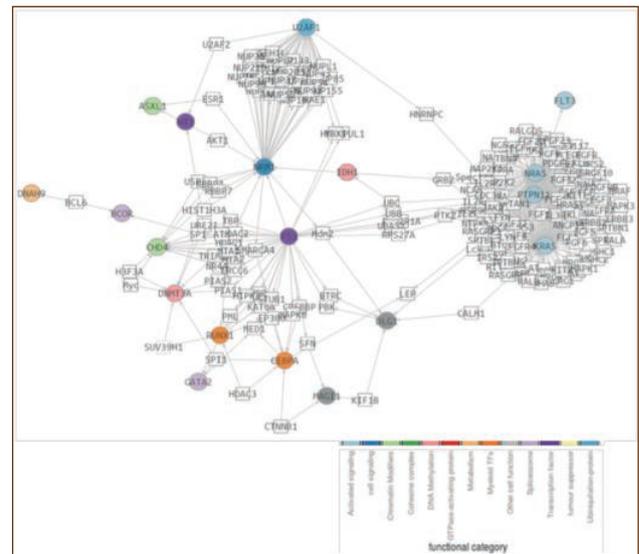


Figura 1. Análisis del interactoma de los 28 genes candidatos mediante la herramienta SNOW (Babelomics). Los cuadrados representan los genes intermediarios; los círculos representan los genes mutados en nuestro estudio. Los genes aparecen coloreados en base a su categoría funcional.

(RD12/0036/0014); Instituto de Salud Carlos III PI12/01047, PI13/01640, PT13/0010/0026 y PIE13/00046; Conselleria de Educación, Cultura y Deporte de la Comunidad Valenciana; PROMETEOII/2014/025; y por el Ministerio de Economía y Competitividad, BIO2011-27069. Parte de este trabajo ha sido realizado dentro de la iniciativa HPC4G (<http://www.hpc4g.org>) y del "Bull-CIPF Chair for Computational Genomics".

SP-004 Identificación y caracterización de un nuevo mecanismo trombofílico: deficiencia de antitrombina recesiva o transitoria debida a hipoglicosilación

De la Morena-Barrio M.E. (1), Miñano A. (1), Martínez-Martínez I. (1), de Cos C. (2), Wypasek E. (3), Roldán V. (4), Undas A. (5), Van Scherpenzeel M. (3), Lefeber D. (4), Padilla J. (6), Toderici M. (6), Sevivas T. (5), España F. (5), Jaeken J. (7), Vicente V. (8), Corral J. (9)

(1) Centro Regional de Hemodonación. Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. IMIB. Murcia, España. (2) Hospital Puerta del Mar. Cádiz, España. (3) The John Paul II Hospital. Kraków, Polonia. (4) Institute of Cardiology. Jagiellonian University Medical College. Kraków, Polonia. (5) Servicio de Hematología y Oncología Médica. Centro Regional de Hemodonación. Hospital Universitario Morales Meseguer. IMIB. Murcia, España. (6) Department of Neurology. Laboratory for Genetic, Endocrine and Metabolic Diseases. Radboud University Medical Center. Nijmegen, Holanda. (7) Serviço de Hematologia do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra. Coimbra. Portugal. (8) Grupo de Hemostasia, Trombosis, Arteriosclerosis y Biología Vascular. Centro de Investigación. Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia, España. (9) Center for Metabolic Diseases. Universitair Ziekenhuis Gasthuisberg. Leuven, Bélgica

Introducción: La deficiencia de antitrombina (AT), el más potente factor trombofílico, es causada principalmente por mutaciones en el gen SERPINC1. Sin embargo, hasta un 25% de casos no tienen ni mutaciones ni deleciones en este gen, cuyo análisis puede asistir a la identificación de nuevos defectos trombofílicos.

Objetivo: Identificar nuevos mecanismos involucrados en la deficiencia de antitrombina asociados con trombosis.

Material y métodos: Estudiamos 30 pacientes con trombosis, deficiencia de antitrombina y sin alteraciones moleculares en SERPINC1. La AT, antitripsina y las glicofórmulas de transferrina fueron evaluadas mediante electroforesis, HPLC y/o Q-TOF. Los análisis genéticos incluyeron la secuenciación de genes candidatos (Sanger) y el análisis de exoma completo (Ion Torrent).

Resultados: Ocho pacientes (P1-P8) (27%) presentaron aumento de glicofórmulas de AT con reducido contenido de N-glicanos. Esta hipoglicosilación también afectó a todas las N-glicoproteínas analizadas. En todos los casos, el patrón de hipoglicosilación era tipo 1, compatible con el que presentan pacientes con PMM2-CDG, el más frecuente desorden congénito de glicosilación (una enfermedad rara autosómica recesiva que se diagnostica en la infancia por las severas manifestaciones clínicas que incluyen retraso psicomotor). Tres casos (P) mostraron deficiencia de AT severa (50%) y permanente. P1, con retraso mental, presentaba 2

mutaciones en heterocigosis compuesta en PMM2 (p.F119L&p.R141H). P2 con cardiopatía y escoliosis pero sin retraso mental, presentaba una mutación en homocigosis en ALG12 (p.V26D). Se trata del 8º caso ALG12-CDG descrito en el mundo. P3 sin otra clínica más que la trombosis, era portador de una mutación en heterocigosis en PMM2 (p.R141H) y un perfil de SNPs en heterocigosis en otros genes involucrados en la ruta de la N-glicosilación (SLC5A9, ALG6 y PGMI). Este perfil genético se asociaba con hipoglicosilación y deficiencia de AT en estudios familiares. En los casos restantes (P4-P8), sin otra clínica más que la trombosis, la deficiencia de AT y la presencia de glicofórmulas hipoglicosiladas fue transitoria. De gran interés es que estos 5 pacientes tenían de moderado a alto consumo de alcohol (25-120 g/día), un factor que también interfiere en la N-glicosilación. P4-P8 eran portadores en heterocigosis de mutaciones en PMM2, IDI2 o SLC5A9.

Conclusiones: La identificación de una deficiente N-glicosilación es responsable de una elevada proporción de casos con deficiencia de AT sin mutaciones en SERPINC1. Alteraciones recesivas o perfiles genéticos, y combinaciones transitorias de un factor genético y uno adquirido implicados en la ruta de N-glicosilación provocan deficiencia permanente o transitoria de AT con su consiguiente riesgo trombofílico. Nuestro estudio también demuestra que los trastornos de glicosilación están subestimados y deben ser considerados como un nuevo mecanismo trombofílico.

SP-005 La sobre-expresión de HDAC8 en células mesenquimales estromales de pacientes con neoplasias mieloproliferativas JAK2+, ¿una nueva diana terapéutica?

Lopes Ramos T. (1), Sánchez-Abarca L.I. (1), Preciado S. (1), Rosón B. (2), Hernández-Hernández Á. (3), Muntión S. (1), Rodríguez Serrano C. (4), Ortega R. (5), Redondo A. (1), Sánchez-Guijo F. (1), del Cañizo C (1)

(1) Servicio de Hematología. IBSAL-Hospital Universitario de Salamanca. Salamanca. (2) Centro de Investigación del Cáncer. Universidad de Salamanca. Salamanca. (3) Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Salamanca. Salamanca. (4) Servicio de Hematología. Hospital General de Segovia. Segovia. (5) Servicio de Hematología. Complejo Hospitalario de León. León

Introducción: Los cambios en el micro-medio ambiente tumoral pueden influir en la fisiopatología de las hemopatías. Los cambios epigenéticos en la célula *stem* hematopoyética (CSH) de las neoplasias mieloproliferativas (NMP) son relevantes en su desarrollo pero no existe información sobre dichos cambios en las células mesenquimales (CSM) de médula ósea (MO), que desempeñan un importante papel en el nicho hematopoyético. Estudios previos de nuestro grupo han mostrado que las MSC de NMP JAK2+ sobre-expresan, entre otros genes, la Histona Deacetilasa 8 (HDAC8).

Objetivo: El objetivo de este trabajo fue analizar el papel que HDAC8 de las MSC puede jugar en la fisiopatología de las NMP JAK2+.

Desarrollo: Se aislaron y expandieron CSM-MO de pacientes con NMP (n = 24) con la mutación JAKV617F (CSM-JAK2) y de donantes sanos (CSM-DS; n = 14). Mediante RT-PCR se confirmó la sobre-expresión de HDAC8 en las CSM-JAK2 frente a las CSM-DS (CSM-DS vs. CSM-trombocitemia esencial (TE) $p < 0.005$). Los resultados se confirmaron mediante Western blot. Se realizaron estudios funcionales (CFU-GM) para estudiar la relación entre el estroma patológico y las CSH patológicas (JAKV617F). Para ello se aislaron células CD34+ de MO de pacientes y se co-cultivaron (*transwell*) con CSM-JAK y CSM-DS durante 48 h. Las CSH fueran recuperadas y se realizaron ensayos clonogénicos. Se observó un aumento significativo en el número de CFU-GM ($p < 0.05$) cuando las CSH (JAK2V617F) fueron cultivadas con las células CSM-JAK (Figura 1).

Con el fin de conocer la importancia de HDAC8 en la biología de la enfermedad se trataron las MSC con su inhibidor PCI34051. Su uso a 25 μM , 48 h disminuyó la expresión de HDAC8 en las CSM de pacientes mientras que no se modificó en las CSM-DS. Dicha disminución se acompañaba de una menor proporción de CSM en fase S+G2/M y un aumento en fase G0G1 con diferencias significativas en las CSM-Policitemia Vera (PV) ($p < 0.05$) así como una disminución de la viabilidad de las CSM de pacientes.

Con el fin de evaluar la influencia que HDAC8 de las CSM puede tener en el mantenimiento de la hematopoyesis patológica, se cultivaron las CSM y se trataron o no con PCI-34051 25 μM durante 48 h. Se añadieron CMN-MO de pacientes (JAK2V617F) se mantuvo el co-cultivo en *transwell* durante 48 h. Se recuperaron las CMN y se analizaron la viabilidad celular, el número de CFU-GM y la expresión de TP53 por RT-PCR. La presencia del inhibidor de HDAC8 en el cultivo, disminuyó la viabilidad celular de las CMN principalmente en las CMN-JAK2V617F (Figura 2). En cuanto a los ensayos funcionales de producción de colonias CFU-GM se comprobó que en los casos donde el estroma patológico se trató con PCI-34051 se produjo una clara disminución en la producción de colonias con un aumento en la expresión de TP53 (Figura 3).

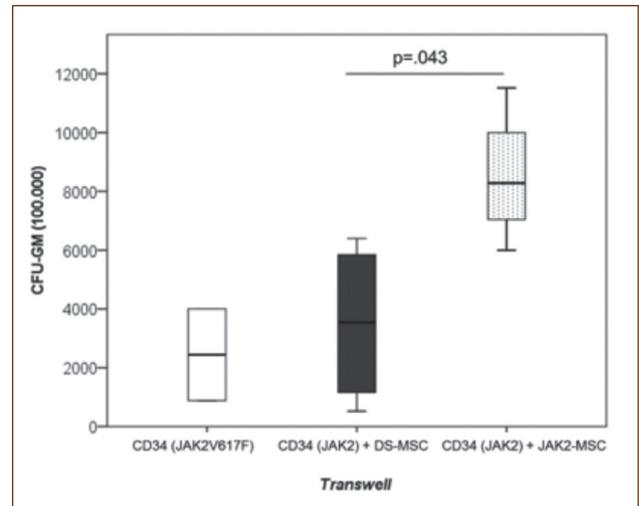


Figura 1.

lógico se trató con PCI-34051 se produjo una clara disminución en la producción de colonias con un aumento en la expresión de TP53 (Figura 3).

Conclusiones: Las MSC de pacientes con NMPJAK2+ sobre-expresan HDAC8. La inhibición de HDAC8 mediante un inhibidor específico disminuye la capacidad de mantenimiento de la hematopoyesis patológica. Esto sugiere que podría ser una nueva diana terapéutica para estos pacientes.

Este trabajo ha sido parcialmente financiado con la ayuda GRS 1034/A/14 y por la FCT (SFRH/BD/86451/2012).

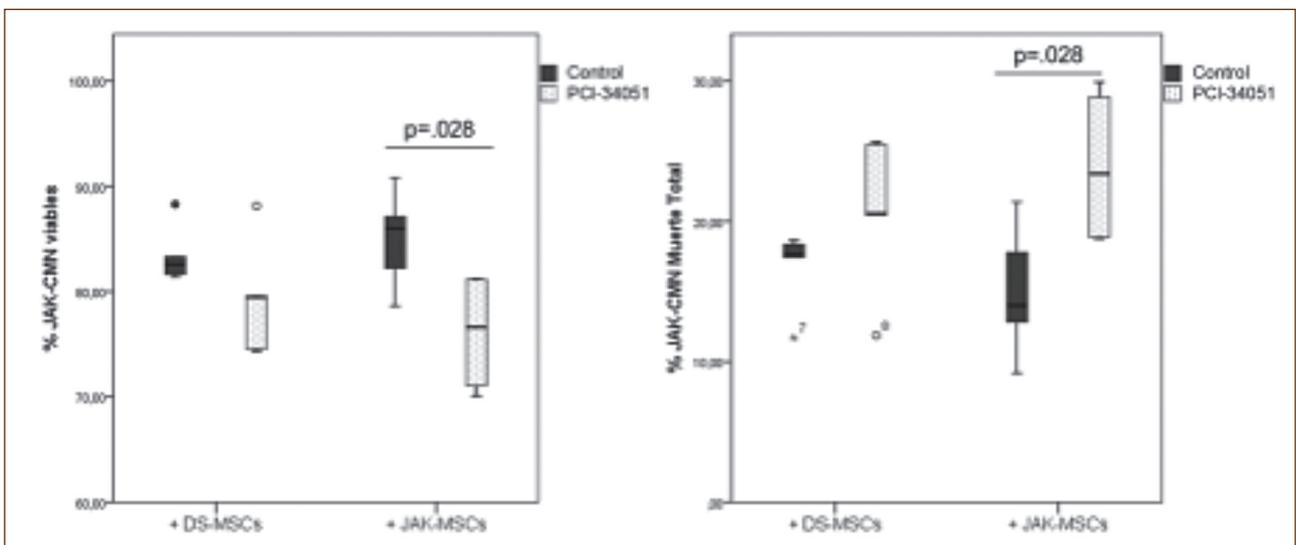


Figura 2.

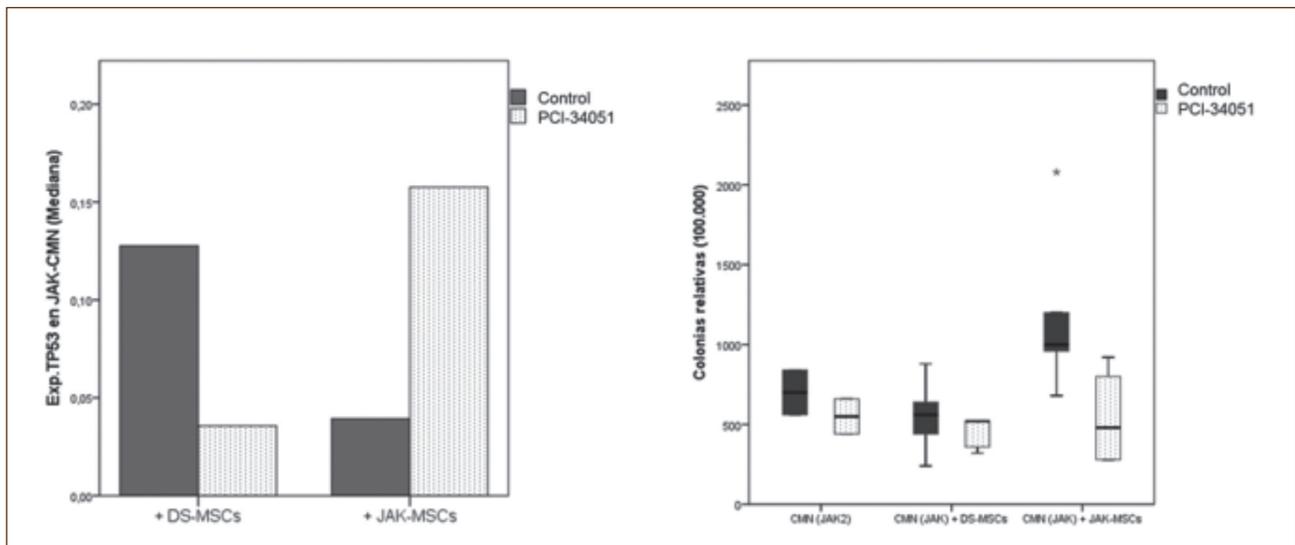


Figura 3.

SP-006 La forma β de la proteína C activada es un eficaz neuroprotector gracias a su alta capacidad de activación de PAR1

Dichiara Rodríguez M.G. (1), Gleeson E. (2), Salicio A. (1), Orbe J. (1), Preston R. (2), Hermida J. (1), Montes R. (1)

(1) Centro de Investigación Médica Aplicada. Pamplona, Navarra. España. (2) Trinity College. Dublín, Irlanda

Introducción: La trombolisis con tPA es el único tratamiento del ictus isquémico, pero acarrea riesgo de neurotoxicidad, que se puede reducir con proteína C activada (PCA), por la citoprotección que esta induce activando al *protease activated receptor-1* (PAR1). Existen PCA citoprotectoras con capacidad anticoagulante reducida, lo cual es relevante en el contexto del ictus, proclive al sangrado. Pero aún exhiben actividad anticoagulante residual, por lo que interesa obtener variantes aún más eficaces al activar a PAR-1: clínicamente se requerirían dosis menores, y disminuiría el riesgo de sangrado. En este sentido, la forma β de la PCA, deglicosilada en N329 (PCAN329Q), es *in vitro* un citoprotector más eficaz que la PCA *wild-type* (PCAw_t). No se conoce por qué, ni se sabe si *in vivo* también lo es.

Nuestra hipótesis es que la PCAN329Q es mejor porque activa más eficazmente a PAR1. Asimismo, pretendemos demostrar que esta característica hace de la PCAN329Q un neuroprotector más efectivo que la PCAw_t en el ictus isquémico.

Métodos: Para activar a PAR1 la PCA se une a EPCR (endotelio) o Mac1 (macrófagos). Por eso, transfectamos células 293T con PAR1 [conjugado a fosfatasa alcalina (FA)] y, simultáneamente, con EPCR o Mac1, para comparar, viendo la actividad FA, si PAR1 se activaba más eficazmente con PCAN329Q o PCAw_t.

Además construimos dos variantes murinas (m) de PCA, ambas con capacidad anticoagulante reducida al no unirse a la proteína S (PS), y una de ellas deglicosilada en N329 (mPCAPS y

mPCAPS/N329Q). Ambas se administraron con tPA en un modelo murino de oclusión de la arteria cerebral media (OACM) por inyección local de trombina: el tPA, con o sin las mPCAs, se dio tres horas después de la trombina; a las 24 horas los cerebros se extrajeron, cortaron y tiñeron con tiónina.

Resultados: La PCAN329Q activó a PAR1 en presencia de EPCR de modo significativamente más eficaz que la PCAw_t ($p < 0,01$), y lo hizo actuando sobre R46, lugar de corte no canónico en PAR1. La PCAN329Q también activó más eficazmente a PAR1 cuando se apoyaba en Mac1 ($p < 0,01$) (Figura 1).

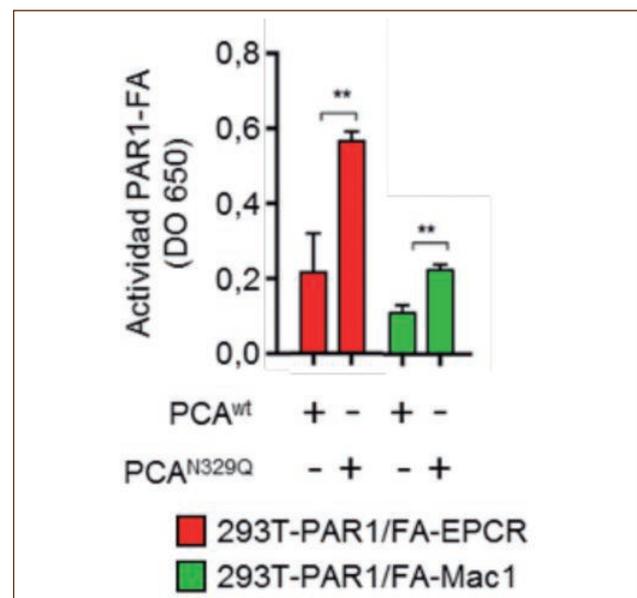


Figura 1. La PCAPS/N329Q activa más eficazmente que la PCAw_t a PAR1 en presencia tanto de EPCR como de Mac1. **p < 0,01.

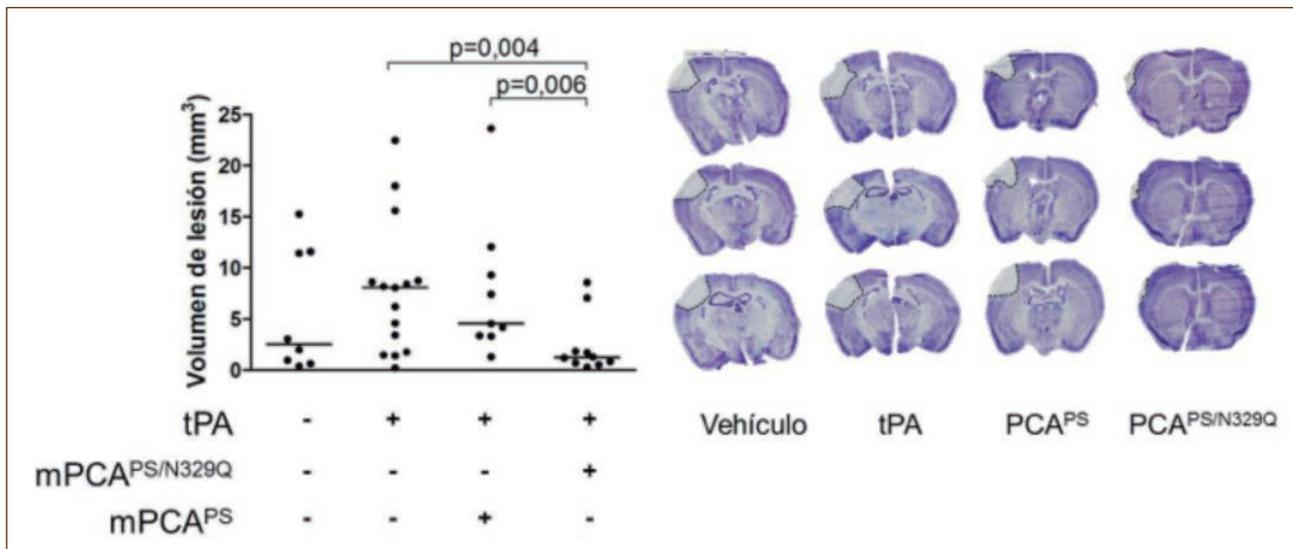


Figura 2. La mPCAPS/N329Q previene más eficazmente que la mPCAPS el daño cerebral inducido por la oclusión de la ACM y exacerbado por el tPA. Se representa (panel izquierdo) el volumen de lesión (mm³) de ratones sometidos a OACM. La barra horizontal representa la mediana de cada grupo. También se muestran (panel derecho) tres cortes de cada cerebro correspondientes a cuatro animales, cada uno representativo de un grupo de tratamiento. El área que se muestra contorneada por una línea de puntos corresponde a la zona de la lesión.

Los animales sometidos a OACM y recanalización con tPA presentaron lesiones mayores que los que, además de tPA, recibieron mPCAPS, aunque la diferencia no fue significativa. Sin embargo, cuando se empleó mPCAPS/N329Q como adyuvante del tPA la reducción de la lesión fue mucho más patente: el descenso fue significativo no sólo respecto a los animales tratados con tPA ($p = 0,004$), también respecto a los que recibieron tPA y mPCAPS ($p = 0,006$) (Figura 2).

Conclusiones:

- La forma β de la PCA es más citoprotectora que la wt porque activa más eficazmente a PAR1 en presencia de EPCR o de Mac1.
- La forma β de la PCA es un neuroprotector notablemente más eficaz que la forma wt, lo que invita a explorar su papel terapéutico en el tratamiento de recanalización con tPA en pacientes con ictus isquémico.

Fuentes de financiación: Este trabajo ha sido financiado en parte por: Instituto de Salud Carlos III (PI10/01432, PI13/00072, PI11/1458, RECAVA RD06/0014/0008); MINECO [ERANET-Neuron grant (PRI-PIMNEU-2011-1334)]; Science Foundation Ireland (Starting Investigator Research Grant); National Children's Research Centre (R.J.S.P.).

SP-007 Osteoblastogénesis humana eficaz en modelo murino mediante infusión de células stem mesenquimales fucosiladas de médula ósea humana. Datos finales de estudio preclínico

Cabañas Perianes V. (1), López Lucas M.D. (1), García Hernández A.M. (1), Martínez C. (1), Sánchez Baeza E. (1), Parra Montoya A. (1), García Bernal D. (1), Escámez Martínez T. (1), Alguero C. (1), Abenza Camacho S. (1), Asin Aguilar C. (1), Molina M.M. (1), Blanquer Blanquer M. (1), Marín N. (1), Muñoz Esparza C. (1), Berenguer Piqueras M. (1), Pérez López R. (1), Martínez García A.B. (1), Salido Fierrez E. (1), García Candel F. (1), Sackstein R. (2), Moraleda Jiménez J.M. (1)

(1) Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. IMIB. Murcia. (2) Universidad de Harvard. Massachusetts, EE. UU.

Introducción: La osteoporosis (OP) es una enfermedad ósea definida por la pérdida de masa ósea generalizada con un elevado riesgo de fracturas óseas y una alta morbimortalidad. Las células stem mesenquimales (CSM) de médula ósea (MO) pueden representar un tratamiento óptimo por su capacidad para diferenciarse a osteoblastos (OB), aunque su tropismo óseo es bajo cuando se

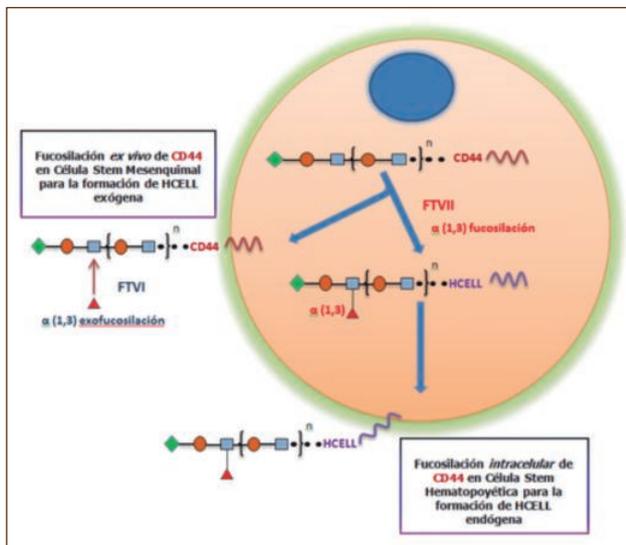


Figura 1. Fucosilación *ex vivo* e *in vivo* de HCELL.

administran de forma intravenosa (IV). Este depende de la interacción de sus receptores de superficie con la proteína E-selectina de las células endoteliales de MO. La glicofoma de CD44 (HCELL), un potente ligando de E-selectina, es expresada de forma innata por las células *stem* hematopoyéticas pero no por las CSM. La fucosilación *ex vivo* en posición α-1,3 del CD44 mediante fucosiltransferasa VI (FTVI) es capaz de producir HCELL (Figura 1).

Objetivo: El objetivo de este estudio preclínico es evaluar la seguridad y la eficacia de las CSM humanas fucosiladas (CSM-f) en un modelo murino inmunodeprimido (NOD/SCID).

Métodos: 31 ratones NOD/SCID fueron randomizados a recibir de forma IV: 1x106 CSM-f (n = 13), 1x106 CSM (n = 14), o salino (n = 4). Las toxicidades fueron evaluadas por: *score* clínico, peso, histología y biodistribución mediante qRT-PCR de genes β-actina y β2-microglobulina humanas en todos los órganos. La integridad

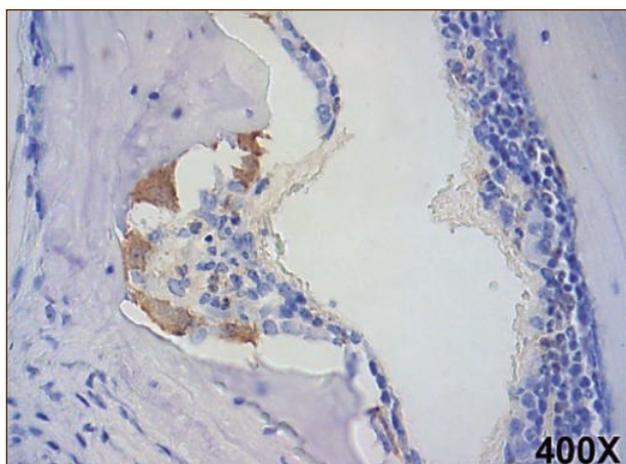


Figura 2. Osteoblastos osteocalcina positivos (400X).

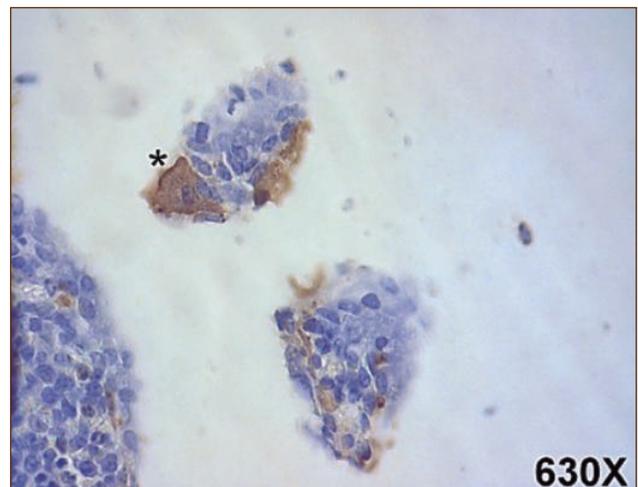


Figura 3. Osteoblasto osteocalcina positivo (630X).

genética fue evaluada por cariotipo. Para evaluar eficacia se empleó inmunohistoquímica con anticuerpo policlonal anti-osteocalcina humana. Las células osteocalcina (OC) positivas fueron identificadas por un precipitado citoplasmático de color marrón.

Resultados: No se produjo ningún fallecimiento inesperado ni toxicidades agudas. Se objetivaron áreas localizadas inflamatorias en los pulmones de un 15%, 42% y 25% de los ratones infundidos con CSM-f, CSM y salino respectivamente (p = 0,28). La biodistribución fue normal en todos los ratones con excepción de un ratón (CSM sin fucosilar) que mostró expresión de ARN humano en pulmón a las 12 semanas post-infusión. Se observaron osteoblastos en el 100% de los ratones infundidos con CSM-f, en 62,5% de los infundidos con CSM, y ninguno en la rama de salino (p = 0.01). Los ratones infundidos con CSM-f presentaron mayor número de osteoblastos OC positivos en secciones de tibia y calota con respecto a los infundidos con CSM (32 vs. 5.5) (p = 0.0082). Los osteoblastos humanos fueron detectados en hueso desde la 5ª a la 12ª semana post-infusión (Figuras 2 y 3).

Conclusiones: Nuestro ensayo demuestra que la infusión de CSM-f es segura y eficaz con un potencial más elevado de osificación en ratones NOD/SCID que las no fucosiladas. Estos resultados han permitido avanzar hacia el ensayo clínico en pacientes diagnosticados de OP con CSM-f.

SP-008 La respuesta inmune alógena frente a disparidades conocidas en antígenos menores de histocompatibilidad es modulada por el genotipo de CTLA-4 del donante en el trasplante alógeno de progenitores hematopoyéticos de donante familiar HLA-idéntico

Gallardo Giralt D. (1), Bosch-Vizcaya A. (1), Santos N. (1), Rodríguez-Romanos R. (1), Nieto J. (2), Buño I. (3),

de la Cámara R. (4), Brunet S. (5), Martínez-Laperche, C. (3), Jiménez-Velasco A. (6), González M. (7), Vallejo C. (8), Ferrá C. (9), Martínez C. (10), Díez J.L. (3)

(1) ICO. Girona. (2) Hospital General Universitario Morales Meseguer. Murcia. (3) Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. (4) Hospital Universitario de La Princesa. Madrid. (5) Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. (6) Hospital Universitario Regional de Málaga. Málaga. (7) Hospital Universitario de Salamanca. Salamanca. (8) Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo. (9) ICO. Badalona, Barcelona. (10) Hospital Clínic. Barcelona

Introducción: Los antígenos menores de histocompatibilidad (mHAg) son péptidos derivados del procesamiento intracelular de proteínas polimórficas, capaces de dar lugar a respuestas inmunes si existe disparidad entre paciente y donante en el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (aloTPH). Diversos estudios han descrito la asociación de estas disparidades con una mayor incidencia de enfermedad del injerto contra el receptor (EICR). Asimismo, también se ha descrito la asociación de los polimorfismos en el gen de CTLA-4 con una distinta expresión de dicho gen y con la aparición de EICR. Sin embargo, no existen datos que muestren si la mayor o menor actividad de CTLA-4 como molécula responsable de la inhibición linfocitaria T condiciona la respuesta ante una disparidad antigénica.

Pacientes y métodos: Analizamos retrospectivamente una cohorte de 1.180 pacientes que recibieron un aloTPH de donante familiar HLA-idéntico, determinando la presencia de disparidades en los mHAg HA-1, HA-8 y H-Y, así como el genotipo de CTLA-4 del donante, concretamente en el SNP rs231775 del exón 1 (polimorfismo en posición +49G>A). Se calculó la incidencia acumulada de EICR aguda y la MRT ante una misma disparidad según el genotipo de CTLA-4 del donante. La supervivencia global se calculó mediante curvas de Kaplan Meier comparadas mediante log-rank test.

Resultados: La incidencia acumulada de EICR estadios II-IV fue significativamente mayor en presencia de una disparidad HA-1 (p: 0.012) y H-Y (p: 0.020). Sin embargo, cuando analizamos los resultados en función del genotipo CTLA-4 del donante encontramos que, si bien esta mayor incidencia de EICR se mantiene cuando el donante es homocigoto para el alelo A en posición rs231775 (HA-1 p: 0.042; H-Y p: 0.042), no se detectan diferencias si el genotipo es AG/GG (HA-1 p: 0.575; H-Y p: 0.950). Lo mismo encontramos al analizar sólo grados severos de EICR: tal y como se ha publicado, las disparidades de HA-8 (p: 0.018) y de H-Y (p: 0.002) se asocian a más incidencia de EICR III-IV. De nuevo, el genotipo de CTLA-4 del donante condicionó esta asociación a la presencia del genotipo AA en posición rs231775 (p: 0.040 y 0.006 respectivamente), desapareciendo la inmunogenicidad de las disparidades si el donante presenta genotipo AG/GG (p: 0.330 y 0.755 respectivamente).

El único mHAg que ha mostrado asociación con mayor MRT (p < 0.001) y peor supervivencia global (SG) (p: 0.001) ha sido H-Y, y de nuevo esta asociación parece venir condicionada por el genotipo AA del donante (mayor MRT; p: 0.025 y tendencia a peor SG; p: 0.089) y desaparece si el donante es AG/GG en posición +49G>A (p: 0.192 y p: 0.300 respectivamente).

Conclusiones: En este trabajo describimos por primera vez que la sola presencia de una disparidad antigénica no es suficien-

te para condicionar una mayor incidencia de EICR, sino que la respuesta inmune vendrá modulada por el genotipo del donante en moléculas responsables de activación/inhibición linfocitaria T.

SP-009 Un nuevo modelo predictivo basado en el perfil genómico de polimorfismos en genes de citocinas permite predecir la incidencia de EICR postrasplante hematopoyético alogénico

Buces González E. (1), Martínez Laperche C. (1), Aguilera Morillo M.C. (2), Picornell A. (3), Lillo R. (2), González Rivera M. (4), Bosch Vizcaya A. (5), Martín-Antonio B. (6), Guillem V. (7), Nieto J.B. (8), González M. (9), de la Cámara R. (10), Brunet S. (11), Jiménez Velasco A. (12), Espigado I. (13), Vallejo C. (14), Sampol A. (15), Serrano D. (1), Kwon M. (1), Gayoso J. (1), Balsalobre P. (1), Bellon J.M. (16), Urbano Izpizua A. (6), Solano C. (7), Gallardo D. (17), Díez-Martín J.L. (1), Romo J. (2), Buño I. (1)

(1) Servicio de Hematología. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón. Madrid. (2) Departamento de Estadística. Universidad Carlos III. Madrid. (3) Departamento de Bioinformática. Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón. Madrid. (4) Línea Instrumental de Secuenciación. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón. Madrid. (5) ICO Hospital Josep Trueta. Girona. (6) Hospital Clínic. IDIBAPS. Barcelona. (7) Hospital Clínic de Valencia. (8) Hospital General Universitario Morales Meseguer. Murcia. (9) Hospital de Salamanca. Salamanca. (10) Hospital Universitario de La Princesa. Madrid. (11) Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. (12) Hospital Regional de Málaga. Málaga. (13) Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. (14) Hospital Central de Asturias. Oviedo. (15) Hospital Universitario Son Espases. Palma de Mallorca. (16) Departamento de Estadística. Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón. Madrid. (17) ICO Hospital Josep Trueta. Girona

Introducción: La enfermedad injerto contra receptor (EICR) es una de las principales causas de morbi-mortalidad asociadas al trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (alo-TPH). Distintos factores clínicos y biológicos, entre los que destacan las citocinas, modulan la alorreactividad donante/receptor y condicionan la incidencia y severidad de la EICR. El objetivo del presente trabajo consistió en valorar la relevancia clínica de los polimorfismos en genes de citocinas con el fin de establecer un modelo predictivo para el desarrollo de la EICR post alo-TPH de donante hermano HLA idéntico.

Material y métodos: El estudio incluyó 273 alo-TPH de donante familiar HLA-idéntico incluidos en el Banco de ADN del GETH. Se analizaron 25 SNPs en 11 genes de citocinas (Tabla 1) en los pacientes y sus donantes. El genotipado se realizó sobre ADN purificado de sangre periférica mediante PCR y extensión aleloespecífica revelada por espectrometría de masas (MALDI-TOF; Sequenom MassArray). Cada SNP se analizó considerando los distintos modelos de herencia (dominante, recesivo, co-dominante y aditivo; 25 SNPs x 4 modelos =

Tabla 1. Variables clínicas (conocidas por su influencia en el desarrollo de EICR) y genéticas (25 SNPs en genes de citosinas) consideradas en los modelos predictivos

| Variables clínicas | Variables genéticas | |
|------------------------|---------------------|------------|
| | Gen | SNP |
| Edad receptor | IL1A | rs1800587 |
| Sexo receptor/donante | IL1B | rs1143627 |
| Diagnóstico | | rs1143634 |
| Acondicionamiento | | rs16944 |
| Fuente de progenitores | IL2 | rs2069762 |
| EICRa (para EICRc) | IL6 | rs1800895 |
| | IL7R | rs1494555 |
| | IL10 | rs1800871 |
| | | rs1800872 |
| | | rs1800896 |
| | IL17A | rs8193036 |
| | | rs2275913 |
| | | rs3819024 |
| | | rs4711998 |
| | IL17F | rs763780 |
| | IL23R | rs11209026 |
| | | rs6687620 |
| | TNF α | rs1800629 |
| | | rs1800610 |
| | | rs361525 |
| | | rs1799964 |
| | TGF β | rs2241716 |
| | | rs1800469 |
| | INF γ | rs2069705 |
| | | rs2430561 |

100 variables). Para estudiar la relación entre los polimorfismos encontrados, las variables clínicas y el desarrollo de EICR se empleó la regresión penalizada vía “Least Absolute Shrinkage and Selection Operator” (LASSO). Esta aproximación presenta grandes ventajas en los estudios de asociación genética frente a los modelos de regresión habituales los cuales, debido al elevado número de variables predictoras en relación al número de observaciones y a la posibilidad de correlación entre variables por el desequilibrio de ligamiento, presentan serios problemas. Se realizó una validación cruzada seleccionando el 85% de las muestras como datos de entrenamiento (“training set”) y el 15% del tamaño muestral como datos de prueba (“testing set”) los cuales se analizaron 100 veces (“multitestng”). La capacidad

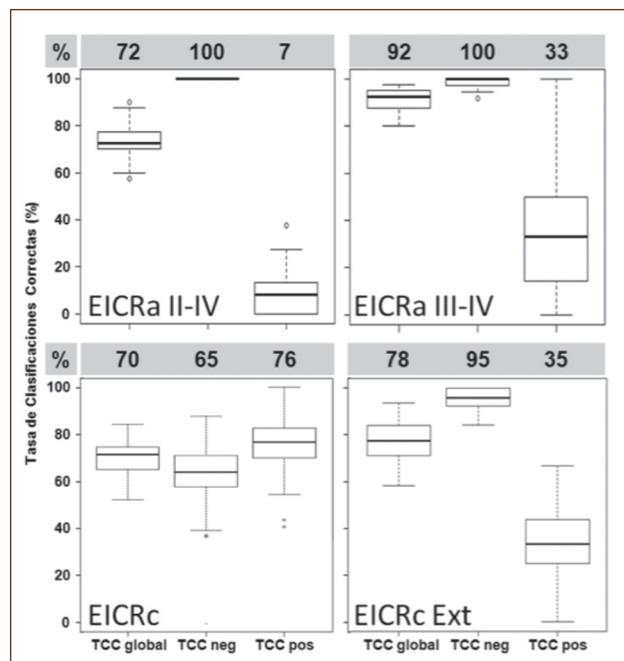


Figura 1. Tasa de clasificaciones correctas (TCC) global, negativa (predicción correcta de los pacientes que no desarrollan EICR) y positiva (predicción correcta de los pacientes que sí desarrollan EICR) de los modelos predictivos definidos para EICRa II-IV (21 variables), EICRa III-IV (62 variables), EICRc (14 variables) y EICRc Extenso (19 variables).

predictiva de los distintos modelos obtenidos por regresión penalizada vía LASSO (incluyendo distintas variables causales) se comparó mediante la tasa de clasificaciones correctas (TCC) con el fin de seleccionar los modelos con mayor capacidad predictiva de EICR.

Resultados: Los resultados del análisis de validación cruzada muestran que los modelos predictivos obtenidos son capaces de predecir con una alta tasa de acierto (TCC global: 72% EICRa II-IV, 92% EICRa III-IV, 70% EICRc, 78% EICRc Extenso, **Figura 1**) el desarrollo de EICR. La tasa de acierto es especialmente elevada para la identificación de los pacientes que no van a desarrollar EICR (TCC negativa: 100% EICRa II-IV, 100% EICRa III-IV, 65% EICRc, 95% EICRc Extenso).

Conclusiones: El modelo predictivo propuesto permite predecir con un éxito sin precedentes el desarrollo de EICR en los pacientes sometidos a TPH alogénico de donante familiar HLA-idéntico. La elevada tasa de acierto (100% para EICRa y 95% para el EICRc Extenso) en la identificación de los pacientes que no van a desarrollar EICR post-TPH podría permitir el manejo optimizado de las estrategias de inmunomodulación post-TPH dirigidas a potenciar el efecto de injerto contra leucemia con el fin de minimizar el riesgo de recidiva.

Comunicaciones Orales

Trombosis

CO-108 Identificación y validación de un perfil de microRNAs plasmáticos asociado al riesgo trombótico

Ramón Núñez L.A. (1), Martos Marín L. (1), Ferrando Gasp F. (2), Mira Fornés Y. (2), Bonanad Boix S. (2), Medina Badenes P. (1), España Furió F. (1), Navarro Rosales S. (1)

(1) IIS La Fe. (2) Unidad de Hemostasia. Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia

Introducción: Los microRNAs (miRNAs) son pequeñas moléculas de RNA estables y detectables en plasma que regulan la expresión génica. Se ha demostrado que variaciones en sus niveles pueden reflejar condiciones fisiológicas y patológicas importantes.

Objetivo: Identificar y validar los miRNAs presentes en el plasma de los pacientes con trombosis venosa con (reTV) o sin recurrencia (TV), y con el infarto de miocardio (IM).

Métodos: Seleccionamos muestras de plasma de individuos que habían sufrido un evento trombótico, sin defectos trombofílicos o anticoagulación, emparejadas por edad y sexo con las de individuos sanos (CTL). Tras la extracción de miRNAs, empleando un método puesto a punto por nuestro grupo, medimos la expresión de miRNAs utilizando la plataforma GeneChip miRNA 4.0 Array (Affymetrix) en 6 pacientes con TV, 6 pacientes con reTV, 6 pacientes con IM y 8 CTL. Analizamos los resultados empleando el software PARTEK *Genomic Suite*, y seleccionamos los miRNAs diferencialmente expresados para validar sus diferencias de expresión mediante RT-qPCR (miRCURY LNA™ Universal RT microRNA PCR) en un grupo ampliado de pacientes y controles (N = 20 en cada subgrupo).

Resultados: El análisis de los arrays mostró un perfil de expresión de miRNA diferencial entre pacientes con TV, reTV, IM y CTL. Así, seleccionamos un total de 24 miRNAs diferencialmente expresados ($P < 0,05$ y $\text{Fold-change} > 1,5$) en estas patologías para su validación por RT-qPCR. Los resultados de validación confirmaron la expresión diferencial en plasma de 6 miRNAs. Comparado con los controles, la expresión de miR-106b y miR-126-3p fue un 33% y 81% superior en pacientes con IM ($P = 0,029$ y $P < 0,001$, respectivamente), la expresión del miR-122 aumentó un 248% en reTV y un 360% en IM ($P = 0,044$ y $P < 0,001$, respectivamente), la expresión del miR-140-3p fue un 54% mayor en TV y un 82% mayor en IM ($P = 0,039$ y $P < 0,001$, respectivamente), la expresión del miR-744-5p aumentó un 61% en reTV ($P = 0,032$), y la de let-7e se redujo un 43% en TV ($P = 0,002$). Utilizando una herramienta de predicción computacional de los genes dianas para los miRNAs seleccionados (miRWalk V.2.0), observamos que estos miRNAs interactúan con proteínas implicadas en la coagulación, la migración transendotelial de leucocitos o en vías del metabolismo de los lípidos ($P < 0,05$), todas ellas relacionadas con la enfermedad trombótica.

Conclusiones: Este es el primer estudio que identifica y valida un perfil de miRNAs característico de TV, reTV e IM.

Estos resultados sugieren que algunos miRNAs pueden ser útiles para evaluar el riesgo de recurrencia en pacientes con TV y para la estratificación del riesgo de IM. Sin embargo, se necesitan estudios adicionales para determinar las consecuencias funcionales de este desequilibrio y su uso potencial como herramienta diagnóstica.

CO-109 Antitrombina en exosomas: regulación de proteínas a distancia

Bohdan N. (1), García-Andreo A.B. (1), Espín S. (1), Carrasco-Ramírez P. (2), Martín-Villar E. (2), Corral J. (1), Vicente V. (1), Quintanilla M. (2), Martínez-Martínez I. (1)

(1) Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Centro Regional de Hemodonación. Universidad de Murcia. IMIB-Arrixaca. Murcia. (2) Instituto de Investigaciones Biomédicas Alberto Sols. CSIC-UAM. Madrid

Introducción: Los exosomas son vesículas de 30-120 nm de origen endocítico, producidas por las células de forma fisiológica y en mayor medida por células tumorales. Los exosomas median la comunicación célula-célula regulando procesos como la inflamación y la metástasis. Contienen proteínas y diferentes especies de RNA que pueden ser biomarcadores y/o desencadenantes de la respuesta de las células receptoras. Estudios proteómicos han identificado antitrombina (AT) en exosomas procedentes de células MDCK (*canine kidney epithelial cells*). La AT, además de ser el principal inhibidor de la cascada de la coagulación, puede actuar como un agente anti-inflamatorio, anti-apoptótico, anti-angiogénico y anti-viral. Recientemente nuestro grupo ha demostrado un nuevo papel de la AT como agente anti-tumoral por inhibición de una proteasa implicada en metástasis.

Objetivos: Identificar el contenido de AT en exosomas procedentes de plasma y llevar a cabo su caracterización bioquímica y funcional tanto en exosomas de plasma como de células MDCK.

Métodos: Cultivo celular, aislamiento y purificación de exosomas de células MDCK mediante ultracentrifugación. Purificación de exosomas de plasma mediante un kit comercial. Microscopía electrónica de transmisión (MET), qRT-PCR, electroforesis, Western blot, inmunoprecipitación (IP) y proteómica.

Resultados: Mediante MET confirmamos el aislamiento de un 80% de exosomas de plasma, con un tamaño ≤ 120 nm. Detectamos AT monomérica en dichos exosomas. Mediante IP de los exosomas con anticuerpo anti-AT, demostramos que la AT se encuentra en la superficie mediante interacciones electrostáticas, ya que la diálisis con 2M NaCl conseguía romper esta interacción. Los geles de urea, demostraban que la AT está en conformación nativa y, por tanto, puede ser funcional. Así, por ejemplo, el bloqueo de la AT en exosomas con un anticuerpo anti-AT incrementaba la expresión de IL-6 en células EA.hy926 cuando se incuban con LPS.

En células MDCK, confirmamos la presencia de AT y demostramos su captación del suero bovino fetal (SBF), ya que no hay AT en los exosomas procedentes de células cultivadas con SBF inactivado por calor, donde la AT es latente. Además, el

cultivo con distintas heparinas incrementaba su incorporación a exosomas. Una fracción de esta AT se encontraba formando un complejo covalente en la superficie. La IP con anticuerpo anti-AT, permitió su aislamiento y la identificación por proteómica de HTRA1 (proteína reguladora de TGF- β), expresada por las células MDCK y cuyo complejo con AT fue confirmado por western blot.

Conclusiones: Demostramos que la AT es captada en la superficie de exosomas por proteínas presentes en la membrana, mediante interacciones electrostáticas o formando complejos covalentes. En exosomas de plasma, la AT parece tener un papel anti-inflamatorio, regulando en células endoteliales la expresión de IL6. En exosomas de células MDCK, la AT interacciona de forma covalente con HTRA1, implicada en el crecimiento celular y sobreexpresada en enfermedades inflamatorias. Estos resultados demuestran que la AT en exosomas es capaz de regular diversos procesos biológicos a distancia.

CO-110 La Hsp70 se asocia con riesgo reducido de ictus cardioembólico: un nuevo mecanismo antitrombótico sin riesgo hemorrágico

Allende Rodríguez M. (1), Molina E. (1), Guruceaga E. (1), Tamayo I. (1), González-Porras J.R. (2), González-López T.J. (3), Toledo E. (4), Roldán V. (5), Rivera J. (5), Montes R. (1), Hermida J. (1)

(1) Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA). (2) IBSAL-Hospital Universitario de Salamanca. Salamanca. (3) Hospital Universitario de Burgos. Burgos. (4) Universidad de Navarra. Pamplona. (5) Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia

Introducción: La fibrilación auricular (FA) es el principal factor de riesgo del ictus cardioembólico. Los tratamientos anti-coagulantes actuales son efectivos en la prevención del ictus en pacientes con FA pero se asocian con una elevada tasa de hemorragias graves. Es urgente la identificación de nuevas dianas que posibiliten el desarrollo de nuevos tratamientos antitrombóticos sin riesgo hemorrágico.

Métodos: Se realizó un estudio inicial de *arrays* de RNA mensajero de sangre periférica en 16 pacientes con FA, la mitad con ictus, emparejados por CHADS₂. El estudio de validación se realizó mediante PCR cuantitativa en una población independiente de 200 pacientes con FA, la mitad con ictus. El efecto antitrombótico de la *heat-shock protein* 70 kDa (Hsp70) se valoró en tres modelos diferentes: láser-rosa de bengala, cloruro férrico y epinefrina-colágeno, empleando ratones *knock-out* para Hsp70 (Hsp70 KO) y ratones CD-1 a los que se les administró el compuesto TRC051384, inductor de Hsp70. Se valoró el efecto de Hsp70 en la hemostasia mediante el tiempo de hemorragia, el tiempo de protrombina (TP), el tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPA) más un estudio de agregación plaquetar. También se

analizó el efecto sobre la expresión de genes de la hemostasia en tejido vascular, la generación de proteína C activada y la apoptosis endotelial.

Resultados: En la serie inicial se identificó una huella génica característica del ictus en la que el gen *HSPA1B*, que codifica Hsp70, era el más diferencialmente expresado: elevado en pacientes sin ictus (Figura 1). Este resultado fue confirmado en la cohorte independiente: odds ratio de ictus = 0,21; intervalo de confianza 95% (0,09-0,51), después de ajustar por los factores de riesgo de ictus cardioembólico tradicionales. Los ratones Hsp70 KO presentaron un fenotipo trombótico en los tres modelos (Figura 2) mientras que los ratones tratados con TRC051384, inductor de Hsp70, estaban protegidos frente a la trombosis (Figura 3) sin presentar alteraciones de la hemostasia (TP, TTPA y agregación plaquetar normales) ni tendencia hemorrágica (tiempo de hemorragia normal). La inducción de Hsp70 se asoció con un incremento en la expresión de trombomodulina ($p=0,036$), con niveles circulantes elevados de proteína C activada ($p=0,005$) y con una disminución de la apoptosis endotelial ($p=0,028$).

Conclusiones: La inducción de Hsp70 constituye una novedosa terapia antitrombótica con mínimo riesgo hemorrágico, especialmente prometedora para el tratamiento de pacientes con FA.

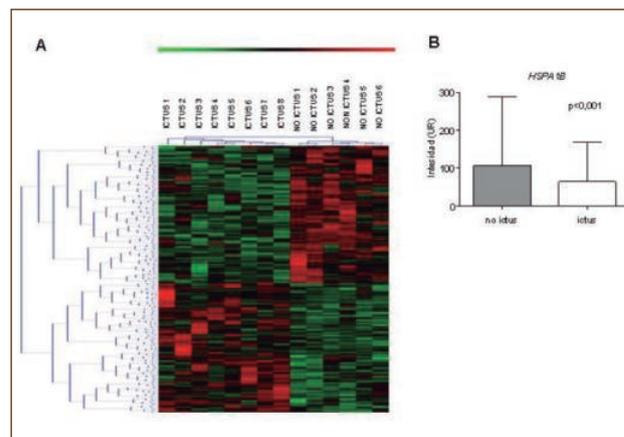


Figura 1. Huella génica característica de los pacientes con FA que han desarrollado ictus cardioembólico. (A) Mapa de expresión de las sondas diferencialmente expresadas en pacientes con FA e ictus cardioembólico (grupo "Ictus") respecto a los pacientes con FA sin ictus cardioembólico (grupo "No ictus"). Las sondas génicas se muestran en el eje de ordenadas y en el eje de abscisas se representan los pacientes. El color indica la intensidad de la expresión génica. El color rojo indica alta expresión, y el verde baja expresión, respecto a la expresión media de todos los pacientes para cada sonda. (B) Se representan la mediana y el rango intercuartílico de la intensidad de expresión del gen *HSPA1B* en los grupos "Ictus" y "No ictus".

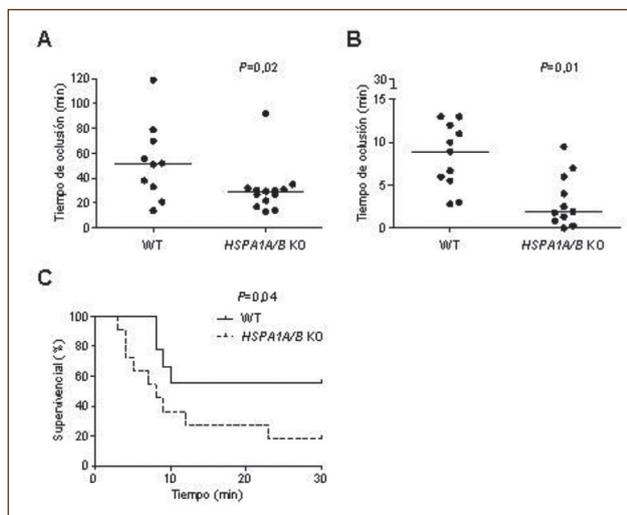


Figura 2. Efecto de la ausencia de Hsp70 en la trombosis. El tiempo hasta la oclusión de la arteria carótida se determinó en ratones wild-type (WT) y ratones Hsp70 KO después de la exposición a (A) rosa de bengala/láser y (B) cloruro férrico. En (A) y (B), las líneas horizontales representan la mediana del tiempo de oclusión de cada grupo. (C) Se representa el tiempo hasta la muerte causada por el tromboembolismo pulmonar inducido por epinefrina/colágeno en ratones Hsp70 KO ($n = 11$) y WT ($n = 9$). El análisis de supervivencia se realizó mediante curvas de Kaplan-Meier que se compararon mediante el test log-rank.

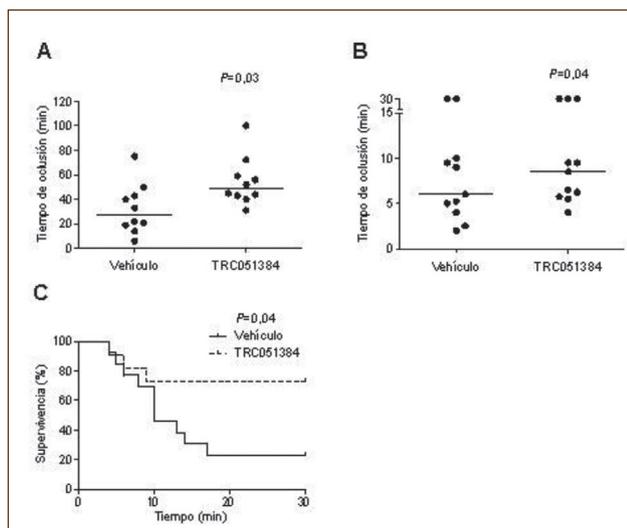


Figura 3. Efecto de la inducción de Hsp70 en la trombosis. A los ratones se les administró 9 mg/kg del inductor de Hsp70 TRC051384 o vehículo una y tres horas antes de comenzar los modelos de trombosis. Posteriormente, se determinó el tiempo hasta la oclusión de la arteria carótida después de exponerla a (A) rosa de bengala/láser y (B) cloruro férrico. En (A) y (B), las líneas horizontales representan la mediana del tiempo de oclusión de cada grupo. (C) Se representa el tiempo hasta la muerte causada por el tromboembolismo pulmonar inducido por epinefrina/colágeno en ratones tratados con el inductor ($n = 11$) y con vehículo ($n = 13$). El análisis de supervivencia se realizó mediante curvas de Kaplan-Meier que se compararon mediante el test de Log-rank.

CO-111 Trombosis recurrente arterial y venosa asociada con una nueva deficiencia de antitrombina (c.651-653delCAT) y defecto de sialilación transitorio

Revilla Calvo N. (1), de la Morena-Barrio M.E. (2), Toderici M. (2), Miñano A. (2), Lozano M.L. (2), Padilla J. (2), Vicente V. (2), García-Avello Á. (1), Corral J. (2)

(1) Servicio de Hematología. Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid. (2) Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer y Centro Regional de Hemodonación. IMIB. Universidad de Murcia. Murcia

Introducción: Las modificaciones post-traduccionales (gammacarboxilación, fosforilación, glicosilación) son fundamentales en hemostasia. Recientes estudios demuestran que la glicosilación aberrante de ciertas proteínas del sistema hemostático tiene consecuencias patológicas. Describimos un caso con diferentes eventos tromboticos recurrentes tanto en territorio venoso como arterial a pesar del tratamiento anticoagulante, en el que se identifica una nueva alteración de glicosilación transitoria combinada con una deficiencia de antitrombina (AT).

Métodos: El análisis de AT y otras proteínas plasmáticas (protrombina, FXII, FXI, fibrinógeno, TFPI, $\alpha 1$ -antitripsina, y transferrina) se realizó mediante Western blot, HPLC y/o métodos funcionales. También se realizaron estudios glicómicos con neuraminidasa y N-glicosidasa F. Se secuenció el gen que codifica AT (*SERPINC1*). Se estudió la expresión de AT en un modelo recombinante (HEK-EBNA).

Resultados: La paciente presentó una actividad anti-FXa fluctuante, pero siempre reducida 36-50%. El estudio del gen *SERPINC1* mostró una nueva delección de 3 nucleótidos (c.651-653delCAT) en heterocigosis que manteniendo la fase de lectura elimina la isoleucina 218, un residuo muy conservado en serpinas, localizado en la hélice F. Este dato, junto a la deficiencia tipo I que presenta la paciente y que se confirma en el modelo recombinante, sugiere que este residuo juega un papel relevante en el correcto plegamiento de las serpinas. Sorprendentemente, el estudio de la AT plasmática mediante SDS-PAGE de la muestra recogida un mes después de su último evento trombotico (infarto cerebral) mostró que toda la AT plasmática residual, teóricamente silvestre, procedente del alelo normal, tenía mayor movilidad electroforética. El tratamiento del plasma con N-glicosidasa F y sialidasa confirmó que la AT presentaba una hipoglicosilación con menor contenido de ácido siálico. Esta alteración no es específica de la AT, pues también afecta a otras proteínas plasmáticas de diferentes orígenes (hepáticas: FXII, FXI, protrombina, fibrinógeno, antitripsina; endotelial: TFPI). Además, el defecto es transitorio y variable, ya que en una muestra anterior el contenido de ácido siálico es mayor aunque defectuoso respecto a la AT normal, y en otro momento apenas existe dicho defecto. La hiposialilación coincide con los momentos de trombosis arterial (renal y cerebral) y se correlaciona con menor número de plaquetas y mayor deficiencia de AT.

Ni la deficiencia de AT ni el defecto de sialilación se identifican en familiares (hermanos e hijos) quienes no presentan historia trombotica.

Conclusiones: Detectamos por primera vez una alteración transitoria y variable del contenido de ácido siálico en proteínas plasmáticas que en combinación con una nueva deficiencia de AT incrementa notablemente el riesgo de trombosis, especialmente en territorio arterial.

CO-112 Identificación de variantes polimórficas en los factores de coagulación potencialmente regulados por miRNA

Salloum-Asfar S. (1), Van Hylckama V.A. (2), Martínez C. (1), Vossen C.Y. (2), de Haan H.G. (2), Teruel-Montoya R. (1), Corral J. (1), Reitsma P.H. (3), Rosendaal F.R. (2)

(1) Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Centro Regional de Hemodonación. Universidad de Murcia. IMIB-Arrixaca. Murcia, España. (2) Clinical Epidemiology and (3) Einthoven Laboratory for Experimental Vascular Medicine. Leiden University Medical Center. Leiden, Netherlands

Introducción: Los miRNA son reguladores críticos de la expresión génica a través de su interacción con los 3'UTR de sus dianas. En los últimos años se han relacionado con la regulación de diferentes elementos de la hemostasia, sin embargo se desconoce su papel en el desarrollo de patología trombótica.

Objetivo: Identificar polimorfismos (SNPs) en 3'UTR de factores de coagulación que desestabilicen la unión de miRNA con consecuencias tanto en los niveles plasmáticos de estos factores así como en el riesgo de sufrir trombosis venosa profunda (TVP).

Métodos: En dos estudios caso-control, se secuenciaron los 3'UTR de los genes que codifican el FII, FVIII, FIX, FXI, fibrinógeno, proteína C, proteína S, antitrombina y TFPI en sujetos con niveles extremadamente altos o bajos de estos factores. En un total de 4485 casos/4889 controles, se genotiparon los SNPs que se asociaron con niveles plasmáticos elevados de los factores de coagulación y por tanto, con alto riesgo de TVP. Se evaluaron aquellos SNPs que pudieran perturbar la unión de miRNA *in silico* e *in vitro* (ensayo de luciferasa).

Resultados: Se identificaron en total 28 variantes, 5 de ellas se encontraban con más frecuencia en alguno de los grupos de los extremos (F2: rs1799963, F8: rs1050705 y F11: rs4253429, rs4253430 y rs1062547). Sólo rs1799963 se asoció con el riesgo de TVP. Los 3 SNPs de F11 mostraron un alto desequilibrio de ligamiento (LD) con las variantes funcionales descritas rs2289252 y rs2036914. El análisis en controles *wild-type* para estas variantes conocidas de F11 mostró que rs1062547 y rs4253430 (LD > 98%) se asociaban a un aumento significativo de la actividad FXI en plasma en los heterocigotos (7,6 UI/ml) y homocigotos (8,5 UI/ml). Los estudios de predicción *in silico* revelaron que la presencia de estos SNPs podrían interferir en los sitios de unión de 2 miRNAs. No obstante, los estudios de luciferasa mostraron que sólo el miR-544 disminuía significativamente la actividad luciferasa en comparación con un control (100% vs. 46 ± 9%, p = 0,029). Esta inhibición no se observó cuando se utilizó un vector mutado con rs4253430.

Conclusión: Las dos variantes en el 3'UTR del F11 tienen un efecto sobre los niveles plasmáticos de FXI, que a su vez podrían estar influidos por la interacción de miR-544. Estos resultados refuerzan que los miRNAs son potentes candidatos que podrían desempeñar un papel en trastornos complejos de la hemostasia tales como la trombosis.

CO-113 Implicación de las trampas extracelulares de neutrófilos (NET) en el síndrome coronario agudo

Latorre Campos A.M. (1), Fuset M.P. (2), Sánchez E. (3), Madrid I. (2), Ferrer M. (3), Vallés J. (1), Salvador A. (3), Santos M.T. (1), Moscardó A. (1)

(1) Instituto de Investigaciones Sanitarias La Fe, (2) Unidad de Cuidados Intensivos y (3) Servicio de Cardiología. Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia

Introducción: Las trampas extracelulares de neutrófilos (NET) están formadas por ADN, histonas y enzimas proteolíticas, y son producidas por los neutrófilos activados a través de distintos mecanismos. Los NET pueden activar a las plaquetas favoreciendo los procesos trombóticos. Recientemente se ha descrito que "in vitro" su formación requiere la participación de la P-selectina plaquetaria (1).

Objetivo: Estudiar la presencia de NET en pacientes con SCA con elevación del segmento ST (SCACEST) y su relación con marcadores de activación plaquetaria.

Pacientes y métodos: Se estudiaron 72 pacientes SCACEST consecutivos a los que se les implanta un stent. Se extrajo muestra de sangre inmediatamente antes de la intervención, 30 min después y a las 24 horas. Como marcadores de NET se determinó el ADN circulante y los nucleosomas. Como marcadores de activación plaquetaria se evaluaron por citometría de flujo los agregados leucocito-plaqueta, la P-selectina expuesta en la membrana de las plaquetas circulantes y la activación de GPIIb/IIIa. Como control se estudiaron 17 sujetos sanos sin medicación. La presencia de NET también se estudió retrospectivamente en una serie de pacientes con SCACEST (n=144) en los que se ha realizado el seguimiento clínico durante 1 año.

Resultados: Antes del stent, los marcadores de NET están elevados en pacientes respecto a los sujetos sanos (ADN: 28.12±19.66 vs. 19.66±2.70 p<0.000; nucleosomas: 0.31±0.21 vs. 0.15±0.03 p<0.000). También están elevados los agregados leucocito-plaqueta y la exposición de P-selectina en las plaquetas. Tras el stent, se produce una elevación de los marcadores de NET circulantes (p=0.002) respecto a los valores previos en un 58% de los pacientes. Interesantemente, la elevación de los NET no se produce en pacientes tratados con bivalirudina o ticagrelor. Los NET se mantienen elevados a las 24 horas de la implantación del stent frente a sujetos sanos. Respecto a función plaquetaria, se encuentra una elevada asociación entre los NET circulantes, los agregados leucocito plaqueta y especialmente con la exposición de P-selectina (p=0.000), pero no con la activación de GPIIb/IIIa. En

una serie más larga de pacientes (n=144), encontramos que valores de NET elevados en las primeras 48 tras el evento se asocian con un incremento en los MACE al año.

Conclusiones: Describimos por primera vez:

1. Los NET están elevados en el plasma de pacientes SCACEST aumentando tras la implantación de un stent, aunque este incremento es menor en pacientes tratados con bivalirudina o ticagrelor.
2. Confirmamos el papel crucial de P-selectina en la formación de NET, lo que sugiere un nuevo nexo entre la trombosis y la inflamación en los pacientes con SCACEST.
3. Valores elevados de NET se asocian a un peor pronóstico en el SCACEST. Estos resultados abren nuevas vías de estudio en la fisiopatología y tratamiento del SCA.

Bibliografía

1. Etulain J Blood 2015. Becas. FIS13/00016. Beca de la FETH. Becario de la FETH. Red Cardiovascular [RD12/0042/0003]. Sociedad Valenciana Cardiología.

CO-114 *Next-Generation Sequencing* aplicada al estudio de SHUa. Experiencia del Servicio de Hematología Clínica del Centro Hospitalar e Universitario de Coimbra

Silva Pinto C. (1), Fidalgo T. (1), Martinho P. (1), del Orbe B.R. (2), Oliveira A.C. (1), Calado J. (3), Oliveira N.A. (4), Gomes C. (5), Gonçalves E. (1), Marques D. (1), Sevivas T. (1), García Ruiz J.C. (6), Salvado R. (1), Ribeiro M.L. (1)

(1) Serviço de Hematologia Clínica. Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra. Portugal. (2) Instituto de Investigación Sanitaria BioCruces. Barakaldo, Bizkaia. España. (3) Serviço de Nefrologia. Centro Hospitalar Lisboa Central – Hospital Curry Cabral. Portugal. (4) Serviço de Nefrologia. Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra. Portugal. (5) Serviço de Nefrologia. Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra – Hospital Pediátrico. Portugal. (6) Servicio de Hematología. Hospital Universitario Cruces. Barakaldo, Bizkaia. España

Introducción: El síndrome hemolítico urémico atípico (SHUa) es una enfermedad multigénica compleja mediada por el complemento y otros factores extra complemento. Su diagnóstico se basa en los datos clínicos y la caracterización genética es esencial para elucidarlo. La secuenciación por método Sanger es laboriosa y onerosa debido a la elevada heterogeneidad genética de la enfermedad. La metodología *Next-Generation Sequencing* (NGS), al permitir analizar varios genes en simultáneo, tiene las enormes ventajas de producir resultados muchos más rápidos y con menor costo.

Objetivo: Implementar y validar la nueva metodología de secuenciación masiva de un amplio panel de genes en el diagnóstico genético de SHUa.

Pacientes y métodos: Actualmente disponemos de un panel con 40 genes cuyas mutaciones están implicadas en la etiología de diferentes eritropatías y de las microangiopatías trombóticas.

Este panel, diseñado en colaboración con el Instituto de Investigación Sanitaria BioCruces, incluye 10 genes (*CFH*, *CFI*, *CD46*, *C3*, *CFB*, *CFHR1*, *CFHR3*, *CFHR4*, *THBD*, *DGKE*) responsables o asociados con microangiopatías trombóticas. En cada carrera de NGS se colocó una muestra control con mutaciones ya identificadas por Sanger. El análisis bioinformático es se llevó a cabo con una cobertura de 300 a 500, para cada amplicón. El gen *CFHR5* no fue incluido en el panel y es estudiado por Sanger y la delección *CFHR3/CFHR1* por MLPA.

El estudio de los 11 genes fue realizada en: a) pacientes con diagnóstico clínico de SHUa (n=7) y glomerulonefritis crónica (GMNC) (n=1); y b) controles – SHUa (n=1) y GMNC (n=2) previamente estudiados por Sanger y con una única mutación identificada.

Resultados: Hemos identificado 11 mutaciones en 8 pacientes (Tabla 1). Diez mutaciones, ya descritas anteriormente, asociadas a SHUa y una mutación nueva que el análisis *in silico* revela fenotipo “*Probably damaging*” con *score* 1.00 (PolyPhen-2) y “*Disease causing*” (MutationTaster). Las mutaciones y polimorfismos identificados previamente por secuenciación convencional fueron confirmadas por NGS. En los pacientes estudiados inicialmente por NGS, las mutaciones detectadas fueron validadas mediante Sanger.

Discusión y conclusiones: El análisis de nuestros resultados, aunque con un número pequeño de muestras, corrobora la validez

Tabla 1. Mutaciones identificadas en el grupo de pacientes estudiados por NGS

| Paciente | Sexo | Edad | | Mutación | Genotipo | Rs ID |
|-------------------|------|--------|--------------------------------|-----------------------|----------|---------------|
| | | (Años) | Gen | | | |
| FFB* (HP98035) | ♀ | 12 | C3 | c.4855A>C, p.S1619R | HTZ | rs2230210 |
| | | | CFHR3 | c.613+2T>C | HTZ | rs138839071 |
| GCA* (HP17186) | ♂ | 13 | CFHR4 | c.1655G>A, p.G552E | HTZ | rs10494745 |
| | | | Delección CFHR3/CFHR1 | | | |
| AAP* (HP14254) | ♀ | 17 | CFH | c.3148A>T, p.N1050Y | | rs35274867 |
| | | | Haplotipo de riesgo CFH y CD46 | | HTZ | |
| | | | | Delección CFHR3/CFHR1 | | |
| DSP (HG22610) | ♂ | 19 | C3 | c.820G>A, p.G274R | HTZ | No descrita** |
| LFG (HG79856) | ♂ | 28 | Haplotipo de riesgo CFH y CD46 | | HTZ | |
| MRR (HP11912) | ♀ | 35 | C3 | c.193A>C, p.K65Q | HTZ | rs539992721 |
| | | | Haplotipo de riesgo CD46 | | HMZ | |
| CRS (HP14300) | ♀ | 38 | CFB | c.1693A>G, p.K565E | HTZ | rs4151659 |
| | | | Delección CFHR3/CFHR1 | | HMZ | |
| HS (HG16730) | ♂ | 40 | Delección CFHR3/CFHR1 | | HTZ | - |
| | | | CD46 | c.1058G>T, p.A353V | | rs35366573 |
| FSG (HP13224) | ♂ | 48 | CFHR4 | c.1655G>A, p.G552E | HTZ | rs10494745 |
| | | | Delección CFHR3/CFHR1 | | | |
| ANC (HP14179) | ♀ | 54 | CD46 | c.287-2A>G | | CS064377 |
| | | | CFHR5 | c.1067 G>A, p.R356H | HTZ | rs35662416 |

* Muestra control; ** HGMD y ENSEMBLE; HTZ – Heterocigosis; HMZ – Homocigosis

y robustez del panel de genes que hemos desarrollado, lo que permite la detección de interacciones genéticas inusuales responsables del SHUa. La secuenciación masiva de este panel de genes es una metodología eficiente para el diagnóstico genético de SHUa y de otras enfermedades renales de causa genética y además nos permite un significativo ahorro de tiempo, de reactivos y de recursos humanos, lo que significa una disminución muy importante de costes por muestra.

En nuestra experiencia, la NGS es imprescindible para el diagnóstico molecular de enfermedades multigénicas, sobre todo cuando la rapidez de respuesta es trascendental para la instauración de estrategias terapéuticas y elucidación pronóstica. La complejidad de la metodología exige un equipo multidisciplinar experimentado y eficiente, en el que el componente clínico es imprescindible a la valoración de los resultados.

CO-115 Cambios en los marcadores de hipercoagulabilidad en pacientes obesos tras la cirugía bariátrica

Marco A., Amrani R., Ortiz S., Zapater P., Abad Á., Enríquez P., Picó A., Marco P.

Hospital General Universitario de Alicante. Alicante

Introducción: Los pacientes obesos presentan un síndrome inflamatorio crónico que se asocia a un estado de hipercoagulabilidad. La cirugía bariátrica produce una pérdida considerable de peso y modifica los factores de riesgo cardiovascular. Sin embargo, no está claro en qué medida se modifican los marcadores de hipercoagulabilidad tras la cirugía bariátrica y el beneficio clínico que ello conlleva.

Objetivo: Analizar los cambios en los marcadores de hipercoagulabilidad tras la cirugía bariátrica y su repercusión en el estado protrombótico inducido por la obesidad.

Material y métodos: Estudio prospectivo que incluye de forma consecutiva pacientes obesos candidatos a cirugía bariátrica en el Hospital General Universitario de Alicante. Se excluyeron los pacientes con antecedentes de tromboembolismo o con tratamiento antitrombótico. Se han obtenido muestras de plasma para estudio de marcadores de hemostasia en el momento de inclusión en el estudio, en el preoperatorio tras fase de ayuno modificado y 1 mes tras la cirugía. Se han analizado los siguientes marcadores de hipercoagulabilidad: dímero D, fibrinógeno, FVII:C, FVIII:C, resistencia a la proteína C activada (RPCA), factor de Von Willebrand (FvW) antigénico y funcional, actividad del TAFI y micropartículas procoagulantes. Para el análisis de datos se ha utilizado el programa SPSS versión 20 considerando un valor de $p < 0,05$ como estadísticamente significativo.

Resultados: Se han estudiado 40 pacientes con una edad media de 48,64 años (30-64), el 67% de los cuales eran mujeres. El índice de masa corporal medio era de 48,61 kg/m² (37,10-65,80). Encontramos una disminución significativa de la actividad procoagulante de las micropartículas circulantes al mes post-cirugía respecto a la visita de inclusión ($p: 0,002$) El TAFI también se

redujo de forma significativa al mes de la cirugía ($p: 0,02$) y tras el ayuno respecto a la visita basal ($p: 0,013$). Los niveles de FVII:C disminuyeron en el preoperatorio ($p < 0,001$) y al mes de la cirugía ($p < 0,001$). Sin embargo, no se observaron reducciones estadísticamente significativas en el fibrinógeno, dímero D y RPCA. El FvW antigénico disminuyó tras la fase de ayuno ($p < 0,001$) y aumentó de forma significativa con la cirugía ($p < 0,001$), probablemente también como marcador de lesión endotelial. Sin embargo la actividad del FVIII:C no se modificó tras la fase de ayuno y, al igual que el FvW, se incrementó de forma significativa tras la cirugía ($p < 0,001$).

Conclusiones: En los pacientes obesos se observa una disminución del estado pro inflamatorio (FvW antigénico) tras la fase de ayuno modificado pre-cirugía. Los marcadores de hipercoagulabilidad mejoraron tras la fase de ayuno (TAFI) y al mes de la cirugía bariátrica al objetivarse una reducción de la actividad procoagulante de las micropartículas, TAFI y FVII:C. El resto de marcadores estudiados no experimentaron cambios, probablemente por el estado inflamatorio residual al mes de la cirugía. Estos cambios en los parámetros de la hemostasia junto con la corrección de los factores de riesgo cardiovascular podrían explicar el beneficio de la cirugía bariátrica sobre el perfil protrombótico de estos pacientes.

CO-116 Diferentes perfiles de trombofilia en trombosis gestacional o secundaria a tratamientos hormonales y en mujeres con historia obstétrica desfavorable: resultados del Proyecto TEAM de la SETH

Martí Sáez E. (1), Medina Mallén M.C. (2), Mira Fornés Y. (3), Mussio D. (4), Stevenazzi Rivas M. (4), de Diego Jalenskaya I. (5), Casellas Caro M. (6), Aguinaca Culebras R. (7), Oliver Samper A. (8), Rodríguez Huerta A.M. (9), Redondo Izal A.M. (10), López Fernández M.F. (11), Tàssies Penella D. (12), Santamaría Ortiz A. (13)

(1) Hospital Manises. Valencia. (2) Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. (3) Hospital La Fe. Valencia. (4) Hospital de Clínicas. Montevideo, Uruguay. (5) Mutua de Terrasa. Barcelona. (6) Hospital Vall d'Hebron. Barcelona. (7) Hospital Joan XXXIII. Tarragona. (8) Fundació Puigvert. Barcelona. (9) Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. (10) Hospital Virgen del Camino. Pamplona. (11) Complejo Hospitalario Universitario. A Coruña. (12) Hospital Clínic. Barcelona. (13) Hospital Vall d'Hebron. Hospital Universitario Quirón Dexeus. Barcelona

Introducción: El rol y la prevalencia de la trombofilia hereditaria o adquirida conocida en la aparición de complicaciones vasculares gestacionales o trombosis durante el embarazo o tratamientos hormonales no se conoce bien.

Objetivo: Nuestro objetivo es evaluar diferencias en los perfiles de trombofilia en mujeres con trombosis y con complicaciones vasculares gestacionales, tales como abortos de repetición, preeclampsia, retraso de crecimiento intrauterino o *abruptio placentae*.

Pacientes y métodos: Desde el 2009 hasta la actualidad, se está realizando el Proyecto TEAM (trombosis en el ámbito de la

mujer). Han participado 29 centros en España y Uruguay. En el registro se incluyeron diferentes perfiles de mujer TEAM:

- Perfil 1. Pacientes con trombosis secundaria a tratamiento hormonal o embarazo.
- Perfil 2. Mujeres con complicaciones vasculares gestacionales (CVG) o fallos de implante repetidos (FIR).
- Perfil 3. Mujeres con trombofilia o antecedentes de trombosis que recibirán o no profilaxis durante el embarazo o técnicas de reproducción asistida (TRA).

El estudio ha sido aprobado por el Comité de Ética de cada centro. Se analizaron los perfiles de trombofilia en los diferentes perfiles.

Resultados: Se analizaron un total de 957 episodios, de los cuales 610 eran CVG y FIR, 96 trombosis gestacionales o en relación a tratamientos hormonales y 239 episodios de profilaxis de trombosis. En 141 episodios (15%) había antecedentes familiares de trombosis. En 174 casos (18%) existía historia personal de trombosis. 525 (55%) habían presentado antecedentes obstétricos desfavorables. Se realizó estudio de trombofilia en 746 episodios (78%). El estudio fue básico en 561 casos, incompleto en 145 y ampliado en 40. En el perfil de CVG hubo 160 (26%) de episodios con trombofilia positiva. 107 pacientes presentaban un único defecto, 35, dos defectos y 18 tres o más defectos. En el perfil de trombosis hubo 39 (40%) estudios positivos; 24 con un defecto, 10 con dos defectos y 5 con tres o más defectos. En el perfil de profilaxis de trombosis hubo 117 (50%) estudios positivos, 68 con un único defecto, 38 con dos y 11 con tres o más. Los perfiles de trombofilia en los diferentes escenarios se muestran en la **Tabla 1**. Dentro de los estudios estándar, los defectos más frecuentes fueron la mutación factor V Leiden y la mutación del gen de la protrombina, junto con la presencia de AAF o AC lúpico, pero en los estudios de trombofilia ampliados, se observó prevalencia importante de elevación de factor VIIIc, junto con la presencia del alelo A1 del genotipo ABO y la mutación del factor 12 46 C/T en estado homocigoto.

Conclusiones: El estudio de trombofilia fue positivo en un tercio de los episodios analizados, aunque en los casos de trombosis y profilaxis de trombosis alcanzó casi el 50%. Los defectos más frecuentes en todos los tipos de episodios fueron el factor V Leiden y la mutación del gen de la protrombina, junto con la presencia de AAF o AC lúpico. En el perfil de complicaciones vasculares gestacionales llama la atención un aumento de incidencia de FVIIIc elevado, de la mutación del factor 12 y el alelo A1 de genotipo ABO.

CO-117 Correlaciones genéticas entre fenotipos eritrocitarios y la enfermedad tromboembólica venosa

Remacha Sevilla Á.F. (1), Vilalta N. (2), Sardà M.P. (1), Pujol-Moix N. (3), Ziyatdinov A. (5), Fontcuberta J. (2), Nomdedéu J. (1), Soria J.M. (4), Souto J.C. (2)

(1) Servicio de Hematología. Hospital de Sant Pau. Barcelona. (2) Unidad de Hemostasia y Trombosis. Hospital de Sant Pau. Barcelona. (3) Departament

Tabla 1. Distribución de los defectos de trombofilia según el tipo de episodio

| CVG y FIR (610) | n | % |
|--|----|------|
| Disfibrinogemia | 3 | 0.8 |
| Hipofibrinogenemia | 5 | 1.4 |
| Anticoagulante lúpico positivo | 20 | 4.8 |
| Anticuerpos antifosfolípidicos positivos | 27 | 6.1 |
| Aumento de los niveles de factor VIII:C | 15 | 12 |
| Déficit de antitrombina | 8 | 2 |
| Déficit de proteína C | 3 | 0.7 |
| Déficit de proteína S | 21 | 5.1 |
| Hiperhomocisteinemia | 8 | 2 |
| Factor V Leiden | 37 | 9 |
| Mutación F2 G20210A | 35 | 8.9 |
| Mutación F12C46T | 25 | 23.8 |
| Mutación antitrombina Cambridge II | 1 | 1.4 |
| Mutación Factor V Cambridge | 1 | 2 |
| Mutación Factor V Hong Kong | 1 | 3 |
| Genotipo ABO. Alelo A1. | 20 | 23.5 |
| Profilaxis trombosis (237) | | |
| Disfibrinogemia | 1 | 0.9 |
| Anticoagulante lúpico positivo | 14 | 9.9 |
| Anticuerpos antifosfolípidicos positivos | 13 | 8.8 |
| Aumento de los niveles de factor VIII:C | 15 | 18 |
| Déficit de antitrombina | 1 | 0.8 |
| Déficit de proteína C | 4 | 3.2 |
| Déficit de proteína S | 10 | 0.8 |
| Hiperhomocisteinemia | 4 | 3.7 |
| Factor V Leiden | 41 | 30 |
| Mutación F2 G20210A | 29 | 20.8 |
| Mutación F12C46T | 14 | 19.7 |
| Mutación antitrombina Cambridge II | 0 | 0 |
| Mutación Factor V Cambridge | 0 | 0 |
| Mutación Factor V Hong Kong | 0 | 0 |
| Genotipo ABO. Alelo A1. | 13 | 19.6 |
| Trombosis (96) | | |
| Disfibrinogemia | 0 | 0 |
| Anticoagulante lúpico positivo | 10 | 14.5 |
| Anticuerpos antifosfolípidicos positivos | 1 | 1.6 |
| Aumento de los niveles de factor VIII:C | 4 | 9.1 |
| Déficit de antitrombina | 1 | 1.7 |
| Déficit de proteína C | 2 | 3.4 |
| Déficit de proteína S | 4 | 6.9 |
| Hiperhomocisteinemia | 4 | 7.4 |
| Factor V Leiden | 10 | 17.5 |
| Mutación F2 G20210A | 13 | 21.3 |
| Mutación F12C46T | 4 | 11.1 |
| Mutación antitrombina Cambridge II | 0 | 0 |
| Mutación Factor V Cambridge | 0 | 0 |
| Mutación Factor V Hong Kong | | |
| Mutación | 0 | 0 |
| Genotipo ABO. Alelo A1. | 13 | 46 |

de Medicina. Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona. (4) Unidad de Genómica de Enfermedades Complejas. Institut d'Investigació Biomèdica Sant Pau. (IIB-Sant Pau). Barcelona

Introducción: La enfermedad tromboembólica venosa (ETE) está relacionada con factores de riesgo genéticos y ambientales. En un estudio previo (*Genetic Analysis of Idiopathic Thrombophilia*, GAIT1) se comprobó su alta heredabilidad (h^2) de la ETE y su relación con varios fenotipos intermediarios (fundamentalmente hemostáticos), identificándose nuevos factores de riesgo (1,2). El proyecto GAIT2 pretende ampliar esos hallazgos, investigando nuevos fenotipos potencialmente implicados en la ETE.

Objetivo: Valorar la relación entre la ETE y un conjunto de fenotipos eritrocitarios.

Metodología: Se estudió la relación entre varios fenotipos eritrocitarios y la ETE dentro del proyecto GAIT2 (935 individuos distribuidos en 35 grandes familias con al menos 10 individuos en 3 o más generaciones). Al igual que en el proyecto GAIT1 (1), se seleccionaron a través de un probando con trombofilia idiopática.

Las variables eritrocitarias incluidas fueron: los recuentos eritrocitarios y sus índices; los reticulocitos y sus fracciones madurativas (HFR, *high*; MFR, *median* y LFR, *low fluorescente reticulocytes*) y la fracción inmadura de reticulocitos (IRF, *immature reticulocyte fraction*), la ratio entre HFR + MFR por el total de reticulocitos; la haptoglobina sérica (Hp); los parámetros férricos (FE, sideremia; CAP, capacidad total de transporte de Fe; SAT, índice de saturación de transferrina; FT, ferritina sérica; sRTF, receptor soluble de la transferrina); vitamina B12 (B12); folato sérico (FOS); folato eritrocitaria (FOE) y homocisteína sérica (Hcy).

Se calculó la h^2 (la proporción de la varianza fenotípica atribuible al efecto de los genes). Las correlaciones entre cada una de las variables y el riesgo de trombosis se analizaron mediante modelos multivariantes de componentes de la varianza. Estudiando estos componentes en grandes familias se pueden estimar de forma robusta sus correlaciones genéticas (ρ_g) y ambientales (ρ_e) (Sequential Oligogenic Linkage Analysis Routines, SOLAR, versión 6.6.2, oficial).

Resultados: La h^2 de la ETE fue muy relevante (0,67). Se observaron correlaciones genéticas entre ETE y Hto (0,52, $p=0,01$), RDW (0,28, $p=0,05$), IRF (0,45, $p=0,008$), SAT (-0,7, $p=0,05$), sRTF (0,4, $p=0,006$) y B12 (0,34, $p=0,03$). No se observaron correlaciones entre ETE y FOS, FOE o Hcy.

Conclusiones: Se ha replicado la alta heredabilidad de la ETE (1) y su correlación genética con algunas variables eritrocitarias. Como en el estudio GAIT1 se correlacionó sRTF y ETE (2). Es de destacar las correlaciones positivas entre ETE y Hto, RDW (anisocitosis eritrocitaria) y IRF (inmadurez de los reticulocitos). Estos resultados están en la línea de la implicación de los eritrocitos en la ETE (3). También sugieren que el riesgo de trombosis y los niveles de los fenotipos detectados (sRTF, SAT, Hto, IRF, RDW y B12) tienen determinantes genéticos comunes, por lo que serían fenotipos intermediarios en la búsqueda de los genes responsables del riesgo de ETE.

Bibliografía

1. Souto JC, Almasy L, Borrell M, Blanco-Vaca F, Mateo J, Soria JM, et al. Genetic susceptibility to thrombosis and its relationship with physiological risk factors: the GAIT Study. *Am J Hum Genet* 2000;67:1452-9.
2. Souto JC, Remacha A, Buil A, Almasy L, Blangero J, Fontcuberta J. Genetic determinants of iron metabolism plasma phenotypes and their relationship with risk of thrombosis. *Haematologica* 2003;88:1436-8.
3. Whelihan MF, Mann KG. The role of the red cell membrane in thrombin generation. *Thromb Res* 2013;131:377-82.

Diátesis hemorrágica

CO-124 Perfil clínico y molecular de la enfermedad de von Willebrand (PCM-EVW-ES): propuesta de un nuevo paradigma diagnóstico

Battle Fonrodona F.J. (1), Pérez-Rodríguez A. (1), Corrales I. (2), López-Fernández M.F. (1), Rodríguez-Trillo Á. (1), Lourés E. (1), Cid A.R. (3), Bonanad S. (3), Cabrera N. (3), Moret A. (3), Parra R. (2), Mingot-Castellano M.E. (4), Balda I. (5), Altisent C. (6), Pérez-Montes R. (4), Fisac R.M. (7), Iruín G. (8), Herrero S. (9), Soto I. (10), de Rueda B. (11), Jiménez-Yuste V. (12), Alonso N. (13), Vilariño D. (14), Arijia O. (15), Campos R. (16), Paloma M.J. (17), Bermejo N. (18), Toll T. (19), Borràs N. (20), Vidal F. (2)

(1) Complejo Hospitalario Universitario A Coruña. INIBIC. A Coruña. (2) Banc de Sang i Teixits. Barcelona. (3) Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia. (4) Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona. (5) Hospital Regional Universitario de Málaga. Málaga. (6) Hospital Universitario Dr. Negrín. Las Palmas de Gran Canaria. (7) Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander. (8) Salud Castilla y León. Segovia. (9) Hospital Universitario Cruces. Barakaldo, Vizcaya. (10) Hospital Universitario de Guadalajara. Guadalajara. (11) Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo. (12) Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza. (13) Hospital Universitario La Paz. Madrid. (14) Hospital Infanta Cristina. Badajoz. (15) Complejo Hospitalario Universitario Santiago de Compostela. A Coruña. (16) Hospital Universitario Lucus Augusti. Lugo. (17) Hospital Jerez de la Frontera. Cádiz. (18) Hospital Virgen del Camino. Pamplona. (19) Hospital San Pedro de Alcántara. Cáceres. (20) Hospital Sant Joan de Deu. Barcelona

Introducción: El diagnóstico de la enfermedad de von Willebrand (EVW) sigue siendo difícil en una proporción relevante de pacientes.

Métodos: Estudio multicéntrico español de una cohorte de 556 pacientes de 330 familias que fueron analizadas centralmente. Se analizó la región codificante del *FWW* por el método de secuenciación de nueva generación o *NGS* en todos los pacientes reclutados, se comparó con el fenotipo, y se estableció un diagnóstico final.

Resultados: Se confirmó EVW en 480 de ellos. Se objetivaron un total de 238 mutaciones diferentes en el *FVW*, 154 de las cuales no estaban incluidas en la *Leiden Open Variation Database* (LOVD). Se encontraron mutaciones en un total de 463 pacientes. Ciento setenta y cuatro pacientes tenían dos o más mutaciones. Ocasionalmente, un fenotipo dominante enmascaraba la presencia de una segunda anomalía. Ciento dieciséis pacientes presentaron mutaciones descritas previamente asociadas a un incremento del aclaramiento del factor von Willebrand (*FVW*). La no disponibilidad de la agregación plaquetar inducida por ristocetina (RIPA), la discordancia entre los resultados de los fenotípicos centrales y la dificultad en la distinción entre la EVW tipo 1 grave y tipo 3 impidió un claro diagnóstico en 70 pacientes. El estudio por NGS facilitó una clasificación adecuada en 63 de ellos. Los restantes 7 pacientes presentaban una nueva mutación pendiente de investigación ulterior. En 5 pacientes con fenotipo 3 y dos con fenotipo 2A/2B que no presentaban mutación, se sospechó/confirmó un síndrome de von Willebrand adquirido.

Conclusiones: Se constató una buena correlación fenotipo/genotipo en un 96.5% de los pacientes. Estos datos parecen apoyar un nuevo paradigma diagnóstico incluyendo la NGS en la primera línea diagnóstica de la EVW.

Becas y otros soportes financieros: Baxter Healthcare Corporation for the PCM-EVW-ES support and Baxter BioScience Grant (H13-000845) for the genetic analysis. The Spanish Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO)-Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) (PI1201494 and RD12/0042/0053).

CO-125 La presencia de rasgos de diferenciación a granulocito basófilo en blastos de pacientes con leucemia promielocítica aguda al diagnóstico se asocia a una mayor frecuencia y severidad de síndrome hemorrágico

Matarras S. (1), Guerri V. (1), Mayado A. (1), Colado-Varela E. (2), Salvador-Osuna C. (3), Barrena S. (1), López A. (1), González M. (4), Puig N. (4), García-Donas G. (5), Gutiérrez O. (6), García-Erce J.A. (7), van der Velden V. (8), van Dongen J. (8), Orfao A. (1)

(1) Servicio de Citometría y Departamento de Medicina. Centro de Investigación del Cáncer. (2) Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo, España. (3) Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza, España. (4) Hospital Universitario de Salamanca. Salamanca, España. (5) Hospital Juan Ramón Jiménez. Huelva, España. (6) Hospital Río Hortega. Valladolid, España. (7) Hospital San Jorge. Huesca, España. (8) Erasmus MC. University Medical Center Rotterdam. Holanda

Introducción: La introducción de la terapia de diferenciación a partir del ácido *todo-trans-retinoico* (ATRA) en leucemia promielocítica aguda (LPA) se ha traducido en la remisión completa de la enfermedad en la mayoría de los pacientes. Sin embargo, alrededor del 15% de los pacientes sufren hemorragias letales al

diagnóstico o durante el tratamiento, lo que representa uno de los mayores campos de investigación en LPA. En el presente trabajo analizamos mediante citometría de flujo multiparamétrica (CMF) el fenotipo de los blastos de 70 pacientes con LPA y su posible relación con la diátesis hemorrágica en LPA.

Métodos: En un total de 70 muestras de médula ósea (MO) de pacientes con LPA de nuevo diagnóstico realizamos un análisis inmunofenotípico multiparamétrico exhaustivo de los blastos mediante el panel EuroFlow para la caracterización de leucemias mieloides agudas y síndromes mielodisplásicos.

Resultados: La caracterización fenotípica de los blastos de LPA muestra la expresión sistemática (en aproximadamente el 100% de los promielocitos clonales) de CD117, CD13, CD33, CD64, CD71, CD38, CD123, CD4, CD9 y mieloperoxidasa citoplasmática, mientras que otros marcadores (aberrantes) se observaron con menor frecuencia: CD35 -60% de casos; 10% de blastos positivos(+)-, CD203c (50%; 10%+), CD7 (45%; 14%+), CD11b (41%; 8%+), CD56 (30%; 30%+), CD36 (30%; 7%+), CD19 (34%; 20%+), CD22 (30%; 17%+), CD10 (27%; 7%+), CD14 (21%; 26%+), CD300e (21%; 8%+), y entre otros. De estos marcadores, tan solo CD203c (exopeptidasa NPP3 de línea de basófilo) mostro una asociación con diátesis hemorrágica de los pacientes al diagnóstico y su severidad. Así, observamos que el 90% de los pacientes sin hemorragia no expresaban CD203c en sus blastos al diagnóstico, mientras el 53% y 80% de los casos de LPA con hemorragias leves y severas expresaban el antígeno ($p < 0.001$). Además observamos un aumento muy significativo del porcentaje de blastos CD203+ en pacientes con hemorragias severas vs. LPA con hemorragias leves y severas (11% vs 2% y 1%, respectivamente). Por otra parte la presencia de basófilos maduros no se asoció a hemorragias severas en ningún caso, aunque si a hemorragias leves en un 35% de los casos. Finalmente no observamos diferencias significativas en los valores de hemostasia en pacientes con distinto grado de severidad del síndrome hemorrágico al diagnóstico.

Conclusión: La presencia de rasgos de diferenciación a granulocito basófilo por parte de los blastos de pacientes con LPA al diagnóstico se asocia a un mayor riesgo y severidad de hemorragia al diagnóstico en ausencia de diferencias significativas en la hemostasia.

CO-126 Generación de un modelo celular para el cribado de fármacos en hemofilia

Martorell Cedrés L. (1), Cortina Giner V. (2), Santamaría Ortiz A. (2), Raya Chamorro Á. (3), Parra López R. (4), Barquineró Mániz J. (1), Vidal Peréz F. (5)

(1) Laboratorio de Terapia Génica y Celular. Institut de Recerca Vall d'Hebron (VHIR). Universidad Autónoma de Barcelona (UAB). Barcelona. Unidad de Diagnóstico y Terapia Molecular. VHIR, UAB. Barcelona. (2) Servicio de Hematología. Unidad de Trombosis y Hemostasia. Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona. (3) Control of Stem Cell Potency. Institute for Bioengineering of Catalonia (IBEC). Barcelona. Catalan Institution for Research and Advanced Studies (ICREA). Barcelona. Networking Center of Biomedical

Research in Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine (CIBER-BBN). Barcelona. (4) Unidad de Hemofilia. Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona. (5) Laboratorio de Coagulopatías Congénitas. Banc de Sang i Teixits (BST). Barcelona. Unidad de Diagnóstico y Terapia Molecular. VHIR, UAB. Barcelona

Introducción: La hemofilia A (HA) está causada por defectos en el gen del factor VIII de la coagulación (F8). Aproximadamente el 10% de las mutaciones descritas en las bases de datos para este locus son mutaciones sin sentido (*nonsense*) que generan codones de parada prematuros (*Premature Termination Codons* -PTCs-) que dan lugar a una proteína truncada, generalmente no funcional, y también a una degradación específica de esos ARNm a través de un mecanismo denominado *nonsense-mediated decay*.

Tradicionalmente el tratamiento de pacientes de HA ha requerido de terapia sustitutiva (bien mediante derivados plasmáticos o FVIII recombinante) lo que representa unos costes muy elevados para la sanidad pública. Además, un porcentaje elevado de los pacientes con HA debida a mutaciones *nonsense* desarrollan inhibidores, lo que aumenta aún más la carga económica.

Recientemente han aparecido estrategias innovadoras para el tratamiento de enfermedades genéticas debidas a mutaciones *nonsense*, que se ha estimado que subyacen hasta en un 30% de pacientes con enfermedades hereditarias, incluyendo fibrosis quística, talasemia, distrofia muscular de Duchenne y hemofilia. Una de estas estrategias es el uso de fármacos capaces de promover la traducción del ARNm a través (*readthrough*) de los PTC's causados por mutaciones *nonsense*. Los aminoglucósidos han sido usados como agentes *readthrough in vitro*, sin embargo su elevada toxicidad ha limitado su uso clínico. Recientemente se han desarrollado nuevas moléculas mejor toleradas para su uso clínico, aunque los resultados son variables y su mecanismo de acción sigue siendo poco conocido.

Objetivo: Este trabajo tiene como objetivos crear un modelo celular de hemofilia debida a mutaciones sin sentido y estudiar el efecto *readthrough* de algunos de estos fármacos.

Métodos: Para ello se han generados construcciones de variantes del F8 con el dominio B deletado (F8BDD) que contienen PTC's, se han transfectado de forma transitoria en células CHO y se ha evaluado la capacidad del agente *readthrough* respecto al tipo de PTC y al aminoácido (AA) incorporado mediante un análisis de los niveles de ARNm por RT-PCR, de los niveles proteína por Western blot e inmunofluorescencia y respecto a la actividad de FVIII coagulante (FVIII:C) obtenida.

Resultados: Los resultados muestran un efecto *readthrough* variable de los fármacos utilizados (Gentamicina>Geneticina>Ataluren), dependiente del tipo de PTC presente y del AA a incorporar de forma preferente.

Conclusiones: Este modelo celular puede ser útil para predecir el efecto *readthrough* de fármacos en pacientes con este tipo de mutaciones. Además, usando la tecnología de *high-throughput screening* puede permitir la identificación de nuevas moléculas con efecto *readthrough*.

Financiación: E-Rare 2011, HEMO-iPS Project, Fondo de Investigaciones Sanitarias, Instituto de Salud Carlos III (P111/03024, P111/03029). Aspire Awards 2014 (Pfizer).

CO-127 La secuenciación masiva permite el diagnóstico molecular de un gran número de trombopenias y trombotopatías hereditarias

Bastida Bermejo J.M. (1), del Rey M. (2), Benito R. (2), Rivera J. (3), Lozano M.L. (3), Riesco S. (4), Peñarrubia M.J. (5), Fisac R. (6), García Frade L.J. (7), Aguilar C. (8), Cebeiro M.J. (5), Martínez M.P. (9), Pardo E. (10), Bermejo N. (11), Aguilera C. (12), Pérez B. (13), Llinarez M.E. (14), Ramos R. (15), González B. (16), Alonso M.T. (17), Marneth A. (18), van der Reijden B. (18), González López T. (19), Cid A.R. (20), Sedivas T. (21), Antorán J.M. (22), López Fernández M.F. (23), Vicente García V. (3), Hernández Rivas J.M. (2), González Porras J.R. (1)

(1) Servicio de Hematología, Unidad de Trombosis y Hemostasia. Hospital Universitario de Salamanca-IBSAL. Salamanca. (2) Servicio de Hematología. IBSAL, Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca. Hospital Universitario Salamanca. IBMCC, Centro de Investigación del Cáncer. Universidad de Salamanca-CSIC. Salamanca. (3) Centro Regional Hemodonación Murcia-IMIB. Hospital Morales Messeguer. Murcia. (4) Servicio Pediatría. Hospital Universitario de Salamanca. Salamanca. (5) Servicio Hematología. Hospital Clínico Universitario Valladolid. Valladolid. (6) Servicio Hematología. Hospital General de Segovia. Segovia. (7) Servicio Hematología. Hospital Universitario Río Hortega. Valladolid. (8) Servicio Hematología. Complejo Asistencial de Soria. Soria. (9) Servicio Hematología. Complejo Asistencial de Ávila. Ávila. (10) Servicio Hematología. Hospital Virgen del Puerto de Plasencia. Plasencia, Cáceres. (11) Complejo Hospitalario de Cáceres. Cáceres. (12) Servicio Hematología. Hospital El Bierzo. Ponferrada, León. (13) Servicio Hematología. Complejo Asistencial de León. León. (14) Servicio Pediatría. Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia. (15) Servicio Hematología. Hospital de Mérida. Mérida, Badajoz. (16) Servicio Pediatría, Hospital Universitario La Paz. Madrid. (17) Servicio Pediatría. Hospital Clínico Universitario Valladolid. Valladolid. (18) Laboratory of Hematology. Radboud University Medical Center. Nijmegen Center for Molecular Life Sciences. Países Bajos. (19) Servicio Hematología. Hospital Universitario de Burgos. Burgos. (20) Unidad de Coagulopatías Congénitas. Hospital Universitario La Fe. Valencia. (21) Servicio de Hematología. Centro Hospitalar de Coimbra. Portugal. (22) Hospital Río Carrión. Palencia. (23) Unidad de Hemostasia y Trombosis. Complejo Hospitalario Universitario. A Coruña

Fundamentos y objetivos: Los trastornos plaquetarios hereditarios (TPH) comprenden las trombopenias hereditarias (TH) y los trastornos funcionales o trombotopatías. El diagnóstico molecular de estas patologías se fundamenta en la secuenciación directa de un gen candidato. Sin embargo, esta estrategia es laboriosa debido a la gran heterogeneidad molecular de estos trastornos. Por ello, hasta en un 50% de los casos no se obtiene un diagnóstico final. Actualmente, la secuenciación masiva permite realizar estudios a mediana-gran escala y diseñar paneles de genes personalizados, por lo que es un método idóneo para el diagnóstico de las enfermedades genéticas con gran heterogeneidad como son los TPH.

Pacientes y métodos: Un total de 36 pacientes con sospecha de TPH, (TH=16 y trombotopatía hereditaria=20), fueron estudiados por NGS. Todos los pacientes incluidos presentaban al menos dos de los siguientes criterios: recuento plaquetario inferior a $<100.000/\text{mm}^3$, antecedentes familiares de trombocitopenia, diátesis hemorrágica, síndromes asociados o estudios funcionales

patológicos. En todos ellos se habían descartado causas secundarias. Se aplicó un panel de NGS que contenía 106 genes relacionados con trastornos plaquetarios previamente validado. Todas las mutaciones patogénicas encontradas fueron confirmadas mediante secuenciación convencional y además se estudiaron en los familiares.

Resultados: El uso del panel de genes permitió el diagnóstico molecular del 77% de los enfermos con TPH (28/36). Trece de los 16 enfermos con TH presentaban mutación genética. Tres enfermos con Síndrome Plaqueta Gris [*NBEAL2*, c.6161C>T y c.6212G>C; *GFI1B*, c.859C>T], 2 May-Hegglin (*MYH9*, c.220A>G), 6 Síndrome Bernard-Soulier, entre los que destacaba un caso con heterocigosis compuesta en *GP1BA*, c.463C>G, c.1022C>G; una enferma con filaminopatía asociada a síndrome (*FLNA*, c.3695C>T) y un caso de trombopenia ligada al cromosoma X (*WAS*, c.802delC). En 3 macrotrombocitopenias autosómicas dominante no se encontró mutación en los genes analizados. En el 75% de las trombopatías, se ha establecido el diagnóstico molecular (15/20): dos enfermos con Trombastenia de Glanzmann (TG) tenían mutaciones en *ITGA2B* (c.2333a>C; c.2063C>T), dos casos con Síndrome Hermansky-Pudlack presentaban mutaciones en *HPS3* (c.2464C>T) y *HPS4* (c.2054delC), dos enfermos con trastornos de señalización del colágeno y ADP tenían mutaciones en *GP6* (c.1206_1209dupTCTG) y *P2YR12* (c.835G>A), una familia presentó una alteración en *GATA1* (C.865C>T), otro caso en *RUNX1* (c.167T>T), ambos estaban caracterizados como Síndromes "Aspirina-Like" (SAL). Además se detectaron 2 disfibrirogenemias [*FGG* (c.902G>A); *FGA* (c.1653delT)], una deficiencia de prekalicreína [*KLKB1* (c.428G>A, c.1643G>A)]. Un caso con enfermedad de von Willebrand (EvW), una EvW tipo 2N (previamente diagnosticado de Hemofilia A) y otro enfermo una EvW tipo plaquetario, que tenían mutaciones en el gen *VWF* (c.2561G>A) y *GP1BA* (c.733G>A) respectivamente. Finalmente un niño diagnosticado de EvW tenía una mutación en *F8* (p.Gln2208Arg). Sin embargo, no se detectó mutación patogénica en un paciente con EvW leve, TG (rs3809865) y 3 SAL. En total el estudio permitió definir la presencia de 24 mutaciones no descritas en la literatura.

Conclusiones: La secuenciación masiva permite la detección, de manera rápida y automatizada, de mutaciones nuevas que puedan explicar la patogenia de las enfermedades hemorrágicas hereditarias. El diagnóstico correcto y precoz facilita el manejo adecuado de estos pacientes, evita tratamientos inapropiados y posibilita el consejo genético.

CO-128 Diseño, optimización y validación de un panel de secuenciación de 23 genes como herramienta de diagnóstico e investigación de las coagulopatías congénitas

Borràs Agustí N. (1), Corrales Insa I. (1), Ramírez Orihuela L. (1), Altisent Roca C. (2), Parra López R. (2), Vidal Pérez F. (1)
(1) Banco de Sangre y Tejidos. Barcelona. (2) Hospital Universitario de la Vall d'Hebron. Barcelona

Introducción: las coagulopatías congénitas presentan un fenotipo clínico muy similar que puede dificultar su clasificación. Los estudios fenotípicos ofrecen una orientación sobre cuál puede ser la coagulopatía responsable, pero el diagnóstico molecular es definitivo para confirmar la enfermedad permitiendo la identificación de mutaciones en los genes implicados. En la actualidad, dado el elevado coste que supone la secuenciación tradicional, el estudio molecular se ha centrado en las coagulopatías más frecuentes (VWD HA y HB), pero existen otras enfermedades: déficit de factores II, V, VII, X, XI, XII y XIII, déficit combinado de factores V y VIII, trombastenia de Glanzmann, alteraciones en el fibrinógeno y la púrpura trombocitopénica congénita. La aparición de la secuenciación masiva paralela (NGS) ha revolucionado el mundo de la genética permitiendo secuenciar un elevado número de muestras y genes simultáneamente, reduciendo los costes, tiempo de preparación y análisis.

Objetivo: Nuestro objetivo es utilizar la NGS y diseñar un panel de genes que permita realizar el estudio molecular de los genes asociados con la cascada de coagulación o con implicación descrita en las coagulopatías.

Métodos: Se diseñó un panel de genes (*GeneRead DNAseq Custom Panel V2* de QIAGEN) relacionados con las catorce coagulopatías descritas anteriormente. Concretamente, el panel permite amplificar 23 genes candidatos (*VWF*, *F8*, *F9*, *F2*, *F5*, *F7*, *F10*, *F11*, *F12*, *F13A1*, *F13B*, *MCFD2*, *LMAN1*, *ITGB3*, *ITGA2B*, *FGG*, *FGA*, *FGB*, *ADAMTS13*, *MTHFR*, *GP1BB*, *GP1BA* y *GP9*) por paciente en sólo 4 múltiplex PCRs. Tras la amplificación de las regiones de interés (regiones exónicas e intrónicas flanqueantes) se procede a la construcción de librerías indexadas mediante el sistema *NEBNext Ultra DNA* (New England Biolabs), que tras su purificación son secuenciadas en la plataforma MiSeq (Illumina).

Resultados: Para la puesta a punto de esta técnica se seleccionaron 24 muestras previamente caracterizadas por secuenciación tradicional, con mutaciones en diferentes genes. La sensibilidad y especificidad de esta metodología fue del 100%.

En el estudio de validación posterior, se analizaron 48 pacientes y familiares, sin estudio genético previo, y las mutaciones identificadas se confirmaron por secuenciación de *Sanger* con una concordancia del 100%. El panel diseñado cubre el 98,9% de las regiones genómicas de interés, lo que anticipa la robustez y utilidad del diseño. Por este motivo, el método se ha incorporado a la rutina del laboratorio de diagnóstico molecular y, hasta el momento, se ha aplicado a más de 200 muestras.

Conclusiones: El estudio simultáneo de los genes responsables de las coagulopatías congénitas permite realizar el estudio genético de todas ellas aplicando la misma técnica y ofrece información molecular del resto de genes implicados en la coagulación. Por último, no es desdeñable la información de seis de los polimorfismos más frecuentemente asociados a riesgo trombótico, que puede ser esencial a la hora de evaluar la variabilidad fenotípica entre los pacientes. Todo ello ofrece un diagnóstico de mayor precisión que resulta especialmente relevante en los casos en los que la clínica y el fenotipo pueden ser confusos, además de profundizar en la investigación de los fundamentos biológicos de las coagulopatías y mejorar el conocimiento del riesgo hemorrágico.

CO-129 Aplicación de las nuevas tecnologías de secuenciación masiva para el diagnóstico de las diátesis hemorrágicas congénitas de etiología desconocida

Corrales Insa I. (1), Borràs Agustí N. (1), Ramírez Orihuela L. (1), Parra López R. (2), Altisent Roca C. (2), Vidal Pérez F. (1)

(1) Unitat de Diagnòstic i Teràpia Molecular. Banc de Sang i Teixits. Barcelona.

(2) Unitat d'Hemofilia. Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona

Introducción: El diagnóstico de las coagulopatías congénitas más frecuentes (Hemofilia y VWD) es relativamente sencillo ya que los algoritmos diagnósticos permiten orientar su clasificación y existe la posibilidad de realizar estudios moleculares para la identificación de las distintas mutaciones. Sin embargo, en el 5-10% de los pacientes diagnosticados de otras coagulopatías congénitas graves (déficits de FII, FV, FVII, FXI y FXIII, entre otras) no es posible determinar el defecto genético. Asimismo, el diagnóstico de los pacientes con diátesis hemorrágica leve, en general debida a defectos en la hemostasia primaria, conlleva una gran dificultad cuando se ha descartado la VWD o las trombotopatías más frecuentes. Hasta el momento, aunque existieran unas claras características clínicas de una enfermedad hemorrágica hereditaria, el estudio genético tradicional resultaba impracticable desde el punto de vista técnico y económico. Sin embargo, las nuevas técnicas de secuenciación masiva permiten realizar un análisis genómico exhaustivo, y esto cobra especial sentido para abordar el estudio de las diátesis hemorrágicas congénitas de causa desconocida.

Métodos: se ha utilizado el kit de secuenciación de exoma clínico *TruSight One* (Illumina) que, a diferencia del exoma completo, permite secuenciar de manera dirigida unos 62.000 exones codificantes de 4.813 genes (12 Mb) asociados a fenotipos patológicos de herencia mendeliana. La selección de los genes se ha realizado en base a la información obtenida de dos grandes bases de datos: *Human Gene Mutation Database* (HGMD) y *Online Mendelian Inheritance in Man* (OMIM). El análisis bioinformático se ha llevado a cabo mediante el programa *VariantStudio* (Illumina) que permite cribar, clasificar e informar de las variantes genéticas halladas.

Resultados: Se ha realizado una selección de pacientes en los que los síntomas clínicos hacen sospechar de una base molecular concreta pero con muchos genes potencialmente implicados, difíciles de abordar mediante técnicas clásicas como son las anomalías del colágeno, los déficits funcionales de las plaquetas o la ausencia de mutación en el gen de referencia. Los resultados preliminares han permitido identificar variaciones en genes previamente asociados al fenotipo estudiado. Asimismo, también se han detectado mutaciones en genes cuyo efecto no había sido anteriormente relacionado con la diátesis hemorrágica y resulta imprescindible ampliar los estudios y profundizar en la contribución real de cada variante detectada en el fenotipo hemorrágico.

Conclusiones: Las nuevas técnicas de secuenciación del exoma clínico parecen ideales para abordar aquellos casos cuyo diagnóstico genético a partir de los resultados clínicos y fenotípicos se muestra esquivo. La posibilidad de secuenciar más de 4.000 genes relacio-

nados con patologías humanas en menos de una semana y a un coste asequible puede ofrecer valiosas respuestas acerca de las bases moleculares de las coagulopatías graves en las que no se encuentra mutación, así como en las diátesis hemorrágicas leves de etiología desconocida y en las discrepancias entre fenotipo y genotipo. Profundizar en la investigación de los fundamentos biológicos de las coagulopatías, mejorar el conocimiento del riesgo hemorrágico e introducir innovación tecnológica en el campo asistencial, permitirá impulsar mejoras en la salud y calidad de vida de estos pacientes.

CO-130 Estudio multicéntrico de pacientes con disfibrinogenemia congénita

Mesa E. (1), Moret A. (1), Cabrera N. (1), Alberca I. (2), Gómez N. (3), Leyva R. (4), Haya S. (5), Cid A.R. (5), Bermejo N. (6), Moreto A. (7), Asenjo S. (8), Arijá O. (9), Dolz S. (1), Costa J. (10), Altisent C. (11), Marco P. (12), Aznar J.A. (5), Vila V. (1), Bonanad S. (5)

(1) Instituto de Investigación Sanitaria La Fe. Valencia. (2) Hospital Universitario de Salamanca. Salamanca. (3) Hospital Universitario de La Princesa. Madrid. (4) Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada. (5) Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia. (6) Hospital San Pedro de Alcántara. Cáceres. (7) Hospital Universitario de Cruces. Barakaldo, Vizcaya. (8) Hospital Clínico San Carlos. Madrid. (9) Hospital Lucus Augusti. Lugo. (10) Hospital Teresa Herrera. A Coruña. (11) Hospital Vall d'Hebrón. Barcelona. (12) Hospital General Universitario de Alicante. Alicante

Introducción: El registro de defectos de fibrinógeno (Fg) es un proyecto multicéntrico del grupo de trabajo de Patología Hemorrágica de la SETH.

Objetivo: Incluir los casos de disfibrinogenemia (DisFg) en la población española, caracterizar las mutaciones causantes del defecto y analizar la asociación entre fenotipo y genotipo.

Pacientes y métodos: Se analizaron los exones 2, 3, 4 del gen FGA; 2, 8 del gen FGB; y 8, 9 del gen FGG en 104 pacientes de 53 familias, procedentes de 24 hospitales. Se realizó extracción del DNA (UltraClean), amplificación por PCR y purificación (exoSAP) y secuenciación de muestras purificadas por columnas (Performa DTR Gel Filtration Cartridges). La funcionalidad del Fg se valoró por cinética de formación fibrina (Fn) por espectrofotometría.

Resultados: Se han caracterizado 11 mutaciones en 52 pacientes. En FGA se han caracterizado 3 mutaciones en el exón 2 presentes en 19 pacientes, 14 casos en A α Arg16Cys, 4 casos en A Claudia Sánchez, Arg16His y 1 caso en A α Arg19Gly; no se han encontrado mutaciones en exones 3 y 4. En FGB se ha caracterizado 1 mutación novel en el exón 2, en B β His67Gln (1 caso) y 1 mutación en el exón 8, B β 462 (3 casos). En FGG se han caracterizado 5 mutaciones en el exón 8, 2 de ellas novel, presentes en 25 pacientes: γ Tyr274Cys (1 caso, novel), γ Arg275His (18 casos), γ Arg275Cys (4 casos), γ Met310Thr (1 caso) y γ Gly333Ser (1 caso, novel); en el exón 9 se ha caracterizado la mutación γ Ile367Ser en 4 pacientes. La clínica asociada a la mutación en exón 2 de FGA es 30% hemorrágica, 16% trombótica y 54% asintomática. Se asocia con 1 caso de aborto. En FGB, la mutación B β His67 se asocia con fenotipo trombótico por modificar el sitio ligando de la trombi-

na; la mutación Bβ462 afecta al codón de stop, produciendo una elongación extra de 12 aminoácidos y gran disfuncionalidad del Fg (función <10%). En FGG la mutación γArg275 se asocia más con fenotipo trombotico que con hemorrágico (13,6 vs. 4,5%), aunque la mayoría son asintomáticos. En general, las DisFg con clínica hemorrágica presentan mayor disminución de funcionalidad del Fg que las de clínica trombotica (26% vs. 47%).

Conclusión: La mayoría de las DisFg son asintomáticas independiente de la mutación causante. Puesto que una misma mutación se puede asociar con clínica trombotica y hemorrágica, las mutaciones no fueron predictivas del fenotipo. La función de Fg puede ayudar a valorar el riesgo de sufrir algún evento y prevenirlo mediante la adecuada profilaxis.

CO-131 Diagnóstico molecular de hemofilia A y B mediante Next-Generation Sequencing

Bastida Bermejo J.M. (1), Sarasquete M.E. (2), Balanzategui A. (2), Davila J. (3), Fontecha E. (4), Fisac R. (5), García-Frade L.J. (4), Aguilar C. (6), Martínez M.P. (7), Pardal E. (8), Rosado B. (5), Aguilera C. (9), Pérez B. (10), Ramos R. (11), Cardesa M.R. (11), Antoran J.M. (12), García-Sanz R. (2), González M. (2), González-Porras J.R. (1)

(1) Unidad de Trombosis y Hemostasia, (2) Unidad de Biología Molecular y (3) Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Salamanca-IBSAL. Salamanca. (4) Hospital Universitario Río Hortega. Valladolid. (5) Hospital General de Segovia. Segovia. (6) Complejo Asistencial de Soria. Soria. (7) Complejo Asistencial de Ávila. Ávila. (8) Hospital Virgen del Puerto. Plasencia. (9) Hospital El Bierzo. Ponferrada, León. (10) Complejo Asistencial de León. León. (11) Hospital de Mérida. Badajoz. (12) Hospital Río Carrión. Palencia

Fundamentos: La hemofilia A y B son enfermedades hemorrágicas con herencia ligada al cromosoma X, afectando a 1/5.000 hombres y 1/30.000, respectivamente. Se caracterizan por un defecto cuantitativo del factor VIII (FVIII) y factor IX de la coagulación. El gen *F8* (Xq28) tiene 186kb y 26 exones mientras que el gen *F9* (Xq27.1) mide 38kb y contiene 8 exones. La mutación más frecuente es la inversión del intrón 22 (IVS22) que ocurre en más del 45% de los casos de Hemofilia A grave. Sin embargo, existe una gran heterogeneidad mutacional. Clásicamente, el diagnóstico molecular se realiza mediante secuenciación directa tipo SANGER, siendo una técnica muy laboriosa y con gran empleo de tiempo.

Objetivo: El objetivo del estudio fue analizar las regiones codificantes de los genes *F8* y *F9* mediante tecnología de Next-Generation Sequencing (NGS), para establecer un algoritmo que nos permita mejorar el diagnóstico molecular en hemofilia A y B.

Pacientes y métodos: Se incluyeron 47 muestras de pacientes no relacionados diagnosticados de Hemofilia A (n=37) y B (n=10), procedentes de Castilla y León y Extremadura, y 28 mujeres para descartar el estado de portadora. En los pacientes con hemofilia A grave se analizó la inversión del intrón 22 (IVS22) mediante *subcloning-PCR* e inversión del intrón 1 (IVS1) mediante *longdistance PCR*. Solo aquellos casos de hemofilia A grave sin inversión, y las muestras restantes, fueron incluidos para el estudio de mutaciones

mediante NGS (Figura 1). Se diseñó un panel que incluía las regiones codificantes y sus respectivas zonas flanqueantes de *F8* y *F9* con el software Desing Studio utilizando un amplicón (250pb) y un padding (25pb). Los datos fueron analizados utilizando el software Variant Studio 2.2 e Integrative Genomics Viewer.

Resultados: Se analizaron 75 individuos (Tabla 1). En hemofilia A grave (n=16) se identificó la IVS22 en 9 pacientes (56%). No se

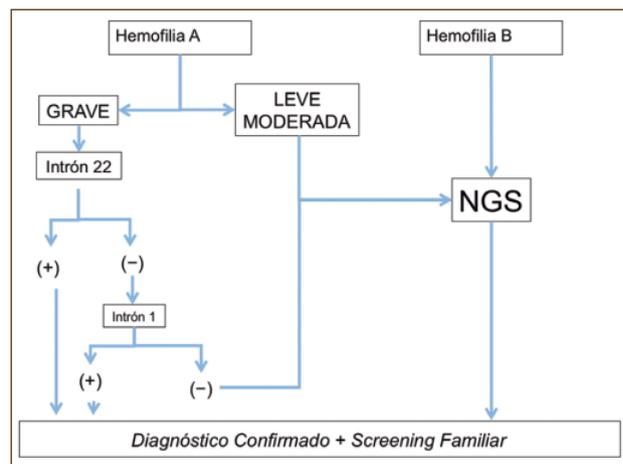


Figura 1. Algoritmo molecular para identificación de mutaciones en hemofilia mediante NGS.

Tabla 1. Principales características y mutaciones observadas en los pacientes

| Variable | Hemofilia A [N] | Hemofilia B [N] | Total [N] |
|-----------------------------------|-----------------|-----------------------|-----------|
| Total Hemofílicos No relacionados | 37 | 10 | 47 |
| Gravedad | | | |
| Leve | 19 | 3 | 22 |
| Moderada | 2 | 5 | 7 |
| Grave | 16 | 2 | 18 |
| Análisis Mutacional | | | |
| Inversión Intrón 22 | 9 | --- | 9 |
| Inversión Intrón 1 | 0 | --- | 0 |
| NGS | 28 | 10 | 38 |
| Tipo de Mutación | | | |
| Missense | 17 | 7 | 24 |
| Nonsense | 2 | 1 | 3 |
| Delección | 2 | --- | 2 |
| Inversión | 9 | --- | 9 |
| Ninguna | 6 | 2 | 8 |
| Dominio afecto F8 | | Exón afecto F9 | |
| A1 (E1-E8) | 4 | | |
| A2 (E9-E13) | 4 | | |
| B (E14) | 2 | E2 x 2 | |
| A3 (E15-E20) | 4 | E5 x 1 | |
| C1 (E21-E24) | 12 (9 IVS22) | E6 x 1 | |
| C2 (E25-E26) | 4 | E8 x 4 | |
| Total Mutación | 30 | 8 | 38 |
| IV22 | 9 | --- | 9 |
| Nueva | 4 | 2 | 6 |
| Descrita | 17 | 6 | 23 |
| Portadoras Total: | 19 | 9 | 28 |
| Familiar | | | |
| Si | 7 | 5 | 12 |
| No | 12 | 4 | 16 |
| Obligadas | 7 | 1 | 8 |
| Posibles | 12 | 8 | 20 |
| Confirmadas | 11 | 6 | 17 |
| Descartadas | 4 | 3 | 7 |
| Pendiente | 4 | 0 | 4 |
| Total Muestras | | | 75 |

describieron mutaciones en IVS1. Con NGS se detectaron 29 anomalías: 24 mutaciones *missense* (A=17 y B=7), 3 mutaciones *nonsense* y 2 deleciones. Las anomalías se distribuyeron de forma homogénea por los principales dominios del F8, mientras que en el caso de F9, la mitad de los casos (n=4) afectaron al exón 8. Seis mutaciones no habían sido descritas previamente en la literatura. Finalmente, hubo 6 pacientes (A=4 y B=2) en los que no se encontró ninguna anomalía genética. De las 28 portadoras analizadas (Obligadas=8), 17 casos fueron confirmados, mientras que en 7 casos se descartó, uno se etiquetó de enfermedad de von Willebrand tipo 2N (FVW, p.Arg854Gln). Hubo 2 portadoras obligadas en las que no se encontró ninguna anomalía, si bien tampoco se conocía la del propositus.

En los pacientes sin mutación se están investigando las regiones intrónicas. En el momento actual se están analizando 96 casos. Los resultados serán ampliados y actualizados para el congreso.

Conclusiones: La NGS permite la detección, de manera rápida y automatizada, de mutaciones nuevas o ya conocidas relacionadas con la patogenia de la enfermedad, y por tanto facilita el diagnóstico molecular de los enfermos con Hemofilia y su manejo clínico.

Financiación: Este trabajo ha sido promovido por el IBSAL e INNOCAMPUS y está financiado con una beca independiente de Pfizer.

CO-132 Ecografía: correlación interobservador en la valoración de estructuras anatómicas en rodilla relacionadas con el hemartros en pacientes con hemofilia

Querol Fuentes F. (1), Pérez Alenda S. (2), Jaca Navarro M. (1), Carrasco J.J. (2), Bonanad Boix S. (1)

(1) Hospital La Fe. Valencia. (2) Universidad de Valencia. Valencia

Introducción: La hemartrosis representa la patología hemorrágica más frecuente en el paciente hemofílico; Repercute directamente en la fisiopatología de la degeneración articular temprana, ocasiona dolor, incapacidad funcional y, consecuentemente, alteración de la calidad de vida. Es la principal causa de la terapéutica sustitutiva de factor VIII/IX, tanto en la modalidad –a demanda–, para el tratamiento del sangrado, como en la modalidad –profilaxis–, para la prevención de la artropatía hemofílica. El diagnóstico de la hemartrosis aguda, y su control evolutivo, es clásicamente realizado mediante exploración clínica, pero la utilización de la ecografía ha demostrado la objetividad de la evaluación del derrame y el beneficio de su uso.

Objetivo: El objetivo de este trabajo es la validación de un protocolo de exploración ecográfica como herramienta de primer orden en la atención clínica de la hemofilia.

Material y métodos: En el transcurso de la exploración estándar programada en pacientes hemofílicos (n=124 pacientes hemofilia grave), que implica obtención de imágenes ecográficas de la articulación de la rodilla. Han sido analizadas las exploraciones de 18 pacientes (36 rodillas) realizadas en 2015 (enero-mayo), siguiendo un protocolo sistemático de un solo corte longitudinal utilizando como referencia el polo superior de la rótula a nivel

central, localizando tendón cuadriceps y cortical femoral. Dos exploradores independientes han obtenido las imágenes 36 por cada explorador. Un evaluador independiente realizó las mediciones de las estructuras correspondientes a piel y celular subcutáneo, tendón, grasa, derrame y distancia de superficie a cortical. Los datos fueron introducidos en una base Excel® y posteriormente analizados mediante el paquete estadístico SPSS18.1®

Resultados: No se obtuvieron diferencias significativas en los valores correspondientes a las estructuras estudiadas. En valores de derrame (hemartrosis/sinovitis) con diámetros de hasta 35 mm las diferencias inter observador no superan los 4 mm.

Discusión: El protocolo ecográfico pretende la estandarización de una exploración sencilla, de menos de 1 minuto por articulación, con el objeto de no interferir en la atención clínica rutinaria. Los beneficios de la ecografía, en la exploración de partes blandas musculoesqueléticas, han sido suficientemente demostrados, si bien, en algunas lesiones, se señalan las características de operador dependiente. Las secciones longitudinales utilizadas se corresponden con las recomendaciones generales, su empleo en hemofilia todavía no es rutinario en la mayoría de los centros.

Conclusiones: La utilización de este protocolo es perfectamente reproducible y permite la objetivación de lesiones en la rodilla del paciente con hemofilia.

CO-133 Estenosis aórtica severa y síndrome de von Willebrand adquirido: ¿verdadero o falso?

González Cabeza E., Bosa Ojeda F., Machado Machado P., Vargas Torres M., Yanes Bowden G., Martín Martín A., de Bonis Braun C., Martín Batista S., Sánchez-Grande A., Padilla Pérez M.I., Ferrer Hita J, Soria Santa B.B., Hernández García M.T., Raya Sánchez J.M.

Hospital Universitario de Canarias. La Laguna, Tenerife

Introducción: Se ha descrito que la estenosis aórtica severa (EAS) puede complicarse con sangrado secundario a un síndrome de von Willebrand tipo 2A adquirido (SvW2A), por un déficit selectivo de los multímeros de alto peso molecular (MAPM). Sin embargo, se desconocen la prevalencia y la causa de esta asociación, y no todos los pacientes con EAS tienen historial de diátesis hemorrágica ni semiología propia de este trastorno de la hemostasia.

Objetivos: Los objetivos del estudio fueron los siguientes: confirmar la asociación entre EAS y SvW2A, estudiar la relación entre gravedad de la valvulopatía y magnitud de la alteración hemostática, y la reversibilidad de esta última tras recambio valvular. Describimos los resultados en una serie preliminar de pacientes incluidos en este proyecto.

Métodos: Análisis prospectivo observacional de la función plaquetaria y de los MAPM del FvW en 13 pacientes (edad entre 65 y 88 años) con EAS sintomática (área media 0'3 - 0'9 cm²) e indicación de sustitución valvular. Se extrajeron 2 muestras de sangre: una basal y otra a las 72 horas post-recambio valvular. La sustitución valvular fue quirúrgica en 10 casos y percutánea en 3.

Se recogieron los antecedentes hemorrágicos mediante un cuestionario validado de historia de sangrado. Se excluyeron pacientes que además presentaran patología autoinmune, oncológicos, otra valvulopatía concomitante, insuficiencia renal grave, insuficiencia hepática o imposibilidad de interrupción de antiagregación 7 días antes del primer análisis. Se realizó estudio de coagulación básico (incluido tiempo de obturación), test de agregación plaquetaria, determinación de FvW:Ag, FvW:RCO y FVIII:C, así como estudio electroforético del FvW en gel de agarosa al 12 %, con extrapolación del resultado a curva densitométrica para cálculo del porcentaje de MAPM (≥ 15 Mers).

Resultados: En todos los pacientes se detectó un descenso variable de los MAPM antes de proceder al recambio valvular. El 75% de los pacientes presentaba alteración de la agregación plaquetaria en el análisis basal y sólo 2 pacientes tenían antecedentes de sangrado (uno gastrointestinal y otro genitourinario, ambos estando antiagregados). En todos los casos hubo una recuperación de los MAPM tras recambio valvular ($P < 0,01$). No se encontró relación entre el déficit de MAPM, la severidad de la estenosis y los antecedentes hemorrágicos. En la **Figura 1** se muestra la curva

densitométrica para los múltiplos de FvW de un paciente afecto de EAS, antes y después del recambio valvular: obsérvese el incremento de los MAPM en la segunda curva (**Figura 1**).

Conclusiones: En nuestra población confirmamos la existencia de disfunción plaquetaria basal, alteración cualitativa del FvW y recuperación de la misma tras recambio valvular. No obstante, es necesario reclutar un número mayor de pacientes, así como realizar una nueva determinación tras varios meses de la intervención, para confirmar estos resultados preliminares.

Conceptos básicos en hemostasia y métodos de diagnóstico y marcadores

CO-134 *Next Generation Sequencing* para el diagnóstico genético en deficiencia de plasminógeno

Martín Fernández L. (1), Pérez R. (1), Corrales I. (2), Ramírez L. (2), Vidal F. (2), Marco P. (3), Soria J.M. (1)

(1) Unitat de Genòmica de Malalties Complexes. Institut d'Investigació Biomèdica Sant Pau (IIB-Sant Pau). Barcelona. (2) Unitat de Diagnòstic i Teràpia Molecular. Banc de Sang i Teixits. Barcelona. (3) Departament de Hematologia. Hospital General. Alicante

Introducción: Diversas alteraciones genéticas en el gen estructural *PLG* se han relacionado con la deficiencia de plasminógeno. Esta deficiencia habitualmente no se asocia a trombosis, sino con secreciones pétreas en ojos y vagina. Nuestro objetivo consiste en secuenciar el gen *PLG* mediante *Next Generation Sequencing* (NGS) para identificar las alteraciones genéticas causantes de deficiencia funcional de plasminógeno en 4 familias, cuyos polimorfismos más frecuentes asociados a esta deficiencia se han descartado. Además, teniendo en cuenta que los *propositus* de las familias estudiadas tuvieron trombosis venosas o arteriales, se han caracterizado los factores de riesgo genético de trombofilia.

Métodos: Se estudiaron 13 individuos de 4 familias con deficiencia de plasminógeno. El gen *PLG* se amplificó mediante *SequalPrep Long PCR kit* (Life technologies) en 9 de los individuos. Las librerías se prepararon mediante el kit *Nextera XT* (Illumina) y se secuenciaron mediante la plataforma *Miseq* (Illumina). Los programas bioinformáticos *CLC Genomics Workbench* (Qiagen) y *VariantStudio* (Illumina) se utilizaron para el análisis de resultados y las mutaciones candidatas se validaron en las respecti-

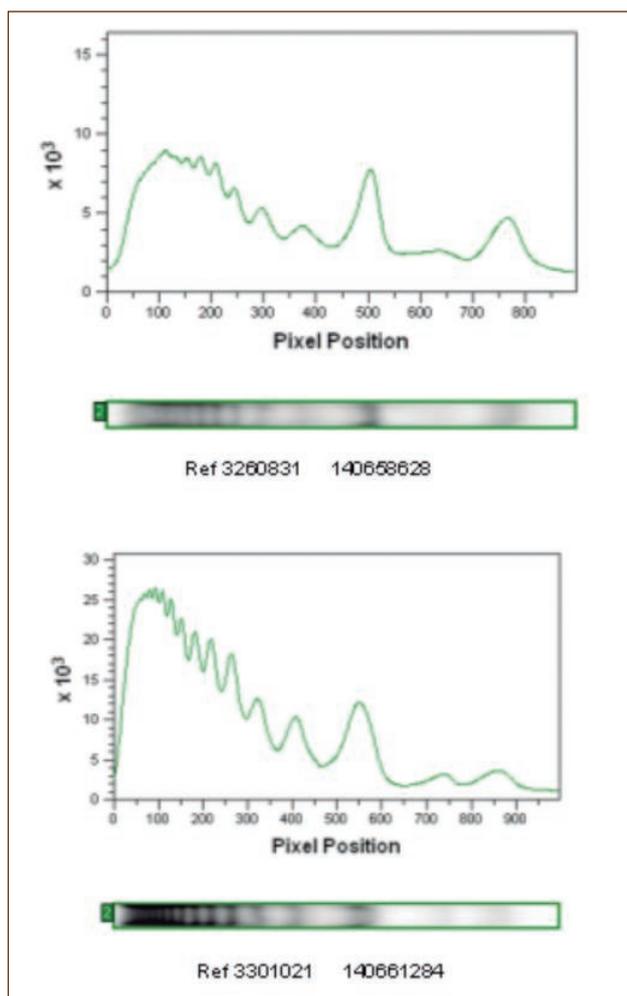


Figura 1.

vas familias mediante secuenciación de *Sanger*. Además, se realizaron estudios *in silico* de predicción de funcionalidad mediante el programa *Alamut Visual* (Interactive Biosoftware) y *Project HOPE* (NBIC). Por último, se caracterizó el perfil genético de trombofilia mediante el kit *Thrombo inCode* (Ferrer inCode).

Resultados: En el gen *PLG* se detectaron dos mutaciones “missense” en heterocigosis, en dos familias distintas. Estas mutaciones, situadas en dominios importantes para la principal actividad de la proteína, podrían ser las responsables de la deficiencia en plasminógeno en estos individuos, ya que los portadores son todos individuos afectados. Además, se identificó una mutación sinónima en el gen *PLG* en un individuo con déficit de plasminógeno. Este paciente también es portador homocigoto para alelos de riesgo en el gen *F12* y en el *F13*. En la otra familia no se detectaron mutaciones en el gen *PLG* potencialmente funcionales, ni un perfil genético de riesgo en trombofilia.

Conclusiones: La metodología de NGS permite contribuir al diagnóstico de deficiencia de plasminógeno con la detección de variantes nuevas o previamente descritas, abordando el gen en su totalidad. Alguno de los pacientes estudiados también se asociaba a otras variantes genéticas protrombóticas en combinación con la deficiencia en plasminógeno.

Financiación: Red Investigación Cardiovascular RD12/0042/0032, RD12/0042/0053, FIS P11/00184, P112/00612, P114/0582 y PFIS F112/00322.

CO-135 Los niveles de ADN plasmático se asocian al riesgo de ictus en pacientes anticoagulados por fibrilación auricular

Arroyo Rodríguez A.B. (1), Roldán V. (1), Lendines A. (1), Salloum Asfar S. (1), Teruel Montoya R. (1), Marín F. (2), García-Barberá N. (1), Vicente V. (1), González-Conejero R. (1), Martínez C. (1)

(1) Servicio de Hematología y Oncología Médica. Centro Regional de Hemodonación. Hospital Universitario Morales Meseguer. Universidad de Murcia. IMIB Arrixaca. Murcia. (2) Servicio de Cardiología. Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Universidad de Murcia. IMIB Arrixaca. Murcia

Introducción: La fibrilación auricular (FA) ocasiona un estado inflamatorio y protrombótico crónico que desencadena con frecuencia complicaciones tromboembólicas. La indicación de anticoagulación se hace con escalas clínicas, estando actualmente en uso la CHA2DS2-VASc. Hay pocos datos sobre la información pronóstica de complicaciones protrombóticas que pueden aportar algunos biomarcadores plasmáticos en estos pacientes. Recientemente, se ha descrito la relación entre ADN extracelular circulante y trombosis tanto en modelos animales como en patología aguda.

Objetivo: Investigar el valor del ADN circulante como biomarcador pronóstico de eventos cardiovasculares adversos en pacientes con FA anticoagulados.

Pacientes y métodos: Incluimos 248 sujetos sanos (59% hombres; mediana edad 46; rango 18-95) y 485 pacientes con FA (53% hombres; mediana edad 76, rango 71-81) con TAO estable

(6 meses previos INR 2-3) y un seguimiento de 7 años (mediana: 2639 días) y se recogieron los eventos cardiovasculares mayores (ictus, síndrome coronario agudo, edema agudo de pulmón) y éxitus. La cuantificación de ADN plasmático se hizo por fluorimetría (Sytox Green). La relación ADN/eventos se analizó mediante regresión de Cox.

Resultados: En controles, el ADN en plasma se mantiene estable hasta los 75 años y aumenta progresiva y significativamente a partir de esa edad [<75 (n=221): $50 \text{ ng/mL} \pm 0.02$ vs. ≥ 75 (n=26): $80 \text{ ng/mL} \pm 0.01$, $p < 10^{-10}$]. Por ello, seleccionamos pacientes <75 años [n=192, 67% varones, edad 69 (64-72)]. Durante el seguimiento, 23 tuvieron hemorragia mayor, 19 ictus y hubo 41 éxitus. El ADN libre fue mayor que en los controles: $70 \text{ ng/mL} \pm 0.05$. En el análisis univariado el ADN plasmático se asoció con riesgo de ictus (RR: 1.08; $p=0.002$; 1.03-1.13), de hemorragia (RR: 1.07; $p=0.005$; 1.02-1.12) y éxitus (RR: 1.04; $p=0.049$; 1.00-1.08). Ajustando por la escala CHA₂DS₂-VASc, el riesgo de ictus experimentó un aumento acumulado de 1.07 por cada 10 ng/mL de ADN (RR: 1.07; $p=0.007$; 1.02-1.13).

Conclusiones: El aumento de ADN plasmático guarda correlación positiva y significativa con la edad, por lo que cualquier comparación de este factor debe ajustarse por edad, especialmente en sujetos >75 años. Este estudio sugiere que en pacientes con FA anticoagulados, el ADN circulante plasmático puede ofrecer una información pronóstica que podría complementar a las escalas clínicas establecidas, como la CHA₂DS₂-VASc, para la predicción de ictus. La validación de estos resultados en una población más amplia abriría la posibilidad de implementar dicho marcador dentro de la práctica clínica.

ISCIII y FEDER (P14/00253 y RIC RD12/0042/0050)

CO-136 Cuantificación de complejos circulantes de proteína C activada con alfa2-macroglobulina

Martos Marín L., Navarro Rosales S., Ramón Núñez L.A., Bonet Estruch E., Bonanad Boix S., España Furió F., Medina Badenes P.

Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia

Introducción: Se han descrito dos principales inhibidores fisiológicos de la proteína C activada (APC) en plasma, el inhibidor de la proteína C (PCI) y la α_1 -antitripsina (α_1 AT), así como la presencia en plasma de complejos de APC con α_2 -macroglobulina (APC: α_2 M) por inmunoblotting, siendo la formación de estos complejos dependiente de la presencia de cationes divalentes, pero no se dispone de un ensayo específico para cuantificar el complejo APC: α_2 M. Por ello, hemos puesto a punto un ELISA para la medida de APC: α_2 M en plasma.

Métodos: La sangre de 20 donantes sanos se anticoaguló con hirudina (300 U/ml) y la mezcla de estos 20 plasmas se incubó con 2 ó 10 $\mu\text{g/ml}$ de APC. A diferentes intervalos de tiempo, se extrajeron alícuotas y se cuantificaron los complejos APC:PCI, APC: α_1 AT y APC: α_2 M. Para la medida del complejo APC: α_2 M, las muestras se incubaron previamente con 5,8 μl de ditiotreitól

0,24 M durante 20 min a temperatura ambiente (TA), y luego con 5,8 μ l de iodoacetamida 0,6 M durante 30 min a TA. Como anticuerpo de captura se usó un anticuerpo monoclonal anti-PC, y para la detección un anticuerpo policlonal anti- α_2 M biotinilado.

Resultados: El rango lineal de detección del ensayo de APC: α_2 M fue de 0,031 a 8 ng/ml (Figura 1), con coeficientes de variación intra-e inter-ensayo de 5-16%. Al añadir 2 μ g/ml de APC al plasma hirudizado, tras 3 horas de incubación, el plasma contenía 0,68, 0,55 y 0,27 μ g/ml de APC unido a PCI (45,5%), α_1 AT (36,8%) y α_2 M (17,7%), mientras que al añadir 10 μ g/ml de APC, las concentraciones fueron 2,2, 3,1 y 2,6 μ g/ml de APC acomplexado a PCI (27,7%), α_1 AT (39,4%) y α_2 M (32,9%), respectivamente (Figura 2). El plasma de 4 de los 5 sujetos sanos analizados tenía niveles detectables de

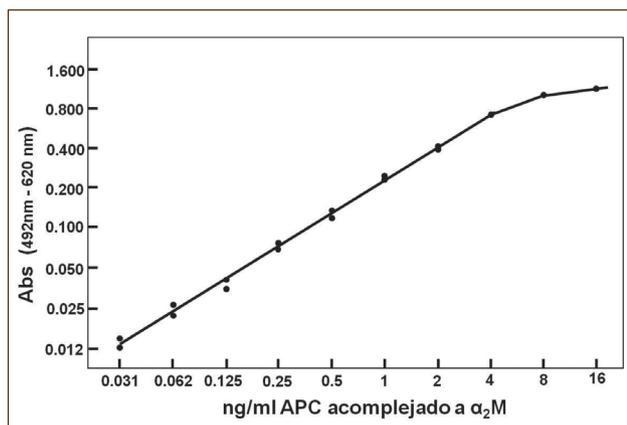


Figura 1.

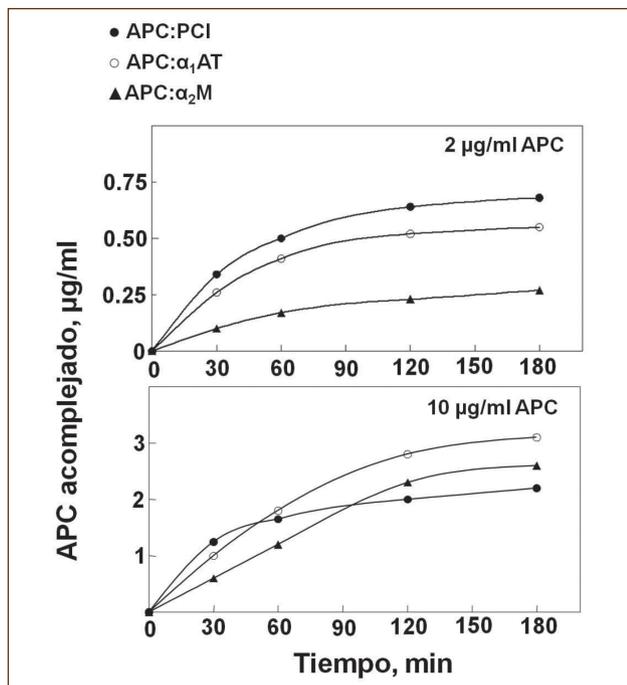


Figura 2.

APC: α_2 M entre 0,5 y 3 ng/ml. Los niveles de este complejo estaban aumentados en 2 pacientes con sepsis grave (4 y 10 ng/ml) y en 3 pacientes con leucemia mieloide crónica (6, 12 y 25 ng/ml).

Conclusiones: El ELISA puesto a punto es capaz de cuantificar los niveles circulantes del complejo APC: α_2 M en plasma, tanto en individuos sanos como en diversas patologías. Por otra parte, los estudios *in vitro* sugieren que, a altas concentraciones de APC, como puede ocurrir tras la infusión de APC, la α_2 M puede llegar a ser un principal inhibidor de la APC, junto con α_1 AT, posiblemente debido al consumo de PCI. La importancia y utilidad clínica de este marcador está por dilucidar.

CO-137 Efecto de la vitamina D sobre la actividad plasmática del factor VIII y la expresión de factor tisular en monocitos

Teruel Montoya R. (1), Salloum Asfar S. (1), Pagan J. (2), Lozano J. (2), García Barberá N. (1), Miñano A. (2), Arroyo A.B. (1), Hernández M.J. (2), Gómez V. (2), Roldán V. (1), Muiña B. (3), Corral J. (1), Herranz M.T. (2), Vicente V. (1), González Conejero R. (1), Martínez C. (1)

(1) Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Centro Regional de Hemodonación. Universidad de Murcia. IMIB-Arrixaca. Murcia. (2) Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia. (3) Servicio de Hematología. Hospital Rafael Méndez. Lorca, Murcia

Introducción: Niveles reducidos de vitamina D (vitD) en plasma se ha asociado con un incremento en el riesgo de sufrir eventos de tromboembolismo venoso. Ante esta observación basada en estudios epidemiológicos, se necesitan estudios adicionales que clarifiquen el mecanismo de esa asociación. Nuestro objetivo fue investigar el efecto de la vitD en la expresión y/o actividad de diferentes factores hemostáticos.

Métodos: En una cohorte de 300 sujetos, seleccionamos 6 controles, 6 pacientes con trombosis venosa profunda (TVP) y 8 pacientes con síndrome antifosfolípido (SAF) que presentaban deficiencia de vitD (<30ng/mL) a los que se administró 0.5 μ g/semana de vitD durante 3 meses. Se recolectó sangre periférica antes y después del suplemento de vitD y se realizaron los siguientes análisis: a) niveles de vitD en suero (quimioluminiscencia); b) actividades o niveles anti-génicos de los factores II, V, VIII, IX, X, XI, XII, vWF y fibrinógeno (métodos coagulométricos); c) actividad del TFPI y de antitrombina (anti FXa) (técnicas cromogénicas); d) niveles de expresión del factor tisular (FT) a partir de ARN total de monocitos seleccionados inmunológicamente (qRT-PCR). La actividad de FVIII fue validada en otra cohorte de 9 controles, 6 TVP y 10 SAF. Finalmente, tanto células monocíticas (THP1), como monocitos primarios de voluntarios sanos, fueron incubados con: a) vitD (100nM); b) LPS (1 μ g/mL o 0.1 μ g/mL); y d) con vitD y LPS simultáneamente.

Resultados: Después del periodo de suplementación, los niveles de vitD en suero aumentaron en todos los grupos ($p < 0.05$). Entre todos los factores evaluados, tan sólo la actividad del FVIII en plasma cambia después del suplemento de vitD, baja un 16% en controles ($p < 0,01$), un 26% en TVP ($p < 0,01$) y un 29% en

SAF ($p < 0,01$), y dicha disminución no se debía a cambios en los niveles de vWF. Los niveles de ARNm del FT de monocitos fueron significativamente más bajos en el grupo de TVP ($p < 0,01$) después de haber tomado vitD. Esta tendencia también fue observada en el grupo de SAF ($p = 0,08$). Finalmente, los estudios *in vitro* confirman que el aporte de vitD reduce de forma significativa la expresión de FT que se produce tras la activación con LPS.

Conclusiones: La vitD, al reducir tanto la actividad del FVIII en plasma y los niveles de expresión de FT en monocitos, contribuye a reducir la capacidad pro-coagulante del sistema hemostático. Además, tanto en THP1 como en monocitos primarios sometidos a una situación claramente pro-coagulante, la vitD reprime la inducción de la expresión del FT provocada por LPS. Por todo esto, nuestros resultados contribuyen a explicar el mecanismo antitrombótico de la vitD observado en estudios epidemiológicos. *ISCIII y FEDER (P14/00253, y RIC RD12/0042/0050)*

CO-138 Deficiencia de antitrombina causada por mutaciones que alteran el procesamiento de intrones. Relevancia diagnóstica y consecuencias inesperadas

De la Morena-Barrio M.E. (1), Martínez-Martínez I. (1), Sevivas T. (2), Padilla J. (1), Miñano A. (1), Toderici M. (1), López-Gálvez R. (1), Vicente V. (1), Corral J. (1)

(1) Centro Regional de Hemodonación. Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. IMIB. Murcia. España. (2) Serviço de Hematologia. Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra. Coimbra. Portugal

Introducción: Recientes estudios realzan la importancia de mutaciones implicadas en procesamiento de intrones en diferentes enfermedades. En la deficiencia de antitrombina (AT) se han descrito únicamente 16 mutaciones en el gen *SERPINC1* que afectan a regiones intrónicas con potencial efecto en el procesamiento de intrones, todas ellas identificadas en casos con deficiencia tipo I.

Objetivo: Identificar y caracterizar nuevas mutaciones en *SERPINC1* responsables de deficiencia de AT afectando al procesamiento de intrones.

Métodos: Se secuenció el gen *SERPINC1* en 115 casos con deficiencia de AT y trombosis. La AT plasmática se estudió mediante ensayos funcionales y western blot, se purificó mediante FPLC y fue caracterizada mediante estudios proteómicos. La simulación *in silico* del efecto de las mutaciones sobre el procesamiento de intrones se realizó empleando el software Human Splicing Finder.

Resultados: Identificamos 13 mutaciones en heterocigosis potencialmente asociadas a procesamiento aberrante de intrones. Nueve casos (P1-P9) presentaban mutaciones puntuales en intrones (IVS) que afectaban a secuencias donadoras o aceptoras adyacentes a exones. Cuatro de estas mutaciones no se habían descrito previamente. P10 presentaba una delección de 31pb que afectaba el nucleótido final del intrón 6 y 30pb del exón 7. En estos 10 pacientes la predicción *in silico* mostraba una ruptura de las secuencias consenso del procesamiento de intrones y tenían deficiencia de AT tipo I. Estas

mutaciones, al estar muy cerca de exones, se detectan con todos los protocolos de análisis molecular de *SERPINC1*. Sin embargo, P11-P12 presentaban mutaciones más distantes del exón: IVS2+26 y IVS5-14. Llamativamente, los portadores de la mutación IVS5-14G>A presentaban dímeros de AT unidos por puentes disulfuro en plasma ¿Cómo una mutación de un intrón puede generar una variante que forme dímeros? Estudios *in silico* sugieren que IVS5-14G>A, creando un nuevo sitio aceptor podría generar una proteína variante con 4 aminoácidos adicionales en posición 384. La purificación de los dímeros de AT del plasma y su análisis proteómico confirmó la predicción. Finalmente, P13 presentaba una duplicación del exón 6 que por procesamientos intrónicos alternativos podría explicar su moderada deficiencia de AT (75%).

El estudio *in silico* de las mutaciones descritas en la HGMD identificó una mutación definida como missense en un caso con deficiencia tipo I que afectaría al procesamiento de intrones.

Conclusión: El procesamiento aberrante de intrones en *SERPINC1*, causado por diferentes tipos de alteraciones genéticas (mutaciones en intrones, exones, delecciones o duplicaciones) está implicado en un gran número de casos con deficiencia de AT (>11%), con consecuencias finales muy heterogéneas: mayoritariamente causan deficiencia tipo I, pero también pueden generar deficiencias tipo II o incluso deficiencias moderadas. Nuestros datos animan a explorar nuevas alteraciones moleculares con efecto en el procesamiento de intrones como mutaciones intrónicas profundas, especialmente en casos con deficiencia de AT sin mutaciones en exones.

Premio Antonio López Borrasca 2014.

CO-139 Caracterización del sistema hemostático en trastornos congénitos de N-glicosilación: la severa deficiencia anticoagulante se ve compensada por la deficiencia de factor XI

De la Morena-Barrio M.E. (1), Arroyo A.B. (1), de Diego V. (2), Pérez-Dueñas B. (2), Montero R. (2), Sevivas T. (3), Kristensen S. (4), Undas A. (5), Miñano A. (6), Martínez-Martínez I. (7), Martínez C. (7), Vicente V. (7), Artuch R. (7), Jaeken J. (2), Corral J. (8)

(1) Centro Regional de Hemodonación. Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. IMIB. Murcia, España. (2) Departamento de Neurología Infantil. Hospital Sant Joan de Déu. Barcelona, España. (3) Serviço de Hematologia. Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra. Coimbra, Portugal. (4) Hematology Department. Aalborg Hospital. Dinamarca. (5) The John Paul II Hospital. Kraków, Polonia. (6) Institute of Cardiology. Jagiellonian University Medical College. Kraków, Polonia. (7) Centro Regional de Hemodonación. Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. IMIB. Murcia. (8) Center for Metabolic Diseases. Universitair Ziekenhuis Gasthuisberg. Leuven, Bélgica

Introducción y objetivos: Los trastornos congénitos de N-glicosilación (CDG) son un modelo excelente y natural para estudiar el efecto en diferentes elementos del sistema hemostático de una modificación post-traducciona crucial de la que cada día conocemos más implicaciones patológicas. Además, este estudio puede

ayudar a conocer mejor una enfermedad muy rara (1/20.000) y podría facilitar el manejo hemostático de estos pacientes con alta tasa de eventos tromboticos y hemorrágicos.

Métodos: Se estudiaron 20 pacientes CDG españoles, belgas, daneses, polacos y portugueses, mayoritariamente PMM2-CDG. La hipoglicosilación se valoró cuantificando las glicofomas de transferrina mediante HPLC. Todos los factores de coagulación, proteínas anticoagulantes, dímero D y fibrinógeno se analizaron empleando métodos coagulométricos o cromogénicos, inmunoensayos, aglutinación por látex y/o electroforéticos.

Resultados: Dos pacientes, los de mayor edad, presentaron eventos tromboticos, uno de ellos recurrente. Es muy notable la severa deficiencia encontrada de todas las proteínas con actividad anticoagulante del sistema hemostático, incluyendo el TFPI. Destacamos tres pacientes (niños) con valores de AT, PC y TFPI <20%, que tenían niveles normales de dímero D y no desarrollaron eventos tromboticos durante más de 1 año de seguimiento. También es destacable la detección de formas hipoglicosiladas de todas las proteínas evaluadas, que no están presentes en sujetos sanos. Dos son los posibles mecanismos compensatorios de la notable deficiencia anticoagulante, potencialmente deletérea de acuerdo con los resultados de modelos animales: una diferente funcionalidad de las formas hipoglicosiladas, y/o la severa deficiencia de factores procoagulantes, especialmente FXI. Los niveles de TFPI, FXI y AT se correlacionaron muy significativamente entre sí e inversamente con los niveles de las formas hipoglicosiladas de transferrina (asialo y disialotransferrina). El tamaño y número de plaquetas no se vio afectado (Tabla 1).

Tabla 1. Valores de diferentes parámetros hemostáticos observados en pacientes CDG. Los factores procoagulantes y anticoagulantes se muestran como % de un plasma de referencia

| | Mínimo | Máximo | Media | DT |
|-------|--------|--------|-------|-------|
| TFPI | 6,8 | 58,0 | 37,9 | 20,7 |
| AT | 9,0 | 100,0 | 39,2 | 19,9 |
| PS | 21,5 | 91,3 | 51,2 | 17,2 |
| PC | 16,0 | 141,0 | 59,5 | 33,8 |
| FX | 12,5 | 114,3 | 69,4 | 27,5 |
| FVII | 15,2 | 345,2 | 123,6 | 97,4 |
| FII | 48,9 | 163,4 | 91,5 | 30,8 |
| FV | 11,8 | 122,2 | 47,8 | 32,9 |
| FXI | 19,3 | 139,6 | 52,9 | 30,5 |
| FXII | 50,5 | 186,8 | 127,9 | 43,8 |
| FIX | 10,0 | 142,9 | 78,4 | 36,3 |
| FVIII | 61,7 | 196,2 | 106,6 | 37,1 |
| Fo | 183,0 | 462,0 | 276,5 | 71,8 |
| DD | 1,0 | 512,0 | 219,7 | 154,2 |
| Plaq | 192,0 | 361,0 | 287,4 | 64,1 |
| VPM | 6,8 | 10,6 | 8,4 | 1,3 |

Dímero D (DD) ng/ml; fibrinógeno (Fo) mg/dl; plaquetas (Plaq) X10⁹/mL. AT: antitrombina, PS: proteína S, PC: proteína C, VPM: volumen plaquetar medio, DT: desviación típica.

Conclusión: Nuestro estudio en pacientes con CDG muestra evidencias de la importancia de la N-glicosilación en el sistema hemostático. Hemos identificado la primera deficiencia tan severa de TFPI. Curiosamente la ineficiente capacidad anticoagulante de estos pacientes parece verse compensada con una deficiencia de FXI.

CO-140 El número de N-glicanos, pero no su posición, afecta la secreción de la antitrombina. Relevancia en trastornos de glicosilación congénita

De la Morena-Barrio M.E. (1), Arroyo A.B. (1), Toderici M. (1), Miñano A. (1), Águila S. (1), López-Gálvez R. (1), Vicente V. (1), Martínez C. (1), Corral J. (1)

(1) Centro Regional de Hemodonación. Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. IMIB. Murcia

Introducción: La N-glicosilación, una modificación postraduccional que modifica significativamente la masa y carga de la mayoría de proteínas secretadas, puede afectar su funcionalidad, aclaramiento, o secreción. La antitrombina (AT) presenta 4 sitios de N-glicosilación (96, 135, 155 y 192). La ineficaz glicosilación en la posición 135 justifica la existencia de las glicofomas α y β con 4 y 3 glicanos respectivamente. Nuestro grupo ha demostrado que defectos en la N-glicosilación son un nuevo factor de riesgo trombofílico presente en el 27% de pacientes con trombosis y deficiencia de AT sin mutaciones en *SERPINC1*. Además, los pacientes con trastornos de glicosilación congénitos (CDG) presentan niveles bajos de AT. El mecanismo responsable de la deficiencia de AT en estos pacientes es desconocido.

Objetivo: Estudiar y caracterizar el papel de la glicosilación en la secreción y función de la AT.

Métodos: Estudiamos la AT mediante métodos funcionales y Western blot en 20 pacientes con CDG. La cuantificación de las glicofomas de transferrina se realizó mediante HPLC. Dos modelos celulares fueron empleados para estudiar los defectos de glicosilación: HepG2 tratadas con tunicamicina (inhibidor de la N-glicosilación) y HEK-EBNA transfectadas con pCEP4-S137A que produce forma β de AT, y diferentes variantes generadas mediante mutagénesis dirigida que eliminan sitios naturales o generan nuevos sitios de N-glicosilación. La AT del medio de cultivo e intracelular fue caracterizada mediante estudios funcionales y electroforéticos.

Resultados: Los pacientes CDG presentaron una severa deficiencia de AT plasmática (media $40 \pm 20\%$), con disminución de la forma con 4 glicanos, aumento de la forma con 3 glicanos y presencia (no detectada en controles) de formas con 2 glicanos (las glicofomas con 1/0 glicanos no se detectaron). Además, el grado de hipoglicosilación definido por los niveles de asialotransferrina se correlacionaron de forma inversa con los niveles de AT ($p=0,002$; $r_{\text{pearson}}=-0,665$). El tratamiento de HepG2 con tunicamicina provocó una reducción dosis dependiente y significativa de secreción de las formas α y β , que en células sin tratar tienen simi-

lar tasa de secreción, sin gran acúmulo intracelular. La eliminación secuencial de los sitios de N-glicosilación naturales demostró que todas las formas con 3 o 2 glicanos son correctamente secretadas y tienen actividad funcional anti-FXa y anti-FIIa. Sin embargo, el nivel de secreción descendió significativamente si la AT presentaba un solo glicano, independientemente de su posición; y fue prácticamente nula en la AT sin glicanos, de nuevo sin acúmulo intracelular. Además, la incorporación de un glicano extra en una nueva posición en la glicofoma de AT con un solo glicano aumentó la secreción a niveles similares a los observados en formas con diferentes combinaciones de 2 glicanos naturales.

Conclusión: Nuestro estudio demuestra que la N-glicosilación es un proceso crucial en la secreción de AT. El número de glicanos, y no su posición, es el elemento que define la ruta intracelular que sigue la proteína, hacia su degradación (con ≤ 1 glicano) o secreción (con ≥ 2 glicanos). Defectos de glicosilación congénitos o adquiridos condicionarían la secreción de AT, incrementando de forma significativa el riesgo trombótico.

CO-141 Efecto de la lisis tumoral sobre el sistema hemostático: incremento extraordinario y paralelo del ADN circulante y dímero D. Relación con el riesgo trombótico

López Gálvez R., Amigo M.L., Roldán V., Miñano A., Toderici M., Vicente V., Corral J., de la Morena Barrio M.E.

Centro Regional de Hemodonación. Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. IMIB. Universidad de Murcia. Murcia

Introducción: El tratamiento con quimioterapia incrementa de forma significativa el riesgo de trombosis venosa. El proceso de lisis tumoral conlleva la activación del sistema hemostático, pero se desconocen detalles del mecanismo y la respuesta del propio sistema hemostático.

Métodos: Estudiamos de forma prospectiva 13 pacientes diagnosticados de leucemia aguda (5 linfoblásticas y 8 mieloblásticas). Recogimos muestras seriadas de plasma citratado tras el inicio de la quimioterapia hasta el día +10. Los niveles plasmáticos de ADN se determinaron mediante un método fluorogénico, mientras que los niveles de dímero D se cuantificaron por un método turbidimétrico. Los niveles y características de fibrinógeno, AT, PC, PS, FII, FV, FVII, FIX, FX, FXI, PAI-1 y TFPI se determinaron mediante sistemas funcionales, coagulantes, antigénicos y/o Western blot. La formación y degradación del coágulo en muestras de pacientes y controles con o sin suplementación de ADN exógeno y la evolución de los niveles de ADN y FXII se estudiaron en un sistema *in vitro* empleando tromboplastina y rt-PA.

Resultados: Observamos un aumento muy significativo de los niveles de ADN libre en plasma (0.25 ng/ μ L [0.07-0.60]) en los primeros días de la inducción, bajando posteriormente hasta alcanzar niveles similares a los de sujetos sanos (0.02 ng/ μ L). El ADN plasmático correlacionaba con los niveles de LDH ($p < 0.001$

y $r_{\text{spearman}} = 0.574$) y dímero D ($p < 0.001$ y $r_{\text{spearman}} = 0.616$). Destacamos el aumento de los niveles de dímero D en los primeros momentos de la inducción, 4238 ng/mL [1671-30105]. La posible interferencia de los ácidos nucleicos en la prueba del dímero D se descartó con el tratamiento del plasma con DNAsa y RNAsa. Pese a los elevados niveles de dímero D, ni la AT ni la PC descendían significativamente en estos pacientes. Dos pacientes presentaron trombosis venos, ambas asociadas a catéter, pero ni eran los pacientes con mayores niveles de dímero D, ni la trombosis se produjo cuando los niveles de dímero D eran altos.

El ADN circulante en pacientes no provoca la activación de la ruta de contacto inducida por cefalina. Tampoco el ADN interfirió en la formación y degradación del coágulo de fibrina *in vitro*. No obstante, en los pacientes se observó una disminución de los niveles de FXII paralelo al consumo de fibrinógeno y a la formación de dímero D. De hecho, tanto los niveles de ADN libre como los de FXII se redujeron tras la formación del trombo en experimentos realizados *in vitro*.

Conclusiones: La quimioterapia en pacientes con leucemia aguda provoca una liberación de ácidos nucleicos que se asocia con una de las mayores elevaciones del dímero D descritas (hasta 100 veces superior a la de pacientes con trombosis venosa). Sin embargo, esta respuesta no se asocia con eventos trombóticos ni con consumo de anticoagulantes naturales, pero sí con un descenso de los niveles de FXII. Estos pacientes pueden proporcionar un modelo excelente para identificar nuevos mecanismos reguladores del sistema hemostático.

CO-142 La presencia de angioedema en pacientes con urticaria se asocia con un aumento en el pico de generación de trombina

Martos Marín L. (1), Pérez Gómez M.A. (2), Bonet Estruch E. (3), Ramón Núñez L.A. (1), Díaz Palacios M. (2), Medina Badenes P. (1), España Furió F. (1), Hernández Fernández M.D. (2), Navarro Rosales S. (1)

(1) IIS La Fe, (2) Servicio de Alergia y (3) Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia

Introducción: La urticaria crónica (UC) es una enfermedad generalizada y recurrente de la epidermis caracterizada por la aparición de lesiones habonosas pruriginosas, que en numerosas ocasiones se acompañan con lesiones en capas más profundas, denominadas angioedemas (AE). Estos síntomas aparecen cuando estímulos inmunológicos, físicos o infecciosos desencadenan la liberación de mediadores de la inflamación. Los pacientes con UC muestran una mayor activación de la coagulación y la fibrinólisis. De hecho, los anticoagulantes orales parecen ser efectivos en el tratamiento de la UC. El ensayo de la generación de trombina (EGT) es una prueba global de la coagulación que permite cuantificar *in vitro* la capacidad de un plasma para generar trombina.

Objetivo: Emplear el EGT como técnica para caracterizar los pacientes con UC y AE, evaluando la asociación entre la coagulación y la patología.

Métodos: Mediante el EGT hemos analizado 45 pacientes con UC activa, 23 de ellos con historia de AE. Para el EGT, el plasma de los pacientes se incubó con factor tisular (4 pM) y sustrato fluorogénico con CaCl₂. Se analizaron 5 parámetros: tiempo de latencia (TL, min), potencial endógeno de trombina (ETP), altura del pico (PK), tiempo hasta el pico (ttPK) y pendiente de la formación de trombina o velocidad índice (VI). La severidad de la UC fue evaluada empleando el cuestionario *Urticaria Severity Score* (USS). Los parámetros del EGT se relacionaron con la severidad, la presencia de AE y otros parámetros clínicos relacionados con la UC.

Resultados: Observamos que los 23 pacientes con UC y AE tenían significativamente aumentado el PK (177±49 nM) comparado con los 22 pacientes con UC sin AE (142±55 nM) ($P=0,017$). El ETP y VI también fueron mayores en los pacientes con UC y AE (1380±302 nM·min y 43,32±20,94 nM/min) que sin AE (1283±298 nM·min y 31,92±21,48 nM/min), aunque la diferencia no fue significativa ($P=0,200$ y $P=0,050$). Tanto el TL como el ttPK fueron menores en los pacientes con UC y AE (5,61±1,02 y 10,75±1,94 min) que sin AE (6,05±1,59 y 11,59±2,86 min), aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas ($P=0,658$ y $P=0,454$). No observamos ninguna relación entre los diferentes parámetros del EGT distribuidos según el índice de severidad. Tampoco encontramos ninguna correlación entre los diferentes parámetros del EGT y los parámetros clínicos relacionados con la UC.

Conclusiones: Los pacientes con UC y con historia de AE mostraron una mayor capacidad de generación de trombina que los pacientes sin AE, lo que indica un aumento del potencial de coagulación en estos pacientes. Sin embargo, la relevancia clínica de estos resultados está todavía en fase de investigación. Estos resultados además sugieren que el EGT puede ser útil para evaluar el papel de la cascada de la coagulación en enfermedades con componente inflamatorio.

CO-143 Predicción de la actividad de ADAMTS13 en pacientes con microangiopatías trombóticas (MATs)

Martínez Nieto J. (1), de la Fuente Gonzalo F. (1), González-Fernández F.A. (1), Villegas Martínez A. (1), Martínez Martínez R. (1), José C. (1), Ropero Gradilla P.

Hospital Clínico San Carlos. Madrid

Introducción: Las microangiopatías trombóticas, aunque similares, son un grupo heterogéneo de enfermedades que incluyen la púrpura trombótica trombocitopénica (PTT), el síndrome hemolítico urémico atípico (SHUa), el SHU por toxina Shiga (STEC-SHU) y otras MATs secundarias a distintas condiciones.

La PTT se caracteriza por una deficiencia funcional de ADAMTS13, siendo los recambios plasmáticos el tratamiento más eficaz, los cuales son poco efectivos en otras MATs.

La medición de la actividad de ADAMTS13 solo está disponible en laboratorios especializados. Hemos analizado nuestro

registro de MATs para buscar parámetros que ayuden a predecir un déficit de ADAMTS13.

Objetivo: El objetivo es identificar puntos de corte en distintas variables para excluir la PTT en pacientes con MAT, con el propósito de facilitar la elección de una terapia dirigida a la etiología de la enfermedad.

Metodología: Los análisis se realizaron en nuestro registro de 174 adultos con microangiopatía (incluyendo MATs secundarias). Se estudiaron posibles variables predictivas de una baja actividad de ADAMTS13, y sus medias se compararon entre pacientes con déficit de ADAMTS13 (actividad<5%) y pacientes con actividad detectable (>5%). Se realizaron curvas ROC para las variables estadísticamente significativas (edad, plaquetas y creatinina) y se determinó su AUC, obteniendo para cada variable puntos de corte útiles para predecir un déficit de ADAMTS13. Finalmente, comprobamos si un modelo que combinase estas variables junto a una cuarta (ausencia de trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH)), mejoraba la capacidad predictiva de cada una individualmente.

Resultados: Se establecieron los siguientes puntos de corte: edad de 68 años, creatinina de 2.0 mg/dL y plaquetas de $44 \times 10^9/L$. El modelo combinado demostró mayor capacidad de predicción que las variables por separado (AUC=0,925), con un porcentaje de predicción correcta del 89,7% (Tabla 1). Los pacientes con déficit severo de ADAMTS13 (PTTs) presentaron valores por debajo de los puntos de corte para todas las variables a la vez y nunca habían recibido un TPH (OR 64,0; $p<0,001$).

Aquellos casos con actividad de ADAMTS13 normal, tenían uno o varios de estos parámetros por encima de los puntos de corte descritos.

Conclusiones: La PTT es clínicamente similar al SHUa y a otras MATs secundarias. Nuestros resultados son útiles para diagnosticar o excluir de forma rápida y fiable una PTT, facilitando el diagnóstico diferencial entre MATs. Un 82,5% de los casos pronosticados con déficit de ADAMTS13 fueron realmente PTTs. El 93,2% de los pacientes que no cumplen uno o más de los cuatro criterios descritos presentaron valores de ADAMTS13 normales (Figura 1).

Tres de los ocho falsos negativos eran casos previamente diagnosticados de PTT que fueron mal clasificados por mostrar un alto número de plaquetas. Esto podría deberse a que los pacientes estaban predisuestos a acudir rápidamente al hospital tras los primeros síntomas de recaída.

De los 10 falsos positivos, el 30% de los casos mostraron tumores gástricos o de mama días después de realizarse el test

Tabla 1. Resumen del modelo de predicción de la actividad de ADAMTS13

| Variables incluidas | Condición en deficiencia de ADAMTS13 | Condición en ADAMTS13 normal | AUC | % predicciones correctas | Especificidad | Sensibilidad | Valor predictivo negativo | Valor predictivo positivo |
|---------------------|--------------------------------------|---|-------|--------------------------|---------------|--------------|---------------------------|---------------------------|
| Creatinina | ≤2.0 mg/dL | Creatinina, plaquetas o edad sobre los puntos de corte, o TPH | | 89,7% | | | | |
| Plaquetas | ≤ $44 \times 10^9/L$ | | 0,925 | 8 falsos - | 91,6% | 85,5% | 93,2% | 82,5% |
| Edad | ≤68 años | | | 10 falsos+ | | | | |
| TPH* | Ausente | | | | | | | |

*TPH: Microangiopatía trombótica asociada a Trasplante de Progenitores Hematopoyéticos

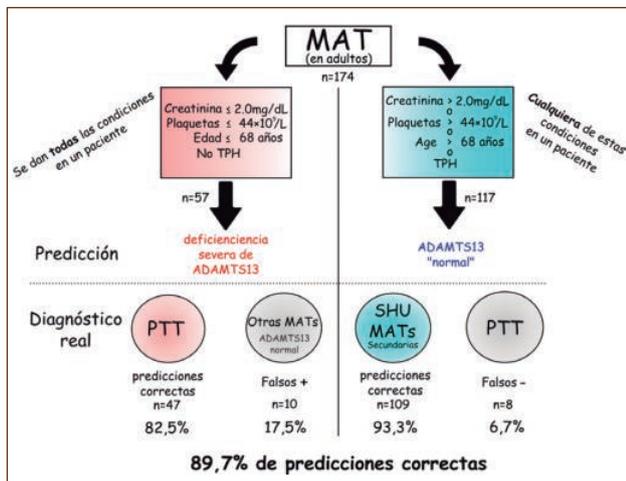


Figura 1. Muestras según actividad de ADAMTS13 predicha frente a actividad real.

de ADAMTS13. Esto sugiere que se debería sospechar una MAT secundaria a un tumor ante un resultado normal de ADAMTS13 en un paciente que cumpla las cuatro condiciones anteriores.

Trombosis II

CO-118 Evolución del perfil proteómico de trombos intracoronarios oclusivos en relación al tiempo de isquemia

Padro T., Peña E., Suades R., Badimon L.

Instituto Catalán de Ciencias Cardiovasculares (ICCC). Barcelona

Introducción: La formación de trombos arteriales oclusivos, causantes de los síndromes coronarios agudos, es un proceso dinámico en el que las proteínas celulares y plasmáticas condicionan su morfología y función, regulando con ello su evolución. Evidencias recientes sugieren una relación entre el contenido de proteínas oxidativas del mismo y la resolución del trombo que comporta la reperusión de la arteria causante del síndrome coronario agudo.

Objetivo: En este estudio hemos investigado el patrón diferencial de proteínas de estrés oxidativo, en relación al tiempo de oclusión, en trombos intracoronarios en pacientes con síndrome coronario agudo con elevación del segmento-ST (SCACEST).

Métodos: Se han estudiado trombos aspirados (N=28) de arterias coronarias ocluidas durante procedimientos de revascularización y trombos generados *in vitro* a partir de sangre total plasma y plasma enriquecido en plaquetas obtenido de voluntarios sanos. El perfil proteómico se analizó por electroforesis bidimen-

sional (2DE) y la identificación de proteínas por espectrometría de masas (Maldi-ToF/ToF). El análisis estadístico se ha efectuado en base al tiempo de isquemia (6h desde el inicio del dolor hasta la intervención).

Resultados: El análisis proteómico muestra que los trombos intracoronarios son portadores de proteínas involucradas en la cadena respiratoria de la mitocondria y reguladoras del balance oxidativo, que se modifican de forma significativa en función del tiempo de isquemia. Así, trombos obtenidos a tiempos de isquemia prologados (>6 horas) presentan un incremento (X4) ($p=0,02$) en la succinato deshidrogenasa, proteína del complejo II que participa en el transporte de electrones y producción de radicales libres. Por el contrario, los trombos de más de 6 horas de evolución muestran una disminución muy significativa ($P<0,001$) en niveles de ATP sintasa mitocondrial (complejo V), lo que implica una reducción en la generación de ATP a partir del gradiente de protones generado en la cadena respiratoria mitocondrial. Los tiempos de isquemia prologados conllevan, además, a una reducción del 80-100% ($p=0,02$) en los niveles de superóxido dismutasa (SOD2) y de peridoxirredoxina 2 (PRDX2), proteínas mitocondriales implicadas en la eliminación de radicales superóxido. El estudio de trombos *in vitro*, permitió asociar la presencia de SOD2 a la fracción plaquetar, componente celular que disminuyen significativamente con el tiempo de isquemia, mientras que la presencia de peroxirredoxinas solo fue evidente en trombos de sangre total, en los cuales también está presente la fracción de células blancas de la sangre.

Conclusiones: Los trombos intracoronarios en pacientes SCACEST evolucionan hacia un perfil oxidativo con aumento en radicales superóxido. El nicho oxidativo en el trombo oclusivo no permeabilizado puede ser un efector de daño celular y molecular en la pared vascular y miocardio contribuyendo a una peor evolución del paciente.

CO-119 El papel del exceso de peso en la recidiva de trombosis venosa

Méndez Navarro G.A., García Avello Á., López Jiménez J.

Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid

Fundamento: Determinar si el exceso de peso expresado como índice de masa corporal (IMC) superior a 25 se asocia con un incremento en la recidiva de trombosis venosa (RTV).

Metodología: En un área asistencial de 500.000 usuarios, se recogieron de forma prospectiva, durante un período de 10 años, los casos de trombosis venosas (incluyendo TVP, TEP, tromboflebitis superficiales, trombosis de vena de retina, trombosis de senos cerebrales y trombosis portales) y la incidencia de retrombosis en relación con el índice de masa corporal, el sexo y la presencia o no de trombofilia.

Resultados: Se incluyeron 1596 casos en total, de los cuales, 842 eran mujeres (52%). Un 21.2% presentaba alguna trombofilia conocida (64% Factor V de Leiden y 35% PT20210A). 1042 casos (un 65.3%) presentaban exceso de peso (74.3% en varones

y 57.2% en mujeres). De los casos totales, 483 (30.2%) sufrieron una retrombosis.

En el grupo de IMC >25 (1042), 337 (32.3%) experimentaron una RTV, mientras que en el grupo de IMC <25 (554) ésta ocurrió en 146 (26.3%), siendo esta diferencia significativa ($p<0.01$). Ajustando por la presencia o no de trombofilia, se observó mayor incidencia de RTV en los sujetos sin trombofilia con IMC >25 que en los que presentaban un IMC <25 (30.5% vs 22.8%, $p<0.001$); sin embargo, esta diferencia no fue significativa en las personas con trombofilia conocida. Por sexos, se observó que la diferencia observada de RTV era a expensas de las mujeres; así, un 34.9% de las mujeres sin trombofilia con IMC >25 recidivaron frente a sólo un 21.6% con IMC <25 ($p<0.001$), y un 55.7% de las mujeres portadoras de Factor V de Leiden con IMC >25 presentaron una RTV frente a 32.7%. Esta tendencia se observó también entre las mujeres portadoras de PT20210A, recidivando un 46% de las que presentaban exceso de peso vs un 32.2% de las que no lo presentaban; sin embargo, esta diferencia no alcanzó significación estadística, probablemente por escasa muestra. En cambio, no se observaron diferencias en ninguno de los subgrupos de los varones.

Conclusiones: En nuestra población, el riesgo de retrombosis es significativamente mayor en las mujeres con IMC superior a 25, siendo esta diferencia especialmente relevante entre las portadoras de Factor V de Leiden.

CO-120 Niveles aumentados de DNA circulante, calprotectina y mieloperoxidasa, como marcadores de *neutrophil extracellular traps*, son un factor de riesgo de trombosis venosa profunda

Martos Marín L. (1), Navarro Rosales S. (1), Ramón Núñez L.A. (1), Ferrando Gasp F. (2), Cid Haro A.R. (2), Bonanad Boix S. (2), España Furió F. (2), Medina Badenes P. (1)

(1) Instituto de Investigación Sanitaria La Fe. Valencia. (2) Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia

Introducción: *In vitro*, los *neutrophil extracellular traps* (NETs) participan en la iniciación, crecimiento y resolución de la trombosis venosa profunda (TVP). Los principales componentes de los NETs son el DNA, la calprotectina (CP) y la mieloperoxidasa (MPO).

Objetivo: Para investigar el papel de los NETs sobre el riesgo de TVP *in vivo*, medimos los niveles de estos tres componentes de los NETs en el plasma de 193 pacientes con TVP y de 198 individuos sanos.

Métodos: Cuantificamos el nivel de DNA circulante con PicoGreen (Life Technologies), y los niveles de CP (Hycult Biotech) y MPO (Abnova) mediante ELISAs. Para el cálculo del riesgo, ajustamos los Odds Ratio (OR) por edad, sexo y la presencia de defectos trombofílicos de origen genético.

Resultados: Los niveles de DNA (1616 ± 296 ng/ml), CP (121 ± 60) y MPO (2116 ± 1335) estaban significativamente más

aumentados en pacientes con TVP que en controles (1327 ± 228 , 88 ± 54 and 1752 ± 1393 , respectivamente) ($P<0,001$). Observamos una correlación significativa entre los niveles de DNA y CP tanto en pacientes ($r=0,245$; $P=0,003$) como en controles ($r=0,271$, $P=0,001$), y entre CP y MPO en pacientes ($r=0,194$, $P=0,024$). El riesgo de TVP fue significativamente mayor en los individuos con niveles en el 4º cuartil (Q) de los controles que aquellos con niveles en el 1ºQ: DNA (OR 10,7; 95% CI, 3,0-38,3), CP (13,0; 3,5-48,8) y MPO (6,2; 2,1-18,4). En el análisis multivariante incluyendo el 4ºQ de DNA, CP y MPO, solamente observamos un aumento significativo del OR para el DNA (15,6; 1,2-203,0).

Conclusiones: Los niveles aumentados de DNA, CP y MPO se asocian con un aumento significativo del riesgo de TVP. El análisis multivariante sugiere que este mayor riesgo de TVP se debe al aumento en los niveles de DNA. Así, nuestros resultados apoyarían el uso potencial de la DNasa como nueva herramienta terapéutica para la prevención de la TVP o en la trombolisis.

Fuentes de financiación: ISCIII (PI12/00027, RD12/0042/0029, PI14/00512, PI14/00079, FI14/00269), FEDER, Generalitat Valenciana (Prometeo 2015). SN es investigador del IIS LF. PM es investigador Miguel Servet (FIS-CP09/00065).

CO-121 Estudio preliminar de polifosfatos inorgánicos en la enfermedad tromboembólica venosa (ETE)

Verdesoto Cozzarelli S.R. (1), Ramírez-Castilla Y. (2), Montilla-Rodríguez M. (2), Blum-Domínguez M.A. (1), Paz-Coll A. (3), Rodríguez-Martorell F.J. (1), Ruiz-Rodríguez F. (2)

(1) Sección de Hemostasia y Trombosis. UGC Hematología y Hemoterapia. Hospitales Universitarios Virgen del Rocío-Virgen Macarena. Sevilla. (2) Unidad de Investigación. Hospital Universitario Puerta del Mar. Cádiz. (3) UGC Hematología Hospital Universitario Puerta del Mar- Hospital Universitario de Puerto Real. Cádiz

Introducción: Los polifosfatos (polyP) son moléculas inorgánicas presentes en los gránulos densos de las plaquetas. Recientemente se ha descrito su función moduladora de la coagulación (favorecen la activación de los factores V y XI por la trombina y la fortaleza de la malla de fibrina) y se le ha atribuido un posible papel en la patogenia de la trombosis al poder activar directamente al factor-XII. Sin embargo, se desconocen cuáles son los niveles de polyP en los pacientes con ETEV (trombosis venosa profunda, TVP, o tromboembolismo pulmonar, TEP).

Objetivo: Comparar los niveles de polyP en plasma en pacientes con ETEV y sujetos sanos así como posibles diferencias según factores de estratificación.

Material y métodos: Estudio piloto de casos y controles ($n=40$) durante 3 meses en los hospitales participantes. Se estudió el polyP en la fracción proteica del crioprecipitado con ácido y medida enzimática. Se usaron test no paramétricos (U de Mann-Whitney) al carecer de distribución normal.

Resultados: Entre octubre-2014 y enero-2015 estudiamos 20 pacientes con ETEV (12 TVP, 7 TEP, 1 trombosis mesentérica)

y 20 controles sanos. Los valores medios de este polímero unido a proteínas en el crioprecipitado de los pacientes (8V; 12M; edad media 52.8 años; rango 20-73). Fueron de 2'72 pmol/μg de proteína y de 3.2 pmol/μg en los controles ($p < 0.05$). Entre los factores de riesgo asociado a ETEV, 4/20 tenían neoplasia de órgano sólido, 3/20 uso de anticonceptivos orales, 3/20 obesidad, 3/20 inmovilización postraumática y 2/20 eran idiopáticos. El 25% (5/20) no recibían anticoagulación y el valor medio de polyP fue de 6'81 pmol/μg, frente a 1'43 pmol/μg en los tratados ($p < 0.05$). El 75% (15/20) estaban bajo tratamiento en el momento de medir el polyP, 9/15 con HBPM y 6/15 con acenocumarol, sin que hubiera diferencias en los niveles de polyP entre ellos. A todos los pacientes se les realizó estudio de trombofilia: 9 resultaron negativos, 3 tenían anticuerpos antifosfolípido, 2 déficit de antitrombina, 2 mutación FV-Leiden, 1 mutación en el gen de la protrombina y 1 déficit de proteína-C. Tampoco hubo diferencias en los niveles de polyP entre los pacientes con o sin trombofilia, o por otras variables de estratificación (obesidad, uso de anticonceptivos, tipo de ETEV).

Discusión y conclusiones: Inesperadamente hallamos niveles de polyP inferiores en los pacientes respecto a los controles, quizás al recibir la mayoría anticoagulación. Ya que los no tratados tenían niveles muy elevados. Aunque es un trabajo preliminar, los datos sugieren una elevación inicial de polyP en la fase aguda de la trombosis que se reduce con la anticoagulación, incluso por debajo del nivel en controles sanos.

CO-122 Caracterización de micropartículas ricas en MMP-10 como posible vector en terapia trombolítica

Orbe Lopategui J. (1), Roncal C. (1), García García B. (1), Rodríguez J.A. (1), Páramo J.A. (2)

(1) CIMA. Universidad de Navarra. Pamplona. (2) Clínica Universidad de Navarra. Pamplona

Introducción: Las enfermedades cardiovasculares isquémicas de naturaleza aterosclerótica son la principal causa de morbi-mortalidad en países desarrollados. La terapia trombolítica con el activador tisular del plasminógeno (tPA), induce recanalización en menos del 50 % de los casos y posee efectos secundarios, siendo las complicaciones hemorrágicas las de mayor gravedad y peor pronóstico. Nuestro grupo ha demostrado que la metaloproteinasa de matriz 10 (MMP-10) aumenta la actividad fibrinolítica del tPA *in vitro*, y es un trombolítico eficaz y seguro en un modelo de ictus isquémico murino. Las micropartículas (MPs) son vesículas fosfolipídicas capaces de transportar sustancias bioactivas entre células en condiciones fisiológicas y patológicas. En base a esta propiedad hemos evaluado si las MPs pueden vehicular MMP-10, si su producción varía en función del estímulo empleado y si la asociación a MPs altera sus propiedades y actividad profibrinolítica.

Métodos: Las MPs se aislaron a partir de cultivos de HEK293 transfectadas con un vector que sobreexpresa la MMP-10, tras su estimulación con trombina, TNF α , IL-1 e hipoxia. Se cuantificó la

proteína total y se analizó mediante Western blot el contenido de MMP-10 y su grado de activación. Además se cuantificó la cantidad de MMP-10 que portaban (ELISA) y su actividad plasmina con un sustrato cromogénico (S-2251, Chromogenix).

Resultados: Las MPs aisladas tras estimulación con trombina y TNF α presentaron la mayor concentración de proteína. Aquellas obtenidas a partir de TNF α contenían más cantidad de MMP-10 y en su mayoría como pro-enzima inactivo. La MMP-10 contenida en MPs resultó insensible a la autoactivación mediante incubación a 37°C. Las MPs presentaron actividad plasmina que fue independiente de la presencia de MMP-10.

Conclusiones: La producción de MPs varía en función del estímulo aplicado, así como su contenido en MMP-10. La MMP-10 asociada a MPs se mantiene como proenzima y no presenta actividad plasmina. Las MPs podrían constituir un vector para la MMP-10, con interés terapéutico ya que impiden su autoactivación así como su unión a inhibidores específicos (TIMPs).

CO-123 Aspectos biológicos del uso de rivaroxabán: aplicación de pruebas de coagulación básicas y especiales para la medición de la actividad del rivaroxabán

Asenjo S. (1), García Raso A. (2), Vidal R. (3), Rodríguez Huertas A. (4), Solan Blanco L. (4), Íñigo B. (1), Arquero T. (5), Llamas P. (3)

(1) Hospital Clínico San Carlos. Madrid. (2) Instituto de Investigación Sanitaria Fundación Jiménez Díaz. Madrid. (3) Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz. Madrid. (4) Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. (5) Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz. Madrid

Introducción: Rivaroxabán (Xarelto[®]) es un anticoagulante oral, inhibidor directo y selectivo del factor Xa, que tiene un perfil farmacocinético predecible en una amplia proporción de pacientes. Se administra a dosis fijas, con efecto anticoagulante máximo a las 2h-4h tras la ingesta, y sin necesidad de controles de laboratorio. No obstante, se precisarán estudios de coagulación en los casos de complicación hemorrágica o trombótica, cirugía urgente o programada, y determinadas situaciones específicas (peso extremo, insuficiencia renal, interacciones farmacológicas...).

Métodos: Estudio multicéntrico en el que se han incluido 50 pacientes mayores de edad con ETEV o FA en tratamiento con rivaroxabán seguidos en el HU Clínico San Carlos, HU Fundación Jiménez Díaz y HU Gregorio Marañón. Criterios de exclusión: pacientes que están tomando rivaroxabán como profilaxis primaria en cirugía ortopédica. En todos los pacientes se recogieron los siguientes datos clínicos: edad y sexo, peso, indicación de rivaroxabán, antecedentes trombóticos y/o hemorrágicos, creatinina, filtrado glomerular, enfermedades concomitantes, medicación concomitante, factores de riesgo hemorrágico. El estudio de coagulación incluyó: tiempo de protrombina, tiempo de cefalina, fibrinógeno. Se han determinado los niveles de actividad anti Xa

utilizando el kit HemosIL Liquid Heparin (Instrumentation Laboratory), y la concentración de rivaroxabán mediante un ensayo cromogénico empleando calibradores específicos TECHNOVIEW Rivaroxaban Cal High Set. Todas las determinaciones se realizaron a las 2 horas de la ingesta del fármaco y a las 24 horas, justo antes de la toma siguiente (Figura 1).

Resultados: La edad media de los pacientes incluidos en el estudio fue de $65,85 \pm 16,22$ años (28-89), de los cuales el 44% (n=22) eran mujeres y el 56% (n=28) eran hombres. El 18% de los pacientes recibieron una dosis de 15mg/24h de rivaroxabán, mientras que el 82% restante recibió 20mg/24h. El peso medio de los pacientes fue $73,003 \pm 11,694$ kg. Las Figuras 2 y 3 muestran la correlación entre los niveles de rivaroxabán y la actividad anti-Xa y TP, respectivamente. La concentración media de rivaroxabán a las 2 horas fue de $239,70 \pm 115,37$ (29,89-426,28) y a las 24 horas $29,22 \pm 22,25$ (0-114,51)

Conclusiones: Mediante el uso de los ensayos cromogénicos utilizados para medir la actividad anti-Xa, calibrados mediante

calibradores específicos para rivaroxabán se puede estimar la concentración de rivaroxabán de forma fiable. La relación entre el TP y la concentración de rivaroxabán no es lineal ni a las 2 ni a las 24 horas tras la ingesta. Con mayor casuística, se podría llegar a establecer una correlación entre la actividad anti Xa y la concentración de rivaroxabán.

| | Concentración <200µg/L | Linealidad |
|----------|---|---|
| TTPA | Insensible | No |
| TP | Prolongación max < 1.5 veces el control | Se mantiene hasta 1000µg/L (Prolongación 1.6-3.5) |
| Anti FXa | - | 0-500µg/L |

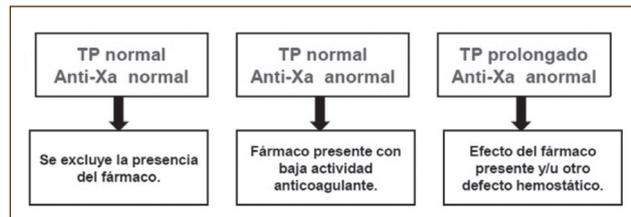


Figura 1. A. Pruebas para valorar el efecto anticoagulante del rivaroxabán (Indicar siempre la última dosis de rivaroxabán en el momento de solicitar las pruebas). **B.** Interpretación de los resultados de las pruebas.

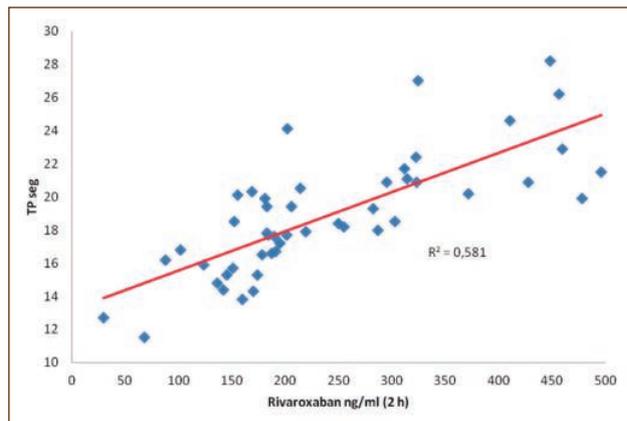
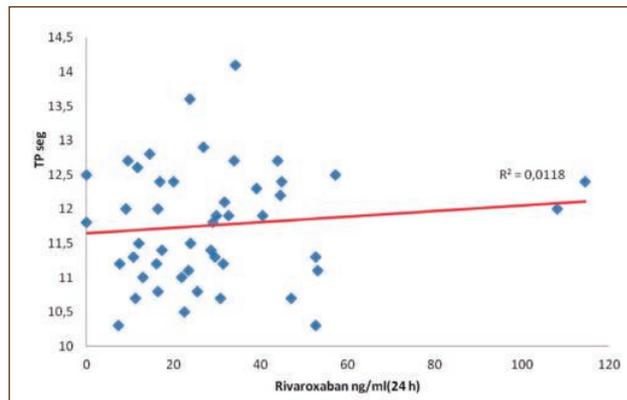


Figura 3. A. Correlación entre TP y rivaroxabán tras 24 horas. **B.** Correlación entre TP y rivaroxabán tras 2 horas.

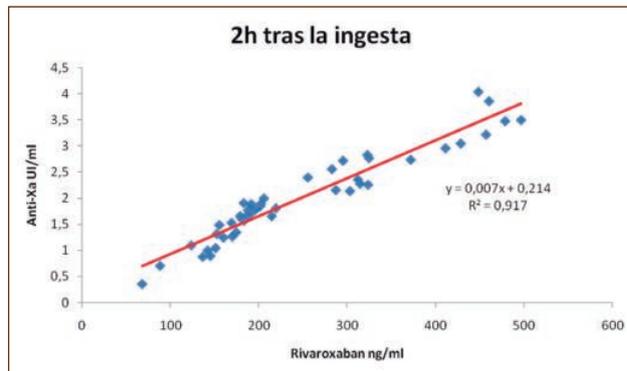
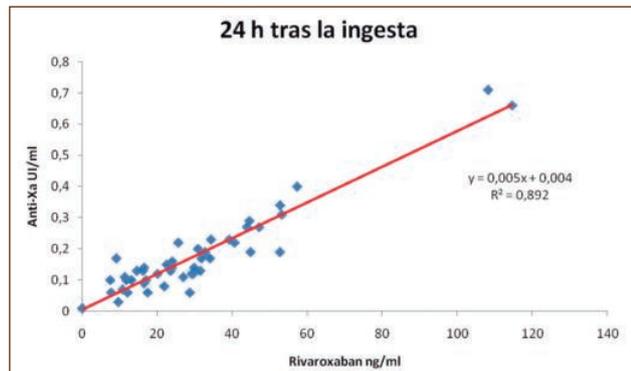


Figura 2. A. Correlación de los niveles de actividad anti-Xa y rivaroxabán tras 24 horas. **B.** Correlación de los niveles de actividad anti-Xa y rivaroxabán tras 2 horas.

Tratamientos antitrombóticos

CO-144 Inhibición de HDAC6: nueva terapia antitrombótica sin riesgo hemorrágico

Allende Rodríguez M., Molina E., Rabal O., Ugarte A., Oyarzábal J., Montes R., Hermida J.

Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA). Pamplona

Introducción: Las hemorragias graves constituyen el principal efecto secundario de los anticoagulantes orales actuales, lo que dificulta la prevención de la trombosis. Recientemente hemos demostrado el efecto antitrombótico sin riesgo hemorrágico de la *heat-shock protein 70 kDa* (Hsp70), lo que convierte la manipulación al alza de sus niveles en un tratamiento anticoagulante alternativo muy prometedor. Una de las principales vías de regulación de la expresión de Hsp70 es la inhibición de la *histone deacetylase 6* (HDAC6). Por tanto, el diseño de nuevas moléculas inhibidoras de HDAC6 podría ser un tratamiento antitrombótico efectivo sin riesgo hemorrágico.

Métodos: La expresión de RNA mensajero (RNAm) de Hsp70 se determinó mediante PCR cuantitativa en la línea celular endotelial EA.hy926 y en tejido vascular de ratón. Los inhibidores de HDAC6 examinados fueron la tubastatina A, compuesto disponible comercialmente, y CM695, compuesto propio, ambos administrados en ratones a una dosis de 20 mg/kg. El efecto antitrombótico se evaluó mediante tres modelos murinos de trombosis: rosa de bengala-láser, cloruro férrico y epinefrina-colágeno. El riesgo hemorrágico se determinó mediante el tiempo de hemorragia.

Resultados: La inhibición de HDAC6 tanto con tubastatina A como con CM-695 aumentó la expresión de RNAm de Hsp70 en tejido vascular de ratón [*fold change* (FC)=5,3 y 2,5 respectivamente] y en células endoteliales (FC=3,0 y 5,0 respectivamente). El tratamiento con tubastatina A retrasó el tiempo de formación del trombo ante la exposición a rosa de bengala-láser ($p=0,04$) y cloruro férrico ($p=0,01$), y aumentó la supervivencia en el modelo de tromboembolismo pulmonar inducido por epinefrina-colágeno ($p=0,04$) (Figura 1); sin embargo, no alteró el tiempo de hemorragia frente a los ratones no tratados ($7,18\pm 3,87$ y $8,14\pm 4,79$ min respectivamente, $p=0,58$). Es reseñable que CM-695 alargó notablemente el tiempo de formación del trombo en los modelos de rosa de bengala-láser ($p=0,001$) y cloruro férrico ($p=0,031$), aumentó la supervivencia ante el estímulo de epinefrina-colágeno ($p=0,04$) (Figura 2) y tampoco alteró el tiempo de hemorragia ($7,44\pm 2,68$ min frente a $8,60\pm 5,35$ min en los ratones no tratados, $p=0,97$). Además, la ausencia de efecto antitrombótico de CM-695 en ratones *knock-out* para Hsp70 confirmó que ésta es la molécula intermediaria de los efectos beneficiosos del primero. Colectivamente, estos resultados son una prueba adicional del importante e insospechado papel que Hsp70 juega en la trombosis.

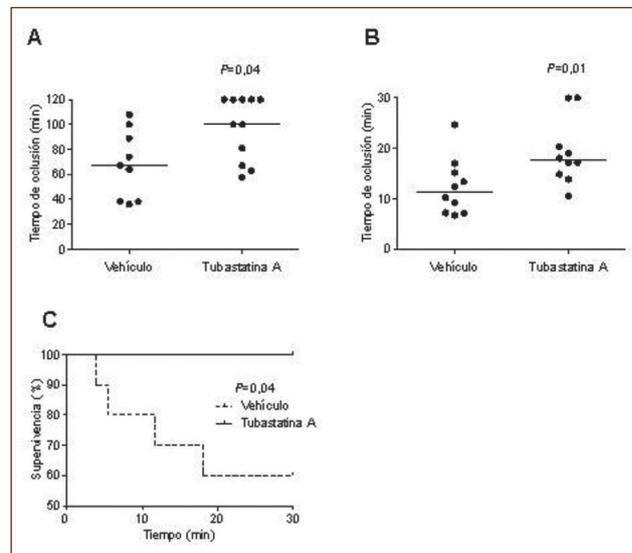


Figura 1. Efecto antitrombótico de la tubastatina A. A los ratones se les administró 20 mg/kg de tubastatina A o vehículo 8 horas antes de comenzar los modelos de trombosis. Posteriormente se determinó el tiempo hasta la oclusión de la arteria carótida después de exponerla a (A) rosa de bengala/láser y (B) cloruro férrico. En (A) y (B), las líneas horizontales representan la mediana del tiempo de oclusión de cada grupo. (C) Supervivencia al tromboembolismo pulmonar inducido por epinefrina/colágeno en ratones tratados con tubastatina A ($n=11$) y con vehículo ($n=13$). El análisis de supervivencia se realizó mediante curvas de Kaplan-Meier que se compararon mediante el test log-rank.

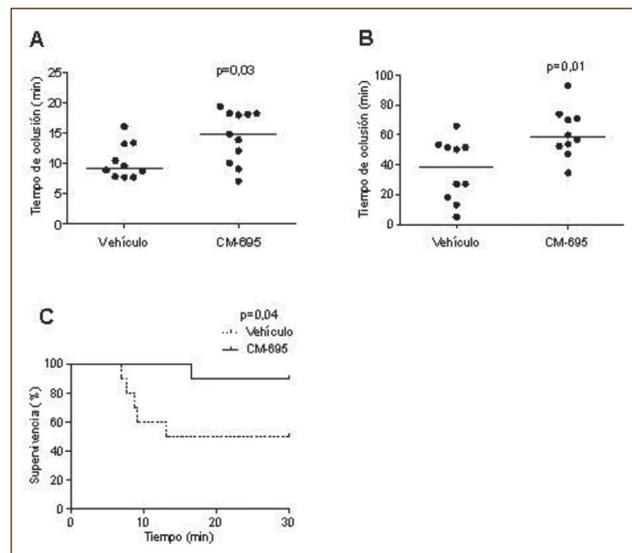


Figura 2. Efecto antitrombótico de CM-695. A los ratones se les administró 20 mg/kg de CM-695 o vehículo una hora antes de comenzar los modelos de trombosis. Posteriormente se determinó el tiempo hasta la oclusión de la arteria carótida después de exponerla a (A) rosa de bengala/láser y (B) cloruro férrico. En (A) y (B), las líneas horizontales representan la mediana del tiempo de oclusión de cada grupo. (C) Supervivencia al tromboembolismo pulmonar inducido por epinefrina/colágeno en ratones tratados con CM-695 ($n=11$) y con vehículo ($n=13$). El análisis de supervivencia se realizó mediante curvas de Kaplan-Meier que se compararon mediante el test de log-rank.

Conclusiones: Las nuevas moléculas inhibitoras de HDAC6, que inducen un incremento en los niveles de Hsp70, son eficaces compuestos antitrombóticos sin los efectos hemorrágicos de los tratamientos anticoagulantes actuales.

CO-145 ¿Switching perioperatorio: existe asociación entre las concentraciones plasmáticas de los anticoagulantes orales no antagonistas de la vitamina K (NOACs) y el sangrado post-operatorio?: resultados preliminares: “The Real Life Cohort Study”

Flores Aparco K.J., Olivera Sumire P., Cortina Giner V., Pons Escoll V., López-Andreoni L., Bosch Albareda F., Santamaría Ortiz A.

Hospital Universitario Vall d’Hebron. Barcelona

Introducción: El manejo perioperatorio (MPO) de los pacientes anticoagulados con los NOACs representa una situación especial en la que evaluar las concentraciones plasmáticas de estos fármacos previo a la cirugía y/o procedimiento invasivo podría garantizar el uso seguro de los mismos.

Objetivos: Evaluar la asociación entre las concentraciones plasmáticas de los NOACs obtenidos antes de la cirugía con el riesgo de sangrado post-operatorio.

Métodos: Desde junio 2014, se incluyeron consecutivamente 60 pacientes tratados con NOACs que fueron referidos a nuestra unidad para el MPO, el cual se realizó siguiendo las recomendaciones de nuestro protocolo (adaptado de Spyropoulos et al.). Los eventos hemorrágicos fueron clasificados siguiendo los criterios de la ISTH. Las concentraciones plasmáticas de Rivaroxaban® y Apixaban®, fueron medidas el día del procedimiento invasivo y determinadas mediante un ensayo cromogénico para medir actividad Anti-Xa (Technoclone®-Vienna, Austria) y las de dabigatran usando un ensayo para la cuantificación del inhibidor directo de la trombina de IL (Bedford-MA -USA), en cada caso, se utilizaron calibradores específicos.

Resultados: Resultados preliminares corresponden a 33 pacientes. Con una mediana de edad de 74 años (rango, 61-94) y el 51.5% mujeres. La distribución por grupos de tratamiento fue la siguiente: 24.2% (n=8) en el grupo de dabigatran, 60.9% (n=20) en el de rivaroxaban y el 15.2% (n=5) en el de apixaban. El 66,7% presentaba una puntuación HAS-BLED > 3 y el 51,5% se sometió a procedimientos de alto riesgo hemorrágico. Se interrumpió el tratamiento anticoagulante en todos los pacientes y se administró heparina de bajo peso molecular (HBPM), a dosis profilácticas, durante el post-operatorio en el 42.4% (n=14). La mediana de duración de la interrupción fue de 3 días. Se observaron complicaciones hemorrágicas en 17 pacientes (47.1% con sangrado menor, 35.3% sangrado no mayor pero clínicamente relevante y 17.6 % con sangrado mayor). La mediana de la concentración plasmática de los NOACs fue de 29,2 ng/ml (0,8 a 226 ng/ml), con

11 pacientes que tuvieron niveles > 30 ng/ml. El uso de HBPM y una puntuación HASBLED > 3 se relacionaron significativamente con el sangrado post-operatorio. No observamos correlación entre la concentración plasmática de drogas y eventos hemorrágicos.

Conclusión: En nuestra cohorte no se observó asociación significativa entre la concentración plasmática de los NOACs y las complicaciones hemorrágicas en el post-operatorio. En la mayoría de los casos con sangrado no-menor estaba relacionado con el procedimiento postoperatorio así como otros factores de riesgo hemorrágico.

CO-146 Tromboprofilaxis en mujeres con complicaciones vasculares gestacionales o antecedentes de trombosis o trombofilia. Resultados del Proyecto TEAM

Martí Saez E. (1), Medina Mallen M.C. (2), Mira Fornes Y. (3), Mussio D. (4), Stevenazzi Rivas M. (4), de Diego Jalenskaya I. (5), Casellas Caro M. (6), Aguinaca Culebras R. (7), Oliver Samper A. (8), Rodríguez Huerta A.M. (9), Redondo Izal A.M. (10), López Fernández M.F. (11), Tàssies Penella D. (12), Santamaría Ortiz A. (13)

(1) Hospital Manises. Valencia, España. (2) Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona, España. (3) Hospital La Fe. Valencia, España. (4) Hospital de Clínicas. Montevideo, Uruguay. (5) Mutua de Tarrasa. Barcelona, España. (6) Hospital Vall d’Hebron. Barcelona, España. (7) Hospital Joan XXIII. Tarragona, España. (8) Fundació Puigvert. Barcelona, España. (9) Hospital General Gregorio Marañón. Madrid, España. (10) Hospital Virgen del Camino. Pamplona, España. (11) Complejo Hospitalario Universitario. A Coruña, España. (12) Hospital Clínic. Barcelona, España. (13) Hospital Vall d’Hebron. Hospital Universitario Quirón Dexeus. Barcelona, España

Introducción: El uso de HBPM durante el embarazo en mujeres con antecedentes de complicaciones obstétricas, trombofilia o trombosis para evitar recurrencias está extendido en la práctica clínica habitual, aunque el rol de la heparina de bajo peso molecular (HBPM) es controvertido. Hemos estudiado el tipo de tromboprofilaxis que se realiza en esta clase de mujeres incluídas en el proyecto TEAM y la incidencia de complicaciones asociadas al uso de HBPM.

Pacientes y métodos: Desde el 2009 hasta la actualidad, se está realizando el Proyecto TEAM (trombosis en el ámbito de la mujer). En él han participado 29 centros en España y Uruguay. En el registro se incluyen diferentes perfiles de mujer TEAM:

- Perfil 1. Pacientes con trombosis secundaria a tratamiento hormonal o embarazo.
- Perfil 2. Mujeres con complicaciones vasculares gestacionales (CVG) o fallos de implante repetidos (FIR).
- Perfil 3. Mujeres con trombofilia o antecedentes de trombosis que recibirán o no profilaxis durante el embarazo o técnicas de reproducción asistida (TRA).

La decisión de emplear HBPM y qué tipo era decisión del médico responsable, siguiendo su práctica habitual.

Tabla 1. Características de los grupos analizados

| | CVG | Profilaxis trombosis |
|----------------------------------|-------------|----------------------|
| Edad | 37 (16,45) | 36 (18,51) |
| Antec. Familiares trombosis | 47 (8%) | 69 (30,7%) |
| Antec. Trombosis | 3 (3,9%) | 95 (40%) |
| Historia obstétrica desfavorable | 432 (73,6%) | 65 (29,5%) |
| Trombofilia positiva | 158 (26,1%) | 117 (51,3%) |

Resultados: Se analizaron dos tipos de perfil de profilaxis: perfil de complicación vascular gestacional (605 casos) y perfil de profilaxis por antecedente de trombofilia o trombosis (239 casos). Se muestran las características de cada grupo en la [tabla 1](#).

Tratamientos empleados:

- Perfil CVG: Se empleó HBPM en 187(34%) episodios, junto con aspirina en 109 casos (20%). En este grupo se empleó aspirina sola en 20 (4%) casos.
- Perfil profilaxis de trombosis: Se utilizó la HBPM sola en 197 (88%) casos, junto con aspirina en 44 (20%) de los episodios. En 7 (3%) casos se empleó AAS sola.

En ambos grupos la HBPM más usada fue enoxaparina, seguida de tinzaparina y bemiparina.

De las pacientes con trombofilia positiva, en el grupo de profilaxis de CVG el 64% (88 pacientes) recibieron HBPM, mientras que en el grupo de profilaxis de trombosis al 92% (102 pacientes) se las trató con HBPM.

Hubo dos episodios de trombosis, uno en cada perfil, pese a la profilaxis con HBPM. 34 episodios se complicaron con CVG, 24 en el grupo de profilaxis de complicaciones obstétricas (11 sin heparina y 13 con heparina) y 10 en el grupo de profilaxis de trombosis (todas llevaban HBPM).

Se registraron 8 episodios de hemorragia menor en el grupo de pacientes tratados con HBPM (4 en cada perfil), frente a 3 sangrados en pacientes sin HBPM.

Conclusiones: El uso de HBPM en el embarazo como profilaxis en pacientes con antecedentes de trombosis o trombofilia es una práctica bastante generalizada. Sin embargo, en profilaxis de CVG se emplea en menos de la mitad de pacientes. Su uso a dosis profilácticas parece seguro. Dado que la incidencia de estas complicaciones es baja, sería necesario un mayor número de pacientes para valorar su eficacia en disminuir la tasa de recurrencias.

CO-147 Tratamiento a largo plazo con bemiparina del tromboembolismo venoso en pacientes con cáncer. Estudio ELEBAMA, resultados preliminares

Pina Pascual E. (1), Antonio Rebollo M. (2), Peris Vidal J. (1), Rosselló Palmer E. (1), Domènech Santasusana P. (1)

(1) Hospital Universitario de Bellvitge. L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona. (2) Institut Català d'Oncologia. Barcelona

Introducción: Los pacientes con cáncer y tromboembolismo venoso (TEV) tienen un elevado riesgo de recurrencia a pesar del tratamiento anticoagulante. La heparina de bajo peso molecular (HBPM) ha demostrado ser más eficaz que el tratamiento con anti-vitaminas K (AVK). Actualmente el tratamiento recomendado por las diferentes guías de consenso es la HBPM durante un mínimo de 3-6 meses, no obstante existe poca evidencia que apoye a todas las HBPM por igual. Bemiparina no dispone todavía de estudios específicos en pacientes con cáncer.

Objetivo: El objetivo de este estudio observacional prospectivo, no aleatorizado es evaluar la eficacia y seguridad de la bemiparina en la tromboprofilaxis secundaria del tromboembolismo venoso durante 6 meses en pacientes con cáncer activo y TEV y comparar los resultados con los de los ensayos clínicos con otras HBPM publicados.

Material y métodos: Se han evaluado una serie de pacientes con cáncer y TEV en un solo centro, que han recibido bemiparina ajustada al peso (115 UI anti Xa/kg/24 h) durante 6 meses. El objetivo primario de eficacia es la recurrencia de TEV a los 6 meses, que incluye trombosis venosa profunda (TVP) y embolia pulmonar (EP) sintomática o incidental. El objetivo primario de seguridad es la incidencia de hemorragias durante el tratamiento. La evaluación y tratamiento de los pacientes se ha realizado de acuerdo con las recomendaciones de las guías clínicas actuales y siguiendo la práctica clínica habitual.

Resultados: 38 pacientes con TEV y cáncer activo han sido incluidos; 10 TVP de extremidades inferiores (26,3%) y 28 EP (73,6%). En la mitad de los casos la forma de presentación fue sintomática y en la otra mitad fue por hallazgo casual en un TC realizado por otro motivo (TEV incidental). La mediana de edad es de 64 años (rango 45-84); un 57,8% mujeres. De los tumores primarios, 36 son tumores sólidos (94,7%) y 2 hematológicos (5,2%). En orden de frecuencia la localización del tumor primario es: pulmón 30,5%, colon-recto 22,2%, páncreas 13,8%, ginecológico 13,8%, mama 8,3%, naso-faringe 5,5%, esófago 2,7% y SNC 2,7%. En el momento del diagnóstico del TEV, en el 11,2% de pacientes el tumor se encontraba en estadios localizados, en el 47,2% localmente avanzado y el 41,6% presentaban metástasis. La mayoría de los pacientes (78,9%) estaban recibiendo algún tratamiento oncoespecífico (QT+/-RT+/- cirugía).

De los 38 pacientes incluidos, 34 (89,4%) han completado los 6 meses de seguimiento. Durante el tratamiento con bemiparina, 2 pacientes (5,8%) han presentado recurrencia del TEV (1 caso de EP asintomática y 1 caso de TVP sintomática contralateral). Sólo 1 paciente ha presentado una hemorragia mayor (hemorragia digestiva alta). No ha habido ningún caso de hemorragia fatal ni de EP fatal. Durante el estudio han fallecido 6 pacientes (15,78%), todos por progresión de la neoplasia.

Conclusiones: Bemiparina administrada a dosis terapéuticas (115 UI anti-Xa/kg/día) durante 6 meses como profilaxis secundaria de TEV en pacientes con cáncer, en la práctica clínica habitual, se asocia con una baja incidencia de recurrencia de TEV y de sangrado.

Estudio financiado por LABORATORIOS ROVI (II Concurso Internacional de becas para la Investigación biomédica con bemiparina).

CO-148 Estado de prescripción actual de los anticoagulantes orales de acción directa en pacientes con fibrilación auricular no valvular. Experiencia de un centro

Martínez García A.B., García Candell F., Pérez López R., Cabañas Perianes V., Berenguer Piqueras M., Salido E., Moreno Belmonte M.J., Ramón Mitat A., Martínez Marín A., Moya Arnao M., Moraleda Jiménez J.M.

Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia

Introducción: Desde la reciente aprobación de los Anticoagulantes Orales de Acción Directa (ACODs) para la prevención de Ictus en pacientes con Fibrilación Auricular No Valvular (FANV), su uso se ha extendido como alternativa a los antivitaminas K dado su mejor perfil de seguridad. Sin embargo, disponemos de poca experiencia en su manejo y sus complicaciones. Además, la prescripción por varias especialidades dificulta la realización de estudios homogéneos de estos pacientes desde una Consulta de Anticoagulación.

Objetivo: Conocer el estado actual de prescripción de ACODs en el Área I del Servicio Murciano de Salud.

Método: Estudio descriptivo de los pacientes con FANV en tratamiento activo con ACODs a día 1 de abril de 2015, con listado facilitado por la Conserjería de Sanidad. Se recogen datos epidemiológicos y de motivo de inicio o cambio de tratamiento a través de los programas electrónicos de dosificación de anticoagulantes (GOTA, Werfen Group), de Gestión clínica a nivel hospitalario (Selene) y Atención Primaria (Agora).

Resultados: Un total de 475 pacientes se encuentran actualmente en tratamiento con ACODs en nuestra Área. La media de edad es de 76 ± 10 años. El fármaco más utilizado es dabigatran en 198 pacientes (41.8%), seguido de rivaroxaban (33.2%) y apixaban (25%). Doscientos veinticinco pacientes (47%) precisaron ajuste de dosis. El Aclaramiento de Creatinina es menor a 50 mL/min en 82 pacientes (17%). Los factores de riesgo más frecuentes son la hipertensión arterial en un 81.6% de los pacientes, la edad ≥ 75 años (60%) y la diabetes mellitus (36.6%). Un total de 187 pacientes (40%) iniciaron el tratamiento anticoagulante con un ACOD. Las principales razones para cambio de anti-vitamina K a ACOD fueron un INR inestable en 191 pacientes (66%) y sangrado en 23 (8%). El servicio que más prescribió fue Cardiología, con un 57.6%, seguido de Neurología (12%). Destacar que en la Consulta de Anticoagulación no había registro de estos tratamientos en 295 pacientes (62%). Sesenta y ocho pacientes (14.3%) han presentado complicaciones: un 2.3% requirió cambio de tratamiento por deterioro de la función renal, un 9.4% presentó sangrado moderado/grave, y un 2.5% trombosis.

Conclusión: De los 475 pacientes con FANV en tratamiento activo con ACODs, un 62% no constaban en la base de datos de la Consulta de Anticoagulación. El 17% presenta insuficiencia renal y hubo un 14.3% de complicaciones moderadas/graves. Esto pone de manifiesto la importancia de la colaboración entre servicios clínicos y de la creación de un registro de cara a poder consultar fármaco, dosis e historia clínica en caso de emergencia, así como para mayor conocimiento a largo plazo.

CO-149 Análisis prospectivo de los factores que influyen en el uso de profilaxis antitrombótica farmacológica en pacientes con cáncer en tratamiento quimioterápico ambulatorio en condiciones de práctica clínica habitual

Lecumberri Villamediana R. (1), Panizo E. (1), Alfonso A. (1), García-Mouriz A. (1), López-Picazo J.M. (1), Gil-Bazo I. (1), Hermida J. (2), Páramo J.A. (1)

(1) Clínica Universidad de Navarra. Pamplona. (2) Centro de Investigación Médica Aplicada. Universidad de Navarra. Pamplona

Introducción: Las actuales guías de práctica clínica no recomiendan el uso rutinario de trombotprofilaxis farmacológica en pacientes con cáncer en tratamiento quimioterápico ambulatorio. Sin embargo, una proporción importante de episodios de tromboembolismo venoso (TEV) asociado a cáncer tienen lugar en este escenario. Al contrario de lo que ocurre en pacientes oncológicos hospitalizados, apenas existen datos acerca del uso de trombotprofilaxis en pacientes ambulatorios con cáncer en condiciones de práctica clínica habitual.

Métodos: Estudio prospectivo para evaluar el uso y los factores que influyen en la prescripción de trombotprofilaxis en pacientes adultos en tratamiento quimioterápico en régimen ambulatorio. Se excluyeron aquellos pacientes con indicación de anticoagulación terapéutica. Los pacientes fueron seguidos durante 90 días tras la inclusión.

Resultados: Se incluyeron 1.108 pacientes consecutivos (edad media de 58 ± 12 años; 49% varones; 95% con tumor de órgano sólido; 46% con enfermedad avanzada). Según la escala de Khorana, el 45,8% presentaban un riesgo bajo; 47,4% riesgo moderado y 6,8% riesgo alto de TEV. Durante el seguimiento 264 pacientes (23,8%) recibieron trombotprofilaxis, con una mediana de duración de 24 días (rango 1-90). En el análisis multivariante se identificaron las siguientes variables relacionadas con el uso de trombotprofilaxis: hospitalización intercurrente (OR 32,96; IC95% 21,61-50,27); historia previa de TEV (OR 16,06; IC95% 7,82-33,00); sexo masculino (OR 1,60; IC95% 1,03-2,51); primera línea de quimioterapia (OR 1,77; IC95% 1,17-2,69); tumor hematológico (OR 0,25; IC95% CI 0,07-0,84) y cirugía reciente (OR 0,48; IC95% 0,25-0,91). Durante el seguimiento se observaron 58 episodios de TEV (5,2%). El único predictor independiente de TEV fue el origen del tumor (OR 3,48; IC95% 1,43-8,46 y OR 2,52; IC95% 1,19-5,28 para cáncer de páncreas y pulmón, respectivamente).

Conclusiones: La mayoría de los pacientes ambulatorios con cáncer no reciben trombotprofilaxis en la práctica habitual, aunque la incidencia de TEV en esta población es relevante. Aunque el origen de la neoplasia sería el factor de riesgo más importante para la toma de decisiones, se precisan esfuerzos adicionales para la identificación de pacientes con riesgo particularmente elevado de trombosis.

Plaquetas / biología vascular

CO-150 Valoración del procedimiento de diagnóstico de la trombocitopenia inmune primaria en España: estudio multicéntrico VERTEX

Lozano Almela M.L. (1), Novelli S. (2), Pérez S. (3), Lucas J. (4), Álvarez M.T. (5), Arilla M.J. (6), González T. (7), Sánchez González B. (8), González J.R. (9), Campos R. (10), Bermejo N. (11), Perera M. (12), Casado L.F. (13), Revilla N. (14), Do Nascimento J. (15), Vicente V. (1)

(1) Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Centro Regional de Hemodonación. IMIB-Arrixaca. Murcia. (2) Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. (3) Complejo Hospitalario Universitario de Santiago. Santiago de Compostela. A Coruña. (4) Hospital General de Alicante. Alicante. (5) Hospital Universitario La Paz. Madrid. (6) Hospital de Sagunto. Valencia. (7) Hospital General de Burgos. Burgos. (8) Hospital del Mar. Barcelona. (9) Hospital Universitario de Salamanca-IBSAL. Salamanca. (10) Hospital de Jerez. Cádiz. (11) Hospital San Pedro Alcántara. Cáceres. (12) Hospital Gran Canaria Dr. Negrín. Las Palmas de Gran Canaria. (13) Hospital Virgen de la Salud. Toledo. (14) Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid. (15) Hospital General de Tarragona Joan XXIII. Tarragona

Introducción: El diagnóstico de la trombocitopenia inmune primaria (PTI) ha constituido hasta hace muy poco tiempo un auténtico reto, ya que este se establece por exclusión y en buena medida tenía un componente relevante basado en la experiencia clínica individual. Desde el 2009 al 2011 se han elaborado recomendaciones por especialistas con reconocida experiencia en esta enfermedad (grupo de trabajo internacional, guías española, austriaca, americana, francesa, noruega, alemana y sueca), con el fin de facilitar el manejo diagnóstico y terapéutico de estos enfermos.

Objetivo: El objetivo principal del estudio fue evaluar el procedimiento de diagnóstico de la PTI en pacientes adultos en la práctica clínica habitual en España y verificar su adaptación a las diferentes recomendaciones establecidas en las guías.

Métodos: Estudio retrospectivo, nacional llevado a cabo en 15 centros con una amplia distribución geográfica y de distintas comunidades autónomas. Se incluyeron pacientes mayores de 18 años diagnosticados de PTI primaria entre Enero de 2011 y Junio de 2012, que hubieran recibido al menos una línea de tratamiento para la enfermedad.

Resultados: Se incluyeron 102 pacientes con una mediana de edad de 58 años (rango 20-91 años), 35% varones. Todos los pacientes cumplían criterios de PTI crónica a la entrada en el estudio. Al diagnóstico el 75,5% presentó hemorragias, fundamentalmente en territorio mucocutáneo y predominantemente no graves, siendo la mediana de las plaquetas de $12,0 \times 10^9/L$ ($1-99 \times 10^9/L$). El frotis de sangre periférica, aunque es una técnica claramente indicada por todas las guías, sin embargo no se realizó en un

22,5% de los pacientes y tampoco se cuantificaron los niveles de inmunoglobulinas en el 25,5%. A pesar de las recomendaciones, en un 7,8% de los pacientes no se había realizado la detección de VIH, VHB ni VHC. Pese a la frecuente indicación en la mayoría de las guías de no realizar de forma indiscriminada el estudio de médula ósea, éste se llevó a cabo en el 51,0% de los pacientes (9,8% biopsia y 41,2% aspirado). Los principales motivos para su realización fueron la edad del paciente (53,8%) y curiosamente en el 32,7% de los casos por ser política del servicio. El test de Coombs directo y los anticuerpos antinucleares no se solicitaron en un 58,8% y 14,7% de los pacientes respectivamente, mientras que estudios en general no recomendados, como evaluación de anticuerpos antiplaquetarios y la presencia de *Helicobacter pylori*, se determinaron en un 10,8% y un 24,5%, respectivamente.

Conclusiones: Pese a que los centros indicaron una adherencia a las recomendaciones de la guía nacional, curiosamente se comprobó cómo existe un elevado incumplimiento en la realización de pruebas importantes como frotis y serologías víricas. Por el contrario, pruebas con bajo nivel de recomendación como la realización inequívoca de estudios de médula ósea, anticuerpos antiplaquetarios o presencia de *Helicobacter pylori* se realizaron en exceso. En definitiva, a pesar de la disponibilidad de guías diagnósticas de PTI, hay un nivel no desdeñable de incumplimiento, lo que da margen para insistir en los procedimientos diagnósticos de esta entidad en nuestro medio.

CO-151 Eficacia y seguridad de eltrombopag en PTI secundaria en la práctica clínica

González López T.J. (1), Álvarez-Román M.T. (2), Pascual C. (3), Sánchez-González B. (4), Fernández-Fuentes F. (5), Jarque I. (6), Pérez-Rus G. (3), Hernández-Rivas J.Á. (7), Andrade M.M. (8), Bernat S. (9), Cortes M. (10), Pérez-Crespo S. (11), Martínez-Robles V. (12), Fernández-Rodríguez Á. (13), Fuertes-Palacio M.Á. (14), Aguilar C. (15), Martínez-Badas M.P. (16), Fernández-Miñano C. (17), Bermejo N. (18), Alonso A. (19), Jaimes D. (20), Soto I. (21), García-Frade J. (22), González-Porras J.R. (23)

(1) Hospital Universitario de Burgos. Burgos. (2) Hospital Universitario La Paz. Madrid. (3) Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. (4) Hospital del Mar. Barcelona. (5) Hospital Insular de Gran Canaria. Las Palmas de Gran Canaria. (6) Hospital Universitario La Fe. Valencia. (7) Hospital Infanta Leonor. Madrid. (8) Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza. (9) Hospital La Plana. Castellón. (10) Hospital de Granollers. Barcelona. (11) Hospital Universitario de Santiago. Santiago de Compostela. A Coruña. (12) Hospital de León. León. (13) Hospital Central de Asturias. Oviedo. (14) Hospital Clínico Lozano Blesa. Zaragoza. (15) Hospital de Soria. Soria. (16) Hospital de Ávila. Ávila. (17) Hospital Vega Baja. Orihuela, Alicante. (18) Hospital San Pedro de Alcántara. Cáceres. (19) Hospital Universitario Quirón. Madrid. (20) Hospital Universitario Donostia. San Sebastián, Guipúzcoa. (21) Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo. (22) Hospital Universitario Río Hortega. Valladolid. (23) Hospital Clínico de Salamanca. Salamanca

Introducción: Eltrombopag es un fármaco incluido dentro de los agonistas del receptor de la trombopoyetina aprobado en Espa-

ña para los pacientes afectados de trombocitopenia inmune primaria (PTI) crónica. La ausencia de ensayos clínicos en PTI secundaria hace que no exista una evidencia clara de la utilidad del fármaco en este contexto.

Métodos: Nuestro estudio es una revisión retrospectiva de los 71 pacientes procedentes de 23 hospitales españoles incluidos en el Registro Español de Eltrombopag en PTI (REVOES) y tratados con este fármaco por PTI secundaria.

Resultados: Nuestra serie incluye 14 PTI asociada a virus hepatitis C, 14 enfermedades linfoproliferativas, 10 lupus eritematoso sistémico (LES), 5 síndrome de Sjögren, 4 síndrome antifosfolípido (SAF), 4 síndrome de Evans, 4 PTI asociadas a VIH, 3 enfermedades hepáticas autoinmunes, 3 inmunodeficiencias, 2 PTI VHC-VIH sincrónicas, 2 PTI VHC-linfoma sincrónicas, 2 artritis psoriásicas, 2 neoplasias mieloides (LMMC y LMA), 1 Sd. Evans-Inmunodeficiencia sincrónica y 1 síndrome de Evans-VHC sincrónica.

- La mediana de edad de nuestra cohorte era de 64 (rango, 42-73) años. Incluía 44 mujeres y 27 hombres. La mediana de plaquetas era de $14 \times 10^9/L$ (rango, $6-23 \times 10^9/L$). 21 (29%) de los pacientes presentaban un Índice de Comorbilidad de Charlson de 2 o más al diagnóstico.
- La mediana de tiempo desde el diagnóstico de PTI secundaria hasta el inicio de eltrombopag era de 14 (rango, 1-67) meses. La mediana de líneas de tratamiento previas era de 2 (rango, 1-3), incluyendo rituximab (25%), esplenectomía (15%) y romiplostim (10%). 39 de 71 (55%) pacientes estaban recibiendo tratamiento concomitante para PTI secundaria al inicio de la terapia con eltrombopag: corticoides (37%), inmunoglobulinas (4%) o ambos (11%). 44% de pacientes presentaban sintomatología de sangrado el mes previo al inicio de eltrombopag (Tabla 1).
- Sesenta y cuatro de 71 (90%) pacientes respondieron al tratamiento. 52 (73%) pacientes alcanzaron una respuesta completa plaquetar (RC, $> 100 \times 10^9/L$). La proporción de pacientes que alcanzó respuesta plaquetar fue similar independientemente de los parámetros estudiados: edad, sexo, uso concomitante o no de medicación para PTI, sangrado o no al inicio de eltrombopag, recuento plaquetar basal (menos de o igual/más de $20 \times 10^9/L$) y tipo de PTI secundaria. 7 pacientes no alcanzaron respuesta al fármaco (Tabla 2).
- Eltrombopag se demostró muy bien tolerado reportándose tan solo 11 casos de efectos adversos (AE): la mayoría de severidad grado 1-2. Cuatro alteraciones de las transaminasas grado 2-3, tres cefaleas leves/moderadas, un cuadro de shock séptico, dos progresiones a leucemia mieloblástica (un SAF y el paciente afecto de LMMC) y una muerte por insuficiencia respiratoria en un paciente VIH+ en RC plaquetar en ese momento.

Conclusión: Aunque no se observaron predictores de respuesta plaquetar al fármaco, nuestra serie describe la gran eficacia y seguridad observada con el uso de eltrombopag en PTI secundaria. Sin embargo, se necesitan más estudios para confirmar la posible utilidad de eltrombopag en PTI secundaria.

Tabla 1. Características de los pacientes

| Variable | Total (n = 71) |
|---|----------------|
| Tipo de enfermedad, n (%) | |
| PTI-Virus Hepatitis C | 14 (20) |
| Enfermedades linfoproliferativas | 14 (20) |
| PTI-LES | 10 (14) |
| PTI-Sd. Sjögren | 5 (7) |
| PTI-SAF | 4 (6) |
| Síndrome Evans | 4 (6) |
| PTI-VIH | 4 (6) |
| Hepatopatías autoinmunes | 3 (4) |
| PTI-Inmunodeficiencias | 3 (4) |
| PTI-VHC-VIH | 2 (3) |
| PTI-VHC-linfoma | 2 (3) |
| PTI-Artritis psoriásica | 2 (3) |
| Neoplasias mieloides | 2 (3) |
| Síndrome de Evans-Inmunodeficiencia | 1 (1.5) |
| Síndrome de Evans-VHC | 1 (1.5) |
| Edad, años, mediana [Q1;Q3] | 64 [42;73] |
| Hombres/Mujeres (n) | 27 / 44 |
| Índice de comorbilidad de Charlson > 1, n (%) | 21 (29) |
| Meses con PTI, mediana [Q1;Q3] | 14 [1;67] |
| Tratamientos previos para PTI, mediana [Q1;Q3] | 2 [1;3] |
| Rituximab, n (%) | 18 (25) |
| Esplenectomía, n (%) | 11 (15) |
| Romiplostim, n (%) | 7 (10) |
| Recuento plaquetar al inicio del tratamiento con eltrombopag, n (%) | 14 [6;23] |
| Sangrado al inicio del tratamiento con eltrombopag, n (%) | 31 (44) |
| Tratamientos concomitantes, n (%) | 39 (55) |
| Corticoides | 26 (37) |
| Inmunoglobulinas | 3 (4) |
| Corticoides e Inmunoglobulinas | 8 (11) |

Tabla 2. Respuesta plaquetar

| Variable | Total (n = 71) |
|--|----------------|
| Calidad de la respuesta, | |
| Pacientes con respuesta plaquetar, n (%) | 64(90) |
| Pacientes con respuesta plaquetar completa, n (%) | 52(73) |
| Respuesta estratificada según variables | |
| Edad | |
| < 65 años, n (%) | 31(86) |
| ≥ 65 años, n (%) | 33(94) |
| Mujeres, n (%) | 42(95) |
| Hombres, n (%) | 23(85) |
| Tratamientos Concomitantes | |
| Sí, n (%) | 36(92) |
| No, n (%) | 26(87) |
| Sangrado al inicio del tratamiento con eltrombopag | |
| Sí, n (%) | 28(90) |
| No, n (%) | 30(90) |
| Plaquetas al inicio del tratamiento con eltrombopag | |
| < $20 \times 10^9/L$ | 43(91) |
| ≥ $20 \times 10^9/L$ | 18(90) |

CO-152 La expresión diferencial de tubulina-β1 podría contribuir a la menor capacidad adhesiva de las plaquetas de neonato

Caparrós-Pérez E. (1), Torregrosa J.M. (2), Blanco J.E. (3), Llanos M.C. (4), Sánchez J.V. (1), Vicente V. (1), Rivera J. (1), Ferrer-Marín F. (1), Martínez C. (1)

(1) Unidad de Hematología y Oncología Médica. Centro Regional de Hemodonación. Hospital Universitario Morales Meseguer. Universidad de Murcia. IMIB. Murcia. (2) Unidad de Hematología y Oncología Médica. Centro Regional de Hemodonación. Hospital Universitario Morales Meseguer. Universidad de Murcia. IMIB. Murcia. (3) Unidad de Medicina Materno-Fetal. Servicio de Ginecología y Obstetricia. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. IMIB. Murcia. (4) Unidad de Medicina Materno-Fetal. Servicio de Ginecología y Obstetricia. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. IMIB, Murcia

Introducción: Las plaquetas neonatales son hiporreactivas a la mayoría de los agonistas pese a lo cual presentan una mayor capacidad adhesiva, consecuencia, entre otros factores, de los mayores niveles de multímeros de vWF en el plasma neonatal. Recientemente se ha demostrado que, respecto a las de adulto, las plaquetas neonatales, presentan tiempos de oclusión en el PFA-100 más largos independientemente del medio en el que circulen (sangre neonatal vs adulto), sugiriendo así diferencias intrínsecas en la capacidad adhesiva de las plaquetas durante el desarrollo.

La tubulina-β1 es el principal constituyente de la banda marginal de la plaqueta y su deficiencia, asociada al polimorfismo Q43P, condiciona una disminución de la adhesión, la reactividad y la secreción plaquetaria.

Objetivo: Evaluar posibles diferencias en la capacidad de adhesión de las plaquetas a lo largo del desarrollo, y si las mismas se relacionan con cambios en la expresión de tubulina-β1.

Métodos: A partir de suspensiones de plaquetas lavadas procedentes de sangre periférica de Adulto (SPA) o cordón umbilical (SCU) (N=6/grupo), realizamos experimentos de adhesión en poli-L-lisina (PLL) a distintos tiempos (0-30 min en intervalos de 5 minutos). Mediante microscopía de fluorescencia evaluamos los siguientes parámetros: a) porcentaje de área ocupada por fluorescencia (%AOF, definido como el porcentaje de área fluorescente respecto del área total); b) área promedio plaquetaria (APP, una medida del tamaño medio de las plaquetas presentes en esa muestra); c) número y fenotipo de las plaquetas adheridas [no extendidas (NE, 0-15 μm²); parcialmente extendidas (PE, 15-40 μm²) y totalmente extendidas (TE, >40 μm²). Además, a partir de plaquetas leucodeplecionadas de SPA o SCU (N=15/grupo) cuantificamos los niveles de ARNm y de proteína tubulina-β1 mediante qRT-PCR y Western blot, respectivamente.

Resultados: Respecto a la cinética de adhesión observamos que, en el intervalo de 15-30 min, los neonatos presentan, respecto al adulto, un ~24% menos de %AOF (p<0,01); un ~9% menos de APP (p<0,01); y, un mayor porcentaje de plaquetas NE (25,8±8,7% vs. 20,7±7,8%, p=0,03) demostrando así una adhesión deficiente de las plaquetas de neonato. En concordancia, el porcentaje de plaquetas TE en dicho intervalo es mayor en el adulto (24,4±9,3% vs. 17,7±6,4%, p<0,01). En todos los tiempos evaluados, el número de plaquetas adheridas a la PLL fue menor en

el neonato (3-23% menor) aunque las diferencias no alcanzaron significación estadística. Observamos que las plaquetas neonatales tienen menor expresión de mRNA de TUBB1 (41%, p<0,01) y de proteína tubulina-β1 (53%, p<0,01), que las plaquetas de adulto, y ésta diferente expresión no se debe a la presencia del SNP TUBB1 Q43P.

Conclusión: Nuestros resultados demuestran, por primera vez, que la capacidad de adhesión de las plaquetas es intrínsecamente inferior en el neonato que en el adulto. La menor expresión de tubulina-β1 en las plaquetas neonatales podría contribuir a las diferencias en la adhesión y reactividad plaquetaria a lo largo del desarrollo.

ISCIII y FEDER (PI14/01956 y RD12/0042/0050 RIC)

CO-153 El nivel de miR-34a-5p hepático, pero no la presencia de hepatopatía no alcohólica, se asocian significativamente a la presencia de aterosclerosis coronaria

Marí-Alexandre J. (1), Braza-Boils A. (1), Domingo D. (2), Molina P. (3), Barceló-Molina M. (1), Olcina-Guillén M. (1), Arnau Miguel Á., Giner J. (3), Martínez-Dolz L. (4), Zorio E. (4)

(1) IIS La Fe. Hospital La Fe. Valencia. (2) IIS La Fe. Servicio Cardiología. Hospital La Fe. Valencia. (3) Instituto Medicina Legal. Valencia. (4) Servicio de Cardiología. Hospital La Fe. Valencia

Introducción: La grasa pericárdica (GE) y la enfermedad por hígado graso no alcohólico (EHGNA) se revelan como posibles nuevos factores de riesgo cardiovascular. Los microRNAs (miRNAs) podrían mediar esta acción. En la literatura el miR-34a-5p se ha asociado a EHGNA y en nuestra serie se encontró sobreexpresado en GE de pacientes (P) con muerte súbita cardíaca con enfermedad coronaria (EC).

Objetivo: Analizar asociación entre la EHGNA y la EC y valorar el papel del miR-34a-5p en ella.

Métodos: a) Revisión de autopsias forenses seleccionando 132 MSCi y 106 controles (C) sin EC; y b) en un subgrupo de 22 controles y 50 pacientes se cuantificó el miR-34a-5p por qRT-PCR en muestras de hígado y en GE.

Resultados: En pacientes y controles predominaban los hombres (85% y 71%, ns), los pacientes eran mayores (48±6 años vs 40±12, p=0,003) y más obesos (IMC 28±5 vs. 25±4, p=0,002). La presencia (72%P y 44%C) y severidad (esteatohepatitis 2-3 45%P y 21%C) de EHGNA fue mayor en pacientes que en controles (p=0,012 y p=0,045), pero perdió la significación al ajustar para edad e IMC. El nivel de miR-34a-5p en hígado fue mayor en pacientes que en controles (1,9±1 vs. 1,2±0,7, p<0,001) incluso ajustando para edad e IMC (p=0,014) y de forma no significativa se asoció a mayor afectación hepática en ambos grupos. Los niveles de este miR en hígado se correlacionaban estadísticamente con los de GE pero más en el grupo de controles (r=0,50 p=0,019 y r=0,27 p=0,045, respectivamente).

Conclusiones: En esta serie, la EHGNA se asocia a la presencia de EC de forma no independiente, por la coexistencia de obe-

sidad y edad avanzada. Sin embargo, el aumento del miR-34a-5p en hígado se asocia a EC por otras vías, hoy en día no aclaradas, que quizás sean objeto de búsqueda de nuevas dianas terapéuticas en el futuro.

FEDER “Unión Europea, Una forma de hacer Europa”, P114/01477, F112/00012, RD12/0042/0029, Premio López Borrasca-SETH, Contrato Sara Borrell CD13/0005.

CO-154 Tratamiento (TTO) con rituximab en pacientes (PTS) diagnosticados de púrpura trombótica trombocitopénica (PTT) resistente a recambios plasmáticos masivos (RPM)

Abril Sabater L., Xicoy Cirici B., Morgades de la Fe M., Grífols Ronda J.R., Alonso Nogués E., Rodríguez Hernández I., Milla Santos F., Navarro Ferrando T., Maluquer Artigal C., Linares Alberich M., Pineda Morón A., Sorigué Tomás M., Gassiot Riu S., Feliu Frasnado E., Ribera Santasusana J.M.
Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona, Barcelona

Introducción: El tto de primera línea de la PTT consiste en la combinación de RMP y glucocorticoides. En los últimos años se ha empleado el rituximab tras fracaso del tto convencional. El objetivo de este estudio fue analizar las características clínicas y la respuesta al tto de una serie de pacientes con PTT, con énfasis en la respuesta al rituximab.

Métodos: Se analizaron las características clínicas, el tto administrado, la respuesta al mismo y la supervivencia global de 30 pacientes con PTT.

Resultados: Se incluyeron 37 episodios de PTT presentados en 30 pts entre 1992 y 2015. La mediana (extremos) de edad fue de 44 años (17-81) y 19 (51%) eran mujeres. En el diagnóstico 10 (28%) presentaron fiebre, 26 (58%) alteraciones neurológicas y 17 (72%) diátesis hemorrágica. La PTT fue secundaria en 10 (28%) de los pts (puerperio, GEA por *Campylobacter*, amebiasis intestinal, meningioma, adenocarcinomas, infección por VIH, por VVZ tratado con aciclovir, y en dos ocasiones, por VHC tratada con ribavirina e interferón). La mediana (extremos) de leucocitos fue $8,8 \times 10^9/L$ (4.10-19.90), hemoglobina 83 g/L (44-138), plaquetas $13 \times 10^9/L$ (4-87), reticulocitos $144 \times 10^9/L$ (63-447), haptoglobina 0,03 mg/dL (0-65), LDH 974 U/L (425-5193) y bilirrubina 2,6 mg/dL (0,9-24). En 8 (23%) pts se determinó la actividad del ADAMTS13 (<5% en todos). Se realizaron infusiones de plasma antes del primer RPM en 8 (23%) pts. Número de RPM (mediana, extremos) 10 (0; 39). Veinticinco (68%) pts respondieron a la primera línea de tto. De los que no respondieron o recayeron (12, 32%), en 10 se administró otra línea de tto (1 vincristina, 2 esplenectomía, 7 rituximab) y los otros dos fallecieron. De los 7 pts que recibieron rituximab la mediana (extremos) de número de RPM antes y después del rituximab fue de 10 (6-21) y 10,5 (5-21) respectivamente y ninguno recayó. La mediana (extremos) de seguimiento de los pts que recibieron rituximab fue de 3,5 años

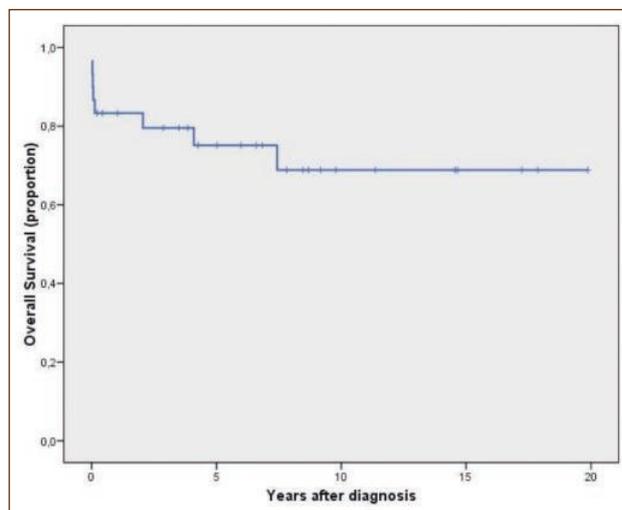


Figura 1. Curva de supervivencia.

(0,21-4,26). Siete pts de la serie fallecieron pero solo en dos la muerte se atribuyó a la PTT (shock hemorrágico). La mediana (extremos) de seguimiento de los pts vivos fue de 7,32 años (0,21-19,87). La probabilidad de supervivencia a los 5 años fue del 75% (IC95%: 59%; 91%) y a los 15 años del 69% (IC95%: 50%; 88%) (Figura 1).

Conclusiones: En esta serie de pts con PTT la causa fue secundaria en un tercio de los casos y se observó una alta frecuencia de alteraciones neurológicas. La mayoría de pts respondió al tto de primera línea. Todos los pts que recibieron rituximab respondieron, lo que sugiere que el rituximab puede ser una buena opción terapéutica de segunda línea.

Subvencionado en parte por la beca RD12/0036/0029 de la RTICC, Instituto Carlos III.

CO-155 Manejo de la terapia antitrombótica en la trombopenia inmune primaria en tratamiento con análogos del receptor de la trombopoyetina

Entrena Ureña L., Moatassim de la Torre Y., Alba Sosa Á.M., Jurado Chacón M.

Complejo Hospitalario Universitario. Granada

Introducción: Los pacientes con trombopenia inmune primaria (PTI) precisan en numerosas ocasiones iniciar o proseguir una terapia antitrombótica. Actualmente, siguen existiendo dudas al no definirse la cifra de plaquetas límite para contraindicar el tratamiento anticoagulante o antiagregante. En cualquier caso, debemos valorar los riesgos y beneficios esperables, considerando no sólo la cifra de plaquetas sino también el resto de factores de riesgo hemorrágicos y trombóticos del paciente.

Método: Analizamos retrospectivamente 11 pacientes (3 mujeres y 8 hombres) con PTI crónica (9 primarias y 2 secundarias) con una mediana de edad de 76 años (50-89). El 36% recibió corticoides en primera línea y el resto corticoides junto con gammaglobulina, con respuesta en el 55%. Dos recibieron transfusión de plaquetas y ningún paciente se esplenectomizó. Previo tratamiento con el análogo del receptor de la trombopoyetina (TRA) 3 recibieron rituximab y uno azatioprina. Todos siguen tratamiento antitrombótico: 6 AAS 100 mg/día (2 por Infarto agudo de miocardio, 2 por síndrome coronario agudo sin elevación de ST y 2 por Accidente isquémico transitorio), 4 acenocumarol con dosis ajustadas para INR 2-3 (2 por fibrilación auricular (FA), uno por isquemia arterial aguda en miembros inferiores y otro por accidente cerebrovascular de repetición) y un paciente recibe rivaroxabán 20 mg/24 horas (por FA).

Resultados: 9 pacientes reciben Eltrombopag y 2 Romiplostim con respuesta mantenida (6 respuesta completa y 5 respuestas) con mediana de plaquetas superior a $50 \times 10^9/L$. Las dosis mantenimiento de Eltrombopag son de 25 mg/48 horas (3 pacientes), 25 mg/24 horas (4) y 25 mg alternos con 50 mg (2). La media de dosis de mantenimiento de Romiplostim es de 3 microgr/semanal (2 pacientes). La mediana de respuesta mantenida es de 24 meses (2-39). Todos los pacientes han seguido tratamiento anticoagulante y antiagregante a dosis plenas y de forma ininterrumpida (AAS 100mg/día, Rivaroxabán 20mg/día y Acenocumarol ajustado para INR 2-3). No se ha registrado ningún episodio de sangrado ni de nueva enfermedad tromboembólica venosa ni arterial a lo largo del

tratamiento combinado con TRA y antiagregación o anticoagulación (los 4 pacientes con isquemia cardiaca estaban en tratamiento con el análogo previamente) (Tabla 1 y Figura 1).

Conclusiones: El uso de antiagregantes y anticoagulantes en sujetos con trombocitopenia es una cuestión no resuelta pese a las evidencias existentes sobre su eficacia, seguridad y tolerancia. No existen protocolos o guías que sean ampliamente aceptados, pero dadas las recomendaciones actuales y aunque este límite pueda ser cuestionable, mantuvimos una cifra de plaquetas superior a $50 \times 10^9/L$ que permitió el uso concomitante de terapia antitrombótica sin complicaciones de sangrado o nuevos eventos tromboembólico.

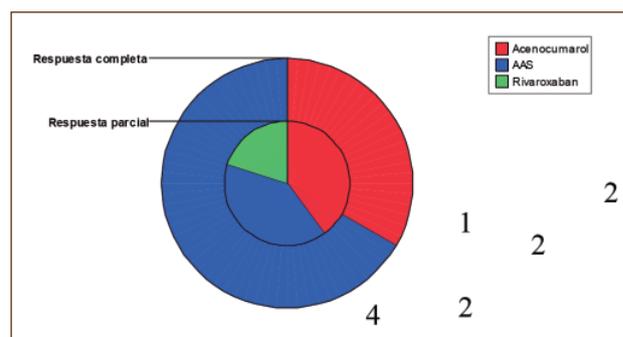


Figura 2.

Tabla 1.

| Paciente | Edad | Tipo PTI | Esplenectomía | TRA | Tipo Respuesta Mantenido | Tratamiento antitrombótico | Causa |
|----------|------|------------|---------------|-------------|--------------------------|----------------------------|---------------------|
| 1 | 78 | Secundaria | No | Eltrombopag | RC | Acenocumarol | FA |
| 2 | 79 | Primaria | No | Eltrombopag | R | Acenocumarol | Isquemia aguda MMII |
| 3 | 53 | Primaria | No | Eltrombopag | RC | Acenocumarol | ACV |
| 4 | 73 | Primaria | No | Eltrombopag | R | Acenocumarol | FA |
| 5 | 71 | Primaria | No | Romiplostim | R | Rivaroxaban | FA |
| 6 | 76 | Primaria | No | Romiplostim | RC | AAS | SCASEST |
| 7 | 89 | Primaria | No | Eltrombopag | R | AAS | IAM |
| 8 | 74 | Secundaria | No | Eltrombopag | RC | AAS | SCASEST |
| 9 | 77 | Primaria | No | Eltrombopag | RC | AAS | AIT |
| 10 | 76 | Primaria | No | Eltrombopag | R | AAS | AIT |
| 11 | 50 | Primaria | No | Eltrombopag | RC | AAS | IAM |

Pósteres

Conceptos básicos en hemostasia

PC-312 Estudio diagnóstico de las trombocitosis desde el laboratorio clínico

Da Silva Cabañero B., Pico Rico L., Varo Sánchez G.M., Juan García P., García-Alcalá Hernández M., Vicente Gutiérrez L., Cháfer Rudilla M., Algarra Algarra J.L., Perona Blázquez Á., Navarro Casado L., Gómez García J.C.
Complejo Hospitalario Universitario de Albacete. Albacete

Introducción: La presencia de un número anormalmente elevado de plaquetas en sangre circulante se produce por distintos estímulos fisiológicos o procesos patológicos, y se clasifica en primaria y secundaria o reactiva. La trombocitosis primaria es consecuencia de una hiperproducción que escapa a los mecanismos de control y se produce en varios trastornos mieloproliferativos, como la trombocitosis esencial, policitemia vera, mielofibrosis. La trombocitosis secundaria se asocia a un gran número de condiciones clínicas, aunque la cifra de plaquetas no suele alcanzar niveles alarmantes.

Objetivos: Describir los diagnósticos más frecuentemente asociados a trombocitosis en los pacientes estudiados durante un periodo de tres meses.

Material y métodos: Se realizó un estudio retrospectivo descriptivo de 3 meses de duración en el que se recogieron los pacientes que habían presentado un recuento plaquetario superior a $700 \times 10^3/\mu\text{L}$ en un hospital de nivel III. Los datos se obtuvieron a través del programa historia clínica electrónica (Mambrino XXI®). Los hemogramas fueron analizados en los equipos ADVIA® (Siemens) del laboratorio de Hematología y Urgencias.

Resultados: Durante el periodo de estudio, se procesaron un total de 73.281 hemogramas, de los cuales 308 presentaron trombocitosis ($>700 \times 10^3/\mu\text{L}$).

Un total de 128 pacientes presentaron recuentos de plaquetas superiores a $700 \times 10^3/\mu\text{L}$ con una edad media de 49,12 años, siendo un 52,1% (n=61) varones.

Las causas principales que presentaron estos pacientes fueron:

- Cuadros infecciosos: 35 pacientes (27%).
- Trombocitosis asociadas a enfermedades malignas, hematológicas y no hematológicas: 32 pacientes (25%).
- Anemia: 18 pacientes (14%).
- Enfermedades inflamatorias: 16 pacientes (13%).
- Trombocitosis de rebote: 11 pacientes (9%).
- Trombocitosis a daño tisular (cirugía mayor, fracturas y pacientes politraumatizados): 8 pacientes (6%).
- Trombocitemia esencial: 6 pacientes (9%).
- Púrpura trombocitopénica idiopática (PTI): 2 pacientes (2%).

Por último, la combinación de varias causas se dio en 11 de los pacientes estudiados.

Si analizamos con mayor detalle el grupo de trombocitosis asociadas a infecciones, podemos ver que las de origen respiratorio son las que se asocian con mayor frecuencia a trombocitosis, dentro de ellas se incluyen bronconeumonías virales y bacterianas y síndrome bronquial obstructivo. En segundo lugar, las infecciones gastrointestinales, luego sepsis, infecciones urinarias, infecciones cutáneas (celulitis y abscesos), abdomen agudo (apendicitis y peritonitis) y finalmente infecciones cardíacas (pericarditis y miocarditis).

Sólo nueve pacientes tuvieron resultados de plaquetas mayores de $1.000 \times 10^3/\mu\text{L}$.

Conclusión: A la luz de estos datos podemos concluir que el hallazgo de trombocitosis en nuestro medio es bajo, que frente a una trombocitosis menor de $1.000 \times 10^3/\mu\text{L}$ se debe plantear como primera posibilidad diagnóstica una trombocitosis secundaria, generalmente asociada a un cuadro infeccioso y que las causas de trombocitosis primarias son las descritas habitualmente en la literatura.

PC-313 Tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPa) prolongado en pediatría – la pesadilla experiencia de un hospital pediátrico

Oliveira A.C., Martinho P., Fidalgo T., Silva Pinto C., Gonçalves E., Marques D., Sevivas T., Salvado R., Ribeiro M.L.
Serviço de Hematologia Clínica. Centro Hospitalar Universitário de Coimbra. E.P.E. Portugal

Introducción: El tiempo de protrombina (TP) y TTPa son pruebas elementales en la evaluación de la hemostasia. La detección de un TTPa alargado aislado es un hallazgo frecuente en pediatría, difícil de evaluar en niños sin historia hemorrágica que no han sido nunca expuestos a situaciones de estrés hemorrágico. Las causas de la prolongación del TTPa incluyen: deficiencias (def.) congénitas o adquiridas de factores de la vía intrínseca; heparina y anticoagulante lúpico (AL). El AL es generalmente transitorio y surge frecuentemente en contexto infeccioso. Para la correcta interpretación de un TTPa prolongado en niños deben tenerse en cuenta la utilización de rangos de referencia ajustados a la edad y la realización de una cuidadosa historia hemorrágica personal y, sobretodo, familiar.

Objetivos: Investigar las causas del TTPa prolongado, aislado, en una población pediátrica, sin historia hemorrágica significativa.

Material y métodos: Se efectuó un estudio retrospectivo, en pacientes 0-18 años, con TTPa $>36.5\text{s}$ y TP normal ($<13\text{s}$) estudiados entre Enero de 2013 a Mayo de 2015 (n=255). Fueron excluidos los pacientes con coagulopatías congénitas o adquiridas ya conocidos (n=74). La investigación para esclarecimiento del TTPa prolongado, incluyó la pesquisa de AL, utilizando dos pruebas con diferentes sensibilidades, y en caso de negatividad la determinación de los niveles plasmáticos de los factores de coa-

gulación asociados a hemorragia, FVIII, FIX, FXI y niveles de actividad Factor von Willebrand.

Resultados: En 181 pacientes el TTPa fue $>36,5s$, 63 tenían TTPa dentro del rango de referencia cuando ajustado a la edad ($<6M$). En los restantes 118, no pudieron ser esclarecidos en una 2ª muestra (46%), fueron normales (24%) y 30% mantuvieron el TTPa prolongado. De estos últimos en 60% no se encontró ninguna alteración en los estudios realizados; 23% tenían AL positivo y 17% presentaban alguna def. de factores (Figura 1).

Discusión: Nuestro estudio muestra que 35% dos pacientes el TTPa sería alargado cuando no ajustados a edad; la mayoría de los TTPa alargados en una 1ª muestra no fue enviada nueva muestra para su esclarecimiento que sugiere la escasa rigurosidad con la que algunos clínicos solicitan o interpretan este análisis. De los 35 enfermos, que recibimos 2ª muestra, y que mantenían el TTPa alargado, en 60% no fue encontrada causa justificante, lo que puede ser explicado por def. ligeros de factores de contacto, interferentes inespecíficos o AL muy débil, todos de escasa significancia clínica. Las causas identificables (40%) fueron AL positivo y def. ligeras de FXI y FvW. El TTPa alargado es muy frecuente en pacientes pediátricos y para su correcta valoración es necesario hacer un riguroso cribado clínico-laboratorial: excluir causas pre-analíticas y tener valores ajustados a la edad siendo crucial la realización de una cuidadosa historia clínica personal y familiar.

La pregunta que nos hacemos después del análisis de estos datos es, si siendo consecuentes con los tiempos que vivimos, debemos estudiar todas las muestras que nos envían sin ningún

tipo de cribado, resultando en una práctica cara e infructuosa, o deberíamos estudiar apenas aquella población que presenta sintomatología o historia familiar positiva.

PC-314 Aprendiendo sobre el anticoagulante lúpico

Terán Benzaquen C.M., Gómez Crespo M.J., de la Plaza R., García A., Vidal Laso R., Llamas Sillero P., Yuste M.

Fundación Jiménez Díaz. Madrid

Introducción: La identificación del anticoagulante lúpico (AL) en el plasma constituye un paso decisivo en el diagnóstico del síndrome antifosfolípido (SAF). El AL es un autoanticuerpo que se dirige de forma directa contra proteínas de unión fosfolípídica, como la beta 2 glicoproteína (B2GPI), la protrombina y la anexina que forman complejos con fosfolípidos aniónicos. El AL puede interferir con los test de coagulación *in vitro* dependiente de fosfolípidos. Según las recomendaciones de la ISTH, para el estudio del AL, se deben realizar dos test diagnósticos basados en diferentes principios y que uno de ellos preferiblemente sea el Tiempo de Víbora de Rusell diluido (dRVVT). El estudio de AL se basa en la realización de dos test de escrutinio con baja concentración de fosfolípidos y posterior test confirmatorio con exceso de fosfolípidos en caso que el *screening* sea positivo. En nuestro laboratorio para el diagnóstico nos basamos en el dRVVT y el tiempo de coagulación de sílice (SCT). El diagnóstico de SAF se basa en criterios clínicos (complicaciones trombóticas y obstétricas) y de laboratorio (AL +, Ac anticardiolipina y anti beta 2 glicoproteína a título moderado alto).

Objetivos: seleccionar a los pacientes que tengan estudio de AL positivo sólo por una de las técnicas realizadas en nuestro centro y valorar si ambos test tienen la misma significación clínica.

Métodos: Desde marzo del 2015 hemos revisado 40 estudios de ac. lúpico que son positivos únicamente por uno de los dos test diagnósticos. Las variables estudiadas son: la edad, el sexo, eventos trombóticos, complicaciones gestacionales, trastornos autoinmunes y tratamiento anticoagulante concomitante.

Resultados: La edad media de la muestra es de 60 años. El sexo prevalente fue el masculino. En 33 de los estudios la positividad del AL se basó en el dRVVT y en 7 se basó en el SCT. De los 33 pacientes con positividad para el dRVVT, dos tenían diagnóstico de LES previo, 3 SAF obstructivo, 7 SAF 1º, 5 tomaban sintrom (3 por una fibrilación auricular y dos por trombosis). En los 7 pacientes con positividad para el SCT, no se detectaron criterios clínicos de SAF ni procesos autoinmunes concomitantes.

Conclusiones:

1. La mayoría de los pacientes en los que se detecta el AL positivo por una de las técnicas, están asintomáticos desde el punto de vista clínico.
2. El dRVVT parece tener una mayor sensibilidad y especificidad que el SCT para el diagnóstico de SAF aunque se precisaría un mayor tamaño muestral para confirmar los resultados obtenidos.
3. El acenocumarol puede producir falsos positivos en el test de dRVVT.

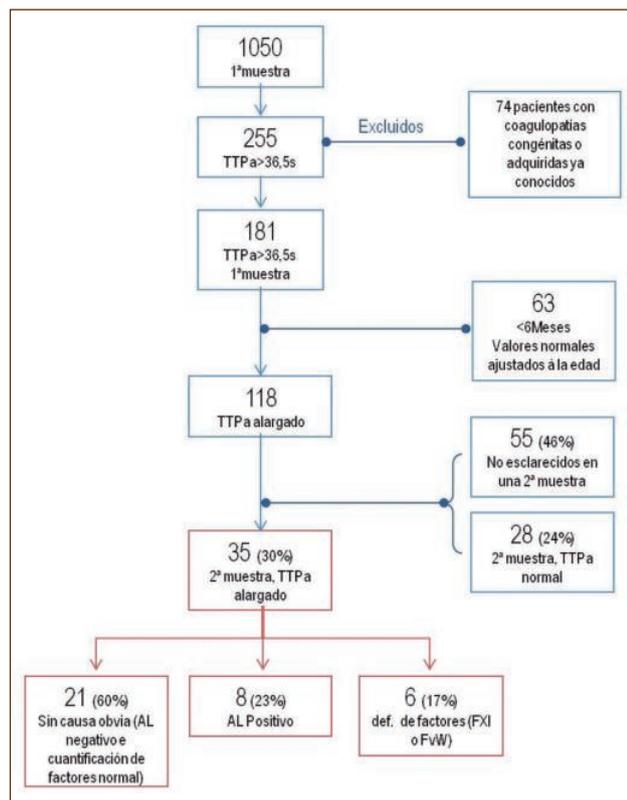


Figura 1. Esquema de estudio y causas de TTPa alargado aislado.

Diátesis hemorrágica

PC-315 Defecto plaquetario ligado al receptor GPVI en el síndrome de trombocitopenia con ausencia de radio (TAR)

Moscardó A. (1), Vallés J. (1), Latorre A.M. (1), Izquierdo S. (2), Argiles B. (2), Santos M.T. (1), Dasí M.Á. (2)

(1) Instituto de Investigaciones Sanitarias La Fe. Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia. (2) Unidad de Hematología Pediátrica. Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia

Introducción: La trombocitopenia con ausencia de radio (TAR) es una enfermedad genética rara, caracterizada por una trombocitopenia hipomegacariocítica importante en la infancia $<10 - 50 \times 10^9/L$ (que con la edad tiende a normalizarse), agenesia bilateral del radio con presencia de pulgares, además de otras malformaciones. La etiología de la trombocitopenia es desconocida aunque se sugiere una respuesta deficiente a la trombopoyetina en la vía de transducción de señal de c-MPL. Sin embargo no conocemos datos en la literatura en que asocie una trombocitopatía. Las bases genéticas de esta enfermedad no están bien esclarecidas.

Objetivo: Profundizar en las bases moleculares del defecto funcional plaquetario observado en un paciente con TAR.

Caso clínico: Mujer de 21 años diagnosticada de TAR al nacimiento. El número de plaquetas a partir del segundo año se incrementa hasta valores de $80-120 \times 10^9/L$. Sin embargo, el fenotipo hemorrágico resulta excesivo para el número de plaquetas por lo que se sospecha un defecto plaquetario asociado.

A tal efecto se estudia el contenido granular que es normal, establecido por el cociente ATP/ADP. La agregación plaquetaria en PRP está dentro del rango de la normalidad para todos los agonistas estudiados excepto para el colágeno, donde aparece drásticamente disminuida. En plaquetas lavadas, la estimulación con colágeno produce una menor fosforilación de proteínas en tirosina, sugiriendo que la paciente puede presentar un defecto cualitativo o cuantitativo en sus receptores al colágeno o en los mecanismos de transmisión de señales asociados. Al estudiar mediante citometría de flujo e inmunodetección los receptores de colágeno, encontramos que la expresión es normal para CD36, GPVI y GPIIb α , lo que no nos permite descartar la existencia de algún defecto funcional en el receptor. Para determinar el receptor del colágeno implicado se emplea el *collagen-related peptide* (CRP) específico para GPVI, y encontramos también una agregación reducida en la paciente. El estudio por citometría de flujo muestra que tanto la exposición de P-selectina como la activación de IIbIIIa en respuesta a CRP se encuentran extremadamente reducidos en la paciente, incluso en respuesta a concentraciones elevadas de CRP, mientras que en respuesta a U46619 (análogo del TXA2) son reducidos, y normales en respuesta a ADP o TRAP.

Conclusiones: Estudiamos la existencia de una disfunción plaquetar en una paciente con TAR. Los resultados sugieren un

defecto en los sistemas de transmisión de señales relacionados con GPVI no comunicado hasta la fecha. Son necesarios más estudios para lograr su correcta identificación molecular.

Becas. FIS13/00016. Beca de la FETH. Becario de la FETH. Red Cardiovascular [RD12/0042/0003]. Sociedad Valenciana Cardiología.

PC-316 Síndrome de von Willebrand y déficit de factor XIII adquiridos en pacientes sometidos a membrana de oxigenación extracorpórea (ECMO): serie de casos

González Medina J.

Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid

Introducción: Como consecuencia del flujo extracorpóreo en ECMO se producen alteraciones hemostáticas, entre ellas síndrome de von Willebrand adquirido, explicado por la pérdida de multímeros de alto peso molecular del FvW secundaria al alto flujo y degradación por ADAMTS 13. Así mismo déficit de FXIII por consumo secundario a activación persistente de trombina. Ello podría contribuir al desarrollo de hemorragias graves en estos pacientes.

Casos clínicos: Presentamos 4 pacientes sometidos a ECMO. Se solicitó estudio basal de coagulación, factores y FvW ante hemorragias y se recogió el tratamiento y evolución. Dosis de desmopresina: 0,3 mcg/kg; ácido tranexámico 0,5 g c/8h. Pauta de Wilate: 15-20 IU/Kg de FVIII y 30-40 IU/Kg de FvW, y de Fibrogamin (FXIII): 15-30 IU/Kg.

Resultados:

- **Caso clínico 1:** mujer, 48 años, enfermedad veno-oclusiva pulmonar. Preciso ECMOvv como puente al trasplante pulmonar. Coagulación basal normal. Al día 23 de ECMO presentó HDA con anemia importante. Coagulación: AP 53 %, TTPa 41.9 seg, FvWAg 217%, FvW CoR 116%. Ratio vWCoR/vWAg 0,6. FXIII Ag 12,9%. Compatible con SvWA y déficit de FXIII adquirido. Se realiza gastroscopia y esclerosis de lesiones. Se administra dosis puntual de Fibrogamin y Wilate, estabilizándose hemoglobina sin resangrado.
- **Caso clínico 2:** varón, 24 años, sarcoidosis. ECMOvv como puente al trasplante pulmonar. Coagulación basal: TTPa ligeramente alargado por poliglobulia. El tercer día post ECMO presentó epistaxis espontánea precisando taponamiento y transfusión de plaquetas y plasma. Coagulación: AP 56 %, TTPa 39.1 s, FvW Ag 219%, FvW CoR 120%, Ratio vWCoR/vWAg: 0.5, FXIII Ag 38.9%. Compatible con SvW y déficit de FXIII adquiridos. Al octavo día de ECMO se realiza trasplante pulmonar pautando previamente Fibrogamin y Wilate puntual. Sin complicaciones hemorrágicas. Se retira ECMO tras 25 días con buena evolución.
- **Caso clínico 3:** mujer, 54 años, diagnóstico de EPID, trasplante bipulmonar. Preciso ECMOvv posttrasplante por SDRA. Coagulación basal normal. Al quinto día presentó sangrado importante en puntos de venopunción con anemia importante

gresiva. Estudio de coagulación: AP 67 %, TTPa 36.5 sec, FvW Ag 392 %, FvW CoR. 222 %, Ratio vWCofR/vWAg 0,6. Factor XIII Ag 30 %. Tras 5 días con desmopresina y ácido tranexámico, buena respuesta y estabilización de la hemoglobina. Tras retirar ECMO se normaliza la coagulación. Falleció por imposibilidad de ventilación y fallo multiorgánico.

- **Caso clínico 4:** varón 46 años con HTP y fracaso del ventrículo derecho; precisó ECMOva como puente al trasplante. Coagulación basal normal. Al séptimo día presentó sangrado pericánula y hematoquecia. Coagulación: Factor vW Ag 219 %, Factor vW Cof. R. 117%, Ratio vWCofR/vWAg 0.5 y Factor XIII Ag 16.6 %. Precisó transfusiones de CH, PFC, plaquetas y fibrinógeno. Trasplantado sin complicaciones hemorrágicas. No administrados concentrados de factores. Al retirar el ECMO se normalizaron parámetros.

Conclusión: La implicación del SvWA y déficit de FXIII adquiridos en hemorragias graves ha generado gran interés en el diagnóstico precoz y manejo de pacientes sometidos a ECMO. Las opciones incluyen ácido tranexámico, desmopresina, concentrados de factores (FVIII/FvW), fibrinógeno, FVIIa y concentrado de FXIII. No existe consenso sobre el manejo óptimo perioperatorio ni del sangrado; precisándose más estudios al respecto.

PC-317 Características de las plaquetas de los pacientes de trombocitopenia inmune (PTI) que responden a distintos tratamientos

Rivas Pollmar M.I., Álvarez Román M.T., Fernández Bello I., Martín Salces M., Jiménez Yuste V., Butta Coll N.

Hospital Universitario La Paz. Madrid

Antecedentes: Los pacientes con PTI presentan una variada presentación de la enfermedad, en la cifra de plaquetas, en la respuesta a los tratamientos y en su curso clínico. La decisión de iniciar el tratamiento se basa en la sintomatología hemorrágica y en el recuento plaquetario. Las inmunoglobulinas intravenosas (IGIV) se suelen administrar en pacientes con hemorragia grave con recuentos plaquetarios < 20.000 plaquetas/ml o en los que se requiere una respuesta rápida. Los agonistas de los receptores de trombopoyetina (AR-TPO) se usan para tratar a los pacientes con PTI que no responden a esplenectomía o a aquellos en los que ésta está contraindicada. Todos estos abordajes terapéuticos aumentan el recuento de las plaquetas y mejoran la hemostasia a través de diferentes mecanismos.

Objetivos: Evaluar las características de las plaquetas y de la capacidad trombogénica del plasma y de las micropartículas de los pacientes de PTI que responden a los diferentes tipos de tratamiento.

Métodos: Se reclutaron pacientes con PTI antes y después de responder al tratamiento con IGIV (n=11) y con AR-TPO (4 pacientes con romiplostim y 10 con eltrombopag), 5 pacientes esplenectomizados y 82 controles sanos.

El porcentaje de plaquetas reticuladas, la activación plaquetaria y la unión de aneXina-V se evaluaron por citometría de flujo, y elTPO y elAPRIL por ELISA. La actividad procoagulante asociada a micropartículas (MP) y al plasma para generar trombina se determinaron, respectivamente, con el kit de Zymuphen y por trombinografía.

Resultados: Los pacientes con PTI que respondieron a IGIV y a AR-TPO recuperaron el número de plaquetas sin alcanzar los niveles del grupo control mientras que el recuento de las plaquetas en los pacientes esplenectomizados no difirió del mismo. Los niveles plasmáticos de TPO y el número de plaquetas inmaduras en los dos primeros grupos antes de responder a los tratamientos fueron más altos que en los controles. A pesar de la recuperación en el número de plaquetas, la capacidad de activación de las mismas tras la activación del receptor de fibrinógeno con TRAP (agonista del receptor para trombina PAR-1) fue menor que la de los controles en todos los grupos. Esta disminución no se debió a una reducción en la expresión del receptor de fibrinógeno.

Las plaquetas de todos los pacientes con PTI, antes y después de responder a los tratamientos, mostraron exponían más fosfatidilserina y tenían mayor capacidad trombogénica asociada a micropartículas y al plasma.

Los niveles de APRIL, ligando estimulante de los linfocitos B y de la producción de anticuerpos, disminuyeron en los pacientes con PTI que respondieron a los AR-TPO alcanzando los niveles observados en el grupo control. En el grupo de pacientes esplenectomizados también se observó una disminución de los mismos, pero siguieron siendo más altos que en los controles sanos.

Conclusiones: Los pacientes con PTI que respondieron a los tratamientos con IGIV y AR-TPO y los que se sometieron a esplenectomía recuperaron el número de plaquetas pero no su función. Los tratamientos no modificaron la capacidad trombogénica asociada a micropartículas y al plasma.

PC-318 Características clínicas y aproximación terapéutica en los hematomas espontáneos de los músculos rectos

Pons Escoll V. (1), Suriñach J.M. (2), López-Andreoni L. (1), Loureiro J. (2), Olivera P. (1), Molero A. (3), Marín A. (3), Bosch F. (3), Santamaría A. (1)

(1) Unidad de Hemostasia y Trombosis, Servicio de Hematología. (2) Servicio de Medicina Interna y (3) Servicio de Hematología. Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona

Introducción: El hematoma espontáneo de la vaina de los músculos rectos del abdomen (HR) es una entidad poco frecuente y que suele asociarse al uso de fármacos antitrombóticos. Sus características clínicas y tratamiento están poco establecidos.

Objetivos: Analizar la presentación clínica y el tratamiento de los pacientes con HR referidos a la Unidad de Hemostasia de un hospital de tercer nivel.

Métodos: Estudio retrospectivo de todos los pacientes con HR referidos a nuestra Unidad desde enero de 2008 hasta mayo de 2014.

Resultados: Se identificaron 32 pacientes, siendo 23 casos (69%) mujeres. La mediana de edad al diagnóstico fue de 73 años (51-86). Todos los pacientes recibían tratamiento antitrombótico, 68% con acenocumarol y 31% con heparina de bajo peso molecular (HBPM). Un 59% de los sujetos fueron clasificados en el grupo de alto riesgo trombótico (42% prótesis valvulares mecánicas). Según las escalas de riesgo de sangrado HASBLED/RIETE, la mitad (53%) fueron incluidos en el grupo de alto riesgo. La media del filtrado glomerular fue de 56 ml/min (23-120) y 7 pacientes (21%) tenían antecedentes de sangrado previo. El 56% de los casos estaban relacionados con episodios de tos. La presentación clínica más frecuente fue una masa palpable asociada a dolor abdominal. En 12 pacientes (37%), se habían utilizado dosis supratrapéuticas en el tratamiento anticoagulante. Las estrategias de reversión (36%) fueron diversas e incluían vitamina K, plasma fresco congelado, concentrado de complejo protrombínico y sulfato de protamina. Mientras que se optó por tratamiento conservador en 20 casos (59%), en 12 (37%) pacientes se requirió embolización arterial. La mediana de hospitalización fue de 14 días y un 12 % fueron éxitos, generalmente por otras causas. Al alta, un 58% de los pacientes fueron tratados al menos con dosis intermedias de HBPM. El tiempo medio hasta el reinicio del tratamiento anticoagulante oral fue de 28 días (1-120).

Conclusiones: En nuestra cohorte, los casos de HR ocurren en pacientes anticoagulados con alto riesgo trombótico y hemorrágico. A pesar de que las estrategias terapéuticas fueron diversas, un tercio de los pacientes precisaron de embolización y el reinicio de la anticoagulación oral se pospuso generalmente después del alta.

PC-319 Manejo de la gestación, parto y puerperio en mujeres con trastornos hereditarios de la coagulación y portadoras de hemofilia en una unidad de coagulopatías congénitas

Rupay Rojas R., Fernández-Mosteirín N., Calvo-Villas J.M., Tercero-Mora Rodríguez M., Espinosa Lara N., Ferrer Garrido G., Yus Cebrián F., Lacalle Aicua L., Segura Díaz A., Delgado Beltrán P.
Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza

Introducción: Las mujeres con trastornos hereditarios de la coagulación tienen un mayor riesgo de sangrado durante la gestación y el parto lo que precisa un manejo multidisciplinario.

Objetivo: Analizar el manejo de la gestación, parto y puerperio de las gestantes con coagulopatías congénitas en nuestro Centro entre 2007 y 2014.

Pacientes y métodos: Se revisaron 22 gestaciones en 15 pacientes, edad mediana 31 años (rango 21-40). Se analizan retrospectivamente características demográficas de las gestantes, tipo y gravedad de la coagulopatía, manejo intraparto y resultado y evolución en el puerperio.

Resultados: Se incluyen 7 portadoras/11 gestaciones de hemofilia A (HA), 2 portadoras de hemofilia B/2 gestaciones (HB), 2

déficit de FVII leve/3 gestaciones, 1 enfermedad de von Willebrand (EvW) tipo 1/1 gestación, 1 EvW tipo 2/2 gestaciones, 1 déficit leve de FXI/2 gestaciones y 1 déficit leve de FV/1 gestación. 17 fueron gestaciones espontáneas y 3 reproducción asistida. Se interrumpió el embarazo en un caso por malformación pulmonar fetal. Las portadoras de HA y las EvW incrementaron los niveles del factor (mediana FVIII basal 58%; rango 48-69%; mediana FVIII en tercer trimestre 108%, rango 86-128% y mediana FvW basal 40%, rango 37-50%; mediana FvW en tercer trimestre 110%, rango 90-150%). No hubo cambios en el FIX durante la gestación en portadoras de HB (mediana FIX basal 50%, rango 40-60%), en gestantes con déficit FVII (mediana FVII basal 52%, rango 47-52%), en las gestaciones con déficit FXI (mediana FXI basal 39%, rango 35-44%) y en la gestante con déficit de FV (FV basal 36%). Se practicó anestesia epidural sin complicaciones en 80% de los partos. 11 gestantes no necesitaron medicación hemostática. En una portadora de HB se administró FIX recombinante (30-40 UI/Kg) previa a anestesia epidural y la paciente con déficit de FV plasma fresco congelado (10-15 mL/Kg) por parto instrumental. 2 gestantes recibieron antifibrinolíticos (EvW tipo 2 y déficit de FXI). No hubo complicaciones hemorrágicas. Tres recién nacidos fueron afectados de HA grave, uno de HA leve y dos EvW tipo 2. Ningún recién nacido tuvo complicaciones.

Conclusiones: El seguimiento y manejo estrecho de las portadoras de hemofilia A o B y embarazadas afectas de otras coagulopatías congénitas no ha ocasionado complicaciones hemorrágicas durante la gestación, en el parto y tampoco en los recién nacidos. La mayoría de las gestantes no precisan tratamiento sustitutivo, siendo necesario monitorizar los niveles de factor deficiente previo al parto, anestesia epidural o ante un procedimiento invasivo.

PC-320 Profilaxis ajustada mediante análisis farmacocinético con myPKFiT en pacientes con hemofilia A: experiencia de un solo centro

Álvarez-Román M.T., Fernández-Bello I., Martín-Salces M., Butta-Coll N., Rivas-Pollmar I., Jiménez-Yuste V.
Hospital Universitario La Paz. Madrid

Introducción: La profilaxis es el estándar de tratamiento para los pacientes con hemofilia (PWH). Actualmente se realiza una profilaxis personalizada teniendo en cuenta la edad, la adherencia al tratamiento, el estilo de vida, el estado articular, y la farmacocinética (PK) del factor administrado. Uno de los problemas más importantes es la dificultad para realizar la PK ya que según recomienda la ISTH se requieren al menos 11 muestras de sangre. Nuestro objetivo fue valorar la utilidad de la aplicación web myPKFiT (Baxter Healthcare) que nos permite mediante un modelo bayesiano, y utilizando un modelo poblacional, calcular la PK de nuestro paciente con sólo dos muestras.

Material y métodos: Desde enero a mayo de 2015 utilizamos myPKFiT para ajustar la profilaxis con rFVIII (ADVATE®) en 13 PWH en tratamiento profiláctico (10 de ellos con profilaxis prima-

ria), y uno en tratamiento a demanda con 30 episodios hemorrágicos en el último año. En este último caso el objetivo fue realizar una simulación de coste-eficacia entre el tratamiento a demanda y el profiláctico. La media de edad de los pacientes fue de 15 años (rango 2-41). Ninguno de los pacientes en profilaxis había realizado período de lavado.

Resultados: Se obtuvo el perfil de PK con 2 muestras en 10 pacientes y con 3-4 muestras en aquellos pacientes en los que se sospechaba un comportamiento atípico de la PK. La actividad física realizada por nuestros pacientes tenía un riesgo relativo de 1 (según la escala de Broderick) en seis de los pacientes y de 2.7 en el resto. En base a la actividad física, el estado articular y los parámetros de PK proporcionados por myPKFiT se eligió un nivel de valle para calcular la posología más adecuada para cada paciente. La $t_{1/2}$ estuvo dentro de la curva poblacional en todos los pacientes excepto en uno en el que sospechamos de la existencia de un inhibidor.

Conclusiones: myPKFiT nos permite obtener la curva de PK con menos muestras de las exigidas por la ISTH. Los pacientes cuyos valores están alejados de la curva poblacional requerirán una mayor vigilancia, para detectar las causas que pudieran explicar esas variaciones.

PC-321 Detección no invasiva del sexo fetal en sangre materna en portadoras de hemofilia: experiencia de nuestro centro

Blum Domínguez M.A. (1), Suito Alcántara M.A. (1), Núñez Vázquez R.J. (1), Matcher H. (2), Pérez Garrido R. (1), Pérez Simón J.A. (3)

(1) Sección de Hemostasia y Trombosis. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. (2) Sección de Bioquímica y Análisis Clínicos. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. (3) Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla

Introducción: La determinación temprana del sexo fetal durante el embarazo en las portadoras de hemofilia es de suma importancia dada la probabilidad de padecer la enfermedad si el feto es varón. En gestantes con sexo fetal femenino se puede evitar la realización de un método invasivo como la biopsia de las vellosidades coriónicas, que conlleva un 0,5-1% de pérdidas fetales. Durante la última década se han desarrollado técnicas no invasivas para conocer el sexo fetal, como la determinación en ADN fetal en sangre materna, con una sensibilidad y especificidad muy elevadas. Presentamos nuestra experiencia, desde la instauración de éste método diagnóstico, así como el porcentaje de pruebas invasivas evitadas.

Material y métodos: Durante mayo de 2009-2015 se estudiaron 18 pacientes portadoras de hemofilia A y B (HA, HB). Realizamos pruebas de detección en las semanas 7 y 9 de gestación, y en ocasiones a la 11 semana en caso de discordancia. El ADN fetal se extrajo de forma automática de 400 µL de suero de la gestante utilizando el MagNa Pure Compact Instrument (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland); el análisis de PCR a tiempo

real se realizó usando sondas de hidrólisis en un Light Cycler 480 (Roche Applied Science). La PCR es dual para detección simultánea de dos genes pertenecientes al cromosoma Y (SRY y DYS14). La detección de ambos define el sexo fetal varón.

Resultados: De las 18 pacientes, 83% eran portadoras de HA y 17% de HB, cuatro de ellas leves, 4 moderadas y 10 graves, con mediana de edad de 28.3 años (rango 18-39). En todos los casos se hicieron dos determinaciones con el mismo resultado, salvo una gestante que precisó una tercera determinación en la semana 11 de gestación.

Cuando el estudio dio como resultado sexo fetal femenino no se realizaron más pruebas. Sin embargo, cuando el resultado fue varón (10/18), precisó estudio genético para confirmar el sexo y detectar la mutación familiar del gen responsable de la hemofilia, siendo ésta positiva en 4 de los 10 fetos estudiados. En 3 de los casos positivos, todos con HA grave, se realizó interrupción voluntaria del embarazo.

Se encontró congruencia del sexo fetal en el 100% de los casos (sensibilidad y especificidad del 100%). Éste método evitó realizar el 44% de las pruebas invasivas tradicionales para la realización de un adecuado consejo genético en nuestro hospital.

Conclusiones: La detección del sexo fetal en sangre materna por PCR en fase inicial del embarazo presenta en nuestra experiencia una alta sensibilidad y especificidad. Permite evitar pruebas invasivas que no están exentas de complicaciones, y ayuda a reducir la ansiedad de las parejas al adelantar el conocimiento del sexo fetal.

PC-322 Manejo perquirúrgico en cirugía programada de pacientes con hemofilia leve

Espinosa Lara N., Lacalle Aicua L., Fernández Mosteirín N., Calvo Villas J.M., Rupay Rojas R., Delgado Beltrán P.

Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza

Introducción: El manejo perioperatorio del paciente con hemofilia A y B continúa siendo un reto para el hematólogo. La literatura disponible del manejo perquirúrgico de los pacientes con hemofilia leve es limitada e incluye desde el uso de concentrados de factor en cirugía mayor en hemofilia A y B hasta el uso en intervenciones menores de antifibrinolíticos y/o DDAVP en hemofilia A y algunos casos de hemofilia B.

Objetivo: Describir la experiencia de una Unidad de Hemofilia en el manejo perquirúrgico de los pacientes con hemofilia leve.

Pacientes y método: Se ha revisado retrospectivamente 38 cirugías realizadas en 19 pacientes con hemofilia leve (16 hemofilia A HAL y 3 hemofilia B HBL) entre 2008 y 2014 en nuestra Unidad. Se ha analizado el tipo de cirugía, tratamiento perquirúrgico homeostático, dosis y tiempo de administración del factor de coagulación y el manejo de las complicaciones postquirúrgicas.

Resultados: La mediana de edad fue 34,5 años (1-85 años). Seis pacientes (31.5%) eran seropositivos para el virus de hepa-

Tabla 1. Tipos de procedimientos quirúrgicos y tratamiento en hemofilia A o B leve

| Tipos de cirugía | N | Cirugía Mayor/Menor | Tipo Hemofilia | Tratamiento |
|---|-----------|---------------------|---------------------|--|
| Cirugía ORL | | | | |
| Implantes dentales | 1 | Menor | HBL | BENEFIX |
| Extracciones dentales | 17 | Menor | 14 HAL / 3 HBL | HAL REFACTO®(4) ADVATE®(4) AMCHAFIBRIN®(1) MINURIN®(2) KOGENATE®(3) HBL BENEFIX®(3) |
| Septoplastia | 1 | Mayor | HAL | ADVATE® |
| Cauterización mucosa nasal | 1 | Menor | HAL | REFACTO® |
| Cirugía ortopédica | | | | |
| Artroscopia | 2 | Menor | 2 HAL | BERIATE®(1) FHANDI®(1) |
| Osteosíntesis | 4 | Mayor | 3 HAL / 1 HBL | HAL ADVATE®(2) REFACTO®(1) HBL BENEFIX®(1) |
| Extracción material osteosíntesis | 2 | Mayor | 2 HBL | BENEFIX®(2) |
| Cirugía urológica | | | | |
| Orquidopexia | 1 | Mayor | HAL | HELIXATE® |
| Cirugía general | | | | |
| Herniorrafia inguinal | 1 | Mayor | HAL | ADVATE® |
| Apendicectomía | 1 | Mayor | HAL | HELIXATE® |
| Otros procedimientos quirúrgicos | | | | |
| Drenaje hematoma muscular | 1 | Mayor | HAL | ADVATE® |
| Extirpación tumoración cutánea | 3 | Mayor | 3 HAL | KOGENATE®(2) FHANDI® |
| Sutura cutánea | 1 | Menor | HAL | FHANDI® |
| Drenaje absceso cutáneo | 1 | Menor | HAL | MINURIN® |
| Acceso venoso central | 1 | Menor | HAL | REFACTO® |
| TOTAL | 38 | | 31 HAL/7 HBL | |

titis C y ninguno para el VIH. Se realizaron 14 cirugías electivas mayores (26.84%) y 24 menores (63.16%) (Tabla 1). Se utilizó anestesia locorregional en 24 procedimientos (63,1%) y 8 pacientes se sometieron a más de una cirugía. El nivel basal de FVIII / FIX en cinco casos (5 cirugías) fue 5%-10%, en 14 pacientes (17 cirugías) 11%-20%, en 4 pacientes (7 cirugías) 21%-30% y 6 pacientes (9 cirugías) 31%-40%. Los concentrados de FVIII o FIX se emplearon en 15 pacientes, en una artroscopia se utilizó factores derivados de plasma y en los otros 14 se utilizó factor recombinante (fr). El DDAVP y el ácido tranexámico se utilizaron en monoterapia en 4 pacientes sometidos a exodoncias. En 17 procedimientos quirúrgicos se pautó ácido tranexámico intravenoso los días 1, 2 y

3 del postoperatorio. Sólo se observó una complicación hemorrágica local tras exodoncia en un paciente con hemofilia B con un nivel de FIX prequirúrgico del 7,6% que recibió FIX recombinante previo a la cirugía y precisó una dosis adicional. No se observó el desarrollo de inhibidores durante el seguimiento.

Conclusión: La cirugía en pacientes con HAL/HBL precisa un enfoque multidisciplinar en Unidades especializadas con un correcto soporte hemostático. El uso de concentrados de factor en cirugía mayor se ha asociado en nuestra serie a mínima morbilidad hemorrágica. Sería interesante diseñar protocolos en cirugía menor programada con DDAVP en hemofilia A y agentes antifibrinolíticos para optimizar el coste/efectividad en estos pacientes.

PC-323 Hemofilia B moderada, factor V Leiden y síndrome coronario agudo

Bru Orobal N. (1), Altisent C. (2), Lidón R.M. (3), Pons. (2), Oristrell G. (3), Parra R. (2)

(1) Servei d'Hematologia. Hospital Joan XXIII. Tarragona. (2) Unitat d'Hemofília y (3) Unitat Coronària. Servei de Cardiologia. Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona

Introducción: En las últimas décadas, con la disponibilidad de tratamientos sustitutivos seguros y eficaces, ha aumentado la esperanza de vida de los pacientes hemofílicos, por lo cual padecen enfermedades propias de esta edad como las cardiovasculares.

Caso clínico: Varón de 57 años con hemofilia B moderada (FIX: 5%) diagnosticada a la edad de 44 años y presencia de factor V Leiden, además otros factores de riesgo cardiovascular no controlados: obesidad mórbida, diabetes mellitus, hipertriglicéridemia, hipertensión arterial y tabaquismo. En el contexto de una taquicardia paroxística supraventricular con respuesta ventricular rápida, presentó un síndrome coronario agudo sin elevación del segmento ST, por lo que fue ingresado en la unidad coronaria a las 24 horas del inicio de la sintomatología para instaurar tratamiento antitrombótico en un paciente con una coagulopatía congénita.

Discusión: De acuerdo al tipo de arritmia, se estratificó el riesgo de trombosis con la escala CHADS₂VASC₂ en 2 puntos, lo cual significaba un riesgo de embolia del 2,2%. Por otro lado se estratificó el riesgo de sangrado con la escala HAS-BLED adaptándola a la coagulopatía, cuyo resultado fue de 4 puntos, lo cual le confería un riesgo de hemorragia elevado. El nivel basal de FIX asociado a la presencia del FV Leiden (dada la ausencia de sintomatología hemorrágica y el diagnóstico tardío de la hemofilia B) se consideraron adecuados para indicar tratamiento antiagregante con 100 mg/día de ácido acetilsalicílico, con lo cual el paciente permaneció asintomático durante todo el ingreso y sin presentar arritmia. El test de isquemia con intención pronóstica fue clínica y eléctricamente negativo y una angiogramía coronaria demostró lesiones ostiales moderadas de las arterias descendente anterior y circunfleja, sin disminución significativa de su calibre. Tras valorar de forma combinada el riesgo hemorrágico del paciente sin tratamiento sustitutivo junto con el riesgo embólico actual y el de mortalidad por infarto se prosiguió con tratamiento antiagregante ya instaurado y el control estricto de los factores de riesgo cardiovascular existente. Transcurridos 27 meses, no ha presentado ninguna complicación hemorrágica ni trombótica.

Conclusión: Se recomienda que el diagnóstico y tratamiento de los pacientes con hemofilia y cardiopatía isquémica se realice igual que en los pacientes sin coagulopatía. Sin embargo, es escasa la información disponible, en especial en la hemofilia B, sobre los niveles necesarios de FIX para disminuir el riesgo hemorrágico del tratamiento antiagregante. En este paciente, portador de una mutación protrombótica, el tratamiento antiagregante no ha comportado ninguna complicación hemorrágica.

Bibliografía

1. Fogarty PF Haemophilia 2015.

PC-324 Manifestaciones hemorrágicas de origen desconocido. ¿El test de generación de trombina es una ayuda?

Oliveira A.C. (1), Salvado R. (1), Martinho P. (1), Silva Pinto C. (1), Gonçalves E. (1), Marques D. (1), Azevedo A. (2), Sevivas T. (1), Fidalgo T. (3), Ribeiro M.L. (3)

(1) Serviço de Hematologia Clínica. Centro Hospitalar Universitário de Coimbra. E.P.E. Portugal. (2) Centro Hospitalar Lisboa Ocidental. E.P.E. Portugal. (3) Serviço de Hematologia Clínica. Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra. Portugal

Introducción: Algunos pacientes son enviados a nuestras consultas por presentar sintomatología hemorrágica ligera. Estos enfermos recurren muy ansiosos, en busca de respuestas que, infelizmente, no podemos proporcionar porque no encontramos, ni aun después de exhaustivos estudios, ningún trastorno de la hemostasia que justifique sus quejas. Los pacientes son generalmente mujeres, con problemas emocionales que consultan por hematomas recurrentes en las extremidades en época cercana o distante a un trauma físico como cirugía o a un intenso estrés emocional, por lo que se ha denominado púrpura psicogénica, también conocida como púrpura por autosensibilización eritrocitaria, cromhidrosis o síndrome de Gardner-Diamond por haber sido los primeros en describirlo en 1955. El diagnóstico clínico es un reto pues, a pesar de todos los esfuerzos realizados, no se encuentra una coagulopatía o una condición sistémica que lo justifique. Como las pruebas habitualmente utilizadas no reflejan el equilibrio hemostático global, pensamos que el test de generación de trombina (GT) podría ayudarnos a valorar el estado hemostático global y a dilucidar una posible alteración hemostática o, sencillamente, a orientar ulteriores investigaciones.

Objetivo: Evaluar la generación de trombina en 4 pacientes con manifestaciones hemorrágicas de etiología no esclarecida.

Material y métodos: Cuatro mujeres, media de edad 47,5 años, con historia de sintomatología hemorrágica adquirida, significativa e de etiología aun no esclarecida. Todas manifestaban alteraciones emocionales. Estudiamos: niveles de factores de la coagulación, trastornos de la función plaquetar y la fibrinólisis. La sintomatología se clasificó de acuerdo con el *bleeding score* estandarizado. La GT y sus parámetros fueron medidos en plasma pobre en plaquetas con 5pM de factor tisular y 4uM fosfolípidos, usando el método Calibrated Automated Thrombogram (CAT- Stago).

Resultados: En las 4 pacientes pruebas de *screening* normales. Los niveles de factor VIII y Willebrand (FvW) normales, aunque en la 3 los niveles FvW estaban en límite inferior de la normalidad. Sin alteraciones en las pruebas de función plaquetar y fibrinólisis. La GT presentó, sorpresivamente, una alteración similar en todas las pacientes: el potencial endógeno de trombina disminuido, relativamente niveles de referencia (1264-1956 nM.min); el pico máximo de generación de trombina disminuido en tres de las pacientes (valores de referencia: 208-380 nM), que avala la hipótesis de que pueda existir algún compromiso de la hemostasis secundaria "in vitro".

Discusión: De los enfermos con sintomatología hemorrágica que estudiamos, un porcentaje significativo presentan un fenotipo hemorrágico ligero, sin alteraciones laboratoriales que lo justifiquen. Algunos presentan trastornos de la ansiedad, siendo encasillados dentro de las llamadas enfermedades psicosomáticas.

Tabla 1.

| | Paciente 1 | Paciente 2 | Paciente 3 | Paciente 4 |
|----------------------------|------------|------------|------------|------------|
| Bleeding score | 3 | 15 | 11 | 14 |
| PLT (x10 ⁹ /uL) | 396 | 188 | 205 | 180 |
| TP (seg) | 10.6"/10" | 11"/11" | 11.2"/11" | 9.9"/11" |
| TTPa (seg) | 28"/30" | 30.8"/31" | 32"/31" | 28.8"/30" |
| Fibrinógeno (mg/dL) | 207 | 250 | 301 | 244 |
| FVIII (%) | 107 | 70 | 44 | 152 |
| FXIII (%) | 95 | 91 | 101 | 80 |
| PFA | Normal | Normal | Normal | Normal |
| FvW:Ag | 86 | 50 | 51 | 103 |
| FvW:Act | 89 | 51 | 44 | 155 |
| FvW:CBA | 121 | 54 | 52 | 120 |
| Multímeros | Normal | Normal | Normal | Normal |
| Agregación plaquetaria | Normal | Normal | Normal | Normal |
| Cuantificación de Gp | Normal | Normal | Normal | Normal |
| Fibrinólisis | Normal | Normal | Normal | Normal |
| Tiempo de latencia (min) | 2,33 | 1,99 | 2,29 | 2,33 |
| PET (nM•min) | 844,49 | 906,44 | 977,52 | 1048,18 |
| Pico de trombina (nM) | 134,47 | 197,96 | 204,76 | 224,22 |
| Tiempo al pico (min) | 6 | 4,22 | 4,67 | 5,11 |
| Grupo sanguíneo | A Positivo | A Negativo | A Positivo | A Positivo |

PLT: plaquetas; TP: tiempo de protrombina; TTPa: tiempo de tromboplastina parcial activado; PFA: platelet function assay; FvW:Ag: factor de von Willebrand antigénico; FvW:Act: factor de von Willebrand actividad; FvW:CBA: factor de von Willebrand Collagen binding assay; Gp: glicoproteínas; PET: potencial endógeno de trombina.

Con los resultados obtenidos, sólo podemos especular sobre la naturaleza de estos trastornos no detectables con las pruebas hemostáticas clásicas. Factores derivados del endotelio que podría afectar a las interacciones plaquetas/endotelio (por ejemplo, NO, PGI₂), el aumento de la actividad fibrinolítica tisular o aún defectos plaquetarios desconocidos. Claramente, van a ser necesarias otras investigaciones para revelar los mecanismos responsables de estos cuadros. El conocimiento etiológico promovería una adecuada comprensión del paciente y sus circunstancias, evitaría tratamientos incorrectos o agresivos y lo libertaría del estigma de padecer una patología psicogénica.

PC-325 Caracterización de una cohorte de niños y adolescentes con hemofilia A grave e inhibidor, erradicado con inmunotolerancia

Martorell Murtra M., Altisent Roca C., Parra López R.
Unidad de Hemofilia. Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona

Introducción: Las características de los pacientes con hemofilia A grave que han desarrollado inhibidor y han respondido adecuadamente al tratamiento de inmunotolerancia están poco descritas.

Objetivos: El objetivo de este estudio es analizar las características de los paciente que han erradicado el inhibidor con tratamiento de inmunotolerancia en nuestro hospital, describir el estado articular actual, valorado mediante exploración física con el índice Haemophilia Joint Health Score (HJHS) 2.1, así como las pautas de FVIII utilizadas en la profilaxis y frecuencia de sangrado articular en los últimos tres años, según datos obtenidos de la historia clínica. Los resultados se han comparado con los obtenidos en pacientes en profilaxis y sin historia de inhibidor nacidos en el mismo periodo.

Resultados: Nueve de los 34 pacientes (25%) nacidos entre 1996 y 2010 han desarrollado inhibidor de alto título. En la actualidad, un paciente sigue en tratamiento y 8 lo han erradicado y siguen tratamiento profiláctico con FVIII. Las características de los 8 pacientes se indican en la [Tabla 1](#). En la [Tabla 2](#) se comparan los resultados con los obtenidos en la cohorte de pacientes sin historia de inhibidor.

Conclusiones: Los resultados preliminares indican que los pacientes con hemofilia A grave en tratamiento profiláctico e histo-

Tabla 1. Características de los pacientes

| Caso | Año de nacimiento | Historia familiar hemofilia | Mutación gen FVIII | Edad diagnós hemofilia | Edad diagnós inhibidor (meses) | Duración del TIT (meses) | Fecha final ITI | Tiempo observación (años) | Dosis en profilaxis UI/kg/sem | Número hemartros/año | HJHS puntuación total |
|------|-------------------|-----------------------------|-----------------------|------------------------|--------------------------------|--------------------------|-----------------|---------------------------|-------------------------------|----------------------|-----------------------|
| 1 | 2009 | No | Nonsense substitution | 9 meses | 14 | 22,7 | 12/2012 | 1,8 | 168 | 0,0 | 0 |
| 2 | 2006 | No | Small insertion | 9 meses | 14 | 8,1 | 09/2008 | 3,0 | 60 | 0,0 | 0 |
| 3 | 2005 | Sí | Inv122 | ND | 57 | 27 | 01/2013 | 1,7 | 140 | 1,8 | 10 |
| 4 | 2005 | No | Inv122 | 12 meses | 21 | 8,9 | 04/2008 | 3,0 | 78 | 0,0 | 0 |
| 5 | 2004 | No | Small insertion | 2 días | 28 | 65,5 | 07/2012 | 2,2 | 151 | 0,0 | 8 |
| 6 | 2004 | No | Nonsense substitution | 1 día | 14 | 30 | 01/2008 | 3,0 | 89 | 0,0 | 1 |
| 7 | 2000 | No | Small insertion | 1 día | 7 | 1,5 | 05/2005 | 3,0 | 44 | 0,3 | 2 |
| 8 | 1997 | No | Small deletion | 6 días | 10 | 5,3 | 10/1999 | 3,0 | 42 | 0,0 | 8 |

Tabla 2. Pautas de profilaxis, frecuencia de sangrado articular y estado articular en pacientes con y sin historia de inhibidor

| | Pacientes SIN historia de inhibidor (n=25) Mediana (intervalo) o % | Pacientes CON historia de inhibidor (n=8) Mediana (intervalo) o % |
|---|---|--|
| Dosis FVIII utilizadas en profilaxis UI/kg/semana | 65,4 (36,8-113,0) | 89,0 (42-168) |
| Frecuencia de administración de la profilaxis | 3/ semana 72% 2/ semana 28% | 3/ semana 50% cada 48 horas 38% 2/ semana 12% |
| Número sangrados articulares/año (3 últimos años) | 0,2 (0-1,1) | 0 (0-1,8) |
| Puntuación total en HJHSv2.1 | 0 (0-13) | 1,0 (0-10) |

ria de inhibidor requieren dosis de FVIII más elevadas y una pauta de administración más frecuente que los pacientes sin inhibidor. El estado articular en esta serie es comparable al observado en los pacientes sin inhibidor.

PC-326 Estudio farmacocinético comparativo entre dosis única y dosis múltiples de rFVIIa en pacientes con hemofilia con y sin inhibidores

Fernández Bello I. (1), Stenmo C. (2), Ezban M. (2), Butta Coll N. (1), Jiménez Yuste V. (1)

(1) Hospital Universitario La Paz. Madrid. (2) Novo Nordisk. Madrid

Introducción: En ensayos clínicos con tratamiento a demanda de sangrados leves y moderados con factor VII recombinante activado (rFVIIa, NovoSeven®) se mostró que tanto la infusión de

3 dosis de 90 µg/kg como 1 dosis de 270 µg/kg eran eficaces con una tasa de éxito de alrededor del 90%.

Objetivos: a) Comparar el perfil farmacocinético de rFVIIa en pacientes con hemofilia tras la infusión de 3 dosis de 90 µg/kg y 1 dosis de 270 µg/kg usando los niveles antigénicos y de actividad de FVIIa; y b) estudiar la correlación entre los niveles de rFVIIa y los valores de TP, aPTT, F1+F2, y dímero-D.

Métodos: Estudio aleatorizado, cruzado, unicéntrico. Se incluyeron 6 pacientes con hemofilia grave (2 con inhibidores de alta respuesta). Todos los pacientes recibieron ambos regímenes de tratamiento en ausencia de sangrado. Las muestras de sangre se recogieron antes y a los 10 minutos (min), 1, 3, 6, 9, 12 y 24 horas después de infundir 1x270 µg/kg de rFVIIa. Para evaluar el régimen de 3x90 µg/kg se recogieron las mismas muestras post-dosis después de la primera infusión de 90 µg/kg y además 10 min después de la segunda dosis y 10 min y 1 hora después de la tercera dosis.

Resultados: La PK basada en la actividad del rFVIIa fue similar entre ambos regímenes de administración. Durante el régimen de 3x90 µg/kg se observó una tasa de acumulación de 1,8. La PK

obtenida midiendo la actividad de rFVIIa difirió de la PK obtenida tras evaluar los niveles antigénicos de rFVIIa debido a una reducción en el aclaramiento del fármaco consecuencia de la formación de complejos FVIIa-antitrombina. No se observaron diferencias en los valores de TP, aPTT y dímero-D entre ambos regímenes. El TP disminuyó después de la primera administración de rFVIIa y se mantuvo bajo durante las 9 horas posteriores para luego aumentar lentamente hasta alcanzar los valores basales. Los niveles de F1+2 aumentaron de forma transitoria después de la administración de rFVIIa. Este aumento fue mayor después de la dosis 1x270 µg/kg, con un pico 1 hora después de la administración. En el régimen 3x90 µg/kg el pico más alto se observó 1 hora después de la tercera dosis.

Conclusiones: Los parámetros de la PK del rFVIIa son comparables entre los dos regímenes de dosis, con baja variación intersujetos. La tasa de acumulación de 1,8 después de 3x90µg/kg produjo un incremento del 50% del pico de la actividad después de la última dosis. Se confirma la participación de los complejos FVIIa-AT en el mecanismo de aclaramiento del rFVIIa. Los niveles de F1+2 se correspondieron con la actividad del rFVIIa.

PC-327 Evaluación de la administración *in vivo* del factor VII recombinante activado mediante el test de generación de trombina: determinación de las condiciones experimentales más adecuadas

Fernández Bello I. (1), Butta Coll N. (1), Lind V. (2), Stenmo C. (2), Ezban M. (2), Jiménez Yuste V. (1)

(1) Hospital Universitario La Paz. Madrid. (2) Novo Nordisk. Madrid

Introducción: La evaluación de la respuesta al tratamiento con agentes baipás en pacientes con hemofilia e inhibidores constituye un desafío debido a la ausencia de métodos validados. El test de generación de trombina (TGT) tiene valor potencial para complementar el estudio farmacocinético (PK) del factor VII recombinante activado (rFVIIa), pero la falta de estandarización de este método dificulta la comparación intra e interlaboratorios de los resultados.

Objetivos: a) Evaluar la generación de trombina mediante TGT en plasma rico en plaquetas (PRP) y plasma pobre en plaquetas (PPP), con y sin la adición de CTI (inhibidor de tripsina del maíz) después de la administración de una dosis de rFVIIa (NovoSeven®, Novo Nordisk A/S) a pacientes con hemofilia con el objeto de determinar la mejor condición experimental; y b) comparar los parámetros del TGT con los perfiles farmacocinéticos individuales del rFVIIa.

Métodos: Se incluyeron 6 pacientes adultos con hemofilia grave (2 con inhibidores de alta respuesta) a quienes se les infundió una dosis i.v. de 270 µg/kg de rFVIIa. Se extrajeron muestras de sangre en tubos estándares de citrato sódico 3,2% y en tubos de citrato sódico con CTI (50 µg/mL; Haematologic Technologies,

Inc) antes y tras 10 minutos, 3, 6, 9, y 24 horas de la infusión. La actividad del rFVIIa se determinó mediante ensayo coagulativo de FVIIa (Stago). El TGT se realizó mediante trombinografía calibrada automática (CAT, Thrombinoscope) en PPP y en PRP. Tras la centrifugación y el ajuste del número de plaquetas en el PRP (150.000 plaquetas/mcl), el PPP y el PRP fueron congelados a -80°C hasta su utilización. Tras la descongelación a 37°C/10 min, la coagulación se inició mediante la adición del reactivo “PPP-Low” (1 pM de factor tisular y 4 µM de una mezcla de fosfolípidos, Thrombinoscope BV, Maastricht, NL) al PPP y tampón (HEPES, BSA 2%) al PRP. La actividad de FVIIa y los parámetros del TGT (potencial endógeno de trombina [ETP], pico, tiempo al pico y tiempo de latencia) se determinaron en todas las muestras. La actividad del FVIIa se determinó en todos los puntos y a 1 y 12 horas después de la infusión.

Resultados: La mayor sensibilidad para evaluar la actividad del rFVIIa se obtuvo en el PRP existiendo una buena correlación entre los parámetros de TGT y la actividad de FVIIa. Los resultados fueron similares entre las muestras con y sin CTI. El TGT fue menos sensible en PPP que en PRP para evaluar el efecto del tratamiento con rFVIIa mostrando una señal basal muy elevada y una ventana pequeña para evaluar el efecto. Los parámetros pico y ETP mostraron la mejor correlación con los niveles de actividad del FVIIa.

Conclusiones: El PRP congelado sin CTI fue la mejor condición para evaluar la administración de rFVIIa mediante TGT. El pico y el ETP fueron los parámetros del TGT que mostraron mejor correlación con los niveles de actividad de FVIIa.

PC-328 Enfermedad de von Willebrand adquirida en enfermedades hematológicas

Ferreira G., Fidalgo T., Marques D., Gonçalves E., Oliveira A.C., Pinto Catarina S., Martinho P., Seivas T., Salvado R., Ribeiro M.L.

Serviço de Hematologia. Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra. Portugal

Introducción: La enfermedad de von Willebrand adquirida (EvWa) es una enfermedad rara. Asociada a neoplasias linfo/mieloproliferativas, patología cardiovascular y enfermedades auto-inmunes. El déficit de Factor de von Willebrand (FvW) causado por adsorción por células neoplásicas; aumento de la degradación del FvW; pérdida de multímeros de alto peso molecular por elevado “shear stress” o remoción acelerada del FvW por auto-anticuerpos. Caracterizada por hemorragias de intensidad variable en pacientes sin historia hemorrágica previa. El diagnóstico laboratorio incluye el estudio de hemostasis primaria, niveles plasmáticos de FVIII, FvW y estructura multimérica del FvW. El tratamiento se dirige al control de episodios hemorrágicos y al tratamiento de la enfermedad subyacente.

Casos clínicos: Presentamos 5 enfermos con EvWa diagnosticados entre septiembre/2008 y marzo/2015. Tres mujeres y dos hombres, media de edad al diagnóstico 59 años (36-86 años). Enfermedades subyacentes: linfoma no-Hodgkin B marginal

(LnH-B marginal), macroglobulinemia de Waldenstrom (MW), leucemia mieloide crónica (LMC), trombocitemia esencial (TE). Análisis de acuerdo con algoritmo ISTH. Describimos en cada enfermo las características clínicas y laboratoriales al diagnóstico (Tabla 1) y la evaluación laboratorial pos-terapéutica (Tabla 2).

- **Caso clínico 1:** hombre, 71 años. Hemorragia severa post-extracción dental. Diagnóstico de EvWa y de MW. Tratamiento hemostático con medidas locales, sutura y antifibrinolítico oral, de la MW con protocolo R-CVP.
- **Caso clínico 2:** mujer, 53 años. Equimosis, gingivorragias previas y hemorragia profusa pós-extracción dental. Adenopatías cervicales y pérdida ponderal de cerca de 12 Kg en 1 año. Diagnóstico de EvWa y LnH-B marginal. Tratamiento con concentrado de FVIII/FvW y antifibrinolítico intravenoso en episodios hemorrágicos y profiláctico para exérese de adenopatía y aspirado medular/biopsia ósea. LnH-B con protocolo R-CHOP.
- **Caso clínico 3:** mujer, 52 años. Metrorragias, epistaxis, cefaleas, prurito, alteraciones visuales y parestesias con 3 semanas de evolución. Transferida por MW, fue detectada EvWa. Tratada con plasmaféresis terapéutica por hiper-viscosidad y R-CHOP.
- **Caso clínico 4:** hombre de 36 años enviado por esplenomegalia, leucocitosis y trombocitosis. Diagnóstico de LMC, fase crónica inició tratamiento con hidroxiureia/aspirina. Dos días después presenta hemartrosis traumática de rodilla derecha. Suspende antiagregación y realizada artroscopia/artrocentesis, recomendado reposo absoluto. Por TTPa prolongado fue sospechada y diagnosticada EvWa. Tratamiento hemostático con medidas locales e LMC con inhibidor de la tirosina cinasa.
- **Caso clínico 5:** mujer, 82 años, enviada por trombocitosis. En terapéutica antiagregante que suspendió por apareamiento de hematomas espontáneos de miembros superiores. Diagnóstico de TE. Por TTPa prolongado fue sospechada y diagnosticada EvWa. Tratada con hidroxiureia.

Conclusiones:

1. Los cinco enfermos ilustran la heterogeneidad clínica/biológica de las patologías hemato-oncológicas que desenvuelven DvWa.

Tabla 2. Evaluación laboratorial pos-terapéutica

| Paciente | TTPa (seg) | FVIII (%) | FvW:RC (%) | FvW:Ag (%) | Perfil multimérico |
|----------|------------|-----------|------------|------------|--------------------|
| 1 | 35/30 | > 152 | 109 | 133 | Normal |
| 2 | 36/30 | 96 | 116 | 147 | Normal |
| 3 | NA | NA | NA | NA | NA |
| 4 | 35/30 | 87 | 85 | 101 | Normal |
| 5 | NA | NA | NA | NA | NA |

Poco después del inicio del tratamiento dirigido a la enfermedad de base se verificó resolución completa de la sintomatología hemorrágica en todos los enfermos y normalización de los parámetros laboratoriales. NA: no realizado.

2. La EvWa debe ser sospechada en enfermos con manifestaciones hemorrágicas “*de novo*” en una fase tardía de la vida, en ausencia de historia familiar, en contexto de enfermedad hemato-oncológica, sin trombocitopenia.
3. Cuando es diagnosticada una EvWa es obligatorio buscar enfermedades neoplásicas o auto-inmunes responsables. El tratamiento de la enfermedad de base induce, habitualmente, la remisión de la EvWa.
4. Las opciones terapéuticas para el tratamiento de los episodios hemorrágicos agudos y para la profilaxis de procedimientos invasivos incluyen la desmopresina, concentrados de FvW y FVIIa recombinante. Como medidas coadyuvantes podemos utilizar antifibrinolíticos, inmunoglobulina intravenosa o plasmaféresis, entre otros.

Bibliografía

1. Federici AB, Budde U, Rand JH. Acquired von Willebrand syndrome 2004: international registry- diagnosis and management from online to bedside. *Hamostaseologie* 2004; 24: 50-55.
2. Mohri H, Motomura S, Kanamori H, Matsuzaki M, et al. Clinical significance of inhibitors in acquired von Willebrand syndrome. *Blood* 1998; 91: 3623-3629
3. Mohri H. Acquired von Willebrand syndrome: features and management. *Am J Hemat* 2006; 81: 616-23.

Tabla 1. Descripción de episodios hemorrágicos y perfil laboratorial al diagnóstico. Los dos enfermos con MW presentan un perfil de DvW tipo 1 y los restantes 3 perfiles de DvW tipo 2

| Paciente | Diagnóstico | Hemorragia | TTPa (seg) | PFA-100 (seg) | FVIII (%) | FvW:Act (%) | FvW:Ag (%) | Ratio Act/Ag | Perfil multimérico |
|----------|----------------|--|------------|---------------|-----------|-------------|------------|--------------|--------------------|
| 1 | MW | Pos-extracción dental | 43/29 | > 300 | 55 | 30 | 35 | 0,85 | ↓ M Tipo 1* |
| 2 | LnH-B marginal | Pos-extracción dental | 57/29 | | 11 | 5 | 25 | 0,17 | ↓ MA/MPM, Tipo 2 |
| 3 | MW | Epistaxis, menorragias, hemorragia fondo ojo | 54/30 | > 300 | 26 | 40 | 32 | 1,25 | ** |
| 4 | LMC | Hemartrosis | 38/31 | | 92 | 43 | 86 | 0,5 | ↓ MA/MPM, Tipo 2 |
| 5 | TE | Equimosis | 40/31 | | 72 | 38 | 92 | 0,41 | ↓ MA/MPM, Tipo 2 |

MA/MPM: multímeros de alto/medio peso molecular. *Perfil electroforético característico de la MW; **No fue posible en la muestra inicial.

4. Franchini M, Lippi G. Acquired von Willebrand syndrome: an update. *Am J Hematology* 2007; 82: 368-75.
5. Federici AB. Acquired von Willebrand syndrome: is it an extremely rare disorder or do we see only the tip of the iceberg? *J Thromb Haemost* 2008; 6: 565-8.
6. Rodeghiero F, Castaman G, Tosetto A. How I treat von Willebrand disease. *Blood* 2009; 114.
7. Shetty S, Kasatkar P, Ghosh K. Pathophysiology of acquired von Willebrand disease: a concise review. *European Journal of Haematology* 2011; 87: 99-106.
8. Giannini S, Solimando M, Fierro T, Baronciani L, et al. Acquired von Willebrand syndrome type 2^a in a JAK2-positive essential thrombocythaemia-affected member of a large von Willebrand disease family with a novel autosomal dominant A1716P mutation. *Thrombosis and Haemostasis* 105.5/2011
9. Lison S, Dietrich W, Spannagl M. Unexpected Bleeding in the Operating Room: The Role of Acquired von Willebrand Disease. *Anesthesia and Analgesia* 2012; 114: 73-81.

PC-329 Desarrollo de inhibidor en hemofilia B tras diez años de profilaxis primaria

Bernardo Gutierrez Á., Soto Ortega I., Solano Tovar J., Zanabilli Al-Sibai J., Argüello Junquera M., Fonseca Mourelle A., Corte Buelga J.R., Fernández Rodríguez M.Á.

Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo

Caso clínico: Varón de 11 años de edad, diagnosticado de Hemofilia B grave a los 10 meses (marzo-2005). Mutación identificada: deleción completa del gen del factor IX.

Primer hemartros espontáneo en la rodilla derecha a los 15 meses (agosto de 2005); inicia profilaxis primaria a través de una vía periférica a los 18 m con Factor IX (Mononine[®] CSL Behring).

En Marzo de 2008: se produce cambio a FIX recombinante (Benefix [®] Pfizer), desde entonces ha mantenido el régimen de profilaxis primaria dos días por semana sin desarrollo de inhibidor y sin sangrados relevantes, haciendo vida escolar, familiar y deportiva acorde con su edad.

Sólo precisó un aporte más importante de factor IX en agosto de 2013 por un traumatismo sobre el 4º dedo de la mano izquierda. Nunca ha sido intervenido quirúrgicamente. Nunca ha sido portador de un reservorio. Nunca ha precisado hospitalización. Correctamente vacunado acorde con el calendario vigente.

A principios de marzo de 2015, recibiendo 31.25 UI/kg, se asiste a un progresivo aumento de la tendencia hemorrágica, así como necesidades de aporte de Factor IX suplementario. El 23 de marzo de 2015 realiza una revisión programada estando asintomático y con inhibidor de 0 U. Bethesta (Tabla 1). A primeros de Abril acude por hematoma gemelar y hemartros de tobillo derecho espontáneo y aparición de hematomas cutáneos con evolución tórpida (determinaciones analíticas: Tabla 1) Se realizó una amplia batería de estudios microbiológicos que resultó negativa.

En total, se había mantenido en profilaxis primaria durante 10 años en rango entre 25-40 UI/ kg, dos días por semana (> 1.000 DE).

| Fecha | Pre factor IX (%) | Post factor IX (%) | Inhibidor factor IX (U. Bethesta) |
|--------------|-------------------|--------------------|-----------------------------------|
| 23/03/2015 * | 2.60 | - | 0.0 |
| 13/04/2015** | 0.0 | - | 0.35 |
| 15/04/2015** | 0.0 | 12.9 | 0.57 |
| 20/04/2015** | 0.0 | 42,8 | 0.0 |
| 22/04/2015** | 0.0 | 53.0 | 0.0 |
| 24/04/2015** | 0.0 | 33.9 | - |
| 27/04/2015** | 0.0 | 4.0 | 0.9 |
| 29/04/2015** | 0.0 | 10.1 | 0.82 |
| 04/05/2015** | 0.0 | 18.7 | 0.85 |
| 06/05/2015** | 0.0 | 45.1 | - |
| 18/05/2015 | 0.0 | 56 | 0.6 |
| 25/05/2015 | 0.0 | 35 | 1.41 |

*Tras 48 horas de haber recibido 41.66 UI/Kg. ** TIT.

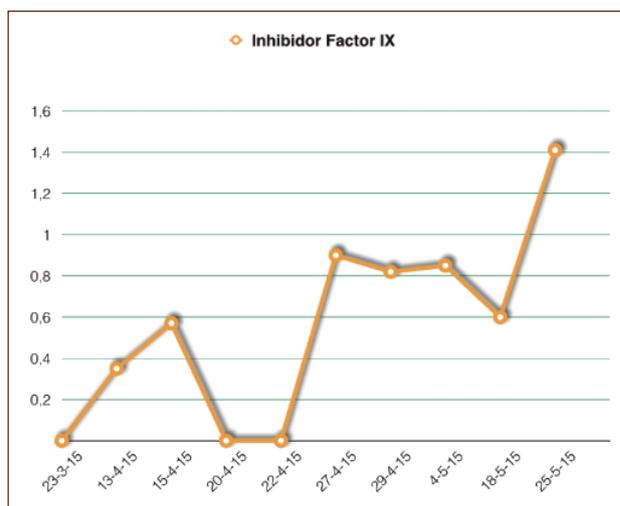


Figura 1. Evolución del título del inhibidor en U. Bethesta.

Con estos datos se diagnostica de inhibidor anti-FIX (evolución: Figura 1) y se inicia inmunotolerancia a dosis de 60 UI/kg inicialmente. Sin embargo al constatare un repunte del inhibidor a 2.12 U. Bethesta se incrementó la dosis a 100 UI/Kg 3 días a la semana, con premedicación con dexclorfeniramina tras dos episodios de reacción alérgica de tipo respiratorio que se trataron con esteroides y oxígeno. Proteinuria negativa (Figura 2).

Conclusión: El desarrollo de inhibidor en Hemofilia B es una complicación rara que se da en el 3-5% de los pacientes afectados. Se presenta el caso por la rareza de desarrollar un inhibidor tras 10 años de exposición al factor IX y más de 1000 DE. Realizada revisión bibliográfica, no se ha encontrado descrito ningún caso de desarrollo de aloanticuerpos inhibidores frente al factor IX tras una exposición tan prolongada.

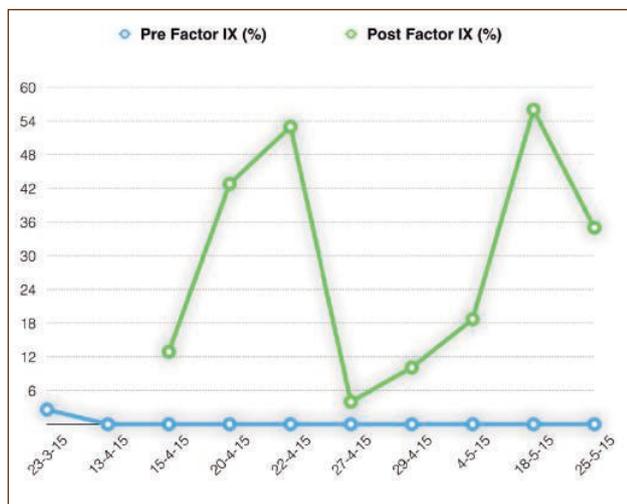


Figura 2. Niveles de factor IX pre y post-administración de 100 U/kg.

Bibliografía

1. J. Puez, J.M. Soucie, C.L. Kempton, P.E. Monahan et al. Prevalent inhibitors in haemophilia B subjects enrolled in the Universal Data Collection database. *Haemophilia*. 2014; 20:25-31.
2. J. Astermark. Why do inhibitors develop? Principles of and factors influencing the risk for inhibitor development in haemophilia. *Haemophilia*. 2006; 12(suppl.3):52-60.
3. G. Castaman, E. Bonneti, M. Messina, M. Morfini, A. Rocino, G. Tagariello. Inhibitors in haemophilia B: the Italian experience. *Haemophilia*; 2013(19):686-690.
4. J.M Soucie, C.H. Miller, F.M Kelly, A.B Payne, M. Creary, P.L. Bockenstedt et al. A study of prospective surveillance for inhibitors among persons with haemophilia in the United States. *Haemophilia*; 2014(20):230-237.

PC-330 Estrategia de profilaxis temprana en hemofilia A grave. Incidencia de episodios hemorrágicos, colocación de catéter venoso central y desarrollo de inhibidores

Meijón Ortigueira M.M., Álvarez Román M.T., Díaz Jordán B.L., Martín Salces M., Rivas Pollmar M.I., Jiménez Yuste V.

Hospital Universitario La Paz. Madrid

Introducción: Actualmente se contempla la profilaxis como el abordaje terapéutico de elección en los pacientes con hemofilia. Diferentes dosis e intervalos de administración se han utilizado para el manejo de estos pacientes. Describimos la profilaxis utilizada en nuestro centro en los últimos años con evaluación de resultados en cuanto al número de episodios hemorrágicos y estado articular, necesidad de catéter venoso central y desarrollo de inhibidores.

Material y métodos: Se realiza estudio retrospectivo analizando una serie de once pacientes menores de seis años, con

diagnóstico de hemofilia A Grave en seguimiento en nuestro centro tras instauración de régimen de tratamiento profiláctico precoz, evaluando los resultados de esta estrategia terapéutica como nº de episodios hemorrágicos y estado articular, así como su impacto en el desarrollo de inhibidores y la necesidad de implantación de catéteres.

Resultados: Los pacientes analizados inician profilaxis precoz (una dosis semanal de 20-25 UI/kg peso). En un 82% de los casos se implanta catéter venoso central, con buen funcionamiento del mismo, siendo únicamente retirado en el 18% de los pacientes, en relación a un proceso infeccioso asociado. Un 18% desarrollan inhibidores tras instauración de tratamiento intensivo por complicaciones hemorrágicas al diagnóstico, mientras que durante la instauración del tratamiento profiláctico se objetiva únicamente un 9%, con desaparición posterior a aplicación de terapia de inmunotolerancia. En lo referente a la incidencia de complicaciones hemorrágicas durante su seguimiento únicamente se objetiva un 9% de hemartros. Otro 18% ha presentado episodios hemorrágicos de carácter leve, tales como lesiones en mucosa yugal, gingivorragias y epistaxis.

Conclusiones: Los resultados de nuestra serie sugieren que la instauración de una pauta de profilaxis aplicada de forma precoz es una estrategia segura, la cual contribuye a la menor incidencia y gravedad de las complicaciones hemorrágicas características del paciente con Hemofilia A Grave y que a su vez no aumenta la tasa de desarrollo de anticuerpos inhibidores. Asimismo el empleo de un catéter de vía central con reservorio para la administración de dicha pauta de tratamiento evita las venopunciones reiteradas, constituyendo un recurso cómodo para el paciente y su familia, con baja tasa de complicaciones

PC-331 Hemofilia adquirida en un paciente con debut diabético

Solano J., Bernardo Á., Zanabili Joud, Fonseca A., Arias T., Corte J.R., Fernández Á., Soto I.

Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo

Introducción: La hemofilia adquirida (H.A.) es una diátesis hemorrágica infrecuente secundaria a la aparición de autoanticuerpos que inactivan de forma incompleta la actividad del factor VIII. Afecta en su mayoría a personas de mediana y avanzada edad sin historia previa o familiar de clínica hemorrágica. La mitad de los casos están relacionados con desordenes autoinmunes, neoplasias, embarazo/posparto, fármacos, patología dermatológicas e infecciosas; sin embargo en los casos restantes no se logra identificar una causa clara.

Clínicamente se manifiesta como hemorragias espontáneas mucocutáneas, musculares, gastrointestinales y pulmonares habitualmente graves independientemente de los niveles de factor VIII o título del inhibidor. Su morbimortalidad es elevada en relación a la gravedad del cuadro hemorrágico unido a las frecuentes comorbilidades de estos pacientes o a la toxicidad del tratamiento empleado para la erradicación del inhibidor.

Caso clínico: Varón de 69 años sin antecedentes de interés con cuadro de debut diabético y aparición de hematomas espontáneos en extremidades de 3 meses de evolución que se interpretaron como secundarios a roturas fibrilares recibiendo HBPM como profilaxis. Consultó por bultoma en región supraclavicular izquierda por lo que se realizó PAAF diagnóstica, presentando tras su realización importante sangrado. En la evaluación inicial se detectó un TTPa prolongado, por lo que se administró factor VIIIr y fue trasladado a nuestro centro, precisando de embolización urgente de ramas de arteria subclavia izquierda. El estudio de coagulación evidenció un TTPa de 51,40 seg, TTPa-R 1,71. Factor VIII 6%. Inhibidor factor VIII 2,45 U. Bethesda.

Durante su ingreso se realizó un TAC toracoabdominal que mostró un extenso hematoma de pared desde región cervical posterior izquierda hasta raíz de muslo y un gran derrame pleural izquierdo (Figura 1). Se estableció el diagnóstico de hemofilia adquirida iniciando tratamiento inmunosupresor con corticoides y ciclosporina, con control del sangrado y recuperación de niveles de FVIII (Figura 2). En las pruebas complementarias se descartó patología tumoral, autoinmune o infecciosa asociada.

Discusión: La H.A. es una enfermedad que requiere de una sospecha precoz y un rápido diagnóstico para iniciar de forma inmediata el tratamiento erradicador del inhibidor previniendo las complicaciones hemorrágicas y la elevada mortalidad. El logro de un resultado favorable depende además de la identificación y el tratamiento de la enfermedad concomitante o condición de activación, debido a que en algunos casos el tratamiento de estos desordenes puede conducir a la desaparición del inhibidor.

Aunque en nuestro caso no existía un claro componente autoinmune, están descritos menos de 5 casos que relacionan el debut diabético con la H.A. debido al aumento de la inmunogenicidad causada por la glicosilación del factor VIII que es lo que ha ocurrido en nuestro paciente, por lo que los sangrados espontáneos en el contexto de un debut diabético nos debe llevar a pensar en esta entidad.

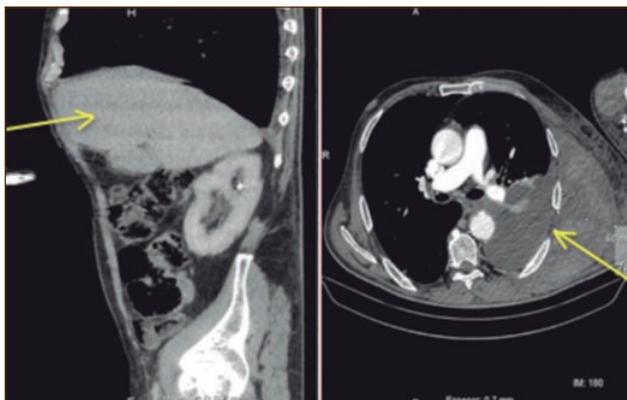


Figura 1. Tomografía computarizada toracoabdominal donde se muestra un extenso hematoma subcutáneo y derrame pleural izquierdo.

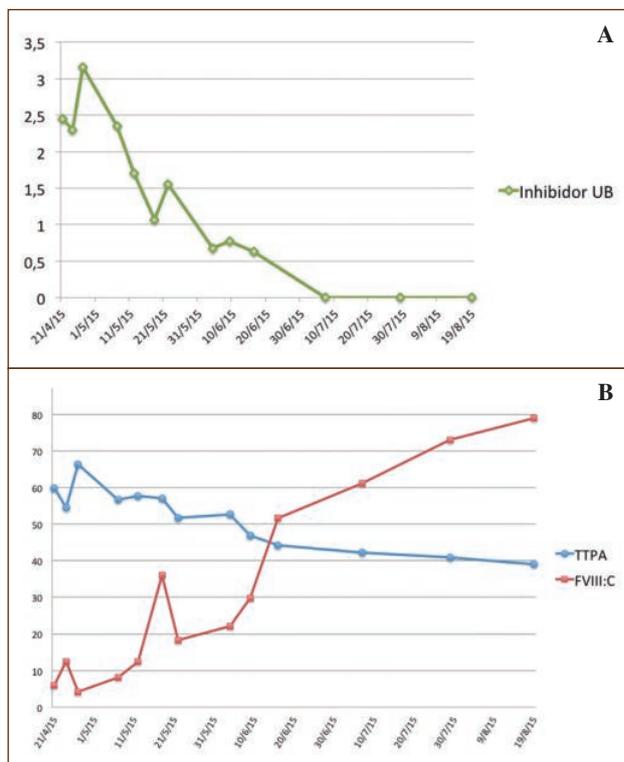


Figura 2. A. Evolución del tiempo parcial de tromboplastina y niveles de factor VIII. B. Evolución del inhibidor en Unidades Bethesda.

Métodos de diagnóstico y marcadores

PC-332 Evaluación de la antitrombina y ADN circulante durante el proceso de hemodiálisis en pacientes con enfermedad renal crónica

Toderici M. (1), Ramos F. (2), Pérez A. (2), Miñano A. (1), Zuazu I. (1), Cabezuelo J. (1), Vicente V. (1), Corral J. (1), de la Morena-Barrio M.E. (1)

(1) Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital General Universitario Morales Meseguer. Centro Regional de Hemodonación. Universidad de Murcia. IMIB-Arrixaca Murcia. Murcia. (2) Servicio de Nefrología. Hospital Universitario Reina Sofía. Murcia

Introducción: El proceso de hemodiálisis (HD) afecta al sistema hemostático por diferentes mecanismos y contribuye al riesgo trombotico que presentan estos pacientes. También es conocido que existe activación y destrucción celular que podría generar un aumento plasmático de ADN, con potenciales efectos en diferentes elementos del sistema hemostático de acuerdo con recientes estudios.

Objetivo: Caracterizar la funcionalidad y los niveles de diferentes formas del principal anticoagulante endógeno, la antitrombina (AT) y su asociación con los niveles de ADN durante el proceso de HD.

Métodos: Se analizaron 30 pacientes sometidos a diálisis (67% varones, con una edad media de 75 años y una media de 51 meses en HD) antes de la sesión de HD (Pre) y después (Post). También se estudiaron 5 pacientes sin historial de HD previa durante las primeras sesiones. Como grupo control incluimos 307 donantes de sangre. Se emplearon filtros tanto de polisulfona como de helixona. La AT plasmática se analizó mediante Western blot empleando diferentes condiciones electroforéticas que detectan distintas formas de AT, y ensayos funcionales anti-FXa con métodos cromogénicos. El ADN libre en plasma se cuantificó mediante un método fluorimétrico (Sytox).

Resultados: Los pacientes en HD presentaron niveles menores de AT que el grupo control de sujetos sanos ($86,2 \pm 8,6$ vs $96,5 \pm 7,5$ $p < 0,01$). El tipo de filtro utilizado influyó en los niveles de AT observados. La membrana de polisulfona se asoció con mayores niveles de AT que la helixona ($92,5 \pm 3,1$ vs $85,5 \pm 8,8$; $p < 0,02$). Durante la HD, los niveles de AT aumentaron ($86,2 \pm 8,6$ Pre y $90,3 \pm 10,1$ Post, $p < 0,01$) debido probablemente a la hemoconcentración, pues se observó que el aumento de la ultrafiltración incrementaba los niveles de AT. Además, el proceso de diálisis provocaba un incremento de la forma hiperestable no anticoagulante de AT. El análisis de AT en los pacientes que iniciaron la diálisis demostró que los procesos superiores a dos horas provocaban la aparición de un complejo de AT no covalente. Es llamativa la correlación entre este complejo y el tiempo en HD ($p < 0,02$); los pacientes con más tiempo en HD tenían menores niveles de este complejo. Finalmente, como la liberación de ácidos nucleicos al plasma se ha asociado con activación del sistema hemostático, determinamos la concentración de ADN libre en plasma en los pacientes sometidos a HD. Los pacientes presentaban mayores niveles de ADN que los controles ($p < 0,04$) y se producía un aumento durante el proceso ($0,06 \pm 0,02$ Pre y $0,13 \pm 0,11$ Post; $p < 0,01$). Sin embargo, no existió correlación entre los niveles de ADN y AT.

Conclusiones: El proceso de HD afecta significativamente a la AT incrementando la proporción de formas rotas o latentes, generando un complejo que podría tener valor pronóstico y reduciendo los niveles globales de este potente anticoagulante. Por otra parte, nuestro estudio muestra por primera vez que la HD incrementa los niveles de ADN posiblemente por procesos de lisis celular. Este aumento, junto a las variaciones de AT y junto con otros factores podrían provocar una activación del sistema hemostático y generar el estado de hipercoagulabilidad que se manifiesta en estos pacientes.

PC-333 Estudio de microRNAs en exosomas derivados de carcinoma renal avanzado en primera línea de tratamiento

Dolz Giménez S. (1), Sanmartín García E. (1), Font de Mora Sainz J. (1), Martínez Sales V. (1), Vila Liante V. (1), Suárez Rodríguez C. (2), García del Muro Solans X. (2), García Sánchez J. (2), Méndez Vidal M.J. (2), Vázquez Estévez S. (2), Lainez Milagro N. (2), Molins Palau C. (2), Munárriz Ferrandis J. (2), Gallardo Díaz E. (2), Salvador Coloma C. (1), Niño Gómez Ó.M. (1), Reynés Muntaner G. (3)

(1) IIS La Fe y Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia. (2) Grupo Español de Tumores Genitourinarios (SOGUG). (3) IIS La Fe y Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia. Grupo Español de Tumores Genitourinarios (SOGUG)

Introducción: La capacidad angiogénica juega un papel crucial en la progresión del cáncer renal (CR) y su desarrollo contribuye al fenotipo metastásico. Los inhibidores de angiogénesis representan un enfoque terapéutico eficaz; sin embargo, algunos CR desarrollan resistencia evasiva. Los microRNAs (miRNAs) regulan la expresión de genes implicados en distintos procesos celulares, entre ellos los relacionados con angiogénesis. Así, la alteración de los niveles de miRNAs en las células cancerosas, secretadas al medio extracelular en el interior de exosomas, podría favorecer el desarrollo de mecanismos de resistencia a la terapia. Este trabajo pretende analizar los miRNAs en exosomas circulantes de pacientes con CR de células claras avanzado, antes del tratamiento estándar con inhibidores tirosina-cinasa y tras 4 semanas de su inicio, con el objetivo de identificar miRNAs relacionados con la evolución clínica y los mecanismos de resistencia.

Métodos: El aislamiento de exosomas y extracción del RNA se realizó mediante el kit exoRNeasy Serum/Plasma Maxi (Qiagen) a partir de 1.5 ml de plasma. La integridad del RNA se analizó en el equipo Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies). El análisis de expresión de miRNAs se realizó en la plataforma Affymetrix con microarrays GeneChip miRNA 4.0. Los datos se analizaron con el software Expression Console y los programas Transcriptome Analysis Console y Partek Genomics Suite, aplicando el análisis de componentes principales (PCA), test ANOVA pareado y agrupamiento jerárquico (HC) para comparación de categorías.

Resultados: El análisis interino de muestras del pre- y post-tratamiento de 8 pacientes, pertenecientes a un estudio multicéntrico en fase de reclutamiento, identificó un perfil de 53 miRNAs cuya expresión se modificó tras la administración de la terapia ($p < 0,05$). Los miRNAs con mayor variación en sus niveles de expresión fueron el miR-574-5p (FC=5.34) y miR-297 (FC=4.14), cuyos genes diana publicados se asocian a progresión tumoral, metástasis y resistencia a la terapia.

Conclusiones: Los resultados preliminares muestran un perfil de 53 miRNAs cuya expresión podría variar en función de la evolución clínica. El análisis de miRNAs se ampliará a 16 pacientes y los resultados se validarán con métodos de PCR en un total de 46, contrastándolos con los datos clínicos cuando finalicen los periodos de reclutamiento y seguimiento.

PC-334 Implicación en el desarrollo de eventos trombóticos de los anticuerpos anti-β2-glicoproteína dominio I en el síndrome antifosfolípido

Marco A. (1), Marco P. (1), Cabrera V. (1), González V. (2), Pérez S. (2)

(1) Hospital General Universitario de Alicante. Alicante. (2) Grupo Werfen. Barcelona

Introducción: El síndrome antifosfolípido (SAF) se caracteriza por la presencia de trombosis, complicaciones obstétricas y al menos positividad de 1 de los siguientes anticuerpos antifosfolípidos (AAF): anticardiolipina, β2-glicoproteína y anticoagulante lúpico. La triple positividad de los AAF se asocia a mayor riesgo trombótico. Sin embargo, un porcentaje importante de pacientes con anticuerpos positivos no desarrollan trombosis. Los anticuerpos contra β2-glicoproteína IgG dominio I (antiβ2GPIgG dominio I) son prevalentes en SAF y su asociación a trombosis es controvertida. Sin embargo, no se realizan de rutina en el laboratorio clínico y no están incluidos en los criterios de Sydney.

Objetivo: Evaluar el impacto clínico de antiβ2GPIgG dominio I en SAF.

Material y métodos: Se han incluido 82 pacientes con anticuerpos positivos anti-β2-glicoproteína IgG. El 12% se encontraban asintomáticos (n=10), el 22% tenían una enfermedad autoinmune (n=18), y el 66% presentaban SAF (n=54). Los AAF se procesaron en un analizador totalmente automatizado quimoluminiscente (ACL AcuStar IL). Para el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS V20 y un valor de $p < 0,05$ se consideró estadísticamente significativo.

Resultados: Los antiβ2GPIgG dominio I fueron positivos en el 70% de los SAF, en 28% de los pacientes con enfermedades autoinmunes y en el 30% de los sujetos asintomáticos. La sensibilidad de trombosis fue del 71% y la especificidad del 70%. El valor predictivo positivo (VPP) fue del 55% mientras que el valor predictivo negativo (VPN) del 83%. Los anticuerpos anticardiolipina IgG resultaron positivos en el 78% de los SAF, en 55% de los pacientes con enfermedades autoinmunes y en el 40% de los asintomáticos. La sensibilidad de trombosis fue del 78% y la especificidad del 50%. El VPP fue del 75% y el VPN del 54%. Cuarenta pacientes presentaron positividad para antiβ2GPIgG dominio I y anticuerpos anticardiolipina, el 82% de ellos con SAF.

Conclusiones: Los antiβ2GPIgG dominio I fueron más prevalentes en pacientes con trombosis. Un valor negativo de antiβ2GPIgG dominio I se consideró un marcador de bajo riesgo de trombosis. Asimismo, los pacientes con positividad para los 3 tipos de AAF presentaban un alto riesgo trombótico. Sin embargo, se necesitan estudios multicéntricos para obtener resultados clínicos relevantes.

PC-335 Análisis de la respuesta al tratamiento en PTI dependiendo de la especificidad de los anticuerpos antiplaquetares

Figueroa Mora R., Martínez-Calle N., Villar S., Franco S., Alfonso A., Lecumberri R., Páramo J.A.

Clínica Universidad de Navarra. Pamplona

Introducción: La trombocitopenia inmune (PTI) se produce por la destrucción plaquetar mediada por anticuerpos. Estudios recientes demuestran un nuevo mecanismo por el que el anticuerpo antiplaquetario GP Ib/IX destruye las plaquetas de forma independiente a la opsonización y fagocitosis, por lo que los pacientes con PTI que presentan estos anticuerpos podrían tener una peor tasa de respuesta terapéutica. El objetivo de este trabajo es evaluar si la positividad específica para anti GP Ib/IX, anti GP IIb/IIIa o anti GP Ia/IIa tiene relación con la evolución clínica de los pacientes con esta entidad.

Material y métodos: Hemos realizado un estudio retrospectivo y observacional, en el que se han incluido un total de 92 pacientes con diagnóstico de PTI y positividad para anticuerpos antiplaquetarios, tratados con corticoides +/- inmunoglobulinas en el primer brote, durante los años 2005-2014. Se excluyeron pacientes que habían recibido otro tipo de tratamiento (Rituximab, esplenectomía, etc.). La determinación de los diferentes anticuerpos se realizó mediante ELISA con el kit PakAuto (Immucor®, EEUU). Se determinó respuesta, respuesta completa (RC), recaída y corticodependencia siguiendo los criterios de las guías de la Sociedad Americana de Hematología.

Resultados: De los 92 pacientes incluidos, 34% eran hombres, con mediana de edad de 48 años (rango: 9-87). El 100% recibió corticoides y el 34% recibió además inmunoglobulinas. La tasa de respuesta global fue del 45%, de las que un 42% fueron RC. Se objetivaron un 59% de recaídas, de las que 47% ocurrieron tras alcanzar RC. Las mujeres obtuvieron mayor tasa significativa de RC que los hombres (56% vs 7%) ($p=0,001$). El 80% de los pacientes presentaron positividad para los tres anticuerpos testados. En nuestra serie no se observó correlación entre la positividad para el anticuerpo GP Ib/IX y el tipo de respuesta o la recaída, si bien tener mayor título de anticuerpos GP Ib/IX sobre el resto de anticuerpos antiplaquetarios se asoció a una menor tasa de RC comparado con pacientes en los que no existe esta predominancia (28% vs 72%) ($p=0,03$). Finalmente, en pacientes corticodependientes predominó un mayor título de anticuerpos anti GP IIb/IIIa ($p=0,03$).

Conclusiones: Aunque en nuestra experiencia no observamos asociación entre la positividad de anti GP Ib/IX y la respuesta, la corticodependencia y las recaídas en PTI, la predominancia de este anticuerpo sobre los demás parece relacionarse con peor tasa de RC, mientras que el título de anti GPIIb/IIIa podría asociarse a mayor posibilidad de corticodependencia.

PC-336 Estudio de la eficacia del método de enriquecimiento de células plasmáticas tumorales en muestras de mieloma múltiple: RosetteSep™ (Stemcell Technologies)

Doria S., Ibáñez M., Villamón E., Such E., Baldominos P., DeMatteo B., Cordon L., Andreu R., Sempere A., de la Rubia J., Sanz M.Á., Cervera J.

Servicio de Hematología. Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia

Introducción: El estudio citogenético mediante FISH es la metodología estándar para el diagnóstico del mieloma múltiple (MM). Para ello, es necesario partir de número adecuado de células plasmáticas en la muestra de médula ósea. Cuando el porcentaje de células plasmáticas es < 60% es necesario llevar a cabo una selección celular mediante anticuerpos monoclonales ya sea por selección positiva (anti-CD138) o depleción.

Objetivo: Determinar si el método RosetteSep™ (Stemcell Technologies) es adecuado para realizar un diagnóstico correcto de MM mediante el análisis de los pacientes diagnosticados en laboratorio de citogenética del Hospital La Fe en el último año (abril 2014 - abril 2015).

Métodos: El estudio se realizó en 94 muestras con una infiltración de células plasmáticas en MO determinado por citometría de flujo (CF) > 2%. A los pacientes se les realizó un panel de FISH para determinar alteraciones en: *IGH@*, *TP53* y *1q*; en los casos en los que *IGH@* fue positivo, se evaluaron por FISH los reordenamientos: t(4;14), t(14;16) y t(11;14).

El método RosetteSep™ se basa en la combinación de anticuerpos capaces de reconocer antígenos de las células no tumorales presentes en la muestra que al interactuar forman complejos tetraméricos ("rosettes") que precipitan al centrifugar la muestra, quedando las células plasmáticas en la interfase entre el plasma y el Ficoll- Paque™ PLUS. La eficacia del método se determinó mediante varios parámetros: porcentaje de células CD138+ cuantificadas mediante CF, número de FISH realizadas, resultado de FISH (valorable/no valorable).

Resultados: La media de células plasmáticas fue de 47,1% (rango: 3,7 - 97,1). De todas las pruebas FISH que se realizaron, el 92% fueron valorables. Las muestras valorables presentaron un 47% de riqueza media frente al 21% que presentaron las no valorables. El 28% de los pacientes fueron IgH+, el 10% *TP53*+ y el 45% mostraron una alteración en *1q*. En 13 de los casos en los que IgH fue positiva se realizaron los análisis complementarios que determinan el tipo de reordenamiento. El 100% de estas determinaciones fueron valorables. Once de ellas fueron estudiadas para los reordenamientos t(14;16) y t(4;14), resultando 8 negativas para ambos reordenamientos, 1 positiva para t(14;16) y 2 positivas para t(4;14). En 2 muestras se analizó el panel de reordenamientos completo, resultado negativos en ambos casos.

Conclusión: El procedimiento de selección de células plasmáticas RosetteSep™ es una estrategia adecuada para la obtención de material biológico necesario para el diagnóstico citogenético completo de los pacientes con mieloma múltiple.

Estudio financiado por Fundación Española de Hematología (FEHH); Red Temática de Investigación Cooperativa en Cáncer (RD12/0036/0014); Instituto de Salud Carlos III PI12/01047, PI12/01087, PI13/01640, PT13/0010/0026 y PIE13/00046.

PC-337 Estudio comparativo del nuevo sistema point of care Xprecia Xtride™ (Siemens®) para la obtención de INR en comparación con muestras venosas

Molina Arrebola M.A. (1), Pérez Moyano R. (1), García Martín P. (2), Giménez López M.J. (1), Sánchez Crespo A. (1), Cano Ventaja J.M. (1), Herrera Ruiz M.M. (1), Avivar Oyonarte C. (1)

(1) APES Hospital de Poniente. El Ejido, Almería. (2) APES Hospital de Poniente-HAR Guadix. Almería - Granada

Introducción: Los tests "point of care" (POC) (resultados en la cabecera del paciente) tienen como objetivo proporcionar resultados más rápidos que los obtenidos en los analizadores del laboratorio hospitalario, sin comprometer su calidad y seguridad. En el ámbito de la coagulación, estos sistemas son de gran utilidad en la obtención del test INR para el control de la terapia con anticoagulantes orales tipo antivitaminas K (AVK). Con la transmisión de estos resultados vía web, se facilita la descentralización del control en los Centros de Salud, permitiendo realizar la validación y dosificación desde el hospital. El Xprecia Xtride™ de Siemens® es un nuevo sistema POC, con un diseño ergonómico, de pantalla táctil y software intuitivo que, tras realizar una calibración automática y dos chequeos de control de calidad en cada tira reactiva, proporciona el resultado de INR al analizar una muestra de 6 µl de sangre capilar, reportando datos de entre 0,8 y 8. Utiliza como reactivo Innovin® con ISI 1. En general, es aceptado que INR superiores a 5 suponen menor linealidad y precisión, tanto en sistemas POC como en los sistemas de laboratorio.

Material y métodos: Se trata de comparar los resultados de INR de pacientes anticoagulados con AVK, en muestra venosa en tubo de citrato analizada en el sistema BCS® XP de Siemens® utilizando como reactivo Thromborel® S ISI 1,09 y en muestra capilar analizada con el sistema Xprecia Xtride™ de Siemens®. Los resultados han sido comparados con el paquete estadístico SPSS 20.0 y el método de regresión Passing-Bablok, método de estimación no paramétrico, robusto a los valores extremos o aberrantes basado en el principio de los rangos u ordenamientos, que también toma en cuenta los errores aleatorios de ambos métodos.

Resultados: Se han comparado las muestras de 145 pacientes obteniendo un coeficiente de correlación global de 0,8695, Intervalo de Confianza (IC) 95% 0,8231-0,9043. Según el método de Passing-Bablok se obtiene la ecuación de regresión $y=0,521+0,71x$ (y =venoso, x =Xprecia) y se comprueba que no existen diferencias de tipo constante (intercepto $A=0,521$) IC 95% 0,376-0,660 ni proporcional (pendiente $B=0,71$) IC 95% 0,650-0,780, no encontrándose diferencias significativas respec-

to a la desviación de la linealidad entre ambos métodos y para todas las muestras (p=0.08). Si se comparan sólo las muestras con INR inferior a 4 (n=111), la ecuación de regresión sería $y=0,18+0,9x$ igualmente sin diferencias significativas de linealidad (p=0,44).

Conclusiones: El nuevo sistema *point of care* Xprecia Xtride™ de Siemens® ofrece resultados de INR comparables con los obtenidos en el analizador de laboratorio BCS® XP. Se trata de un instrumento ergonómico, de fácil transporte y uso que requiere una mínima cantidad de muestra. Ello permite mejorar la accesibilidad del paciente al control del tratamiento con AVK mediante la descentralización en Atención Primaria con un sistema de calidad, evitando desplazamientos al hospital y permitiendo la gestión y control centralizado. Ofrece, en definitiva, una alternativa válida que proporciona una mejora continua de la calidad asistencial al paciente.

PC-338 dRVVT y Silica clotting time en el ACL TOP 700

Ruiz M. (1), Bustins A. (2), Serrando M. (1), Tejerina P. (1), Pérez D. (1), Sagüés M. (2), García J. (3), Queralt X. (1)

(1) Hospital Dr. Josep Trueta. Girona. (2) Institut Català d'Oncologia. (3) Werfen Group

Introducción: La determinación del anticoagulante lúpico (AL) es de difícil estandarización, debido entre otras razones, a la heterogeneidad de anticuerpos y a la variación entre los diferentes reactivos comerciales. El test dRVVT (Tiempo de veneno de víbora Rusell diluido) se considera el *gold standard* en las recomendaciones de la ISTH 2009 para la detección del AL. No

obstante, el test de Silica clotting time (SCT) ha mostrado un buen diagnóstico en conjunto con el dRVVT en los tests de *screening* y confirmación.

Objetivos: El objetivo del presente estudio es comparar los reactivos de dRVVT y el SCT (Werfen) para el análisis del AL de los pacientes atendidos en nuestro hospital y en nuestro ámbito de atención primaria.

Material y métodos: Se analizaron 66 muestras de pacientes con patología trombótica, abortos de repetición y/o pacientes con tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPA) con valores superiores a 39 segundos y test de mezcla positivo (anticoagulante circulante).

Todas las muestras seleccionadas se procesaron mediante los reactivos de dRVVT y SCT en los tests de *screening* y confirmación (concentración baja y elevada de fosfolípidos respectivamente). La conversión de los segundos de los tests de *screening* y de confirmación a ratios se usó un pool de plasma de un grupo control de la población atendida en nuestro laboratorio. Los pacientes con resultados de ratio (TR) > 1.20 fueron interpretados como AL positivo.

Resultados: 60 muestras (91%) de las muestras mostraron concordancia entre los dos tests: 57 muestras fueron negativas (86.4%) y 3 fueron positivas (4.6%) en los dos tests. 6 muestras (9%) fueron positivas sólo para el test de dRVVT y negativas para el test SCT (Tabla 1).

Conclusión: Todas las muestras discordantes muestran valores bajos de TR cercanos a nuestro *cut-off*. Todas las muestras con resultados positivos para los dos tests muestras TR más elevados que las muestras discordantes. Debido a esto, podría ser de utilidad seleccionar un TR mayor en el test de dRVVT para evitar posibles falsos positivos en la detección del anticuerpo lúpico. No obstante, son necesarios más datos para confirmar estos resultados preliminares.

Tabla 1. Resultados de muestras para el test de dRVVT y SCT *screening* y confirmación

| dRVVT S Ratio | dRVVT C Ratio | dRVVT TR | SCT S Ratio | SCT C Ratio | SCT TR | Resultado |
|---------------|---------------|----------|-------------|-------------|--------|-----------|
| 1.91 | 1.14 | 1.68 | 2.07 | 1.14 | 1.82 | P/P |
| 1.51 | 1.09 | 1.38 | 2.57 | 1.10 | 2.33 | P/P |
| 1.45 | 1.07 | 1.36 | 1.20 | 1.22 | 0.98 | P/N |
| 1.72 | 1.01 | 1.69 | 1.87 | 0.97 | 1.93 | P/P |
| 1.25 | 1.04 | 1.30 | 1.06 | 1.15 | 0.93 | P/N |
| 1,24 | 1,02 | 1,22 | 0,89 | 1,00 | 0,89 | P/N |
| 1,6 | 1,08 | 1,48 | 1,02 | 1,09 | 0,94 | P/N |
| 1,31 | 1,05 | 1,26 | 1,01 | 1,24 | 0,81 | P/N |
| 1,32 | 1,03 | 1,28 | 1,05 | 1,16 | 0,90 | P/N |

dRVVT S: dRVVT screening; dRVVT C: dRVVT confirm; dRVVT TR: dRVVT Time ratio; SCT S: Silica clotting time screening; SCT C: Silica clotting time confirm; SCT TR: Silica clotting time Time Ratio; P: positivo; N: negativo.

Plaquetas / biología vascular

PC-339 La acetilación de STAT3 regulada por sirtuinas es clave para la agregación plaquetaria mediada por el receptor GPVI

Moscardó A. (1), Latorre Campos A.M. (1), Santos M.T. (2), Vallés J. (2)

(1) Instituto de Investigaciones Sanitarias La Fe. Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia. (2) Instituto de Investigaciones Sanitarias La Fe. Hospital La Fe. Valencia

Introducción: Recientemente se ha descrito que el factor de transcripción STAT3 participa en el proceso de transmisión de señales asociado a GPVI, receptor clave en la agregación plaquetaria inducida por colágeno, por mecanismos no relacionados con su función como factor de transcripción (1). La acetilación de proteínas regulada por sirtuinas participa en la regulación de la función plaquetaria con varios agonistas, incluyendo el colágeno (2). En otros tipos celulares se ha descrito que la acetilación de STAT3 regula su actividad, aunque no se ha estudiado en plaquetas.

Objetivos: Investigar la posible implicación de la acetilación de STAT3 en la transmisión de señales inducida por GPVI.

Métodos: Empleamos plaquetas humanas lavadas. Como agonistas usamos trombina, colágeno y CRP (*collagen related peptide*), específico para el receptor GPVI. Para estudiar el papel de la acetilación de STAT3 en la función plaquetaria empleamos resveratrol, un activador específico de sirtuinas. Registramos la agregometría óptica. La acetilación de STAT se detecta mediante el empleo de anticuerpos específicos contra la forma acetilada de STAT3 (*Cell Signaling*).

Resultados: En plaquetas en reposo STAT3 se encuentra parcialmente acetilada. El estudio cinético muestra que tras la activación con colágeno (1 µg/ml) o CRP (40 µg/ml) se produce una rápida acetilación de STAT3 a los 30 seg tras la activación, que se revierte a tiempos más largos (3-5 min). Esta acetilación no se produce cuando las plaquetas se estimulan con trombina (0.1 U/ml), sugiriendo que es específica del receptor GPVI. La activación de sirtuinas con resveratrol (25 µg/ml) impide la acetilación de STAT3 inducida por CRP o colágeno, lo que se correlaciona con un bloqueo completo de la agregación inducida con CRP y colágeno.

Conclusiones: Describimos por primera vez cómo la acetilación de STAT3 regulada por sirtuinas es clave en los mecanismos de transmisión de señales inducidos por colágeno a través del receptor GPVI. Estos resultados son especialmente interesantes teniendo en cuenta que se ha descrito que en plaquetas la función de STAT3 puede estar regulada por mediadores inflamatorios como IL6 (1) y la trombopoietina. Nuestros resultados abren nuevas vías

de investigación en la regulación de la función plaquetaria a través del control de la acetilación de proteínas.

Becas. FIS13/00016. Beca de la FETH. Becario de la FETH. Red Cardiovascular [RD12/0042/0003]. Sociedad Valenciana de Cardiología.

Bibliografía

1. Zhou Z Circulation 2013;127(4):476-85.
2. Moscardó A J Thromb Haemost 2015, in press.

PC-340 Funcionalismo plaquetario en pacientes con obesidad mórbida; experiencia de nuestro centro

Ruano León J.A. (1), Peri Valeria L. (1), Ceballos Esparragón J.J. (2), Negrín López M. (1)

(1) Servicio de Hematología y Hemoterapia. Complejo Hospitalario Universitario Insular Materno Infantil. Las Palmas de Gran Canaria. (2) Servicio de Cirugía General. Hospital Vithas Santa Catalina. Las Palmas de Gran Canaria

Introducción: La obesidad mórbida es un importante factor de riesgo para la aparición de eventos arteriales mayores, con una elevada prevalencia en nuestra comunidad autónoma (14,21% en varones, 22,22% en mujeres), y tendencia al alza. Entre los defectos observados, se han identificado fenómenos de hiperreactividad plaquetaria y aumento del riesgo trombótico: aumento del VPM y del plaquetocrito, aumento de la excreción de 11-dehidrotromboxano B₂ o de la concentración plasmática de P-selectina, sCD40L o micropartículas derivadas de las plaquetas, etc.

Material y métodos: Con el objeto de estudiar el funcionalismo plaquetario en pacientes obesos de nuestro medio, se estudian 60 pacientes con IMC >44,9 que van a ser sometidos a cirugía bariátrica, comparándose con una población normal.

En ambos grupos se extrajo una muestra anticoagulada con Hirudina, para determinar la función plaquetaria mediante agregometría por impedancia (*Multiplate Platelet Function Analyzer*, *Dynabite Medical*, Munich, Alemania). Se determinaron el AUC de los siguientes parámetros: TRAP test, ADP test, ADP-HS, ASPI test, COL test, RISTO High y RISTO Low. De cada parámetro se calculó la mediana, el rango y los percentiles 5 y 95.

Resultados: Los resultados observan en la **Tabla 1**.

Conclusiones: Hemos observado unos resultados compatibles con mayor agregabilidad plaquetaria en los pacientes obesos sobre los controles, aunque las diferencias sólo fueron estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$) para los resultados de ADP-HS y COL test.

Estos resultados son compatibles con el mayor riesgo trombótico de pacientes con obesidad mórbida, por lo que aconsejamos extremar las medidas antitrombóticas en el perioperatorio de este grupo de pacientes, así como evitar aquellas medidas encaminadas a disminuir el riesgo hemorrágico de forma indiscriminada.

Multiplate® puede ser un instrumento muy útil para determinar el riesgo trombótico y hemorrágico de pacientes con obesidad mórbida que van a ser sometidos a cirugía bariátrica.

| Tabla 1. | | | | |
|------------|---------|----------|------------------|---------------|
| | | Donantes | Pacientes OBESOS | p |
| | N | 87 | 60 | |
| TRAP test | Mediana | 108,0 | 117,0 | N/S |
| | Rango | 87,0 | 61,0 | SIGNIFICATIVA |
| | P95 | 137,4 | 141,0 | N/S |
| | P5 | 78,3 | 90,2 | N/S |
| ADP test | Mediana | 75,0 | 90,0 | N/S |
| | Rango | 109,0 | 142,0 | SIGNIFICATIVA |
| | P95 | 102,0 | 131,6 | SIGNIFICATIVA |
| | P5 | 41,6 | 45,4 | N/S |
| ADP-HS | Mediana | 60,0 | 92,0 | SIGNIFICATIVA |
| | Rango | 79,0 | 69,0 | N/S |
| | P95 | 97,5 | 112,0 | SIGNIFICATIVA |
| | P5 | 33,8 | 53,8 | N/S |
| ASPI test | Mediana | 92,0 | 99,0 | N/S |
| | Rango | 135,0 | 73,0 | SIGNIFICATIVA |
| | P95 | 124,5 | 122,4 | N/S |
| | P5 | 60,9 | 77,0 | N/S |
| COL test | Mediana | 91,0 | 102,0 | SIGNIFICATIVA |
| | Rango | 116,0 | 120,0 | N/S |
| | P95 | 121,1 | 128,6 | N/S |
| | P5 | 58,5 | 67,0 | N/S |
| RISTO high | Mediana | 128,0 | 152,5 | N/S |
| | Rango | 151,0 | 187,0 | N/S |
| | P95 | 187,3 | 219,9 | N/S |
| | P5 | 77,5 | 54,7 | SIGNIFICATIVA |
| RISTO low | Mediana | 4,0 | 6,0 | N/S |
| | Rango | 18,0 | 21,0 | N/S |
| | P95 | 14,8 | 11,9 | N/S |
| | P5 | 0,0 | 1,0 | N/S |

PC-341 Enfermedad de Gaucher. Desarrollo de crisis óseas de localización atípica en pacientes con tratamiento enzimático sustitutivo prolongado

Andrade Campos M. (1), Sancho Val I. (2), García I. (3), Roca M. (4), Giraldo P. (5)

(1) UIT-HUMS. IIS-A. CIBERER. Hematología. Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza. (2) Hematología. Hospital de Alcañiz. Teruel. (3) Hospital Infantil. Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza. (4) Centro Diagnóstico Roca. International Skeletal Society. Zaragoza. (5) Unidad de Investigación Traslacional. IIS-A. CIBERER, IACS, ISCIII. Zaragoza

Introducción: La fisiopatología de la afectación esquelética de la enfermedad de Gaucher (EG) es parcialmente conocida, producida en parte por el almacenamiento directo del sustrato no degradado, el estado de inflamación crónica y otras alteraciones complejas del cartílago y el metabolismo óseo. El efecto del tratamiento enzimático sustitutivo (TES), a largo plazo sobre las manifestaciones esqueléticas de la enfermedad no está bien establecido y los resultados dependen de la carga de enfermedad y de la adherencia al mismo. Aproximadamente el 30% de los pacientes pediátricos con EG presentan manifestaciones clínicas esqueléticas previo al TES. Desde la disponibilidad del TES, los pacientes en tratamiento desde los primeros años de vida experimentan una menor incidencia de complicaciones esqueléticas, alrededor de ~2,5% en niños sin antecedentes de crisis óseas (Anderson et al 2008).

Casos clínicos: El Registro Español de EG, agrupa datos de 376 pacientes, de ellos 53 pacientes tipo 1 y 3 fueron diagnosticados con <18 años, 41 no presentaban antecedentes de crisis óseas previas al inicio del TES; edad media inicio de TES 8,5 años (0,5-18), media de años en TES 13,2. Presentamos en este trabajo 3 casos, en los que se inició TES a los 1,5, 3 y 4 años respectivamente y tras más de 10 años de tratamiento continuado desarrollaron episodios de crisis óseas en los pequeños huesos del pie y que se resolvieron al incrementar la dosis.

- **Caso clínico 1:** varón, diagnóstico de EG genotipo [R463C]+[G377S] a los 18 meses por esplenomegalia, anemia y trombocitopenia, recibió TES a dosis de 60 U/kg IV de forma continuada cada 2 semanas. A los 3 años estrabismo, oftalmoplegia, incoordinación de movimientos y contracturas musculares siendo reclasificado como de tipo 3. Tras 10 años de tratamiento continuado con Imiglucerasa episodio de dolor agudo en pie derecho con evidencia en RM de crisis ósea en astrágalo y calcáneo.
- **Caso clínico 2:** fémina diagnosticada de EG genotipo [N370S]+[84GG] a los 4 años por esplenomegalia, trombocitopenia y epistaxis. Recibió TES a dosis de 60 U/kg cada dos semanas IV, tras 12 infusiones reacción inmunoalérgica durante y 24h postinfusión identificando anticuerpos IgG anti-imiglucerasa, precisando premedicación en cada infusión. En 2008, con 13 años se modifica TES a Velaglucerasa alfa a igual dosis, tratamiento que recibe sin presentar efectos adversos ni precisar premedicación. A los 18 años y manteniendo TES continuado: episodio de dolor agudo en pie derecho comprobando por RM la presencia de crisis ósea en calcáneo con fenómenos hemorrágico-isquémicos.
- **Caso clínico 3:** varón, diagnosticado a los 3 años de EG genotipo [N370S]+[R130W] por esplenomegalia. Recibió TES a dosis de 60 U/kg con Imiglucerasa hasta 2009 que por desabastecimiento pasa a Velaglucerasa alfa a misma dosis. A los 13 años episodio de dolor en pie dcho, por RM se identifican focos hiperintensos correspondientes a pequeñas crisis óseas en tarso.

Discusión: En general las complicaciones óseas de la EG son más frecuentes en epífisis de huesos largos y cuerpos vertebrales, su aparición en pequeños huesos distales es infrecuente y puede estar en relación con la intensidad de actividad física al tratarse de zonas de carga.

PC-342 Eltrombopag, una herramienta útil para los procesos invasivos en pacientes con PTIc

Yébenes Ramírez M., Martínez Losada C., Arqueros Martínez V., Velasco Gimena F.

UGC Hematología. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba

Introducción: Eltrombopag es uno de los agonistas del receptor de la trombopoyetina (ATPO) que induce la proliferación y diferenciación de los megacariocitos. Su uso terapéutico está indicado en adultos con trombocitopenia inmune primaria (PTI) que han tenido una respuesta inadecuada o intolerancia al tratamiento con corticoides e inmunoglobulinas, no siendo candidatos a esplenectomía, y en pacientes afectados de hepatitis C crónica subsidiarios a tratamiento con interferón. Desde agosto 2014 ha sido aprobado su uso por parte de la FDA para tratamiento de la anemia aplásica en pacientes con fracaso a tratamiento inmunosupresor.

Objetivo: Analizar el uso de eltrombopag en pacientes afectados de PTIc o trombopenia secundaria a otras patologías.

Pacientes y métodos: Estudio retrospectivo de 15 pacientes tratados con eltrombopag por trombopenia en nuestro centro desde julio 1013 a mayo 2015. Realizamos tres grupos de pacientes: I). PTIc en el que eltrombopag se usó tras fracaso de tratamiento con

corticoides e inmunoglobulinas (2 pacientes). II). PTIc que no precisaba tratamiento específico, en el que eltrombopag se usó de forma autolimitada en el tiempo para aumentar la cifra de plaquetas en pacientes que van a ser sometidos a cirugía o procedimientos invasivos (1 esplenectomía, 1 timpanoplastia, 1 cateterismo, 1 cataratas, 1 meningioma, 1 hemorragia vítrea). III). Trombopenia secundaria a otras patologías (3 aplasia, 1 VHC, 3 SMD). Las características de los pacientes se resumen en la [Tabla 1](#).

En todos los pacientes la dosis inicial fue de 50 mg/24 horas. En el análisis de respuesta se tuvieron en cuenta los criterios del documento de consenso de la Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia.

Resultados: En los grupos I y II todos los pacientes respondieron al tratamiento con eltrombopag, mientras que en el grupo III hubo 2 pacientes que no respondieron (1 SMD, 1 aplasia). La mediana de respuesta en cada grupo fue 17 días (6-28 días) vs 14 días (7-20 días) vs 16 días (13-23 días).

Ninguno de los pacientes de los tres grupos tuvo evento adverso secundario al fármaco.

En grupo I, los dos pacientes se encuentran actualmente con eltrombopag, uno de ellos a la misma dosis inicial mientras que en el otro se consiguió reducir la dosis a 25 mg/72 horas (mediana de seguimiento: 133.5, rango: 70-197 días). En grupo II, se alcanzó un número de plaquetas adecuado para la intervención (superior

Tabla 1.

| Paciente | Sexo | Edad | Diagnóstico | Data Diagnóstico | Dosis máx (mg) | Plaquetas Iniciales (mm) | Plaquetas respuesta (mm) | Grado respuesta | Inicio respuesta (días) | Cirugía |
|-------------|--------|------|-------------|------------------|----------------|--------------------------|--------------------------|-----------------|-------------------------|-------------------|
| paciente 1 | mujer | 58 | PTI | 01-10-14 | 50 | 9.000 | 35.000 | R | 28 | |
| paciente 2 | mujer | 58 | PTI | 23-06-14 | 50 | 19.000 | 106.000 | RC | 6 | |
| paciente 3 | mujer | 51 | PTI | 05-10-08 | 50 | 5.000 | 81.000 | R | 14 | Esplenectomía |
| paciente 4 | mujer | 75 | PTI | 01-06-14 | 50 | 22.000 | 83.000 | R | 17 | Timpanoplastia |
| paciente 5 | mujer | 75 | PTI | 12-01-15 | 50 | 46.000 | 125.000 | RC | 12 | Hemorragia Vítrea |
| paciente 6 | hombre | 58 | PTI | 10-10-12 | 50 | 50.000 | 135.000 | RC | 20 | Cataratas |
| paciente 7 | mujer | 55 | PTI | 10-10-07 | 50 | 66.000 | 220.000 | RC | 14 | Meningioma |
| paciente 8 | hombre | 60 | PTI | 26-05-10 | 50 | 37.000 | 88.000 | R | 7 | Cateterismo |
| paciente 9 | mujer | 48 | Aplasia | 05-12-13 | 75 | 8.000 | 52.000 | R | 23 | |
| paciente 10 | mujer | 62 | Aplasia | 01-02-14 | 50 | 3.000 | 37.000 | R | 16 | |
| paciente 11 | mujer | 68 | Aplasia | 07-05-15 | 75 | 6.000 | 7.000 | NR | - | |
| paciente 12 | hombre | 60 | SMD | 03-02-14 | 50 | 9.000 | 35.000 | R | 13 | |
| paciente 13 | hombre | 29 | SMD | 01-06-12 | 50 | 7.000 | 54.000 | R | 22 | |
| paciente 14 | mujer | 49 | SMD | 01-10-14 | 75 | 1.000 | 27.000 | NR | - | |
| paciente 15 | hombre | 36 | VHC | 01-09-06 | 50 | 6.000 | 173.000 | RC | 16 | |

NR: no respuesta (plaquetas < 30.000 mm³); R: respuesta (plaquetas > 30.000 mm³); RC: respuesta completa (plaquetas > 100.000 mm³).

a 80.000/mm³) sin presentar complicaciones hemorrágicas y por tanto permitiendo la retirada del fármaco tras la cirugía. En grupo III, dos pacientes se encuentran actualmente con el fármaco, manteniendo la misma dosis inicial (mediana de seguimiento: 228 días, rango: 38-419 días) y tres lo suspendieron, dos tras realización de trasplante alogénico y uno por pérdida de respuesta tras dos meses (VHC).

Conclusiones: Eltrombopag es un fármaco eficaz y seguro en la PTIC, con una alta tasa de respuesta. Los pacientes con PTIC se pueden beneficiar del tratamiento con eltrombopag en caso de precisar elevación del número de plaquetas de forma rápida y auto-limitada en el tiempo para la realización de algún evento quirúrgico o intervención invasiva.

PC-343 Romiplostim en el tratamiento de la trombocitopenia inmune paraneoplásica asociada a glioblastoma

Rodríguez-Lobato L.G., Martínez-Cibrian N., Fernández-Avilés F., Gaya A., Esteve J.

Servicio de Hematología. Instituto Clínico de Enfermedades Hematológicas y Oncológicas. Hospital Clínico. Barcelona

Introducción: La trombocitopenia es una complicación frecuente en pacientes oncológicos que varía desde 5 hasta 100%. Entre las posibles causas se encuentran: el efecto directo tumoral, la toxicidad del tratamiento, microangiopatía y alteraciones inmunes. La relación entre trombocitopenia inmune (PTI) y enfermedades linfoproliferativas es una asociación conocida, sin embargo la asociación entre PTI y tumores sólidos (principalmente mama y pulmón) es infrecuente (menos de 100 casos reportados). El tratamiento de la PTI paraneoplásica asociada a tumores sólidos se basa en el uso de glucocorticoides, gammaglobulinas, esplenectomía y el tratamiento oncoespecífico dependiendo la neoplasia responsable.

Romiplostim es un agonista del receptor de trompoetina de segunda generación, aprobado para el uso de PTI crónica refractaria a otras terapias, aunque actualmente se encuentra en investigación para su uso en otras patologías.

Objetivo: El objetivo del presente trabajo es describir el uso de romiplostim en el manejo de la PTI paraneoplásica en un paciente con glioblastoma.

Caso clínico: Varón de 59 años de edad valorado en el servicio de urgencias por afasia motora y hemiparesia derecha. La analítica no demostró alteraciones. La resonancia magnética (RM) cerebral objetivó una lesión cerebral consistente con glioma de alto grado o metástasis (Figura 1). Se inició tratamiento con dexametasona y levetiracetam. En la analítica preoperatoria a la biopsia cerebral se detectó una trombocitopenia grave, decidiéndose suspender el procedimiento. El aspirado de médula ósea orientó a destrucción periférica. Se descartaron causas infecciosas, autoinmunes y farmacológicas. No hubo respuesta a glucocorticoides ni gammaglobulinas, requiriendo soporte

transfusional plaquetario intensivo para realizar el procedimiento, llegando al diagnóstico de glioblastoma. Recibió radioterapia holocraneal, pero no fue posible administrar temozolomida por persistir con trombocitopenia grave asociado a episodios de hemorragia intracerebral. Se decide iniciar romiplostim logrando por primera vez una respuesta hematológica completa (RHC), permitiendo la administración de temozolomida. Fue posible suspender romiplostim después de 10 semanas de tratamiento al mantener recuentos plaquetarios superiores a 250 x 10⁹/l. La RHC se mantuvo por 17 meses y la respuesta oncológica por 9 meses, hasta que presentó recurrencia del glioblastoma asociado a trombocitopenia grave y hemorragia intracerebral. Se reinició romiplostim alcanzando nuevamente una RHC, desafortunadamente el tratamiento oncológico activo fue desestimado. Actualmente se encuentra en cuidados paliativos. En la Figura 2 se observa el recuento plaquetario durante la evolución. En la Figura 1 las RM cerebrales durante la evolución.

Conclusiones: Este caso resalta el posible nuevo uso de romiplostim en el manejo de PTI paraneoplásica asociada a tumores sólidos refractaria a glucocorticoides y gammaglobulinas. Es importante señalar que fue posible alcanzar la RHC con la reintroducción de romiplostim, sin la administración de ningún tratamiento oncológico activo. Hasta nuestro conocimiento este sería el segundo caso reportado con estas características.

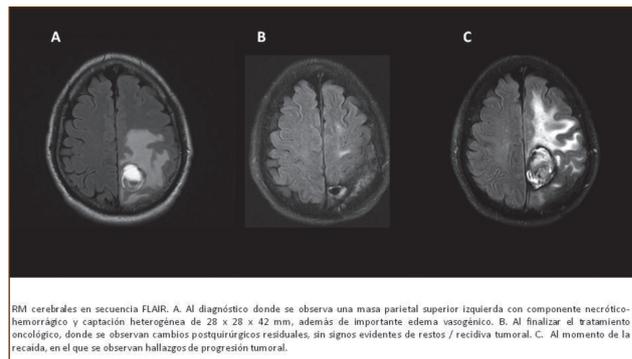


Figura 1. Resonancia magnética cerebral durante el seguimiento.

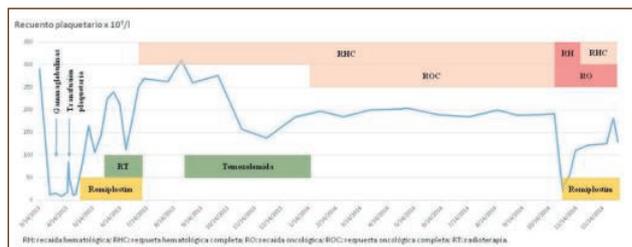


Figura 2. Recuento plaquetario durante el seguimiento.

PC-344 Manejo de la trombopenia inmune primaria en la era de los agonistas del receptor de la trombopoyetina. Estudio retrospectivo de seguridad y eficacia

Entrena Ureña L., Moatassim de la Torre Y., Cruz Díaz A.J., Jurado Chacón M.

Complejo Hospitalario Universitario de Granada. Granada

Introducción: El abordaje terapéutico de la trombopenia inmune primaria (PTI) crónica refractaria o con contraindicación para la esplenectomía ha cambiado gracias a los análogos del receptor de la trombopoyetina, nuevos recursos terapéuticos a los que se adscribe un elevado nivel de evidencia derivado de ensayos clínicos controlados.

Métodos: Evaluamos de forma retrospectiva 43 pacientes (24 mujeres y 19 varones) con PTI crónica (91% primarias) que reciben tratamiento con eltrombopag. La mediana de edad era de 70 años (13-89) y la mediana de plaquetas al diagnóstico de $29 \times 10^9/L$ ($2 \times 10^9/L$ - $70 \times 10^9/L$). El tratamiento de primera línea fue corticoides (45%) y corticoides más gammaglobulina (55%), obteniendo un 84% de respuesta (46% RC). 9 recibieron trasfusión de plaquetas. Previo a eltrombopag, 8 pacientes se esplenectomizaron y en dos se realizó embolización esplénica, 12 recibieron rituximab, 7 romiplostim, 3 azatioprina y 3 danazol.

Resultados: La mediana de plaquetas al inicio del tratamiento con eltrombopag era de $26 \times 10^9/L$, obteniéndose respuesta en el 93% de los casos (67% RC). El 49% usó corticoides de forma concomitante, 3 pacientes gammaglobulina y dos ambos tratamientos, consiguiendo discontinuación en todos los casos salvo un paciente que continuó con dexametasona pero a dosis inferiores. La mediana hasta obtener respuesta fue de 14 días y la dosis máxima necesaria de 25 mg (33%), 50 mg (46%), 75 mg (19%) y en un solo caso 25 mg/48 horas. La mediana de respuesta mantenida es de 15 meses (1-42) con dos pérdidas de respuesta (a los 2 y 27 meses). Las dosis de mantenimiento fueron de 25 mg/semanal (1 paciente), 25 mg/72 horas (2) 25 mg/48 horas (5), 25 mg diarios (10), 50 mg alternos con 25 mg (6), 50 mg/día (8), 50 mg alternos con 75 mg (2), 75 mg/día (3) y dos pacientes mantuvieron respuesta tras suspender el fármaco. En dos de los pacientes descritos se utilizó Revolade como terapia puente previa embolización esplénica.

El tratamiento fue bien tolerado sin aparición de efectos adversos graves. Un paciente lo abandonó por elección propia pese a buena tolerancia. Los efectos adversos más frecuentes fueron astenia (44%), artralgias (7%), cefalea (5%), alteraciones gastrointestinales (2%) y escleritis del cristalino (2%). No se observó aumento de enzimas hepáticas y solo dos pacientes tuvieron sangrado menor. Durante el tratamiento hubo dos infartos agudos de miocardio, un Síndrome coronario agudo sin elevación de ST y una isquemia arterial aguda en miembro inferior (en pacientes con 77 años de mediana de edad, factores de riesgo cardiovasculares previos y sin aumento de la cifra de plaquetas por encima del límite superior de la normalidad) (Figuras 1 y 2).

Conclusiones: Tras cinco años de utilización de los agentes trombopoyéticos en nuestro centro, eltrombopag mostro una tasa de respuesta elevada y mantenida a largo plazo, con buena toleran-

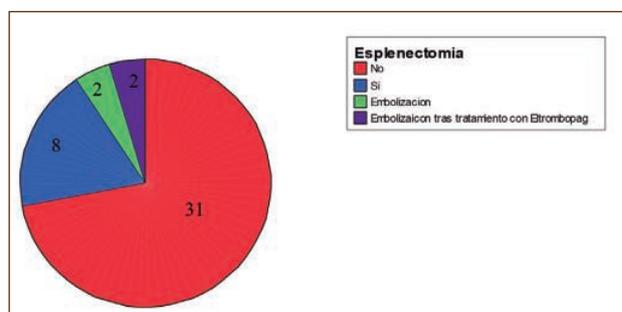


Figura 1.

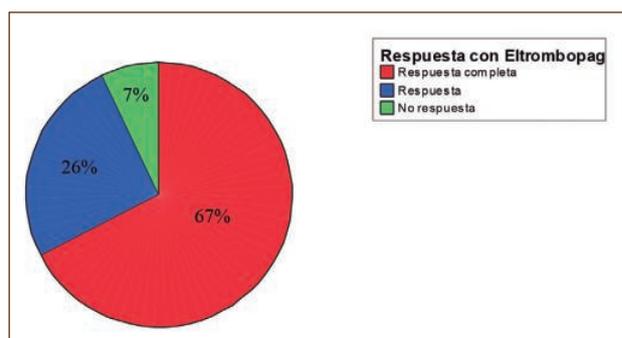


Figura 2.

cia y excelente perfil de seguridad. El abordaje de la PTI ha mejorado considerablemente en los últimos años gracias al uso de los análogos de la trombopoyetina, que permiten reducir los efectos adversos de otras terapias inmunosupresoras en la PTI refractaria o con contraindicación de esplenectomía.

PC-345 Niveles aumentados de micropartículas circulantes en la endometriosis profunda infiltrante

Reverter J.C., Martínez M.A., Munros J., García E., Martín L., Carmona F., Balasch J., Tassies M.D.

Hospital Clínic. Barcelona

Introducción: Las micropartículas circulantes (MP) son pequeñas vesículas procedentes de la membrana citoplasmática que se originan tras la activación o apoptosis celular. Entre las funciones en las que las MP parecen estar implicadas se encuentran la inflamación, la disfunción endotelial, la trombosis, la angiogénesis y la progresión tumoral. La endometriosis profunda infiltrante (EPI) es una enfermedad crónica en cuya patogenia intervienen la inflamación y la angiogénesis, por lo que las MP podrían estar implicadas.

Objetivo: Analizar los niveles de MP procoagulantes circulantes en la endometriosis profunda infiltrante.

Métodos: Se incluyeron 25 pacientes con EPI que iban a ser sometidas a cirugía como parte de su tratamiento. El grupo control consistió en 13 pacientes que requirieron intervención quirúrgica por patología anexial benigna sin signos de endometriosis. Los criterios de exclusión fueron edad menor de 18 años o mayor de 40 años o la presencia de cualquier comorbilidad o neoplasia. La concentración de MP procoagulantes se midió mediante un test funcional de captura sobre anexina V.

Resultados: No hubo diferencias entre las pacientes y el grupo control en cuanto a edad, índice de masa corporal y tabaquismo. Las pacientes con EPI tuvieron niveles más altos de MP (nM [media, percentil 25-75]: 25,20, 16,95-36,40) en comparación con el grupo control (12,90, 6,58-28,25) ($p= 0,02$). Las pacientes con EPI que seguían tratamiento hormonal (n=13) tuvieron niveles menores de MP (17,40, 13,95-25,90) en comparación con las que no seguían tratamiento hormonal (n=12) (27,80, 25,23-53,80) ($p= 0,007$).

Conclusión: Las pacientes con EPI tuvieron mayor número de MP en comparación con las controles sin endometriosis, por lo que las MP podrían tener un papel como biomarcadores en la EPI. El tratamiento hormonal se asocia a niveles menores de MP en las pacientes con EPI.

*Trabajo financiado en parte por FIS P111/01560 y FIS P111/00977.

PC-346 La citología en la detección de trastornos relacionados con MYH9: una familia con macrotrombocitopenia

Campuzano Saavedra V. (1), Paul Vidaller P.J. (1), Perella Arnal M.I. (1), Aules Leonardo A. (2), Marco Amigot J.J. (2)

(1) Hospital de Barbastro. Huesca. (2) Hospital San Jorge. Huesca

Introducción: Las macrotrombocitopenias de herencia autosómica dominante designadas inicialmente como Anomalia de May Hegglin (AMH), Síndromes de Sebastian (SSB) Fechtner (SFTN), y Epstein (SE) actualmente denominados trastornos relacionados con MYH9 (MYH9-RD) son causas raras de trombocitopenia. El gen MYH9 tiene 41 exones, se localiza en el cromosoma 22q12-13 y codifica la cadena pesada de miosina no muscular IIA (NMMHC-IIA), una proteína de 230 kd, asociada a la contractilidad y secreción plaquetaria. Se han documentado 49 mutaciones de MYH9. Un 30% ocurren de novo. La AMH y el SSB se limitan a la presencia de macrotrombocitopenia y cuerpos de inclusión en los granulocitos en el frotis de sangre periférica (SP). El SE se presenta con sordera neurosensorial y nefritis, a los que se añade cataratas en el SFTN. La AMH y SSB se diferencian por las características ultraestructurales y de localización de las inclusiones leucocitarias, siendo alargadas y tubulares en la AMH y más pequeñas y menos organizadas en el SSB. Generalmente es necesaria la microscopía electrónica y técnicas de hibridización para diferenciarlos.

Los síntomas hemorrágicos suelen ser leves, aunque se han descrito casos graves, asociados a trombocitopenias de menos de $50 \times 10^9/\text{ul}$. El examen citológico de sangre periférica es una herramienta necesaria para el diagnóstico inicial.

Métodos: Se identificó en analíticas convencionales a dos hermanas con trombocitopenia grado III. Ambas presentaban macrotrombocitopenia e inclusiones en neutrófilos en el frotis de SP y se catalogaron como AMH (Zaragoza, 1990). Se realizó su genograma (Figura 1). Se rellenó un cuaderno de recogida de datos con información obtenida de una de las pacientes y de las historias clínicas de sus familiares.

Resultados: Se identificaron a la madre de las pacientes y a una hija de cada una de ellas como portadores de la AMH. Ninguno de los casos identificados presento hemorragias espontáneas o sangrado secundario importante, aunque a una de ellas se le transfundieron plaquetas de forma profiláctica. Los sangrados, post quirúrgicos (histerectomía, herniorrafia) y secundarios (hemoptisis por neumonía, rectorragia asociada a GEA y fisura anal) no precisaron transfusiones de plaquetas. El recuento manual de plaquetas era superior al automático en las pacientes a las que se les realizó un frotis de SP y el diámetro de las plaquetas en relación con los eritrocitos variaba entre 0.5:1 a 1:1 Las inclusiones se encontraron en 84% de los granulocitos, distribuidas de forma heterogénea en el citoplasma y con intensidad variable (Figura 2).

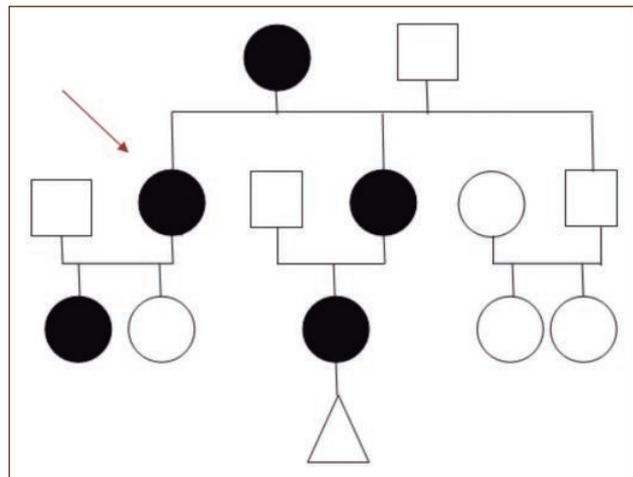


Figura 1. Árbol genealógico.

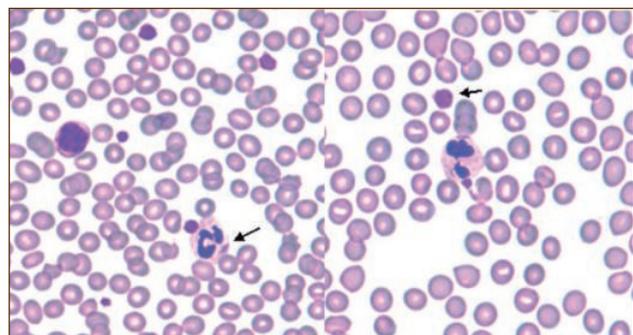


Figura 2. Frotis de S.P de una de las pacientes con la anomalía de Mayhegglin.

Conclusiones: La AMH, los SSB, SFTN, y SE constituyen expresiones variables de la misma alteración genética. La realización de un frotis de sangre periférica, la historia personal de sangrado y antecedentes familiares son esenciales para el diagnóstico. El grado de trombocitopenia es variable. Los recuentos automáticos suelen revelar niveles inferiores de plaquetas a los reales, dado que algunas plaquetas alcanzan a tener el mismo diámetro que un eritrocito. La mayoría de los pacientes no presenta síntomas hemorrágicos significativos. Es importante evitar transfusiones de plaquetas innecesarias, aunque pueden requerirse en caso de trombocitopenias reales y de alteraciones de la función plaquetaria.

Tratamientos antitrombóticos

PC-347 Implicación clínica de la polimedicación e interacciones con los NOACs en el momento preoperatorio: resultados de la "real life cohort"

Valcarce Romero I., Olivera Sumire P., Pons Escoll V., Cortina V., López Andreoni L., Artaza G., Bosch Albareda F., Santamaría A.
Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona

Introducción: El uso de anticoagulantes orales no-vitamina K (NOACs) se ha incrementado especialmente en pacientes mayores pluripatológicos y polimeditados. Las llamadas interacciones fármaco-fármaco (F-F) y la polimeditación son el principal problema en la población geriátrica. Algunos estudios han considerado este tema pero centrándose únicamente en interacciones relevantes. Es vital evaluar el impacto de la polimeditación en pacientes tratados con NOACs sobre todo en situaciones especiales como el perioperatorio así como determinar si los fármacos más comúnmente utilizados podrían modular el efecto de los NOACs.

Objetivos: Determinar la incidencia de posibles interacciones farmacológicas entre la medicación habitual de la población general y los NOACs y si esta afecta a las concentraciones plasmáticas de estos o no.

Métodos: De junio 2014 a junio 2015 se incluyeron de forma consecutiva 70 pacientes diagnosticados de fibrilación auricular tratados con NOACs que precisaron una intervención quirúrgica de cualquier tipo. El manejo perioperatorio se hizo según las guías del Forum Español de Anticoagulación y Anestesia. Se midieron los niveles plasmáticos de los NOACs el día de la intervención y para ello usamos el *Direct Thrombin Inhibitor Assay from IL (Bedford-MA-USA)* para Dabigatran y el *Technoclon anti-Xa assay from Technoclon (Vienna-Austria)* para Rivaroxaban y Apixaban. Se registraron cada uno de los fármacos tomados diariamente por cada paciente evaluando, de cada uno de ellos, su transporte (Gli-

coproteína-P) y su metabolismo tanto si eran sustratos, inhibidores o inductores del citocromo.

Resultados: Los resultados preliminares corresponden a 33 pacientes incluidos consecutivamente. La mediana de edad fue 74 años (rango 61-94), 17 (51,5%) fueron mujeres. De ellos, 8 pacientes recibieron Dabigatran, 20 Rivaroxaban y 5 Apixaban. En cuanto a la medicación habitual de los pacientes, el número de fármacos consumidos iban de 2 a 16 con una media de 6,9 (SD+/- 3,13) fármacos por paciente. Los más frecuentes fueron IBPs, hipoglicemiantes, anti-hipertensivos, estatinas y beta-bloqueantes. Un número considerable de estas medicaciones habituales comparten el citocromo con los NOACs para su metabolización pero ninguno de los fármacos registrados son inhibidores o inductores mayores del citocromo o de la Glicoproteína-P como para provocar un cambio en la concentración plasmática de los NOACs. Algunos de los fármacos considerados inductores moderados del citocromo o de la glicoproteína-P, tampoco mostraron ningún cambio en la concentración plasmática de los NOACs. No se encontró ninguna asociación entre el número de fármacos consumidos diariamente y los sangrados.

Conclusión: Aunque los resultados preliminares están basados en pocos casos, la medicación habitual de pacientes también tratados con anticoagulantes orales no-vitamina K tendría escaso impacto en la concentración plasmática de los NOACs, con lo que se podría concluir que los NOACs son fármacos seguros en pacientes polimeditados, sobre todo en situaciones especiales como el perioperatorio.

PC-348 Profilaxis antitrombótica en pacientes con mieloma múltiple en tratamiento con lenalidomida

Dávila Valls J. (1), Bastida Bermejo J.M. (1), Louzada M. (2), González de la Calle V. (1), Alonso Álvarez S. (1), Caballero Berrocal J.C. (1), Puig Morón N. (1), García Sanz R. (1), Ocio San Miguel E.M. (1), Mateos Manteca M.V. (1), González Porras J.R. (1)
(1) Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario de Salamanca. Salamanca, España. (2) Department of Medicine. Division of Hematology. University of Western Ontario. London, Ontario. Canadá

Fundamentos y objetivos: En pacientes con mieloma múltiple (MM) que reciben fármacos inmunomoduladores (IMiDs), la incidencia de ETV es considerable (hasta 75%). La profilaxis antitrombótica en estos pacientes se fundamenta en recomendaciones de expertos. Así, el International Myeloma Working Group (IMWG) recomendó en 2008 el uso de ácido acetil-salicílico (AAS) en dosis bajas en pacientes con MM con ≤ 1 factor de riesgo de ETV y heparina de bajo peso molecular (HBPM) en dosis profilácticas si había ≥ 2 factores de riesgo (Palumbo et al; Leukemia 2008).

Los objetivos del estudio fueron: a) comprobar el grado de adherencia a las recomendaciones del IMWG en pacientes con MM que recibe esquemas basados en lenalidomida; b) evaluar su eficacia; y c) analizar la seguridad.

Pacientes y métodos: Analizamos retrospectivamente pacientes con MM en tratamiento con lenalidomida durante el periodo entre octubre-2008 y marzo-2015 en nuestro hospital. Se definió como profilaxis antitrombótica adecuada aquella que fuera concordante con las recomendaciones del IMWG. La eficacia de la profilaxis antitrombótica se evaluó mediante la incidencia de trombosis venosa o arterial objetivamente documentada. Los episodios trombóticos se consideraron relacionados con el tratamiento si ocurrieron hasta 18 meses tras la suspensión de lenalidomida y/o hasta 6 meses desde la suspensión del tratamiento anticoagulante. La evaluación de la seguridad se realizó mediante la incidencia de episodios hemorrágicos.

Resultados: Se analizaron 72 pacientes con una mediana de edad de 60 años [31-88], de los que el 57% habían recibido ≥ 2 líneas de tratamiento. Todos recibieron profilaxis antitrombótica: 44 con AAS (3 cambiaron a HBPM posteriormente), 24 con HBPM (7 cambiaron a AAS) y 4 anticoagulación con acenocumarol por comorbilidades previas. La profilaxis siguió las recomendaciones del IMWG en el 65% de los casos. Del 35% restante, 18 pacientes recibieron AAS cuando deberían haber recibido HBPM y 7 recibieron HBPM cuando según el IMWG eran candidatos a AAS. La incidencia global de complicaciones trombóticas fue 8,3% (4 pacientes presentaron trombosis venosa y 2 trombosis arterial). Dos eventos trombóticos fueron mortales (un tromboembolismo pulmonar y un ictus isquémico). La incidencia de episodios trombóticos en el grupo de pacientes que recibieron profilaxis antitrombótica según las recomendaciones IMWG fue del 4,2% frente al 16% en el grupo de manejo arbitrario ($\alpha=0,086$). De los 18 pacientes que recibieron AAS en vez de HBPM, 4 presentaron complicaciones trombóticas (3 venosas).

La incidencia global de complicaciones hemorrágicas fue del 11,1%. En los pacientes que recibieron la profilaxis recomendada por el IMWG fue del 10,6% frente al 12% del grupo de pacientes que no la siguieron. El tipo de hemorragia fue: cerebral (1); epistaxis (2); hematuria (1); pabellón auricular, piel y tejidos blandos (1); digestiva (1) y pulmonar (2). Los casos de hemorragia digestiva y pulmonar fueron los únicos mortales.

Conclusiones: El grado de seguimiento a las recomendaciones de profilaxis antitrombótica del IMWG es moderado. La adherencia a la profilaxis recomendada tiende a una menor incidencia de complicaciones trombóticas, sin diferencias en la de complicaciones hemorrágicas. Mientras no se disponga de más información, la profilaxis antitrombótica en pacientes con MM tratados con lenalidomida debería realizarse siguiendo las recomendaciones del IMWG.

PC-349 Anticoagulación con rivaroxaban en fibrilación auricular no valvular para la prevención del ictus-embolia sistémica en consultas de hematología, cardiología y medicina interna en la práctica clínica real. Estudio HEROIC

Santamaría A. (1), Salguero Bodes R. (2), Bonilla Palomas J.L. (3), Hidalgo Urbano R. (4), Andrés Novales J. (5), Beramendi J.R. (6),

Álvarez-Vieitez Blanco A. (7), Vázquez García R. (8), Peris Vidal J. (9), Sánchez Fernández P.L. (10), Muñiz Lobato S. (11), Martínez Dolz L. (12), Benítez Gil, J. (13), Laperal Mur J.R. (14), Gil Ortega I. (15), Pérez Álvarez R. (16), Pérez Cabezas A.I. (17), Mesías Prego A. (18), Roure Fernández J. (19), Rodríguez Fernández J.Á. (20), Martín Raymondi D. (21), González Juanatey C. (22), Motero Carrasco J. (23), Casaus García A. (24), Mateo Arranz J. (25)

(1) Servicio de Hematología. Hospital Universitario Vall d'Hebrón. Barcelona. (2) Servicio de Cardiología. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid. (3) Servicio de Cardiología. Hospital San Juan de la Cruz. Úbeda, Jaén. (4) Servicio de Cardiología. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. (5) Servicio de Cardiología. Hospital San Eloy. Bizkaia. (6) Servicio de Cardiología. Hospital Universitario de Donostia. Donostia. (7) Servicio de Cardiología Centro Cardiológico Castellana. Madrid. (8) Servicio de Cardiología. Hospital Universitario Puerta del Mar. Cádiz. (9) Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Bellvitge. Barcelona. (10) Servicio de Cardiología. Hospital Universitario de Salamanca. Salamanca. (11) Servicio de Hematología. Hospital San Agustín. Avilés, Asturias. (12) Servicio de Cardiología. Hospital Universitario La Fe. Valencia. (13) Servicio de Cardiología. Hospital de Poniente. El Ejido, Almería. (14) Servicio de Cardiología. Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza. (15) Servicio de Cardiología. Hospital General Universitario Santa Lucía. Cartagena, Murcia. (16) Servicio de Medicina Interna. Hospital del Meixoeiro. Vigo. (17) Servicio de Cardiología. Hospital Costa del Sol. Marbella, Málaga. (18) Servicio de Cardiología. Hospital Arquitecto Marcide. Ferrol. (19) Servicio de Cardiología. Hospital Universitario Doctor Josep Trueta. Girona. (20) Servicio de Cardiología. Hospital Juan Canalejo. La Coruña. (21) Servicio de Cardiología. Hospital Santos Reyes. Burgos. (22) Servicio de Cardiología. Hospital Universitario Lucus Augusti. Lugo. (23) Servicio de Cardiología. Policlínica Los Naranjos. Huelva. (24) Servicio de Hematología. Hospital Punta de Europa. Cádiz. (25) Servicio de Hematología. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona

Introducción: Existen pocos datos sobre el uso en práctica clínica real de los nuevos anticoagulantes orales (NACOs) tras publicación del Informe de Posicionamiento Terapéutico (IPT) de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios para nuevos NACOs (diciembre 2013). Este estudio en práctica clínica real, describe la variabilidad clínica de los pacientes a los que se trata con rivaroxaban y se atiende en cada una de estas especialidades médicas: hematología, cardiología y medicina interna en el tratamiento de fibrilación auricular no valvular (FANV) para la prevención del ictus-embolia sistémica.

Métodos: Estudio observacional, transversal en pacientes con FANV tratados con rivaroxaban durante mínimo tres meses antes de inclusión en estudio y recogida de datos de características socio-demográficas-clínicas. Participaron 74 centros de España en una sola visita y en consultas de hematología, cardiología y medicina interna (MI). Presentamos resultados preliminares del análisis nacional por especialidad.

Resultados: Se reclutaron 2281 pacientes entre 19 y 98 años en tratamiento con rivaroxaban, 2111 fueron válidos y atendidos en las tres especialidades consideradas para este análisis (Tabla 1). El tratamiento previo a rivaroxaban fue AVK: 68,8% en hematología, en cardiología 49% y MI 65,2%; antiagregantes: 34,7% en hematología, 30,3 % en MI, y 32,2% en cardiología y menor uso de heparinas y otros NACO's. En las tres especialidades el riesgo tromboembólico CHADs (mediana) es de 2. Y CHADs-VASc es 4 (mediana) en hematología y MI y 3 en cardiología. El riesgo hemorrágico HAS-BLED es 3 (mediana) en hematología,

Tabla 1.

| | Hematología (n=515) | Cardiología (n=1530) | Medicina Interna (n=66) |
|--|------------------------|-------------------------|----------------------------|
| Edad (años) | 74.3±9.4 | 73.6±9.4 | 80.5±13.6 |
| Sexo | | | |
| Femenino | 235 (45.9%) | 682 (44.6%) | 40 (60.6%) |
| Masculino | 277 (54.1%) | 847 (55.4%) | 26 (39.4%) |
| Tipo de FANV | | | |
| Paroxística | 198 (39.2%) | 644 (42.2%) | 8 (12.1%) |
| Paroxística y persistente | - | 13 (0.9%) | 3 (4.5%) |
| Permanente | 160 (31.7%) | 512 (33.5%) | 40 (60.6%) |
| Persistente | 147 (29.1%) | 358 (23.4%) | 15 (22.7%) |
| Tiempo desde el diagnóstico de FANV (años) | 4.0±4.1 | 3.7±4.3 | 5.0±4.6 |
| Tratamiento antitrombótico previo | | | |
| Antiagregantes | 174 (34.7%) | 491 (32.2%) | 20 (30.3%) |
| Heparinas | 56 (11.1%) | 76 (5.0%) | 4 (6.1%) |
| AVK | 347 (68.8%) | 745 (49.0%) | 43 (65.2%) |
| NACOs | 19 (3.8%) | 46 (3.0%) | 3 (4.5%) |
| Riesgo tromboembólico | | | |
| Escala CHADs | 2 (Q1: 1, Q3: 3) | 2 (Q1: 1, Q3: 3) | 2 (Q1: 2, Q3: 3) |
| Escala CHADs-VASc | 4 (Q1: 3, Q3: 4) | 3 (Q1: 2, Q3: 4) | 4 (Q1: 3, Q3: 5) |
| Riesgo hemorrágico | | | |
| HAS-BLED | 3 (Q1: 2, Q3: 3) | 2 (Q1: 2, Q3: 3) | 2 (Q1: 2, Q3: 3) |
| Comorbilidades cardiovasculares | | | |
| HTA | 435 (86.1%) | 1288 (84.3%) | 52 (78.8%) |
| Cardiopatía isquémica | 111 (22.0%) | 262 (17.1%) | 12 (18.2%) |
| Otras cardiopatías | 61 (12.1%) | 273 (17.9%) | 19 (28.8%) |
| Insuficiencia cardíaca | 87 (17.2%) | 236 (15.4%) | 20 (30.3%) |
| Ictus | 58 (11.5%) | 135 (8.8%) | 6 (9.1%) |
| Otras comorbilidades | | | |
| Hipercolesterolemia | 256 (49.7%) | 666 (43.5%) | 25 (37.9%) |
| Diabetes Mellitus | 134 (26.0%) | 426 (27.8%) | 14 (21.2%) |
| Insuficiencia renal | 61 (11.8%) | 129 (8.4%) | 14 (21.2%) |

y 2 en cardiología y MI. Las comorbilidades cardiovasculares más frecuentes: hipertensión arterial y cardiopatía isquémica fueron similares en los tres grupos. Ictus previo se presenta en un 11,5 % en hematología, y es menos frecuente en MI (9,1%). La insuficiencia renal es de un 11,8 % en hematología siendo de un 8,4% en cardiología y de un 21,2% en MI.

Conclusiones: En práctica clínica real, y tras la publicación del último IPT, hay cierta variabilidad clínica en los pacientes tratados con rivaroxaban a los que se atiende en cada una de estas consultas médicas: hematología, cardiología y medicina interna para la indicación de prevención ictus-embolia sistémica en FANV aunque en todas ellas se coincide en el uso en pacientes con riesgo tromboembólico medio-alto.

PC-350 Efectividad y seguridad de los anticoagulantes orales no antagonistas de la vitamina K en pacientes con cáncer activo. "The Real Life Cohort Study"

Olivera Sumire P.E., Pons Escoll V., López Andreoni L., Cortina Giner V., Bosch Albareda F., Santamaría Ortiz A.

Unidad de Trombosis y Hemostasia. Departamento de Hematología. Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona

Introducción: Actualmente ya en fase de post-autorización, el uso los anticoagulantes orales no antagonistas de la vitamina K (NOACs) se extiende a situaciones clínicas especiales, tales como los pacientes con cáncer activo bajo tratamiento anticoagulante ya sea por fibrilación auricular y/o enfermedad tromboembólica. Ante lo cual, es importante conocer el perfil de estos fármacos en este grupo de pacientes.

Objetivos: Analizar la efectividad y seguridad así como otros aspectos clínicos de los NOACs en los pacientes con cáncer activo.

Métodos: Desde Junio del 2010, se incluyeron consecutivamente pacientes adultos que iniciaron tratamiento con NOACs en el Hospital Vall d' Hebron y su área de influencia, de los cuales se seleccionaron a los pacientes con cáncer activo. El seguimiento se realizó trimestralmente, desde el inicio de tratamiento. En cada visita se recogieron datos de efectividad, seguridad y demás relacionados al tratamiento. Para clasificar los sangrados se tuvo en cuenta los criterios de la ISTH.

Resultados: Hasta mayo del 2015, 612 pacientes fueron incluidos en nuestro registro. De los cuales el 8.3% (n=51) presentaba un cáncer activo. Con una mediana de edad de 64 años (rango, 39-85) y el 76.5% mujeres, la distribución por grupos de tratamiento fue la siguiente: 13.7% (n=7) en el grupo de dabigatran, 62.7% (n=32) en el de rivaroxaban y el 23,5% en el de apixaban. En la **Tabla 1** se mencionan las características más relevantes. La frecuencia global de recurrencia de tromboembolismo venoso fue 2% (n=1). Se observaron complicaciones hemorrágicas en el 13.7% (n=7) de los pacientes (57.1% menores, 28.6% no mayores pero clínicamente relevantes y mayores en el 14.3%). El sangrado gastrointestinal fue el lugar más frecuente de sangrado (57.1% de todos los sangrados no mayores) y común a los tres grupos. En el seguimiento clínico de 15 ± 3,2 meses se produjeron 8 muertes, todas relacionadas a la progresión de la enfermedad de base. La discontinuación del NOAC ocurrió debido a la presencia de eventos hemorrágicos, toxicidad hematológica secundaria a la quimioterapia y al empeoramiento de la función renal. El 58.8% (n=30) no discontinuó el NOAC y lo mantuvo de manera concomitante al tratamiento antineoplásico sin complicaciones asociadas.

Conclusiones: En los pacientes con cáncer activo y necesidad de tratamiento anticoagulante los NOACs podrían ser una buena alternativa como reflejan los resultados de nuestra cohorte con una efectividad y seguridad similar al tratamiento estándar.

Tabla 1. Características de los pacientes con cáncer activo y tratamiento con NOACs

| | Dabigatran nº casos (%) | Rivaroxaban nº casos (%) | Apixaban nº casos (%) |
|---|----------------------------|-----------------------------|--------------------------|
| Sexo | | | |
| Varón | 1 (14.3%) | 4 (12.5%) | 7 (58.3%) |
| Mujer | 6 (85.7%) | 28 (87.5%) | 5 (41.7%) |
| Edad | | | |
| < 65 años | 2 (28.6%) | 13 (40.6%) | 6 (50.0%) |
| 65-75 años | 3 (42.9%) | 12 (37.5%) | 3 (25.0%) |
| > 75 años | 2 (28.6%) | 7 (21.9%) | 3 (25.0%) |
| Motivo de anticoagulación | | | |
| FANV* | 7 (100%) | 11(34.4%) | 4 (33.3%) |
| ETEV** | - | 21(65.6%) | 8 (66.6%) |
| Tipo de cáncer (nº casos) | | | |
| Neoplasia de mama | 1 | 13 | 4 |
| Neoplasia de colon | 2 | 4 | 1 |
| Adenocarcinoma de próstata | 1 | 3 | - |
| Melanoma | - | 1 | - |
| Adenocarcinoma de pulmón | - | 4 | - |
| Mieloma múltiple | 1 | 6 | 4 |
| Síndrome mielodisplásico | 1 | 4 | 1 |
| Leucemia Linfática crónica | 1 | 3 | 1 |
| Linfoma B difuso de célula grande | - | 2 | 1 |
| Linfoma del manto | - | 2 | - |
| Tratamiento previo al diagnóstico de cáncer | 7 (100%) | 5 (15.6%) | 5 (41.7%) |
| Tratamiento indicado durante la enfermedad | - | 27 (84.4%) | 7 (58.3%) |
| Tratamiento durante la quimioterapia y/o tratamiento de mantenimiento | - | 19 (59.4%) | 11 (91.7%) |
| Motivo de cambio del tratamiento | | | |
| Diagnóstico de cáncer | - | - | - |
| Inicio de quimioterapia | 5 (71.4%) | 3 (23.1%) | 1 (100%) |
| Toxicidad hematológica (plaquetas < 30 X 10E9) | - | 6 (46.2%) | - |
| Empeoramiento de la función renal | 2 (28.6%) | 4 (30.8%) | - |

*FNAV: fibrilación auricular no valvular; ** ETEV: enfermedad tromboembólica venosa.

PC-351 Ensayo clínico para la evaluación de un programa de educación y guía para la adherencia a apixaban en fibrilación auricular no valvular (AEGEAN*)

Escolar G. (1), Arellano-Rodrigo E. (1), Molina P (1), Pino M. (1), Freire C. (1), Martin F. (1), Brotons C. (2), Montalescot G. (3), Besse B. (4), Pujadas-Mestres L. (5)

(1) Servicio de Hemoterapia y Hemostasia. Hospital Clínic. Barcelona, España. (2) EAP Sardenya. Barcelona, España. (3) Hôpital Pitié-Salpêtrière. París, Francia. (4) BMS. Rueil-Malmaison. Francia. (5) BM. Madrid, España

Introducción: Los anticoagulantes orales directos (AOD) presentan una eficacia similar al tratamiento clásico con antagonistas de vitamina K (AVK) con menos complicaciones hemorrágicas graves. Se ha especulado que una disminución de adherencia al tratamiento podría limitar su eficacia en la práctica clínica habitual. Apixaban es un AOD indicado en la profilaxis de complicaciones

tromboembólicas en pacientes con fibrilación auricular de origen no valvular (FANV). *Hipótesis:* Una estrategia de educación proactiva mejoraría la adherencia del paciente con *respecto a la información proporcionada rutinariamente al inicio de apixaban. La reiteración de acciones educacionales de refuerzo a través de una Clínica Virtual (CV) permitiría desarrollar estas estrategias.*

Objetivo: Evaluar el impacto del programa educativo sobre la adherencia de los pacientes tratados con apixaban por FANV durante 48 semanas.

Métodos: AEGEAN es un ensayo clínico multicéntrico Europeo, abierto, con asignación aleatoria, controlado, en pacientes tratados con apixaban por FANV. Los pacientes deben tener al menos un factor de riesgo para ictus (ictus o accidente isquémico transitorio (AIT) previo e indicación para terapia anticoagulante oral. Un tercio de la población del estudio habrá recibido tratamiento previo con AVK y el resto no habrán recibido AVK previamente. Los pacientes recibirán apixaban 5 mg BD (o 2.5 mg BD en alguna subpoblación de pacientes). Se permitirán sujetos con tratamiento previo o concomitante con ácido acetilsalicílico. Los pacientes elegibles se randomizarán 1:1 para recibir: a) Infor-

mación estándar (IE), o b) Un programa educativo intensivo (PEI) con herramientas y contenidos de refuerzo adicional, incluyendo dispositivos electrónicos, mensajería telefónica y llamadas personalizadas. A las 24 semanas los sujetos del grupo que reciben el PEI se randomizarán 1:1 para continuar en el PEI, o dejarán de recibirlo y volverán al programa IE. Se valorará la adherencia del paciente mediante un dispositivo electrónico de monitorización (pastillero contador electrónico para controlar el acceso del fármaco) que permite cuantificar en términos de porcentaje de unidades de adherencia durante el tratamiento.

Resultados: El estudio se ha llevado a cabo en 171 centros en Bélgica, Francia, Alemania, Italia, España, Suiza y UK. Entre el 21 de Noviembre 2013 y el 19 de Diciembre 2014 se incluyeron 1229 pacientes. De ellos un total de 1174 (edad media de 74 años, 60% varones) fueron randomizados a IE (n=588) o PEI (n=586). Los 18 centros en España han reclutado un total de 142 pacientes. El estudio progresa y aún se está ejecutando. Los resultados preliminares a las 24 semanas serán presentados en el próximo congreso.

**AEGEAN: Assessment of an Education and Guidance programme for Eliquis Adherence in Non-Valvular Atrial Fibrillation.*

PC-352 Incidencia de complicaciones hemorrágicas y tromboembólicas en los pacientes tratados con anticoagulantes orales de acción directa. Análisis retrospectivo de un solo centro (Hospital de Bellvitge)

Peris J., Mostacedo S.Z., Cerezo E., Salas M.O., Pina E., Roselló E., Domenech P.

Hospital de Bellvitge. L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona

Introducción: En los últimos años la utilización de los anticoagulantes orales de acción directa (ACOD) se ha extendido en la profilaxis del embolismo arterial en la fibrilación auricular no valvular. En los estudios randomizados se objetiva una incidencia de complicaciones hemorrágicas similar o menor a la de los fármacos antagonistas de la vitamina K (AVK). Los análisis de varios registros confirman estos datos.

Objetivo: Determinar la incidencia de hemorragias y episodios tromboembólicos que consta en nuestra base de datos, de los pacientes tratados con estos anticoagulantes en los últimos 4 años (mayo 2011-abril 2015)

Pacientes y métodos: Realizamos un análisis estadístico de la base de datos de pacientes anticoagulados de nuestro hospital, desde el 1 de mayo de 2011 hasta el 30 de abril del 2015. Identificamos todos los episodios de hemorragia o episodios tromboembólicos que consta en ella, en pacientes en tratamiento con ACOD. Calculamos el tiempo de duración del tratamiento de cada paciente para poder expresar el resultado en porcentaje por año de tratamiento.

Resultados: En este periodo 401 pacientes han tomado estos fármacos con una media de seguimiento de 11.28 meses (1-41 meses). 72 pacientes dabigatran; 201 rivaroxaban; y 128 apixaban.

Se han producido un total de 19 hemorragias clínicamente relevantes, lo que supone una incidencia de 5.03 % anual (13 hemorragias mayores; 3.44 % anual). La localización de las hemorragias fueron 8 digestivas; 3 cerebrales y 2 en otras localizaciones. Todos los episodios se resolvieron favorablemente y solo en 2 casos fue necesario administrar fármacos procoagulantes.

Durante el mismo periodo se han detectado 2 episodios de ictus isquémico, lo que supone un 0.53 % anual.

En toda la población anticoagulada por cualquier motivo (3000 pacientes) en el mismo periodo hay registrados 432 casos de hemorragias clínicamente relevantes (204 hemorragias mayores), incidencia 3.6 % anual y 180 casos de ictus isquémicos, incidencia 1.5 % anual. De los pacientes tratados con anticoagulantes orales de acción directa, 17 (4.23%) habían tenido hemorragias previas con AVK y 37 (9.22%) habían tenido ictus isquémicos.

Conclusiones:

1. La incidencia de hemorragias en nuestra población tratada con ACOD es similar a la observada en los ensayos clínicos, y la resolución de los episodios ha sido favorable a pesar de no disponer de antídotos específicos.
2. La incidencia de ictus isquémico ha sido mucho menor, teniendo en cuenta además que un 9 % de los pacientes con ACOD habían presentado ictus previo durante la terapia con AVK.

PC-353 Efectos del tratamiento crónico con beta-bloqueantes previo a la aparición de un infarto de miocardio agudo sobre la reactividad plaquetaria

Moscardó A. (1), Madrid I. (2), Santos M.T. (1), Latorre A.M. (1), Fuset M.P. (2), Vallés J. (1)

(1) Instituto de Investigaciones Sanitarias La Fe y (2) Unidad de Cuidados Intensivos. Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia

Introducción: Las plaquetas poseen receptores adrenérgicos en su membrana por lo que las catecolaminas circulantes podrían estimular a las plaquetas, particularmente potenciando el efecto de otros agonistas fisiológicos, aunque la magnitud de este efecto no está bien caracterizado en la actualidad (1). Es conocido que las catecolaminas se incrementan durante el infarto agudo de miocardio (IMA), así como la respuesta de las plaquetas al estímulo adrenérgico. Por ello, el tratamiento crónico con beta-bloqueantes previo a la aparición del IMA podría tener un impacto en la reactividad plaquetaria y/o modificar el efecto de los tratamientos antiplaquetarios. No tenemos conocimiento de que existan actualmente datos en la literatura sobre estos temas.

Objetivos: a) Comparar la reactividad plaquetaria en pacientes con IMA tratados crónicamente con β -bloqueantes antes del evento con la de los pacientes sin este tratamiento; y b) estudiar la influencia del tratamiento crónico previo con los beta-bloqueantes sobre la extensión del daño miocárdico.

Métodos: Estudiamos 526 pacientes consecutivos con terapia antiplaquetaria en las primeras 48 horas tras el evento, de los

cuales 96 estaban en tratamiento crónico con beta-bloqueantes. El estudio fue aprobado por el comité ético del hospital y todos los pacientes dieron su consentimiento informado. Para los estudios de función plaquetaria se extrajo sangre anticoagulada con citrato (3.8%) y se determinó: a) la agregometría óptica inducida por colágeno (1 mg/ml), ácido araquidónico (1 µM), ADP (3.5 µM) y epinefrina (5 µM); b) la liberación de ¹⁴C-5HT y la síntesis de TXA₂ en sangre total estimulada con colágeno; y c) el tiempo de oclusión del sistema PFA100 con el cartucho de colágeno/epinefrina. Como indicadores de daño miocárdico se determinaron la troponina ultrasensible, la CK-MB y la CPK. Métodos estadísticos: Student-t test, Chi² test y análisis multivariante.

Resultados: Los pacientes tratados con beta-bloqueantes presentaron frente a los no tratados una significativa reducción en la agregación al colágeno (p<0.05) y al ácido araquidónico (p<0.05), mientras que no se encontraron diferencias con ADP o epinefrina; la liberación de ¹⁴C-5HT y la síntesis de TXB₂ en sangre total se redujeron (p<0.05), mientras que se incrementó el tiempo de obturación con PFA (p<0.05). Interesantemente, el porcentaje de pacientes con inhibición insuficiente de la síntesis de TXB₂, (<95% vs. controles sanos no tratados) fue significativamente menor en los tratados crónicamente con beta-bloqueantes: 14.6% vs. 29.8% (p<0.05). El análisis multivariante incluyendo variables relacionadas con la historia clínica, factores de riesgo y medicaciones indicó que la disminución de TXA₂ se asocia significativamente con el tratamiento con beta-bloqueantes. Además, los resultados demuestran una reducción significativa de troponina y CK-MB (p<0.05) en los pacientes tratados con beta-bloqueantes antes de la aparición del evento agudo.

Conclusión: El tratamiento crónico con beta-bloqueantes mejora algunos efectos de la terapia antiplaquetaria a tiempos cortos tras el evento, y reduce el daño miocárdico.

Becas: IIS Carlos III. Fondos FEDER PI13/00016. Red Cardiovascular [RD12/0042/0003]. FETH. Sociedad Valenciana Cardiología.

Bibliografía

1. Bonten TN et al. Br J Clinical Pharmacol 2014; 78: 940-949.

PC-354 ¿Son realmente seguros y eficaces los anticoagulantes orales de acción directa? Experiencia en un hospital terciario

Martínez Lázaro B., Alkadi Fernández N., Escobar Ramón M.J., Alonso Madrigal C., Izuzquiza Fernández M., Gavín Sebastián O., Cornudella Lacasa R., Palomera Bernal L.

Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. Zaragoza

Introducción: La fibrilación auricular y la enfermedad tromboembólica venosa (ETV) son patologías muy prevalentes en nuestro medio. La aparición de los anticoagulantes orales directos (ACODs) ha supuesto un cambio en la rutina de trabajo de las unidades de tratamiento antitrombótico así como en el seguimiento de los pacientes, haciéndose imprescindible llevar a cabo

la elaboración de un registro actualizado de todos los pacientes anticoagulados (ACODs, AVK y heparinas).

Objetivos: Revisar la eficacia y seguridad del tratamiento con ACODs en nuestra población de referencia.

Material y métodos: Estudio observacional retrospectivo desde abril de 2010 hasta mayo de 2015 realizado en el Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa de Zaragoza. Fuentes de información: revisión de Historia Clínica Electrónica. Población de estudio: pacientes mayores de 18 años en tratamiento con ACODs incluidos en el registro generado a través de la plataforma de gestión integral de tratamiento anticoagulante “Gota” (IZASA). Variables analizadas: variable seguridad (hemorragia), variable eficacia (trombosis) y otras variables asociadas al tratamiento anticoagulante.

Resultados: Se han reclutado 304 pacientes (n=304) en tratamiento anticoagulante (140 hombres y 164 mujeres) entre 25 y 87 años (mediana de edad 78 años). De ellos en tratamiento con dabigatran 72 (23.78%) (36 pacientes con dosis de 110mg/12h y 36 con 150 mg/12 h), en tratamiento con rivaroxaban 111 (36.61%) (31 pacientes con dosis de 15 mg/24 h y 80 con 20 mg/24 h) y en tratamiento con apixaban 120 (39.61%) (68 pacientes con dosis de 2.5 mg/12 h y 52 con 5 mg/1 2h). Motivo de anticoagulación: 267 pacientes con fibrilación auricular no valvular y 37 pacientes con ETV.

Un 4.2 % (13/304) de los pacientes analizados sufrieron un evento hemorrágico. Los 13 casos detectados corresponden a sangrado leve, no requiriendo soporte transfusional y evolucionando favorablemente.

Tabla 1.

| Evento hemorrágico | Dabigatran | Rivaroxaban | Apixaban |
|--------------------|------------|-------------|----------|
| Hematoma subdural | 0 | 1 | 0 |
| Hematuria | 3 | 0 | 3 |
| Rectorragia | 2 | 0 | 1 |
| Metrorragia | 1 | 0 | 0 |
| Ocular | 2 | 0 | 0 |
| TOTAL 13 | 8 (11%) | 1 (0.9%) | 4 (3.3%) |

Tabla 2.

| Evento trombótico | Dabigatran | Rivaroxaban | Apixaban |
|-------------------|------------|-------------|----------|
| ACV | 1 | 4 | 2 |
| TVP | 0 | 0 | 1 |
| TOTAL 8 | 1 (1.3%) | 4 (3.6%) | 3 (2.5%) |

Tabla 3.

| Otros | Dabigatran | Rivaroxaban | Apixaban |
|-------------------------------|------------|-------------|----------|
| Dosificación inapropiada (FT) | 0 | 1 (0.9%) | 1 (0.8%) |
| Efectos adversos | 1 (1.3%) | 0 | 0 |

Un 2.63% (8/304) de los pacientes presentaron un evento trombótico; de los cuales uno falleció a causa del mismo (ACV de arteria cerebral media izquierda de origen cardioembólico en paciente en tratamiento con Xarelto 15 mg/24 h).

Un 5.9 % (18/304) de los pacientes fallecieron en el transcurso del tratamiento. Solo en uno de los casos el fallecimiento se relacionó con evento trombótico (TVP en paciente en tratamiento con apixaban 2.5 mg/12 h).

En dos de los pacientes analizados se objetivó una dosis no adecuada con respecto a las indicaciones en ficha técnica del fármaco anticoagulante (apixaban 2.5 mg/12h en paciente con función renal conservada y menor de 80 años).

A pesar de la alta frecuencia de dispepsia en pacientes en tratamiento con dabigatran (30%), en nuestra muestra este efecto adverso está presente en un solo caso (1.3%); lo que motivó la suspensión del fármaco.

Conclusiones: Los datos revisados a través del registro llevado a cabo por la Unidad de Tratamiento Anticoagulante, revelan la eficacia y seguridad de los ACODs en población real, aportando incluso mejores resultados que los obtenidos en los diferentes trabajos realizados.

PC-355 ¿Es el tiempo de coagulación inducido por protrombinasa (PiCT®), un test útil para medir la actividad de los inhibidores directos del factor Xa en la práctica clínica habitual?

Olivera Sumire P.E., Cortina Giner V., Pons Escoll V., López Andreoni L., Bosch Albareda F., Santamaría Ortiz A.

Unidad de Hemostasia y Trombosis. Departamento de Hematología. Hospital Universitario Vall d' Hebron. Barcelona

Introducción: Una de los puntos de controversia en la utilización de los inhibidores orales directos del factor Xa (FXa), es la posibilidad de monitorización en situaciones especiales como labilidad de la función renal, presencia de eventos trombóticos y/o hemorrágicos o previo a cirugía. Disponer de un test rápido, sencillo, cuantitativo y global para medir la intensidad de la anticoagulación como el Pefakit® PiCT® podría ser de utilidad en la práctica clínica habitual.

Objetivo: Evaluar la correlación entre Pefakit® PiCT® y los niveles plasmáticos de los inhibidores directos del FXa en pacientes tratados con Rivaroxaban® y Apixaban®.

Métodos: Utilizando un ensayo cromogénico para medir actividad Anti-Xa (Technoclone®, (Vienna, Austria), se determinaron las concentraciones plasmáticas de Rivaroxaban® y Apixaban® en 52 muestras de sangre correspondientes a 26 pacientes bajo tratamiento con estos fármacos. Se midieron el C_{valle} (justo antes de la siguiente dosis) y el C_{max} (a las 2 horas de la ingesta del fármaco) Las curvas de calibración se obtuvieron mediante la medición de la actividad anti-FXa utilizando plasma con cantidades conocidas de cada anticoagulante. El reactivo Pefakit® PiCT® (Pentapharm®, Basel-Suiza) se utilizó en todas las muestras y los ratios normales

para el ensayo PiCT® se establecieron mediante la medición de los tiempos de coagulación en 86 muestras normales.

Resultados: Encontramos una correlación lineal positiva entre las concentraciones plasmáticas de los inhibidores directos del FXa (rango de niveles entre 15,3 ng / ml - 457.6 ng / ml) y los ratios obtenidos mediante el test Pefakit® PiCT®. Valor de correlación de Pearson fue de 0,72 (p <0,01 bilateral)

Conclusiones: La prueba Pefakit® PiCT®, podría ser una prueba diagnóstica valiosa para la determinación rápida del efecto de los anticoagulantes orales inhibidores directos del FXa y permitiría la toma de decisiones terapéuticas en circunstancias críticas tales como la reversión del tratamiento durante el sangrado mayor, en eventos trombóticos previos a fibrinólisis u otras situaciones.

PC-356 Prevención, manejo y efectos adversos del déficit de antitrombina III en el embarazo. Estudio retrospectivo a 30 años

Fernández Jiménez D., Entrena Ureña L., Pérez González J.A., Gutiérrez Pimentel M.J., Jurado Chacón M.

Complejo Hospitalario Universitario de Granada. Granada

Introducción: El déficit de antitrombina III (ATIII) es una trombofilia hereditaria de baja prevalencia que incrementa en hasta 10 veces el riesgo de trombosis con especial interés durante el embarazo en el que se relaciona a importante morbi-mortalidad feto-materna. Pese a esto, el escaso número de pacientes hace que en la actualidad, no dispongamos de un consenso para su manejo durante la gestación.

Métodos: Estudio retrospectivo a 30 años de gestantes con déficit de ATIII. Analizamos un total de 41 embarazos en 17 mujeres (8 por historia familiar, 1 por hijo con déficit y el resto por antecedentes personales). La media de edad era de 29 años (19-41). Tres embarazadas tenían factores de riesgo cardiovascular (1 fumadora, 1 dislipemia y la última ambos factores) y 6 tenían trombofilias adicionales (un déficit leve de proteína S, 4 con Factor V Leiden heterocigoto (FVL) y 1 homocigota para el Factor XII y heterocigota para el FVL).

Resultados: De los 41 embarazos, 2 de ellos gemelares, 25 no fueron tratados por diagnóstico posterior. Se documentaron, en este grupo, 7 abortos precoces, 5 muertes fetales intrauterinas, 1 preeclampsia con malformaciones y 1 crecimiento intrauterino retardado.

Previo embarazo 5 recibían acenocumarol por antecedentes trombóticos.

En cuanto al tratamiento, durante la gestación 16 recibieron heparina de bajo peso molecular (HBPM) a dosis terapéuticas con control de Anti-Xa, excepto 1 a dosis profiláctica que sufrió un aborto precoz (único evento adverso en este grupo). Concomitantemente a 2 se administró ATIII 50UI/kg/72h y 2 tomaron Acenocumarol desde las 12 semanas de gestación. En el parto 11 recibieron ATIII asociada a HBPM a dosis profilácticas, una solo HBPM y otra ATIII. En el postparto 7 pacientes reciben Ace-

Tabla 1.

| P ¹ | E ² | Edad | Trombofilia | Tratamiento previo | Tratamiento embarazo | Tratamiento parto | Tratamiento postparto | SG | Resultado | Complicaciones |
|----------------|----------------|------|---------------------------------------|-----------------------------|--------------------------------------|------------------------------|--------------------------------------|----|-------------------------------------|----------------|
| 1 | 1 | 27 | Heterocigota FVL Heterocigota FXII | No | No | No | No | | Feto muerto | Feto muerto |
| 2 | 29 | No | No | HBPM terapéutica | HBPM profiláctica | | | 38 | Niño vivo | No |
| 3 | 30 | No | No | HBPM terapéutica Y ATIII | HBPM profiláctica | HBPM profiláctica | HBPM terapéutica | 38 | Niño vivo | No |
| 2 | 1 | 25 | No | No | No | No | No | | Niño vivo | No |
| 2 | 30 | No | No | No | No | No | No | 38 | Feto muerto | Feto muerto |
| 3 | 35 | No | Acenocumarol | HBPM terapéutica Y ATIII | HBPM profiláctica y ATIII | HBPM profiláctica y ATIII | HBPM terapéutica | 38 | Niño vivo | No |
| 3 | 1 | 21 | Heterocigota XII | No | No | No | | | Aborto precoz | Aborto precoz |
| 2 | 23 | No | No | No | No | No | No | | Niño vivo con malformaciones | Preeclampsia |
| 3 | 24 | No | No | No | No | No | | | Aborto precoz | Aborto precoz |
| 4 | 26 | No | No | No | No | No | | | Aborto precoz | Aborto precoz |
| 5 | | No | No | HBPM terapéutica | | | | | Aborto precoz | Aborto precoz |
| 4 | 1 | 30 | No | No | No | No | No | 37 | Gemelar: Niño vivo y feto muerto | Feto muerto |
| 2 | 31 | No | No | No | No | No | No | 38 | Niño vivo | No |
| 5 | 1 | 19 | Heterocigota FVL | No | No | No | No | 39 | Feto muerto | Feto muerto |
| 2 | 20 | No | No | HBPM terapéutica | HBPM profiláctica Y ATIII | HBPM profiláctica | HBPM terapéutica | 38 | Niño vivo | No |
| 6 | 1 | 19 | Heterocigota FVL | Acenocumarol | HBPM terapéutica Y ATIII | HBPM profiláctica y ATIII | HBPM terapéutica y ATIII | 38 | Niño vivo | No |
| 7 | 1 | 25 | No | No | No | No | No | 39 | Feto muerto | Feto muerto |
| 2 | 26 | No | No | No | No | No | | | Aborto precoz | Aborto precoz |
| 3 | 27 | No | No | No | No | No | No | 38 | Niño vivo | No |
| 4 | 29 | No | No | No | No | No | No | 39 | Niño vivo | No |
| 8 | 1 | 22 | No | Acenocumarol | HBPM terapéutica | HBPM profiláctica y ATIII | HBPM terapéutica y ATIII | 38 | Niño vivo | No |
| 2 | 31 | No | No | Acenocumarol | HBPM terapéutica | HBPM profiláctica y ATIII | HBPM terapéutica y ATIII | 38 | Niño vivo | No |
| 9 | 1 | 32 | No | Acenocumarol | Sintrom, HBPM terapéutica y ATIII | HBPM profiláctica y ATIII | Sintrom, HBPM terapéutica y ATIII | 38 | Niño vivo | Sangrado |
| 10 | 1 | 26 | No | No | HBPM terapéutica | HBPM profiláctica y ATIII | Sintrom, HBPM terapéutica y ATIII | 41 | Niño vivo | No |
| 11 | 1 | 30 | Deficit de PS | No | No | No | No | 38 | Niño vivo | No |
| 2 | 32 | No | No | No | No | No | | | Aborto precoz | Aborto precoz |
| 3 | 34 | No | No | No | No | No | | | Aborto precoz | Aborto precoz |
| 12 | 1 | 32 | No | No | HBPM terapéutica | HBPM profiláctica y ATIII | Sintrom, HBPM terapéutica y ATIII | 39 | Niño vivo | No |
| 2 | 36 | No | No | No | HBPM terapéutica | HBPM profiláctica y ATIII | HBPM terapéutica y ATIII | 39 | Niño vivo | No |

(Continúa en la página siguiente)

Tabla 1.

| P ¹ | E ² | Edad | Trombofilia | Tratamiento previo | Tratamiento embarazo | Tratamiento parto | Tratamiento postparto | SG | Resultado | Complicaciones |
|----------------|----------------|------|----------------------------------|-----------------------------------|---------------------------|---------------------------|-----------------------------------|----|------------------------|-----------------|
| 13 | 1 | 23 | Heterocigota FVL | No | No | No | No | 40 | Niño vivo | No |
| 14 | 2 | 34 | No | HBPM terapéutica | HBPM profiláctica | HBPM terapéutica | HBPM terapéutica | 39 | Niño vivo | No |
| 14 | 1 | 31 | No | No | No | No | No | | Gemelar: 2 Niños vivos | TVP puerperio |
| 2 | 3 | 33 | No | Sintrom, HBPM terapéutica y ATIII | HBPM profiláctica | HBPM profiláctica | Sintrom | | Niño vivo | No |
| 15 | 1 | 36 | Heterocigota FVL Homocigota FXII | No | No | No | No | No | Niño vivo | No |
| 2 | 4 | 41 | No | HBPM terapéutica | HBPM terapéutica ATIII | HBPM profiláctica y ATIII | Sintrom, HBPM terapéutica y ATIII | 39 | Niño vivo | No |
| 16 | 1 | 29 | Heterocigota XII | No | No | No | No | | Aborto precoz | TVP tras aborto |
| 2 | 3 | 32 | No | No | No | No | No | | Niño vivo | |
| 3 | 3 | 35 | No | No | No | No | No | | Niño vivo | TVP puerperio |
| 17 | 1 | 27 | Heterocigota XII | No | No | No | No | 40 | Niño vivo | No |
| 2 | 2 | 30 | No | No | No | No | No | 40 | Niño vivo | No |
| 3 | 3 | 36 | No | HBPM terapéutica | HBPM profiláctica y ATIII | HBPM profiláctica y ATIII | Sintrom, HBPM terapéutica y ATIII | 41 | Niño vivo | No |

nocumarol (previa terapia puente con ATIII y HBPM) y 8 HBPM (2 profilácticas y el resto terapéuticas 4 de ellas junto a ATIII). Como único efecto adverso se produjo un sangrado de herida de una cesárea en una de las pacientes con ATIII y HBPM.

De los embarazos, resultaron 30 nacidos vivos (16 tras terapia en la gestación); 7 tras cesárea. 20 recibieron anestesia epidural. Hubo 6 trombosis (3 durante el embarazo y 3 en el puerperio). Ninguna de ellas en pacientes con tratamiento.

Conclusiones: La incidencia de complicaciones obstétricas y trombosis en nuestra serie se muestra superior en las pacientes con déficit de ATIII a la esperable en la población general. La terapia anticoagulante (con HBPM asociada o no a ATIII y/o acenocumarol) durante la gestación, parto y puerperio se ha demostrado en nuestra experiencia como una estrategia eficaz evitando los efectos adversos con una aceptable seguridad.

PC-357 Calidad y estabilidad de la anticoagulación con fármacos antivitaminas K en pacientes que inician tratamiento por fibrilación auricular no valvular. Resultados del registro WATCHFUL

Rojas Noboa J. (1), Manzanares Pérez M. (2), Butron Calderón M. (1), Pérez Rodríguez M.Á. (1), Lujan Valencia J. (1), García Guerrero A. (1), León Jiménez J. (2), Recio Mayoral A. (1), Rodríguez Fernández A. (1)

(1) Hospital Universitario Virgen Macarena - Virgen del Rocío. Sevilla. (2) Hospital Jerez de la Frontera. Cádiz

Introducción: La efectividad y seguridad de los fármacos con anti-vitamina K (AVK) en pacientes con fibrilación auricular no valvular (FANV) está asociada con la estabilidad en los niveles de anticoagulación alcanzados desde el inicio.

Objetivos: El registro WATCHFUL evalúa la calidad de la anticoagulación en pacientes que iniciaron AVK en pacientes con FANV así como un seguimiento de las complicaciones tromboembólicas y hemorrágicas.

Material y métodos: Estudio de cohortes prospectivas, bicéntrico, que incluyó pacientes con FANV que iniciaban tratamiento anticoagulante con warfarina o acenocumarol durante el año 2013. Se realizó un seguimiento durante los 6 primeros meses de tratamiento del número total de controles así como los valores de INR. Evaluamos la calidad de anticoagulación mediante el tiempo total en rango terapéutico (TTRT), estimado mediante la fórmula de Rosendaal y se consideró un INR lábil cuando el TTRT era menor al 70%. También se registraron los eventos tromboembólicos y hemorrágicos.

Resultados: Se incluyeron 735 pacientes con una edad media de 73±10 años, con un 52.7% de mujeres. El promedio de visitas fue de 12.1±4.6, con 53.0±20.0% de visitas con un INR 2-3. En global el TTRT fue de 57.5±22.2%. Sin embargo en el análisis individual sólo 218 pacientes (32.0%) presentaban valores de

TTRT $\geq 70\%$. La mortalidad total que se encontró fue de un 2.5%. En el seguimiento se presentaron: eventos tromboembólicos en un 3.3% y de eventos hemorrágicos del 8.6%, asociándose de manera significativa con un control anticoagulante subóptimo.

Conclusiones: Durante los primeros meses de iniciada la terapia con AVK solo un 32% de los pacientes se encontraban en un rango adecuado, asociándose el control subóptimo con la aparición de eventos, tanto hemorrágicos con trombóticos, en el seguimiento.

PC-358 Implantación y evaluación de una estrategia para el manejo de tratamiento antiagregante plaquetario en el perioperatorio de la cirugía no cardiaca electiva

Dávila Valls J. (1), Bastida Bermejo J.M. (1), Rubio Babiano P. (2), Sánchez Crespo J. (2), Alonso Álvarez S. (1), Caballero Berrocal J.C. (1), Martín Herrero F. (3), Pabón Osuna P. (3), Lozano Sánchez F. (4), Sánchez Fernández P.L. (3), Vaquero Roncero L.M. (2), González Porras J.R. (1)

(1) Servicio de Hematología y Hemoterapia, (2) Servicio de Anestesiología y Reanimación, (3) Servicio de Cardiología y (4) Servicio de Angiología y Cirugía Vascul. Hospital Universitario de Salamanca. Salamanca

Fundamentos y objetivos: El manejo del tratamiento antiagregante plaquetario (AAP) en la pericirugía no cardiaca electiva es un dilema común y complejo; y se fundamenta en recomendaciones de expertos. Cada institución debería tener su protocolo específico ajustado a las condiciones locales y al perfil de riesgo de cada centro. El objetivo de nuestro estudio fue: valorar la implantación de un protocolo de manejo periquirúrgico de los AAP en cirugía no cardiaca electiva y comparar los resultados con los de

la “era pre-protocolo”, valorando su eficacia en cuanto a muerte, complicaciones trombóticas, hemorrágicas y estancia hospitalaria.

Pacientes y métodos: En enero de 2012 establecimos una guía consenso multidisciplinar del manejo periquirúrgico de los AAP (Tabla 1), adaptación de las guías CHEST 2012 y Sociedad Española de Anestesiología y Reanimación 2012, aprobada por el Comité Hospitalario de Trombosis y difundida a las Unidades Clínicas implicadas. Analizamos retrospectivamente aquellos pacientes antiagregados que recibieron una cirugía no cardiaca electiva (cirugía general, urológica, ORL, vascular y traumatología) en los periodos 2011-2013 (pre-implantación del protocolo) y 2013-2014 (post-implantación). La eficacia (objetivo primario) fue definida como evento combinado de muerte, trombosis venosa y arterial. La seguridad del tratamiento se definió como la incidencia de episodios hemorrágicos.

Resultados: Se analizaron 444 pacientes (61% hombres) con media de edad de 75 años e importante comorbilidad (Índice de Charlson=5,3). En el periodo pre-protocolo se evaluaron 259 pacientes y 185 durante el periodo post-protocolo. Los principales motivos de tratamiento AAP fueron: profilaxis primaria (33%), secundaria tras síndrome coronario agudo (29%) y secundaria tras ictus isquémico (13%). El fármaco AAP más empleado fue el ácido acetil-salicílico en monoterapia (N=338). El 67% de los pacientes eran de bajo riesgo trombótico. Las cirugías más frecuentes fueron: Traumatológica (36%), General (26%) y Urológica (19%). El 75% de las intervenciones fueron consideradas de moderado riesgo hemorrágico.

El grado de implantación del protocolo fue del 52% (p<0.05). Los principales motivos de no adherencia fueron: la retirada prequirúrgica del AAP en tiempo diferente al recomendado (17,5%), mantenimiento del AAP cuando lo indicado era suspenderlo (12,8%) o el empleo de terapia puente con heparina sin tener indicación de ello (12,6%). El objetivo primario ocurrió en el 34% de los pacientes (88/259) (pre-implantación) versus 23% (42/185) pacientes en el grupo post-implantación (p=0.005).

Tabla 1. Recomendaciones del manejo periquirúrgico de los AAP

| | Alto riesgo trombótico* | Moderado riesgo trombótico* | Bajo riesgo trombótico* |
|------------------------------|---|---|---|
| Alto riesgo hemorrágico* | – Demorar IQ hasta riesgo trombótico bajo – Mantener AAS ^{2,3} y suspender el 2.º antiagregante ⁴ | – Demorar IQ hasta riesgo trombótico bajo – Mantener AAS ^{2,3} y suspender el 2.º antiagregante ⁵ | – Suspender antiagregantes ⁶ |
| Moderado riesgo hemorrágico* | – Demorar IQ hasta riesgo trombótico bajo. – Mantener AAS ^{2,3} y valorar suspender el 2.º antiagregante ⁴ | – Demorar IQ hasta riesgo trombótico bajo. – Mantener AAS ^{2,3} y suspender el 2.º antiagregante ⁵ | – Suspender antiagregantes ⁶ |
| Bajo riesgo hemorrágico* | – Demorar IQ hasta riesgo trombótico bajo – Mantener los antiagregantes | – Demorar IQ hasta riesgo trombótico bajo – Mantener AAS ^{2,3} y suspender el 2.º antiagregante ⁵ | – Mantener AAS ⁷ |

*Definición de riesgo trombótico y hemorrágico según guías CHEST 2012. [1] Siempre que sea posible. [2] Cirugía intracraneal, canal espinal y cámara posterior del ojo, si es posible suspender los dos AAP. [3] Dosis altas de AAS sustituir por 100 mg/día. Si monoterapia con clopidogrel sustituir 7 días antes por AAS 100 mg/día. Tiempo de suspensión del segundo antiagregante: [4] Si riesgo trombótico alto: clopidogrel (5 días), prasugrel (7 días), ticagrelor (5 días), ticlopidina (14 días). [5] Si riesgo trombótico moderado: clopidogrel (7 días), prasugrel (10 días), ticagrelor (5 días), ticlopidina (14 días). [6] Si riesgo trombótico bajo: AAS (7 días), clopidogrel (10 días), prasugrel (12 días), ticagrelor (7 días). En cirugía semiurgente no demorable (fractura de cadera, vesícula) suspender AAS 3 días. [7] Como norma general procurar no interrumpir el tratamiento con AAS.

-Reintroducir los AAP suspendidos en las primeras 24 horas del postoperatorio, salvo sangrado activo. Si alto riesgo trombótico valorar reiniciar con dosis de carga.

La incidencia de complicaciones trombóticas fue 5.4% en el periodo pre-implantación y del 4.3% en el periodo post-implantación (63% vs 36%; p=0.605). La incidencia global de complicaciones hemorrágicas fue del 14.2%, siendo del 13.5% en el periodo pre-implantación versus 15.1% en el periodo post-implantación (56% vs 44% p=0.629). En la misma línea, la estancia media hospitalaria fue de 7.80±6.03 vs 6.71±5.2 días (p=0.045). En el análisis multivariado, la no adherencia al protocolo (p=0.027), la edad (p=0.041) y la presencia de cáncer activo (p=0.045) fueron predictores de complicaciones trombóticas. Los predictores de complicaciones hemorrágicas fueron: la no adherencia al protocolo (p=0.03) y la edad (p=0.049).

Conclusiones: La elaboración, implantación y divulgación de un protocolo asistencial de manejo perioperatorio de los AAP permite disminuir las complicaciones y la estancia media hospitalaria, con su importante repercusión económica.

PC-359 Niveles de apixaban y rivaroxaban determinados mediante el test de actividad anti-Xa y de dabigatran mediante el test de test de trombina diluida (TTD): análisis de resultados en nuestro centro

Costa-Pinto Prego de Faria M.J., Herrero Maeso B., Gómez del Castillo Solano M.C., Fernández Docampo M., Vázquez Vázquez M.G., Iglesias Lema M.T., Gestal Gómez P., López Fernández M.F.

Servicio de Hematología y Hemoterapia. Xerencia Xestión Integrada A Coruña. A Coruña

Introducción: Los anticoagulantes orales con dianas terapéuticas específicas (ACODs) no necesitan monitorización rutinaria. Sin embargo, en algunas situaciones especiales la determinación de sus niveles en plasma puede ser útil. De momento se desconocen sus rangos terapéuticos idóneos y si existe correlación de los mismos con el riesgo hemorrágico o trombótico. Los test globales aportan poca información y son inespecíficos.

Los datos disponibles sobre los niveles de los ACODs (anti-FXa y el TTD) están basados en estudios farmacocinéticos efectuados en sujetos normales o estudios exvivo.

Objetivo: El objetivo de este estudio es evaluar los niveles “pico” y “valle” de anti-FXa para los anticoagulantes que actúan inhibiendo el FXa y el TTD para los de acción directa sobre la trombina en pacientes con fibrilación auricular no valvular.

Métodos: Para cuantificar el rivaroxaban y el apixaban se utilizó el test Technochrom anti-Xa (Technoclone GMBH) y para el dabigatran el test Direct Thrombin Inhibitor Assay (Instrumentation Laboratory). Se calculó el rango de concentración con la media geométrica (percentiles 5 y 95) y se comprobó la ocurrencia de eventos trombóticos o hemorrágicos y la presencia de factores de riesgo en pacientes fuera de los rangos teóricos (sujetos normales en estudio farmacocinéticas).

Tabla 1. Resultados de los pacientes tratados con rivaroxaban

| Casos | Dosis rivaroxaban | Nivel Anti-Xa en valle (ng/mL) | Nivel Anti-Xa en pico (2horas) (ng/mL) | Eventos trombóticos | Hemorragias | Edad | FG (mL/min) |
|-----------------|-------------------|--------------------------------|--|----------------------|------------------|------|-------------|
| 1 | 15 mg/24h | 2,68 | 96,58 | | | 96 | 35 |
| | | 11,05 | 128,73 121,66 | | | | |
| 2 | 15 mg/24h | 15,69 | 147,86 | Isquemia arterial MI | | 89 | 29 |
| | | 40,66 | 295,93 | | | | |
| | | 5,05 | 140,49 | | | | |
| 3 | 15 mg/24h | 56,02 | 202,99 | | Hematuria | 81 | 57 |
| 4 | 15 mg/24h | 0 | 171,87 | TIA | | 92 | >60 |
| Rango observado | | 19 (1-51) | 155 (105-263) | | | | |
| Rango teórico | | 57 (18-136) | 229 (178-313) | | | | |
| 5 | 20mg/24h | 8,28 | 143,29 | | Epistaxis | 55 | 46 |
| 6 | 20mg/24h | 9,49 | 34,84 | | | 69 | >60 |
| 7 | 20mg/24h | 44,56 | 169,45 | | | 81 | 51 |
| 8 | 20mg/24h | 86,13 | 219,28 | ACV | Hematuria franca | 81 | 51 |
| 9 | 20mg/24h | 56,87 | 359,58 | | | 74 | >60 |
| 10 | 20mg/24h | 93,28 | | | | | |
| 11 | 20mg/24h | 25,14 | 104,73 | TIA | | 81 | >60 |
| 12 | 20mg/24h | 0,88 | 77,86 | | | 74 | >60 |
| 13 | 20mg/24h | 13,63 | 147,54 | | | 77 | >60 |
| 14 | 20mg/24h | 5,26 | 135,75 | | hematoma | 80 | >60 |
| 15 | 20mg/24h | 23,08 | 216,46 | | | 81 | >60 |
| 16 | 20mg/24h | 78,51 | 223,27 | | | 75 | 57 |
| 17 | 20mg/24h | 40,25 | 138,99 | | | 74 | 54 |
| 18 | 20mg/24h | 31,08 | 119,11 | | | 77 | >60 |
| 19 | 20mg/24h | 51,3 | 153,04 | | | 81 | 53 |
| 20 | 20mg/24h | 78,47 | 346,11 | | | 66 | >60 |
| 21 | 20mg/24h | 55,01 | 274,34 | ACV | | 69 | 50 |
| 22 | 20mg/24h | 65,05 | 338,38 | | | | |
| 23 | 20mg/24h | 67,53 | 396,57 | | | | |
| Rango observado | | 29 (5-87) | 172 (71-365) | | | | |
| Rango teórico | | 44 (12-137) | 249 (184-343) | | | | |

ACV: accidente cerebro-vascular; FG: filtrado glomerular; MI: miembro inferior; TIA: accidente isquémico transitorio.

Resultados: Se analizaron 54 muestras pertenecientes a 19 pacientes tratados con rivaroxaban. Los rangos de concentración observados son menores que los teóricos (Tabla 1). Trece pacientes presentaban concentraciones fuera del rango teórico. Cinco pacientes han presentado eventos trombóticos durante el tratamiento. Dos tenían valores en rango y 3 valores bajos, dudándose del cumplimiento terapéutico de uno de ellos (Tabla 1). Cuatro pacientes presentaron hemorragias en relación a otras comorbilidades. Seis de estos pacientes tenían más de 80 años.

Tabla 2. Resultados de los pacientes tratados con apixaban

| Casos | Dosis apixaban | Nivel Anti-Xa en valle (ng/mL) | Nivel Anti-Xa en pico (2horas) (ng/mL) | Eventos trombóticos | Hemorragias | Edad | FG (mL/min) |
|-------------------|----------------|--------------------------------|--|---------------------|---------------|------|-------------|
| 1 | 2,5mg/12h | 118,63 | 148,45 | | Epistaxis | 79 | >60 |
| | | 63,67 | 68,94 | | | | |
| 2 | 2,5mg/12h | 109,87 | 196,95 | | | 87 | 40 |
| | | 66,3 | 160,64 | | | | |
| 3 | 2,5mg/12h | 125,9 | 236,86 | | | 88 | 25 |
| 4 | 2,5mg/12h | 75,44 | 135,98 | | | 74 | 58 |
| 5 | 2,5mg/12h | 45,96 | 117,28 | | | 81 | >60 |
| 6 | 5mg/12h | 57,03 | 162,62 | | | | |
| Rangos observados | | 78 (50-123) | 145 (86-223) | | | | |
| Rangos teóricos | | 79 (34-162) | 123 (69-221) | | | | |
| 7 | 5mg/12h | 290,2 | 543,09 | | | 87 | 40 |
| 8 | 5mg/12h | 112,36 | 320,78 | | | 71 | >60 |
| 9 | 5mg/12h | 60,55 | 171,58 | | | | |
| 10 | 5mg/12h | 10,97 | 104,1 | | | | |
| 11 | 5mg/12h | 197,38 | 284,07 | | | 70 | 55 |
| 12 | 5mg/12h | 145,56 | 179,68 | | | | |
| 13 | 5mg/12h | 91,85 | 105,1 | | | 79 | 56 |
| 14 | 5mg/12h | 68,49 | 209,24 | | | | |
| 15 | 5mg/12h | 331,56 | 395,68 | | Gingivorragia | 60 | >60 |
| Rangos observados | | 103 (31-315) | 223 (105-489) | | | | |
| Rangos teóricos | | 103 (41-230) | 171 (91-321) | | | | |

FG: filtrado glomerular.

Se analizaron 34 muestras pertenecientes a 9 pacientes tratados con apixaban. Los rangos de concentración observados son similares a los teóricos (Tabla 2). Cinco pacientes están fuera de rango. No se han observado eventos trombóticos y en 2 pacientes se observaron hemorragias leves (Tabla 2).

Se analizaron 46 muestras de 31 pacientes a tratamiento con dabigatran, con hora de extracción desconocida en relación con la toma de medicación. El paciente con el valor más alto presentaba rectorragias de repetición, en relación con cáncer y otro paciente con concentración alta tuvo un accidente isquémico transitorio. En ambos casos presentaban insuficiencia renal.

Conclusión: Estos datos preliminares, con una muestra muy limitada, sugieren que en la práctica clínica en los pacientes con comorbilidades y complicaciones, puede ser útil la monitorización de ACODs.

PC-360 Uso continuado de tinzaparina sódica a dosis terapéuticas en la profilaxis de la ETEV en pacientes con contraindicación a AVK y/o cáncer

Morente Constantín E., Romero Martínez F.J., Garrido Collado M.P., García Ruiz M.A., Gómez Morales M., Gutiérrez Pimentel M.J., Alba Sosa Á.M., Jurado Chacón M.
Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada

Objetivos: El estudio busca evaluar la eficacia de tinzaparina a dosis terapéuticas para prevenir ETEV cuando hay fallo renal, cáncer o contraindicación a ACO por diversas causas.

La HBPM se administra a dosis fijas como trombopprofilaxis o ajustada a peso para un efecto terapéutico. No suele requerir monitorización de laboratorio, aunque podría hacerse en el fallo renal, pesos extremos o embarazo, determinando la actividad anti-Xa, 4 horas tras su administración subcutánea (coincidiendo con el pico de actividad). El intervalo terapéutico de la anti-Xa, cuando la HBPM se administra cada 12 horas, está entre 0,6 y 1 UI/mL. El objetivo de la actividad anti-Xa cuando la HBPM se administra en dosis única al día está menos claro, pero parece situarse por encima de 1 UI/mL.

La HBPM es de elección en el embarazo. Múltiples estudios *in vitro* e *in vivo* han mostrado su efecto antineoplásico, de hecho se usa comúnmente para el tratamiento prolongado de la ETEV asociada a cáncer.

Material y métodos: Analizamos los pacientes anticoagulados de nuestra consulta en tratamiento continuo con HBPM en sustitución de AVK en los 2 últimos años, por intolerancia o contraindicación a los mismos y/o cáncer. 5 casos nunca tomaron AVK. Todos recibieron 175UI/kg/24h de tinzaparina inicialmente y se ajustó la dosis con niveles de anti-Xa determinados mensualmente. El tratamiento continuado con HBPM varió entre 4 años y varios meses (media: 2 años). Se valoraron complicaciones hemorrágicas y trombóticas y otros efectos secundarios. Se monitorizaron fibrinógeno, TTPA, plaquetas y aclaramiento de creatinina.

Resultados: Recibieron tinzaparina 54 pacientes, 28 hombres y 26 mujeres (edades: 30 a 95 años). Como motivo de anticoagulación principal destacan: FA y flúter (con o sin valvulopatía), la ETEV (con o sin trombofilia), ictus y AIT y prótesis mecánicas (a veces dobles). Se han recogido 1 resistencia y 1 reacción alérgica a los AVK. 4 pacientes eran gestantes y 14 tenían fallo renal. Antes de tratar se realizaron hemograma, coagulación básica y bioquímica para valorar función renal. El seguimiento se hizo hasta el 31/5/2015. Quince casos (11 anticoagulados por FA, 1 por prótesis mecánica y 3 por TVP, 1 de los cuales también tuvo un TEP) presentaban cáncer: 2 MM, 1 LMA, 1 LMMC, 3 tumores renales, 1 de pulmón, 3 de próstata, 1 de hígado, 1 de colon, 1 de endometrio y 1 leiomioma retroperitoneal. Un paciente con SMD estaba con HBPM por trombosis portal.

Salvo las gestantes (sólo trombofilias) todos tenían comorbilidades: ICC, IAM, HTA, EPOC, SAOS, HTP, hepatopatías, enfermedades autoinmunes, DM2, dislipemia, etc.

En cuanto a efectos adversos, hubo 5 eventos hemorrágicos: 3 hemorragias mucosas, 1 hemoptisis y 1 sangrado en la zona de punción, que no requirieron retirada. Hubo 3 eventos trombóticos: 2 ictus en un paciente y 1 TVP en otro. Tras estos eventos, se ajustó la dosis de HBPM con nuevas determinaciones de anti-Xa (Figuras 1 y 2).

Conclusiones: Los resultados confirman la eficacia, seguridad y rentabilidad de la HBPM de forma continua para prevenir ETEV, asocie o no cáncer, en pacientes que requieren anticoagulación estando contraindicados los AVK. La determinación de anti-Xa es muy útil para ajustar dosis.

Estudios posteriores proporcionarán datos valiosos para apoyar el uso de la HBPM como tratamiento anticoagulante permanente en pacientes que, por su patología de base, lo requieran.



Figura 1.



Figura 2.

PC-361 ¿Es efectiva la profilaxis antitrombótica en los abortos de repetición independientemente de la presencia de anticuerpos antifosfolípidos?

Serrano Chacón M.D., Pedrote Amador B., Jiménez Bárcenas R., Gallo Caverro D., Rodríguez Martorell F.J., Núñez Vázquez R., Pérez Garrido R., Pérez Simón J.A.

Hospital Universitario Virgen del Rocío. Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBIS) /CSIC/Universidad de Sevilla. Sevilla

Introducción: En las mujeres con anticuerpos antifosfolípidos (AAF) positivos y abortos de repetición se recomienda sistemáticamente la profilaxis antitrombótica con heparina de bajo peso molecular (HBPM) durante la gestación. Sin embargo, en las pacientes con abortos de repetición que no presentan AAF positivos, no existe el mismo nivel de evidencia y consenso en cuanto a la actitud terapéutica, aunque las últimas guías recomiendan valorar la trombopprofilaxis en esta situación.

Objetivo: El objetivo del trabajo es comparar las complicaciones obstétricas tras la realización de profilaxis con HBPM en abortadoras de repetición con AAF positivos y en pacientes sin trombofilia.

Métodos: Recogida retrospectiva de pacientes que han realizado profilaxis antitrombótica durante la gestación por motivos hematológicos u obstétricos, seguidas en nuestra consulta durante el segundo semestre de 2014. De ellas se seleccionaron las pacientes con SAF y las que no presentaban trombofilia.

En las pacientes con SAF (n=31) la mediana de edad era 36 (rango 22-41). En todas ellas se había evaluado la presencia de AAF por haber presentado complicaciones gestacionales, en ningún caso por antecedentes trombóticos. Se trataba, por tanto, de SAF obstétrico en todos los casos. De ellas, 26 pacientes presentaban abortos de repetición (83.8%), 4 muerte fetal intraútero (MFIU) y 1 preeclampsia.

Entre las pacientes sin trombofilia (n=36), la mediana de edad era 36 (rango 24-46). El motivo de realización de profilaxis fue: abortos de repetición en 27 casos (75%), 1 crecimiento intrauterino retardado, 1 desprendimiento de placenta y 7 antecedentes de enfermedad tromboembólica (6 venosa y 1 arterial).

Resultados: Todas las pacientes realizaron profilaxis con HBPM con dosis inicial ajustada por peso y posteriormente por niveles de actividad antifactor X activado (aXa) durante toda la gestación y el puerperio. En el grupo de pacientes con AAF posi-

tivos, se objetivaron 2 fenómenos trombóticos venosos, 1 preeclampsia y 1 aborto (3.2%). En el grupo de pacientes sin trombofilia no hubo ningún evento trombótico, 1 CIR y 1 aborto (2.7%). Por tanto, frente a un 83.8% de abortos previos en las pacientes con SAF y un 75% en las pacientes sin trombofilia, tras la profilaxis con HBPM se produjo un descenso de los abortos a un 3.2% en primer grupo y un 2.7% en el segundo, con una reducción del riesgo relativo del 96% y 96.4% respectivamente. No hubo complicaciones hemorrágicas durante el tratamiento con HBPM.

Conclusiones: En nuestra serie la profilaxis con HBPM ha sido efectiva y segura en la reducción del riesgo de aborto en pacientes con abortos de repetición previos independientemente de la presencia o no de AAF.

PC-362 Relación entre mutación heterocigota factor XII y pérdidas fetales recurrentes

Blázquez Goñi C. (1), Letran Merino J.C. (2), Soldevilla S. (3), Timmermans E. (3), Campos Álvarez R. (1)

(1) Servicio de Hematología. Hospital de Jerez. Cádiz. (2) Estudiante Medicina UCA. Cádiz. (3) Servicio de Obstetricia y Ginecología. Hospital de Jerez. Cádiz

Introducción: La mutación homocigota de factor XII puede asociarse a abortos de repetición, trombosis y complicaciones vasculares gestacionales, no siendo clara esta asociación en el caso de las mutaciones heterocigotas.

Objetivo: Analizar una población con mutación heterocigota del factor XII y ver la relación entre ésta y abortos de repetición, así como el beneficio de la profilaxis antitrombótica.

Material y método: Estudio retrospectivo y descriptivo de pacientes con edades entre 18-45 años con mutación heterocigota del Factor XII con abortos de repetición entre Febrero de 2011 y Febrero de 2015, incluidas dentro del Protocolo de Trombofilia y embarazo del Hospital de Jerez.

Resultados: Se estudiaron 76 pacientes con un total de 271 gestaciones (media de 2,59 gestaciones por paciente (1-8)). Todas las pacientes presentaban la mutación heterocigota para el Factor VIII, pero 28 (36,2%) presentan una trombofilia asociada como se muestra en **Tabla 1**.

En 177 gestaciones (65,3%) acontecieron pérdidas fetales y en 94 (34,7%) no. De estas pérdidas fetales, en 62 (35%) presentaba

Tabla 1.

| | | | Trombofilia asociada | | | | | | | Total |
|--|---------------------------|--|----------------------|-------------------|---------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------|--|--------|
| | | | 0,E0 | Mutación V Leyden | Mutación Gen Homocisteína | Mutación gen Protombina | Síndrome antifosfolípido | Déficit proteína S | antibeta2 glicoproteína 1 (IgM) a título elevado | |
| Presenta heterocigosis para factor XII si o no | si presenta heterocigosis | Recuento | 173 | 23 | 16 | 7 | 35 | 10 | 7 | 271 |
| | | % dentro de Presenta heterocigosis para factor XII si o no | 63,8% | 8,5% | 5,9% | 2,6% | 12,9% | 3,7% | 2,6% | 100,0% |
| Total | | Recuento | 173 | 23 | 16 | 7 | 35 | 10 | 7 | 271 |
| | | % dentro de Presenta heterocigosis para factor XII si o no | 63,8% | 8,5% | 5,9% | 2,6% | 12,9% | 3,7% | 2,6% | 100,0% |

otra trombofilia asociada. 223 gestaciones (82%) no recibieron tratamiento antitrombótico de ningún tipo, presentando 167 abortos (74,9% de casos sin tratamiento), y en un 25,1% no se produjo aborto (56 gestaciones, de las cuales hubo 3 CIR, 1 infarto placentario, 1 hemorragia placentaria 1 desprendimiento prematuro de placenta 1 muerte fetal tardía). Existe un menor número de abortos en pacientes que realizan algún tipo de tratamiento (AAS, HBPM o ambos) (23,4%) que en las que no lo realizan (76,6%). Los recién nacidos a término presentaron un peso adecuado siendo la mediana de 3,100 kg (0,600-3,750) y Test de Apgar con una mediana de 9 (0-10). No se observaron complicaciones hemorrágicas ni de trombosis.

Conclusión: Aunque no pudo establecerse una relación estadística entre la mutación heterocigota del Factor XII y las pérdidas fetales recurrentes, sí se observa que las pacientes con tratamiento profiláctico antitrombótico presentan menor número abortos.

PC-363 Manejo perioperatorio de pacientes anticoagulados: experiencia en nuestro centro

Rojas Noboa J., Domínguez Velasco N., García Díez M., González Ruano J., Kestler González K., Rodríguez Fernández A. Hospital Universitario Virgen Macarena - Virgen Rocío. Sevilla

Introducción: El manejo perioperatorio y/o periprocedimientos invasivos en pacientes anticoagulados de manera crónica es problemático, tanto por las implicaciones que tienen en la práctica anestésica, como por la dificultad de optimizar el balance hemorragia-trombosis en función del mantenimiento o retirada de la anticoagulación oral en dicho período. Aproximadamente un 10% de los pacientes con tratamiento anticoagulante requieren interrupción de su tratamiento para procedimientos quirúrgicos o invasivos. No se cuenta con estudios clínicos adecuados por lo que las recomendaciones no son de buena calidad. El fármaco más utilizado para la terapia puente es la heparina, de elección la de bajo peso molecular (HBPM), puesto que el manejo es más fácil que el de la no fraccionada (HNF).

Material y métodos: Se estudiaron 57 pacientes en tratamiento anticoagulante oral (TAO) a largo plazo que necesitaban recibir una terapia puente por un procedimiento invasivo.

Resultados: Los datos demográficos de estos pacientes se recogen en la **Tabla 1**. Las comorbilidades más relevantes de esta revisión se recopilan la **Tabla 2**.

De estos pacientes un 60% estaba en rango terapéutico en el momento de establecer la terapia puente. Los motivos de TAO y los Servicios que realizaron las interconsultas se muestran en las siguientes gráficas (**Figuras 1 y 2**).

Durante la terapia puente se utilizaron las siguientes HBPM: enoxaprina (33%), tinzaparina (16%) y bemiparina (51%).

En estos pacientes se suspende la ACO 5 días antes y se inicia HBPM 3 días antes de la intervención a dosis terapéuticas, el día antes de la intervención el 91% de los pacientes usaron dosis terapéutica por la mañana, 7% no se administran nada y 2% a dosis profiláctica por la mañana.

Tabla 1.

| | N=57 |
|------------------------|--------------|
| Sexo (varones/mujeres) | 37/20 |
| Edad (media ± DS) | 72±8 (64-80) |
| Diagnóstico FA | 37 |
| CHA2DS2-VASc (0-9) | 2.5 |
| HAS-BLED (0-9) | 2.6 |
| MG Warfarina/semana | 30.6 |

Tabla 2.

| Comorbilidades (%) | |
|---------------------|-----|
| HTA | 51 |
| Diabetes | 16 |
| Insuficiencia renal | 12 |
| ACV/ICTUS | 7 |
| I. Cardíaca | 3,5 |
| Trombofilia | 3,5 |

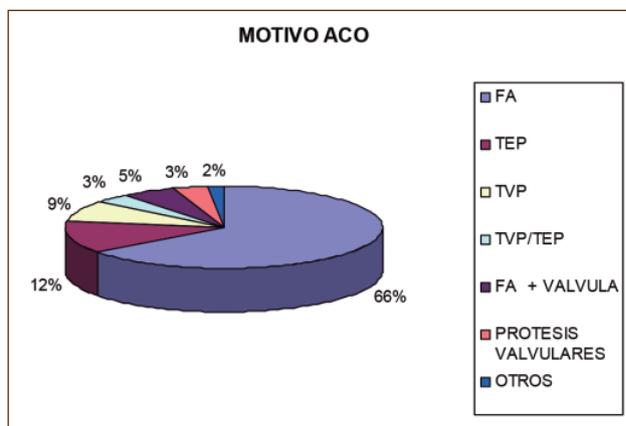


Figura 1.

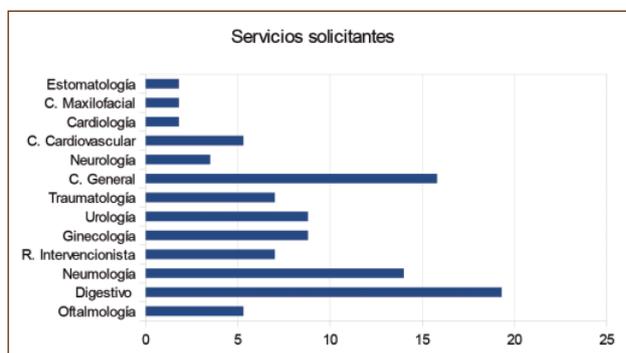


Figura 2.

Tabla 3.

| | -3 | -2 | -1 | 0 | +1 | +2 |
|-----------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Nada | 7% | 7% | 7% | 77% | 9% | 5% |
| Heparina terapéutica | 81% | 86% | 91% | 12% | 30% | 16% |
| Heparina profiláctica | 7% | 7% | 2% | 10% | 23% | 10% |
| ACO+HBPM | 5% | - | - | - | 38% | 67% |
| ACO | - | - | - | - | - | 2% |

El día del procedimiento a un 77% de los pacientes no se les administró ningún tratamiento, a un 12% HBPM a dosis profiláctica y a un 10% se reinicia anticoagulación oral.

En la **Tabla 3**, se detallan el porcentaje de paciente según el tipo de tratamiento en el perioperatorio.

En esta revisión no existen eventos trombóticos en los pacientes durante el periodo perioperatorio, de cierto modo podría estar explicado porque los pacientes están protegidos en su mayoría con heparina a dosis terapéutica. Del total de nuestros pacientes, sólo un 7% (4 pacientes) presentaron eventos hemorrágicos leves como epistaxis, hematuria y sangrado genital, sin necesidad de terapia adyuvante.

Conclusiones: La utilización de las HBPM es controvertido, por lo general se recomienda dosis terapéuticas en pacientes con alto riesgo trombótico con una última dosis 24 horas antes de la intervención. En pacientes con riesgo trombótico bajo o moderado se prefiere utilizar HBPM a dosis profilácticas. Es indispensable efectuar una valoración individualizada de cada paciente para evaluar el riesgo hemorrágico asociado a cada procedimiento y el riesgo de fenómenos trombóticos, embólicos y mortalidad cardiovascular asociada con la suspensión de dichos medicamentos. Además es imprescindible conocer la farmacología de los fármacos de las terapias antitrombóticas. Sólo de esta manera se logrará ofrecer la mejor opción terapéutica a cada paciente.

PC-364 Reducción del riesgo de complicaciones trombóticas y obstétricas en gestantes con trombofilia hereditaria o adquirida en profilaxis antitrombótica

Pedrote Amador B., Serrano Chacón M.D., Jiménez Bárcenas R., Gallo Caverro D., Rodríguez Martorell F.J., Núñez Vázquez R., Pérez Garrido R., Pérez Simón J.A.

Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla

Introducción: El uso de profilaxis antitrombótica durante el embarazo es controvertido, existiendo diversas recomendaciones en diferentes guías. Donde sí hay consenso es en que las pacientes con trombofilia de alto riesgo trombótico deben recibir profilaxis con heparina de bajo peso molecular (HBPM).

Objetivo: El objetivo del trabajo es revisar las complicaciones trombóticas y obstétricas en pacientes gestantes con trombofilia en profilaxis con HBPM y calcular la reducción del riesgo relativo de las mismas.

Métodos: Se han evaluado 109 pacientes con trombofilia durante el segundo semestre de 2014. Mediana de edad 36 años (rango 22-45). La trombofilia hereditaria más frecuente fue la mutación heterocigota G20210A del gen de la protrombina (n=18). En cuanto a trombofilia adquirida, la más frecuente fue el síndrome antifosfolípido (SAF), con 29 pacientes. La distribución según el tipo de trombofilia puede consultarse en la **Tabla 1**. Diez pacientes tenían antecedentes personales de enfermedad tromboembólica venosa previa (9.2%); no había antecedentes de trombosis arterial. En 40 pacientes había antecedentes familiares de trombosis. Setenta y seis pacientes habían presentado abortos previos (69.7%). En cuanto a las complicaciones vasculares de la gestación (CVG) previas sumaban un total de 48 (44%): 37 abortos de repetición; muerte fetal intraúte-

Tabla 1. Características de las pacientes con trombofilia

| Trombofilia | N | Abortos previos (n) | ETEVEV previa (n) | ETEVEV en embarazo actual (n) | CVG previas (n) | CVG en embarazo actual (n) |
|---------------------|-----|---------------------|-------------------|-------------------------------|-----------------|----------------------------|
| AT | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| PC | 2 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| PS | 13 | 9 | 0 | 0 | 7 | 0 |
| FVL | 13 | 5 | 2 | 1 | 2 | 2 |
| PT | 18 | 9 | 4 | 0 | 5 | 0 |
| FXII | 4 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| MTHFR | 10 | 9 | 0 | 0 | 4 | 2 |
| HCY | 5 | 5 | 0 | 0 | 4 | 1 |
| SAF | 29 | 25 | 0 | 0 | 18 | 1 |
| Defectos combinados | 14 | 10 | 2 | 0 | 7 | 1 |
| TOTAL | 109 | 76 | 10 | 2 | 48 | 7 |

AT: déficit de antitrombina; PC: déficit de proteína C; PS: déficit de proteína S; FVL: factor V Leiden heterocigoto; PT: protrombina 20210 heterocigoto; FXII: mutación C46T FXII; MTHFR: mutación C677T homocigoto; HCY: homocisteinemia no hereditaria; SAF: síndrome antifosfolípido.

ro (MFIU) en 6 pacientes, desprendimiento de placenta (DPPNI) en 2; preeclampsia en 2; crecimiento intrauterino retardado (CIR) en 1.

Resultados: Todas las pacientes realizaron profilaxis antitrombótica con HBPM con dosis inicial ajustada por peso y posteriormente por niveles de actividad antifactor X activado (aXa) durante la gestación y el puerperio. El tipo de trombofilia y los antecedentes personales o familiares marcaron el momento de inicio de la profilaxis. En caso de SAF o preeclampsia previa se añadió también ácido acetil salicílico (AAS) a dosis bajas. Se produjeron dos eventos trombóticos (1.8%) a pesar de la profilaxis: una trombosis venosa profunda (TVP) y un embolismo pulmonar (EP), ambos en el puerperio. Se objetivaron 7 CVG (6.4%): 5 CIR y 2 preeclampsias. Ninguna de ellas terminó en aborto o MFIU. Sólo se produjeron 3 abortos (2.7%). Todos ellos en pacientes con abortos de repetición previos. No hubo complicaciones hemorrágicas durante el tratamiento con HBPM.

Conclusiones: En nuestra serie, la profilaxis antitrombótica con heparina durante la gestación y el puerperio en mujeres con trombofilia hereditaria y adquirida ha resultado eficaz y segura, con una reducción del riesgo relativo del 80% para las complicaciones trombóticas y del 85.5% para las complicaciones obstétricas.

PC-365 Desarrollo de un programa de telecontrol en el ámbito de la anticoagulación oral con AVK

Gómez Crespo M.J. (1), Pascual A. (2), Askari E. (1), Vidal Laso R. (1), Miranda C. (3), Martos R. (4), Patrignani N. (2), Beltrán P. (2), Morillo D. (4), Velasco A. (3), Llamas Sillero P. (1)

(1) Fundación Jiménez Díaz. Madrid. (2) Hospital Infanta Elena. Madrid. (3) Hospital de Móstoles. Madrid. (4) Hospital de Villalba. Madrid

Introducción: El tratamiento anticoagulante oral (TAO) se ha incrementado en patologías cardiovasculares. Es de elección en un 1,7-2% de la población y hasta un 8% en mayores de 65 años. Existe un consenso internacional que avala el telecontrol como elemento clave en un mejor control del TAO.

Objetivo: a) Describir y poner en marcha un circuito de desarrollo de un programa de telecontrol, criterios de inclusión y beneficios; e b) incidir en la importancia de la educación sanitaria a pacientes y formación de enfermería para una atención individualizada.

Material y métodos: *Telecontrol de TAO:* constituye un proyecto basado en el control del INR por el paciente en su domicilio con un coagulómetro portátil. Previamente el paciente recibe formación presencial con prescripción de la pauta por el hematólogo que recibe vía informática. Dentro de las acciones para la puesta en marcha destaca la selección individual de pacientes que acepten voluntariamente, la formación de pacientes y enfermería, la elección de un responsable de la unidad encargado de organizar la formación, suministro de material y dudas telefónicas y evaluaciones médicas semestrales.

El médico debe seleccionar de forma individual a los pacientes que cumplan los criterios de inclusión generales: mínimo tres

meses de tratamiento y compromiso con las características del programa. Criterios clínicos: indicación crónica en pacientes de alto riesgo y criterios sociales: pacientes motivados, capaces de manejo informático, etc.

En situaciones especiales (complicación trombótica o hemorrágica, gestación, cirugía) deben acudir al hematólogo para el ajuste de la pauta.

Hay que crear una unidad de referencia integrada por médicos y enfermeras; el médico prescribe la pauta y realiza la formación a enfermería y seguimiento presencial semestral del paciente. Enfermería se encarga de la educación activa de los pacientes, entrega del material y resolución de dudas telefónicas.

La empresa farmacéutica proporciona los coagulómetros y el material necesario. El paciente firmará un consentimiento comprometiéndose a su devolución si sale del programa o hace un mal uso.

Este programa tiene ventajas importantes como la autonomía, facilidad de uso, mayor adherencia al tratamiento, calidad de vida y reducción de costes sanitarios (Figura 1).

Las razones más importantes son la *seguridad* y la *accesibilidad*. *Descripción del circuito informático:* en el programa TAO se selecciona en Sintromac como TEL (telecontrol) y se le prescribirá el tratamiento que se transmite a Casiopea 2 (Figura 2).

Al paciente se le incluye en servicio no presencial generando un formulario que se transmite al Portal del Paciente vía web (acceso desde domicilio) dónde recibe la pauta prescrita y puede introducir el resultado del INR. Es fundamental un sistema informático que permita la integración entre el programa de prescripción de TAO y el portal del paciente.

Conclusiones: El programa de telecontrol es un programa de innovación tecnológica asistiendo a los pacientes en el domicilio para control del TAO; juega un papel fundamental la formación del paciente y del personal de enfermería.

El telecontrol supone un mayor tiempo en rango terapéutico, menos complicaciones relacionadas con el tratamiento, mayor seguridad y comodidad para los pacientes. Supone además menor número de desplazamientos y reducción de costes para el sistema sanitario.

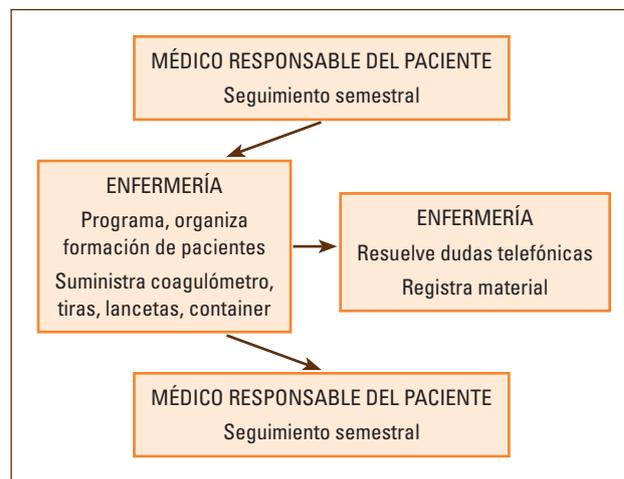


Figura 1. Circuito de telecontrol.

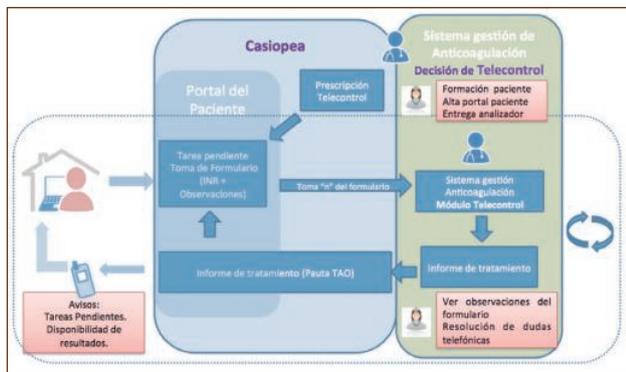


Figura 2. Casiopea.

Trombosis

PC-366 Manejo de la trombosis en la deficiencia congénita de FVII: descripción de un caso

Broce Cossu A., Jiménez Yuste V., Álvarez Román M.T., Martín Salces M., Rivas Pollmar I., Gasior M., Díaz Jordán B., Cortez Clemente S., Meijon M.M., Martínez Velandia A.
Hospital Universitario La Paz. Madrid

Introducción: La paradójica coexistencia de un trastorno hemorrágico congénito y un evento trombotico en un mismo paciente, ha despertado el interés científico desde 1983. En la literatura hay gran cantidad de casos descritos en los que, pacientes con diagnóstico de Hemofilia A y B, enfermedad de Von Willebrand y otros trastornos hemorrágicos congénitos raros, han presentado eventos tromboticos arteriales y venosos. En los últimos años, se ha hecho un énfasis especial en el estudio de la trombosis venosa en la deficiencia de Factor VII (FVII).

La deficiencia congénita de FVII es la más frecuente de los trastornos hemorrágicos congénitos raros. Se hereda de forma autosómica recesiva, se han descrito más de 120 mutaciones del gen y se asocia a una clínica hemorrágica muy heterogénea que no se relaciona con los niveles séricos del factor. Los estudios realizados hasta la fecha, sugieren que la trombosis en la deficiencia de FVII está directamente relacionada con la concurrencia con factores de riesgo protromboticos comunes: edad > 70 años, inmovilización, cirugía, terapia sustitutiva con FVII o CCP, Trombofilia; sin embargo también pueden experimentar, aparentemente, eventos tromboticos espontáneos.

Hasta la fecha hay publicados cerca de 30 casos de trombosis en pacientes con deficiencia de FVII, pero en la mayoría de ellos, la información acerca del tratamiento es limitada o no se ha reportado, por lo que el abordaje clínico de estos pacientes no está bien definido.

Caso clínico: Describimos el caso de un varón de 76 años con antecedentes de FA paroxística, diagnosticado en Octubre de 2014 de un infarto cerebral en territorio vertebrobasilar de etiología cardioembólica en el 7º día postquirúrgico por una fractura petrocanterica derecha. Recibía profilaxis antitrombótica con HBPM. Tras el diagnóstico nos consultan para valoración del tratamiento anticoagulante oral con acenocumarol. El estudio basal reveló un TP alargado y tras completar el estudio, se diagnosticó de deficiencia congénita leve de FVII. Cuando alcanzó un INR en rango se observó que los niveles de actividad del FVII bajaron desproporcionadamente mientras que la actividad de los otros factores dependientes de vitamina K se mantuvieron prácticamente normales, lo que le confirió, al mismo tiempo, un elevado riesgo hemorrágico y una anticoagulación inadecuada. Ante esta situación se decide suspender el tratamiento con AVK y sustituirlo por un inhibidor directo de Factor X con buena evolución a los 6 meses de seguimiento.

Discusión: En este trabajo revisaremos el papel del FVII dentro de la hemostasia, los aspectos principales de la deficiencia congénita del FVII como entidad clínica, las características generales de la trombosis en la deficiencia del FVII enfatizando en los mecanismos etiopatogénicos propuestos y otros casos descritos en la literatura.

Conclusiones: La deficiencia congénita de FVII no confiere protección frente a la trombosis. El manejo de la terapia sustitutiva, profilaxis antitrombótica, y tratamiento anticoagulante en estos pacientes está por definirse. En base a la literatura revisada y a los casos clínicos reportados, nuestra limitada experiencia, sugiere que la anticoagulación oral con AVK debe contraindicarse para el manejo de la trombosis en estos pacientes.

PC-367 Trombofilia en niños: ¿qué estamos estudiando? Experiencia de los últimos 5 años

Sevivas T., Oliveira A., Martinho P., Patrício D., Pinto C., Gonçalves E., Fidalgo T., Salvado R., Ribeiro L.

Serviço de Hematologia Clínica. Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra. Portugal

Introducción: Hasta hace unos años, el tromboembolismo (TE) se consideraba una rareza en la edad pediátrica, pero, actualmente es una realidad cotidiana en los hospitales pediátricos, aumentando la morbi-mortalidad y el coste de los cuidados médicos. A par de muchos estudios de trombofilia hereditaria que no se justifican, y que solo crían ansiedad en las familias, en determinadas circunstancias, es importante identificar factores de riesgo congénitos, por las implicaciones que pueden tener en la actitud terapéutica, en la profilaxis e en la intensidad y duración de las mismas.

Objetivo: Analizar los estudios de trombofilia (ET) efectuados en un periodo de 5 años en el Servicio de Hematología Clínica de nuestro hospital pediátrico (HP).

Material y métodos: En los últimos 5 años fueron realizados ET en 386 niños y adolescentes (167♀; 219♂) mediana de edad 9 (0-17) años. En Consulta de Hemostasia (CH) fueron observados 66 de esos casos (40♀; 26♂), mediana de edad 12 (0-17) años. En los pacientes con historia personal de trombosis se hizo un perfil funcional (PFT) y molecular (PMT) de trombofilia. En los pacientes sin historia personal, pero con historia familiar de trombosis (HFT) se pesquisó únicamente los factores de riesgo conocidos en la familia. Definimos como PFT la pesquisa de anticoagulante lúpico (DRV-VT) y la cuantificación de proteína S (PS) (inmunoturbidimetría), proteína C (PC) y antitrombina (AT) (sustratos cromogénicos); el PMT incluye la pesquisa de las mutaciones FV Leiden (FVL) y PRT20210GA (PRT) (alelic specific PCR) y, en los casos adecuados, estudio de SERPINC1, PROC y PROS (PCR/secuenciación). Los padres firmaron un consentimiento informado.

Resultados: Tablas 1 y 2.

Discusión: Las especialidades que solicitan, más frecuentemente, estudios de trombofilia en nuestro HP son la Hepatología (Hep) - 21% de los estudios y Hemato-Oncología (HO) - 17%. La CH es responsable por 17% de los pedidos.

Los pedidos de Hep tienen como principal objetivo la evaluación pretrasplante hepático. Por el tipo de patología de estos niños las deficiencias de anticoagulantes son adquiridas y múltiples, con una importancia más pronóstica que diagnóstica. Los pedidos en HO tienen como principal motivo el inicio de asparaginasa en el tratamiento de LLA. En este grupo el porcentaje diagnóstico de ET fue de un 3%. De los niños estudiados en CH obtuvimos un diagnóstico de trombofilia en el 34% de los pacientes, porcentaje significativamente elevado en comparación con las otras especialidades solicitantes. Este porcentaje crece para el 52% si nos centramos en el grupo de pacientes que con HFT, lo que sugiere que este será un criterio a tener en cuenta en los ET. Estos datos ratifican la importancia del papel del hematólogo en la investigación de TE. La CH es una consulta específica donde el médico realiza una cuidadosa historia clínica personal y familiar dirigida concretamente hacia problemas trombóticos, que representa la base fundamental para la selección de pacientes candidatos a ET resultando en una correcta orientación clínico-laboratorial, contribuyendo, consecuentemente, a un ahorro de recursos cada vez más escasos.

Tabla 1. Estudios de trombofilia en niños en el Hospital Pediátrico de Coimbra- últimos 5 años

| Pedidos por (especialidad) | Motivo | Diagnósticos | | | | | Total (confirmados) |
|----------------------------|---|--------------|-------|-----|-----|-----|---|
| | | dAT | dPC | dPS | FVL | PRT | |
| Hepatología= 82 | Evaluación pré-trasplante= 28 | 20* | 27* | 6* | | | Deficiencias adquiridas/ déficits múltiples |
| Hemato-Oncología= 65 | LLA pré- Asparaginasa= 41 | | 7* | | 2 | | 3%(2/65) |
| Ginecología= 33 | Evaluación de riesgo cardiovascular= 10 Inicio de anticoncepcional= 5 Historia familiar de trombosis= 5 | | | 1* | 3 | 2 | 15%(5/33) HF 40%(2/5) |
| Cardiología= 26 | Evaluación de riesgo cardiovascular= 11 Historia familiar de trombosis= 9 | | | | 1 | | 4%(1/26) HF 0 |
| Pediatría General= 26 | Historia personal de trombosis= 7 Historia familiar de trombosis= 3 | 3* | 6*& | 1** | | 1& | 31%(8/26) HF 0 |
| Neurología= 22 | Ictus= 10 Cefaleas= 3 | | 1***& | | 1& | 1 | 9%(2/22) |
| Cuidados Intensivos= 17 | Historia personal de trombosis= 7 | | 2* | | | | 0 |
| Urgencias= 12 | Historia personal de trombosis= 6 | | | | | | 0 |
| Cirugía= 11 | Historia personal de trombosis= 5 | | | | | | 0 |
| Otros= 26 | | | 1* | | 3 | 1 | 15%(4/26) |
| Hemostasia= 66 (n= 386) | | Ver Tabla 2 | | | | | |

Legenda: LLA: leucemia linfoblástica; dAT: deficiencia de Antitrombina; dPC: deficiencia de Proteína C; dPS: deficiencia de Proteína S; FVL: FV Leiden; PRT: mutación 20210GA; HF: historia familiar;

* no repetidas, ** confirmada; *** con mutación identificada; & hay un paciente con las 2 deficiencias.

Tabla 2. Estudios de trombofilia en niños en Consulta de Hemostasia- defectos congénitos

| Motivo | Pacientes con historia personal de trombosis (n= 20) Tipo de episodio/ edad al diagnóstico | Pacientes con historia familiar (n= 31) Trombofilia conocida congénitos | Pacientes con historia personal de trombosis | Pacientes con historia familiar |
|---|---|--|--|---------------------------------|
| Trombofilia familiar conocida= 31 | | dAT= 4 | dAT= 1*** | dAT= 1*** |
| TV= 10 | 12,5 (1-17) | dPC= 5 | dPC= 2*** | dPC= 5 (3***) |
| Historia familiar de trombosis= 8 | | dPS= 7 | dPS= 1 | dPS= 3 *** |
| Trombosis SNC= 6 | 5,5 (0,5-17) | dPC y dPS= 1 | | |
| Justificación de fenotipo en hemofilia= 3 | | FVL= 5 | | FVL= 3 |
| Tromboflebitis= 2 | 16 | PRT= 4 | PRT= 3 | PRT= 4 |
| Necrosis avascular= 2 | 11,5 (11-12) | FVL y PRT= 5 | | |
| Confirmación diagnóstica=2 | | | | |
| Inicio de anticoncepcional= 1 | | | 35%(7/20) | 52%(16/31) |
| Calcificación hepática= 1 | | | 34%(23/66) | |
| (n=66) | | | | |

Legenda: TV: trombosis venosa; dAT: deficiencia de Antitrombina; dPC: deficiencia de Proteína C; dPS: deficiencia de Proteína S; FVL: FV Leiden; PRT: mutación 20210GA; ***con mutación identificada

PC-368 Trombofilia primaria y accidentes cerebrovasculares isquémicos en pacientes jóvenes: estudio de 66 casos consecutivos en un solo centro

Martín Batista S., Martín Santos T., Machado Machado P., Croissier Elías C., González López M., Martín Martín A., Lakhwani S., Hernández García M.T., Carrillo Padilla F., Raya Sánchez J.M.

Hospital Universitario de Canarias. La Laguna, Santa Cruz de Tenerife

Introducción: En adultos jóvenes, se reconocen como causas más frecuentes de ACV isquémico las de origen cardioembólico, aterotrombótico o por vasculopatía no arteriosclerótica, y entre los estados de hipercoagulabilidad, la presencia de anticuerpos antifosfolípidos (APA). Las deficiencias congénitas de anticoagulantes naturales, la mutación del gen de la protrombina y la resistencia a proteína C activada (RPCa) se han asociado más frecuentemente a trombosis de tipo venoso que arterial. En un 30-40% de casos no se encuentra una causa.

Métodos: Hemos recogido todos los pacientes menores de 60 años con un ACV isquémico, estudiados en nuestro servicio entre 2010 y 2014. Se determinaron las alteraciones consideradas "clásicas" de trombofilia: antitrombina (AT), proteínas C y S (PC y PS), mutación F5G1691A (factor V Leiden) y mutación del gen de la protrombina (F2G20210A), además de la presencia de APA. Aun que de utilidad discutible, también analizamos la mutación

C677T de metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR). La patología recogida incluyó ictus isquémico, accidente isquémico transitorio (TIA), trombosis de los senos venosos (TSV), alteración en la RMN sugestiva de patología isquémica sin clínica acompañante (p.e. estudio de migrañas), u otros diagnósticos. Dividimos a los pacientes según edad en ≤ 45 años y 46-59 años.

Resultados: Analizamos 66 pacientes (edad media 40,2 años, extremos 17-59; 45 mujeres): 34 episodios de ictus isquémico, 7 TIA, 10 TSV, 10 alteraciones en RMN y 5 miscelánea. De ellos, 41 tenían ≤ 45 años y 25 entre 46-59. La mediana de tiempo transcurrido entre evento y análisis fue de 6 meses. De los 66 pacientes, detectamos al menos una causa de trombofilia "clásica" en el 24% de casos (16/66): 29% en el grupo de más jóvenes (12/41) y 16% en el de mayores (4/25). Cuando sólo consideramos marcadores de trombofilia primaria (excluimos APA), éstos se descubren en un 9/41 pacientes (22%) con edad ≤ 45 años, y sólo en 2/25 (8%) de aquéllos entre 46-59 años.

Más detalladamente, en el grupo de pacientes ≤ 45 años detectamos 4 déficits de PC (uno de ellos asociado a una mutación F2G20210A), 3 déficits de PS, 3 con APA y 2 mutaciones F5G1691A. En pacientes de 46-59 años encontramos 2 con APA, un déficit de PS y una mutación F2G20210A. En ningún caso se encontró déficit de antitrombina. Globalmente detectamos además 10 casos de hiperhomocisteinemia como única alteración, nueve de ellos con la mutación de MTHFR. A destacar, en 3 de los 10 pacientes (30%) afectados de TSV se demostró un déficit de PC (los tres con edad ≤ 45 años), y en aquéllos con sólo alteración de la RMN (n=7), sólo se diagnosticó un caso con APA positivos y ninguno de trombofilia primaria.

Conclusiones: En nuestra experiencia, encontramos una incidencia significativamente más elevada de marcadores propios de trombofilia primaria en pacientes jóvenes (≤ 45 años) que en mayores (46-59), y de forma más específica en pacientes jóvenes afectos de trombosis de senos venosos. Resulta discutible la utilidad de la determinación de estos marcadores en sujetos con alteración en una RMN sugestiva de patología isquémica, en ausencia de clínica.

PC-369 Niveles bajos de ADAMTS 13 incrementan el riesgo de trombosis venosa en población española femenina

Llobet D. (1), Vallvé C. (1), Tirado I. (1), Oliver A. (2), Murillo J. (1), Vilalta N. (1), Millón J. (1), Mateo J. (1), Fontcuberta J. (1), Souto J.C. (1)

(1) Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. (2) Fundació Puigvert. Barcelona

Introducción: Diversos estudios han demostrado que la disminución de ADAMTS 13 y el aumento de factor von Willebrand son factores de riesgo de trombosis arterial, pero hay poca evidencia de dicha relación y la trombosis venosa mostrando además resultados controvertidos.

Objetivo: Valorar si los niveles disminuidos de ADAMTS 13 incrementan el riesgo de padecer trombosis venosa.

Material y métodos: Se incluyeron 250 pacientes y 250 controles en un estudio caso-control que ha sido previamente descrito en detalle (1). Para el estudio del ADAMTS 13 se analizaron 214 pacientes (93 ♂ y 121 ♀) con trombosis venosa y 224 controles (98 ♂ y 126 ♀) no emparentados y apareados por edad y sexo.

ADAMTS 13: Se midió con: TECHNOZYM ADAMTS 13 Antígeno ELISA (Technoclone GmbH, Vienna, Austria)

Análisis estadístico: Se realizó el test T de Student para comparar las medias entre pacientes y controles. Se seleccionaron los individuos con el percentil 5 (valores ≤ 0.69 $\mu\text{g/ml}$) y percentil 10 (valores ≤ 0.78 $\mu\text{g/ml}$) de niveles de ADAMTS 13. Las frecuencias de las variables se expresaron en porcentajes y fueron comparadas con el test Chi-cuadrado. Se consideraron estadísticamente significativos los valores $p < 0.05$. Se estimó la Odds Ratio (OR) cruda y ajustada por edad, sexo y aquellos factores que han sido asociados previamente con trombosis venosa en nuestra población: Factor V Leiden y niveles de Factor VIII (percentil 90) mediante una regresión logística paso a paso.

Resultados: No se encontraron diferencias significativas en los niveles de ADAMTS 13 entre las medias de pacientes y controles. Se observó un porcentaje de individuos superior en los pacientes que en los controles tanto en el percentil 5 (67.6% vs 32.4%; diferencia 35.2%; IC95%: 26,4-44) como en el percentil 10 (62.3% vs 37.7%; diferencia 24.6; IC95%: 15,5-33,7). Al estudiar el percentil 5 por género se obtuvo una significación estadística en las mujeres: 78.9% vs 21.1%; diferencia 57.8 %; IC95%: 47,6-68. El riesgo trombótico asociado fue de 4.31 (IC95%: 1.3-13.4) y este riesgo se mantenía después de ajustar por las covariables,

OR ajustada 4.20 (1.28-13.8 IC95%). Los hombres no mostraron diferencias significativas.

Conclusiones: En población española, los niveles disminuidos de ADAMTS 13 se asocian, de manera independiente, a un mayor riesgo trombótico en las mujeres.

Posterioros estudios serían necesarios para confirmar estos resultados.

Bibliografía

1. Thromb Haemost 2004;91:899-904. Ministerio de sanidad y consumo, Instituto de Salud Carlos III, Red Investigación Cardiovascular RD12/0042/0032.

PC-370 Trombocitopenia inducida por heparina. Experiencia en el Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca

Martínez Marín A., García Candel F., Moya Arnao M., Cabañas Perianes V., Salido Fierrez E., Pérez López R., Berenguer Piqueras M., Ramón Minat A., Moreno Belmonte M.J., González García C., Rubio Tejero A., Gómez Espuch J., Monserrat Coll J., Rosique Cortina P., Martínez García A.B., Sánchez Salinas A., Funes Vera C., García Hernández A., Blanquer Blanquer M., Azurmendi Funes M.L., Moraleda Jiménez J.M.

Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia

Introducción y objetivos: La trombocitopenia inducida por heparina (TIH) es un estado protrombótico con consumo de plaquetas secundario a la formación de anticuerpos contra complejos circulantes formados por Heparina y factor 4 planetario (F4P) como consecuencia de administración de heparina.

Pretendemos describir los estudios de TIH realizados en nuestro centro entre los años 2013 a 2015, el porcentaje de resultados positivos y la evolución de los pacientes diagnosticados.

Material y métodos: Se han registrado 33 estudios de TIH (mediana de edad 69,5 y rango de edad 45-77) entre 2013 y 2015. Los estudios fueron realizados mediante tarjeta de columna de gel (Diamed) y por inmunoensayo (ID-PaGIA Heparin/PFA Antibody Test, Werfen). Se registró el tipo de heparina usada en el momento del estudio. En los casos que resultaron positivos se realizó seguimiento clínico y de respuesta al tratamiento recibido.

Resultados: De los 33 estudios solicitados, 21 (63,63%) resultaron negativos y 12 (36,36%) fueron positivos. El 63,63% de los estudios solicitados eran en pacientes subsidiarios de UCI. En los casos que fueron positivos, la tasa de uso de heparina no fraccionada fue de (16,66%) y de heparina de bajo peso molecular (83,33%). El score de probabilidad clínica era intermedio o alto en los casos con resultado positivo. Los casos con test positivo fueron tratados con Fondaparinux exclusivamente 7 (58,33), bivalirudina 3 (25%) y ambos asociados de forma secuencial 1 (8,33%).

La tasa de trombosis fue de 2 (16,66%) y la de mortalidad de 4 (33,33%). Mediana de cifras de plaquetas al diagnóstico 28500 (Rango 8000-83000) y la mediana de recuperación plaquetaria 6 días (Rango 3-23).

Conclusiones: La mayoría de los pacientes procedían de cardiología y de servicios quirúrgicos y se asociaron más frecuentemente al uso de HBPM (enoxaparina). Los casos positivos se asociaron con scores de probabilidad intermedio-alto, por lo que la sospecha clínica juega un papel importante en el diagnóstico de esta complicación y el inicio precoz de tratamiento. Los casos negativos se asociaron a scores de bajo riesgo, indicando la importancia de su uso para evitar pruebas innecesarias y falsos positivos. El tratamiento fue efectivo en la mayoría de los casos, incluso en los casos de insuficiencia renal tratados con bivalirudina.

PC-371 Micropartículas procoagulantes circulantes en gestantes con síndrome antifosfolípido: relación con los resultados de la gestación y con las trombosis

Tassies M.D., Martínez M.A., Martín L., García E., Munros J., Espinosa G., Cervera R., Carmona F., Balasch J., Reverter J.C.
Hospital Clínic. Barcelona

Objetivo: Evaluar la relación entre los niveles de micropartículas procoagulantes circulantes (MP) y el resultado de la gestación en pacientes con síndrome antifosfolípido primario (SAF).

Métodos: Se reclutaron prospectivamente 60 mujeres gestantes en el tercer trimestre de la gestación: 30 pacientes diagnosticadas previamente de SAF (Grupo 1) y un grupo control (Grupo 2) de 30 mujeres con antecedentes de al menos una gestación normal a término y sin antecedentes de abortos o complicaciones obstétricas. Para este grupo se reclutó la paciente que cumplía dichos criterios inmediatamente siguiente a cada paciente reclutada en el grupo 1. Las pacientes del grupo 1 se manejaron como gestaciones de alto riesgo y recibieron ácido acetil salicílico a dosis bajas, solo o asociado a heparina de bajo peso molecular. Se excluyó la existencia de trombofilia genética en todas las pacientes. Las muestras de sangre se obtuvieron a las 28-32 semanas de gestación, y la concentración de MP procoagulantes se midió mediante un test funcional de captura sobre anexina V.

Resultados: Las pacientes del grupo 1 tenían mayor número de abortos y muertes fetales previas en comparación con el Grupo 2. Hubo mayor número de cesáreas y menor peso en los RN del grupo 1. Siete pacientes del grupo 1 presentaron complicaciones obstétricas: 2 trombosis durante la gestación (1 arterial y 1 venosa) y 5 preeclampsia grave. Globalmente, los Grupos 1 y 2 tuvieron niveles similares de MP (nM [media \pm SD]): $7,8 \pm 3,8$ vs. $7,1 \pm 4,7$ respectivamente, $p=0,5$). Los niveles de MP fueron significativamente más altos en las pacientes del Grupo 1 que presentaron complicaciones obstétricas respecto a las que no las tuvieron ($11,9 \pm 3,5$ vs. $7,3 \pm 3,9$ respectivamente, $p=0,009$).

Conclusiones: Las pacientes gestantes con SAF que desarrollaron una preeclampsia grave o trombosis durante el embarazo tuvieron niveles mayores de MP procoagulantes en comparación con las pacientes con SAF que no presentaron complicaciones en el embarazo. Estos resultados sugieren un papel de las MP en la patogénesis o como biomarcador de las complicaciones obstétricas en las pacientes con SAF.

PC-372 Factores determinantes de recidiva de trombosis venosa en portadores de factor V de Leiden heterocigoto

Méndez Navarro G.A., García Avello Á., López Jiménez J.
Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid

Objetivo: Determinar el riesgo de recidiva de trombosis venosa (RTV) en pacientes portadores de Factor V Leiden (FVL), así como los principales factores que modulan este riesgo.

Metodología: En un área asistencial de 500.000 usuarios, se recogieron de forma prospectiva, durante un período de 10 años, los casos de trombosis venosas (incluyendo TVP, TEP, tromboflebitis superficiales, trombosis de vena de retina, trombosis de senos cerebrales y trombosis portales) y las siguientes variables: sexo, presencia o no de FVL, presencia o no de antecedentes familiares de trombosis venosas (AF), índice de masa corporal (IMC) y recidiva de trombosis venosa (RTV).

Se excluyeron los casos que presentaban trombofilias graves u otras trombofilias añadidas (dobles heterocigotos u homocigotos) y los casos anticoagulados de forma permanente.

Resultados: Se recogieron un total de 3172 trombosis venosas, de las cuales, 780 recidivaron (24,6%). 286 casos se trataban de pacientes con déficit de FVL (heterocigoto), de los que 102 (un 35%) experimentaron una nueva trombosis venosa, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p<0,05$: -0.17, -0.05).

Por sexo, no se hallaron diferencias en las proporciones de retrombosis en los portadores de FVL (37.5% en mujeres y 33.8% en varones). Por AF, los portadores de FVL con antecedentes familiares positivos experimentaron mayor porcentaje de retrombosis que aquellos sin AF (38.2% vs 28,4%; $p<0,05$: -0.0023, -0.20??) En cuanto al IMC, se observó una tendencia a mayor tasa de retrombosis entre los pacientes con $IMC>25$ (44,8%) frente a los que presentaban un $IMC<25$ (35%). Esta diferencia alcanzó significación estadística en las mujeres con $IMC >25$, que sufrieron RTV en 55.7% de los casos vs las que presentaban $IMC<25$ (32.7%) ($p<0,05$ 0.03, 0.43).

Conclusiones: En nuestra población, el riesgo de retrombosis es significativamente mayor en los portadores de FVL que en la población general. Además, se observa un incremento de riesgo en los casos con antecedentes familiares positivos y en las mujeres con $IMC >25$, factores que, en vista de estos resultados, deberían ser tenidos en consideración en la valoración del riesgo de recidiva de trombosis.

PC-373 Colitis isquémica. Posible alteración protrombótica multifactorial. Serie de casos

Alonso Escobar M.N., Corbacho Hernández A.,
Suárez-Varela P.S., Moreno Risco B., Toro Barahona J.,
Delgado Casado E., Groiss Buiza J., Vagace Valero J.M.,
Rincón Ferrari R., Bajo Gómez R.

Complejo Hospitalario Universitario Infanta Cristina. Badajoz

Introducción: La colitis isquémica (C.I.) es una de las enfermedades vasculares gastrointestinales más frecuentes, bien por alteración en la circulación sistémica ó anatómica o funcional en la vasculatura mesentérica con hipoperfusión local y daño de reper-fusión. Hay evidencia en aumento sobre el papel patogénico de la hipercoagulabilidad, más en pacientes jóvenes.

Objetivos: Descripción retrospectiva de estudios de hemostasia, antecedentes, factores de riesgo cardiovascular(FRCV), de pacientes con C.I. fuera de fase aguda, enviados a nuestra Consulta, Área de Salud de Badajoz en los últimos 7 años.

Métodos: Se analiza este subgrupo de pacientes, de la base de datos de Consulta de Hemostasia de 2008 a 2014. Se recogen los FRCV: HTA, obesidad, D.M, dislipemia, tabaquismo. Antecedentes: trombosis venosa (ETV), isquemia arterial (ictus isquémico, cardiopatía isquémica, claudicación intermitente), anticoncepción (TH), síndrome de apnea obstructiva del sueño (SAOS), niveles de factor VIII:C, fibrinógeno (Fg), homocisteína (H), antitrombina (AT), proteína C(PC), proteína S (PS), a. lúpico (AL), acs anticardiolipinas (ACAs), mutación FV Leiden, mutación FII G20210A.

Resultados: Se identifican 32 pacientes (pac), 10 hombres (31%) y 22 mujeres (69%). Edad media, 62años (30-80). El 65% pac (21) presentan 1 ó 2 FRCV. 52% pac (17) son HTA y 28% (9) HTA + DLP. 28% pac (9) con tabaquismo, 12% (4), obesidad. Antecedentes de isquemia arterial en 21 % pac (7). De ETV en 9% pac (3). Ingesta previa de TH en 18% de las mujeres (4 de 22). SAOS en 18% pac (6). La AT es 80-90% en 34% pac (11). Los niveles de AT > 80%, PC > 70%, PS >70% en 100% pac(32).La media de FVIII:C es 145% (80-274).El 31%pac FVIII:C > 150%. FVIII:C medio 151% en HTA, 165% en DLP. La media Fg es 434mg/dl (260-600mg/dl), 451 mg/dl en HTA, 443 mg/dl en DLP. El Fg es > 400 mg/dl en 63% pac (20).6% pac (2) presentaban ALy6 % pac (2) ACAS IgG, título < 40 GPL. 3% pac (1), Acs antiB2glicoproteína I IgM. La H es 15-20 µmol/l en 6% pac (2).Ningún paciente presentó la mutación FVL ni FII G20210A. Mediante correlaciones bivariadas se observa que el grado de aumento del factor VIII y fibrinógeno es paralelo e individualizado (Spearman). La HTA y DLP guardan relación con las elevaciones detectadas de estos factores.

Conclusiones: El 65% de estos pacientes presentan 1 o 2 FRCV y en el 31% hay antecedentes de isquemia arterial o TEV como reflejo protrombótico en sí. La terapia hormonal y el SAOS pueden ser factores de riesgo. Se detecta un nivel medio elevado de fibrinógeno, factor de riesgo independiente cardiovascular demostrado, más elevado en pacientes HTA y DLP pero podría reflejar inflamación de base al igual que niveles FVIII > 150% en 31 % pac y niveles AT normales pero no elevados en el 34% de pac. Un 15% tienen acs antifosfolípidos, todos > 65 años, pero significativos

en 6% pac. No se han detectado otras alteraciones de trombofilia, posiblemente por la edad media de la muestra (62 años). Sí debe considerarse la determinación de ACAS/AL en estos pacientes y el control exhaustivo de los FRCV demostrados predisponentes.

PC-374 Riesgo trombótico asociado a déficit de congénito de antitrombina

Suárez Varela P.S., Alonso Escobar N., Moreno Risco B., Toro Barahona J., Crespo Núñez C., Rincón Ferrari R., Delgado Casado E., Corbacho Hernández A., Fuentes Gutiérrez I., Campano Val J., Groiss Buiza J., Elduayen Izaguerri R., Vagace Valero J.M., de la Maya Retamar M.D., García Domínguez M., Bajo Gómez R.

Servicio de Hematología. Complejo Hospitalario de Badajoz. Badajoz

Introducción: La antitrombina (AT) es una glicoproteína plasmática con función anticoagulante, siendo el principal inhibidor de la trombina y otros factores de coagulación libres serin proteasa en su forma activada: X, IX y VII. Su descenso puede ser congénito o adquirido. El déficit congénito de AT es una entidad poco frecuente, de transmisión autosómica dominante. Puede ser de carácter cuantitativo (tipo I) o cualitativo (tipo II), diferenciándose a su vez dentro del último grupo diferentes subtipos. Representa un factor de riesgo importante para enfermedad tromboembólica y su recurrencia, que varía en función del tipo y del subtipo de déficit.

Métodos: Se describen dos casos de pacientes con déficit de AT tipo I de 41 y de 31 años, diagnosticados por estudio familiar. El primero era portador en heterocigosis del factor V Leiden y el segundo presentaba antecedentes personales de varios episodios de trombosis venosa profunda (TVP) de miembros inferiores (MMII), siendo mal cumplidor del tratamiento con acenocumarol. Los dos presentaron sin otros factores de riesgo previos, episodio de tromboembolismo pulmonar (TEP), el primero de ellos TEP masivo con disfunción del ventrículo derecho, requiriendo fibrinólisis e ingreso en UCI y TVP en MI izquierdo. El segundo paciente presentó TEP segmentario en lóbulo inferior izquierdo tras episodio de tromboflebitis en MI derecho al diagnóstico, con evolución tórpida por doble recidiva y progresión hacia TEP bilateral secundario con TVP de ambos MMII que requirió ingreso en UCI.

Resultados: En el primer caso posterior a la fibrinólisis se inició anticoagulación con heparina de bajo peso molecular (HBPM) y administración de concentrado de AT, según controles estrictos de actividad antiXa y niveles de AT. Los niveles de anticoagulación recomendados se consiguieron precozmente y el paciente presentó buena evolución (Figura 1). El segundo paciente había sido diagnosticado de déficit de AT en otro centro sin conocimiento por nuestra parte hasta días después. Inicialmente se anticoaguló con heparina no fraccionada (HNF) por hemoptisis, sin alcanzarse niveles adecuados. Recidiva del TEP que requirió cambio a HBPM a dosis altas y administración de concentrados de AT con buenos controles. Además precisó de colocación de filtro de vena cava inferior por segunda recidiva. Tras dichas medidas el paciente evolucionó favorablemente (Figura 2). Actualmente ambos están en tratamiento crónico con acenocumarol.

Conclusiones: En el manejo de pacientes con déficit congénito de AT y evento trombotico agudo se ha de considerar la posible resistencia a la heparina para alcanzar niveles de anticoagulación adecuados de forma precoz y evitar las frecuentes recurrencias. Se recomienda realizar controles estrictos de actividad antiXa para control del tratamiento con HBPM y de niveles de AT para considerar la administración de concentrados de AT en función de resultados y gravedad del episodio trombotico. La anticoagulación crónica tras un evento trombotico en pacientes con déficit de AT está ampliamente recomendada.

úlceras necróticas debido a trombosis en los pequeños vasos, una manifestación que tiene lugar en tan sólo un 4% de los enfermos, a partir de la exposición de un caso.

Caso clínico: El paciente en cuestión es un varón de 39 años, que como antecedentes patológicos destacados presentaba diabetes

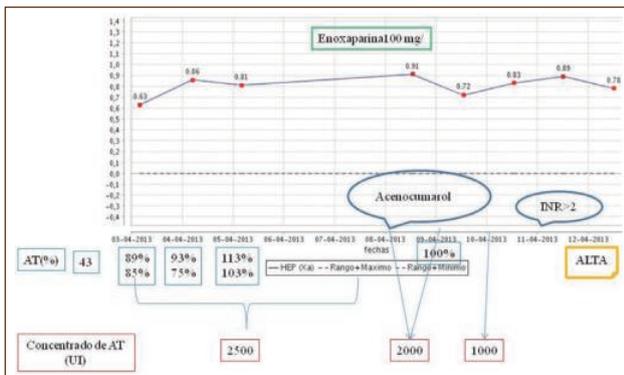


Figura 1. Evolución clínica: caso 1.

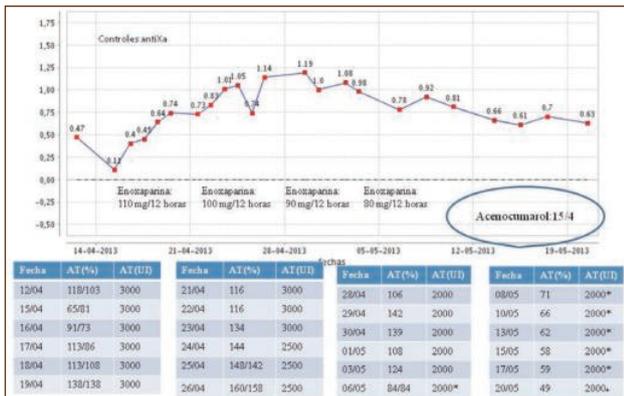


Figura 2. Evolución clínica: caso 2.



Figura 1.

PC-375 Síndrome antifosfolípido primario con expresión cutánea

Payan Pernia S., Caballero González A.C.
Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona

Introducción: Este trabajo pretende llamar la atención acerca de la asociación del síndrome antifosfolípido con la aparición de

mellitus tipo 2, y una hermana que había sufrido varios abortos de repetición.

En octubre de 2010 fue diagnosticado de un síndrome antifosfolípido primario, a raíz de la aparición de múltiples lesiones cutáneas necróticas (pabellón auricular, región malar, nalga, muslo...). El pabellón auricular afectado quedó permanentemente deformado. El estudio anatomopatológico reveló la presencia de trombos hialinos en los pequeños vasos. Una ecografía Doppler de las extremidades puso de manifiesto una trombosis de la vena cefálica derecha y del extremo distal de la vena safena interna. El estudio de trombofilia se realizó entre tanto que el paciente recibía tratamiento con enoxaparina sódica. Desveló la presencia de anticuerpo lúpico (tiempos de Russell y Silica), homocigosis para la mutación C46T del factor XII, e hiperhomocisteinemia. La presencia del anticuerpo lúpico explica una disminución analítica del factor VIII (el factor de von Willebrand y el cofactor de la ristocetina fueron normales; el test de Kasper, negativo) y un alargamiento del tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa). De este modo, el paciente cumplía los criterios de Sapporo revisados para el diagnóstico de la enfermedad, uno analítico (presencia de un anticuerpo antifosfolípido) y otro clínico (trombosis o enfermedad relacionada con el embarazo).

Una vez que se dispuso del diagnóstico se añadió tratamiento antiagregante (A.A.S.). Asimismo, la adición de vitamina B12 y de ácido fólico supuso la normalización posterior de la homocisteinemia.

En abril de 2011 se sustituyó la heparina por acenocumarol (rango objetivo: 2,5-3,5). Durante dicho período presentó escasas y pequeñas lesiones mucocutáneas necróticas. El INR se objetivó fluctuante en los controles.

En junio de 2012 el paciente requirió ingreso por una úlcera a nivel bucal-yugal de evolución tórpida, coincidiendo con la presencia en abdomen de lesiones cutáneas abscesificadas muy dolorosas, que recordaban a la púrpura fulminans del déficit de proteína C.

Se decidió entonces iniciar tratamiento con rivaroxaban. Dicho fármaco supuso para el paciente el fin de las manifestaciones clínicas del síndrome antifosfolípido hasta el momento actual. Su infinito agradecimiento nos permite aportar junto al presente texto unas espectaculares imágenes (Figura 1).

PC-376 Síndrome de Upshaw-Schulman

Orduna Arnal M.T.

Hospital General Universitario de Alicante. Alicante

Caso clínico: Mujer de 24 años de origen ecuatoriano sin antecedentes personales ni familiares de interés que durante el tercer trimestre de embarazo consulta por dolor abdominal y diarrea de tres días de evolución junto con petequias en parte anterior del tórax. En la analítica sanguínea presenta datos de insuficiencia renal, hemoglobina de 7.7 g/dL y trombopenia de 19.000 plaquetas/mm³ junto con esquistocitosis en sangre periférica. Se establece el diagnóstico de púrpura trombótica trombopénica asociada a la gestación. Se realiza cesárea de urgencia y posteriormente se inicia

recambio plasmático y corticoterapia en pauta descendente con buena respuesta. El recién nacido fallece a las 3 semanas.

A los quince días del alta, acude de nuevo por disminución de la agudeza visual en forma de cuadrantanopsia izquierda. En la TAC se evidencia un infarto hemorrágico subagudo crónico en territorio occipital derecho. Se inicia recambio plasmático y corticoterapia en pauta descendente con buena respuesta y sin secuelas neurológicas.

Dos años después, en el tercer trimestre de su segundo embarazo se detecta una trombopenia de 30.000 plaquetas/mm³ en una analítica de control. Esta vez no se objetiva anemia, insuficiencia renal ni clínica neurológica. Se inicia terapia con recambio plasmático y corticoides con buena respuesta. Se realiza cesárea programada con recién nacido vivo.

En el año 2014, durante el primer trimestre de su tercer embarazo, se detecta una trombopenia de 43.000 plaquetas/mm³ sin otros hallazgos de interés iniciándose recambio plasmático y corticoides con buena respuesta. Esta vez, se procede a la determinación de parámetros relacionados con la enzima ADAMTS13 con los siguientes resultados: Prerrecambio plasmático: antígeno ADAMTS13 39.7 ng/mL y anticuerpos anti IgG anti-ADAMTS13 negativos. Pos-recambio plasmático: antígeno ADAMTS13 187 ng/mL y anticuerpos anti IgG anti-ADAMTS13 negativos. Tras estos hallazgos se emite el diagnóstico de síndrome de Upshaw-Schulman y se inicia terapia con infusión de plasma y buena respuesta. En la semana 20, mediante una ecografía de rutina, se detecta feto muerto. El estudio genético de los hermanos y familiares está pendiente.

PC-377 Enfermedad tromboembólica venosa en pacientes pediátricos

Coello de Portugal C., Yus Cebrián F., Fernández Mosteirín N., Costilla Barriga L.P., Delgado Beltrán P., Calvo Villas J.M.

Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza

Introducción: Las trombosis venosas (ETV) son raras en la edad pediátrica representando la segunda complicación en niños con enfermedades médicas o cirugías. El estudio de trombofilia es apropiado para niños con ETV idiopática siendo controvertido en ETV secundaria ya que sus resultados no modifican el tratamiento.

Objetivo: Revisar de forma retrospectiva las ETV en pacientes pediátricos en nuestro centro entre marzo/2006 y agosto/2014.

Pacientes y método: Se analizaron 22 pacientes afectados de ETV. Se revisan datos demográficos, tipo de TVP (idiopática/secundaria), trombofilia congénita y/o adquirida, localización de la trombosis, método diagnóstico y tratamiento.

Resultados: La distribución por sexo fue 14♂ y 8♀, edad mediana 5 años (rango, 0-16 años). En 8 pacientes fue una trombosis idiopática y en 14 fue secundaria (6 enfermedades oncológicas, 4 infecciones activas, 3 cardiopatías congénitas intervenidas y 1 encefalopatía hipóxica periparto). Seis tuvieron antecedentes quirúrgicos 3 meses antes de la trombosis, 4 portadores de catéter venoso central y un paciente recibió ventilación mecánica inva-

siva. La localización fue: 10 ETV en MMII (9) y TEP (1) y 12 trombosis atípicas, 2 en miembro superior, 3 en sistema portal/cava y 7 en senos venosos cerebrales. Se realizaron 11 estudios de trombofilia (6 en pacientes con trombosis idiopática). Nueve estudios de trombofilia fueron positivos (4 heterocigotos para el gen MTHFR, 2 síndromes antifosfolipídicos, 1 doble heterocigoto gen de la protrombina A/gen de la MTHFR, 1 heterocigoto del factor V Leiden y 1 déficit de proteína C). Para el diagnóstico se empleó Eco doppler +/- TAC en 11 pacientes con trombosis en extremidades y/o grandes vasos y 4 angiorrsonancia, 1 RNM y 2 CT craneal en trombosis de senos cerebrales. Dieciocho pacientes recibieron enoxaparina (1 mg/kg/12horas) (control anti Factor X activado 0,5-1 U/mL), en 3 se administró heparina sódica (control TTPA 1,5-2,5) seguido de enoxaparina (1 mg/kg/12horas) con mediana de 3 meses de tratamiento. Dos pacientes fueron éxitos, uno por encefalopatía hipóxica intraparto y otro por progresión tumoral. Un paciente presentó hemorragia digestiva durante la anticoagulación y se objetivaron 4 trombosis en MMII y un TEP durante la evolución.

Conclusiones: Las trombosis venosas se asociaron a enfermedades subyacentes en la mayoría de los pacientes. El estudio de trombofilia en pacientes con trombosis venosas idiopáticas puede ser útil en el seguimiento evolutivo posterior. El tratamiento de los factores secundarios de riesgo trombótico y el adecuado tratamiento anticoagulante han sido fundamentales para la buena evolución clínica de nuestros pacientes.

PC-378 Distribución del factor von Willebrand y del ADAMTS 13 en función del genotipo del grupo ABO: comportamiento similar del genotipo A2O y el genotipo O

Vallvé C. (1), Llobet D. (1), Tirado I. (1), Oliver A. (2), Murillo J. (1), Vilalta N. (1), Carrasco M. (1), Mateo J. (1), Fontcuberta J. (1), Souto J.C. (1)

(1) Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. (2) Fundació Puigvert. Barcelona

Introducción: Varios estudios han documentado la influencia del grupo sanguíneo ABO sobre los niveles plasmáticos de factor von Willebrand (fvW) y algunos de ellos también han valorado la influencia de los niveles de ADAMTS 13. *Bowen* observó una influencia del grupo sanguíneo ABO sobre la proteólisis del fvW por el ADAMTS 13. La susceptibilidad del fvW al ADAMTS 13 parece decrecer en el orden $O > B > A \geq AB$. Por otro lado, es bien conocido que los niveles de fvW vienen también determinados por el grupo étnico.

Objetivo: Describir la distribución del fvW y del ADAMTS 13 en función del genotipo ABO en población española.

Material y métodos: Se incluyeron 250 pacientes y 250 controles en un estudio caso-control que ha sido previamente descrito en detalle¹. Para el estudio del ADAMTS 13 se analizaron 214 pacientes (93 hombres y 121 mujeres) con trombosis venosa y

224 controles (98 hombres y 126 mujeres) no emparentados y apareados por edad y sexo.

- **ADAMTS 13:** Se midió con: TECHNOZYM ADAMTS 13 Antigen ELISA (Technoclone GMBH, Vienna, Austria).
- **Factor von Willebrand:** Se midió con: Von Willebrand Factor Antigen test kit REAADS (Broomfield, Colorado USA).
- **Análisis genético del grupo sanguíneo ABO:** Se amplificó con PCR y su subsiguiente digestión (2). Esta técnica permite hacer la discriminación alélica: A_1 , A_2 , O_1 , O_2 y B.
- **Análisis estadístico:** Se realizó un análisis de la varianza incluyendo como covariables el grupo de individuo (caso-control) y el sexo. Se aplicaron contrastes múltiples.

Resultados: Los niveles de ADAMTS 13 no fueron estadísticamente significativos entre grupos sanguíneos.

Los niveles de fvW en los grupos sanguíneos A, B y AB fueron todos significativamente diferentes del grupo O excepto A_2O .

Se obtuvieron los siguientes valores de media para el fvW: genotipo OO: 114% (IC95% 107-122), genotipo A_1 : 160% (IC95% 152-169), genotipo A_2O : 116% (IC95% 98-134), genotipo B: 171% (IC95% 156-185) y genotipo AB: 187% (IC95% 156-219).

No se detectó ninguna interacción en los niveles de fvW entre el grupo de individuo (caso-control) ni entre sexos.

Conclusiones:

1. Los niveles de fvW fueron dependientes del grupo sanguíneo mientras que los de ADAMTS 13 no.
2. Se observó que el genotipo A_2O se comportaba como el genotipo O, resultado acorde con resultados previos obtenidos por nuestro grupo con el genotipo ABO y los niveles de FVIII.
3. El orden de los niveles de fvW en función del genotipo ABO en nuestra población fue: $O = A_2O < A_1 < B < AB$.
4. La distribución del fvW en función del genotipo ABO es independiente del sexo y del grupo de individuo (caso-control).

Bibliografía

1. Thromb Haemost 2004;91:899-904.
2. Arteriocler Thromb Vasc Biol 2000;20:2024-8. RIC: RD12/0042/0032

PC-379 Anticuerpos antifosfolípidos, embarazo y abortos. Experiencia en nuestro centro

Muñoz Novas C., Heras Benito C., Mena Y., Zafra M., González Gascón y Marín I., Infante María S., Foncillas M.Á., Marín K., Hernández Rivas J.Á.

Hospital Infanta Leonor. Madrid

Introducción: El síndrome antifosfolípido (SAF) es un desorden autoinmune que se caracteriza por aparición de eventos

trombóticos arteriales o venosos y/o complicaciones obstétricas en presencia de anticuerpos antifosfolípidos (aFL). Los aFL se encuentran hasta en un 40% de mujeres que sufren abortos recurrentes y/o pérdidas fetales. El anticoagulante lúpico (AL) ha sido asociado a preeclampsia, crecimiento intrauterino retardado (CIR) y pérdida fetal. Los anticuerpos anticardiolipinas (aCL) a preeclampsia y pérdida fetal tardía. Los anti $\beta 2$ glicoproteína ($\alpha\beta 2$ GPI) a preeclampsia, CIR y pérdida fetal tardía. La presencia de alguno de ellos en el embarazo es predictor de resultado adverso y debe considerarse un factor de alto riesgo para enfermedad tromboembólica venosa (ETEV). El manejo de estas pacientes puede resultar controvertido, especialmente los casos con AL y/o aCL a títulos moderados-altos sin clínica trombótica ni obstétrica y a la ausencia de ensayos clínicos. La terapia combinada de ácido acetil salicílico (AAS) y heparina de bajo peso molecular (HBPM), ha mostrado eficacia y tasas de nacimientos cercanas al 80%, con menos toxicidad que otros esquemas que incluyen corticoides y/o inmunoglobulinas.

Métodos: Análisis retrospectivo de pacientes con antecedentes de abortos recurrentes o pérdidas fetales remitidas a consulta de hematología en las que se confirmó la presencia de aFL (en al menos dos determinaciones separadas 12 semanas) entre 2009 y 2015.

Resultados: Se confirmó la presencia de aFL en 16 pacientes y 12 fueron diagnosticadas de SAF según los criterios de Sídney. La

clínica acompañante a los aFL fue: abortos de repetición en 14/16 (88%), mediana de 3 abortos < 12 semanas; ETEV 11%(2/16); 1 caso de pérdida fetal de 24 semanas; 1 caso de eclampsia (Tabla 1).

El anticuerpo más frecuentemente encontrado fue aCL presente en 11/16 (69%). El AL se observó en 7/16 (44%), este grupo incluye los únicos 2 casos con ETEV de la serie y el único caso con CIR. Un 25% (4/16) cursó con más de un aFL positivo, habiendo presentado una de ellas un TEP previo al diagnóstico de SAF. Tras el diagnóstico de SAF 15/16 (93%) han tenido nuevas gestaciones con 11 recién nacidos a término y 4 embarazos en curso. Todas han recibido tratamiento con AAS y HBPM, con monitorización de anti-xa. Una vez instaurado el tratamiento la única complicación observada fue un aborto de 8 semanas en una paciente obesa que no alcanzó niveles de anti-xa ni siquiera en rango profiláctico y que posteriormente tuvo una gestación satisfactoria al aumentar la dosis de HBPM. No hubo ninguna muerte fetal ni casos nuevos de ETEV ni complicaciones hemorrágicas.

Conclusiones: La terapia combinada con AAS y HBPM es segura y eficaz en la prevención secundaria de complicaciones obstétricas en las pacientes con SAF. Al igual que en otras series, nuestro estudio confirma que más de un aFL positivo y positividad para AL se asocia con más complicaciones y de mayor severidad en las pacientes con SAF. Se precisan estudios adicionales que mejoren la evidencia actual para el manejo de estas pacientes.

Tabla 1. Características de las pacientes

| Pacientes | Edad | Tipo aFL | Abortos previos | Trombosis | Trombofilia asociada | Otros |
|-----------|------|------------------|-----------------|---------------|-------------------------------------|--|
| 1 | 36 | AL+, aCL IgG+ | 4 | | | |
| 2 | 33 | aCL IgG, IgM+ | 3 | | | Hepatitis autoinmune |
| 3 | 41 | aCL IgM+ | 3 | | | |
| 4 | 46 | aCL IgG+ | 3 | | | |
| 5 | 35 | aC LIgM+ | 1 | | | |
| 6 | 41 | AL+, aBGP I IgG+ | 2 | | | CIR* |
| 7 | 38 | aCL IgG+ | 1 | | | |
| 8 | 32 | AL+,aCL IgM+ | 2 | | | |
| 9 | 38 | AL+, aCL IgG+ | 1 | TEP | Heterocigota gen protrombina 20210A | |
| 10 | 28 | AL+ | 3 | | | |
| 11 | 32 | aCL IgG+,IgM+ | 3 | | | |
| 12 | 40 | aBGP I IgG+ | 1 | | Dudoso déficit proteína S | ANAS+, anti SS+, anti FI+ |
| 13 | 46 | aCL IgG+,IgM+ | 6 | | | |
| 14 | 34 | AL+ | 4 | | | Diabetes gestacional. Obesidad |
| 15 | 38 | aCL IgG+, IgM+ | 0 | | | Eclampsia en gestación previa (recién nacido 32 semanas) |
| 16 | 26 | AL+ | 0 | TVP postparto | | |

*Presentado al momento de llegar a Hematología; iniciamos tratamiento y fue resuelto antes de finalizar gestación.

PC-380 Características clínicas de la enfermedad tromboembólica venosa en la infancia en un centro de tercer nivel

Andreoni L. (1), Pons V. (1), Olivera P. (1), Chávez C. (2), Cortina V. (1), Marín A. (2), Bosch F. (2), Santamaría A. (1)

(1) Unidad de Hemostasia y Trombosis. (2) Servicio de Hematología. Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona

Introducción: El tromboembolismo venoso (TEV) es poco frecuente en la infancia, las características clínicas y factores de riesgo difieren de la población adulta. En los últimos años, la incidencia ha aumentado considerablemente debido a los avances en las unidades intensivas.

Objetivos: Describir las características clínicas y factores de riesgo del TEV en la población pediátrica en un hospital de tercer nivel.

Métodos: Se llevó a cabo un análisis retrospectivo entre los niños diagnosticados con TEV que fueron remitidos a la Unidad de Hemostasia y Trombosis durante un período de 8 años. Fueron clasificados en tres grupos: neonatos (0-2 meses), lactantes (2 meses-2 años) y niños (2-18 años).

Resultados: Un total de 107 pacientes fueron incluidos en el análisis. 74% de los casos eran del sexo masculino y la distribución por grupos de edad fue: 20% neonatos, 46% lactantes y 33% niños. Al analizar en todos los grupos de edad, la presentación clínica más frecuente fue la trombosis venosa profunda (67%), trombosis del seno cerebral (17%), intrahepática (6%), la embolia pulmonar (5%) y la vena renal (5%). Tomando en cuenta la clasificación por grupos de edad, la localización más frecuente en recién nacidos y lactantes fue la vena cava (34% y 47% de los casos respectivamente) y trombosis del seno cerebral en casi un tercio de los niños (30%). El 78% de los eventos fueron provocados y el factor de riesgo más importante en el grupo de recién nacidos y lactantes fue la colocación catéter venoso central y cardiopatías congénitas (69%). Las pruebas de trombofilia se realizaron en 33 casos (31%), pero la mayoría de ellos no eran valorables.

Conclusión: Como se ha descrito en la literatura, el TEV en la población pediátrica está relacionado en la mayoría de los casos con factores desencadenantes y la presentación clínica depende del grupo de edad. El creciente número de procedimientos de alta complejidad en las cardiopatías congénitas y un uso generalizado de catéter venoso central en unidades intensivas puede influir en la alta proporción de estos pacientes en un Hospital de tercer nivel.

PC-381 Análisis de las solicitudes de dímero D en un hospital universitario

Millón Caño J.A., Vilalta Setó N., Cerdà H., Clivillé N., Orantes V., Duran M., Cubero E., Mateo J., Fontcuberta J.

Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona

Introducción: La determinación del dímero D (DD) es útil en el diagnóstico de eventos tromboticos venosos (ETV). Es un test

sensible pero carece de especificidad, por lo que es útil cuando su valor es negativo ($< 500 \mu\text{g/mL}$ con un valor predictivo negativo del 94%).

La presencia de un DD elevado no sirve para el diagnóstico de ETV ya que determinados factores influyen en la sensibilidad y la especificidad del test.

En la práctica clínica, la determinación del DD suele solicitarse en situaciones de baja sospecha clínica. La interpretación aislada de los resultados puede conllevar a un aumento de las solicitudes de TAC pulmonar de alta resolución (TACAR).

Métodos: Análisis retrospectivo de las solicitudes de DD (D-Dimer HS500. HemosIL, grupo Werfen) durante el periodo de 2011 a 2014 según procedencia de la solicitud, valor de dímero D ($< o > 500 \mu\text{g/mL}$) y edad del paciente ($< o > 80$ años).

Resultados: La media de peticiones anuales de DD es de 2900 (IC 2686-3182). En sólo el 23% de los casos el DD fue inferior a $500 \mu\text{g/mL}$. Según su procedencia (Figura 1), el 46% de las peticiones derivaban de Urgencias Generales y Pediátricas, el 15% de las Unidades de Cuidados Intensivos y el 4% de Neumología. Hemos agrupado los servicios de Hemato-Oncología, Traumatología y Cirugía general dado que conllevan situaciones clínicas que predisponen a valores elevados. En la Tabla 1 se muestran los datos correspondientes. En todo el periodo, el 80% de todas las determinaciones correspondían a valores superiores a $500 \mu\text{g/mL}$. Considerando los 80 años como punto de corte, se puede observar en la Figura 2 que en tan sólo el 12% de las muestras los valores fueron inferiores a $500 \mu\text{g/mL}$.

Conclusiones:

1. El DD es un excelente marcador para la exclusión de ETC cuando aparece en rango normal. Se realiza un número muy elevado de peticiones de DD, la mayoría provenientes de Urgencias y las Unidades de Cuidados Intensivos.
2. El 80% de los resultados se traducen en valores de DD superiores a $500 \mu\text{g/L}$. El número de falsos positivos es elevado dado que son circunstancias que aumentan los niveles basales de este parámetro.
3. La combinación de escalas clínicas (Score de Wells) y DD podría ser útil para aumentar la especificidad de la prueba, reducir el número de falsos positivos y el número de soli-

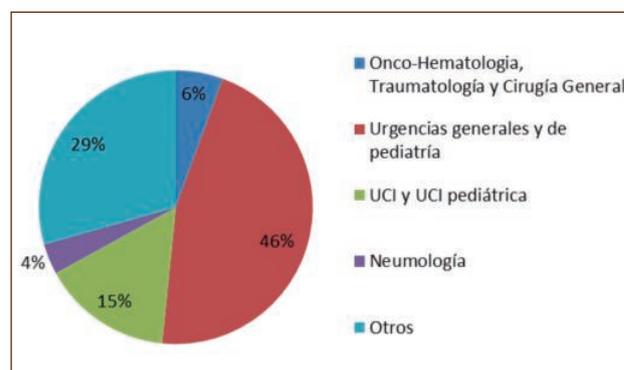


Figura 1. Distribución según procedencia.

Tabla 1.

| | 2011 | | 2012 | | 2013 | | 2014 | |
|---|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | < 500 µg/ml | > 500 µg/ml |
| Onco-hematología, Traumatología y Cirugía General | 11 (6.5%) | 152 (93.5%) | 17 (9%) | 164 (91%) | 11 (5%) | 205 (95%) | 7 (7%) | 95 (93%) |
| Urgencias | 367 (25%) | 1092 (75%) | 439 (28%) | 1105 (72%) | 394 (30%) | 909 (70%) | 308 (31%) | 691 (69%) |
| UCIs | 12 (3%) | 447 (97%) | 22 (5%) | 380 (95%) | 8 (2%) | 522 (98%) | 14 (3.5%) | 383 (96.5%) |
| Neumología | 50 (38%) | 81 (62%) | 34 (27%) | 93 (73%) | 33 (26%) | 92 (74%) | 8 (24%) | 26 (76%) |
| Total | 440 (20%) | 1772 (80%) | 512 (23%) | 1742 (77%) | 446 (21%) | 1728 (79%) | 337 (22%) | 1195 (78%) |

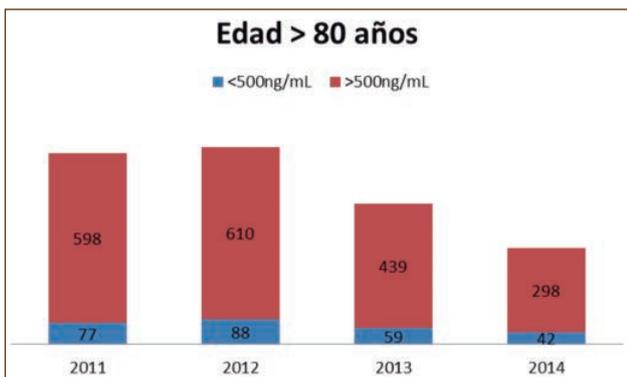


Figura 2..

- citades de pruebas complementarias innecesarias (estudios de imagen).
4. Si se logran realizar algoritmos, con una adecuada estrategia, se puede contribuir a reducir el tiempo de atención clínica y los costes asociados.
 5. Pretendemos ampliar el estudio con los diagnósticos al alta, número de ingresos y número de TACAR solicitados para realizar un análisis de coste-efectividad.

Ministerio de Sanidad y Consumo, Instituto de Salud Carlos III, Red Investigación Cardiovascular RD12/0042/0032

Publicación

Conceptos básicos en hemostasia

PB-154 Déficit factorial congénito y adquirido en niña de 4 años

Sánchez Argüello D., Robles Marinas V., Guerrero Fernández L., de Brabandere C., Antuña Santurio C.V., Sarasa Valdés M., Ordoñez Fernández B., Díaz Trapiella A.
Hospital de Cabueñes. Gijón, Asturias

Caso clínico: Niña de 4 años derivada por su pediatra a urgencias debido a alteración en la coagulación en el contexto de púrpura de Schonlein-Henoch (PSH). *Antecedentes:* crecimiento y desarrollo psicomotor normales. Sin alergias. Vacunación al día. Ningún antecedente patológico a destacar. Antecedentes familiares sin interés. *Enfermedad actual:* exantema púrpuro equimótico en extremidades inferiores y glúteos de dos días de evolución, palpable, de coloración rojiza. Cuadro diarreico días antes, vacunada de triple vírica dos días antes del inicio de los síntomas. *Analítica en urgencias:* hemograma normal, coagulación: T. Quick 17,8 seg; T. protrombina 54%, INR 1,42; *ratio APTT* 2,65; Fibrinógeno 281 mg/dl.

En la prueba de mezclas el ratio TTPA fue de 1.65 (corrige parcialmente).

Dosificación de factores vía intrínseca: *factor II* 19%. Los factores V, VII y X son normales. Factor VIII 203%. Repetido el factor II en nueva muestra: 25%. No se dosificaron los niveles de factor II en la prueba de mezclas.

La paciente es dada de alta y se repite el estudio de coagulación dos días después, con el siguiente resultado: T. Quick 17,3 seg; T. protrombina 56%, INR 1,39; *ratio APTT* 2,63. Dosificación de factores: *factor II* 26%, *factor XI* 23%, factores IX, XI y XII son normales. Factor VIII 340%.

Se cita a la paciente a las dos semanas en consulta para control evolutivo, los síntomas han mejorado progresivamente sin ningún tratamiento hasta desaparecer. La madre refiere déficit de factor XI en la familia. Nuevo estudio de coagulación: T. Quick 12,7 seg; T. protrombina 92%, INR 1,04; *ratio APTT* 1,48. *Factor II* 98%, *factor XI* 43%.

Conclusión: déficit de factor XI leve congénito, y déficit de factor II adquirido asociado a PSH que resolvió espontáneamente al mejorar el problema de base.

Discusión: La PSH es una vasculitis leucocitoclástica, la más común en la infancia. Se caracteriza por púrpura palpable (síntoma más habitual), artritis o artralgiás, dolor abdominal y nefritis. Su etiología es desconocida, aunque con frecuencia se asocia a bacterias, virus u otros desencadenantes.

Dentro de las manifestaciones hematológicas están descritas la diátesis hemorrágica, la trombocitosis, el déficit de factor VIII, el déficit de vitamina K y la hipoprotrombinemia, que pueden

producir coagulopatía y alteraciones en el estudio básico de la coagulación como en nuestro caso.

En nuestra paciente, el TTPA desproporcionadamente alargado con respecto al INR (no explicado por el déficit de factor II), nos llevó a dosificar también los factores de la vía intrínseca, detectando el déficit combinado de factor XI.

Conclusiones: Ante una alteración en las dos vías de la coagulación, debemos pensar en un déficit de la vía común. Pero ante un TTPA alargado, tenemos que descartar: la presencia de anticoagulante lúpico o déficit de factores de la vía intrínseca. Ante una prueba de mezclas que no corrige, debemos descartar un déficit factorial. En el caso de que corrija parcialmente hay que sospechar la existencia de una hemofilia adquirida.

Un déficit congénito no excluye la asociación con un déficit adquirido como en nuestro caso

Diátesis hemorrágica

PB-155 Experiencia en nuestro centro del uso de Wilate en población pediátrica

Sánchez Pina J.M., Castro Quismondo N., Gómez Rojas S., Quiroz Cervantes K., González Medina J., Díaz Rueda T., Martín Mola M.Á., Gilsanz F.
Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid

Introducción: Existe escasa experiencia con el uso de concentrado purificado de factor von Willebrand (fVW) y factor VIII (Wilate®) en pacientes pediátricos con enfermedad de Von Willebrand (EVW).

Objetivo: El objetivo es describir nuestra experiencia con el uso de Wilate en esta población, atendiendo a efectividad, seguridad y tolerabilidad.

Materiales y métodos: Presentamos una serie de 4 pacientes pediátricos que han recibido Wilate, previo a cirugía, en el último año. Tres pacientes presentaban diagnóstico de EVW tipo 1 y un paciente EVW 2N/hemofilia A leve.

Se calcula la dosis inicial de forma individualizada para alcanzar 100% de Factor VIII y/o fVW CoR (cofactor Ristocetina). Aumentamos 20% de la dosis tal como se especifica en niños. Posteriormente ajustamos dosis de forma individualizada, administrándose factor cada 8 horas durante 2 días, cada 12h los dos días posteriores y cada 24 horas hasta un total de 7-12 días. Se estudiaron los niveles de fVW CoR y Ag y factor VIII previo a la administración de la primera dosis del fármaco, a la media hora, a las 2 horas y a las 24 horas de la intervención.

Resultados (Tablas 1 y 2, Figura 1):

- **Caso clínico 1:** paciente de 8 meses, con EVW tipo 1. Previo a cirugía de labio leporino presenta valores basales de: fVWAg 22%, fVWCoR28%, FVIII 50%. Se administra Wilate 390UI. A la media hora: fVWCoR81%, factor VIII 79%.

Tabla 1. Determinaciones seriadas de fvW Ag, fvW CoR y fVIII

| | Determinación | Basal (%) | 30 min (%) | 2h (%)* | 24 h (%)* | 48 h (%)* | > 72 h (%)* |
|--------|---------------|-----------|------------|---------|-----------|-----------|-------------|
| Caso 1 | fvW Ag | 22 | 91 | 66 | 47 | 85 | 52-64 |
| | fvW CoR | 28 | 81 | 60 | 42 | 73 | 46-55 |
| | fVIII | 50 | 79 | 62 | 48 | 72 | 54-67 |
| Caso 2 | fvW Ag | 49 | 113 | 104 | 92 | - | 79 |
| | fvW CoR | 35 | 96 | 93 | 78 | - | 74 |
| | fVIII | 56 | 188 | 102 | 92 | - | 92 |
| Caso 3 | fvW Ag | 99 | 163 | 166 | 158 | 173 | 111-146 |
| | fvW CoR | 88 | 162 | 129 | 113 | 120 | 88-112 |
| | fVIII | 34 | 109 | 110 | 65 | 120 | 58-66 |
| Caso 4 | fvW Ag | 40 | 117 | 126 | 178 | 158 | 104-122 |
| | fvW CoR | 34 | 80 | 86 | 115 | 107 | 81-92 |
| | fVIII | 27 | 79 | 64 | 115 | 150 | 93-155 |

*Muestras extraídas antes de la administración de Wilate.

Tabla 2. Descripción de los casos

| | Tipo EVW | Edad | Cirugía | Dosis inicial | Dosis primeras 48h (c/8 h) | Dosis 48-96h (c/12 h) | Dosis posterior (c/24 h) | Duración del tratamiento (días) | Complicaciones hemorrágicas |
|--------|--------------------|----------|-----------------------------|---------------|----------------------------|-----------------------|--------------------------|---------------------------------|-----------------------------|
| Caso 1 | 1 | 8 meses | Labio leporino | 390 UI | 320 UI | 350 UI | 350 UI | 12 | No |
| Caso 2 | 1 | 12 meses | Polidactilia | 400 UI | 400 UI | 300 UI | 300 UI | 7 | No |
| Caso 3 | 2N/ hemofilia A | 5 meses | Pieloplastia | 350 UI | 200 UI | 200 UI | 350 UI | 8 | No |
| Caso 4 | 1 | 2 años | Cirugía cardiaca (canal AV) | 650 UI | 500 UI (c/12h) | 500 UI | 500 UI | 8 | No |

A las 2 horas: fvWCoR 60%, f VIII 62%. A las 24 horas: fvWCoR 42%, fVIII 48%.

- **Caso clínico 2:** paciente de 12 meses, con EVW tipo 1, se somete a cirugía de polidactilia. Valores basales: fvW Ag 49%, fvW cof Ristocetina 35%, factor VIII 56%. Se administra una dosis de Wilate de 400 UI previo a la intervención. Media hora después: 113%, fvWcoR 96%, fVIII 188%. A las 2 horas de la administración de Wilate presenta: fvWCoR 93%, f VIII 102%. Veinticuatro horas después de la intervención presenta: fvW cof R 78%, f VIII 92%..
- **Caso clínico 3:** paciente de 5 meses con hemofilia A leve versus Enfermedad de Von Willebrand tipo 2N. Precisa cirugía de pieloplastia. Sus valores basales son: fvWcoR 88%, fVIII 34%. Se administran 350 UI de Wilate preoperatorio. Media hora después presenta: fvWcoR 162%, fVIII 109%. Dos horas después: fvWcoR 129%, fVIII 110%. A las 24 horas presenta: fvWcoR 113%, fVIII 65%.
- **Caso clínico 4:** paciente de 2 años, con EVW tipo 1. Se somete a cirugía cardiaca por canal AV transicional. Presenta valores basales: fvW coR 34%, fVIII 27%. Se administra

Wilate 650 UI preoperatorio. Una hora después presenta: fvWcoR 80%, fVIII 79%. A las 2 horas: fvWcoR 86%, fVIII 64%. 24 horas después de la intervención presenta: fvWcoR 115%, fVIII 115%.

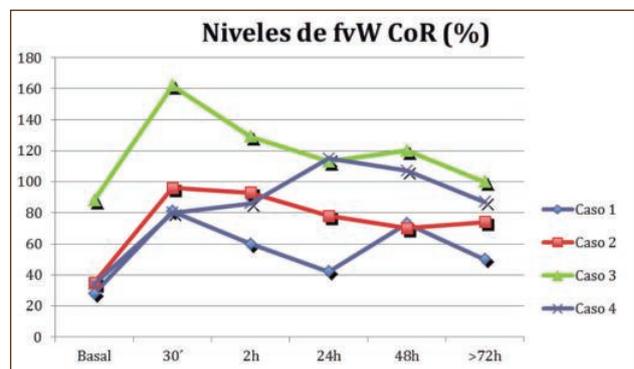


Figura 1. Evolución de fvW CoR en los casos.

No se produjeron efectos adversos ni complicaciones hemorrágicas en ninguno de los casos. Todos los pacientes mantuvieron niveles de fVIII y fVW CoR en rango adecuado.

Conclusiones: En nuestra experiencia el tratamiento con Wilate es seguro y efectivo en población pediátrica con respuesta variable interindividual. Recomendamos individualizar dosis, según respuesta y riesgo hemorrágico de la cirugía, así como la duración del tratamiento.

PB-156 Hemorragia cerebral espontánea de repetición asociada a un déficit leve del factor XI con trombopatía inespecífica

Gómez Toboso D., Mena Rodríguez F., Alonso Prieto C., García Navarro I., Bautista Claver T., Carcell Corella P., Cánovas Giménez V., Benet Campos C., Mayans Ferrer J.R.

Hospital Arnau de Vilanova. Valencia

Introducción: El factor XI (FXI) interviene en la Fase de contacto de la vía intrínseca de coagulación. Su deficiencia, síndrome Rosenthal o Hemofilia C, prolonga el tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPA) sin alterar los tiempos de protrombina y trombina.

Es un trastorno autosómico recesivo infrecuente (<10%) cuyos niveles de actividad (Normal: 70-150%) varían en función de la herencia mutacional: homocigotos o dobles heterocigotos presentan niveles menores del 15% (déficit severo) y los heterocigotos varían entre 20-70% (déficit parcial).

A diferencia de Hemofilia A y B, no hay asociación entre genotipo y fenotipo; no existiendo relación lineal entre grado de deficiencia y tendencia hemorrágica. Esto podría deberse a que asocia con más frecuencia otros factores pro-hemorrágicos adicionales, como trombopatías congénitas, otros déficits de factores de coagulación o consumo de AAS y AINE.

Las manifestaciones clínicas, si aparecen, son principalmente hemorrágicas tras traumatismos o cirugías. Los sangrados espontáneos (hematuria, menorragia, epistaxis) no son característicos. Otras infrecuentes, como la hemorragia retroperitoneal o craneal, también se han descrito.

Caso clínico: Varón de 63 años, con DM2 y dislipemia, sin otros antecedentes, presenta súbitamente una hemianopsia homónima lateral, sin TCE. Las pruebas de imagen evidenciaron un hematoma occipitoparietal derecho, descartando patología vascular y lesiones isquémicas agudas. A los dos años presentó otra hemorragia cerebral espontánea a nivel temporal derecho.

En la analítica presentaba un incremento del TTPAr de 1.33 (normal: 0.8-1.2), con resto de tiempos de coagulación normales. En el estudio del TTPA alargado, se observó una disminución factor XI del 34%, siendo el resto de parámetros normales.

El despistaje de trombofilia y E. von Willebrand fue negativo.

El estudio de agregación plaquetaria, mostró ausencia de Ac. araquidónico (0.70%) y descenso leve de Epinefrina (50%) y Colágeno (60%) con ADP y ristocetina normal. En la función plaquetar, se observó un PFA-100 de colágeno/epinefrina y colágeno/ADP normal.

Por tanto, es un paciente con hemorragias cerebrales espontáneas repetitivas, sin patología vascular, asociadas a déficit leve del FXI con trombopatía inespecífica (Tabla 1 y Figura 1).

Discusión: La hemorragia cerebral espontánea es una rara complicación del déficit de FXI. El sangrado espontáneo grave en el déficit del FXI, no está limitado a un déficit severo, ya que el riesgo de hemorragia no está claramente relacionado con el grado de deficiencia. En todo déficit de FXI leve hay que descartar otras alteraciones que acentúen el riesgo de sangrado.

Tabla 1. Déficit del factor XI

| Tipo de herencia | Actividad FXI | Tipo de deficiencia | Clínica |
|------------------------------------|---------------|---------------------|---|
| Homocigotos o dobles heterocigotos | < 15 % | Deficiencia severa | No hay correlación entre grado de deficiencia y tendencia hemorrágica |
| Heterocigotos | 20 – 70% | Deficiencia parcial | |

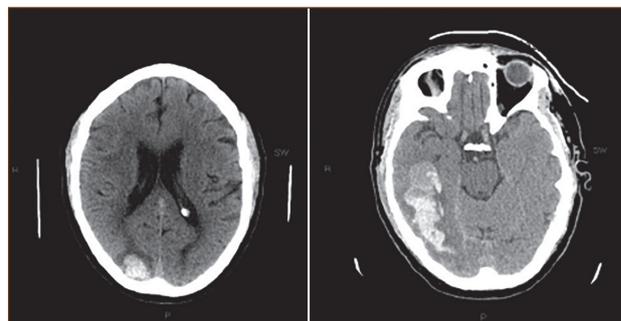


Figura 1. TAC.

PB-157 Fallas en la adherencia terapéutica en paciente hemofílico a severo con amputación transfemoral

Arias Osorio D., Lamos Osorio C., Ramírez Cerón C.A., Pardo Laverde C.E., Sánchez Briceño N., Ruiz Torres J.A., Cepeda Ariza C.R., Andrade Troncoso L.A., Luna Mora G.A., Mateus Lina T.

IPS Especializada. Bogotá, Colombia

Introducción: La hemofilia es trastorno congénito de la coagulación vinculado al cromosoma X, que se caracteriza por la deficiencia de factor VIII y IX de la coagulación, en el caso de la Hemofilia A y Hemofilia B respectivamente. La incidencia mundial de la hemofilia A se ha estimado en 1:10.000 y para hemofilia B 1:40.000 habitantes hombres. De acuerdo a la FMH en 2012, Colombia reportó 1.807 personas con diagnóstico de hemofilia. Las manifestaciones clínicas dependen del grado de déficit del factor. Los aspectos psicosociales tienen un impacto relevante en el manejo de una patología genética

como la hemofilia, ya que pueden afectar directamente sobre el tratamiento indicado, asociado a toma de decisiones contraindicadas para el mismo, provocando discapacidades irreversibles, disminución en el bienestar personal y familiar y fallas en la adherencia terapéutica.

Objetivo: Describir caso clínico de paciente con hemofilia A severa, con inhibidores de alta respuesta y con un componente psicosocial desfavorable importante.

Caso clínico: Paciente de 57 años, hemofilia A severa (DX: 1960), cuantificación de factor VIII (0.4), nivel más alto inhibidor (1331,2 UB) Jul-12, con inhibidores de alta respuesta (18.4 UB) Feb-15, sobrino materno con el mismo diagnóstico. Comorbilidad: VHC no tratada en el momento, Fibrotest 0.83 valor de score fibrosis compatible con Cirrosis hepática, poliartropatía hemofílica, antecedente de reemplazo total de rodilla derecha (1997), dolor crónico, rodilla izquierda con deformidad en flexión, amputación transfemoral derecha En-2015, limitación en ABC, antecedente de sobrepeso con alto riesgo de enfermedad cardiovascular de acuerdo a medida de perímetro abdominal, deficiencia en los repertorios de autocuidado, dinámica familiar con disfuncionalidad moderada, red de apoyo familiar e institucional reducida, duelo no resuelto frente a su coagulopatía, percepción catastrófica de la hemofilia, antecedentes de conductas de riesgo relacionadas a pobre adherencia de las recomendaciones terapéuticas, rasgos de mitomanía, proyecto de vida desestructurado. Ingreso al programa de coagulopatías hereditarias-IPS Especializada en Jul-12, dx: Hemofilia A severa, manejo con FAH a necesidad, actualmente manejo multidisciplinario, cuidados clínicos y terapéuticos, rehabilitación física y a la espera de prescripción protésica.

Discusión: En pacientes con coagulopatías hereditarias la atención no se trata únicamente de la reposición del factor deficiente, sino de un abordaje integral, para ello se requiere un equipo interdisciplinario de profesionales que se ajusten a los protocolos y guías de manejo establecidos por el sistema de salud, con capacidad para atender la salud física y psicosocial del paciente y su familia. Sin embargo, pese a las intervenciones multidisciplinarias los pacientes hemofílicos pueden presentar alta resistencia al seguimiento del tratamiento propuesto por su equipo terapéutico de atención.

Conclusiones: Los aspectos psicosociales del paciente hemofílico tienen un efecto en la adherencia y desenlaces terapéuticos que pueden traer repercusiones desfavorables e irreversibles en la salud del mismo.

PB-158 Paciente con hemofilia adquirida y anticuerpos p-ANCA

Ruano León J.A., Peri Valeria L., Negrín López M.

Servicio de Hematología y Hemoterapia. Complejo Hospitalario Universitario Insular Materno Infantil. Las Palmas de Gran Canaria

Caso clínico: Paciente varón de 72 años, que acude al Servicio de Urgencias de nuestro hospital, por presentar un hematoma extenso en miembro superior izquierdo tras caída casual dos semanas antes, y anemia microcítica.

Como antecedentes personales, destacan: Bebedor habitual, cardiopatía isquémica 10 años antes y vitiligo. El paciente niega tratamiento alguno, así como sangrados en intervenciones previas.

A la exploración física destaca la presencia de un gran hematoma en codo y antebrazo izquierdos, palidez mucocutánea, lesiones de vitiligo y ginecomastia bilateral. Resto normal.

En la analítica destacaba una anemia microcítica (Hb: 8,1 g/dL, VCM: 64 fL) y un alargamiento del tiempo de cefalina que no corrige con test de mezclas (APTT: 113 segundos, Ratio de APTT: 3,76). Los niveles de factores de coagulación de la vía intrínseca fue: factor VIII:; factor IX:; factor XI:; factor XII:. El resto era normal. Se determinó la presencia de un inhibidor del factor VIII de la coagulación, cuya actividad era de 24 unidades Bethesda (Figura 1).

En el TAC de tórax se observó una imagen especulada de 2,5 cm de diámetro, con reacción pleural, sugestiva de carcinoma broncogénico, así como nódulos pulmonares periféricos, bien definidos, interpretados como metástasis pulmonares (Figura 2).

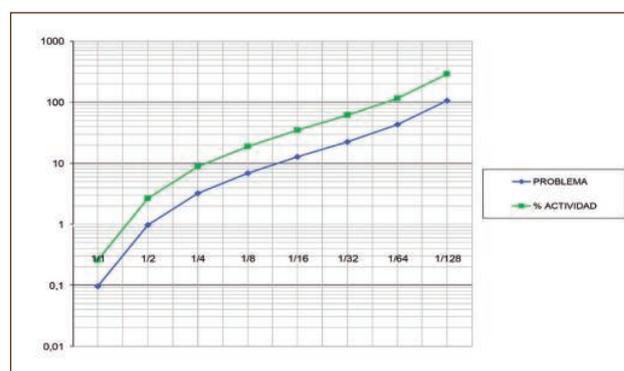


Figura 1.



Figura 2.

Con el diagnóstico de hemofilia adquirida, el paciente inicia tratamiento con prednisona 1 mg/kg peso y rituximab a dosis de 375 mg/m², un total de 4 ciclos. La evolución fue buena, con reducción del hematoma, y descenso del RAPTT a 2,0. El TAC de reevaluación, se observó una disminución de la lesión nodular, que se interpreta como nódulo cicatricial residual.

Tres años después, el paciente acude al S. Urgencias en varias ocasiones, por cuadro de fiebre, hemoptisis de repetición, anemia microcítica y alargamiento del APTT.

En el estudio de coagulación realizado se detecta un APTT de 54,4 segundos, RAPTT de 1,73 un déficit leve de factor XII (25%) y un anticoagulante lúpico, confirmado en los siguientes meses (Tabla 1).

No se observó la presencia de inhibidor frente al factor VIII.

En el resto de la analítica destaca una creatinina de 2,47 mg/dL. En el estudio de autoinmunidad, destaca la presencia de ANA positivo 1/80 patrón homogéneo, anti DNA 1/10, ac. anti citoplasma de neutrófilos positivo con patrón p-ANCA.

Con el diagnóstico de panarteritis nodosa microscópica y se inicia tratamiento con corticoides (metilprednisolona), plasmaféresis y ciclofosfamida.

La evolución del paciente fue tórpida con deterioro progresivo de la función renal, por lo que en la actualidad está en un programa de diálisis.

Discusión: La hemofilia adquirida es un raro trastorno de la coagulación, caracterizado por diátesis hemorrágica en individuos previamente sanos. El 40% de los casos pueden existir antecedentes como cáncer, embarazo o enfermedades autoinmunes.

El paciente presenta un cuadro autoinmune compatible con poliangeítis microscópica con anticuerpos p-ANCA y anticoagulante lúpico, y afectación renal y pulmonar. Durante su evolución, el paciente desarrolló una hemofilia adquirida, que se solucionó con el tratamiento aplicado.

En muchas ocasiones, la hemofilia adquirida forma parte de un proceso autoinmune de base, que es necesario diagnosticar y tratar de la forma más agresiva posible, para evitar el daño de otros órganos diana.

PB-159 Comorbilidades y factores de riesgo cardiovascular en hemofilia: estudio prospectivo de un único centro

Fernández Docampo M., Gómez del Castillo Solano M.C., Vázquez Vázquez G., Costa Pinto J., Herrero Maeso B., López Fernández M.F.

Xerencia de Xestión Integrada de A Coruña. A Coruña

Introducción: Con la introducción de programas de profilaxis en pacientes adultos y gracias al uso de terapias recombinantes y sistemas de inactivación viral, los pacientes hemofílicos han equiparado su esperanza de vida con la población general; por ello, actualmente se ha observado un aumento de las comorbilidades siendo un aspecto muy importante, la enfermedad cardiovascular (ECV) y sus factores de riesgo (FRCV).

Tabla 1.

| Evolución de cifras de APTT/RAPTT/U. Bethesda | | | | Tratamiento |
|---|-------|-------|-------|-------------|
| Fecha | APTT | RAPTT | UB | |
| 09/07/2007 | 113,9 | 3,76 | 24,08 | Corticoides |
| 10/07/2007 | 127,2 | 4,2 | | |
| 12/07/2007 | 104,3 | 3,44 | | Rituximab |
| 13/07/2007 | 90,6 | 2,99 | | |
| 15/07/2007 | 78,2 | 2,58 | | |
| 16/07/2007 | 73,5 | 2,43 | 24,45 | |
| 17/07/2007 | 71 | 2,34 | | |
| 18/07/2007 | 66,1 | 2,18 | | |
| 19/07/2007 | 69,3 | 2,29 | | Rituximab |
| 20/07/2007 | 64,6 | 2,13 | | |
| 22/07/2007 | 64,3 | 2,12 | | |
| 23/07/2007 | 67,9 | 2,24 | | |
| 24/07/2007 | | | 3,45 | |
| 25/07/2007 | 67,6 | 2,23 | | |
| 26/07/2007 | | | | Rituximab |
| 27/07/2007 | 65,2 | 2,15 | | |
| 28/07/2007 | | | | |
| 29/07/2007 | | | | |
| 30/07/2007 | 62,6 | 2,07 | | |
| 31/07/2007 | | | | |
| 01/08/2007 | 62 | 2,05 | | |
| 02/08/2007 | | | | Rituximab |
| 03/08/2007 | 57,7 | 1,9 | | |
| 04/08/2007 | | | | |
| 05/08/2007 | | | | |
| 06/08/2007 | 60,2 | 1,99 | | |
| 07/08/2007 | | | | |
| 08/08/2007 | | | | |
| 09/08/2007 | | | | |
| 10/08/2007 | | | | |
| 11/08/2007 | | | | |
| 12/08/2007 | | | | |
| 13/08/2007 | | | | |
| 14/08/2007 | | | | |
| 15/08/2007 | | | | |
| 16/08/2007 | | | | |

Objetivos: a) Determinar las comorbilidades de los pacientes hemofílicos adultos; y b) conocer los FRCV y analizar su prevalencia según edad, serología VIH y VHC y gravedad de la hemofilia.

Pacientes y métodos: Desde abril/2011 a abril/2015, se recogieron prospectivamente datos de FRCV (Hipertensión arterial (HTA), hiperlipemia (HLP), diabetes (DM), obesidad, tabaquismo, sedentarismo) y otras comorbilidades incluyendo serología VIH, VHC, VHB, hepatopatía, trombosis, ECV, cáncer e insuficiencia renal de todos los pacientes hemofílicos adultos con seguimiento anual en consulta.

Resultados: Se incluyeron 51 pacientes, con mediana de edad de 47 años (21-82), 90,2% con hemofilia A; grave 31.4% (n=16), moderada 1.19% (n=1) y leve 66.7% (n=34). Sólo 1 paciente presenta inhibidor. Las principales comorbilidades están recogidas en la **Figura 1**.

Durante el seguimiento se han observado 5 eventos trombóticos en 4 pacientes (7,81%): 2 venosas (1 portal y 1 profunda en miembro inferior) y 3 arteriales (1 cardiopatía isquémica (CI), 1 accidente isquémico transitorio y 1 arteriopatía periférica). Se observó ECV en 7 pacientes (3 valvulopatías severas que precisaron prótesis biológica, 1 ductus arterioso persistente, 1 CI, 1 disfunción del nódulo sinusal y 1 estenosis carotídea severa). Además, 2 pacientes fallecieron sin estudio necrópsico: 1 dolor anginoso y 1 bajo nivel de conciencia y antecedente de estenosis carotídea crítica).

En relación a los FRCV presentaban HTA 31.4% (n=16), HLP 39.2% (n=20), DM 9.8% (n=5), Obesidad 29.4% (n=15), Sedentarismo 37.25% (n=19) y tabaquismo 33.3% (n=17). Los FRCV en función de edad y gravedad de Hemofilia se adjuntan en las **Figuras 2 y 3**.

En cuanto a VIH (n=5), todos ellos grave; 80% presentan 0 o 1 FRCV. Para VHC (n=16), 70% son graves (n=11) y un 62,5% del total (n=10) presentan 0 o 1 FRCV.

Conclusiones: Con el aumento de la esperanza de vida de los hemofílicos, se está observando un aumento de las comorbilidades relacionadas, entre ellas la ECV. Estos datos preliminares, sugieren que la Hemofilia no previene de la ECV y deben evaluarse los FRCV en todos los pacientes hemofílicos de cara a instaurar medidas preventivas.

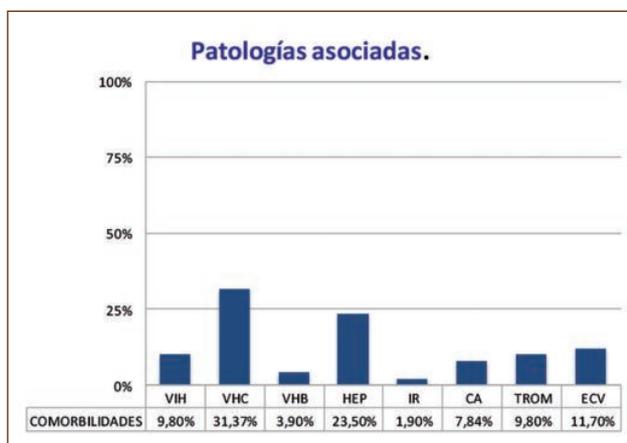


Figura 1. Comorbilidades importantes de paciente hemofílicos (% del total) (VIH: virus de inmunodeficiencia humana, VHC: virus hepatitis C; VHB: virus hepatitis B; HEP: presencia de hepatopatía; IR: insuficiencia renal; CA: cáncer; TROM: trombosis arterial/venosa; ECV: enfermedad cardiovascular).

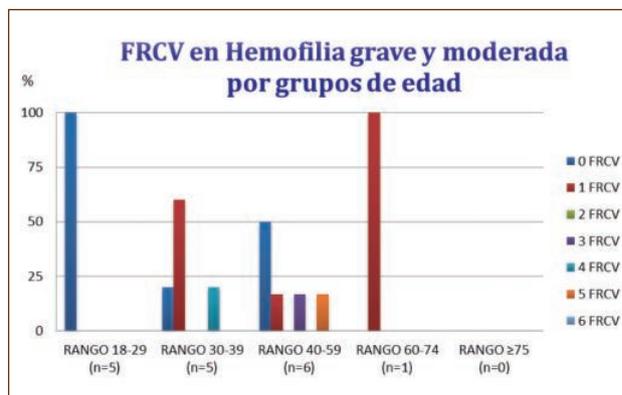


Figura 2. Factores de riesgo cardiovascular (FRCV) en pacientes con hemofilia grave y moderada, en función de su edad.

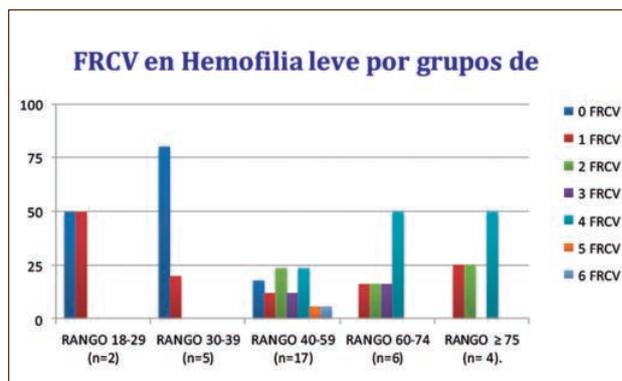


Figura 3.

PB-160 Déficit adquirido de factor VII: síndrome paraneoplásico hematológico

Cruz Díaz A.J., Entrena Ureña L., Morente Constantin E., Rivera Ginés B., Jurado Chacón M.

Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada

Introducción: El déficit de FVII es una coagulopatía congénita infrecuente (1/500000), autosómica recesiva y con predisposición hemorrágica variable. Un bajo número de casos de déficit adquirido de FVII han sido descritos en la literatura.

Métodos: Varón de 49 años sin AP de interés que refiere bultoma en psoas derecho, fiebre vespertina y astenia de tres meses de evolución. En el curso del estudio, debuta con fibrilación auricular que se anticoagula con HBPM tras hemograma y estudio de coagulación dentro de la normalidad. Tras biopsia de la lesión se diagnos-

tica de sarcoma pleomórfico indiferenciado en psoas derecho con estudio de extensión negativo, decidiéndose resección quirúrgica compartimental y consolidación con quimio y radioterapia. En el preoperatorio presenta TP de 16.6 seg (52%), TTPa 38 seg y Fibrinógeno 966 mg/dL. Tras confirmar los resultados y una función hepática normal se completa el estudio confirmándose déficit de factor VII (FVII 29%, FII 80%, FV 82%, FIX 175%, FX 95%, anticoagulante lúpico e Inhibidores circulantes de vía extrínseca negativos).

Resultados: Tras diagnóstico de déficit leve de FVII adquirido, al no tener AP de sangrado en los meses previos pese a anticoagulación y ante el elevado riesgo trombotico, se recomendó suspender el tratamiento anticoagulante 24 horas antes de la cirugía y uso de FVIIa recombinante sólo en caso de diátesis hemorrágica en el acto quirúrgico o en el postoperatorio. El paciente se intervino sin incidencias ni precisar tratamiento. Tras recuperación de la hemostasia se reintrodujo el tratamiento anticoagulante con HBPM. A las 5 semanas el estudio de coagulación retornó a la normalidad (TP 84% y 32seg, TTPAa 39seg y ratio 1.1, fibrinógeno 419ng/mL, FVII 66%).

Conclusiones: La deficiencia de factor VII en la ausencia de déficit de vitamina K, terapia anticoagulante oral, disfunción hepática o desórdenes heredados es extremadamente rara. Se ha descrito asociado a otras patologías como neoplasias, enfermedades autoinmunes, sepsis y trasplante de médula ósea. La existencia de un anticuerpo inhibidor que aumente su aclaramiento se ha confirmado en pocas ocasiones, barajándose otras causas como un aumento de su consumo (por escisión por proteasas en la sepsis) o aumento del mismo en el compartimento extravascular (por aumento de su unión al factor tisular extravascular tras altas dosis de quimio-radioterapia que induzcan un aumento de permeabilidad vascular). La predisposición hemorrágica es muy variable, considerándose de alto riesgo los pacientes con niveles inferiores al 1%, coexistencia de otras coagulopatías o historia personal de sangrado. En cirugía y en sangrado menor en casos de riesgo bajo se recomienda tratamiento con ácido tranexámico, reservándose el FVIIa recombinante en alto riesgo con sangrado severo o cirugía mayor. Se necesitan más estudios para dilucidar claramente el mecanismo de esta coagulopatía y el papel de la terapia con agentes hemostáticos en los pacientes que presenten clínica hemorrágica.

PB-161 Tumor sólido y hemofilia: un reto diagnóstico y terapéutico

Rosado Sierra B., Fisac Herrero R.M., García Mateo A., Navarro García de la Galana C., Olivier Cornacchia C., Queizán Hernández J.A., Valencia Castillo S.L., Hernández Martín J.M.
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital General de Segovia. Segovia

Introducción: La hemofilia adquirida (HA) es un trastorno autoinmune infrecuente, producido por la formación de un inhi-

bidor frente al factor VIII (FVIII), disminuyendo sus niveles y produciendo una coagulopatía hemorrágica grave. La mitad de los casos son idiopáticos, mientras que el 50% restante son debidas a procesos autoinmunes, embarazo, neoplasias o causa farmacológicas. Nuestro objetivo fue describir el manejo diagnóstico-terapéutico de un paciente con hemofilia adquirida.

Métodos: Presentamos un varón de 58 años, diagnosticado de un adenocarcinoma de páncreas que en preoperatorio presenta un tiempo de cefalina alargado (135”).

48 horas antes, había acudido al servicio de Urgencias por aparición brusca de un hematoma en miembro inferior izquierdo. Con una cefalina incoagulable, atribuyéndose a una mala extracción/artefacto, fue dado de alta.

Resultados: Con nueva muestra se re-evalúa al paciente. Tras el test de mezclas, se descarta un anticoagulante lúpico sospechando un inhibidor. Dosificados factores de la vía intrínseca, se objetiva un FVIIIc: 1%, Factor XI: 42% y Factor de XII: 57% (método coagulométrico, en 1 tiempo), que con mezclas, únicamente mejoraban el XI y XII. Con estos datos, y analíticas previas normales, hizo sospechar la presencia de un inhibidor selectivo contra el FVIII. Se completó estudio con test de Kasper, el cual fue positivo y se detectaron 6 Unidades Bethesda (UB). Mientras se realiza el estudio, acude por hematuria. En este momento ingresa con corticoides y desmopresina para intentar mejorar la clínica y disminuir el anticuerpo. Tras empeoramiento analítico (8UB) y persistencia de sangrado se inició tratamiento con Rituximab® como tratamiento erradicador del inhibidor y agentes bypass para el cese del sangrado (rFVIIa y CCPa). Con la administración de Fandhi® y agentes bypass, como preparación quirúrgica, se consiguió en los días posteriores el cese de la clínica. Previa a la intervención se administraron gammaglobulinas (pauta corta) intentando disminuir el inhibidor; durante y tras la intervención se administró de forma alterna FVIII, rFVIIa y CCPa sin ninguna incidencia (exerésis tumoral total), llegando a tener al finalizar la cirugía unos niveles de FVIII: 36%.

Sin embargo, la situación clínica del paciente empeora drásticamente, sufriendo un shock hipovolémico y/o séptico con un fracaso multiorgánico que finaliza con el fallecimiento del paciente tras 48 horas de la cirugía, sin sangrado ni trombosis por imagen radiológica.

Conclusiones: La relación entre HA y neoplasias fue descrita por primera vez en 1940, es 3 veces más frecuente en varones con una mediana de edad de 69 años. Entre los tumores sólidos se encuentra el de páncreas, aunque no es de los más frecuentes. El tratamiento erradicador del inhibidor está en discusión, aunque parece ser necesario combinar inmunosupresión junto al tratamiento antitumoral según la extensión de la neoplasia.

La información aportada se basa en series de casos y centros de referencia, por lo que el diagnóstico y tratamiento es dificultoso. Actualmente se lleva a cabo un registro nacional, imprescindible para conocer la verdadera incidencia de la enfermedad y establecer unas guías estandarizadas de manejo.

Métodos de diagnóstico y marcadores

PB-162 Valor de la microscopía óptica en el diagnóstico de la leishmanias visceral

Domínguez Esteve J., Mascaró M., Pérez M.C., Serra F., Borrás J., Vázquez I., Cladera A., del Campo R., García A., González E., Guerra J.M., Bargay J.

Hospital Son Llàtzer. Palma de Mallorca

Introducción: La leishmaniasis visceral (LV) es una enfermedad producida por un protozoo, transmitido por la picadura de flebotomos, que cursa con episodios irregulares de fiebre, pérdida de peso, hepatoesplenomegalia y anemia. La LV se diagnostica por examen microscópico y/o cultivo de aspirados tisulares, la sensibilidad es mayor en muestras esplénicas (98%) que medulares (52-70%), pero el aspirado de médula es más usado por ser menos cruento.

Objetivos: El objetivo principal es determinar la sensibilidad de la técnica de visualización de leishmanias por microscopía óptica. El objetivo secundario es realizar un análisis descriptivo de la médula ósea infectada por leishmanias en pacientes con y sin infección por VIH.

Material y métodos: Estudio retrospectivo de las muestras de médula ósea con cultivo positivo para leishmania desde el año 2002 al 2014. Se obtuvieron 35 muestras (correspondientes a 20 pacientes) mediante la base de datos del S. de Microbiología y el Registro de Citología de Médula Ósea del S. de Hematología del HSL. Se excluyeron 4 muestras (sin descripción) para el estudio descriptivo medular y 3 muestras (sin celularidad) para la valoración de las series hematopoyéticas y la displasia. Se realizaron dos subgrupos en función de si presentaban la infección del VIH.

En nuestro centro ante la sospecha de LV se efectúa un aspirado de médula ósea y se realiza un frotis, que es teñido con May-Grünwald-Giemsa y observado por un hematólogo; además parte del material se cultiva, a temperatura ambiente, en un cell culture flask con 3mL de medio RPMI 1640 modificado, 3mL de Drosophila, 1 ml de suero de Schneider y 1mL de suero bovino fetal; y es observado al microscopio, por un microbiólogo, 2 veces por semana durante 2 semanas y semanalmente hasta la 4ª semana, antes de informar el cultivo negativo.

Resultados: 14/21 (66%) pacientes con LV presentaban coinfección con VIH. De los 7 pacientes no VIH: 3 eran menores de 10 años, 2 estaban en tratamiento inmunosupresor, 1 refería contacto previo con un perro con L. cutánea y 1 no presentaba factores de riesgo.

5/32 (15%) cultivos eran positivos sin observarse leishmanias por microscopía óptica.

La médula ósea más frecuente era normocelular (81%) en los paciente sin infección por VIH y normo o hiper celular (45% cada una) en los coinfectados por VIH; con las series hematopoyéticas

porcentualmente conservadas (en el 80% de VIH positivos y en el 57% de no VIH); y presencia de >10% de displasia en ≥ 1 líneas (69% del total de médulas). Destacar que el 27% de las médulas (8/29) presentaban >5% de células plasmáticas y el 24% (7/29) >5% de histocitos.

Conclusión: En nuestro centro la sensibilidad de la detección de leishmanias en el microscopio óptico respecto al cultivo es del 85%.

La mayoría de las médulas infectadas por leishmanias son normo o hiper celulares (90%), con series hematopoyéticas proporcionalmente conservadas (65'52%) y con mielodisplasia en una o más líneas (69%). Entorno al 25% presentan plasmocitosis y/o histocitosis.

PB-163 Análisis de multímeros de factor von Willebrand por inmunofluorescencia en gel

Torres Juan M. (2), Canaro Hirnyk M. (2), Galmes Sureda B. (2)

(1) Fundació d'Investigació Sanitària de les Illes Balears (FISIB). Palma de Mallorca. (2) Servicio de Hematología. Hospital Universitari Son Espases. Palma de Mallorca.

Introducción: Uno de los objetivos de la Unidad de Coagulopatías es aportar una nueva metodología al Laboratorio de Hemostasia y Trombosis para tipificar la Enfermedad de von Willebrand (EVW).

La proteína naciente del factor von Willebrand (FVW) es una glicoproteína plasmática que comprende 2.813 AA, que se modifican para producir una subunidad de FVW maduro de 2.050AA. Mediante la formación de puentes disulfuro entre las subunidades se forman los multímeros de FVW, que pueden alcanzar pesos moleculares de 20.000 KDaltons aproximadamente.

La clasificación de la EVW según el VWF-Scientific Standardization Committee (SSC) se basa en las determinaciones de laboratorio: FVIII:C, FVW:Ag, FVW:RCo, multímeros del FVW y RIPA.

Método: El plasma pobre en plaquetas (PPP) se obtuvo por el procedimiento habitual del Laboratorio. En el estudio genético del paciente se describe la mutación R1374H.

Las muestras se procesaron siguiendo el método descrito. A partir de la determinación previa de FVW:Ag, se calcula la misma concentración de FVW:Ag en la muestra del paciente (VW2A) y en el plasma normal (PN). La concentración final de FVW es 0,15 UI.

La electroforesis se realizó en gel de agarosa (0,8%) sin gradiente de concentración, durante 17 horas a 15 mA/50V. Después del periodo de fijación de la proteína, la incubación con el anticuerpo primario anti-FVW durante 5 horas y posterior incubación del anticuerpo secundario Alexa Fluor 680, el gel se revela directamente con el sistema de detección de la fluorescencia en el rango del espectro infrarrojo-cercano, Odyssey CLx (Li-cor) (Figura 1).

Resultados: La imagen del gel de agarosa es adecuada para realizar el estudio cuantitativo de las bandas y establecer la comparación entre el plasma del paciente (VW2A) y el plasma normal (PPN).

Para el análisis de bandas con el *software ImageJ* se utiliza la imagen en escala de grises, y además se normaliza el *background* cada una de las muestras, ya que se observa el efecto *smearing* en el patrón multimérico VW2A, ya descrito en la bibliografía.

El análisis de bandas demuestra por una parte, la ausencia de multímeros de alto peso molecular en la muestra del paciente y por otra parte, que la suma de las áreas bajo los picos del perfil densitométrico son iguales para ambas muestras (Figura 2).

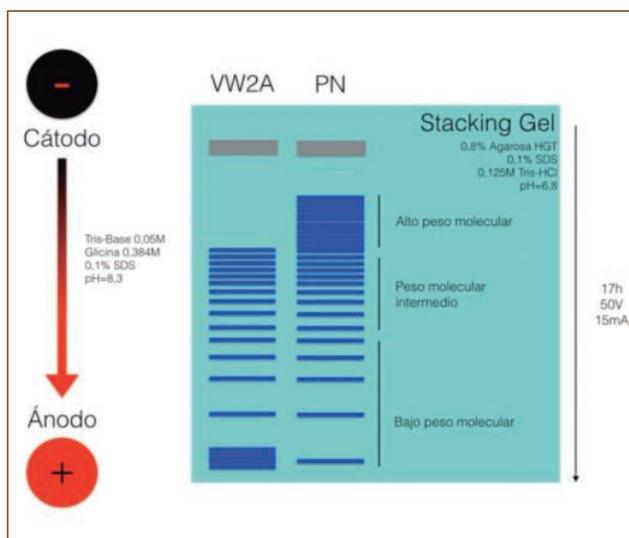


Figura 1.

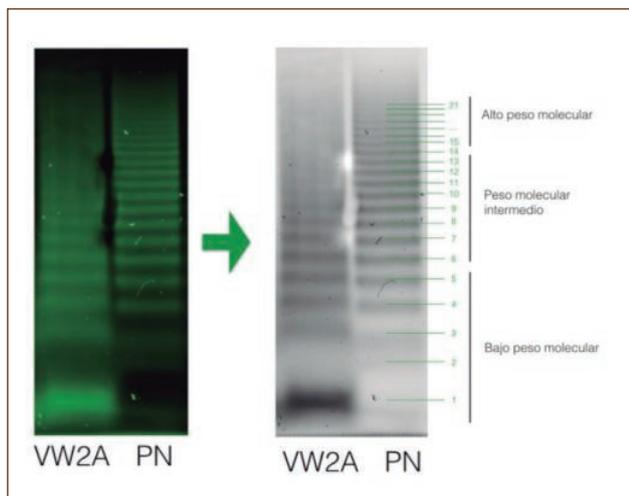


Figura 2.

Conclusiones:

1. Con esta nueva metodología se ha conseguido simplificar el proceso analítico descrito en la bibliografía para definir el patrón multimérico de un paciente.

PB-164 Necrosis medular secundaria a tumor primario desconocido: a propósito de un caso

Verdugo Cabeza de Vaca M.V., Salamanca Cuenca A., Martín Chacón E., Hermosín Ramos L., Gallego Peris P., Manzanares Pérez M., Campo Palacio H.J., Raposo Puglia J.Á., Garzón López S.

Hospital General de Jerez de la Frontera. Cádiz

Introducción: La necrosis medular (NM) es un proceso infrecuente caracterizado por necrosis coagulativa que afecta de forma difusa al tejido hematopoyético de columna y pelvis y, en raras ocasiones, al tejido óseo. Se observa interrupción de la arquitectura normal de la MO con una considerable pérdida de espacios de grasa. Con prevalencia del 0,3-6,5%, suele ser 2º a hemopatías, tumores sólidos (TS) y otras. Tanto su presentación clínica como datos biológicos inespecíficos, nos obliga a investigar de forma exhaustiva para llegar a un diagnóstico certero.

Objetivo: Describimos el caso de una paciente que ingresa en nuestro centro por cuadro de dolor lumbar intenso, bicitopenia y elevación de LDH.

Método: Mujer 69 años valorada en consulta de MI por dolor lumbar insidioso intenso que posteriormente se irradia a región cervical y MMSS. Ingresa en MI para estudio.

Resultados: Al ingreso destacaba: Leucocitos 19,21 (N: 14,14)x10⁹/L, Hb 107 g/L, VCM 88,6 fl, plaquetas 18x10⁹/L. Coagulación: TTPa: 35,4s AP: 64%. DD elevado. Citomorfología sp: reacción leucoeritroblástica, sin esquistocitos ni células inmaduras. Bilirrubina: 1.25 mg/dL, LDH: 2727 U/L, Fosfatasa Alcalina: 1467 U/L. Descartamos hemólisis y realizamos varios estudios medulares: PAMO 1: diluido con ausencia de datos de hemopatías. La paciente presentó deterioro progresivo con aparición de clínica neurológica. Destacaba pancitopenia severa sin rendimiento transfusional. Se realizó RNM c. vertebral: disminución generalizada de su señal, que podría estar en relación con discrasia sanguínea. A nivel lumbar, colección epidural desde L2 a S1, compatible con *hematoma epidural*. Preciso soporte transfusional intensivo (13 CH y 15 pool de plaquetas en 24 días). Aconsejamos empíricamente *dexametasona* dada la persistencia de la clínica y citopenias, y en espera de resultados de la biopsia ósea, sin obtener mejoría. Se repitieron los estudios medulares, en los que ya se observan datos de *necrosis medular*. La BMO fue informada como *necrosis masiva por coagulación*. Tras todos los resultados obtenidos se descartó proceso hematológico 1º y planteamos como diagnóstico más probable Neoplasia maligna con afectación de la MO. Tras revisar todas las muestras de las PAMOs, en uno de ellas se observó presencia de aislados cúmulos celulares que

podrían corresponder a metástasis medular por adenocarcinoma, confirmándose posteriormente en la AP. En los estudios previos no se detectó la existencia de TS 1°. Se plantearon otras pruebas, pero la grave situación impidió completarlas, siendo éxitos letalis por hemorragia cerebral (Figuras 1-3).

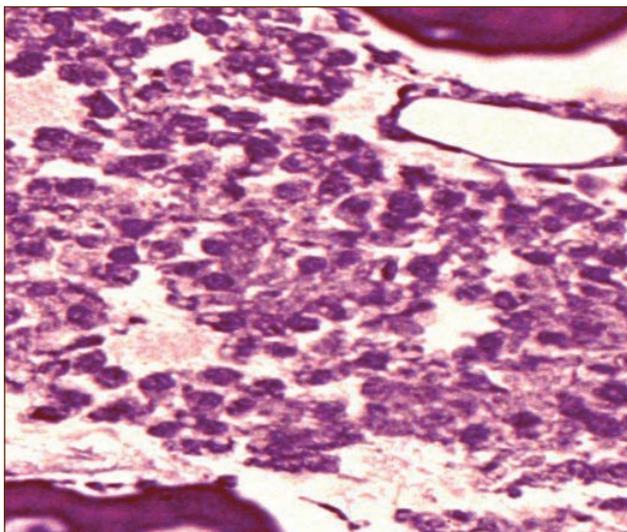


Figura 1.

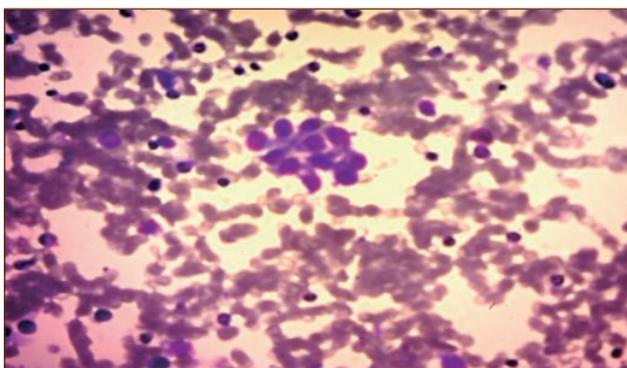


Figura 2.

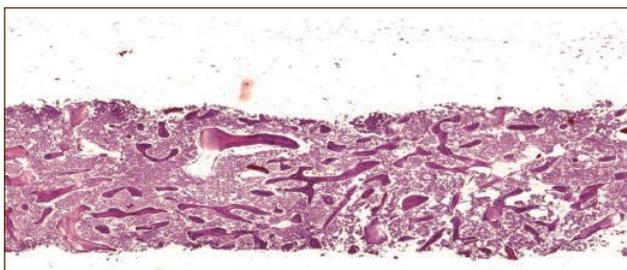


Figura 3.

Conclusiones: Tanto el diagnóstico sindrómico como el etiológico en los pacientes con NM suele ser dificultoso, requiriendo esfuerzos diagnósticos importantes, que obligan en más de una ocasión a repetir múltiples biopsias. Las hemopatías siguen siendo la 1ª causa y en 2º lugar otras neoplasias. La hipoxemia tisular tras el fracaso de la microcirculación, puede ser considerada como el mecanismo más importante en su desarrollo. La clínica inespecífica asociada a citopenias, elevación de LDH y FA son datos comunes de NM que nos pueden orientar, aunque son recurrentes, no son específicos. El tratamiento de soporte y tratamiento de la enfermedad de base podría promover la recuperación del estroma medular. La supervivencia depende del pronóstico de la enfermedad subyacente.

PB-165 IL-6 como marcador biológico de riesgo trombótico por daño endotelial en pacientes con mieloma múltiple

García Frade I.J. (1), Fernández Fernández E. (1), Olazabal Herrero J. (1), Fernández Fontecha E. (1), Lobo Valentín R.M. (1), Eusebio Ponce E. (1), Angomas Jiménez E. (1), Cantalapiedra Díez A. (1), Gutiérrez Pérez O. (1), Martínez Badas M.P. (2), González López T.J. (3), González Porras J.R. (4), García Mateo A. (5)

(1) Hospital Río Hortega. Valladolid. (2) Complejo Hospitalario de Ávila. Ávila. (3) Hospital Universitario de Burgos. Burgos. (4) Hospital Universitario de Salamanca. Salamanca. (5) Hospital General de Segovia. Segovia

Introducción: La activación de la coagulación está ligada al crecimiento tumoral y la angiogénesis. El mieloma múltiple (MM) con una prevalencia de enfermedad tromboembólica venosa >10% presenta formación de sustancias pro-coagulantes, interferencia de la paraproteína en la estructura de fibrina y secreción aumentada de citocinas pro-inflamatorias como interleucina 6 (IL-6), aumento de factor VIII y factor Von Willebrand, así como una disminución de la proteína S. Existen muchas células que pueden sintetizar IL-6 como las células endoteliales. Los niveles de IL-6 son indicativos de daño tisular e inflamación, lo que favorece la activación de la coagulación y con ello, la tendencia trombótica.

Objetivos: a) Evaluar el papel de IL-6 como marcador biológico de daño endotelial, y riesgo trombótico en pacientes con MM; y b) valorar la Influencia del tratamiento recibido sobre los niveles de IL-6 y el riesgo trombótico en estos pacientes.

Método: Se estudiaron 28 pacientes de 4 hospitales de Castilla y León diagnosticados de MM (nuevo diagnóstico y recaída). Se obtuvieron muestras de plasma de cada paciente en 2 momentos diferentes de la evolución: previo al inicio de tratamiento, y tras el primer mes de tratamiento.

Determinamos niveles de IL6 mediante ensayo inmunométrico enzimático secuencial en fase sólida por quimioluminiscencia IMMULITE 2000 IL-6 (Siemens).

Los esquemas de tratamiento recibidos se basaron en Bortezomib en casos de nuevo diagnóstico y en inmunomoduladores en las recaídas.

Resultados: Se analizaron 28 pacientes afectados de MM, 10 de nuevo diagnóstico y 18 en 1ª recaída o sucesivas. Los resultados

de IL-6 pre-tratamiento estaban dentro del rango de normalidad (0-5 pg/ml) en 23 de los 28 pacientes (82%). En los 5 pacientes que muestran valores iniciales elevados de IL-6, 4 son de nuevo diagnóstico. Tras el primer mes de tratamiento se observa una elevación de los niveles de IL-6 con respecto al valor basal de cada paciente en 22 de los 28 estudiados (78.6%). En los 6 casos en los que los valores de IL-6 descendieron respecto a los basales 5 de eran de nuevo diagnóstico y 1 en primera recaída. Asimismo 5 de estos 6 ya mostraron niveles basales elevados pre-tratamiento (Tabla 1).

Conclusiones:

1. Existen niveles iniciales (pre-tratamiento) de IL-6 normales en el 82% de los casos estudiados.
2. La actividad pro-inflamatoria y daño endotelial es mayor inicialmente en los casos de nuevo diagnóstico.

| Paciente | Estado de MM | IL-6 (pg/ml) basal | IL-6 (pg/ml) 1 ^{er} mes de tratamiento |
|----------|------------------------|--------------------|---|
| 1 | Nuevo diagnóstico | <2 | 4.15 |
| 2 | Nuevo diagnóstico | 10,31 | 9 |
| 3 | 1 ^a Recaída | <2 | 3.66 |
| 4 | 1 ^a Recaída | 3.70 | 4.45 |
| 5 | 1 ^a Recaída | <2 | 4.47 |
| 6 | 1 ^a Recaída | 11.70 | 10.13 |
| 7 | 1 ^a Recaída | 2.84 | 4.91 |
| 8 | 1 ^a Recaída | 2.47 | 5.27 |
| 9 | Nuevo diagnóstico | 33.6 | 22 |
| 10 | 1 ^a Recaída | <2 | 6.39 |
| 11 | 1 ^a Recaída | 2.73 | 7.14 |
| 12 | 1 ^a Recaída | 2.31 | 6.67 |
| 13 | Nuevo diagnóstico | 15 | 11 |
| 14 | Nuevo diagnóstico | <2 | 4.35 |
| 15 | 1 ^a Recaída | <2 | 3.80 |
| 16 | Nuevo diagnóstico | 15.90 | 13 |
| 17 | 2 ^a Recaída | <2 | 3.88 |
| 18 | Nuevo diagnóstico | <2 | 5.69 |
| 19 | Nuevo diagnóstico | 2.88 | 3.01 |
| 20 | 5 ^a Recaída | 2.20 | 4.06 |
| 21 | Nuevo diagnóstico | 3 | 2.57 |
| 22 | 1 ^a Recaída | 3.31 | 9.18 |
| 23 | Nuevo diagnóstico | <2 | 3.11 |
| 24 | 1 ^a Recaída | <2 | 7.87 |
| 25 | 1 ^a Recaída | <2 | 6.02 |
| 26 | 1 ^a Recaída | <2 | 13.33 |
| 27 | 1 ^a Recaída | 2.99 | 8 |
| 28 | 1 ^a Recaída | 2.53 | 5.61 |

3. Tras el primer mes de tratamiento, se observa una elevación de los niveles de IL-6 en el 78.6% de los casos estudiados lo que indicaría un fomento de la situación pro-trombótica relacionado, no tanto con la actividad de la enfermedad, como con la actuación pro-inflamatoria de algunos de los fármacos y el daño endotelial que generan.
4. En 6 casos se produjo un descenso de IL-6 tras el tratamiento. 5, eran de nuevo diagnóstico con niveles elevados de IL6 en posible relación con la actividad de la enfermedad. En estos pacientes la actividad pro-inflamatoria y daño endotelial disminuye con el tratamiento.

Plaquetas / biología vascular

PB-166 Determinantes genéticos de las glicoproteínas de la membrana plaquetaria. Resultados del Proyecto Gait 2

Vázquez Santiago M. (1), Ziyatdinov A. (2), Pujol-Moix N. (3), Simón M. (1), Úbeda J. (4), Nomdedéu J.F. (4), Fontcuberta J. (1), Soria J.M. (2), Souto J.C. (1)

(1) Unitat d'Hemostàsia i Trombosi. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. (2) Unitat de Genòmica i Malalties Complexes. IIB-Sant Pau. Barcelona. (3) Unitat d'Hemostàsia i Trombosi. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau/Departament de Medicina. Universitat Autònoma de Barcelona (UAB). Barcelona. (4) Laboratori d'Hematologia. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona

Introducción: Las plaquetas juegan un papel central en la fisiopatología trombótica arterial. Las glicoproteínas (GP), presentes en la superficie plaquetaria, intervienen en los procesos de adhesión y agregación. El complejo GP Ib-V-IX (CD42a y CD42b) une el factor von Willebrand en el proceso de adhesión. El FcγRIIA (CD32) facilita la señalización intracelular del complejo GP Ib-V-IX. La adhesión al colágeno se establece mediante la GP IIa (CD29) y la GP IV (CD36). La agregación se produce básicamente gracias al complejo GP IIb-IIIa (CD41 y CD61) que se une al fibrinógeno. Estudios previos han identificado *loci* genéticos que codifican para las GP, pero la varianza fenotípica entre individuos debida a diferencias genéticas no ha sido aún descrita.

Material y métodos: El proyecto GAIT 2 (*genetic analysis of idiopathic thrombophilia*) ha estudiado 935 individuos distribuidos en 35 familias extensas de la población española. Los niveles de GP han sido cuantificados mediante el citometro de flujo FACScalibur® (Becton Dickinson, San José, USA) mediante inmunofenotipaje específico para plaquetas. Las intensidad de fluorescencia media (MFI), el porcentaje de eventos positivos (%)

y el conteo de eventos positivos por $10^9/L$ plaquetas (AB) han sido determinados para CD29, CD36, CD42a, CD42b, CD41, CD61 y CD32. Mediante el análisis de la varianza se han cuantificado los componentes genético y ambiental, así como el efecto de algunas covariables (edad, sexo, tabaquismo y anticonceptivos orales). El efecto genético o proporción de la variabilidad total debida al efecto aditivo de los genes ha sido definido como heredabilidad (h^2). Los cálculos se han efectuado con el paquete estadístico de R: *solarius* [1].

Resultados: La totalidad de las GP mostraron una alta h^2 (intervalo 0,27-0,68) con una gran significación estadística (intervalo de p-valores $2,3 \cdot 10^{-6}$ - $9,2 \cdot 10^{-28}$). CD29AB y CD36% mostraron las h^2 más elevadas (0,68 y 0,66 respectivamente).

Conclusiones: La elevada heredabilidad de estos fenotipos cuantitativos muestra que los genes juegan un papel importante para determinar la densidad (MFI) y porcentaje (%) glicoproteicos en la membrana plaquetaria. Estos resultados indican que es posible identificar genes específicos que afectan a los niveles de estos fenotipos plaquetares.

Becas y agradecimientos: FIS P112/00612 y Red Investigación Cardiovascular RD1.

Bibliografía

- Ziyatdinov, A.; Brunel, H.; Martínez-Perez, A.; Perera, A.; Soria, J.M. (2015). *solarius: An R Interface to SOLAR*. Consultado de <http://cran.r-project.org/web/packages/solarius>.

PB-167 Síndrome plaqueta gris (SPG): descripción de un caso

Bosch Benítez J.M., Peri Luciana V., Diéguez Moreno A., Sill H., Martínez M., Afonso Martín J.L., Negrín López M.

Hospital Insular. Las Palmas de Gran Canaria

Introducción: El SPG es una trombopatía hereditaria extraordinariamente infrecuente causada por el déficit de gránulos alfa y su contenido en megacariocitos (MGK) y plaquetas. La severidad de la diatesis hemorrágica es muy variable entre pacientes y existe una asociación frecuente con fibrosis medular.

Caso clínico: Varón de 58 años con AP de consumo moderado de etanol y gastritis. Visto en nuestra consulta en 1994 por leve anemia y trombopenia (Hb=125 g/L Pla q =41X10E9/L). No historia familiar de trombopenia. Refiere equimosis fáciles con leves traumatismos. El examen de SP se observaba un cuadro leuco eritroblástico con dacriocitos. En el rest de parámetros analíticos destacaba solo una cifra elevada de Vit. B12 (1624). La ecografía abdominal mostró una esplenomegalia moderada. El aspirado medular fue seco y la biopsia fue hiper celular con fibrosis reticulínica. El paciente fue diagnosticado de mielofibrosis idiopática en base a los criterios existentes entonces. Dada la ausencia de síntomas se optó por vigilancia. En revisiones posteriores llamaron la atención la gran cantidad de plaquetas grises en las extensiones de SP. Se realizó análisis ultrestructural que confirmó la ausencia de gránulos alfa. El paciente se mantuvo relativamente estable hasta los últimos dos años en que se observa descenso progresivo de plaquetas y neutrófilos. Reevaluado en Diciembre 2014 L=1.5X10E9/l (neu-

trófilos=720/mm 3) Hb=124gr/l. Pla q =18X10E9/L. La biopsia MO mostró una fibrosis reticulínica importante y la Ecografía un bazo de 18cms. La mutación JAK2, calreticulina y MPL fueron negativas. El paciente fue esplenectomizado con cobertura de plaquetas con franca mejoría de cifras tras esta. La histología del bazo reveló la presencia de metaplasia mioelode.

Discusión: La SPG es una trombopatía hereditaria extraordinariamente infrecuente de carácter autosómico recesivo (AR) aunque se han descrito formas dominantes (AD) y ligadas al sexo. El sangrado suele ser leve aunque puede ser grave y no existe tto. específico (transfusión plaquetas, DDAVP, esplenectomía...). La serie más larga de 25 pacientes a nivel mundial fue publicada en BLOOD en 2010. Esta serie confirma la variabilidad de la clínica, así como la asociación a fibrosis en un 80% de los casos de carácter progresivo. También se encontraron niveles altos de B12 en el 90% de los casos. Los estudios de agregación plaquetar son normales o inespecíficos y el dto debe hacerse siempre por microscopía electrónica. Recientemente se ha descrito la mutación del gen NBEAL en 3p21 como responsable de la forma AR. En una reciente publicación un modelo animal (Nbeal2 $^{-/-}$) demostró que la ausencia de gránulos alfa no es por un defecto de síntesis sino producto de la liberación por megacariocitos (MGK) y plaquetas. Además encontraron un perfil citocinas proinflamatorias en MGK lo que unido a la liberación del contenido de los gránulos contribuiría a la fibrosis.

PB-168 Eficacia y seguridad de eltrombopag en el tratamiento de la trombopenia inmune primaria. Experiencia en un centro

Sánchez Fontarigo N., Amores Contreras G., Goizueta Díaz M., Requena Rodríguez M.J., Condori Arenas M., Sánchez Godoy P.

Hospital Universitario Severo Ochoa. Madrid

Introducción: La PTI es una enfermedad autoinmune caracterizada por destrucción periférica de plaquetas y producción insuficiente. Los agonistas del receptor de trombopoyetina, romiplostin y eltrombopag actúan aumentando la producción plaquetaria sin efecto sobre el sistema inmune.

Método: Analizamos de forma retrospectiva 8 pacientes adultos con PTI tratados con eltrombopag centrándonos en la respuesta y tolerabilidad. Definimos eficacia del tratamiento como: plaquetas $> 50.000/\mu L$ a las dos semanas de comenzar tratamiento; y como respuesta completa duradera: plaquetas $> 100.000/\mu L$ durante > 6 meses. Clasificamos los efectos adversos como grado 1-2 (leves, que no requieren cambio de dosis), grado 3 (que requieren suspensión o cambio de dosis) y grado 4 (graves, que requieren retirada del fármaco).

Resultados: La mediana de edad eran 57 años (rango, 34-75) con 7 mujeres y 1 hombre. La mediana de tiempo desde el diagnóstico de PTI hasta el inicio del tratamiento con eltrombopag fue de 102 meses (rango 24-250 meses). La mediana de tratamientos previos fue de 3 (rango, 2-5). Todos recibieron esteroides e inmunoglobulinas en 1ª línea, un 87,5% esplenectomía, un 50% ritu-

ximab, un 25% azatioprina, un 12,5% ciclofosfamida, un 12,5% danazol y un 12,5% romiplostin. La mediana de plaquetas antes de iniciar eltrombopag fue de 17000/ μ L (rango, 4000-62000/ μ L). La mediana de tiempo de tratamiento con eltrombopag es de 14 meses (rango, 2-32 meses).

Eltrombopag fue eficaz en el 100% de los casos (8/8). De los 8 pacientes, en un caso se suspendió el tratamiento por IAM. Los otros 7 pacientes (87,5%) continúan en tratamiento. Hay 6 pacientes que están o estuvieron en tratamiento con eltrombopag durante más de 6 meses, de ellos, 5 (83.3%) han alcanzado respuesta completa duradera.

En cuanto a la tolerabilidad, encontramos: ningún efecto adverso en 2/8 casos (25%); efectos adversos leves (cefalea, astenia y caída de pelo) en 4/8 casos (50%); efectos adversos grado 3 (ojo seco, cefalea, trombocitosis persistente) en 2/8 casos (25%) que requirió suspensión temporal del tratamiento. En 1/8 casos (12.5%) se registró un efecto adverso grado 4 (IAM) que requirió retirada del fármaco.

Mediante un análisis univariante evaluamos factores de riesgo de padecer efectos adversos (edad, sexo, tiempo de diagnóstico de la enfermedad, nº de tratamientos previos, nº de plaquetas antes de iniciar revólave, y duración del tratamiento con eltrombopag). No se encontró ninguna asociación significativa, probablemente por el escaso número de pacientes.

Conclusiones: En nuestros pacientes, eltrombopag ha sido eficaz en el 100% de los pacientes. De los que llevan en tratamiento más de 6 meses, el 83.3% tienen una respuesta completa duradera. El 75% de nuestros pacientes han presentado algún efecto adverso secundario al fármaco, sólo en uno de nuestros pacientes fue necesaria la retirada del fármaco por efecto adverso grave. No encontramos ninguna asociación significativa entre las variables a analizar y la aparición de efectos adversos.

PB-169 Agentes trombotopoyéticos en el tratamiento de la trombocitopenia inmune primaria (PTI). Experiencia en nuestro centro

Cánovas Giménez V., Benet Campos C., Bautista Claver T., Cárcel Corella P., Gómez Toboso D., Sancho-Tello de Carranza R., Carrera Merino M.D., López Martínez A., Mayans Ferrer J.R.
Hospital Arnau de Vilanova. Valencia

Introducción: Los agentes trombotopoyéticos (AT) (Eltrombopag y Romiplostin) son según las guías españolas para el tratamiento de PTI, los fármacos de elección en el tratamiento de la PTI refractaria a la esplenectomía y para aquellos pacientes en los que ésta intervención quirúrgica esté contraindicada o no acepten su realización. Estos fármacos presentan gran eficacia y excelente perfil de seguridad, con una tasa de éxito superior al 80%, una mejora en la calidad de vida y mínimos efectos adversos.

Material y métodos: Analizamos de manera retrospectiva todos los pacientes diagnosticados de PTI y que precisaron tratamiento en nuestro centro entre abril de 1980 y abril de 2015.

Se estudiaron datos clínicos, parámetros de laboratorio, tipos de tratamiento recibidos y evolución. Se analizó la respuesta obtenida al tratamiento con los AT, la línea de tratamiento en que se utilizaron, así como el tiempo de duración de la respuesta.

Definimos la respuesta completa (RC) como plaquetas $>100 \times 10^9/L$ y la respuesta parcial (RP) como plaquetas $<100 \times 10^9/L$ pero $>20 \times 10^9/L$ sin clínica hemorrágica que haga iniciar un tratamiento.

Resultados: Durante el periodo de estudio se diagnosticaron de PTI y recibieron tratamiento por la misma 144 pacientes. Un 18% de los mismos (26) fueron tratados con AT. De los 26 pacientes que recibieron AT, un 57.7% (15) recibieron eltrombopag y un 42.3% (11) recibieron Romiplostin. En cuanto al momento de inicio del tratamiento, un 7.7% (2) de pacientes recibieron AT en primera línea (por contraindicación a Corticoides). Un 46.2% (12) en segunda línea, un 23.1% (6) en tercera línea, un 11.5% (3) en cuarta línea y un 11.5% (3) en quinta y sucesivas líneas de tratamiento.

La respuesta a los agentes trombotopoyéticos se indica en la Tabla 1.

Un 23.1% de los pacientes (6) recayeron tras haber alcanzado RC o RP; 2 pacientes tras eltrombopag y 4 pacientes tras Romiplostin. El tiempo medio transcurrido desde el tratamiento hasta la pérdida de respuesta fue de 10.8 meses (intervalo 2-24 meses), con una mediana de 7 meses. Dos de los pacientes tratados con eltrombopag que perdieron la respuesta, recibieron posteriormente Romiplostin alcanzando RC. Hubo dos pacientes que no respondieron a ninguno de los dos AT.

Un 11.5% (3) de los pacientes fueron sometidos a Esplenectomía previamente a la administración de AT. De estos 2 casos alcanzaron inicialmente RP, con pérdida de respuesta posterior y el otro caso alcanzó RC.

Conclusiones: Las cifras de respuesta global a AT en nuestro centro son similares a las descritas en la bibliografía (88.5%), con un 65.4% de pacientes con respuesta mantenida. De todos los pacientes que recibieron tratamiento para la PTI en algún momento de su evolución, un 18% fueron AT. La mayoría de los pacientes que recibieron AT en nuestro centro (88.5%) lo hicieron sin haber sido sometidos a esplenectomía previamente. En la mayor parte de los casos se optó por este tratamiento a pesar de no existir contraindicaciones para realización de Esplenectomía; valorando riesgo-beneficio de la cirugía versus el empleo de estos nuevos agentes.

Tabla 1.

| | ltrombopag | Romiplostin | Global |
|------------------|------------|-------------|------------|
| Nº Pacientes | 15 | 11 | 26 |
| Respuesta Global | 93.2% (23) | 81.8% (9) | 88.5% (23) |
| RC | 66.6% (23) | 63.6% (7) | 65.4% (17) |
| RP | 26.6% (23) | 18.2% (2) | 23.1% (6) |
| No respuesta | 6.6% (23) | 18.2% (2) | 11.5% (3) |

PB-170 Mujer en hemodiálisis con trombocitopenia

Abio Calvete M.O. (1), Rollón Simón N. (1), Cuesta Tovar J. (1), Rodríguez Alén A. (1), Botón Contreras M.E. (1), Adrados Ruiz M.Á. (1), Rivera Pozo J. (2), Murga Fernández M.J. (1)

(1) Hospital Virgen de la Salud. Toledo. (2) Centro Regional de Hemodonación. Murcia

Introducción: Las alteraciones del hemograma, en especial la trombopenia, son frecuentes en pacientes ingresados por procesos agudos. Suele ser leve y de corta duración, pero en pacientes pluripatológicos y críticos aumenta la morbimortalidad. La trombocitopenia inducida por heparina (TIH) debe sospecharse en un paciente tratado con heparina que presente trombopenia con o sin trombosis, siendo una complicación grave del tratamiento (tt°). Deben descartarse otras causas de trombopenia.

Métodos: Presentamos un caso clínico que muestra la complejidad del diagnóstico y manejo de la TIH, así como sus posibles complicaciones.

Caso clínico: Mujer de 85 años, remitida por fracaso renal agudo (FRA), acidosis metabólica e hipotatemia. Se acompaña de febrícula, disnea de mínimos esfuerzos, crepitanes bilaterales y edemas. Se mantiene en anuria sin respuesta al tt° diurético, por lo que se canaliza catéter femoral e inicia programa de hemodiálisis (HD) y ceftriaxona iv. Presenta ANCA positivos con patrón p-ANCA con Ac anti MPO, diagnosticándose de FRA debido a vasculitis del anciano. Otras complicaciones: hipotensión tras manipular el CVC añadiéndose vancomicina iv, diarrea con toxina de *C. difficile* positiva iniciándose metronidazol y posteriormente fiebre acompañada de expectoración hemoptoica e infiltrados pulmonares, pautándose esteroides y modificando la antibioterapia. El 12º día de ingreso, se objetiva trombopenia progresiva con cifra nadir de plaquetas: 27000, motivo por el que se nos consulta (Figura 1). Pese a la existencia de otras causas de trombopenia, dado que existía contacto con heparina (HNF) durante la HD, se calcula una probabilidad pre-test de TIH inter-

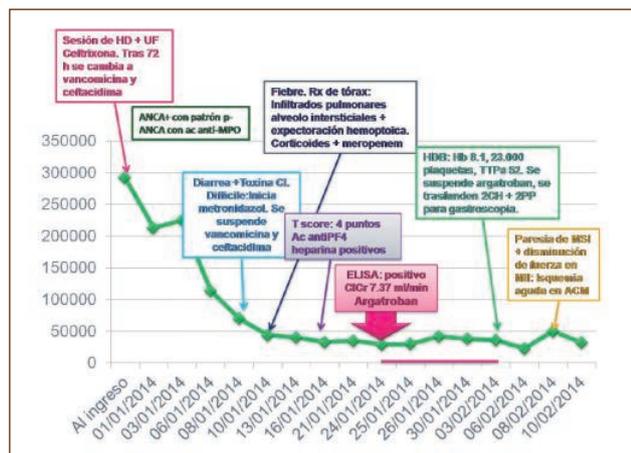


Figura 1.

| Parámetro | 2 puntos | 1 punto | 0 puntos |
|----------------------------------|--|--|---|
| Trombocitopenia | Reducción del recuento plaquetario > 50% con mínimo > 20 × 10 ⁹ | Reducción del recuento plaquetario del 30-50% o mínimo entre 10 y 19 × 10 ⁹ | Reducción del recuento plaquetario < 30% o mínimo < 10 × 10 ⁹ |
| Tiempo (momento) | Instauración entre los días 5 y 10 o ≤ 1 día en caso de exposición previa a heparina dentro de los 30 días precedentes | Compatible con la reducción del recuento plaquetario entre los días 5 y 10 pero con datos que faltan; instauración después de 10 días; reducción ≤ 1 día con exposición previa a la heparina 30-100 días antes | Reducción del recuento plaquetario antes de 4 días en ausencia de exposición reciente |
| Trombosis u otras complicaciones | Nueva trombosis (confirmada); necrosis cutánea; reacción sistémica tras bolo i.v. de heparina | Trombosis progresiva o de repetición; lesiones cutáneas eritematosas; sospecha (sin confirmación) de trombosis | --- |
| Trombocitopenia (otras causas) | Ninguna aparente | Posibles | Definidas |

Figura 2.

media (con puntuación 4T=4, Figura 2) Se solicitan Ac Anti-PF4 que fueron positivos y se suspende el contacto con cualquier tipo de heparina, usándose citrato durante la HD. Los Ac antiheparina (ELISA) nos confirmaron el resultado de TIH. Ante el alto riesgo trombótico se inicia tt° con argatroban, realizando seguimiento mediante el APTT con buen control. No obstante, no se obtuvo una buena respuesta plaquetar, por lo que se descartó trombopenia autoinmune. Se solicitó estudio funcional plaquetario: el suero de la paciente inducía liberación de serotonina-14C de las plaquetas de forma masiva en presencia de heparina, confirmando la sospecha diagnóstica. El 9º día de tt° con argatroban, se suspende el tt° anticoagulante por hemorragia digestiva alta. 48 h después, presenta episodio de isquemia a nivel de la arteria cerebral media y un deterioro clínico importante que lleva al fallecimiento de la paciente.

Conclusiones: La incidencia de TIH es <1% en pacientes críticos o en HD. El diagnóstico no es sencillo y requiere descartar otros procesos, lo que puede conllevar un infradiagnóstico de TIH pese a su gravedad. Existe un alto riesgo de trombosis y ante una alta sospecha, se debe suspender el tt° con heparina e instaurar tt° anticoagulante alternativo porque el riesgo de trombosis persiste.

PB-171 Paciente con trombopenia inmune primaria crónica y diagnóstico de neoplasia digestiva

García Fernández G., Baena Cubero Á., Almagro Torres F., de León Marcano E., López López J.A., Durán Nieto M.S. Complejo Hospitalario Ciudad de Jaén. Jaén

Introducción: La trombopenia inmune primaria (PTI) es una enfermedad autoinmune adquirida mediada por anticuerpos antiplaquetarios que condicionan una destrucción plaquetaria periférica precoz, así como una producción inadecuada de plaquetas. Se trata de una trombocitopenia aislada (<100 × 10⁹/L) en ausencia de otros problemas que la justifiquen.

El diagnóstico es clínico y de exclusión, debiendo descartarse procesos infecciosos, vacunaciones, déficits de factores madurativos, fármacos, enfermedades autoinmunes, tiroideas, hepáticas, hiperesplenismo o patología medular. El tratamiento de primera línea se basa en corticoides, pero sólo el 15% de pacientes adultos con PTI crónica mantienen la remisión.

Objetivo: Revisamos el caso de un paciente de 78 años diagnosticado en nuestra Unidad de PTI que ingresa por nuevo episodio de trombopenia severa con rectorragia y es finalmente diagnosticado de Neoplasia digestiva.

Caso clínico: Presentamos el caso de un varón de 78 años ex fumador con EPOC severo y cardiopatía isquémica. Diagnosticado de PTI hacía 2 años, se encontraba en seguimiento en Consultas de Hematología, manteniendo cifras de plaquetas de 50.000/cc con dosis de 0.5mg/kg/72 h. En una ocasión precisó inmunoglobulinas y dosis de prednisona de 2 mg/kg/d por equimosis y trombopenia de 10.000/cc, presentando buena respuesta.

Ingresa en el Servicio de Neumología por cuadro sugerente de reagudización de EPOC. Durante el ingreso acontecen 3 episodios de rectorragia con inestabilidad hemodinámica. En hemograma se detecta hemoglobina de 9g/dl y plaquetas en 5.000/cc. Se contacta con nuestro Servicio confirmándose trombocitopenia por CMP e iniciamos tratamiento con Inmunoglobulinas y corticoides, evolucionando favorablemente con recuperación de cifras de plaquetas (197 000/L). A las 72 horas de finalizar el tratamiento se observan melenas y nueva anemia con disminución de plaquetas (90 000/L). Se repite estudio analítico con marcadores tumorales, serologías, autoinmunidad, tiroides, ecografía abdominal y estudio endoscópico. En colonoscopia se observan 3 pólipos sésiles y en gastroscopia se aprecia neoformación en zona de transición cuerpo-antra, las biopsias realizadas concluyen los diagnósticos de Adenocarcinoma infiltrante de recto y Adenocarcinoma gástrico.

Discusión: La trombopenia inmune primaria es de diagnóstico clínico y de exclusión. La anamnesis y exploración física deben realizarse siempre para descartar enfermedad subyacente. Es fundamental en pacientes mayores de 60 años o refractarios a tratamiento de primera línea realizar aspirado medular para descartar patología central.

Conclusiones:

1. Según nuestra experiencia en pacientes diagnosticados de PTI pueden coexistir varios mecanismos de trombocitopenia y se deberá sospechar de otra causa de trombocitopenia ante mala respuesta o refractariedad al tratamiento.
2. La trombocitopenia en pacientes con cáncer puede ser secundaria a quimioterapia, radioterapia, a CID o a infiltración tumoral de la médula ósea, así como a tumores hematológicos.
3. Aunque infrecuente, se ha descrito la aparición de trombocitopenia aislada como síndrome paraneoplásico asociado a tumores sólidos (con anticuerpos antiplaquetarios negativos), normalizándose los valores de plaquetas tras resección tumoral.

Tratamientos antitrombóticos

PB-172 Medición de los niveles plasmáticos de apixaban. Papel de la unidad de tratamiento antitrombótico en la toma de decisiones

Martínez Lázaro B., Alkadi Fernández N., Escobar Ramón M.J., Alonso Madrigal C., Izuzquiza Fernández M., Gavín Sebastián O., Cornudella Lacasa R., Moreno Chulilla J.A., Palomera Bernal L.
Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. Zaragoza

Introducción: la aparición de los anticoagulantes orales de acción directa ha supuesto un cambio en la rutina de trabajo de las unidades de tratamiento antitrombótico (UTA). A pesar de que las recomendaciones generales de las sociedades científicas indican la no monitorización de estos fármacos, sí que recomiendan la medición puntual de los niveles del fármaco en situaciones especiales como pueden ser: hemorragia, interacciones farmacológicas, deterioro de la función renal, necesidad de reversión urgente, trombosis (fallo terapéutico o falta de cumplimiento), identificación de niveles sub o supratrapéutico en pacientes con peso extremo, sospecha de sobredosificación, procedimientos invasivos/quirúrgicos.

Objetivo: El objeto de nuestro estudio es cuantificar los niveles de apixaban en nuestra población de pacientes con fibrilación auricular no valvular.

Material y métodos: Se han seleccionado un total de 14 pacientes entre 25 y 89 años (mediana de 79 años) en tratamiento con apixaban por fibrilación auricular no valvular. Seis de ellos hombres (2 en tratamiento con apixaban 5 mg bd y 4 en tratamiento con apixaban 5 mg bd) y ocho mujeres (2 en tratamiento con apixaban 5 mg bd y 6 en tratamiento con apixaban 5 mg bd). La reducción de dosis a 2,5 mg cada 12 horas se realizó, de acuerdo con la ficha técnica del fármaco, en aquellos pacientes mayores a 80 años, con peso menor a 60 kg o con nivel de creatinina sérica superior a 1.5 mg/dL.

Se realizó la medición de niveles plasmáticos de apixaban mediante Technoview Apixaban Calibrator justo antes de la toma de apixaban (valle) y dos horas después de la misma (pico). Para determinar el rango de eficacia y seguridad del fármaco se han tenido en cuenta como control bajo 50 ng/mL y como control alto 200 ng/mL. Se realizó también un estudio de coagulación básico y determinación del filtrado glomerular calculado

Resultados: El 64,28% de los 14 pacientes tratados con apixaban, alcanzaron concentraciones plasmáticas recomendables tanto en el momento valle como en el pico.

Ninguno de los pacientes analizados presentó concentraciones plasmáticas inferiores al rango de normalidad. El 37,71% de los

pacientes alcanzaron concentraciones plasmáticas de apixaban por encima de los niveles recomendados, siendo todos ellos pacientes con FG calculados inferiores a 60 mL/min/1.72m².

En el 21% de los 14 pacientes analizados, la concentración plasmática del fármaco prácticamente no se modifica entre el nivel pico y el valle. Corresponde a pacientes con FG calculados de 73.99, 80.64 y 120.3 mL/min/1.72m², dos de ellos en tratamiento con apixaban 5 mg bd y uno en tratamiento con apixaban 2,5 mg bd (Figuras 1 y 2).

Conclusiones: En nuestra experiencia, un número elevado de pacientes mantuvieron niveles recomendados en plasma de apixaban. La medición puntual de niveles de apixaban en la práctica clínica diaria nos puede ayudar a conocer cómo se comportan estos fármacos en plasma en situaciones especiales. En aquellos pacientes cuyo resultado no ha sido el esperado podríamos llegar a plantearnos una modificación de dosis o un cambio de fármaco anticoagulante.

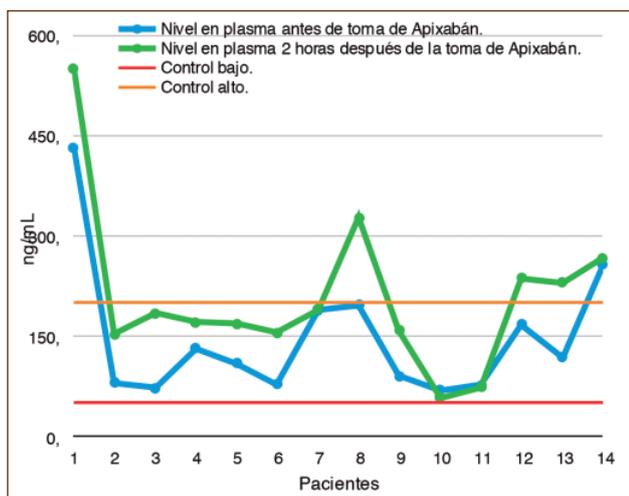


Figura 1.

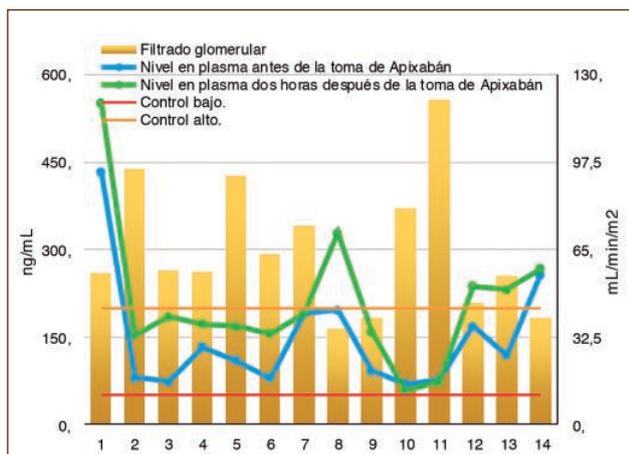


Figura 2.

PB-173 Uso de heparinas de bajo peso molecular (HBPM) en la gestación. Experiencia de un centro

Muñoz Novas C., Heras Benito C., Mena Y., Zafra M., González Gascón y Marín I., Infante M., Foncillas M.Á., Marín K., Hernández Rivas J.Á.

Hospital Infanta Leonor. Madrid

Introducción: El embarazo es un estado fisiológico de hipercoagulabilidad que aumenta el riesgo de enfermedad tromboembólica venosa (ETE). Cuando se asocia a trombofilia este riesgo se duplica al de un embarazo normal y contribuye a complicaciones para la madre y el feto. Las HBPM son el anticoagulante de elección en el embarazo, aunque su manejo resulta complejo por la escasa evidencia y por la gran variabilidad de actuación en función del peso, semana de gestación y riesgo trombótico.

Objetivo: Evaluar los resultados obtenidos con HBPM en el tratamiento de gestantes con trombofilia.

Métodos: Entre 2008 y 2015, se incluyeron 39 pacientes procedentes de la consulta de alto riesgo obstétrico con antecedentes de abortos de repetición, muertes fetales, historia personal o familiar de trombosis o trombofilia y con factores de riesgo protrombóticos (obesidad, HTA gestacional, edad, multiparidad, grandes varices, técnicas de reproducción asistida o enfermedad concomitante). Todas ellas recibieron HBPM y/o ácido acetilsalicílico (AAS) durante la gestación (tercer trimestre y/o 6 semanas postparto según el caso). Se realizaron controles de anti-Xa, extraídos a las 4 horas tras la administración de heparina y según el resultado se realizaron ajustes de dosis para mantener niveles de anti-Xa de 0,2 a 0,6 si existía bajo riesgo trombótico y 0,6 a 1 si existía alto riesgo.

Resultados: La mediana de edad de las pacientes incluidas fue de 35 años (rango, 19-46). Se utilizó tinzaparina sódica en el 87% de los casos. Las alteraciones en el estudio de trombofilia quedan recogidas en la [Tabla 1](#). Un 23% de las pacientes (9/39) presentaron

Tabla 1. Estudio de trombofilia

| Estudio de trombofilia | Nº Casos 39 | Porcentajes |
|---|---------------------|-------------|
| Trombofilia hereditaria | 17 | 44% |
| Mutación del factor V Leiden | 8 (7 heterocigotos) | |
| Mutación del gen de la protrombina 20210A | 3 heterocigotos | |
| Mutación C46T del FXII | 3 (2 homocigotos) | |
| Déficit de proteína C | 1 | |
| Déficit de proteína S | 2 | |
| Antifosfolípidos +trombofilia hereditaria | 2 | |
| Anticuerpos antifosfolípidos | 14 | |
| Total antifosfolípidos | 16 | 41% |
| Estudio normal | 6 | 15% |

EDEV previa (4 pacientes con trombofilia, 1 tras hiperestimulación ovárica sometida a fecundación in vitro, 1 en paciente con Beçhet, 1 asociada a otro factor de riesgo y 2 idiopáticas). Sólo hubo un caso de una trombosis superficial en una paciente obesa y con grandes varices a pesar de tratamiento con HBPM y nivel de anti-Xa en rango profiláctico. El 67% de las pacientes (26/39) habían tenido abortos previos. Tras instaurar el tratamiento con HBPM +/- AAS se produjeron 29 nuevas gestaciones y de estas sólo hubieron 3 abortos. Ocho pacientes continúan gestación en el momento del análisis y los demás casos finalizaron la gestación con un promedio de 38 semanas. La única gestación que finalizó antes de la semana 37 fue de un embarazo gemelar (34 semanas). Seis embarazos se consiguieron mediante FIV, en pacientes con fallos de implantación previos. No hubo complicaciones hemorrágicas materno-fetales y ningún caso de trombopenia inducida por heparina.

Conclusión: En nuestro estudio se objetiva beneficio en el uso temprano de HBPM en gestantes con trombofilia y/o malos antecedentes obstétricos, ya que no solo disminuye el riesgo de trombosis, sino que es eficaz disminuyendo las pérdidas fetales; como consecuencia se obtienen gestaciones a término con prácticamente ausencia de complicaciones.

PB-174 Uso de HBPM para la prevención de abortos de repetición y fallos de implantación

Calderón López M.T. (1), Rodrigo Álvarez M.E. (2), Bengochea Casado M.L. (3), Varea Díaz S. (4), Serrano Maestro A. (4), Méndez de Paz Guy D. (4), Pérez de Oteyza J. (4)

(1) Hospital HM Torreloñones y Hospital Universitario HM Sanchinarro. Madrid. (2) Hospital HM Universitario Montepríncipe. Madrid. (3) Hospital Universitario HM Sanchinarro y Clínica HM Nuevo Belén. Madrid. (4) Hospital HM Sanchinarro. Madrid

Introducción: Entre las posibles causas de los abortos de repetición, se han planteado las alteraciones de la trombofilia y por tanto se ha postulado el uso de la heparina de bajo peso molecular (HBPM) para aumentar la tasa de recién nacidos vivos en mujeres con trombofilia hereditaria o abortos de repetición. Este uso se ha extendido a mujeres en tratamiento de fertilidad con recurrentes fallos de implantación (RFI).

Métodos: Recogimos los casos enviados a nuestra consulta por RFI o abortos de repetición (al menos 2 abortos de primer trimestre ó 1 de segundo o tercer trimestre). Analizamos los datos de la trombofilia y los resultados obtenidos en los sucesivos embarazos en los que, para prevenir la recurrencia del aborto, se administró HBPM a dosis profiláctica desde test positivo de embarazo, ajustada a niveles de antiXa, durante toda la gestación. Además se administró ácido acetilsalicílico 100 mg/día (AAS) desde el intento de la concepción (o desde la implantación) hasta el test positivo de embarazo.

Resultados: Se recogieron un total de 51 mujeres: 7 por RFI y 44 con abortos de repetición. La mediana de edad de las mujeres en el momento del embarazo fue de 36 años (rango 27-45).

En 34 de las 51 se encontró algún factor de la trombofilia alterado: 14 en la mutación MTHFR; 6 heterocigotas para la mutación G20210A del F II; 2 heterocigotas para el factor V Leiden; 3 heterocigotas para la mutación C46T del F XII; 9 con criterios de laboratorio para síndrome antifosfolípido (SAF) obstétrico y 2 con leve descenso de la proteína S.

No se observaron complicaciones hemorrágicas en todo el embarazo.

De las 51 mujeres, 41 (80%) lograron llegar a término con el uso de la HBPM (éxito). Similares porcentajes se encontraron por subgrupos de abortos de repetición (80% de éxitos) o RFI (85% de éxitos). También se observaron similares resultados por subgrupos de alteración de la trombofilia (79% de éxitos) o trombofilia normal (82% de éxitos).

Conclusiones: El porcentaje de éxitos conseguido apoya la tendencia actual del uso de HBPM en la prevención de abortos de repetición/RFI.

De todos modos, se requieren estudios más amplios y uniformes y la evidencia publicada es aun variable en el uso rutinario de la HBPM para la prevención de abortos de repetición y RFI.

PB-175 Estudio de la seguridad y la eficacia de dabigatran para la prevención de eventos tromboembólicos en pacientes con fibrilación auricular

Cerezo Manchado J.J. (1), Iniesta P. (2), Melero A. (3), Navarro A.M. (3)

(1) Hospital La Vega. Hospital Rafael Méndez. Murcia. (2) Hospital La Vega. Hospital Morales Meseguer. Murcia. (3) Hospital Rafael Méndez. Murcia

Introducción: Desde la aprobación del uso de dabigatran para la prevención de los eventos tromboembólicos en pacientes con fibrilación auricular en el año 2010, el uso de este fármaco ha ido en aumento dado el excelente perfil de seguridad que ha presentado en los ensayos clínicos que dieron lugar a su aprobación (1). A pesar de ello queda la incógnita de conocer como se ha comportado desde entonces el fármaco en la realidad diaria de los servicios de hematología. El objetivo de este estudio ha sido estudiar la eficacia y la seguridad de los pacientes tratados con dabigatran desde 2010-2014 en la unidad de hematología del Hospital La Vega.

Métodos: Se realizó un estudio retrospectivo de los pacientes que fueron tratados con dabigatran en nuestra unidad desde 2010-2014. Los pacientes fueron seguidos hasta discontinuación del fármaco o hasta el último seguimiento. La dosis de dabigatran y su indicación fue elegida a criterio clínico. Las variables principales investigadas fueron el % de pacientes con discontinuación del fármaco, el número de sangrados mayores y número de eventos tromboembólicos que llevaron a la supresión del fármaco. El sangrado mayor fue definido según los criterios de la ISTH 2005. Los análisis estadísticos se realizaron con SPSS 21.0 (SPSS Inc., Chicago, IL).

Resultados: Se incluyeron un total de 54 pacientes. La mediana de CHADVASC2 y de HAS-BLED fue de 3 y 2 puntos respectivamente. La mayoría de pacientes, 50 (92%), usaron la dosis de 110mg. La mediana de seguimiento fue de 760 días RI (375-1300), 34 pacientes (63%) siguen con el fármaco en la actualidad. De los pacientes que suspendieron el fármaco 20 (37%), solo 8 (14%) dejaron el fármaco por un efecto secundario directo del mismo, 4 (7%), por pirosis y otro 4 (7%) por sangrado mayor. Del resto 7(8%) lo hicieron por el fin de la indicación médica, 4 (7%) por insuficiencia renal, 1(2%) por exitus no relacionado del paciente. No hubo eventos trombóticos que hicieran necesaria la retirada del fármaco.

Conclusión: Los datos de nuestro estudio son similares a los publicados en el estudio RE-LY (1) apoyando los resultados de seguridad y eficacia del mismo.

Bibliografía:

1. Eur Heart J. 2009 Nov;30(21):2554-5

PB-176 Efectos adversos de los NACOs en nuestra práctica habitual

Calle Gordo M.V., Orozco Colón R.E., Rayo Bonor A., García Cañadas M.C., Domínguez del Castillo I., Pérez González N., Giménez Garrido F., Gracia Escudero M., Gracia Escudero A.
Hospital Torrecárdenas. Almería

La reciente comercialización de dabigatran, rivaroxaban y apixaban, condiciona la necesidad de concretar unas recomendaciones de uso, identificando aquellos pacientes en los que las ventajas de estos nuevos tratamientos sean mayores y asegurando que su empleo se produce de forma prudente con objeto de minimizar la aparición de efectos adversos hemorrágicos ligados a una marcada morbi-mortalidad.

Los estudios pivotal muestran un perfil de seguridad superior para los nuevos anticoagulantes orales frente a warfarina. No obstante, los metaanálisis de comparaciones directas limitan estas ventajas a una menor incidencia de eventos intracraneales.

No disponemos hasta la fecha de trabajos que aborden integralmente la seguridad de los NACO, limitándose únicamente a aspectos parciales. Por todo ello, con la presente comunicación queremos presentar nuestra experiencia con el uso de los NACOs y hacer una descripción de los efectos secundarios asociados a su uso en la práctica clínica.

Se ha estudiado una muestra de pacientes derivados desde los diferentes servicios hospitalarios para las prescripciones de nuevos anticoagulantes.

Hemos incluidos 426 pacientes que habían iniciado tratamiento con los NACOs analizando los efectos adversos que han presentado con su uso.

De los 426 pacientes hemos registrado 29 efectos secundarios que han condicionado su retirada. La complicación más frecuente ha sido la hemorragia digestiva que se ha presentado en 17 pacientes (41.3%), seguido de la intolerancia gástrica en 4 paciente (13.7%) y hematomas espontáneos en 3 (10.3%) (Figura 1).

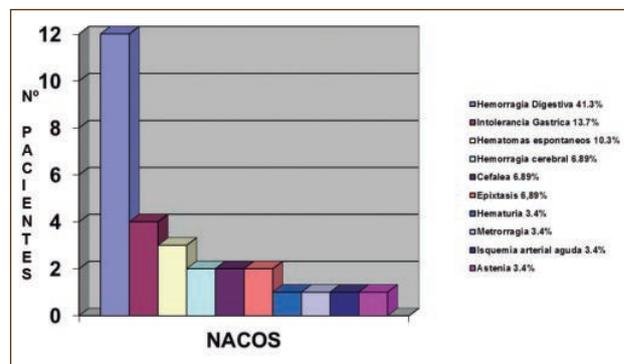


Figura 1.

PB-177 Púrpura senil, dermatoporosis tipo I y tratamiento con acenocumarol

Giménez López M.J., Pérez Moyano M.R., Molina Arrebola M.A., Sánchez Crespo A.C., García Martín P., Avivar Oyonarte C.
Hospital de Poniente. El Ejido, Almería

Introducción: La denominada púrpura senil de Batteman o púrpura actínica, se incluye actualmente dentro de la dermatoporosis o síndrome de insuficiencia/fragilidad cutánea crónica, estadio I. El término dermatoporosis se ha propuesto para definir las manifestaciones clínicas y las complicaciones de la insuficiencia cutánea. Se han descritos 4 estadios. El estadio I se caracteriza por la presencia de púrpura senil, atrofia cutánea y cicatrices, evolucionando hasta necrosis en el estadio IV.

Caso clínico: Paciente, mujer, de 79 años, que en 2006 comenzó tratamiento anticoagulante con acenocumarol por fibrilación auricular paroxística, con INR entre 2-3, y tratamiento antiagregante con ácido acetil salicílico 100 mg/24 h por cardiopatía isquémica e infarto agudo de miocardio. Sin antecedentes personales de interés, salvo hipertensión arterial.

Pocos meses después de comenzar tratamiento comienza con extensas manchas purpúricas bilaterales en mejillas (Figura 1) y es remitida a Dermatología, siendo diagnosticada de Púrpura de Batteman y revisada en numerosas ocasiones. Ante la persistencia de las lesiones faciales, se baja el nivel de anticoagulación a INR entre 1.8-2.3, sin mejoría. En 2010 fue suspendido el tratamiento antiagregante, sin presentar cambios. Si las lesiones empeoraban, se suspendía acenocumarol y se sustituía por heparina de bajo peso molecular (HBPM) con mejoría de las mismas (Figura 2), pero siempre aparecían al comenzar tratamiento anticoagulante oral.

Resultados: En octubre de 2014, tras tres semanas con HBPM, se inicia tratamiento con apixaban 2.5 mg/12 h, con desaparición de las lesiones (Figura 3), que se mantiene tras seis meses de tratamiento.

Conclusiones:

1. La púrpura senil aparece alrededor de los 60 años, y se manifiesta por completo entre los 70-90 años, edades en las que es muy frecuente la anticoagulación.

2. Presentamos un caso de localización poco habitual, secundario a tratamiento con acenocumarol, con desaparición de las lesiones, tras cambio de tratamiento anticoagulante.



Figura 1.



Figura 2.



Figura 3.

Trombosis

PB-178 Trombosis sintomáticas relacionadas con marcapasos

de Cos Höhr C. (1), Cuéllar García C. (1), Yera Cobo M. (1), López Rodríguez R. (1), Sánchez Ramírez M. (2), Muñoz León J.A. (1), Paz Coll A. (1)

(1) Hospital Universitario Puerta del Mar. Cádiz. (2) Hospital Universitario Puerto Real. Cádiz

Introducción: Las trombosis venosas asociadas a la implantación de marcapasos (MP) es una entidad frecuente (30-45% pacientes), generalmente asintomáticas por la adecuada circulación colateral, y sólo en 1-3% sintomáticas.

Patogenia multifactorial: riesgo trombotico del paciente, trauma endotelial, circulación colateral que enlentece el flujo, No relacionadas con el dispositivo ni el sitio de acceso, pero sí con el número de cables del MP, el tratamiento hormonal en mujeres y los antecedentes tromboticos del paciente. Como factor protector, que el paciente reciba tratamiento anticoagulante.

El diagnóstico se realiza habitualmente con eco-doppler (no cruento y elevada sensibilidad) y sólo si es negativa y alta sospecha clínica, venografía con contraste.

La profilaxis con antiagregación/anticoagulación a dosis bajas en pacientes de riesgo, resulta poco efectiva. Cuando trombosis establecida no está indicado retirar/recolocar el MP ya que el tratamiento anticoagulante es eficaz en el 85% de pacientes.

El síndrome de vena cava superior (SVCS) se presenta en el 0.1% de casos, suele ser muy sintomático (cefaleas intensas, edema facial,...) y actualmente no existe un tratamiento estandarizado para aquellos que no responden a la anticoagulación (angioplastia, implantación de stents percutáneos).

Material y métodos: Estudio observacional retrospectivo de eventos tromboticos relacionados con MP implantados desde 1/04/14 hasta 31/03/15, comparando las características de las pacientes, dispositivos implantados y evolución con tratamiento anticoagulante.

Resultados: En nuestro hospital se han implantado 213 MP en el periodo indicado, y se han detectado 4 eventos tromboticos sintomáticos: incidencia anual de 1.87%.

Todas mujeres, con edades entre 53 y 85 años (media 71.5 años) con antecedentes personales de HTA (3/4), valvulopatías (2/4), FA (1/4) y cardiopatía isquémica (1/4). Los MP fueron: 2 bicamerales, 1 unicameral y 1 tricameral. 2/4 pacientes no tenían tratamiento antitrombotico previo a la implantación de MP, una paciente estaba antiagregación y otra tenía anticoagulación/antiagregación. 2/4 pacientes fueron diagnosticadas al mes de la colocación del MP con sintomatología leve-moderada, y con tratamiento anticoagulante-antiagregante, buena evolución.

En las dos restantes, con fecha de implantación de MP mucho anterior, existió un factor precipitante: recambio de MP y traumatismo. Aunque sintomatología precoz (1.75 meses) el diagnóstico se realizó 7 meses después. Desarrollaron SVCS con evolución tór-

pidia a pesar de tratamiento antitrombótico previo, con afectación significativa de la calidad de vida. En un caso ha sido necesario realización de angioplastia con balón por asociación de trombosis y estenosis severa contralateral.

Conclusiones:

1. Las trombosis relacionadas con MP son infrecuentes y generalmente asintomáticas, y en su mayoría, suelen estar precedidas de manipulación/traumatismo sobre el dispositivo.
2. Cuando son sintomáticas, especialmente en el SVCS, el tratamiento anticoagulante no consigue recanalizar el territorio venoso obstruido, ya que en muchos casos, las trombosis asientan sobre estenosis vasculares, por lo que es preciso recurrir a cirugía vascular
3. VEI diagnóstico y tratamiento precoz tiene repercusiones pronósticas: es importante advertir a pacientes de la necesidad de consultar ante sintomatología sugestiva
4. No encontramos efecto protector del tratamiento anticoagulante-antiagregante previo a la implantación del MP, aunque esto puede explicarse por la disminución o supresión del tratamiento antitrombótico para la colocación/recambio del MP.

PB-179 Secuenciación del gen de la trombomodulina en paciente con síndrome hemolítico urémico

Tirado García I. (1), Coll Torrents I. (1), Mateo Arranz J. (1), Vilalta Setó N. (1), López-Pardo J. (1), Martínez-Sánchez E. (1), Fraga Rodríguez G. (2), Brió Sanagustin S. (3), Fontcuberta Boj J. (1)

(1) Unitat d'Hemostàsia i Trombosi. Servei d'Hematologia. (2) Servei de Pediatria. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona

Introducción y objetivo: El síndrome hemolítico urémico (SHU) consiste en la tríada de anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia e insuficiencia renal. La forma menos común del síndrome, denominada SHU atípico representa el 10% de los casos. Aproximadamente la mitad de los pacientes con SHU atípico presentan mutaciones en los genes que regulan el sistema del complemento. Recientemente se han descrito mutaciones en el gen de la trombomodulina, una glicoproteína endotelial con propiedades anticoagulantes y antiinflamatorias en pacientes con SHU atípico. El objetivo de nuestro estudio fue analizar el gen de la trombomodulina en una paciente con SHU atípico.

Pacientes y métodos: Paciente, lactante de 21 meses con sospecha de síndrome hemolítico urémico (SHU) atípico por anemia hemolítica microangiopática, insuficiencia renal y ADAMTS-13 disminuido con inhibidor negativo a la que se le detectan presencia de hemofagocitos en aspirado de medular. Se realizó tratamiento con metilprednisolona 2 mg/kg/día, gammaglobulinas 1 gr/kg en dosis única, hemodiálisis, plasmaféresis y finalmente con eculizumab. Con el tratamiento instaurado la paciente presentó remisión del cuadro.

Análisis del gen de la trombomodulina mediante secuenciación directa con el ABI3500 (Applied Biosystems). Se realizó mediante la amplificación de 6 fragmentos con los primers directo (F) y reverso

(R) correspondientes: fragmento de 437 pb, TM1F 5'-GACGGA-CAGGAGAGGCTGT-3' y TM1R 5'-TGGTGTGTTGTTGCTCCC-GTA-3'; fragmento de 406 pb, TM2F 5'-GAAGGCTACATCCTG-GACGA-3' y TM2R 5'-GCAGCACTACCTCCTTGGAA-3'; un fragmento de 475 pb TM3F 5'-CCGATGTCATTTTCCTTGCTA-3' y TM3R 5'-GCGGTGCACATTAGCTGTAA-3'; fragmento de 498 pb, TM4F 5'-TTCCTCTGCGAGTTCCACTT-3' y TM4R 5'-TATGCAGTCATCCACGTCCT-3'; un fragmento de 471pb, TM5F 5'-GACCTCTGCGAGCACTTCTG-3' y TM5R 5-GAGTCACA-GTCCGGTGCCAAT-3'; un fragmento de 406 pb, TM2F y TM6R 5'-GGTCTTCTCCAGCTGTAATGC-3'

Resultados: El análisis con secuenciación directa de los 6 fragmentos amplificados del exón 1 del gen de la trombomodulina mostró un resultado normal. Se secuenciaron tanto de forma directa como reversa 2 controles de manera paralela a la propósitos del estudio. En todos los casos se observó un genotipo normal.

Conclusiones: La paciente con SHU atípico analizada en nuestro centro no mostró ninguna mutación en el gen de la trombomodulina.

Ministerio de Sanidad y Consumo, Instituto de Salud Carlos III, Red Investigación Cardiovascular; (RD12/0042/0032).

PB-180 Insuficiencias venosas de miembros superiores asociadas o no a trombosis

Yera Cobo M., de Cos Höhr C., Sevillano Ruiz-Mateos C., Morano Sánchez J., Garrastazu Sánchez M.P., Bernal Cerezo J., Paz Coll A.
Hospital Universitario Puerta del Mar. Cádiz

Introducción: Las trombosis venosas profundas (TVP) de extremidades superiores representan el 1-4% de TVP, estando la mayoría relacionadas con canalización venosa central (vía central, marcapasos, desfibriladores,...) y/o neoplasias. Las espontáneas tienen una incidencia anual de 1-2 casos/10⁶ habitantes, estando relacionada la sintomatología con esfuerzos en un 60-80% (Síndrome de Paget-Shroetter). La edad media de aparición son 30 años, más frecuentes en sexo masculino (2/1) y el principal factor de riesgo son las anomalías anatómicas, congénitas o adquiridas, que provocan compresión/estenosis y daño vascular (costilla cervical, inserción tendinosa anormal, hipertrofia muscular).

Para el diagnóstico la eco-doppler es la alternativa poco invasiva a la venografía con contraste que sigue siendo el gold standard. En ocasiones, es preciso recurrir a TAC/RMN para identificar las posibles anomalías anatómicas asociadas. El tratamiento inicial cuando la sintomatología es muy aguda, consiste en fibrinólisis y posterior anticoagulación (Grado 2C). Cuando la sintomatología es leve y/o comienzo de los síntomas indeterminado (>2 semanas), anticoagulación mínimo 3 meses. Si existen anomalías anatómicas asociadas, hay que valorar la posibilidad de descompresión torácica vascular quirúrgica.

Material y métodos: Estudio observacional retrospectivo en el que analizamos una serie de casos de trombosis espontáneas de miembro superior y su relación con esfuerzos físicos y/o alteraciones anatómicas, y la evolución con tratamiento anticoagulante.

Resultados: Presentamos 10 pacientes con insuficiencia vascular de MMSS, y 8/10 trombosis humeral, subclavia, cefálica o basílica. 8 mujeres y 2 hombres con una media de edad de 33.3 años (rango 19-50 años). Como posibles factores precipitantes: una paciente con Lupus, 2 bajo tratamiento hormonal anticonceptivo y 4 pacientes deportistas con hipertrofia muscular de tren superior.

En 5/10 casos, tras estudio exhaustivo, se ha detectado una alteración anatómica responsable de compresión vascular extrínseca: 4 con síndrome de desfiladero torácico y 1 con hipertrofia de escalenos.

Sólo 4/10 casos presentaron un estudio de hipercoagulabilidad positivo (1 déficit de PS, probablemente adquirido por LES y 3 heterocigotos PT20210).

Un paciente solo recibió AAS al no confirmarse la trombosis y el resto, recibieron tratamiento anticoagulante (5/9 de forma indefinida, 1/9 lo suspendió y tuvo que reiniciar por retrombosis y 3/9 pacientes de duración limitada (3, 5 y 12 meses). Ninguno de los pacientes fue sometido a fibrinólisis.

La evolución de estos pacientes fue: 3/10 revascularización completa, 4/10 parcial, 1/10 retrombosis y 2/10 no se realizó reevaluación posterior.

Conclusiones:

1. Las trombosis/enlentecimiento del flujo sanguíneo de MMSS espontáneas son infrecuentes respecto a las de MMII, generalmente en pacientes jóvenes sanos (predominio en la 3ª década) y en algunos casos en relación con ejercicio previo intenso.
2. En más de la mitad de estos pacientes se asocian alteraciones anatómicas, siendo menos frecuentes estados de hipercoagulabilidad como las trombofilias.
3. Sólo en aquellos casos en que la alteración anatómica pueda ser reversible es seguro retirar la anticoagulación, por el alto riesgo de retrombosis que presentan.
4. Es importante sospechar estos cuadros: lo larvado del inicio y la infrecuencia del problema pueden retrasar el diagnóstico, condicionando la recuperación completa.

PB-181 Evaluación retrospectiva del perfil para los anticuerpos antifosfolípido solicitados durante un año y su correlación con el diagnóstico de síndrome antifosfolípido

Jiménez Martínez C. (1), Gutiérrez Orozco G. (2), Orient Navarro S. (2), Montesdeoca Romero S. (1), Martínez Serra L. (1), Johansson Barron E. (1), Bermúdez de Castro López L. (2), Rapún Más L. (2), Sáenz Morales D. (2), Besses Raebel C. (1)

(1) Hospital del Mar. Barcelona. (2) Laboratori de Referència de Catalunya

Introducción: Los anticuerpos antifosfolípido (aAF) son un grupo heterogéneo de inmunoglobulinas (Ig). El laboratorio los detecta por su interferencia en las pruebas de coagulación fos-

folípido-dependientes y por técnicas ELISA. Su presencia no es siempre patológica. Cuando están asociados con manifestaciones trombóticas específicas constituyen el síndrome de anticuerpos antifosfolípido (SAF) que puede ser primario (I) o secundario (II) a una enfermedad autoinmune.

Métodos: Evaluación retrospectiva de las solicitudes para aAF realizadas por los servicios clínicos de nuestro hospital y su correspondencia con el diagnóstico clínico durante el año 2014. Se recibieron durante este año un total de 766 solicitudes para aAF, de ellas en 648 se incluía el perfil completo para los aAF: anticuerpos anticardiolipina (aCA) IgM/IgG, anti-2 glicoproteína I (aB2GPI) IgM/IgG y anticoagulante lúpico (ACL). La detección de los aCA IgM/IgG y aB2GPI-IgG/IgM se realizó según la técnica de ELISA con los kits de Inova Diagnostics. El ACL se determinó por métodos coagulométricos en el equipo ACLTOP (Werfen), mediante los ensayos HEMOSIL® dRVVT-Screen/Confirm, que utiliza el método de VVR diluido y los ensayos SCT-Screen/Confirm, empleando reactivos sensibles a anticuerpos dependientes de fosfolípidos. El análisis para el ACL se realiza con una prueba de clivaje y una confirmatoria; el resultado es positivo, cuando en una de las dos técnicas el ratio >1.2 entre ellas. Se revisaron Revisamos las historias clínicas de los 147 pacientes con perfil completo y resultados positivos para los aAF. Estos pacientes procedían de diferentes servicios (Hematología: 52, Reumatología 45, Neurología 12, Medicina Interna 9 y otros 29). El diagnóstico de SAF se estableció según los criterios actualizados de Sidney 2006 (1).

Resultados: Se halló la presencia mantenida de al menos uno de los aAF positivos del perfil en 147 pacientes. La mediana de edad era de 59 años y el 65% eran mujeres. En 78 pacientes se cumplían los requisitos para SAF (69 SAFI y 9 SAFII), mientras que el resto (69 casos) no se cumplieron los criterios de SAF. La tabla muestra la distribución de los aAF y su correlación clínicas en los 78 pacientes con SAF (Tabla 1).

Tabla 1.

| | ACL | aCAIgM | aCAIgG | aB2GPIIgM | aB2GPIIgG | Total |
|---------|-----|--------|--------|-----------|-----------|-------|
| T | 42 | 6 | 6 | 22 | 7 | 64 |
| A | 1 | 2 | | | 1 | 3 |
| A+T a/v | 1 | | | 1 | | 2 |
| T+ea | 4 | 2 | 1 | 4 | 3 | 9 |
| Total | 48 | 10 | 7 | 27 | 11 | 78 |

T: trombosis; A: abortos; a: arterial; v: venoso; ea: enfermedad autoinmune.

Conclusión: En el 24% (156/648) del total de peticiones de perfil completo de aAF se diagnosticó un SAF. El SAF primario representa la mayor parte de diagnósticos (88%). Las trombosis se relacionaron mayoritariamente con anticoagulante lúpico.

Bibliografía

1. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, et al International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J Thromb Haemost 2006;4(2):295-306

PB-182 Diagnóstico de homocistinuria tipo I en paciente portadora del factor V Leyden. A propósito de un caso

Juan García P., Perona Blázquez Á., Juncos Tobarra M.Á., Da Silva Cabañero B., García-Alcalá Hernández M., Romero Román C., Varo Castro M.J., Navarro Casado L.

Complejo Hospitalario Universitario de Albacete. Albacete

Introducción: La homocisteína es un aminoácido azufrado esencial que se sintetiza a partir de la metionina presente en las proteínas de los alimentos.

Se conoce con el nombre de homocistinurias al conjunto de errores congénitos del metabolismo de la homocisteína, caracterizados por una elevada concentración de esta en plasma y orina. La homocisteína puede metabolizarse por dos vías: la transulfuración y la remetilación. En la transulfuración, se transforma a cisteína por medio de dos reacciones dependientes de vitamina B6 y catalizada por la cistationina-β-sintetasa (CBS).

La homocistinuria tipo I es la más frecuente, por lo que también se denomina homocistinuria clásica (HC), con patrón autosómico recesivo y 140 mutaciones descritas.

Las de mayor relevancia epidemiológica son:

- I278T, que responde a B6,
- G307S, que no responde a B6.

El principal motivo de morbimortalidad en la homocistinuria está representado por los fenómenos tromboembólicos.

Su tratamiento consiste:

- Aumentar la actividad enzimática administrando piridoxina.
- Dieta baja en metionina, pobre en proteínas totales y suplementada con cisteína y con cistina.
- Betaína: cofactor en la remetilación de la homocisteína, efectiva en pacientes no respondedores a piridoxina.

Se han descrito dos casos de edema cerebral tras tratamiento con betaína, aconsejándose disminuir la dosis si la concentración plasmática de metionina alcanza los 1000 μmol/L.

El objetivo del tratamiento sería la normalización de la concentración sérica de la Hcy, está descrito que un aceptable control es mantener la Hcy total <50 μmol/L y la metionina entre 20-40 μmol/L.

Objetivo: Describir un posible caso de HC en un paciente con trombosis venosa profunda (TVP), su diagnóstico y evolución.

Métodos: Revisión de historia clínica de la paciente. Se recogieron los siguientes datos analíticos: coagulación básica, estudio de trombofilia, homocisteína sérica, aminoácidos en sangre.

Resultados: Mujer de 14 años derivada a urgencias por edema y dolor de miembros inferiores, es diagnosticada de TVP e ingresa para la realización de fibrinólisis.

Se realiza estudio de trombofilia encontrándose déficit de factor VII, portadora de factor V Leiden e hiperhomocisteinemia severa.

Se instauró tratamiento con vitaminas B1-B6-B12 y ácido fólico, este no supuso descenso de la homocisteína por lo que

se determinan aminoácidos en sangre ante la sospecha déficit de CBS, apareciendo hipermetioninemia

Para confirmar dicho déficit se solicita estudio genético, siendo negativo para las mutaciones I278T y G307S. Al no poder excluir otras mutaciones, en este caso procedería solicitar la secuenciación completa del gen.

Conclusiones:

1. La prevalencia de HC es baja pero en pacientes con factores adicionales trombóticos aumenta el riesgo de TVP.
2. Los pacientes piridoxina-resistentes con el tratamiento temprano (dietético y/o medicamentoso) presentan una evolución clínica buena o aceptable.
3. El pronóstico en pacientes no tratados es malo. Un 25% mueren de vasculopatía antes de los 30 años. De ahí la necesidad de un diagnóstico precoz, con secuenciación completa si procede, e instauración del tratamiento.

PB-183 Repercusiones de la adherencia al tratamiento en pacientes tratados con apixaban sometidos a control externo y sin él

García Navarro I.M., García Ballesteros C., Alonso Prieto C., Cánovas Giménez V., Bautista Claver T., Carcell Corella P., Mena Rodríguez F., Mayans Ferrer J.

Hospital Arnau de Vilanova. Valencia

Introducción: En el tratamiento ambulatorio de las enfermedades crónicas, que precisan anticoagulación con nuevos anti-coagulantes orales, la adherencia insuficiente al tratamiento es un problema ya que las desviaciones en la pauta posológica prescrita pueden ser causa de complicaciones importantes trombóticas y/o hemorrágicas. Implica periodos temporales donde el paciente puede estar sometido a sobre o infradosificación, con un riesgo elevado de complicaciones fatales.

Desde hace tiempo se conoce, que la adherencia del paciente a la medicación puede mejorar con ciertos métodos de control, no siendo un problema exclusivamente del paciente.

Objetivo: Averiguar el impacto de un programa de adherencia al tratamiento (ELIPAC), definido como un control externo telefónico llevado a cabo por enfermería junto a una alarma digital programada cada 12 horas. El objetivo secundario es determinar la influencia de la edad en el riesgo de sangrado o complicaciones trombóticas asociado a cifra elevada de creatinina y menor filtrado glomerular.

Métodos: se incluyeron pacientes que iniciaron tratamiento con apixaban de 5mg c/12h o 2,5 mg c/12h con diagnóstico FA no valvular, divididos en dos grupos, con programa ELIPAC o sin él. Todos los pacientes acudieron a los controles clínicos, analíticos, de manejo terapéutico y complicaciones. Tras, al menos 6 meses de tratamiento, se realizó a todos los pacientes el test de MORISKY-GREEN que refleja la conducta del enfermo respecto al cumplimiento. Se asume que si las actitudes son incorrectas el paciente es incumplidor. Se otorgó una puntuación de 1 a 4 la para

evaluar la adherencia al tratamiento (1=mínima y 4=máxima). Se calculó su CHAS2 - CHA2DS2-VASc, HASBLED, creatinina y filtrado glomerular para el cálculo de la dosis.

Resultados: se analizaron un total de 55 pacientes (58% mujeres) con una mediana de edad 77 años (rango: 60-90). A un total de 25 pacientes (45%), 12 pacientes con 5 mg y 13 con 2,5 mg c/ 12h, se les adjudicó el programa ELIPAC. No hubieron diferencias estadísticamente significativas en el resultado del test de MORISKY-GREEN entre los pacientes que llevaron programa ELIPAC frente a los que no, aunque se observa una tendencia a que los pacientes del grupo de 2,5 mg c/ 12h presentaron una mayor adherencia al tratamiento si llevaban programa ELIPAC o no ($p=0,08$).

No se comunicó ninguna hemorragia grave o evento trombotico en los pacientes incluidos en el estudio.

Conclusiones: en la adherencia al tratamiento es muy importante la educación del paciente y de los cuidadores o tutores. El seguimiento estructurado en visitas fijadas al inicio, a los 6 meses y al año incluyendo elementos de educación y motivación es suficiente para una adecuada adherencia al tratamiento. El control externo de ser es un pilar para ampliar la motivación y reforzar la adherencia. Debemos ser estrictos en el ajuste de dosis fijándonos principalmente en el CHA2DS2-VASc, HASBLED y el filtrado glomerular. Tendremos especial atención en la población mayor de 80 años, ya que son los que más ajuste de dosis precisa y están expuestos a sufrir más complicaciones.

PB-184 ¿Qué factores de riesgo trombotico caracterizan a los pacientes mayores de 65 años?

García Raso A. (1), Terán C. (2), Vidal R. (2), Mata R. (2), Miranda C. (3), Llamas P. (2)

(1) Instituto de Investigación Sanitaria Fundación Jiménez Díaz. Madrid. (2) Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz. Madrid (3) Hospital Rey Juan Carlos. Madrid

Introducción: La enfermedad tromboembólica (ETE) es cada vez más frecuente debido tanto al aumento factores de riesgo como al incremento de la edad media poblacional. La edad es un FR importante para el desarrollo de eventos trombotico, pero con la edad no sólo aumenta el riesgo trombotico, además se produce un incremento de las comorbilidades. Otros factores como la inmovilización, los traumatismos o las enfermedades infecciosas pueden contribuir al desarrollo de trombosis en los pacientes de edad más avanzada. Por ello nos planteamos el siguiente objetivo: describir los factores de riesgo trombotico diferenciales en los pacientes de más de 65 años.

Métodos: Se han incluido 472 pacientes con ETE remitidos a la Unidad de Trombosis y tratamiento antitrombotico del Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz para control del tratamiento anticoagulante (ACO). De cada uno de ellos se recogieron los datos demográficos (edad y sexo) y los siguientes factores de riesgo: dislipemia (niveles de Cht, C-HDL, C-LDL y triglicéridos), consumo de tabaco, HTA, obesidad/sobrepeso (talla, peso e IMC), infección aguda, enfermedad vascular, VIH, neoplasia, EPOC, traumatismo,

inmovilización, cirugía, quimioterapia, antipsicóticos/antidepresivos, antecedentes familiares, viaje de larga duración y trombofilia. Asimismo se recogieron los datos relativos al evento trombotico (localización, nº de eventos, síndrome posttrombotico, meses de seguimiento) y los relacionados con el tratamiento ACO (tratamiento inicial, tratamiento a largo plazo, duración de tratamiento).

Resultados: La edad media del grupo de pacientes fue $55,24 \pm 17,82$ años, siendo $45,29 \pm 11,89$ en el grupo de pacientes <65 años, y $75,92 \pm 6,78$ en el grupo de ≥ 65 años. El grupo de pacientes ≥ 65 años estaba formado por 39% de hombres y 61% de mujeres, mientras que el de < 65 años los componían 49% hombres y 51% mujeres. La duración media del tratamiento ACO en aquellos pacientes de cada grupo que no necesitaron tratamiento a largo plazo fue de 9 meses en el grupo de sujetos ≥ 65 años y de 11 meses en el grupo de <65 años. La incidencia de SPT fue mayor en el grupo de pacientes <65 años (28,4% vs 14,3%; $p = 0,0009$). La presión arterial sistólica media fue significativamente mayor en los pacientes con 65 años o más ($121,4 \pm 17,2$ vs $137,8 \pm 16,3$; $p = 0,0002$). Las tablas adjuntas recogen el resto de los factores analizados en los que se encontró una diferencia estadísticamente significativa (Tablas 1 y 2).

Tabla 1.

| Factor de riesgo | N (%) (<65 vs ≥ 65) | RR (IC95%) | OR (IC95%) | p |
|----------------------|---------------------------|------------------|------------------|---------|
| Sexo (M) | 160 (50,5) vs 94 (61) | 1,21 (1,02-1,43) | 1,54 (1,04-2,27) | 0,0424 |
| Tto ACO LP | 197 (62,1) vs 123 (79,9) | 1,29 (1,14-1,44) | 2,42 (1,53-3,81) | <0,0001 |
| Tto hipolipemiente | 92 (29) vs 76 (49,3) | 1,70 (1,34-2,15) | 2,38 (1,60-3,35) | <0,0001 |
| Tto antihipertensivo | 66 (20,1) vs 95 (61,7) | 2,96 (2,31-3,80) | 6,12 (4,01-9,35) | <0,0001 |
| Dislipemia | 110 (34,7) vs 78 (50,6) | 1,42 (1,14-1,77) | 1,83 (1,24-2,81) | 0,0026 |
| HTA | 66 (20,8) vs 61 (39,6) | 1,90 (1,42-2,54) | 2,49 (1,64-3,80) | <0,0001 |

Tabla 2.

| Factor de riesgo | N (%) (<65 vs ≥ 65) | RR (IC95%) | OR (IC95%) | p |
|-------------------------|---------------------------|------------------|------------------|---------|
| Tabaco | 103 (32,5) vs 19 (12,3) | 0,38 (0,24-0,60) | 0,29 (0,17-0,50) | <0,0001 |
| Enf vascular | 18 (5,7) vs 32 (20,1) | 3,66 (2,12-6,31) | 4,36 (2,36-8,06) | <0,0001 |
| Neoplasia | 16 (5) vs 20 (13) | 2,57 (1,37-4,82) | 2,81 (1,41-5,59) | 0,0043 |
| EPOC | 7 (2,2) vs 8 (5,2) | 2,35 (0,87-6,37) | 2,43 (0,86-6,82) | 0,0967 |
| Antecedentes familiares | 84 (26,5) vs 17 (11) | 0,42 (0,26-0,68) | 0,34 (0,20-0,60) | 0,0002 |

Conclusiones: Existen diferencias estadísticamente significativas en la distribución de los factores de riesgo entre los pacientes con ETEV mayores y menores de 65 años. La dislipemia, la HTA, la presión arterial sistólica, la enfermedad vascular, así como la presencia de neoplasia y EPOC, suponen un riesgo trombótico significativamente mayor en los pacientes mayores de 65 años.

PB-185 Experiencia de la unidad de hemostasis y trombosis del Hospital de Clínicas, Montevideo - Uruguay

Merola V., Pizarossa C., Chalart P., Robaina R., Caraballo N., Olivieri M., Montero L., Grille S., Lemos F., Spangenberg M.N., Leal D., Mussio D., Errecarte C., Sánchez C., Zunino J., Alonso J., Díaz L., Stevenazzi M., Martínez R., Guillermo C.

Hospital de Clínicas. Montevideo, Uruguay

Introducción: En 2012, en el Hospital de Clínicas en su carácter de Hospital Universitario se crea un Centro de referencia en Hemostasis y Trombosis (UHT), interdisciplinario con participación de las Cátedras de Hematología, Clínica Médica C, Cátedra y Dpto. de Hemoterapia y Medicina Transfusional, Laboratorio de Citometría y Biología Molecular y el Departamento de Enfermería. Surge esta necesidad frente al creciente número de pacientes que reciben tratamiento anticoagulante y antitrombótico de manera profiláctica o terapéutica por períodos limitados, indefinida o de por vida requiriendo un estrecho monitoreo clínico y paraclínico.

Objetivos: Describir la población estable de la UHT a 3 5 años de su creación.

Material y métodos: Estudio descriptivo, observacional, transversal, retrospectivo. Se incluyó la totalidad de la población estable que se atiende en la UHT. Se analizan los resultados mediante distribución de frecuencias y medidas descriptivas de tendencia central y dispersión.

Resultados: Total de pacientes: 183, 67 hombres, 116 mujeres. Edad media: 58 años, rango 17 a 88 años. Indicación de anticoagulación: ETEV 88 pacientes (TVP 58, TVP/TEP 30), trombosis venosa superficial (TVS) 13, Trombosis venosa cerebral (TVC) 8, otros territorios 6, causa cardiológica 54, otras causas 14. De las 88 ETEV, 30 fueron clasificadas como idiopáticas (34%). De las 58 restantes clasificadas como provocadas, 26 se asociaron a un factor de riesgo débil lo que tuvo implicancias en la toma de decisiones en cuanto a la duración de la anticoagulación (44,8%). Diez ETEV se asociaron a estrógenos, y de éstos en 4 (40%) se diagnosticó trombofilia. Dieciocho eventos tromboembólicos se asociaron a cáncer. En cuanto a ETEV recurrente, se observaron 27 casos. Se realizaron estudios genéticos de resistencia a warfarina en 4, resultando normales. Tres pacientes con TEP fueron tratados exitosamente con fibrinolíticos. Dos casos requirieron filtro cava. Diez pacientes (5,5%) reciben rivaroxaban.

Conclusiones: La UHT ha generado un grupo estable de especialistas en vías de lograr una subespecialización en esta área,

priorizando la evaluación interdisciplinaria que permite enriquecer la formación académica, creando instancias educativas hacia el paciente reforzando la adherencia a través de la consulta de enfermería y el seguimiento telefónico. Se ha desarrollado así una mejor asistencia, docencia, un ámbito de investigación y extensión con amplias expectativas de crecimiento

PB-186 Análisis observacional y descriptivo de la rentabilidad de los estudios de trombofilia realizados en un centro durante los últimos cinco años

Gómez del Castillo Solano M.C., Fernández Docampo M., Vázquez Vázquez M.G., López Fernández M.F.

Complejo Hospitalario Universitario A Coruña. A Coruña

Introducción: La trombofilia es una condición heredada o adquirida que predispone a la trombosis. La más frecuente de las adquiridas es la presencia de anticuerpos antifosfolípido. Y las más frecuentes de las heredadas son el defecto de antitrombina, proteína C y S, así como las mutaciones que afectan al factor V Leyden y al gen de la protrombina.

Solicitar estudios de trombofilia puede ser de utilidad para valorar la duración de la anticoagulación, para valorar el riesgo de recurrencia de episodio trombótico o para tomar acciones preventivas en familiares.

Objetivo: El objetivo de este análisis es valorar la rentabilidad diagnóstica de los estudios de trombofilia solicitados en nuestro centro durante los últimos 5 años (2010-2014), teniendo en cuenta el motivo por el que se solicitaron, así como analizar la prevalencia de trombofilias en nuestro centro.

Métodos: Se realizó un análisis observacional y descriptivo de los estudios de trombofilia realizados en nuestro centro entre 2010 y 2014. En nuestro centro se realizan estudios de trombofilia a menores de 55 años con episodio de trombosis y como parte de estudios familiares. Se agruparon en siete categorías por la clínica de trombosis: ginecológicos (abortos/infertilidad), enfermedad tromboembólica venosa (ETEVE), trombosis arterial (TA), ETEV+TA, estudios familiares, reumatológicos y otros.

Resultados: Se realizaron 1105 estudios entre 2010 y 2014. En 250 de ellos (22,62%) se encontró alguna anomalía. La población estudiada comprende un 60,09% de mujeres (664) y un 39,90% de hombres (441). La mayoría de los estudios se realizaron a pacientes menores de 55 años (77,4%). El 86% de los realizados en mayores de 55 años fueron estudios familiares.

En cuanto al análisis por categorías, los más numerosos son los solicitados por ETEVE, seguidos de trombosis arterial y estudios familiares (Figura 1). Fueron más frecuentemente patológicos los estudios familiares, los solicitados por la combinación de ETEVE y TA y los solicitados por ETEVE (Figura 2).

Si hacemos el análisis desde el punto de vista de la trombofilia, la más frecuentemente observada es la presencia de la mutación R506Q del factor V Leyden en heterocigosis, seguido del polimorfismo G20210A en el alelo de la protrombina (Figura 3).

Conclusiones: En el 22,6% de los estudios realizados se detectó alguna forma de trombofilia. Los más rentables en este sentido son los estudios solicitados por enfermedad tromboembólica venosa, seguidos de los estudios familiares.

De acuerdo con otras series las trombofilias más frecuentes son los defectos genéticos asociados al factor V Leyden y los polimorfismos del gen de la protrombina, y la presencia de anticoagulante lúpico.

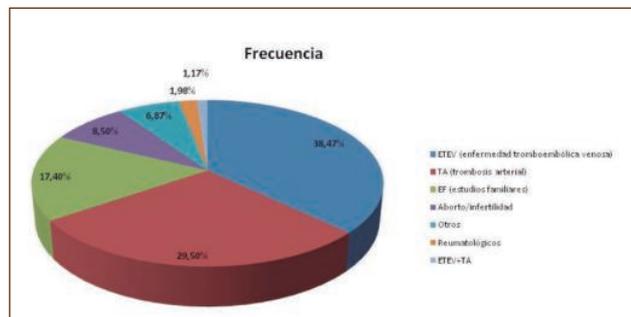


Figura 1. Manifestaciones clínicas que provocan la petición de un estudio de trombofilia.

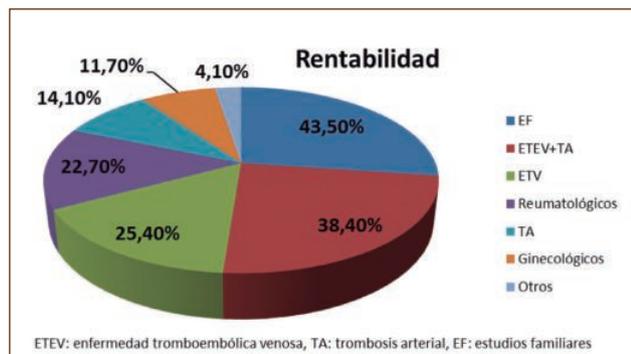


Figura 2. Rentabilidad diagnóstica.

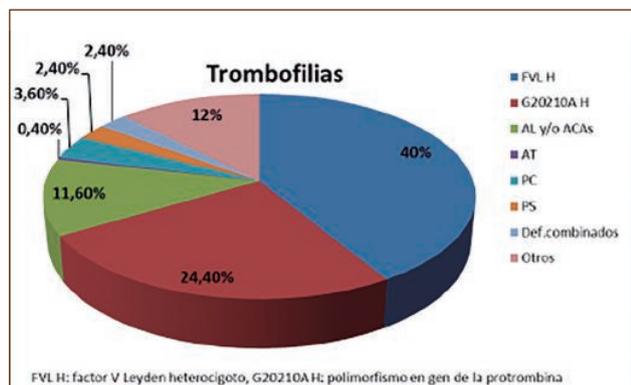


Figura 3. Frecuencia de trombofilias.

Bibliografía

1. National Institute for Health and Care Excellence. Venous thromboembolic diseases: the management of venous thromboembolic diseases and the role of thrombophilia testing. London: NICE; 2012.
2. Baglín T, Gray E, Greaves M, et al. British Committee for Standards in Haematology Clinical guidelines for testing for heritable thrombophilia. Br J Haematol. 2010;149(2):209–220.
3. Classic thrombophilic gene variants. Mannucci, P et.al. Thromb Haemost 2015; 114: Epub ahead of print: May 28, 2015.

PB-187 Puesta en marcha de la unidad de autocontrol en anticoagulación oral en el Hospital Arnau de Vilanova

García Navarro I.M., Hueso Zarandieta A., Enguidanos Hernandez C., García Ballester C., Alonso Prieto C., Cánovas Giménez V., Bautista Chaver T., Carcell Corella P., Gómez Toboso D., Mena Rodríguez F., Mayans Ferrer J. Hospital Arnau de Vilanova. Valencia

Introducción: El acto médico es la implementación de las innovaciones diagnósticas y terapéuticas, que demuestran tras la evaluación de las mismas, una mejora en los parámetros de calidad, eficacia y eficiencia en nuestras actuaciones. La anticoagulación es el fiel reflejo de una de las áreas asistenciales donde más transformación se está experimentando. Debemos adecuar a cada tipo de paciente /diagnóstico el método de control de anticoagulación más idóneo, según el perfil de cada uno de ellos, poder ofrecer alternativas satisfactorias y viables.

Objetivo: Poner en marcha una unidad autocontrol en anticoagulación en un Hospital de la Comunidad Valenciana como centro piloto, para poder ofrecer una mayor calidad en nuestra población de pacientes anticoagulados

Métodos: Se realizó una visita de formación en un hospital de referencia donde se desplazaron una hematóloga y dos enfermeros. Donde realizamos la formación el personal clínico. Se crea la unidad de autocontrol en 2014. Hemos seleccionando hasta la actualidad 10 pacientes, firmando el consentimiento informado. Realizan un cursillo de entrenamiento en grupos de tres pacientes, pudiendo estar acompañados de algún familiar. Se inicia la educación del paciente en el manejo del coagulometro portátil y educación del paciente en autodosificación. Algoritmos de ajuste. El vínculo se mantiene entre los profesionales a través del control telefónico y en todo momento los pacientes están apoyados por el equipo clínico.

Resultados: Se analizaron un total de 10 pacientes (9 mujeres -2 hombres).Media de edad fue 49,5 (rango 20-60). Se les realiza una visita semanal a los quince días, al mes, a los tres meses y a los seis meses. Se han introducido 7 pacientes (portadores de Prótesis Aórtica)que deben mantener su INR: terapéutico entre 2-3; 2 pacientes(portadores de Prótesis Mitral) que su INR terapéutico es 2,5 y 3,5 ; 2 pacientes (con síndrome antifosfolípido y tromboembolismo pulmonar de repetición)que precisan de INR terapéutico entre 3,5 y 4,5. El TRT (tiempo en rango terapéutico) medio de los pacientes es cercano al 60 %. No han presentado durante el periodo

de seguimiento ningún efecto adverso trombótico ni hemorrágico. Incidencias recogidas por la unidad de enfermería: 1- Fallo en la dosificación 2- Un solo paciente presento miedo a la punción digital, con el programa educacional sigue en el programa y no se ha producido rechazo. 3- Ningún paciente abandona el programa de autocontrol

Conclusiones: El autocontrol es un método idóneo para incrementar la satisfacción de los pacientes. Hay mejor control de su INR con menores complicaciones hemorrágicas y trombóticas. Aumenta la calidad de vida de los pacientes. Disminuyen los costes indirectos del tratamiento. Todo ello necesita el apoyo de una buena unidad de enfermería que dé soporte educacional

PB-188 Caso clínico de trombosis asociada a agenesia de vena cava inferior

Iserte Terrer L., Rivero Arango E., Ferrero Campos A., Marzo Alonso C.

Hospital Universitario Arnau de Vilanova. Lleida

Fundamentos y/o objetivos: La importancia de conocer anomalías congénitas, como la agenesia de vena cava inferior, que pueden diagnosticarse, a raíz de trombosis en pacientes jóvenes.

Material y métodos: Varón 34 años, sin antecedentes de interés. Toma suplementos proteicos (no anabolizantes).

En 2014, tras ejercicio intenso abdominal presenta edema en EID asociándose tumefacción, congestión pélvica e impotencia funcional. No disnea ni dolor torácico. Ligera febrícula acompañante.

En 2009 relata la misma clínica en dicha extremidad tras ejercicio físico y espontáneamente resuelta, sin necesidad de tratamiento.

La exploración vascular evidencia una ligera flegmasía y empastamiento.

Se solicita eco-doppler en el que se observa una TVP ileofemoral derecha. En la analítica destaca un aumento de los DD con una cifra de 8734. Se inicia anticoagulante con HBPM ajustada a peso y función renal, vendaje compresivo y analgesia con mejoría sintomática.

En la pruebas de imagen realizadas además de la trombosis que afecta a la femoral derecha e ilíacas bilaterales se observa circulación colateral en el sistema álgigos, hemiálgigos, lumbar y gonadal en relación a agenesia VCI infrahepática (el VSH y segmento suprahepático no muestran alteraciones).

Superado el episodio agudo y en tratamiento con heparina se realiza el estudio de trombofilia completo hallándose mutación de la MTHFR homocigota (C677T) con elevación de la homocisteína.

Al tratarse un segundo episodio de trombosis, con alteración en el estudio de trombofilia, el paciente inició tratamiento anticoagulante, con la idea de mantenerlo a largo plazo, con valoración periódica de riesgo/beneficio. En la reevaluación mediante ecografía se observa recanalización del sistema venoso afecto.

Conclusiones: La agenesia de vena cava (en uno de sus cuatro segmentos: infrarrenal, renal, suprarrenal y hepático) es una anomalía congénita rara, que se halla en aproximadamente un 5% de pacientes menores de 30 años con TVP. Se desconoce si es por una disembriogénesis entre la 6ª y 8ª semana de gestación o secundario a una trombosis en la VCI en el momento perinatal. El ejercicio intenso se ha descrito como factor predisponente. El TC con contraste es la técnica diagnóstica de elección. El tratamiento, a parte del sintomático, requiere de terapia anticoagulante así como evitar factores desencadenantes.

Discusión: Se trata de un paciente que presenta una agenesia congénita cava inferior en su segmento infrahepático como probable causa primaria y ejercicio intensivo abdominal como precipitante y una trombofilia asociada. Muy probablemente se trate de un segundo episodio, ya que en 2009 ya relata misma clínica en EID resuelta espontáneamente, por lo que tendrá que realizar tratamiento anticoagulante de manera indefinida.

