

XXXII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia

Ponencias y Comunicaciones

Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia

Santiago de Compostela, 20-22 de octubre de 2016



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

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

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.



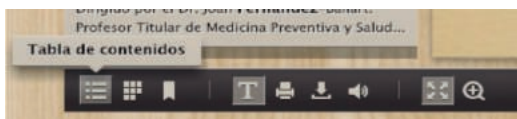
Buscador

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.

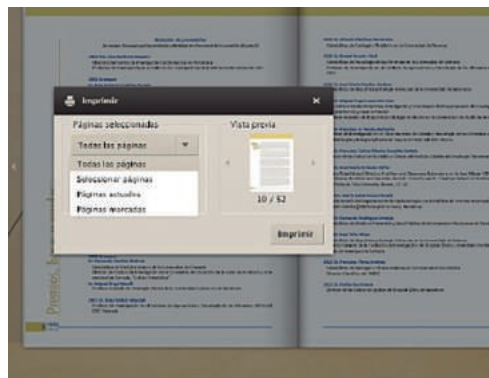


Impresión

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

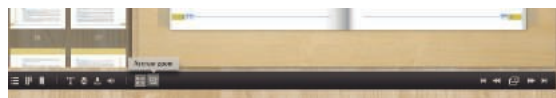
1. Imprimir toda la revista.
2. Imprimir las páginas marcadas.

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

© 2016. 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

José Luis Bello López

Vicepresidenta

Susana Pérez Crespo

Vocales

Isabel Abuín Méndez

Carmen Albo López

Natalia Alonso Vence

M.^a Lourdes Amador Barciela

Jesús Antonio Arias Sampedro

Ángeles Bendaña López

Alfredo Campos Pena

Aurora de Andrés Jacob

José Díaz Arias

Nicolás Díaz Varela

Marta Sonia González Pérez

M.^a Fernanda López Fernández

Paloma Ojea de Castro

Manuel Mateo Pérez Encinas

M.^a José Rabuñal Martínez

José Luis Sastre Moral

Carlos Ulibarrena Redondo

Mercedes Villamayor Álvarez

Comité Científico de la SEHH

Presidente

Eulogio Conde García

Vicepresidenta

Vanessa Roldán Schilling

Presidente del Comité Científico de la SEHH

Eulogio Conde García

Vocales de la SETH

José Luis Arroyo Rodríguez

Beatriz Arrizabalaga Amuchástegui

M.^a Aránzazu Bermúdez Rodríguez

Felipe de Arriba de la Fuente

Javier de la Serna Torroba

M.^a Teresa Gómez Casares

Juan José Lahuerta Palacios

Armando López Guillermo

Fernando Marco de Lucas

M.^a Victoria Mateos Manteca

José Tomás Navarro Ferrando

Alberto Orfao de Matos

Manuel Pérez Encinas

José Antonio Pérez Simón

Jorge Sierra Gil (coordinador del programa educacional)

Comité Científico de la SETH

Presidenta

Vanessa Roldán Schilling

Vocales

Javier Corral de la Calle (coordinador
del programa educacional)

José Mateo Arranz

Ramiro Núñez Vázquez

Josune Orbe Lopategui

Teresa Padró Capmany

Índice SETH

Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia

XV LECCIÓN CONMEMORATIVA RICARDO CASTILLO-ANTONIO LÓPEZ BORRASCA

- Contemplando la trombosis bajo la óptica de la fibrinólisis y proteólisis
José A. Páramo

PONENCIAS

- Nuevas perspectivas en biología plaquetar y endotelial
- Trombosis y hemostasia en 2016
- Nuevos paradigmas en trombosis venosa y arterial
- Coagulopatías hemorrágicas
- Tratamiento antitrombótico

SESIÓN PLENARIA

COMUNICACIONES ORALES

- Plaquetas/biología vascular
- Coagulopatías congénitas
- Métodos de diagnóstico y marcadores
- Plaquetas
- Tratamientos antitrombóticos
- Trombosis

PÓSTERES

- Diátesis hemorrágica
- Trombosis
- Plaquetas/biología vascular
- Tratamientos antitrombóticos
- Conceptos básicos en hemostasia
- Métodos de diagnóstico y marcadores

PUBLICACIÓN

- Diátesis hemorrágica
- Métodos de diagnóstico y marcadores
- Plaquetas/biología vascular
- Tratamientos antitrombóticos
- Trombosis

XV LECCIÓN CONMEMORATIVA
RICARDO CASTILLO -
ANTONIO LÓPEZ BORRASCA

Contemplando la trombosis bajo la óptica de la fibrinólisis y proteólisis

José A. Páramo

Servicio de Hematología. Clínica Universidad de Navarra. Pamplona

Introducción

Las enfermedades cardiovasculares representadas por el infarto agudo de miocardio, el ictus isquémico y el tromboembolismo venoso constituyen la principal causa de mortalidad en los países occidentales. El sustrato fisiopatológico común es la formación de un trombo oclusivo que impide el flujo y conlleva la isquemia y ulterior necrosis del órgano o tejido afectado. Un trombo se produce como consecuencia de una excesiva activación hemostática en lugares de lesión o disfunción vascular y conlleva la generación de trombina que convierte el fibrinógeno en fibrina, componente estructural importante del trombo. Además de los sistemas anticoagulantes naturales (antitrombina, proteínas C y S, inhibidor del factor tisular), el control de la formación de fibrina se lleva a cabo por la acción de un sistema enzimático, el sistema fibrinolítico, que comprende un proenzima, el plasminógeno, que es convertido en el enzima activo plasmina por acción de los activadores del plasminógeno. La plasmina es una enzima proteolítica que degrada la fibrina en sus correspondientes productos de degradación (PDF, DD). La regulación de este sistema se lleva a cabo por inhibidores de los activadores del plasminógeno (PAI), inhibidores de la plasmina (α_2 -antiplasmina) y por el inhibidor fibrinolítico activado por trombina (TAFI).

Por consiguiente, el sistema fibrinolítico es uno de los principales reguladores de la formación de fibrina en los lugares de lesión vascular al favorecer su eliminación y restablecer el flujo circulatorio, una vez que se ha producido la respuesta hemostática fisiológica destinada a evitar la pérdida sanguínea. Un defecto de actividad de este sistema, que condicione una alteración del balance coagulación/fibrinólisis, va a jugar un papel importante en la génesis de la trombosis.

Además de la fibrinólisis existe otro sistema enzimático en el que intervienen unas enzimas dependientes de Zn^{++} denominadas metaloproteinasas (MMPs), cuya principal función es la degradación de la matriz extracelular (MEC), pero también participan en la degradación de la fibrina. Se revisará el papel de ambos sistemas en los procesos inflamatorios y trombóticos, fundamentalmente sobre la base de aportaciones realizadas por nuestro grupo.

Fibrinólisis y trombosis venosa

Como se ha señalado, la fibrinólisis representa un mecanismo de defensa endógeno contra el depósito patológico de fibrina, por lo que un defecto de actividad fibrinolítica va a ser relevante en la patogenia de la trombosis en el territorio venoso. Nuestro grupo ha demostrado un aumento significativo de PAI-1 (inhibidor de los activadores del plasminógeno endotelial) en el postoperatorio inmediato de diversos procedimientos quirúrgicos, fundamentalmente en el contexto

de cirugía ortopédica mayor, pero también asociado a otras cirugías (urológica, ginecológica, trasplante cardiaco, etc.)¹⁻³. El aumento de PAI-1 condiciona hipofibrinólisis inmediatamente tras la cirugía (*postoperative fibrinolytic shutdown*), siendo uno de los mecanismos responsables de la aparición de trombosis venosa postoperatoria. Incluso demostramos que un aumento preoperatorio de PAI-1, en combinación con otros parámetros, puede ser predictivo de trombosis en cirugía ortopédica⁴. Otros autores también han observado a nivel clínico que la hipofibrinólisis, principalmente relacionada con aumento de PAI-1, constituye un factor de riesgo para la trombosis venosa⁵.

Fibrinólisis, inflamación, cáncer y coagulación intravascular diseminada

Estudios pioneros de nuestro grupo demostraron que la endotoxina bacteriana es capaz de inducir la expresión endotelial de PAI-1, tanto en cultivo de células endoteliales humanas como en un modelo experimental en conejos⁶. Este puede ser uno de los mecanismos fisiopatológicos que operan en el contexto de la coagulación intravascular diseminada (CID) y que pueden explicar el depósito de fibrina en la microcirculación, una de las características fundamentales de este síndrome⁷. Hemos observado un marcado aumento de PAI-1 a nivel clínico, en pacientes con sepsis asociado a otros marcadores inflamatorios como TNF^{8,9}, y a nivel experimental en conejos tratados con endotoxina asociado a un aumento de los depósitos de fibrina en diversos órganos^{10,11}. Un dato interesante fue que una variedad de tratamientos que redujeron significativamente los niveles circulantes de PAI-1 se asociaron con un descenso de la mortalidad en los animales que recibieron endotoxina^{10,11}. Más recientemente hemos demostrado que los niveles circulantes de PAI-1 muestran un valor predictivo en los pacientes con sepsis¹². En una amplia serie de sujetos con diferentes grados de sepsis atendidos en unidades de cuidados intensivos (UCI), observamos que el aumento de PAI en la primera semana de estancia en la UCI se asoció de forma significativa con la mortalidad, por lo que el PAI-1 puede constituir un marcador de severidad en estos pacientes y posible diana terapéutica¹².

En la actualidad se asume que existe una relación bidireccional entre inflamación y trombosis. Diversas evidencias documentan un papel de la inflamación en la activación plaquetar, activación de la coagulación mediada por factor tisular, hiperfibrinogenemia, déficit de anticoagulantes naturales y reducción de la actividad fibrinolítica. En nuestro grupo hemos demostrado un aumento de PAI-1 en pacientes con conectivopatías (artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, etc.), que podría contribuir a un estado hipofibrinolítico que favorecería la aparición de trombosis¹³. Finalmente, en pacientes con cáncer observamos un marcado descenso de actividad fibrinolítica relacionada con aumento de PAI-1¹⁴.

Fibrinólisis y trombosis arterial

La formación de un trombo oclusivo a nivel de una placa aterosclerótica vulnerable constituye la base de la trombosis arterial (aterotrombosis), responsable de cuadros como el infarto agudo de miocardio y el ictus isquémico. Diversos componentes del sistema fibrinolítico pueden desempeñar un papel en la trombogénesis en estos pacientes. Estudios pioneros de nuestro grupo demostraron un aumento de PAI-1 a nivel circulante en pacientes con síndromes coronarios y constatación angiográfica de lesión vascular¹⁵. El aumento preoperatorio de PAI-1 también se asoció significativamente con la trombosis postoperatoria en una serie de pacientes sometidos a *bypass* coronario¹⁶. Otros autores también han demostrado que un estado hipofibrinolítico, medido con técnicas globales para estudiar la lisis del coágulo, se asocia con diferentes tipos de trombosis arterial y patología cardiovascular¹⁷. Es interesante señalar que algunos fármacos antiateroscleróticos, como las estatinas, son capaces de mejorar el estatus fibrinolítico de los pacientes con riesgo cardiovascular a través de una reducción de PAI-1¹⁸.

A nivel experimental, en un modelo de ictus en ratones que recibieron t-PA, la ausencia de TAFI no se asoció, como cabía esperar, con un aumento de hemorragia intracraneal, sino con un incremento en la generación de micropartículas circulantes, lo que podría ser reflejo del papel de este inhibidor fibrinolítico en los procesos inflamatorios en el territorio arterial¹⁹.

Sistema de metaloproteasas

Además de la fibrinólisis, existe otro sistema enzimático que puede cooperar en la degradación de la fibrina. Se trata de las metaloproteasas (MMP), cuya función principal es la degradación de la MEC, por lo que se han involucrado en la vulnerabilidad de la placa aterosclerótica, pero también en otros procesos como angiogénesis y cáncer. Existen más de 20 miembros en el ser humano, agrupados en varias familias: colagenasas, estromelinas, gelatinasas y tipo membrana²⁰.

Estudios preliminares de nuestro grupo demostraron que una alteración del balance fibrinólisis/proteólisis puede ser importante en el contexto de la trombosis, como observamos en pacientes con síndromes coronarios²¹. Además, nuestro grupo ha examinado el papel de una estromelina, la MMP-10, en diversas situaciones clínicas. La MMP-10 está producida por el endotelio vascular y otros tipos celulares y degrada colágenos de tipo III y IV. Hemos demostrado que dicha MMP es inducida por estímulos inflamatorios (como proteína C reactiva) y protrombóticos (trombina)^{22,23}, y se encuentra elevada en pacientes con factores de riesgo cardiovascular, enfermedad renal aterosclerótica, ictus isquémico y enfermedad vascular periférica, como reflejo de una patología inflamatoria subyacente²⁴⁻²⁷. En pacientes con enfermedad arterial periférica, los niveles de MMP-10 se asociaron con la severidad de la lesión y mostraron valor predictivo para el desarrollo de complicaciones cardiovasculares mayores, incluida la amputación de la extremidad, así como con la mortalidad por causas vasculares y no vasculares²⁷. También hemos encontrado un aumento de MMP-10 en pacientes con sepsis en relación con la severidad del cuadro y mortalidad, indicando que puede constituir un nuevo biomarcador pronóstico y tal vez una nueva diana terapéutica en estos pacientes²⁸.

El sistema de MMP está regulado a varios niveles, siendo un importante mecanismo de control la existencia de inhibidores específicos (TIMP). En colaboración con investigadores e intensivistas de la Universidad de Tenerife, hemos observado un aumento de TIMP-1 en pacientes con sepsis, así como en sujetos con traumatismo cerebral, asociado a un pronóstico desfavorable, de nuevo indicando que una alteración del equilibrio entre MMP y sus inhibidores específicos puede tener importantes connotaciones fisiopatológicas en diversos contextos clínicos²⁹⁻³¹.

Fibrinólisis y proteólisis cooperan en la degradación de la fibrina

Además de la degradación de la fibrina por plasmina, esta puede ser un importante estímulo para la activación de MMP, lo que supone un mecanismo profibrinolítico adicional. A nivel experimental, hemos demostrado, en un modelo de ictus en ratones, que la MMP-10 es capaz de lisar coágulos de fibrina, limitando el área de infarto, con una eficacia similar o superior a la del activador tisular del plasminógeno (t-PA), que representa la terapia estándar para el tratamiento del ictus en la fase aguda³². Un dato de interés fue que la reducción del tamaño del infarto no conllevó un incremento de complicaciones hemorrágicas, ya que no se observó una mayor incidencia de hemorragia intracraneal, mientras que el tiempo de hemorragia de los ratones tratados con MMP-10 fue significativamente inferior al de aquellos que recibieron t-PA. Los resultados de este estudio abren nuevas perspectivas para el tratamiento fibrinolítico de pacientes con ictus isquémico.

Por otra parte, una activación excesiva del sistema de MMP podría, a través de sus acciones profibrinolíticas, favorecer la aparición de hemorragias, mientras que la inhibición de este sistema podría, teóricamente, prevenir la aparición de dicha complicación. En nuestro grupo hemos diseñado, sintetizado y optimizado un compuesto inhibidor de MMP, preferentemente MMP-3 y MMP-10, que posee propiedades antifibrinolíticas *in vitro* (mejoría del tiempo de lisis en tromboelastografía ROTEM) y un gran potencial para el control de la hemorragia *in vivo*³³. Dicho compuesto, CM-352, fue administrado por vía intravenosa a ratones en los que se produjo un estado profibrinolítico mediante infusión de t-PA, el cual prolongó significativamente el tiempo de hemorragia, y los resultados fueron comparados con antifibrinolíticos de uso clínico, como aprotinina y ácido tranexámico. Se observó que CM-352 consigue una reducción del sangrado superior a la observada con los antifibrinolíticos tradicionales, sin observar aumento de complicaciones trombóticas, lo que indica que es un compuesto eficaz y seguro³³. De acuerdo con este perfil preclínico, el CM-352 representa un agente prometedor para el tratamiento de la hemorragia, sobre todo en aquellas situaciones en la que esta puede ser atribuida a un estado hiperfibrinolítico, como trauma y cirugía.

Conclusiones

El sistema fibrinolítico representa un importante mecanismo de defensa del organismo para evitar el depósito intravascular de fibrina, por lo que un estado hipofibrinolítico, fundamentalmente relacionado con aumento de PAI-1, puede favorecer la aparición de trombosis. El sistema de las MMP coopera con el fibrinolítico

en la degradación de la fibrina, por lo que una alteración en la regulación de este sistema también puede contribuir a la trombogénesis, mientras que una activación excesiva favorecería la aparición de hemorragias. Contemplar la trombosis desde la óptica de la fibrinólisis y la proteólisis va a permitir el desarrollo de nuevas estrategias encaminadas a reducir la principal causa de mortalidad en nuestro medio.

Bibliografía

- Páramo JA, Alfaro MJ, Rocha E. Postoperative changes in the plasminic levels of tissue-type plasminogen activator and its fast-acting inhibitor-relationship to deep vein thrombosis and influence of prophylaxis. *Thromb Haemost* 1985;54:713-6.
- Páramo JA, Arcas R, Herreros J, Cuesta B, Llorens R, Rocha E. Fibrinolysis after heart transplantation. *Thromb Haemost* 1988;59:123.
- Páramo JA, Rifón J, Llorens R, Casares J, Paloma MJ, Rocha E. Intra- and postoperative fibrinolysis in patients undergoing cardiopulmonary bypass surgery. *Haemostasis* 1991;21:58-64.
- Rocha E, Alfaro MJ, Páramo JA, Cañadell JM. Preoperative identification of patients at high risk of deep venous thrombosis despite prophylaxis in total hip replacement. *Thromb Haemost* 1988;59:93-5.
- Meltzer ME, Lisman T, de Groot PG, Meijers JC, le Cessie S, Doggen CJ, et al. Venous thrombosis risk associated with plasma hypofibrinolysis is explained by elevated plasma levels of TAFI and PAI-1. *Blood* 2010;116:113-21.
- Colucci M, Paramo JA, Collen D. Generation in plasma of a fast-acting inhibitor of plasminogen activator in response to endotoxin stimulation. *J Clin Invest* 1985;75:818-24.
- Páramo JA. Coagulación intravascular diseminada. *Med Clin (Barc)* 2006;127:785-9.
- Páramo JA, Fernández Díaz FJ, Rocha E. Plasminogen activator inhibitor activity in bacterial infection. *Thromb Haemost* 1988;59:451-4.
- Páramo JA, Pérez JL, Serrano M, Rocha E. Types 1 and 2 plasminogen activator inhibitor and tumor necrosis factor alpha in patients with sepsis. *Thromb Haemost* 1990;64:3-6.
- Muñoz MC, Montes R, Hermida J, Orbe J, Páramo JA, Rocha E. Effect of the administration of recombinant hirudin and/or tissue-plasminogen activator (t-PA) on endotoxin-induced disseminated intravascular coagulation model in rabbits. *Br J Haematol* 1999;105:117-21.
- Hermida J, Montes R, Muñoz MC, Orbe J, Páramo JA, Rocha E. Effects of low molecular weight heparin, alone or combined with antithrombin III, on mortality, fibrin deposits and hemostatic parameters in endotoxin-induced disseminated intravascular coagulation in rabbits. *Am J Hematol* 1999;60:6-11.
- Lorente L, Martín MM, Borreguero-León JM, Solé-Violán J, Ferreres J, Labarta L, et al. Sustained high plasma plasminogen activator inhibitor-1 levels are associated with severity and mortality in septic patients. *Thromb Res* 2014;134:182-6.
- Jurado M, Páramo JA, Gutiérrez-Pimentel M, Rocha E. Fibrinolytic potential and antiphospholipid antibodies in systemic lupus erythematosus and other connective tissue disorders. *Thromb Haemost* 1992;68:516-20.
- Rocha E, Páramo JA, Fernández FJ, Cuesta B, Hernández M, Paloma MJ, et al. Clotting activation and impairment of fibrinolysis in malignancy. *Thromb Res* 1989;54:699-707.
- Paramo JA, Colucci M, Collen D, van de Werf F. Plasminogen activator inhibitor in the blood of patients with coronary artery disease. *Br Med J* 1985;291:573-4.
- Rifón J, Páramo JA, Panizo C, Montes R, Rocha E. The increase of plasminogen activator inhibitor activity is associated with graft occlusion in patients undergoing aorto-coronary bypass surgery. *Br J Haematol* 1997;99:262-7.
- Gorog DA. Prognostic value of plasma fibrinolysis activation markers in cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol* 2010;55:2701-9.
- Sahebkar A, Catena C, Ray KK, Vallejo-Vaz AJ, Reiner Ž, Sechi LA, et al. Impact of statin therapy on plasma levels of plasminogen activator inhibitor-1. A systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Thromb Haemost* 2016;116:162-71.
- Orbe J, Alexandru N, Roncal C, Belzunce M, Bibiot P, Rodríguez JA, et al. Lack of TAFI increases brain damage and microparticle generation after thrombolytic therapy in ischemic stroke. *Thromb Res* 2015;136:445-50.
- Rodríguez JA, Orbe J, Páramo JA. Metalloproteasas, remodelado vascular y síndromes aterotrombóticos. *Rev Esp Cardiol* 2007;60:959-67.
- Páramo JA, Orbe J, Fernández J. Fibrinolysis/proteolysis balance in stable angina pectoris in relation to angiographic findings. *Thromb Haemost*. 2001;86:636-9.
- Montero I, Orbe J, Varo N, Beloqui O, Monreal JI, Rodríguez JA, et al. C-reactive protein induces matrix metalloproteinase-1 and -10 in human endothelial cells: implications for clinical and subclinical atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 2006;47:1369-78.
- Orbe J, Rodríguez JA, Calvayrac O, Rodríguez-Calvo R, Rodríguez C, Roncal C, et al. Matrix metalloproteinase-10 is upregulated by thrombin in endothelial cells and increased in patients with enhanced thrombin generation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009;29:2109-16.
- Orbe J, Montero I, Rodríguez JA, Beloqui O, Roncal C, Páramo JA. Independent association of matrix metalloproteinase-10, cardiovascular risk factors and subclinical atherosclerosis. *J Thromb Haemost* 2007;5:91-7.
- Coll B, Rodríguez JA, Craver L, Orbe J, Martínez-Alonso M, Ortiz A, et al. Serum levels of matrix metalloproteinase-10 are associated with the severity of atherosclerosis in patients with chronic kidney disease. *Kidney Int* 2010;78:1275-80.
- Rodríguez JA, Sobrino T, Orbe J, Purroy A, Martínez-Vila E, Castillo J, et al. proMetalloproteinase-10 is associated with brain damage and clinical outcome in acute ischemic stroke. *J Thromb Haemost* 2013;11:1464-73.
- Martínez-Aguilar E, Gómez-Rodríguez V, Orbe J, Rodríguez JA, Fernández-Alonso L, Roncal C, et al. Matrix metalloproteinase 10 is associated with disease severity and mortality in patients with peripheral arterial disease. *J Vasc Surg* 2015;61:428-35.
- Lorente L, Martín MM, Labarta L, Díaz C, Solé-Violán J, Blanquer J, et al. Matrix metalloproteinase-9, -10, and tissue inhibitor of matrix metalloproteinases-1 blood levels as biomarkers of severity and mortality in sepsis. *Crit Care* 2009;13:R158.
- Lorente L, Martín MM, Solé-Violán J, Blanquer J, Labarta L, Díaz C, et al. Association of sepsis-related mortality with early increase of TIMP-1/MMP-9 ratio. *PLoS One* 2014;9:e94318.
- Lorente L, Martín MM, López P, Ramos L, Blanquer J, Cáceres JJ, et al. Association between serum tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 levels and mortality in patients with severe brain trauma injury. *PLoS One* 2014;9:e94370.
- Lorente L, Martín MM, Ramos L, Cáceres JJ, Solé-Violán J, Argueso M, et al. Tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 levels are associated with mortality in patients with malignant middle cerebral artery infarction. *BMC Neurol* 2015 11;15:111.
- Orbe J, Barrenetxe J, Rodríguez JA, Vivien D, Orset C, Parks WC, et al. Matrix metalloproteinase-10 effectively reduces infarct size in experimental stroke by enhancing fibrinolysis via a thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor-mediated mechanism. *Circulation* 2011;124:2909-19.
- Orbe J, Rodríguez JA, Sánchez-Arias JA, Salicio A, Belzunce M, Ugarte A, et al. Discovery and safety profiling of a potent preclinical candidate, (4-[4-[(3R)-3-(hydroxycarbonyl)-8-azaspiro[4.5]decan-3-yl]sulfonyl]phenoxy]-N-methylbenzamide) (CM-352), for the prevention and treatment of hemorrhage. *J Med Chem* 2015;58:2941-57.

Ponencias

Nuevas perspectivas en biología plaquetar y endotelial: remodelado vascular

COORDINADORES: A. Moscardó. Instituto Catalán de Ciencias Cardiovasculares. Barcelona
T. Padró. Hospital Universitari i Politèc La Fe. Valencia

En los últimos años se ha puesto en evidencia que tanto el proceso hemostático como el proceso trombótico son resultado de mecanismos complejos y dinámicos en los que desempeña un papel clave la comunicación entre los distintos tipos celulares de la sangre y pared vascular, y en los que intervienen componentes como microvesículas o miRNAs. Además, estas complejas relaciones han sobrepasado el campo de la hemostasia y la trombosis, y han demostrado participar también en procesos como la angiogénesis y el remodelado vascular, todos ellos implicados en la patología cardiovascular y aterotrombótica.

El Dr. Hidalgo hablará sobre las interacciones entre neutrófilos y plaquetas, y cómo esta comunicación puede servir para iniciar el proceso tromboinflamatorio. Una de las proteínas principales en estos procesos es la glicoproteína PSGL-1, molécula capaz de unir plaquetas activadas a través de su receptor P-selectina, lo que conduce a la activación del neutrófilo. Este efecto puede, por una parte, participar en la respuesta inflamatoria y acabar ocasionando daño tisular relacionado con el infarto de miocardio. Pero, por otra, no se puede olvidar que también va a desempeñar un papel fisiológico en el desencadenamiento de la respuesta inmune y la defensa contra patógenos.

Los RNA no codificantes como los microRNA (miRNA) participan en distintos aspectos del funcionamiento del proceso hemostático y trombótico. Un aspecto interesante es la presencia en el plasma de miRNA de distinta procedencia celular, incluyendo una elevada proporción de miRNA de origen plaquetario, lo que como explicará el Dr. Mayr ha sugerido su uso como biomarcadores tanto de activación plaquetaria como del efecto de fármacos antiplaquetarios. Además, nuevos resultados sugieren que los miRNA plaquetarios regulan distintos aspectos de la función plaquetaria, por lo que podrían ser una interesante diana terapéutica para el control del proceso trombótico.

Un viejo conocido del proceso hemostático es el factor tisular (FT), el cual al ser liberado en las zonas de daño vascular es capaz de desencadenar la vía extrínseca de la coagulación sanguínea. Sin embargo, en los últimos años se ha acumulado evidencia que demuestra que el papel del FT va mucho más allá de la hemostasia, y es un participante clave en procesos como la angiogénesis y el remodelado vascular, aspectos que nos mostrará la Dra. Badimon. Especialmente nos hablará sobre los nuevos avances que se han realizado sobre nuestro conocimiento de los complejos mecanismos de señalización celular relacionados con el FT.

La Dra. Carracedo nos hablará de microvesículas extracelulares y más específicamente de las de origen endotelial. Las microvesículas extracelulares, que se pueden encontrar en fluidos corporales como el plasma y la orina, han despertado gran interés de investigadores básicos y clínicos en el área de la trombosis y hemostasia. Inicialmente, se atribuyó a las microvesículas del plasma un papel como biomarcadores, debido a que su liberación por los distintos tipos celulares está influida por el estado celular. Sin embargo, cada vez hay una mayor evidencia científica de su importancia en procesos fisiológicos y fisiopatológicos, como mediadores en la comunicación intercelular y reguladores de la función de tipos celulares distintos a aquel que las liberó, lo cual puede constituir un importante avance en nuestro conocimiento de los mecanismos implicados en la progresión de la enfermedad vascular, y su relación con los procesos tromboinflamatorios.

Neutrófilos y plaquetas, anatomía tridimensional de una asociación peligrosa

A. Hidalgo

Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares. Madrid

Resumen

Los neutrófilos son los principales efectores tempranos de respuesta de defensa contra patógenos u otras agresiones del entorno. Sin embargo, en la clínica su efecto más prominente es el daño a tejidos inflamados que, en ocasiones, puede comprometer la función vascular y causar la muerte. Nuestro trabajo reciente ha demostrado que en su activación patogénica dentro de los vasos ocurre en colaboración con plaquetas activadas circulantes. Espe-

cíficamente, este proceso se coordina mediante un dominio del neutrófilo que protruye hacia el lumen vascular enriquecido en PSGL-1, una glicoproteína que se une a P-selectin y facilita la captura de plaquetas activadas en el torrente sanguíneo. En mi presentación discutiré cómo este proceso inicia procesos inflamatorios del neutrófilo, y sus implicaciones en enfermedades inflamatorias. Ilustraré también cómo este proceso contribuye a la defensa contra infecciones o a la propagación de daño tisular en el contexto de infarto de miocardio.

Factor tisular en angiogénesis y remodelado vascular

L. Badimon, E. Peña, S. Espinosa, G. Arderiu

Cardiovascular Research Center (CSIC-ICCC). Hospital de Sant Pau (UAB) e IIB-Sant Pau. Barcelona

Resumen

El factor tisular (FT) es bien conocido por su papel en la cascada de coagulación. Después de una lesión vascular, el FT:FVIIa activa la vía extrínseca de la coagulación y conduce a la deposición de fibrina y activación plaquetar. La deficiencia de FT causa letalidad embrionaria en ratones y no se ha descrito ningún informe de la existencia de deficiencia de FT en humanos. Estos resultados indican que el FT es esencial para la vida. Además, la expresión aberrante de FT dentro del sistema vascular inicia la trombosis y supone un peligro en diferentes patologías, como la sepsis, la aterosclerosis y el cáncer. Sin embargo, diferentes estudios han revelado el papel no hemostático del FT. Dicha actividad se ha visto que está involucrada en los procesos de señalización celular debido a la función como receptor en la membrana celular que tiene el FT. A través de estos procesos de señalización, el FT participa en numerosos procesos biológicos, incluyendo la inflamación, la angiogénesis, la metástasis y la migración celular. Diversos estudios han avanzado nuestro conocimiento sobre la regulación del FT y a su señalización mediante factores de transcripción, pero todavía se desconocen numerosas vías de regulación que controlan procesos angiogénicos y de remodelado vascular.

Introducción

El FT, clásicamente conocido como tromboplastina, factor III de la coagulación (F3) o antígeno CD142, se trata de una glicoproteína transmembrana de 47 kDa, considerada el principal activador de la vía extrínseca de la cascada de coagulación. Sin embargo, el FT no solamente participa en los procesos de coagulación, sino que además es esencial en procesos de señalización intracelular, migración celular, inflamación y angiogénesis¹.

El FT está compuesto por 263 aminoácidos, agrupados en tres dominios: dominio extracelular, dominio transmembrana y dominio citoplasmático. Dependiendo del proceso de transcripción, el FT puede presentarse en dos isoformas distintas, el FT de longitud completa, conocido por sus siglas en inglés como flTF (*full length tissue factor*), y el FT producto de un *splicing* alternativo o asTF (*alternatively spliced tissue factor*)². Además, el FT también se ha asociado a micropartículas presentes en el torrente sanguíneo (FT⁺-MPs)³. Dependiendo de la forma en la que se presenta el FT, se le atribuyen diferentes funciones.

El FT se expresa constitutivamente en varios tipos celulares que incluyen fibroblastos, pericitos y células epiteliales. Sin embargo, las células en contacto con el torrente sanguíneo, como monocitos, macrófagos, neutrófilos, células endoteliales (CEs)

y células musculares lisas vasculares (CMLVs), entre otras, no expresan FT en condiciones fisiológicas, pero su expresión puede verse inducida en respuesta a varios estímulos⁴.

Las CEs, tras recibir un estímulo pueden sintetizar, expresar y secretar el FT. En este sentido, nuestro grupo ha visto que: la secreción de Wnt5 por parte de monocitos es capaz de interactuar con CEs microvasculares a través de FZD5, activando la vía no canónica que induce la liberación de Ca²⁺ que a su vez activa NFκ-B e induce la expresión de FT en CEs microvasculares⁵.

Las CMMLVs bajo la inducción de determinados factores de crecimiento, agonistas vasoactivos y/o de factores protrombóticos pueden expresar FT⁶. En este sentido, las CVMLs producen FT durante la migración hacia la íntima y de esta manera a su vez estimulan la expresión de FT en las CEs. Las CVMLs tienen una gran plasticidad para llevar a cabo cambios fenotípicos, en este sentido, estudios de nuestro grupo han demostrado que la distribución subcelular del FT se ve claramente modificada en CMLVs en migración⁷ (Figura 1). Al estimular CMLVs quiescentes, el FT se moviliza rápidamente a la superficie celular y se detecta un aumento en la expresión de este. También se ha observado que en la íntima de arterias coronarias ateroscleróticas humanas con lesiones intermedias el FT colocaliza con CMLVs migratorias. La localización del FT es esencial para promover la interacción de este con proteínas de microfilamentos e inducir la reorganización del citoesqueleto y la migración de las CMLVs mediante la vía de los Wnt⁸.

Papel del factor tisular en la angiogénesis y remodelado vascular

El proceso de formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de otros preexistentes se conoce con el nombre de “angiogénesis”. El proceso de la angiogénesis tiene lugar cuando las CEs empiezan a invadir el tejido que las rodea y a proliferar en el ápice del nuevo capilar. La exposición a un gran número de factores proangiogénicos, que actúan coordinadamente, induce a ciertas CEs a degradar la matriz extracelular y a formar diminutas yemas que penetran en el tejido conectivo perivascular. Estas yemas se forman por la migración de CEs y por la proliferación de otras. Ambos procesos, la invasión y la proliferación, se repiten secuencialmente hasta que la nueva red capilar queda completamente establecida. El proceso finaliza con el reclutamiento de pericitos y CMLVs que ayudan a estabilizar los vasos formados, se establece la nueva membrana basal y la matriz extracelular, se estrechan las uniones celulares y se induce de nuevo la quiescencia de los vasos, permitiendo finalmente el paso del flujo sanguíneo⁹.

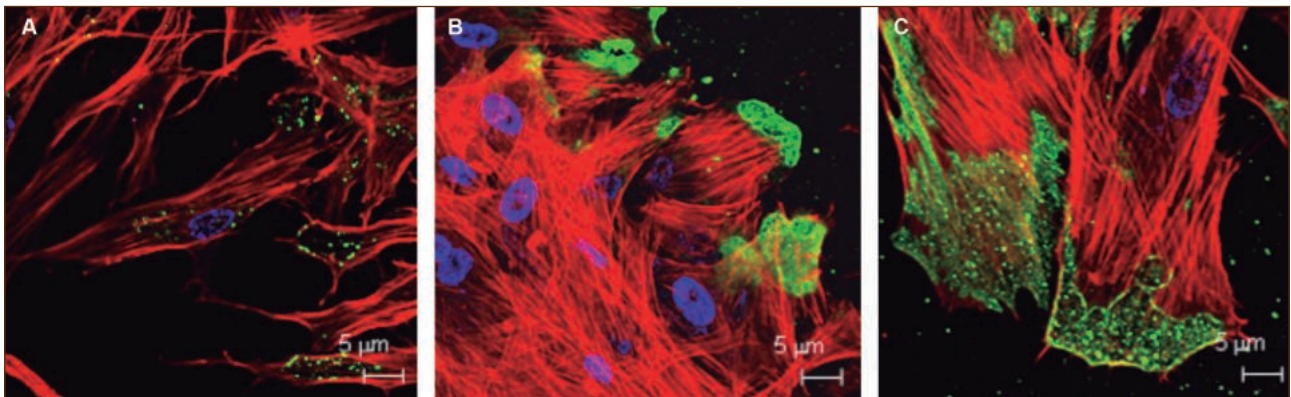


Figura 1. Localización celular del FT en CMLVs quiescentes y migratorias.

Las células se tiñeron con un anticuerpo anti-FT (verde), un anticuerpo anti-faloidina (rojo), que se une a los filamentos de actina del citoesqueleto y Hoechst 33342 (azul), que marca los núcleos. A) CMLVs quiescentes. B y C) CMLVs en migración. El FT se localiza en el frente de migración. Adaptado de Peña, E. et al. 2012..

El proceso de angiogénesis es complejo e implica diversos mecanismos moleculares y celulares bien orquestados tanto a nivel temporal como espacial mediante un refinado equilibrio entre factores proangiogénicos y antiangiogénicos¹⁰. Todos estos procesos están controlados mediante señales entre las CEs y su microambiente, que inducen mecanismos de transducción en la CE y conducen a programas específicos de expresión génica para asegurar una adecuada respuesta angiogénica¹¹. A pesar de los factores proangiogénicos clásicos, como son el VEGF o el bFGF, hemos identificado otros mecanismos de regulación como los inducidos por el FT^{5,12-16}.

En los últimos años, el FT ha sido el foco de atención debido a su participación en eventos no-hemostáticos y patológicos¹⁷. Judah Folkman, un pionero en la investigación de la angiogénesis, fue el primero en establecer una conexión entre coagulación y formación de vasos sanguíneos y propuso que los dos procesos estaban íntimamente entrelazados¹⁸. Posteriormente, se describió que el FT es indispensable para el desarrollo embrionario normal y la ausencia de este conduce a una neovascularización embrionaria defectuosa que conlleva a la muerte del individuo¹⁹. Por otro lado, se ha descrito que las células tumorales a menudo expresan constitutivamente FT²⁰. Las vías de señalización inducidas por la expresión de FT en células tumorales se han relacionado con la progresión tumoral mediante la inducción de genes que promueven la angiogénesis. El papel del FT en los procesos de metástasis parece no solo estar relacionado con los procesos de coagulación que tienen lugar gracias a las interacciones del dominio extracelular del FT, sino también mediante el dominio citoplasmático que puede participar en señalizaciones intracelulares dando al FT un papel de mediador en las señalizaciones de *outside-in*. Estos procesos ocurren inicialmente mediante la proteincinasa C (PKC), que fosforila residuos serina de la cola citoplasmática del receptor del FT. La fosforilación del receptor inicia la cascada de señalización que conduce a la activación transcripcional de diferentes factores proangiogénicos tales como el VEGF. Además, la unión de la *actin-binding protein-280* (ABP-280) a la cola citoplasmática del receptor del FT induce la movilización del citoesqueleto involucrado en la migración celular y facilita la transducción de

múltiples señales involucradas en la angiogénesis tumoral. Por otro lado, la activación de los PARs mediante el complejo FT-FVIIa, induce a la movilización del Ca²⁺ y a la transducción de señales vía MAPK que puede inducir a la transcripción de genes críticos para la proliferación, migración y angiogénesis²¹.

Finalmente, nuestro grupo ha relacionado el FT y la angiogénesis aterosclerótica intraplaca¹⁵ (Figura 2). Hemos descrito que CEs de microvasos dentro del núcleo de una placa aterosclerótica coronaria expresan altos niveles de FT, mientras que CEs situadas en el lumen de la misma placa no lo expresan. El FT de las CEs de microvasos es capaz de inducir señalización a través de AKT-Raf-ERK 1/2 y ETS1 e inducir la formación de capilares por vías independientes de la activación de PAR²³. Lavenburg y colaboradores demostraron que Akt y ETS1 controlan diferentes aspectos de la movilidad celular que son esenciales para la formación de neovasos. El proceso de angiogénesis es complejo y está robustamente controlado por varias vías de señalización. La familia de factores de transcripción ETS mantienen una fuerte implicación en procesos de angiogénesis y de desarrollo vascular²² y controlan procesos biológicos mediante el reconocimiento de un consenso de purinas GGA en la región promotora de sus genes diana. ETS1 es el primer miembro de la familia ETS, se empieza a expresar durante la embriogénesis y ha sido relacionado con la regulación de CCL2 y otras moléculas que controlan la función celular²² y que están implicadas en el balance angiogénico (factores pro angiogénicos y antiangiogénicos), entre ellos VE-Cadherina, VEGF, angiotensina II (Ang-II) y TGFβ. Se ha descrito que ETS1 es capaz de promover el cambio del fenotipo quiescente de las CEs a un fenotipo angiogénico²³. Varios grupos de investigación han destacado el papel de ETS1 en la regulación de CCL2. En este sentido, se ha descrito que ETS1 se une a la región promotora de CCL2 en la inflamación vascular mediada por Ang-II. La Ang-II induce la expresión de CCL2 en CEs y CMLVs en ratones *wild-type* pero no en ratones *knock-out* ETS1^{-/-}. Nosotros hemos observado cómo el FT potencia la unión de ETS1 en la región promotora del gen CCL2 en CEs microvasculares induciendo su expresión y secreción¹⁴. La secreción de CCL2 por parte de estas células induce el

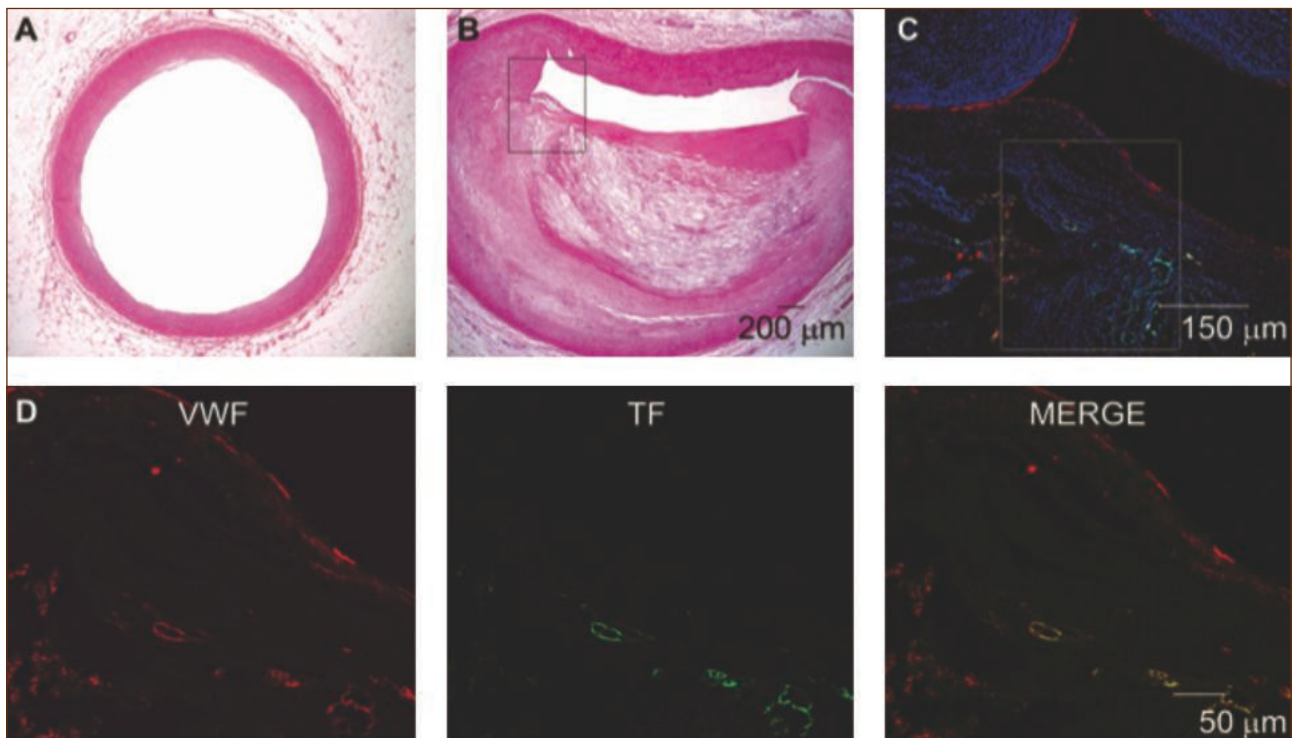


Figura 2. Estudio de inmunolocalización de angiogénesis y de FT en la placa aterosclerótica. Las placas ateroscleróticas avanzadas en arterias coronarias humanas muestran una extensa red de microvasos. A) Arteria coronaria humana normal. Presenta un grosor de la íntima sin alteraciones y no se observan indicios de neovascularización. B) Placa aterosclerótica avanzada en una arteria coronaria humana. C) Magnificación de B. Los microvasos pueden observarse mediante la tinción inmunofluorescente de vWF, que marca las CE (rojo) y Hoescht 33342, que marca los núcleos de las células (azul). D) Doble inmunolocalización de FT (verde), expresado en los microvasos de las lesiones ateroscleróticas, colocalizando con las CE (rojo). Adaptado de Arderiu, G. et al., 2011¹⁵.

reclutamiento de CMLVs a través de su receptor CCR2 y facilita la estabilización de nuevos capilares, formando una red estable y madura de neovasos¹⁵ (Figura 3).

Los procesos angiogénicos están regulados mediante una compleja red de factores de transcripción. ETS1 media la activación de la transcripción de algunos de los genes reguladores del balance angiogénico. Este fenómeno suele implicar sinergismos con otros

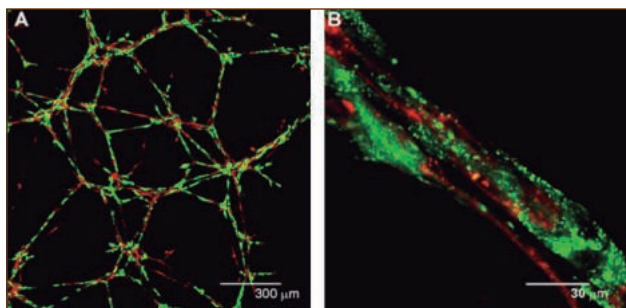


Figura 3. CVML confieren estabilidad a las CE y se sitúan a su alrededor. Co cultivo de CE (rojo) con CVMLs (verde) en un sistema tridimensional durante 18 horas.

factores de transcripción. Se han descrito interacciones entre ETS1 y factores de transcripción como AP-1, la proteína de leucemia mieloide aguda-1 (AML-1), el factor de transcripción E3 (TFE3) y la proteína de especificidad 1 (SP1). Las proteínas SMAD son factores de transcripción que a menudo presentan un sinergismo con otras moléculas reguladoras de procesos celulares. En este sentido, se ha descrito que SMAD3 coopera con ETS1 para regular la expresión proteica de la hormona paratiroidea en células de cáncer de mama. La proteína SMAD3 también se ve alterada por la señalización de FT¹² y comparte con ETS1 la capacidad de cooperar con los factores de transcripción AP-1, AML-1, TFE3 y SP1. A través de la inhibición y la sobreexpresión de ETS1 y SMAD3, y de ensayos de actividad luciferasa del promotor CCL2, hemos identificado la cooperación de los factores de transcripción ETS1 y SMAD3 en la regulación de la expresión génica de CCL2 y en la angiogénesis mediada por FT¹². Viendo que, mientras la vía FT/AKT/ETS1 es independiente de PAR2, la activación de SMAD3 se desencadena a partir de la interacción de FT y PAR2, de forma independiente de Akt1. Esta conclusión está muy relacionada con otros estudios recientes que apuntan que PAR2 activa la vía de SMAD2 por una transactivación de un receptor de TGFβ. Las proteínas SMAD son proteínas intracelulares que transducen señales desde ligandos TGFβ al núcleo, donde activan una cascada de transcripción

de genes; sin embargo, nuestros estudios han demostrado que la inhibición del receptor de TGF β no fue suficiente para inhibir la fosforilación de SMAD3 estimulada por FT y PAR2. Ahora bien, existen evidencias de que algunos mediadores independientes de TGF β , tales como las MAPK, pueden activar SMAD2. La señalización por MAPK puede estar mediada por PCK α . Nosotros observamos que la vía de activación de SMAD3, que tiene lugar a través de la señalización de FT/PAR2, está mediada por PKC α . Acorde con nuestros resultados, se ha descrito que la señalización de SMAD3 se da a través de PKC en fibroblastos. Finalmente, mediante ensayos *in vivo* con CEs silenciadas de ETS1, SMAD3 y PAR2 estudiamos la funcionalidad que desarrollan estas dos rutas de señalización en la angiogénesis. Mientras que el silenciamiento de ETS1 daba lugar a una formación de vasos deficiente, sugiriendo que la vía de FT/Akt/ETS1 está involucrada en el desencadenamiento de formación de estructuras tubulares, el silenciamiento de SMAD3 y de PAR2 dio lugar a una angiogénesis activa, pero con vasos inestables que provocaron hemorragias, lo que sugiere que la vía de FT/PAR2/SMAD3 contribuye a que los vasos formados sean estables. En definitiva, la señalización de la angiogénesis a través de FT tiene una regulación cruzada. Nosotros hemos descrito dos vías de señalización desencadenadas por FT que dan lugar a angiogénesis. La primera, FT/Akt/ETS1, activa la creación de nuevos vasos sanguíneos; y la segunda, FT/PAR2/SMAD3, permite que los vasos sean estables. Por último, la combinación de las dos produce grandes cantidades de CCL2 que recluyen CVMLs y pericitos y ayudan a estabilizar los nuevos vasos.

En cuanto a la forma soluble aTF, también ha sido relacionada con el crecimiento tumoral y la angiogénesis; sin embargo, esta forma no interacciona con PAR2, sino con las integrinas $\alpha_6\beta_3$ y $\alpha_6\beta_1$ para inducir angiogénesis²⁴.

A pesar de todos los avances conseguidos con relación a la regulación de FT y a su señalización mediante factores de transcripción, existen vías todavía no identificadas en la señalización de FT relacionadas con los procesos angiogénicos.

Bibliografía

- Kocaturk B, Versteeg HH. Tissue factor-integrin interactions in cancer and thrombosis: Every jack has his jill. *Journal of thrombosis and haemostasis: JTH* 2013;11(Suppl 1):285-93.
- Bogdanov VY, Balasubramanian V, Hathcock J, Vele O, Lieb M, Nemerson Y. Alternatively spliced human tissue factor: A circulating, soluble, thrombogenic protein. *Nature medicine* 2003;9:458-62.
- Nieuwland R, Berckmans RJ, McGregor S, Boing AN, Romijn FP, Westendorp RG, et al. Cellular origin and procoagulant properties of microparticles in meningococcal sepsis. *Blood* 2000;95:930-5.
- Bevilacqua MP, Pober JS, Majeau GR, Fiers W, Cotran RS, Gimbrone MA, Jr. Recombinant tumor necrosis factor induces procoagulant activity in cultured human vascular endothelium: Characterization and comparison with the actions of interleukin 1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1986;83:4533-7.
- Arderiu G, Espinosa S, Pena E, Aledo R, Badimon L. Monocyte-secreted wnt5a interacts with fzd5 in microvascular endothelial cells and induces angiogenesis through tissue factor signaling. *Journal of molecular cell biology* 2014;6:380-93.
- Camino-López S, Badimon L, González A, Canals D, Pena E, Llorente-Cortés V. Aggregated low density lipoprotein induces tissue factor by inhibiting sphingomyelinase activity in human vascular smooth muscle cells. *Journal of thrombosis and haemostasis: JTH* 2009;7:2137-46.
- Pena E, Arderiu G, Badimon L. Subcellular localization of tissue factor and human coronary artery smooth muscle cell migration. *Journal of thrombosis and haemostasis: JTH* 2012;10:2373-82.
- Pena E, Arderiu G, Badimon L. Tissue factor induces human coronary artery smooth muscle cell motility through wnt-signalling. *Journal of thrombosis and haemostasis: JTH* 2013;11:1880-91.
- Carmeliet P. Angiogenesis in health and disease. *Nature medicine* 2003;9:653-60.
- Yancopoulos GD, Davis S, Gale NW, Rudge JS, Wiegand SJ, Holash J. Vascular-specific growth factors and blood vessel formation. *Nature* 2000;407:242-8.
- Adams RH, Alitalo K. Molecular regulation of angiogenesis and lymphangiogenesis. *Nature reviews. Molecular cell biology* 2007;8:464-78.
- Arderiu G, Espinosa S, Pena E, Aledo R, Badimon L. Par2-smad3 in microvascular endothelial cells is indispensable for vascular stability via tissue factor signaling. *Journal of molecular cell biology* 2015.
- Arderiu G, Pena E, Aledo R, Badimon L. Tissue factor-akt signaling triggers microvessel formation. *Journal of thrombosis and haemostasis: JTH* 2012;10:1895-905.
- Arderiu G, Pena E, Aledo R, Espinosa S, Badimon L. Ets-1 transcription is required in tissue factor driven microvessel formation and stabilization. *Angiogenesis* 2012;15:657-69.
- Arderiu G, Pena E, Aledo R, Juan-Babot O, Badimon L. Tissue factor regulates microvessel formation and stabilization by induction of chemokine (c-c motif) ligand 2 expression. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 2011;31:2607-15.
- Arderiu G, Pena E, Badimon L. Angiogenic microvascular endothelial cells release microparticles rich in tissue factor that promotes postischemic collateral vessel formation. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 2015;35:348-57.
- Mackman N, Davis GE. Blood coagulation and blood vessel development: Is tissue factor the missing link? *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2012;31:2364-2366
- Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. *Nature medicine* 1995;1:27-31.
- Carmeliet P, Mackman N, Moons L, Luther T, Gressens P, Van Vlaenderen I, et al. Role of tissue factor in embryonic blood vessel development. *Nature* 1996;383:73-5.
- Rickles FR, Shoji M, Abe K. The role of the hemostatic system in tumor growth, metastasis, and angiogenesis: Tissue factor is a bifunctional molecule capable of inducing both fibrin deposition and angiogenesis in cancer. *Int J Hematol* 2001;73:145-50.
- Ruf W, Disse J, Carneiro-Lobo TC, Yokota N, Schaffner F. Tissue factor and cell signalling in cancer progression and thrombosis. *Journal of thrombosis and haemostasis: JTH*;9(Suppl 1):306-15.
- Sato Y. Role of ets family transcription factors in vascular development and angiogenesis. *Cell structure and function* 2001;26:19-24.
- Sato Y, Abe M, Tanaka K, Iwasaka C, Oda N, Kanno S, et al. Oikawa M, Nakano T, Igarashi T. Signal transduction and transcriptional regulation of angiogenesis. *Advances in experimental medicine and biology* 2000;476:109-15.
- Van den Berg YW, van den Hengel LG, Myers HR, Ayachi O, Jordano-va E, Ruf W, et al. Alternatively spliced tissue factor induces angiogenesis through integrin ligation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2009;106:19497-502.

Micropartículas endoteliales: papel modulador de la función vascular

J. Carracedo Añón^{1,2,3}, A. Carmona Muñoz^{1,3}, F. Guerrero Pavón^{1,3}, P. Buendía Bello^{1,3}, P. Aljama García^{1,2,3}, R. Ramírez Chamond^{3,4}

¹Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (IMIBIC)/ Hospital Universitario Reina Sofía/Universidad de Córdoba. Córdoba. ²Unidad de Gestión Clínica de Nefrología. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba. ³RETICs Red Renal. Instituto de Salud Carlos III. Madrid. ⁴Departamento de Biología de Sistemas. Universidad de Alcalá de Henares. Alcalá de Henares. Madrid

Introducción

Las células endoteliales presentan una superficie no adherente y anticoagulante en relación con el flujo de sangre circulante; la lesión de estas células endoteliales puede provocar un aumento de la adhesión celular y la iniciación de la coagulación con el consiguiente desarrollo de inflamación y trombosis¹. La alteración del endotelio se ha considerado como el primer estadio para el desarrollo de la enfermedad vascular². En consecuencia, la detección de la alteración morfológica o funcional de la célula endotelial resulta fundamental para el diagnóstico precoz y la intervención profiláctica en muchas situaciones protrombóticas y proarterioscleróticas. Sin embargo, controlar el estado del endotelio resulta difícil debido a su inaccesibilidad; esta situación ha mejorado en los últimos años porque se ha demostrado que las células endoteliales pueden liberar microvesículas (MV), llamadas también micropartículas, con características que reflejan el estado de la célula que las originó³.

Este trabajo tiene como objetivo actualizar los conocimientos acerca del papel fisiológico principal de las microvesículas endoteliales (MVE) como reguladoras de la función vascular y su papel en el desarrollo de enfermedad vascular.

Definición, nomenclatura y clasificación de las MVE

Las MVE son vesículas extracelulares producidas por las células del endotelio cuyo papel fundamental es servir como sistema de señalización entre los elementos que participan en la función y la homeostasis del vaso³. Recientemente se ha recomendado utilizar el término genérico “vesículas extracelulares” para todos los tipos de vesículas que se encuentran en el espacio extracelular⁴. En general, las vesículas extracelulares se pueden encontrar en muchos fluidos corporales, incluidos el plasma y la orina; tienen un tamaño variable entre 0,05 a 5 mm³, e intervienen en procesos fisiológicos y fisiopatológicos participando como mediadores en la comunicación intercelular. Pueden actuar sobre las células diana directamente uniéndose a ligandos, receptores de superficie y/o enzimas asociadas a la membrana, entregando o liberando su contenido directamente al citoplasma.

Las vesículas extracelulares se encuentran elevadas en pacientes con enfermedades vasculares, metabólicas, pulmonares, autoinmunes, neurodegenerativas, en la inflamación crónica y en el cáncer⁵. La utilización de vesículas extracelulares como marcadores para la predicción, diagnóstico, pronóstico y monitorización de terapias de enfermedades complejas resulta cada vez más atractiva, así como su potencial para identificar nuevas dianas terapéuticas⁶.

Dentro de las vesículas extracelulares se incluyen los exosomas, las MV o micropartículas y los cuerpos apoptóticos, que son producidos por diferentes mecanismos⁷. Las MV son una población heterogénea de hasta 2 mm de diámetro que se forman a partir de la membrana celular en un proceso activo regulado dependiente de la actividad enzimática y el calcio. El proceso de identificación y separación de las vesículas extracelulares ofrece una gran dificultad debido a su gran variabilidad.

Papel de las MVE en la función/difunción vascular

En ausencia de patología, las MVE intervienen en el mantenimiento de la homeostasis vascular, participando en el metabolismo del entorno vascular⁸. Las MVE son capaces de actuar sobre la pared vascular a nivel endotelial y sobre células del músculo liso⁹, regulando tanto la reactividad vasomotora como la angiogénesis. De hecho, la formación de MVE y su eliminación parece reflejar un equilibrio entre la activación y el daño celular, la supervivencia celular y la apoptosis, y la angiogénesis. Las respuestas del endotelio pueden ser inmediatas, liberando varios factores, o bien retardadas, modulando la expresión de genes implicados en la regulación de la estructura y función del sistema vascular.

En modelos *in vitro*, los cultivos de células endoteliales producen MVE en un porcentaje muy bajo sin necesidad de un estímulo adicional. Sin embargo, en respuesta a procesos de activación y/o apoptosis, el número de MVE se incrementa de forma significativa. Varios autores hemos comprobado cómo las células endoteliales maduras procedentes de cultivos expuestas a la activación por citocinas liberan un mayor número de MVE^{10,11}.

Por otro lado, la concentración de MVE en la sangre de sujetos sanos es clínicamente irrelevante. Sin embargo, en pacientes con factores de riesgo cardiovascular y después de que se produzcan eventos cardiovasculares, las concentraciones de MVE se incrementan de forma significativa^{12,13}. De hecho, en los pacientes con patología cardiovascular se ha demostrado una asociación entre el número de MVE circulantes y la puntuación de riesgo de Framingham, clásicamente utilizada para predecir el riesgo de morbimortalidad cardiovascular⁵. En particular, los niveles elevados de MVE en enfermedades asociadas con la lesión vascular, parecen reflejar un proceso inflamatorio y protrombótico. Las MVE pueden participar en el desarrollo y la amplificación de las enfermedades cardiovasculares actuando tanto sobre las células cardíacas como vasculares. Por otro lado, numerosos estudios han destacado el efecto de medicamentos cardioprotectores sobre la reducción de las concentraciones de vesículas extracelulares⁶, lo cual refuerza las evidencias sobre la posible relación de las MVE con la lesión vascular.

Funciones de las MVE

Las MVE, y en general todas las vesículas extracelulares, transportan una carga determinada que son capaces de entregar a otras células incluso en ubicaciones remotas. Las vesículas extracelulares comparten características con sus células parentales tales como receptores de superficie, proteínas integrales de membrana, moléculas citosólicas, orgánulos, mRNAs, microARNs (miARNs), o pequeñas cantidades de ADN y proteínas, incluyendo factores de transcripción, citocinas y factores de crecimiento¹⁴. Los receptores celulares y las proteínas transmembrana de superficie pueden ayudar en la identificación de las MVE y además son indicativos de la capacidad para interactuar directamente con receptores de la superficie de células diana, dando como resultado una transmisión de señales intracelulares. Además de su efecto sobre receptores específicos, se ha demostrado que las MVE se pueden fusionar con la célula diana y transferir su contenido directamente al interior.

Las vesículas extracelulares son consideradas como la principal fuente de miRNAs liberados a la circulación durante la activación celular o apoptosis¹⁵. De hecho, la mayoría de los miRNAs se asocian con vesículas extracelulares y solo pequeñas cantidades de ellos se pueden encontrar libres en el plasma. Se piensa que las vesículas extracelulares son necesarias para proteger a los miRNAs circulantes de la degradación por ARNasas en sangre, transfiriendo de forma “segura” miRNAs funcionales desde las células parentales a las células receptoras. Los miRNAs actúan como moléculas reguladoras en células endoteliales, células de músculo liso vascular, plaquetas y células inflamatorias que contribuyen modulando la iniciación y progresión de la aterosclerosis. Se sabe que la liberación de miARNs no ocurre de manera aleatoria, sino que se producen y liberan mediante mecanismos controlados. Se han descrito varios miARNs implicados en la regulación de la función y reparación vascular, y es previsible que en un futuro, el mejor conocimiento sobre estas moléculas aporte nuevas opciones tanto en el diagnóstico como en las opciones terapéuticas de la patología vascular.

Papel de las MVE sobre los procesos vasculares

MVE y estrés oxidativo

Las MV procedentes de diversos orígenes como las células endoteliales, monocitos y linfocitos son capaces de promover el estrés oxidativo en el endotelio a través de procesos que pueden implicar varios sistemas enzimáticos¹⁶. Las MV tienen capacidad para regular la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), aunque existen ciertas discrepancias con respecto a los sistemas de generación de ROS afectados. Estos resultados contradictorios pueden deberse a que las poblaciones de MV estudiadas son de diferente origen o se han producido frente a diferentes estímulos. Desde el punto de vista biológico, estas diferencias en la producción de MV tienen un interés potencial muy relevante para poder definir poblaciones de MV con diferentes actividades biológicas.

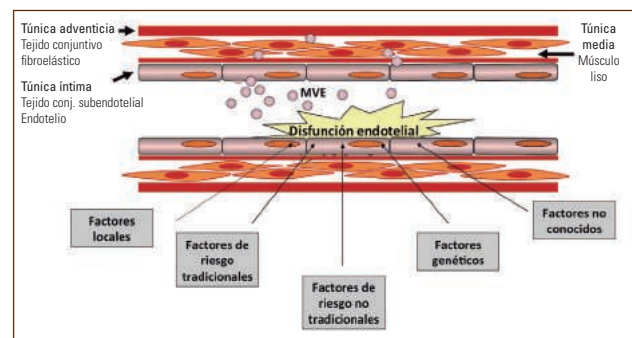


Figura 1. El endotelio vascular es una capa unicelular que cubre la superficie interna de los vasos. Supone una barrera mecánica entre la sangre y los tejidos y actúa en una gran variedad de procesos fisiológicos y patológicos. Debido a su ubicación estratégica detecta cambios hemodinámicos y químicos que actúan sobre la pared y responde a ellos liberando elementos, entre los que se incluyen microvesículas endoteliales (MVE), con funciones destinadas a mantener la integridad y la hemostasia vascular. Hay numerosos factores que pueden alterar el equilibrio del vaso y producir la disfunción del endotelio.

Coagulación

Una de las propiedades mejor establecida para las MV es su capacidad para promover la coagulación⁹. De hecho, las MV se encuentran elevadas en trastornos hipercoagulativos probablemente como resultado de su participación activa⁹. No está claro hasta qué punto las MV contribuyen a la coagulación *in vivo*; pero se han realizado varios estudios *in vitro* que muestran su papel procoagulante. Aunque esta capacidad ha sido ampliamente estudiada en MV derivadas de plaquetas, lo cierto es que las MV en general poseen dos características físicas específicas y comunes que pueden ser responsables de esta actividad procoagulante: la externalización de la fosfatidilserina como promotor de coagulación; y en segundo lugar, la expresión del factor tisular, que es un componente crítico de las primeras etapas de la coagulación. De hecho, el factor tisular no se expresa en condiciones fisiológicas en las células circulantes y células endoteliales, pero sí en condiciones patológicas.

MVE y su relación con la inflamación y la aterosclerosis

La inflamación crónica es un factor clave para el desarrollo de aterosclerosis y los efectos de MVE en procesos inflamatorios han sido objeto de numerosos estudios, ya que podrían representar tanto una causa como una consecuencia de la inflamación¹⁷. Las MV aisladas de placas ateroscleróticas humanas pueden transferir ICAM-1 a las células endoteliales incrementando la capacidad para reclutar células inflamatorias de una manera dependiente de fosfatidilserina, lo que podría aumentar la progresión de la placa aterosclerótica. La evidencia más concluyente de un papel proinflamatorio para las MVE se encuentra en que la administración exógena de MVE a ratas se asocia con lesiones pulmonares agudas, con un aumento de los niveles sistémicos y alveolares de cito-

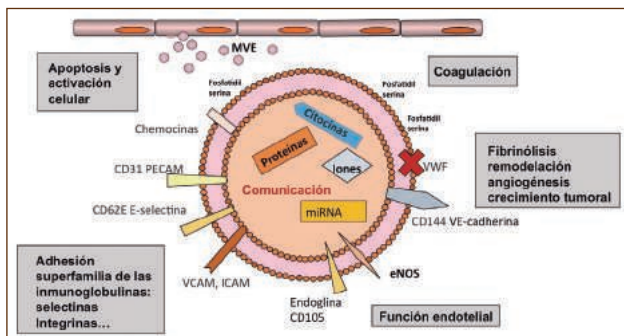


Figura 2. Las microvesículas endoteliales (MVE) se originan a partir del endotelio y comparten con las células que las originan características y moléculas de membrana. Contienen diversas moléculas como proteínas y microRNA que pueden ser transportadas y entregadas de forma segura incluso en ubicaciones remotas, actuando como sistemas de señalización.

quinas proinflamatorias (IL-1 β y TNF- α), infiltración de neutrófilos en el espacio perivasculare y lesión histológica.

Angiogénesis

Diferentes estudios han descrito un papel de las MV en la regulación de la angiogénesis¹⁸. Las MV derivadas de plaquetas fueron las primeras implicadas en el proceso de angiogénesis, ya que las plaquetas contienen al menos 20 factores de regulación de la angiogénesis. Las MV de plaquetas estimulan la proliferación, supervivencia, migración y formación de estructuras similares a capilares en las células endoteliales *in vitro*. Además, la inyección de MV derivadas de plaquetas aumenta la densidad capilar post-quirúrgica miocárdica en ratas. Estudios posteriores han revelado que las MV aisladas de las placas ateroscleróticas intervienen en la formación de neovasos y en la progresión de las placas hacia su rotura. Las células endoteliales en cultivo liberan MV que contienen metaloproteinasas de matriz (MMP-2 y MMP-9), que promueven la degradación de la matriz y la formación de nuevos vasos sanguíneos.

Apoptosis

Además de ser un potente estímulo para la formación de MV, la apoptosis también puede ser una consecuencia de la señalización de MV¹⁸. Las MV derivadas de monocitos, eritrocitos, células endoteliales y plaquetas contienen caspasa 3. Se piensa que el contenido de caspasas puede ser un mecanismo dirigido al control de la apoptosis, y se sugiere que las MV liberarían la caspasa 3 en las células diana, participando en la inducción de apoptosis. Además de la muerte celular, la caspasa 3 está implicada en numerosos procesos celulares, por lo que la liberación de caspasa puede tener un impacto todavía mayor sobre la célula diana.

Matriz extracelular

Las MV contienen enzimas proteolíticas, por lo que algunos de sus efectos podrían atribuirse a alteraciones en la matriz extra-

celular o la escisión proteolítica de moléculas de señalización. Por ejemplo, las MVE de la microvasculatura contienen MMP1, MMP2, MMP7 y MMP13, que degradan la fibronectina *in vitro*. Además, las MV aisladas de placas ateroscleróticas humanas contienen una forma activa de ADAM17 (metaloproteidasa dominio 17), una enzima con un importante papel en el control de la inflamación y regeneración de tejidos. Esta enzima podría contribuir al desarrollo de alteraciones mediadas por MV en el entorno extracelular y la liberación de citoquinas.

Regeneración vascular

Inicialmente, la proliferación y migración de células endoteliales adyacentes se habían identificado como un factor de reparación endotelial; estudios posteriores describen un mecanismo para el mantenimiento de la estructura endotelial que se asocia con la capacidad de células progenitoras endoteliales circulantes (EPC) para diferenciar y reparar el tejido endotelial dañado. Debido a la importancia de este mecanismo de reparación daño-endotelial en el mantenimiento de la homeostasis vascular, es lógico pensar en la existencia de una estrecha comunicación entre las células endoteliales dañadas y las EPC. Estudios previos realizados por nuestro grupo indican que las MVE de plasma, tanto en sujetos sanos como en pacientes con enfermedad renal crónica, participan sobre la actividad de las EPC¹³. De hecho, la hipótesis que se plantea es que las MVE pueden ser un importante y necesario mecanismo fisiológico de señalización para iniciar el reclutamiento de células reparadoras de endotelio desde la médula ósea. En modelos *in vitro* hemos demostrado que las EMV pueden ser un elemento clave en la regeneración y mantenimiento de la homeostasis vascular actuando sobre células EPCs¹⁹.

MVE y calcificación vascular

La calcificación vascular es un proceso cada vez más frecuente en los países desarrollados y puede contribuir de manera importante a un incremento del riesgo cardiovascular. Los procesos y mecanismos que participan en la formación de calcificaciones vasculares son poco conocidos y es necesario desarrollar nuevas estrategias terapéuticas para prevenir o revertir la calcificación. Los pacientes con enfermedad renal crónica (ERC) tienen una mayor frecuencia de calcificación vascular, y hemos demostrado que las MVE se encuentran incrementadas en pacientes con un mayor grado de calcificación¹³. Además, en estudios *in vitro*, las MVE producidas en un entorno inflamatorio o que proceden de pacientes con ERC promueven la calcificación de células de músculo liso *in vitro*¹⁰. Otros autores también han descrito un papel de las MV en la mineralización de células de músculo liso vascular²⁰.

Conclusiones y perspectivas

Las MVE se consideran actualmente biomarcadores de la lesión endotelial y se asocian con un estado inflamatorio o pro-trombótico. Sin embargo, las perspectivas se extienden más allá de su papel como biomarcadores, ya que los estudios realizados en MVE implican a estos elementos en una diversidad de eventos celulares transmitiendo información biológica en numerosos pro-

cesos fisiológicos y fisiopatológicos. Sin embargo, todavía quedan numerosas cuestiones por resolver en conocimiento de las MVE. Es necesario normalizar la metodología, optimizando y validando los sistemas de identificación y enumeración, para poder usarlas en el diagnóstico clínico. Además, la mejor caracterización de las MVE y el conocimiento de los procesos y rutas que intervienen en su producción y liberación son necesarios para poder intervenir sobre ellas a nivel terapéutico.

Becas y ayudas

Plan Nacional de I+D+i Proyectos de Investigación en Salud del Instituto de Salud Carlos III (ISCIII)-Subdirección General de Evaluación, Fondos de desarrollo regional (FEDER) (PI12/01489, PI15/01785); Junta de Andalucía (P11-CTS-7352).

Bibliografía

- Jimenez JJ, Jy W, Mauro LM, Soderland C, Horstman LL, Ahn YS. Endothelial cells release phenotypically and quantitatively distinct microparticles in activation and apoptosis. *Thrombosis research* 2003;15;109(4):175-80. PubMed PMID: 12757771.
- Ross R, Glomset JA. The pathogenesis of atherosclerosis (first of two parts). *The New England journal of medicine*;1976; 12;295(7):369-77. PubMed PMID: 819830.
- Minciocchi VR, Freeman MR, Di Vizio D. Extracellular vesicles in cancer: exosomes, microvesicles and the emerging role of large oncosomes. *Seminars in cell & developmental biology*. 2015;40:41-51. PubMed PMID: 25721812. Pubmed Central PMCID: 4747631.
- Lotvall J, Hill AF, Hochberg F, Buzas EI, Di Vizio D, Gardiner C, et al. Minimal experimental requirements for definition of extracellular vesicles and their functions: a position statement from the International Society for Extracellular Vesicles. *Journal of extracellular vesicles* 2014;3:26913. PubMed PMID: 25536934. Pubmed Central PMCID: 4275645.
- Amabile N, Cheng S, Renard JM, Larson MG, Ghorbani A, McCabe E, et al. Association of circulating endothelial microparticles with cardiometabolic risk factors in the Framingham Heart Study. *European heart journal* 2014;7;35(42):2972-9. PubMed PMID: 24742886. Pubmed Central PMCID: 4223610.
- Yin M, Loyer X, Boulanger CM. Extracellular vesicles as new pharmacological targets to treat atherosclerosis. *European journal of pharmacology* 2015;15;763(Pt A):90-103. PubMed PMID: 26142082.
- Colombo M, Raposo G, Thery C. Biogenesis, secretion, and intercellular interactions of exosomes and other extracellular vesicles. *Annual review of cell and developmental biology* 2014;30:255-89. PubMed PMID: 25288114.
- Gaceb A, Martínez MC, Andriantsitohaina R. Extracellular vesicles: new players in cardiovascular diseases. *The international journal of biochemistry & cell biology* 2014;50:24-8. PubMed PMID: 24509128.
- Meziani F, Tesse A, Andriantsitohaina R. Microparticles are vectors of paradoxical information in vascular cells including the endothelium: role in health and diseases. *Pharmacological reports: PR* 2008;60(1):75-84. PubMed PMID: 18276988.
- Buendía P, Montes de Oca A, Madueno JA, Merino A, Martín-Malo A, Aljama P, et al. Endothelial microparticles mediate inflammation-induced vascular calcification. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 2015;29(1):173-81. PubMed PMID: 25342130.
- Fernández-Martínez AB, Torija AV, Carracedo J, Ramírez R, de Lucio-Cazana FJ. Microparticles released by vascular endothelial cells increase hypoxia inducible factor expression in human proximal tubular HK-2 cells. *The international journal of biochemistry & cell biology* 2014;53:334-42. PubMed PMID: 24878611.
- Noci MV, Ramírez R, Lluch M, Rodríguez M, Carracedo J. Changes in endothelial microparticles and endothelial progenitor cells in obese patients in response to surgical stress. *The Journal of bone and joint surgery American volume* 2015;4;97(5):353-8. PubMed PMID: 25740024.
- Soriano S, Carmona A, Trivino F, Rodríguez M, Álvarez-Benito M, Martín-Malo A, et al. Endothelial damage and vascular calcification in patients with chronic kidney disease. *American journal of physiology Renal physiology* 2014;1;307(11):F1302-11. PubMed PMID: 25339701.
- Moldovan L, Batte K, Wang Y, Wisler J, Piper M. Analyzing the circulating microRNAs in exosomes/extracellular vesicles from serum or plasma by qRT-PCR. *Methods in molecular biology* 2013;1024:129-45. PubMed PMID: 23719947. Pubmed Central PMCID: 3923604.
- Menghini R, Stohr R, Federici M. MicroRNAs in vascular aging and atherosclerosis. *Ageing research reviews* 2014;17:68-78. PubMed PMID: 24681293.
- Brodsky SV, Zhang F, Nasjletti A, Goligorsky MS. Endothelium-derived microparticles impair endothelial function in vitro. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology* 2004;286(5):H1910-5. PubMed PMID: 15072974.
- Schiro A, Wilkinson FL, Weston R, Smyth JV, Serracino-Inglott F, Alexander MY. Endothelial microparticles as conveyors of information in atherosclerotic disease. *Atherosclerosis*. 2014;234(2):295-302. PubMed PMID: 24721189.
- Burger D, Schock S, Thompson CS, Montezano AC, Hakim AM, Touyz RM. Microparticles: biomarkers and beyond. *Clinical science* 2013;124(7):423-41. PubMed PMID: 23249271.
- Luna C, Carmona A, Alique M, Carracedo J, Ramírez R. TNF α -Damaged-HUVECs Microparticles Modify Endothelial Progenitor Cell Functional Activity. *Frontiers in physiology* 2015;6:395. PubMed PMID: 26733886. Pubmed Central PMCID: 4686689.
- Kapustin AN, Davies JD, Reynolds JL, McNair R, Jones GT, Sidibe A, et al. Calcium regulates key components of vascular smooth muscle cell-derived matrix vesicles to enhance mineralization. *Circulation research* 2011;24;109(1):e1-12. PubMed PMID: 21566214.

Trombosis y hemostasia en 2016. Hitos y avances en los últimos 10 años

COORDINADORES: R. Forastiero. Universidad Favaloro. Buenos Aires, Argentina
V. Roldán. Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia, España

El área de hemostasia y trombosis ha tenido muchos avances en los últimos años y esto se debe al mayor conocimiento adquirido por las nuevas metodologías de avanzada, los estudios genéticos y moleculares y también por la investigación en mayor escala de modelos animales que reproducen las patologías humanas tanto con tendencia trombótica como hemorrágica. En este simposio se presentan algunas de las áreas donde se han evidenciado grandes avances en la última década.

La Dra. Altisent mostrará las novedades en coagulopatías congénitas. Tanto en hemofilia como en enfermedad de von Willebrand la disponibilidad de sistemas automatizados y la identificación de las anomalías genéticas subyacentes han contribuido significativamente. Los registros de gran número de pacientes y los estudios epidemiológicos han permitido identificar las características clínicas de estos pacientes, clasificarlos según el fenotipo hemorrágico, y otros conceptos de gran utilidad en todas las coagulopatías, incluyendo aquellas de menor incidencia. Los tratamientos profilácticos y terapéuticos han mejorado mucho últimamente para permitir una mejor calidad de vida de los individuos con estas coagulopatías. Los estudios genéticos también permiten conocer el riesgo del desarrollo de inhibidores específicos. Los ensayos de terapia génica además han sido importantes, aunque su eficacia muestra algunas dificultades.

La Dra. Lozano disertará sobre los avances en patología plaquetaria durante los últimos años en diagnóstico de alteraciones congénitas de las plaquetas, tratamiento de la trombopenia inmune primaria (PTI), difusión del empleo de plasma rico en plaquetas en patología ortopédica, terapia antiplaquetaria y avances en terapia celular empleando megacariocitos y plaquetas procedentes de células *stem*. Las técnicas de secuenciación han permitido el descubrimiento de múltiples genes implicados en la producción y función de plaquetas. La combinación de técnicas bioquímicas, junto con tecnología molecular, sigue siendo esencial. El uso clínico de ciertos agonistas del receptor de trombopoyetina ha producido un cambio extraordinario en el manejo de pacientes adultos con PTI. Aunque el empleo de terapias celulares con megacariocitos y plaquetas procedentes de células *stem* abre muchas posibilidades terapéuticas, se espera aún un mayor conocimiento para su potencial aplicación en diferentes escenarios clínicos.

El Dr. Corral presentará el avance en el conocimiento de las alteraciones genéticas que predisponen a la trombosis en los últimos años. Asimismo, las actuales limitaciones de las pruebas de trombofilia en el diagnóstico de las deficiencias severas y más aún en las moderadas que pueden tener relevancia clínica. Remarcara además los factores genéticos protectores de trombosis, que también deben estudiarse con el objetivo de definir en forma personalizada el riesgo de trombosis.

El Dr. Forastiero presentará avances en el estudio del síndrome antifosfolípido. Los tipos de anticuerpos antifosfolípidos (aFL) y el perfil de positividad de los aFL son importantes en el riesgo clínico de los pacientes. La incorporación de nuevos ensayos para los aFL, al menos en estudios clínicos en curso, permitirá conocer qué perfil de aFL es el de mayor riesgo clínico y eso tendrá gran influencia en las decisiones terapéuticas necesarias para el mejor manejo clínico de los pacientes con aFL.

Avances en coagulopatías congénitas

C. Altisent

Unitat d'Hemofília. Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona

Desde las primeras descripciones de la hemostasia realizadas por Morawitz, a principios del siglo XX, han sido muchos los conocimientos adquiridos sobre este complejo sistema donde la hemostasia y la trombosis van de la mano y su visión conjunta es imprescindible para mejorar el control de las manifestaciones clínicas en estos pacientes. Las novedades en las coagulopatías congénitas y las que se desarrollan para un futuro cercano están focalizadas a mejorar el diagnóstico, prevenir las complicaciones y avanzar en la posible curación de la enfermedad. En esta última década se han aplicado todos los avances tecnológicos usados para la investigación en hemostasia: la estructura química de las proteínas, el estudio del ADN, la terapia génica y, por último, la medicina regenerativa¹. En la **Tabla 1** se presentan los principales hitos alcanzados y los retos que se desea conseguir.

La disponibilidad de sistemas automatizados para el estudio de la hemostasia permite detectar mínimas anomalías mediante distintas técnicas; no obstante, es imprescindible obtener una historia clínica detallada, personal y familiar, para orientar correctamente una enfermedad hemostática congénita. Las pruebas globales de coagulación, en especial la del test de generación de trombina, podrán ser de gran utilidad si se consigue su estandarización para pacientes con coagulopatías, en especial en pacientes con hemofilia e inhibidor, dado que precisan de tratamiento con agentes baipás o cuando coexiste un riesgo trombótico asociado a la deficiencia hemostática².

La enfermedad de von Willebrand es la coagulopatía congénita más prevalente y, a pesar de ello, continúa siendo la que más dificultades genera para su identificación. Actualmente, la disponibilidad de índices clínicos propios, de pruebas de laboratorio específicas y la identificación de las anomalías genéticas subyacentes abren un nuevo campo de estudio de esta enfermedad cuya

expresión clínica es muy dispar. El registro español sobre el perfil clínico y molecular correlaciona los datos fenotípicos y genotípicos a partir de una metodología de estudio centralizada. En él se ha incluido un total de 556 pacientes de 38 hospitales, lo que ha permitido clasificar correctamente el tipo en 480 pacientes y perfilar adecuadamente el fenotipo y genotipo en el 96,5% de ellos. Cabe destacar que las nuevas técnicas de secuenciación han permitido llevar a cabo el estudio molecular con un coste accesible³.

Las otras coagulopatías congénitas (deficiencias de fibrinógeno o de factores II, V, V y VIII asociados, VII, X, XI y XIII y la de vitamina K) representan un 3-5%. Se estima una incidencia de 1 por 500.000 para la deficiencia de factor VII y de 1-2 casos por 3 millones para la de factor XIII. Los resultados de los estudios epidemiológicos de la World Federation of Hemophilia y de la red europea (EN-RBD) han permitido identificar las características de estos pacientes, clasificarlos según el fenotipo hemorrágico, su distribución, las manifestaciones clínicas, los niveles mínimos hemostáticos y el estudio molecular; las mutaciones de aminoácidos (*missense*) están presentes en el 50-80% de las identificadas. En la actualidad todas las deficiencias disponen de tratamiento sustitutivo específico de origen plasmático, con excepción de la de factor V, la cual solo dispone de plasma y la de factor XIII de proteína recombinante para el subtipo FXIII-A. Existen recomendaciones generales sobre los niveles mínimos hemostáticos, pero, debido a su baja prevalencia, es necesario continuar los registros y estudios colaborativos⁴.

Por sus manifestaciones clínicas y por ser la más prevalente de las coagulopatías graves, el tratamiento de la hemofilia ha vivido un giro copernicano (del sustituto plasmático a las proteínas recombinantes), lo cual ha permitido mejorar la calidad de vida de los enfermos hemofílicos. No obstante, debido a su elevado coste, la disponibilidad de este tratamiento solo está al alcance de un número limitado de ellos.

El tratamiento profiláctico, de largo recorrido histórico en algunos países como Suecia y Holanda, ha demostrado su superioridad frente al tratamiento según demanda, en estudios aleatorizados. A tenor de la gran variabilidad de la vida media de los factores VIII y IX, los estudios farmacocinéticos son básicos para disponer en cada paciente de un modelo individualizado sobre la cinética del factor deficitario⁵. Estudios recientes remarcan la influencia del sistema sanguíneo ABO y los niveles de factor von Willebrand sobre la farmacocinética del factor VIII. La dosis profiláctica debe adaptarse a los parámetros farmacocinéticos, teniendo en cuenta además el fenotipo hemorrágico y el estilo de vida del paciente. La profilaxis previene el desarrollo de la artropatía y son necesarios estudios de imagen que permitan detectar su inicio y evolución. La resonancia magnética ha sido de gran

Tabla 1. Hitos y retos

Hitos alcanzados
Diagnóstico molecular
Profilaxis de la hemofilia en edades tempranas
Aumento de la esperanza de vida
Nuevas moléculas recombinantes de semivida plasmática larga
Retos a conseguir
Disponibilidad universal de los fármacos sustitutivos
Prevención y erradicación del inhibidor
Control de la comorbilidad
Curación de la enfermedad

utilidad para la valoración del componente sinovial, el cartilago y el hueso, pero, dado que es una técnica larga, de coste elevada y de difícil utilización en niños, los esfuerzos se han dirigido a la utilización de nuevos ecógrafos de alta resolución, los cuales permiten una valoración de las articulaciones diana (codos, rodillas y tobillos) en un corto periodo de tiempo; no obstante, todavía no se dispone de una puntuación validada que permita efectuar un seguimiento adecuado. Un modelo estandarizado combina la actividad de la enfermedad con el daño articular y promete ser de gran utilidad para la valoración de la eficacia de la profilaxis en niños⁶.

A pesar de la larga experiencia en el tratamiento profiláctico primario (inicio en niños de corta edad sin daño articular), existen diferentes enfoques para determinar cuándo iniciarla, con qué dosis e intervalo de tiempo y cuándo modificarla o suprimirla. Aunque, en general, los diferentes regímenes de profilaxis reducen la frecuencia y la gravedad de las hemorragias, el óptimo aún no se ha podido establecer. Con los tratamientos actuales, la referencia para considerar su efectividad con la consiguiente disminución del riesgo hemorrágico se asocia a los denominados niveles valle de tratamiento (niveles de factor superiores al 1% antes de la administración de la siguiente dosis). El desarrollo de nuevos factores con una semivida plasmática más prolongada, a partir de modificaciones químicas como la pegilación, la polisialización o la combinación con proteínas de fusión (albúmina o el fragmento Fc de la inmunoglobulina G), permite incrementar estos niveles o disminuir los intervalos de administración. El conocimiento del perfil farmacocinético de cada paciente es fundamental para valorar la mejor opción de profilaxis dado el elevado coste de este tratamiento.

Los conocimientos sobre el desarrollo de la artropatía hemofílica aún son incompletos. Las características de esta artropatía se asemejan a la artritis reumatoide, por el componente sinovial, y a la artrosis, por su componente degenerativo. Aunque en la artritis reumatoide se han descrito biomarcadores que evidencian signos de actividad sinovial, hasta la actualidad no se dispone de ninguno de ellos que sea útil; en algunos pacientes se han detectado niveles elevados del factor de crecimiento endotelial vascular, un mediador proangiogénico⁷. En caso de artropatía evolucionada, el tratamiento ortopédico adecuado es la implantación de una prótesis total; la de rodilla es la más indicada, tanto en pacientes con inhibidor como en pacientes sin él. En estos casos, la profilaxis tromboembólica es controvertida. Se recomiendan las medidas de profilaxis mecánicas y se consideraran las farmacológicas siempre que coexistan otros factores protrombóticos como obesidad, cáncer, insuficiencia venosa o la asociación con otro defecto de hemostasia protrombótico (factor V Leiden)⁸.

El primer gen clonado de un factor de la coagulación fue el del IX en el año 1982. Actualmente existen bases de datos con la lista de mutaciones asociadas a esta deficiencia; se conocen más de 2.000 mutaciones diferentes en todos los exones y en las regiones intrónicas flanqueantes de estos genes. Solo una mutación es altamente recurrente en la hemofilia A, la inversión del intrón 22, presente en el 45% de los casos graves⁹. En su inicio, los estudios genéticos en hemofilia iban dirigidos a la identificación de las posibles portadoras con la finalidad de poder ofrecerles consejo genético. En la actualidad estos estudios van dirigidos especial-

mente al análisis del riesgo de desarrollo de inhibidor en todos los grados de hemofilia y a las discrepancias de niveles de factor VIII según la técnica utilizada (método coagulativo en un tiempo o cromogénico)¹⁰. El conocimiento de que algunas mutaciones en pacientes con hemofilia A leve pueden tener una incidencia de inhibidor similar a la hemofilia grave es muy relevante en la práctica clínica porque permite identificarlos. Se han descrito 19 mutaciones *missense* de riesgo y ello enfatiza la necesidad del estudio molecular en todos los tipos de hemofilia¹¹.

En los últimos años también se han identificado defectos en pacientes con mutación negativa como son las grandes duplicaciones, las cuales no se detectan con la secuenciación individual de los exones o las mutaciones en regiones intrónicas profundas que causan errores de *splicing*¹². La introducción de nuevas plataformas de secuenciación masiva, que facilitan el estudio de los diferentes genes de los factores plasmáticos, ofrecerá una mayor información de las relaciones entre el genotipo y el fenotipo y de las asociaciones de desarrollo de inhibidor en relación al genotipo HLA.

El desarrollo de un inhibidor en alrededor del 30% de los pacientes con hemofilia A grave es una grave complicación en la que influyen distintos factores genéticos: mutación del gen *F8* (mayor riesgo en grandes deleciones y mutaciones interruptoras denominadas *nonsense*), antecedentes familiares de inhibidor, raza y determinados polimorfismos de los genes inmunoreguladores (sistema HLA de clase II, interleucinas y TNF-alfa). Estos factores implican un riesgo *a priori* para el desarrollo de inhibidor, pero no son susceptibles de ninguna modificación, por lo que los factores no genéticos han cobrado su importancia en los diferentes estudios, puesto que son modificables; entre ellos destacan los relacionados con el tratamiento (tipo de producto y modalidad de administración) y son el principal motivo de debate¹³. El primer estudio internacional aleatorizado (SIPPET), llevado a cabo en pacientes no tratados o mínimamente tratados, del que se han podido analizar 251 de los 303 pacientes incluidos, ha reportado una incidencia de inhibidor del 26,8% (intervalo de confianza del 95%: 18,4-35,2) con los productos plasmáticos que contienen FVIII y FvW y del 44,5% (34,7-54,3) con diferentes productos recombinantes¹⁴.

Los avances de la biología molecular también han aportado un gran beneficio al estudio prenatal. La presencia de pequeñas cantidades de ADN fetal en la sangre de la gestante ha permitido determinar el sexo del feto e identificar la mutación sin necesidad de obtener ADN fetal mediante una amniocentesis. Aunque esta técnica tiene aún sus limitaciones, es de esperar que pueda aplicarse en un futuro cercano de manera más generalizada, evitando los riesgos derivados de los métodos invasivos. En los últimos años, la fecundación *in vitro* con selección previa del sexo ha permitido implantar embriones femeninos, pero actualmente también es posible implantar embriones masculinos o femeninos sin la mutación causante de la enfermedad¹⁵. A pesar del consejo genético, la incidencia de la hemofilia se mantiene a expensas de las apariciones esporádicas, las cuales representan más del 50% los casos.

El aumento de la esperanza de vida de los pacientes hemofílicos comporta el desarrollo de otras enfermedades propias de edades más avanzadas como la hipertensión, la diabetes y

la obesidad, con el consiguiente riesgo cardiovascular¹⁶. La hipocoagulabilidad se consideraba como un factor de protección para la enfermedad cardiovascular, ya que los niveles elevados de factor VIII, factor von Willebrand y fibrinógeno se han descrito como factores de riesgo de enfermedad tromboembólica. Estudios recientes indican que los factores de riesgo de enfermedad cardiovascular en pacientes con hemofilia son similares a los de la población general, pero que la presencia de hipocoagulabilidad podría reducir la mortalidad. El tratamiento de la enfermedad cardiovascular en estos pacientes es de gran dificultad dado que todas las guías terapéuticas están basadas solo en recomendaciones de expertos. Es necesario determinar los niveles mínimos necesarios de factor VIII o IX para indicar una antiagregación temporal o indefinida sin incremento del riesgo hemorrágico¹⁷.

La hipertensión es de gran importancia por el riesgo de incremento de hemorragia cerebral en el adulto. Los estudios recientes indican un incremento de hipertensión arterial en la hemofilia en relación con los varones sanos, pero se desconoce la causa de esta diferencia. Es conocida la presencia de hematuria en estos pacientes, a cualquier edad, probablemente debida a microhemorragias del parénquima renal. Los diferentes tratamientos sustitutivos aportan distintos contenidos de sodio, por lo que debe tenerse en consideración en los pacientes que precisen tratamiento intensivo en cortos o largos periodos, además de fomentar las recomendaciones para el control y la prevención de la hipertensión¹⁸.

En las dos últimas décadas, diferentes estudios de terapia génica en hemofilia, preclínicos y clínicos de primeras fases, han conseguido demostrar la presencia de niveles hemostáticos del factor deficitario, con la consiguiente mejoría de las hemorragias. No obstante, existen obstáculos que limitan su eficacia. Los resultados en hemofilia B publicados por Nathawani¹⁹, utilizando el serotipo 8 de adenovirus como vector génico, resaltan que la eficacia está relacionada con la cantidad de inóculo administrado, pero esta dosis, a su vez, se relaciona con una respuesta inmune frente al propio vector, lo que representa el mayor problema en cuanto a su eficacia y seguridad. Otro de los riesgos de la terapia génica es que debe ir dirigida hacia una corrección somática y evitar la modificación de las células germinales. Aunque la hemofilia A fue la primera en disponer de tratamiento obtenido mediante ingeniería genética, ha sido la hemofilia B, debido al menor tamaño del gen, la que ha gozado de mejores oportunidades para este tratamiento, así como para el desarrollo de las moléculas de larga semivida plasmática, que permiten administrar la dosis de tratamiento profiláctico con intervalos de 10-15 días. Los nuevos estudios de terapia génica utilizando el factor IX Padua, que tiene una actividad de 8 a 10 veces superior, ofrece nuevas perspectivas por la posibilidad de disminuir la respuesta inmunológica²⁰.

Una alternativa a la utilización de vectores virales en terapia génica en la hemofilia A podría ser la obtención de células endoteliales a partir de células madre con capacidad pluripotencial inducida del propio paciente. Aunque es una tecnología que solamente ha sido utilizada en modelos animales, abre un nuevo campo para la investigación de alternativas terapéuticas para esta enfermedad²¹.

La terapia génica ha tenido un desarrollo más lento de lo esperado para el caso de esta enfermedad monogénica bien caracterizada. El desarrollo en la actualidad de nuevas moléculas con

semivida plasmática larga y la posibilidad de su administración subcutánea pueden modificar las aspiraciones de curación²².

Conclusión

En la actualidad, los pacientes con hemofilia que tienen acceso al tratamiento sustitutivo pueden aspirar a una esperanza de vida similar a la de la población general. El desarrollo del inhibidor como consecuencia del tratamiento sustitutivo continúa siendo el principal obstáculo que se ha de superar. La comorbilidad propia de edades más avanzadas será un nuevo reto, en especial la búsqueda del equilibrio entre el riesgo hemorrágico y la enfermedad tromboembólica. Las nuevas terapias no sustitutivas, en caso de demostrar su eficacia y seguridad, podrían paliar la utilización de la vía intravenosa y evitar el desarrollo de un inhibidor específico contra la proteína deficitaria.

Bibliografía

1. Saito H, Matsushita T, Kojima T. Historical perspective and future direction of coagulation research. *J Thromb Haemost* 2011;9(Suppl 1):352-63. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2011.04362.x. Review. PubMed PMID: 21781272.
2. Franchini M, Lippi G. Factor V Leiden and hemophilia. *Thromb Res* 2010;125(2):119-23. DOI: 10.1016/j.thromres.2009.11.003. Epub 2009 Nov 22. Review. PubMed PMID: 19932655.
3. Batlle J, Pérez-Rodríguez A, Corrales I, López-Fernández MF, Rodríguez-Trillo Á, Lourés E, et al. Molecular and clinical profile of von Willebrand disease in Spain (PCM-EVW-ES): Proposal for a new diagnostic paradigm. *Thromb Haemost*. 2016 Jan;115(1):40-50. DOI: 10.1160/TH15-04-0282. Epub 2015 Aug 6. PubMed PMID: 26245874.
4. Palla R, Peyvandi F, Shapiro AD. Rare bleeding disorders: diagnosis and treatment. *Blood* 2015 26;125(13):2052-61. DOI: 10.1182/blood-2014-08-532820. Epub 2015 Feb 23. Review. PubMed PMID: 25712993.
5. Fischer K, Berntorp E. Targeting factor replacement therapy in severe hemophilia: which level is important? *Semin Thromb Hemost* 2015;41(8):860-3. DOI: 10.1055/s-0035-1552562. Epub 2015 Oct 9. PubMed PMID: 26451746.
6. Altisent C, Martorell M, Crespo A, Casas L, Torrents C, Parra R. Early prophylaxis in children with severe haemophilia A: clinical and ultrasound imaging outcomes. *Haemophilia* 2015; Aug 28. DOI: 10.1111/hae.12792. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 26315845.
7. Wyseure T, Mosnier LO, von Drygalski A. Advances and challenges in hemophilic arthropathy. *Semin Hematol* 2016;53(1):10-9. DOI: 10.1053/j.seminhematol.2015.10.005. Epub 2015 Oct 26. Review. PubMed PMID: 26805902.
8. Hermans C. Venous thromboembolic disease in patients with haemophilia. *Thromb Res* 2012;130(Suppl 1):S50-2. DOI: 10.1016/j.thromres.2012.08.274. Review. PubMed PMID: 23026662.
9. Oldenburg J, Pezeshkpoor B, Pavlova A. Historical review on genetic analysis in hemophilia A. *Semin Thromb Hemost* 2014;40(8):895-902. DOI: 10.1055/s-0034-1395161. Epub 2014 Nov 6. Review. PubMed PMID: 25377322.
10. Pavlova A, Delev D, Pezeshkpoor B, Müller J, Oldenburg J. Haemophilia A mutations in patients with non-severe phenotype associated with a discrepancy between one-stage and chromogenic factor VIII activity assays. *Thromb Haemost* 2014;5;111(5):851-61. DOI: 10.1160/TH13-08-0690. Epub 2014 Jan 23. PubMed PMID: 24452774.

11. Eckhardt CL, van Velzen AS, Peters M, Astermark J, Brons PP, Castaman G, et INSIGHT Study Group. Factor VIII gene (F8) mutation and risk of inhibitor development in nonsevere hemophilia A. *Blood* 2013;122(11):1954-62. DOI: 10.1182/blood-2013-02-483263. Epub 2013 Aug 7. Erratum in: *Blood* 2014;8;123(19):3056. PubMed PMID: 23926300.
12. Goodeve AC, Pavlova A, Oldenburg J. Genomics of bleeding disorders. *Haemophilia* 2014;20(Suppl 4):50-3. DOI: 10.1111/hae.12424. Review. PubMed PMID: 24762275; PubMed Central PMCID: PMC4274361.
13. Leissinger CA. Advances in the clinical management of inhibitors in hemophilia A and B. *Semin Hematol* 2016;53(1):20-7. DOI: 10.1053/j.seminhematol.2015.10.008. Epub 2015 Oct 27. Review. PubMed PMID: 26805903.
14. Peyvandi F, Mannucci PM, Garagiola I, El-Beshlawy A, Elalfy M, Ramanan V, et al. A Randomized Trial of Factor VIII and Neutralizing Antibodies in Hemophilia A. *N Engl J Med* 2016;26;374(21):2054-64. DOI: 10.1056/NEJMoa1516437. PubMed PMID: 27223147.
15. Michaelides K, Tuddenham EG, Turner C, Lavender B, Lavery SA. Live birth following the first mutation specific pre-implantation genetic diagnosis for haemophilia A. *Thromb Haemost* 2006;95(2):373-9. PubMed PMID: 16493501.
16. Biere-Rafi S, Baarslag MA, Peters M, Kruij MJ, Kraaijenhagen RA, Den Heijer M, et al. Cardiovascular risk assessment in haemophilia patients. *Thromb Haemost* 2011;105(2):274-8. DOI: 10.1160/TH10-07-0460. Epub 2010 Dec 6. PubMed PMID: 21136012.
17. Ferraris VA, Boral LI, Cohen AJ, Smyth SS, White GC 2nd. Consensus review of the treatment of cardiovascular disease in people with hemophilia A and B. *Cardiol Rev* 2015;23(2):53-68. DOI: 10.1097/CRD.0000000000000045. Review. PubMed PMID: 25436468; PubMed Central PMCID: PMC4323575.
18. Altisent C, Martorell M, de la Sierra A. Sodium content in products used to treat haemophilia. *Haemophilia* 2016;26. DOI: 10.1111/hae.12948. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 27228069.
19. Nathwani AC, Reiss UM, Tuddenham EG, Rosales C, Chowdary P, McIntosh J, et al. Long-term safety and efficacy of factor IX gene therapy in hemophilia B. *N Engl J Med* 2014;20;371(21):1994-2004. DOI: 10.1056/NEJMoa1407309. PubMed PMID: 25409372; PubMed Central PMCID: PMC4278802.
20. Arruda VR, Samelson-Jones BJ. Obstacles and future of gene therapy for hemophilia. *Expert Opin Orphan Drugs*.2015;3(9):997-1010. Epub 2015 Jul 18. PubMed PMID: 26900534; PubMed Central PMCID: PMC4756761.
21. Fomin ME, Togarrati PP, Muench MO. Progress and challenges in the development of a cell-based therapy for hemophilia A. *J Thromb Haemost* 2014;12(12):1954-65. DOI: 10.1111/jth.12750. Epub 2014 Oct 31. Review. PubMed PMID: 25297648; PubMed Central PMCID: PMC4388483.
22. Mannucci PM, Mancuso ME, Santagostino E, Franchini M. Innovative Pharmacological Therapies for the Hemophilias Not Based on Deficient Factor Replacement. *Semin Thromb Hemost* 2016;5. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 27148843.

Avances en patología congénita y adquirida plaquetaria

M.L. Lozano, J. Rivera, V. Vicente

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

Introducción

En 1862, Giulio Bizzozero, el llamado “padre de la plaqueta” describió un nuevo elemento morfológico en la sangre con una función importante en la hemorragia y en la trombosis. Unos 40 años después, a principios del siglo XX, James Homer Wright postuló que los megacariocitos de la médula ósea eran responsables de la producción de plaquetas, en un momento en el que este tipo de células se denominaban “el polvo de la sangre”. Durante muchos años se ha conocido que las plaquetas desempeñan un papel relevante en la trombosis y en la hemostasia, aunque en la actualidad se acepta que es una célula polivalente con funciones relevantes también en otros eventos fisiopatológicos, y que como los leucocitos también tienen múltiples funciones en la inmunidad innata y adaptativa. En los últimos 10 años hemos asistido a importantes avances en el conocimiento de la fisiopatología, caracterización molecular y bioquímica, así como tratamiento de patologías relacionadas con las plaquetas. Este artículo abarcará los avances en patología plaquetaria durante los últimos 10 años en cinco áreas: diagnóstico de alteraciones congénitas de las plaquetas, tratamiento de la trombopenia inmune primaria (PTI), difusión del empleo de plasma rico en plaquetas (PRP) en patología ortopédica, terapia antiplaquetaria, y avances en terapia celular empleando megacariocitos y plaquetas procedentes de células *stem*.

Alteraciones congénitas de las plaquetas

Los defectos en las diferentes proteínas plaquetarias relacionados con alteraciones congénitas de las plaquetas son muy raros ($\approx 1:1.000.000$ individuos); sin embargo, de manera colectiva un defecto molecular en un gen que desempeña un papel en la funcionalidad plaquetaria ocurre en $\approx 1:10.000$ sujetos, generalmente manifestándose en forma de sangrado importante. En las últimas 4 décadas, un mejor conocimiento de las alteraciones genéticas de los trastornos plaquetarios congénitos ha conllevado a la puesta en marcha de rutas de investigación en megacariopoyesis, y ha identificado dianas de intervenciones farmacológicas. Muchos de estos descubrimientos se han traducido a la práctica clínica. El éxito de la investigación de desórdenes plaquetarios hereditarios viene respaldado por los amplios avances en la metodología bioquímica, pero muy especialmente por la revolución molecular desde el inicio del siglo actual. Las técnicas modernas de secuenciación profunda que permiten un estudio genético más coste-efectivo han permitido el descubrimiento de múltiples genes implicados en la producción y función de plaquetas. En esta década hemos asistido a un cambio de dirección, inicialmente basado en hallazgos previos biológicos que guiaban el descubrimiento de alteraciones genéticas, al momento actual en el que

a partir del empleo de técnicas genéticas modernas como la secuenciación completa de exoma/genoma o de paneles de genes plaquetarios, se analiza la implicación bioquímica de los cambios detectados. Este abordaje aparentemente más sencillo, nos ha permitido ampliar en gran medida nuestro conocimiento tanto de las anomalías moleculares causantes de estos trastornos como de las alteraciones en la biología plaquetaria y de la megacariopoyesis consecuencia de los cambios genéticos. Aunque en esta década la causa de muchos trastornos plaquetarios hereditarios ha sido explicada, la combinación de técnicas bioquímicas tradicionales y modernas, junto con tecnología molecular sigue siendo esencial.

El síndrome de plaqueta gris (SPG), una enfermedad autosómica recesiva que cursa con una macrotrombocitopenia, defectos de secreción y mielofibrosis, es quizás la mejor representación del puente entre la era bioquímica y la genómica. Aunque el SPG había sido bien caracterizado desde el punto de vista fenotípico y bioquímico, la causa genética de la alteración se desconocía. Empleando diferentes aproximaciones para el estudio genético, tres grupos independientes publicaron en 2011, en el mismo número de la revista *Nature Medicine* que las mutaciones bialélicas en *NBEAL2* son la causa de SPG¹⁻³. Otros ejemplos de recientes descubrimientos gracias a secuenciación profunda de genes implicados en alteraciones congénitas plaquetarias son la identificación de mutaciones en *GFI1B*, en formas dominantes de SPG. También a partir del análisis de exoma se conoce que la trombocitopenia con ausencia de radio se debe a una heterocigosidad compleja en *RBM8A* que incluye un alelo nulo y una variante de baja frecuencia en el otro alelo. A raíz del proyecto de 1.000 Genomas, la causa molecular de la hasta entonces denominada “trombocitopenia de tipo 2” se identificó en el cromosoma 10, y un año después se caracterizaron en este cromosoma mutaciones en una región conservada de 19 pb en 5' UTR de *ANKRD26* como origen de esta patología. En el mismo cromosoma 10 se ha demostrado que el trastorno plaquetario de tipo Quebec, que presenta un defecto de tipo ganancia de función en la fibrinólisis se debe a una duplicación en tándem de 78 kb en *PLAU*. En España, nuestro grupo recientemente ha descrito la caracterización funcional y molecular de 70 casos de sospecha de alteraciones congénitas plaquetarias de la península ibérica⁴.

Trombopenia inmune primaria

Un hito muy importante en el conocimiento de la trombopoyesis tuvo lugar en 1994 cuando la trombopoyetina (TPO), el principal regulador de la producción de plaquetas fue clonada y caracterizada por vez primera. Los primeros agentes que se desarrollaron con fines terapéuticos fueron formas recombinantes de la TPO humana, la rHuTPO (basada en la molécula completa) y

también su forma pegilada, PEG-rHUMGDF (que consiste 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 plaquetas, 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: 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 eltrombopag (Revolade®), una molécula oral no peptídica que se administra diariamente en dosis de 25, 50, o 75 mg (media 50 mg). Estos agentes han sido aprobados por la EMA para el tratamiento de pacientes adultos con PTI en 2009-2010, basándose en estudios multicéntricos aleatorizados controlados con placebo, incluso en pacientes esplenectomizados y refractarios^{5,6}. A diferencia de los tratamientos tradicionales cuya justificación de empleo se basaba en una supresión inmune o en reducir la destrucción acelerada de plaquetas, estos nuevos agentes ejercen su acción mayoritariamente sobre el otro extremo del problema, esto es induciendo la producción de plaquetas. Esto ha conllevado a que en los últimos años se haya producido un cambio extraordinario en el manejo de pacientes adultos con PTI⁷. Hasta la disponibilidad de estos agentes, los pacientes con esta patología presentaban un aumento de morbimortalidad de 2,3 veces respecto a la población normal, justificado por un incremento de forma equitativa tanto del sangrado como de las infecciones⁸ derivadas de las alternativas terapéuticas de ese momento (básicamente corticoides, esplenectomía y tratamiento inmunosupresor). En la actualidad, después de más de 5 años del amplio empleo clínico de estos agentes en el tratamiento de pacientes adultos con PTI sabemos que estas moléculas pueden promover un incremento sostenido del recuento de plaquetas, una reducción en el empleo de terapias específicas para pacientes con PTI y una disminución en los episodios de sangrado, con una mejora global de la calidad de vida, lo que confirma sustancialmente los datos de perfil de seguridad y eficacia de los estudios de registro y de extensión. Aunque se cree que estos agentes fundamentalmente promueven la producción de plaquetas, un subgrupo de enfermos con PTI exhibe recuentos plaquetarios mantenidos tras la suspensión del fármaco. Esto se acompaña del conocimiento de que los agentes trombopoyéticos son capaces de inducir tolerancia inmune a autoantígenos plaquetarios, y por ello de suprimir la patología autoinmune de la PTI.

Plasma rico en plaquetas

Las plaquetas contienen más de 1.100 proteínas, algunas de las cuales incluyen enzimas, sus inhibidores, factores de crecimiento, mensajeros del sistema inmune y otros compuestos bioactivos que de acuerdo con los estudios básicos pueden desempeñar un papel relevante en la reparación tisular. El PRP se ha empleado desde los años cincuenta fundamentalmente en el campo de dermatología y en cirugía maxilofacial, pero el interés en su función como alternativa efectiva en muchas otras aplicaciones se ha incrementado de manera exponencial en las últimas décadas, inclu-

yendo especialidades médicas como odontología, neurocirugía, oftalmología, cirugía maxilofacial y cosmética. En la actualidad, la cirugía ortopédica es el segmento clínico con una mayor aplicación de este tipo de producto, en gran medida promovido por su extensivo uso entre atletas de élite y por la difusión de este hecho por los medios de comunicación. Sin embargo, hasta el momento actual no se han llevado a cabo estudios prospectivos, aleatorizados, doble ciego y controlados que documenten el efecto positivo de los factores de crecimiento de PRP en la reparación tisular. Recientemente, un metaanálisis del empleo de PRP en lesiones musculoesqueléticas realizado por Cochrane (19 ensayos, 1.088 pacientes) no encontró beneficio funcional atribuible al PRP ni a corto-, medio-, ni largo- plazo⁹. Sí se asoció a mejoría a corto plazo del dolor, pero este efecto fue pequeño y con poca probabilidad de que clínicamente fuera relevante. Estos resultados son similares a otra revisión en este campo¹⁰. A pesar de esta relativa falta de evidencia y de que, al menos en daños musculoesqueléticos, el empleo de PRP en el momento actual no está justificado, existen más de 40 sistemas comerciales para la preparación de PRP y el mercado global de PRP en 2013 supuso unos 160 millones de dólares; se estima que alcance un valor de mercado de 350 millones en 2020 (<http://www.transparencymarketresearch.com>). Según el diccionario de la Real Academia Española, una “panacea” es un remedio o solución general para cualquier mal. ¿Puede el PRP ser la panacea en los campos de medicina biológica, genómica, ingeniería de tejidos, medicina regenerativa, etc.? Hasta que no se lleven a cabo estudios aleatorizados y controlados, que cuantifiquen de forma validada y específica para cada patología el efecto de este tipo de terapia, los clínicos deberíamos controlar nuestro entusiasmo y el empleo de esta modalidad de tratamiento.

Terapia antiplaquetaria

Además de ejercer un papel esencial en la prevención del sangrado, las plaquetas también desempeñan una función muy relevante en la aterogénesis, isquemia, trombosis de arterias coronarias y enfermedad vascular periférica. La terapia antitrombótica para el tratamiento de episodios de oclusión vascular ha variado de forma considerable en los últimos 10 años. En las guías originales de las Asociación y Sociedad Americana de Cardiología y Medicina Torácica (AHA/ACC) de 1996, solamente se determinaba la recomendación de un agente antiplaquetario (aspirina) y un anticoagulante (heparina no fraccionada) como terapias de clase I para el tratamiento del infarto de miocardio. Estas recomendaciones cambiaron en las guías de 2007, de manera que se establecía tratamiento conjunto de aspirina y clopidogrel en este contexto. Sin embargo, la gran variabilidad interindividual a las respuestas a clopidogrel ha hecho que se lleven a cabo esfuerzos para mejorar la eficacia y minimizar las complicaciones incrementando la especificidad de la diana terapéutica, y el desarrollo de fármacos con respuestas más predecibles. En los últimos años, los nuevos inhibidores orales de P2Y₁₂, prasugrel y ticagrelor ofrecen las ventajas de su metabolismo más predecible y su comienzo de acción más rápido respecto a clopidogrel, mientras que el inhibidor intravenoso cangrelor ofrecería las ventajas de una acción inmediata asociado a una corta vida media. Después de una década de uso de clopidogrel, en las guías de 2016, la AHA/ACC recomien-

da en pacientes con síndrome coronario agudo la terapia dual con preferencia bien de ticagrelor o de prasugrel (frente a clopidogrel) junto a la aspirina¹¹. ¿Cuánto tiempo se mantendrán estas recomendaciones? En los últimos años, el cóctel farmacológico para pacientes con síndromes coronarios agudos está sufriendo un cambio continuo. Los ensayos han mostrado que la adición de un tercer agente a la aspirina y a un inhibidor de P2Y₁₂ reduce los eventos cardiovasculares, pero pagando el precio del sangrado. Cada vez se cuestiona más si la aspirina seguirá formando parte de este cóctel farmacológico, y bien puede suceder que la combinación óptima, al menos para algunos pacientes, requiera de la adición de un nuevo agente antitrombótico, como pueden ser los inhibidores directos de trombina bajo la premisa de omitir un agente antiplaquetario como la aspirina.

Adicionalmente a su implicación en la aterogénesis, las plaquetas se encuentran en una interfase que une la trombosis, la inflamación y el cáncer. Hace más de 45 años se estableció que los ratones trombopénicos están protegidos contra las metástasis¹². Desde entonces, hay datos extensos que apoyan la relevancia de las plaquetas en la progresión del cáncer. Aunque las propiedades antimetastásicas de la aspirina se describieron por vez primera en 1972 basándose en modelos animales experimentales¹³, ha sido el estudio retrospectivo de amplias series de sujetos que recibieron aspirina para valorar su beneficio cardiovascular los que apoyan los efectos antitumorales de este agente¹⁴⁻¹⁷. En los últimos 5 años este asunto ha despertado un gran interés y en la actualidad existe un desconocimiento acerca de cuánto del efecto anticancerígeno de la aspirina depende de las plaquetas y cuánto de la inhibición de la ciclooxigenasa-2 en otras células (como las endoteliales o las tumorales). A pesar de los datos tan positivos tanto preclínicos como en los ensayos clínicos, la estrategia terapéutica de los fármacos antiplaquetarios no ha recibido una atención significativa por parte de la comunidad de biólogos que estudian el cáncer. Esto puede ser debido al hecho de que los fármacos antiplaquetarios no son citotóxicos, y por ello ignorados por la oncología, o también reflejar la falta de comunicación y colaboración entre las áreas de la biología plaquetaria y del cáncer.

Terapia celular que emplea megacariocitos y plaquetas procedentes de células *stem*

En la última década se ha producido una expansión de la posible utilidad de plaquetas derivadas de células *stem* pluripotentes o generadas mediante reprogramación. En el momento actual, aunque quedan importantes aspectos que hay que abordar, existen tres áreas donde este tipo de células pueden en un futuro suponer una alternativa segura a los tratamientos existentes y que están siendo estudiados extensivamente: la terapia celular para la corrección de patologías concretas relacionadas con las plaquetas, como vehículo para aportar péptidos que contribuyan a la mejora de diversas enfermedades, y en la producción de plaquetas *in vitro*.

Terapia celular para corrección de trombopatías

Recientemente se ha comunicado la corrección del defecto genético en dos alteraciones congénitas de las plaquetas (trombastenia de Glanzmann y trombopenia amegacariocítica congé-

nita-TAMC-). En el primer caso, se emplearon células mononucleadas de sangre periférica de dos pacientes con trombastenia de Glanzmann que se reprogramaron para crear células *stem* pluripotenciales inducidas (iPSCs) que posteriormente se sometieron a terapia génica¹⁸ para generar plaquetas con un fenotipo no Glanzmann. En el segundo caso, el “delivery” retroviral en fibroblastos de un paciente con TAMC de *C-mpl* normal fue capaz de restaurar la capacidad de diferenciación megacariocítica de estas células¹⁹. Nuestro grupo también ha colaborado en la generación de iPSCs de un paciente con síndrome de Bernard-Soulier, lo que puede facilitar también estrategias de corrección genética en esta patología²⁰. No obstante, parece que aunque prometedor, en el momento actual desconocemos si estas técnicas podrán ser aplicadas en la clínica con éxito a pacientes con patología plaquetaria congénita.

Plaquetas como vehículo para aportar péptidos que contribuyan a la terapia de enfermedades

Se han creado “plaquetas de diseño” procedentes de megacariocitos generados *ex vivo* a través de la traducción de lentivirus que son capaces de sobreexpresar factores circulantes que quedan almacenados en los gránulos, para ser liberados en las zonas de daño vascular. Esto se ha llevado a cabo con éxito en modelos animales tanto en el campo de la hemofilia B como A^{21,22}. Aunque en ambos casos se necesitó una inmunosupresión de los receptores, estos artículos proporcionan la prueba de concepto de la posibilidad de transferencia de factores de coagulación a través de plaquetas.

Igualmente, en la enfermedad de Hurler, la traducción por lentivirus de la enzima deficitaria (α -L-iduronidasa) en progenitores hematopoyéticos de ratones y su infusión, mostró que las plaquetas circulantes presentaban altos títulos de la enzima activa, reduciendo así la acumulación en hígado y bazo de glicosaminoglicanos²³. Este estudio confirmó la posibilidad de liberación por parte de las plaquetas de péptidos que pueden resultar en terapias dirigidas a órganos donde se lleva a cabo la destrucción de plaquetas senescentes.

Producción de plaquetas *in vitro*

En el momento actual, los concentrados de plaquetas procedentes de donantes presentan los inconvenientes de su escasez, corta vida media y riesgo potencial de transmisión de enfermedades. La diferenciación *in vitro* de iPSCs representa una fuente potencial de megacariocitos y plaquetas con fines transfusionales. En principio debería ser posible la producción ilimitada de este componente celular a través de esta tecnología. Sin embargo, aunque se están llevando a cabo estudios clínicos, existe la limitación principal de que la generación de megacariocitos y de su progenie a partir de células pluripotentes es ineficaz, ya que cada megacariocito es capaz de producir de 3-10 plaquetas *in vitro*, mientras que los endógenos liberan entre 2.000 y 10.000. Para la producción de 10¹¹ plaquetas (una unidad de donantes) se precisan unos 25-50 litros de medio de cultivo, lo que hace que esta aproximación siga siendo prohibitivamente cara comparada con el empleo de plaquetas derivadas de donantes convencionales, aunque en los próximos años podrían desarrollarse estrategias de diferenciación novedosas que facilitaran la producción de este tipo de células.

Conclusión

Durante los últimos 10 años se han producido importantes avances en patología plaquetaria. Algunos, plenamente consolidados y que han supuesto una nueva era tanto en la expansión y progreso diagnóstico de alteraciones congénitas de las plaquetas facilitado por las técnicas de secuenciación profunda, como en el cambio en el tratamiento de pacientes con PTI tras la incorporación en el arsenal terapéutico de los agonistas del receptor de la TPO. Hemos asistido también a un uso casi indiscriminado del empleo de PRP en diversas patologías, fundamentalmente en cirugía ortopédica, en ausencia de ensayos bien diseñados que lo justifiquen. Los resultados de ensayos clínicos de terapia antiplaquetaria en la prevención del cáncer exigen llevar a cabo esfuerzos multidisciplinarios que realmente establezcan el papel de estos agentes en este campo. Aunque el empleo de terapias celulares con megacariocitos y plaquetas procedentes de células *stem* abre muchas posibilidades terapéuticas, se espera que un mayor recorrido y conocimiento de estas aproximaciones permitan establecer en los próximos años su potencial aplicación en diferentes escenarios clínicos.

Bibliografía

- Albers CA, Cvejic A, Favier R, Bouwmans EE, Alessi MC, Bertone P, et al. Exome sequencing identifies NBEAL2 as the causative gene for gray platelet syndrome. *Nat Genet* 2011;43:735-7.
- Gunay-Aygun M, Falik-Zaccari TC, Vilboux T, Zivony-Elboum Y, Gumruk F, Cetin M, et al. NBEAL2 is mutated in gray platelet syndrome and is required for biogenesis of platelet α -granules. *Nat Genet* 2011;43:732-4.
- Kahr WH, Hinckley J, Li L, Schwertz H, Christensen H, Rowley JW, et al. Mutations in NBEAL2, encoding a BEACH protein, cause gray platelet syndrome. *Nat Genet* 2011;43:738-40.
- Sánchez-Guiu I, Antón AI, Padilla J, Velasco F, Lucia JF, Lozano M, et al. Functional and molecular characterization of inherited platelet disorders in the Iberian Peninsula: results from a collaborative study. *Orphanet J Rare Dis* 2014;24:9:213.
- 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.
- 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.
- Lozano ML, Revilla N, González-López TJ, Novelli S, González-Porrás JR, Sánchez-González B, et al. Real-life management of primary immune thrombocytopenia (ITP) in adult patients and adherence to practice guidelines. *Ann Hematol* 2016;Apr 21. [Epub ahead of print].
- Porteilje JEA, Westendorp RGJ, Kluin-Nelemans HC, Brand A. Morbidity and mortality in adults with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2001;97:2549-54.
- Khan M, Bedi A. Cochrane in CORR (®): Platelet-rich Therapies for Musculoskeletal Soft Tissue Injuries (Review). *Clin Orthop Relat Res* 2015;473:2207-13.
- Sheth U, Simunovic N, Klein G, Fu F, Einhorn TA, Schemitsch E, et al. Efficacy of autologous platelet-rich plasma use for orthopaedic indications: a meta-analysis. *J Bone Joint Surg Am* 2012;94:298-307.
- Levine GN, Bates ER, Bittl JA, Brindis RG, Fihn SD, Fleisher LA, et al. 2016 ACC/AHA Guideline Focused Update on Duration of Dual Antiplatelet Therapy in Patients With Coronary Artery Disease: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines: An Update of the 2011 ACCF/AHA/SCAI Guideline for Percutaneous Coronary Intervention, 2011 ACCF/AHA Guideline for Coronary Artery Bypass Graft Surgery, 2012 ACC/AHA/ACP/AATS/PCNA/SCAI/STS Guideline for the Diagnosis and Management of Patients With Stable Ischemic Heart Disease, 2013 ACCF/AHA Guideline for the Management of ST-Elevation Myocardial Infarction, 2014 AHA/ACC Guideline for the Management of Patients With Non-ST-Elevation Acute Coronary Syndromes, and 2014 ACC/AHA Guideline on Perioperative Cardiovascular Evaluation and Management of Patients Undergoing Noncardiac Surgery. *Circulation*. 2016 Mar 29. pii: CIR.000000000000404. [Epub ahead of print].
- Gasic GJ, Gasic TB, Stewart CC. Antimetastatic effects associated with platelet reduction. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1968;61:46-52.
- Kolenich JJ, Mansour EG, Flynn A. Haematological effects of aspirin. *Lancet* 1972 30;2:714.
- Rothwell PM, Price JF, Fowkes FG, Zanchetti A, Roncaglioni MC, Tognoni G, et al. Short-term effects of daily aspirin on cancer incidence, mortality, and non-vascular death: analysis of the time course of risks and benefits in 51 randomised controlled trials. *Lancet* 2012;379:1602-12.
- Rothwell PM, Fowkes FG, Belch JF, Ogawa H, Warlow CP, Meade TW. Effect of daily aspirin on long-term risk of death due to cancer: analysis of individual patient data from randomised trials. *Lancet* 2011;377:31-41.
- Rothwell PM, Wilson M, Price JF, Belch JF, Meade TW, Mehta Z. Effect of daily aspirin on risk of cancer metastasis: a study of incident cancers during randomised controlled trials. *Lancet* 2012;379:1591-601.
- Bowers LW, Máximo IX, Brenner AJ, Beeram M, Hursting SD, Price RS, et al. NSAID use reduces breast cancer recurrence in overweight and obese women: role of prostaglandin-aromatase interactions. *Cancer Res* 2014;74:4446-57.
- Sullivan SK, Mills JA, Koukouritaki SB, Vo KK, Lyde RB, Paluru P, et al. High-level transgene expression in induced pluripotent stem cell-derived megakaryocytes: correction of Glanzmann thrombasthenia. *Blood* 2014;123:753-7.
- Hirata S, Takayama N, Jono-Ohnishi R, Endo H, Nakamura S, Dohda T, et al. Congenital amegakaryocytic thrombocytopenia iPS cells exhibit defective MPL-mediated signaling. *J Clin Invest* 2013;123:3802-14.
- López-Onieva L, Montes R, Lamolda M, Romero T, Ayllón V, Lozano ML, et al. Generation of induced pluripotent stem cells (iPSCs) from a Bernard-Soulier syndrome patient carrying a W71R mutation in the GPIX gene. *Stem Cell Res* 2016; 3:692-5.
- Chen Y, Schroeder JA, Kuether EL, Zhang G, Shi Q. Platelet gene therapy by lentiviral gene delivery to hematopoietic stem cells restores hemostasis and induces humoral immune tolerance in FIX(null) mice. *Mol Ther* 2014;22:169-77.
- Shi Q, Kuether EL, Chen Y, Schroeder JA, Fahs SA, Montgomery RR. Platelet gene therapy corrects the hemophilic phenotype in immunocompromised hemophilia A mice transplanted with genetically manipulated human cord blood stem cells. *Blood* 2014;123:395-403.
- Dai M, Han J, El-Amouri SS, Brady RO, Pan D. Platelets are efficient and protective depots for storage, distribution, and delivery of lysosomal enzyme in mice with Hurler syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014;111:2680-5.

Trombofilia en 2016

J. Corral, M.E. de la Morena-Barrio, A. Miñano, J. Padilla, M. Toderici, R. López-Gálvez, N. Revilla, V. Vicente

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

Introducción

El término trombofilia esencial fue introducido en 1937 por Nygaard y Brown en un trabajo que describía 5 casos con episodios recurrentes de oclusión de vasos de diferente localización¹. En 1956 Jordan y Nandorff emplearon el término trombofilia para indicar la naturaleza congénita de la trombosis venosa basado en la tendencia familiar de esta enfermedad². Pero no es hasta 1965 cuando el hematólogo Noruego O Egeberg describe la primera trombofilia congénita³. Egeberg, estudiando una familia con varios miembros que presentaron eventos trombóticos, estableció la asociación entre la deficiencia de antitrombina con el riesgo de trombosis. Una alteración genética, responsable de la deficiencia de este potente anticoagulante endógeno, y transmitida de forma mendeliana, aumentaba significativamente el riesgo de trombosis.

La trascendencia de la trombosis en nuestra sociedad y la perspectiva de que aumente en el futuro por el envejecimiento de esta, animan a definir aquellas alteraciones genéticas que incrementen el riesgo de sufrirla, especialmente porque las evidencias de la importancia del componente genético en la trombosis

han sido contundentes. Queremos destacar dos estudios independientes y con diferente diseño que demuestran la importancia del componente genético en la trombosis, con una heredabilidad del 50-60%^{4,5}. Estos datos, sin duda, muestran que tenemos todavía un largo camino que recorrer en este campo, ya que el número de trombofilias identificadas y su importancia en el desarrollo de eventos trombóticos es muy limitado.

Trombofilias conocidas en 2016

A la identificación de la deficiencia de antitrombina en familias con trombofilia, le siguió, en la década de los ochenta, la descripción de una situación similar para otro anticoagulante endógeno: la proteína C y su cofactor, la proteína S. Alteraciones genéticas raras, mutaciones prácticamente restringidas a las familias en las que se detectan, que afectan al gen codificante del anticoagulante, provocan por diferentes mecanismos, pero siempre de forma autosómica dominante, la deficiencia detectada antigénica y/o funcional. En todos los casos el riesgo trombótico asociado es alto (OR: 10-50), aunque existe cierta heterogeneidad clínica y penetrancia variable (Tabla 1).

Tabla 1. Factores trombofílicos congénitos

Gen	Variación genética	Prevalencia población	OR	Defecto
<i>SERPINC1</i>	> 350 mut	Raro	20-40	Deficiencia AT
<i>PROC</i>	> 370 mut	Raro	10-20	Deficiencia PC
<i>PROS1</i>	> 350 mut	Raro	10-20	Deficiencia PS
<i>F5</i>	p.Arg506Gln	1-15%	4	resistencia PCA
<i>F2</i>	c.*97G > A	1-3%	3	Increased PT
<i>ABO</i>	Diferentes SNPs	50-60%	2	Aumento FVIII/vWF
<i>F11</i>	Diferentes SNPs	70%	1,3	Aumento FXI
<i>FGG</i>	Diferentes SNPs	43%	1,5	Aumento fibrinógeno
<i>F8</i>	Diferentes SNPs	92%	1,1	Aumento FVIII
<i>PROCR</i>	Diferentes SNPs	6%	1,2	Aumento PC y EPCR
<i>GP6</i>	rs1613662	93%	1,1	Activación plaquetaria
<i>KNG1</i>	rs710446	68%	1,2	TTPa más corto
<i>STXBP5</i>	rs1039084	70%	1,1	AumentoFvW
<i>SLC44A2</i>	rs2288904	92%	1,2	
<i>TSPAN15</i>	rs78707713	95%	1,3	

AT: antitrombina; PC: proteína C; PS: proteína S; PT: protrombina; FVIII: factor VIII, FvW: factor von Willebrand; EPCR: receptor endotelial de proteína C. TTPa: tiempo de tromboplastina parcial activado; SNPs: polimorfismo de un solo nucleótido; mut: mutación.

Con estos resultados, durante casi una década se llegó a plantear que la trombosis podría ser una enfermedad monogénica, autosómica y dominante. Sin embargo, pronto se objetivó que esta visión era incorrecta. La incidencia de historia familiar de trombosis no es elevada y la prevalencia de las deficiencias de anticoagulantes en la cohorte de pacientes con trombosis venosa era incluso anecdótica, y apenas llegaba al 10% en pacientes consecutivos con trombosis⁶. La baja prevalencia de las deficiencias de anticoagulantes no podía justificar la elevada incidencia de trombosis (1/1.000 sujetos/año). Por ello, en la década de los noventa se empezó a plantear otra hipótesis: que la misma base molecular que explica la variabilidad en la especie humana también justificase la diferente susceptibilidad para desarrollar enfermedades, especialmente las más prevalentes. Y la demostración de esta hipótesis se realizó precisamente en el campo de la trombosis con la identificación del factor V Leiden. Se trata de un polimorfismo frecuente en la población, que, debido a sus consecuencias funcionales (el cambio de aminoácido inducido por la mutación-Arg506Gln-provoca que la variante del FV se inactive de forma menos eficaz por la proteína C activada), incrementa moderadamente el riesgo de trombosis (3-4 veces en heterocigosis) (Tabla 1)⁷. La identificación dos años después por el mismo grupo de otro polimorfismo protrombótico en otro gen del sistema hemostático, la protrombina⁸, llevó a plantear que la trombosis venosa era un trastorno multigénico y estimuló la búsqueda de nuevos polimorfismos protrombóticos.

De hecho, y para ser justos con la historia, la evidencia de la asociación de un polimorfismo con el riesgo trombótico surgió 4 años después de la identificación del primer defecto trombofílico, ya que Jick y cols. demostraron que el grupo sanguíneo ABO, definido por una serie de polimorfismos, se asociaba significativamente con el riesgo de trombosis venosa (Tabla 1)⁹.

Sin embargo, la idea de que esta situación se generalizase a todos los elementos del sistema hemostático y pudiéramos encontrar multitud de polimorfismos protrombóticos, tras unos primeros años de confusión, se descartó. Recientes estudios que han evaluado el papel de polimorfismos que cubren todo el genoma (estudios GWAS) en el desarrollo de trombosis venosa confirman el papel del polimorfismo del FV Leiden, protrombina G20210A y el grupo ABO, pero solo muestran, y con cierta polémica como comentaremos después, una decena de nuevos polimorfismos protrombóticos, todos con OR < 2 (Tabla 1)^{10,11}. Estos estudios permiten obtener interesantes conclusiones, aunque también muestran algunas controversias. En primer lugar, se descarta que al menos en población caucásica existan nuevos polimorfismos protrombóticos de alta prevalencia y/o asociados con alto riesgo trombótico (OR > 2). En segundo lugar, estos estudios han mostrado genes, en principio no relacionados al menos directamente con el sistema hemostático que parecen desempeñar un papel en el desarrollo de trombosis. Pero también estos estudios presentan ciertas discrepancias: los polimorfismos protrombóticos no están bien definidos (para un mismo gen, el listado de polimorfismos varía, incluso en trabajos del mismo grupo), y sobre todo, muestran que alteraciones de baja prevalencia serán difícilmente identificables mediante esta aproximación.

Aplicaciones clínicas de las trombofilias conocidas

El principal motivo que ha provocado una desmotivación en el estudio de las trombofilias, y quizás en el esfuerzo para descubrir nuevos factores genéticos implicados en el riesgo trombótico, radica en la limitada utilidad clínica que tiene la identificación de incluso trombofilias plenamente reconocidas como el FV Leiden. El riesgo absoluto de trombosis asociado con la mayoría de alteraciones descritas en la Tabla 1, especialmente las alteraciones más prevalentes, es tan bajo que la identificación de estos polimorfismos protrombóticos no aporta beneficios clínicos en el manejo de portadores¹². Solo el diagnóstico de trombofilias severas, deficiencias de antitrombina, proteína C y proteína S, y con evidencias poco robustas, parece que tienen utilidad clínica: justifica la prolongación del tratamiento anticoagulante en portadores sintomáticos¹³ y el uso de profilaxis antitrombótica en situaciones de riesgo para portadores asintomáticos¹⁴. Recientemente se ha demostrado que las trombofilias severas, pero no los polimorfismos protrombóticos, aumentan significativamente el riesgo absoluto de trombosis venosa en mujeres con anticonceptivos orales (unos 4 eventos/100 píldoras/año)¹⁵.

Quizás incluso en el campo de las trombofilias severas tengamos que afinar más, ya que no todas las mutaciones, aunque provoquen un efecto funcional aparentemente similar (por ejemplo una deficiencia de actividad anti-FXa de antitrombina del 50%) tengan el mismo riesgo trombótico. De hecho, existen mutaciones con bajo riesgo trombótico¹⁶ y otras con riesgo muy alto¹⁷.

Es probable que el desarrollo de algoritmos informáticos que tengan en consideración el perfil genético de cada persona pueda conseguir una predicción individualizada del riesgo trombótico. Sin embargo, es necesario en primer lugar identificar todos los elementos genéticos implicados, así como definir las relaciones que pueden tener entre ellos.

Nuevas perspectivas

El inicio del siglo XXI en el campo de la trombofilia ha vuelto al pasado: el estudio de familias con trombofilia. Con esta aproximación se han identificado dos nuevas trombofilias que afectan a genes de hemostasia: el *FVIII* (FVII Padua; p.Arg338Leu)¹⁸, y la protrombina (PT Yukuhashi; p.Arg596Leu)¹⁹. Pero estas se restringen exclusivamente a las familias identificadas.

Es posible que el desarrollo e implantación de los métodos de secuenciación de última generación nos permitan asistir a la identificación masiva de nuevos defectos trombofílicos. La realidad es que, aunque hay algún estudio interesante aún no validado²⁰, es intrigante plantearnos por qué estos métodos ya han identificado la base molecular de otras enfermedades, incluyendo desordenes plaquetarios²¹, pero hasta la fecha no han identificado nuevos defectos trombofílicos. Esta ausencia de resultados en el campo de la trombofilia podría explicarse por la complejidad de este desorden, tanto en los elementos implicados, no necesariamente ligados directamente con el sistema hemostático, como en el hecho de que no se puede considerar el efecto aislado de un solo elemento dentro del propio sistema hemostático y por tanto haya que plantearse una búsqueda condicionada a la presencia de otras alteraciones o factores ambientales, como veremos más adelante.

Es por tanto necesario plantear nuevas aproximaciones de búsqueda de elementos trombofílicos. En esta revisión ofrecemos tres diseños planteados por nuestro grupo que han generado interesantes resultados y cambian notablemente la perspectiva en este campo:

- a) *Defectos trombofílicos reguladores. Nuevas regiones de interés.* La mayor parte de las trombofilias, como en el resto de enfermedades se deben a mutaciones en las regiones codificantes de genes que codifican proteínas directamente relacionadas con el sistema. Como ejemplo tomamos la deficiencia de antitrombina; hasta el 20% de los casos presentan mutaciones o deleciones en exones del gen *SERPINC1*²². El análisis de otras regiones del gen, especialmente en casos sin base molecular conocida, puede mostrar nuevas regiones y mecanismos relevantes con importancia en este campo. Nuestro grupo ha demostrado la importancia de elementos de respuesta a vitamina D en el gen *SERPINC1* y como mutaciones en estas regiones pueden provocar deficiencia de antitrombina y por tanto incrementar el riesgo de trombosis²³. Además, no podemos descartar que mutaciones profundas en intrones o en regiones 3'UTR puedan causar defectos relevantes a través de procesamiento aberrante de exones o regulación por miRNAs. Estos datos estimulan el empleo de métodos de secuenciación masiva, analizando el gen completo, para estudios de trombofilia. No obstante, pueden existir alteraciones moleculares de difícil diagnóstico con las técnicas que se usan con mayor frecuencia (secuenciación Sanger o NGS), como las grandes duplicaciones cuyo papel en trombofilia puede ser relevante.
- b) *Nuevos elementos no relacionados con el sistema hemostático: modificaciones post-traduccionales.* La búsqueda del mecanismo molecular subyacente a la deficiencia de antitrombina en 30 casos sin mutaciones en el gen *SERPINC1* nos permitió identificar una nueva trombofilia. En 8 casos (27%) detectamos variantes de antitrombina con menor tamaño. El defecto en estos casos no residía en el gen que codifica para la antitrombina, sino en otros genes implicados en una modificación post-traducciona que experimenta la antitrombina: la N-glicosilación. Defectos en la ruta de N-glicosilación, en la que al menos están implicados 16 genes, provoca una hipoglicosilación global que también afecta a proteínas hemostáticas, causando una deficiencia de antitrombina que contribuye al riesgo trombótico de estos pacientes²⁴.
- c) *Trombofilias congénitas transitorias.* Una alteración genética es permanente y se trasmite a la siguiente generación. Sin embargo, el efecto funcional, y especialmente patogénico de una mutación no tiene porqué ser permanente. Este problema lo abordamos estudiando los casos con deficiencia de antitrombina transitoria, aquellos casos en los que existían discrepancias en los resultados obtenidos en dos muestras del mismo paciente. La posibilidad de deficiencias adquiridas provocadas por diferentes factores ambientales, problemas metodológicos o tratamientos como la L-asparaginasa, está bien conocida. Por ello, nunca se re-

comendaba realizar un análisis molecular en los casos con resultados funcionales conflictivos²⁵. No obstante, nuestro grupo secuenció el gen *SERPINC1* en 67 casos con estas características, identificando una mutación recurrente en 5 casos: p.Val30Glu, responsable de una variante (antitrombina Dublín) que carece del dipéptido aminoterminal puesto que la mutación provoca el procesamiento erróneo del péptido señal²⁶. El papel patológico de esta mutación ya se había cuestionado pues aunque solo se había detectado en pacientes con trombosis, genera una proteína variante que se secreta con normalidad y aparentemente tiene afinidad por heparina y actividad anticoagulante normal²⁷. La situación cobra mayor interés cuando nuestro estudio y otros coinciden al indicar que esta alteración, que es un polimorfismo de baja prevalencia en la población general (0,3%) incrementa moderada pero significativamente el riesgo trombótico (OR: 2,4)^{10,26}. Además, la expresión de esta variante en un modelo celular eucariota mostraba que la variante se expresaba pero no funcionaba, ya que formaba polímeros²⁶. La explicación que ofrecemos es que la variante generada por esta mutación se pliega correctamente en condiciones normales, pero en situaciones de estrés la proteína polimeriza. Esta hipótesis no es nueva, ya que se han descrito otros mutantes que confieren sensibilidad conformacional, y que por tanto solo tienen efecto patogénico en ciertas condiciones, como ligeros incrementos de temperatura^{28,29}. Por ello, proponemos el término de trombofilia congénita transitoria para definir estas mutaciones cuyo efecto funcional y patogénico dependen de la presencia de otros factores. El diagnóstico de estas alteraciones es complejo si se sustenta en pruebas funcionales, ya que solo se detectarían cuando la muestra se recoge en el momento en el que está presente el factor desencadenante. Este resultado también obliga a plantear cuántas alteraciones moleculares sin aparente efecto patogénico pudieran tenerlo en determinadas condiciones.

Futuro del estudio de trombofilias

El papel de los elementos genéticos en el desarrollo de trombosis es incuestionable, por ello y por la importancia de la trombosis en sociedades que envejecen, es necesario ampliar el conocimiento de las alteraciones genéticas relacionadas con esta enfermedad. Los métodos de secuenciación masiva sin duda ayudarán en esta tarea, pero no debemos olvidar las importantes interrelaciones que los diferentes elementos hemostáticos tienen y el papel de otros sistemas o rutas, y de factores ambientales en la propia hemostasia. También debemos corregir las actuales limitaciones de los test de trombofilia. Las pruebas funcionales que se emplean en las pruebas de trombofilia que se realizan en los laboratorios hospitalarios tienen importantes limitaciones³⁰ y deben implementar sensibilidad y especificidad, porque no solo las grandes deficiencias, sino incluso las moderadas también pueden tener relevancia clínica³¹. Y finalmente, no podemos olvidarnos de factores genéticos protectores de trombosis, que también deben incorporarse en las pruebas de trombofilia con el objetivo último de definir de forma personalizada el riesgo de trombosis.

Agradecimientos

Este trabajo se ha realizado gracias a financiación de los proyectos PI15/00079 y CB15/00055, del ISCIII & FEDER; 19873/GERM/15 Fundación Séneca; Sociedad Española de Hemostasia y Trombosis, y el premio GATRA de Grifols.

Bibliografía

- Nygaard KK, Brown GE. Essential thrombophilia: Report of five cases. *Archives of Internal Medicine* 1937;59:82-106.
- Jordan FLJ, Nandorff A. The Familial Tendency in Thrombo-embolic Disease. *Acta Medica Scandinavica* 1956;156:267-75.
- Egeberg O. Inherited antithrombin deficiency causing thrombophilia. *Thromb Diath Haemorrh* 1965;13:516-30.
- Souto JC, Almasy L, Borrell M, 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;67:1452-9.
- Zöller B, Li X, Sundquist J, et al. Age- and gender-specific familial risks for venous thromboembolism: a nationwide epidemiological study based on hospitalizations in Sweden. *Circulation* 2011;124:1012-20.
- 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.
- Bertina RM, Koeleman BP, Koster T, et al. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature* 1994;369:64-7.
- Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH, et al. A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood* 1996;88:3698-703.
- Jick H, Slone D, Westerholm B, et al. Venous thromboembolic disease and ABO blood type. A cooperative study. *Lancet* 1969;1:539-42.
- 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.
- Hinds DA, Buil A, Ziemek D, et al. Genome-wide association analysis of self-reported events in 6135 individuals and 252 827 controls identifies 8 loci associated with thrombosis. *Hum Mol Genet*; 2016;9. pii: ddw037. [Epub ahead of print].
- Baglin T, Gray E, Greaves M, et al. Clinical guidelines for testing for heritable thrombophilia. *Br J Haematol* 2010;149:209-20.
- 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.
- 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.
- Van Vlijmen EF, Wiewel-Verschueren S, Monster TB, et al. Combined oral contraceptives, thrombophilia and the risk of venous thromboembolism: a systematic review and meta-analysis. *J Thromb Haemost* 2016;28. DOI: 10.1111/jth.13349. [Epub ahead of print].
- 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.
- Martínez-Martínez I, Navarro-Fernández J, Águila 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.
- 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.
- Miyawaki Y, Suzuki A, Fujita J, et al. Thrombosis from a prothrombin mutation conveying antithrombin resistance. *N Engl J Med* 2012;366:2390-6.
- 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.
- Watson SP, Lowe GC, Lordkipanidzé M, et al. Genotyping and phenotyping of platelet function disorders. *J Thromb Haemost*. 2013;Suppl 1:351-63.
- Luxembourg B, Delev D, Geisen C, et al. Molecular basis of antithrombin deficiency. *Thromb Haemost* 2011;105:635-46.
- Toderici M, de la Morena-Barrio ME, Padilla J, et al. Identification of Regulatory Mutations in SERPINC1 Affecting Vitamin D Response Elements Associated with Antithrombin Deficiency. *PLoS One* 2016;11:e0152159.
- De la Morena-Barrio ME, Martínez-Martínez I, de Cos C, et al. Hypoglycosylation is a common finding in antithrombin deficiency in the absence of a *SERPINC1* gene defect. *J Thromb Haemost* 2016 [In press].
- Kottke-Marchant K, Duncan A. Antithrombin deficiency: issues in laboratory diagnosis. *Arch Pathol Lab Med* 2002;126:1326-36.
- Navarro-Fernández J, de la Morena-Barrio ME, Padilla J, et al. Antithrombin Dublin (p.Val30Glu): a relatively common variant with moderate thrombosis risk of causing transient antithrombin deficiency. *Thromb Haemost*. 2016;116. [Epub ahead of print].
- Daly M, Bruce D, Perry DJ, et al. Antithrombin Dublin (-3 Val-Glu): an N-terminal variant which has an aberrant signal peptidase cleavage site. *FEBS Lett* 1990;273:87-90.
- 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.
- Corral J, Vicente V, Carrell RW. Thrombosis as a conformational disease. *Haematologica* 2005;90:238-46.
- Corral J, Vicente V. Puzzling questions on antithrombin: Diagnostic limitations and real incidence in venous and arterial thrombosis. *Thromb Res* 2015;135:1047-8.
- Di Minno MN, Dentali F, Lupoli R, et al. Mild antithrombin deficiency and risk of recurrent venous thromboembolism: a prospective cohort study. *Circulation* 2014;129:497-503.

Rol emergente de la positividad múltiple de aPL en el síndrome antifosfolípido

R. Forastiero

Departamento de Fisiología. Universidad Favaloro. Buenos Aires, Argentina

Criterios del síndrome antifosfolípido

El síndrome antifosfolípido (SAF) es una enfermedad autoinmune que se define por la presencia de anticuerpos antifosfolípidos (aFL) en el plasma de pacientes con complicaciones trombóticas tanto en territorio venoso como arterial y/o con morbilidad obstétrica (abortos de repetición, muerte fetal, retardo del crecimiento intrauterino, eclampsia, etc.)¹.

En 1999 se presentaron oficialmente por primera vez los criterios clínicos y de laboratorio para diagnosticar el SAF. Son conocidos como los criterios de SAF de Sapporo². Los aFL presentes en pacientes con SAF están dirigidos principalmente contra dos proteínas plasmáticas con alta afinidad por los fosfolípidos: b₂ glicoproteína I (β₂GPI) y protrombina (PT). Por el contrario, los aFL que se encuentran en individuos con infecciones están dirigidos particularmente contra estructuras fosfolípídicas. La excepción más categórica es en lepra lepromatosa, en donde los aFL están dirigidos en su mayoría contra β₂GPI³. El aumento en la predisposición a la trombosis en pacientes con SAF se debe al fenotipo procoagulante inducido.

Más recientemente (2006), el consenso de expertos ha actualizado los criterios clínicos y de laboratorio para diagnosticar este síndrome⁴. Los aFL en el plasma de pacientes pueden ser detectados como actividad de anticoagulante lupico (AL) a través de la prolongación de pruebas de coagulación dependientes de fosfolípidos o a través de ensayos en fase sólida como los ELISA para anticuerpos anticardiolipina (aCL) o anti-β₂GPI (aβ₂GPI). Para el diagnóstico del SAF se requiere que los aFL sean demostrados en al menos dos oportunidades con un período no menor de 12 semanas entre ambas evaluaciones de laboratorio. Los aCL y/o aβ₂GPI de isotipo IgG y/o IgM deben estar presentes en títulos moderados o altos⁴. Un punto que se remarca en los criterios de 2006 es la recomendación de clasificar en los estudios clínicos a los pacientes en dos tipos: I (cuando los pacientes presentan combinaciones de aFL) o II (cuando solo presentan positividad aislada de alguno de los 3 aFL).

Evolución del rol clínico del perfil de aFL (de simple a múltiple positividad)

Con la evaluación de los 3 aFL incorporados a los criterios diagnósticos del SAF desde 2006 y al estudio por parte de diferentes grupos de investigadores de además otros anticuerpos de la familia de aFL (no incluidos en los criterios de SAF), se ha observado que no todos los aFL tienen el mismo rol en el riesgo clínico. El AL es uno de los aFL con mayor asociación con el riesgo trombotico. Dentro de los aFL detectados inmunológicamente,

la presencia de aβ₂GPI parece ser un mejor marcador que la de aCL. En particular, cuando los aFL son del isotipo IgG³. El riesgo tromboembólico asociado a aCL y aβ₂GPI se incrementa en forma paralela con el título de anticuerpos y cuando los pacientes tienen combinación de aFL. Distintos trabajos publicados en los últimos años han remarcado, a través de estudios prospectivos, que el perfil de positividad de los aFL es importante para definir el riesgo clínico de los pacientes⁵⁻⁷. El concepto actual es que la triple positividad (AL + aβ₂GPI + aCL) confiere un mayor riesgo al desarrollo del primer evento de trombosis o a la recurrencia tromboembólica. En el estudio publicado en 2010, 160 pacientes con SAF con triple positividad fueron evaluados en un ensayo prospectivo⁵. Una de las conclusiones fue que la incidencia de recurrencia de trombosis era de 12,2, 26,1 y 44,2% después de 1, 5 y 10 años de seguimiento. Es importante remarcar que la recurrencia era muy alta a pesar de la terapia anticoagulante. En otro estudio prospectivo⁷, pero que incluía 104 individuos que eran portadores asintomáticos de aFL del perfil triple positividad la incidencia de primer evento trombótico fue de 5,3%/año (seguimiento de 4,5 años). En población normal la incidencia anual es de 0,4%.

El perfil de aFL inicial es también importante en definir el comportamiento a futuro de positividad en los pacientes. El 98% de los pacientes con triple positividad confirma su patrón de resultados a los 12 meses, mientras que aquellos con doble positividad lo hacen en el 84% de los casos y aquellos con simple positividad solamente en el 40% de los casos⁸. El riesgo de eventos clínicos aumenta progresivamente con el número de ensayos positivos de aFL y la positividad múltiple en aFL parece ser el único perfil que identifica pacientes de alto riesgo de trombosis. Basándose en estos hallazgos se ha propuesto recategorizar a los pacientes con aFL tanto con enfermedad trombótica como mujeres con complicaciones obstétricas. La propuesta del Dr. Pengo consiste en definir a los pacientes con AL + aβ₂GPI + aCL como los de mayor riesgo clínico, a los que tienen doble positividad (AL negativo y aβ₂GPI/aCL positivos) como de riesgo moderado y los de bajo riesgo clínico serían aquellos con simple positividad de cualquiera de los tres aFL⁹.

Es probable que la triple positividad sea debido a los aβ₂GPI dirigidos contra el dominio I (D1) de la β₂GPI. La detección de los aβ₂GPI-D1 parece ser un nuevo y excelente biomarcador de riesgo y evaluación de SAF. Por el contrario, los aβ₂GPI dirigidos contra alguno de los otros cuatro dominios de la proteína parecen ser no patogénicos. En un estudio internacional multicéntrico que incluyó 442 pacientes con aβ₂GPI, se concluyó que la presencia de aβ₂GPI-D1 de isotipo IgG se asociaba a los eventos de trombosis y complicaciones obstétricas¹⁰. En un estudio realizado en

Italia, la frecuencia y títulos de $\alpha\beta_2$ GPI-D1 de isotipo IgG fueron mucho mayores en los pacientes con triple positividad en comparación con pacientes con doble o simple positividad. En ese estudio la detección de $\alpha\beta_2$ GPI-D1 permitió clasificar correctamente a los pacientes de riesgo¹¹.

La familia de aFL, como mencionamos antes, incluye además otros anticuerpos tales como aPT y anti-complejo PT-fosfatidilserina (aPT/PS). La triple positividad para AL, IgG $\alpha\beta_2$ GPI, e IgG aPT demostró el mayor riesgo anual de trombosis en un estudio prospectivo llevado a cabo por nuestro grupo¹². En el seguimiento durante un promedio de 45 (rango de 3-120) meses de 194 pacientes con AL y/o aCL la incidencia anual de trombosis (recurrencia o primer evento de trombosis) fue de 5,6%. En aquellos con ese perfil de triple positividad la incidencia fue aún mayor (8,4%/año). Los aPT-IgG en pacientes con LES demostraron ser un predictor muy útil de trombosis¹³.

La evaluación de aPS/PT podría ayudar a definir pacientes de riesgo. Hay algunos ensayos comerciales para la detección de aPS/PT y en un ensayo internacional demostró ser un marcador de confirmación de la presencia de AL y además se asoció fuertemente a la presencia de SAF y en particular el isotipo IgG¹⁴. Recientemente se evaluó el potencial clínico de la combinación de 6 tipos de aFL en 230 pacientes con LES y se halló que el perfil que identifica pacientes con el riesgo más alto de SAF es aquel que combina AL + $\alpha\beta_2$ GPI + aPS/PT¹⁵. En un estudio más reciente con 160 pacientes con SAF, se encontró que los aPT/PS de isotipo IgG o IgM son mucho más frecuentes en pacientes que tienen perfil de triple positividad comparado con aquellos con doble o simple positividad. Además, se halló que había un 9,4% de 128 pacientes con criterios clínicos de SAF pero resultados negativos de aFL que tenían presencia de aPT/PS¹⁶.

Considerando el conocimiento actual, los nuevos aFL ($\alpha\beta_2$ GPI-D1 y aPS/PT), y los diferentes perfiles de aFL se propone incluir en la definición del SAF la categorización del riesgo clínico^{17,18}.

Conclusión

Es importante recordar que por ahora solo AL, aCL y $\alpha\beta_2$ GPI permanecen como criterios de laboratorio para definir el perfil de riesgo de los pacientes con aFL. Sin embargo, la incorporación de nuevos ensayos para los aFL, al menos en estudios clínicos en curso, nos permitirá en un futuro cercano conocer cuál perfil es el de mayor riesgo clínico y eso tendrá gran influencia en las decisiones terapéuticas necesarias para el mejor manejo clínico de los pacientes con aFL.

Bibliografía

- Ruiz-Irastorza G, Crowther M, Branch W, Khamashta MA. Antiphospholipid syndrome. *Lancet* 2010;376:1498-509.
- Wilson W, Gharavi A, Koike T, Lockshin M, Branch W, Piette J, et al. International consensus statement on the preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome. *Arthritis Rheum* 1999;42:1309-11.
- Forastiero R, Martinuzzo M. Antigen specificity and clinical relevance of antiphospholipid syndrome-related autoantibodies. *Curr Rheumatol Rev* 2005;1:177-87.
- Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost* 2006;4:295-306.
- Pengo V, Ruffatti A, Legnani C, Gesele P, Barcellona D, Erba N, et al. Clinical course of high-risk patients diagnosed with antiphospholipid syndrome. *J Thromb Haemost* 2010;8:237-42.
- Hernández-Molina G, Espericueta-Arriola G, Cabral AR. The role of lupus anticoagulant and triple marker positivity as risk factors for rethrombosis in patients with primary antiphospholipid syndrome. *Clin Exp Rheumatol* 2013;31:382-8.
- Pengo V, Ruffatti A, Legnani C, Testa S, Fierro T, Marongiu F, et al. Incidence of a first thromboembolic event in asymptomatic carriers of high-risk antiphospholipid antibody profile: a multicenter prospective study. *Blood* 2011;118:4714-8.
- Pengo V, Ruffatti A, Del Ross T, Tonello M, Cuffaro S, Hoxha A, et al. Confirmation of the initial of the antiphospholipid antibody positivity depends on antiphospholipid antibody profile. *J Thromb Haemost* 2013;11:1053-8.
- Pengo V, Banzato A, Bison E, Denas G, Padayattil S, Ruffatti A. Antiphospholipid syndrome: critical analysis of the diagnostic path. *Lupus* 2010; 19:428-31.
- 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.
- Pengo V, Ruffatti A, Tonello M, Cuffaro S, Banzato A, Bison E, et al. Antiphospholipid syndrome: antibodies to Domain I of β_2 -glycoprotein I correctly classify patients at risk. *J Thromb Haemost* 2015;13:782-7.
- Forastiero R, Martinuzzo M, Pombo G, Puente D, Rossi A, Calebrin L, et al. A prospective study of antibodies to β_2 glycoprotein I and prothrombin and risk of thrombosis. *J Thromb Haemost* 2005;3:1231-8.
- Bizzaro N, Ghirardello A, Zampieri S, Iaccarino L, Tozzoli R, Ruffatti A, et al. Anti-prothrombin antibodies predict thrombosis in patients with systemic lupus erythematosus: a 15-year longitudinal study. *J Thromb Haemost* 2007;5:1158-64.
- Amengual O, Forastiero R, Sugiura-Ogasawara M, Otomo K, Oku K, et al. International multicenter study to assess the role of phosphatidylserine-dependent antiprothrombin antibodies for antiphospholipid syndrome diagnosis. *Arthritis Rheum* 2016 (in press).
- Sciascia S, Murru V, Sanna G, Roccatello D, Khamashta MA, Bertolaccini ML. Clinical accuracy for diagnosis of antiphospholipid syndrome in systemic lupus erythematosus: evaluation of 23 possible combinations of antiphospholipid antibody specificities. *J Thromb Haemost* 2012;10:2512-8.
- Hoxha A, Ruffatti A, Mattia E, Meneghel L, Tonello M, Salvani E, et al. Relationship between antiphosphatidylserine/prothrombin and conventional antiphospholipid antibodies in primary antiphospholipid syndrome. *Clin Chem Lab Med* 2015;53:1265-70.
- Forastiero R. Multiple antiphospholipid antibodies positivity and antiphospholipid syndrome criteria re-evaluation. *Lupus* 2014;23:1252-4.
- Forastiero R, Martinuzzo M. The emerging role of multiple antiphospholipid antibodies positivity in patients with antiphospholipid syndrome. *Expert Rev Clin Immunol* 2015;11:1255-63.

Nuevos paradigmas en trombosis venosa y arterial

COORDINADORES: J. Orbe Lopategui. CIMA, Universidad de Navarra. Pamplona
J.C. Reverter Calatayud. Hospital Clínic de Barcelona. Barcelona

La trombosis constituye la principal causa de mortalidad en nuestro medio y representa un importante reto sociosanitario. Nuestra comprensión de la trombosis ha evolucionado más allá de las definiciones tradicionales para revelar la compleja interacción de factores hemostáticos, células y factores ambientales. El análisis de estas interacciones es un escenario favorable para proporcionar nuevos biomarcadores y establece su importancia en la identificación, tratamiento y evolución de sujetos con mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares y tromboembolismo venoso.

En este simposio, a la luz de los avances recientes sobre las bases moleculares de la trombosis, pretendemos incidir en varios aspectos novedosos en el diagnóstico y el tratamiento de la patología trombótica arterial y venosa.

La Dra. Cristina Puy –Oregon Health & Science University de Portland (EE. UU.)– realizará una revisión de las investigaciones más recientes sobre el papel del FXI en la hemostasia y la trombosis, mostrando los mecanismos por los que promueve la coagulación independientemente de la vía de contacto. Mostrará cómo estos avances pueden, además, contribuir a mejorar el diagnóstico y tratamiento de los episodios hemorrágicos en pacientes con déficit de FXI.

La Dra. Pilar Medina –Centro de Investigación, Hospital Universitari i Politècnic La Fe de Valencia– abordará el tema de la inmunotrombosis, centrándose en el papel de las *neutrophil extracellular traps* (NETs) o redes extracelulares de ADN, histonas y proteínas procedentes de los gránulos de neutrófilos, liberadas en respuesta a estímulos inflamatorios y patógenos, que son capaces de activar la coagulación y participan en los procesos trombóticos y de resolución de coágulos. También analizará la asociación de los principales componentes de los NETs (ADN, nucleosomas, calprotectina y mieloperoxidasa) con el riesgo de tromboembolismo venoso.

El Dr. Joan Montaner –Hospital Universitario Vall d’Hebrón de Barcelona e IBiS de Sevilla– profundizará en el uso de biomarcadores en la predicción del riesgo de ictus y en la neuroprotección para identificar poblaciones con mayor riesgo vascular y proteger su cerebro o minimizar el daño cerebral antes o después del ictus.

Por último, el Dr. Ramón Lecumberri –Clínica Universidad de Navarra de Pamplona– analizará los factores clínicos y biológicos asociados a la aparición de enfermedad tromboembólica venosa y a su recurrencia. Además, analizará la validez de los modelos predictivos, ofreciéndonos una aproximación práctica que ayude a seleccionar aquellos pacientes que se beneficiarían de la prolongación del tratamiento anticoagulante.

The hemostatic role of factor XI

C. Puy, Owen, J.T. McCarty

Departments of Biomedical Engineering, Division of Hematology and Medical Oncology, School of Medicine, Oregon Health & Science University, Portland, OR, EE.UU.

Introduction

Hemostasis is a process in which a damaged blood vessel wall is closed off by a fibrin-rich platelet plug to stop the loss of blood into the extracellular space and initiate the repair of the damaged endothelium. This process begins with the activation of coagulation factors in the blood and is classically divided into two pathways known as the intrinsic and the extrinsic pathways of coagulation, which converge on the generation of thrombin and fibrin to form a hemostatic plug or clot. The intrinsic pathway, also called the contact pathway, can be activated *in vitro* when blood is exposed to negatively charged substances or artificial surfaces, which causes the conversion of factor XII (FXII) into activated FXII (FXIIa)¹. FXIIa cleaves the coagulation factor prekallikrein (PK) to generate active kallikrein, which in turn feeds back to activate additional FXII. Activated FXII initiates the activation of factor XI (FXI) to FXIa, which in turn activates factor IX (FIX) to FIXa. Activated FIX activates factor X (FX) to FXa, after which the contact pathway leads into the common or final pathway, resulting in the generation of thrombin and fibrin formation. Meanwhile, the extrinsic pathway of coagulation is initiated by the exposure of blood to tissue factor (TF) in complex with activated FVII (FVIIa), which induces the activation of FX and FIX and initiation of the common pathway leading to thrombin and fibrin formation². Blood platelets also become activated and play an important role in hemostasis, releasing additional activating compounds, providing a surface to accelerate reactions, and aggregating to form the bulk of the clot.

Deficiency in some coagulation factors is associated with bleeding disorders. FIX deficiency is associated with the severe bleeding disorder hemophilia B, and FVIII deficiency causes hemophilia A. However, despite the ability of the contact activation pathway to initiate coagulation *in vitro*, FXI appears to be the only contact factor required for hemostasis. Deficiencies in FXII, PK or HK are not associated with bleeding tendencies, while FXI-deficient patients sometimes present with mild bleeding, suggesting that the role of FXI in hemostasis is independent of contact activation¹.

Role of FXI in the intrinsic and extrinsic pathway

The role of FXI in activating the extrinsic pathway involves multiple mechanisms, due to the promiscuous interaction of FXI with a number of enzymatic substrates. The previous understanding that FXI only participated in the contact pathway was first questioned upon the discovery that FXI can be activated by thrombin downstream of the extrinsic pathway³. Although FXIa's primary substrate is the contact pathway factor FIX, more recently FXI has also been shown to activate FX *in vitro*⁴ and to promote

thrombin generation by activating the cofactors FVIII and FV⁵. FXIa is also known to shorten the clotting time of recalcified FIX-depleted plasma, again revealing its pro-coagulant activity independent of FIX⁴. We have also recently discovered that FXIa promotes activation of the extrinsic pathway through proteolysis of tissue factor pathway inhibitor (TFPI)⁶, a Kunitz-type protease that is the primary inhibitor of the TF/FVIIa/FXa complex. This inhibitory activity of FXI against TFPI may represent an important new mechanism by which FXI promotes coagulation independent of the contact pathway.

Additionally, it appears that the presence of platelets is required for FXIa to support hemostasis through the extrinsic pathway. Activated platelets release short-chain polyphosphates (polyP; 70-85-mer), which are linear polymers of orthophosphate linked by phosphoanhydride bonds. Platelet polyP can enhance the feedback activation of FXI by thrombin by approximately three thousand-fold¹⁰. Interestingly, platelet-derived polyP has been shown to enhance the activation of FXI in a flow chamber model independently of FXIIa, and this activation requires the participation of the extrinsic pathway⁹.

FXI and hemostasis

Hemophilia C, the congenital deficiency of coagulation FXI, is associated with postoperative or posttraumatic bleeding, especially in tissues with robust fibrinolytic activity such as the nose, oral cavity, and urinary tract¹⁰. However, current diagnostic tests are unable to accurately predict bleeding tendencies in FXI-deficient patients, as the symptoms are highly variable between patients and poorly correlated with plasma FXI levels. As a result, some FXI-deficient individuals may receive unnecessary FXI replacement therapy, which has been shown to enhance the risk of thrombosis or transfusion-related complications. Conversely, FXI-deficient patients left untreated can be at increased risk of life-threatening hemorrhage during surgery, presenting a serious dilemma for clinicians and patients.

One common diagnostic test, the activated partial thromboplastin time (aPTT) assay, which measures thrombin generation in platelet-poor plasma (PPP) following contact pathway activation, has not been found to accurately predict the bleeding phenotype of FXI-deficient patients. In contrast, a recent study demonstrated that a thrombin generation assay in platelet-rich plasma (PRP) in which the contact pathway was inhibited while the extrinsic pathway was activated via TF was able to successfully identify which FXI-deficient patients demonstrated a bleeding phenotype¹¹. This claim is supported by studies showing that patients deficient in the contact activation initiators FXII, prekallikrein

and high-molecular-weight kininogen (HK) do not exhibit bleeding symptoms as do FXI-deficient patients. Therefore, the role of FXI in hemostasis is likely due to its involvement in the extrinsic, TF-mediated pathway rather than the contact pathway.

From a clinical perspective, the balance between TFPI and FXI may represent an important axis between bleeding and hemostasis, respectively. TFPI inhibitory activity appears to assume a central role in the pathogenesis of bleeding in patients with FVIII deficiency (hemophilia A). TFPI-blocking antibodies shorten the clotting time of FVIII-deficient plasma, restoring hemostasis, and administration of TFPI-blocking antibodies also improves hemostasis in hemophilic mice¹². Meanwhile, our recent results demonstrating the ability of FXIa to inactivate TPFI suggest that FXI may play an important role in the counter-balancing the anti-hemostatic function of TFPI. It has been shown that patients with severe FXI deficiency and a history of bleeding exhibit higher levels of TFPI than asymptomatic patients¹³. TFPI levels may therefore serve as an important marker for bleeding risk in FXI-deficient patients.

FXI and thrombosis

Despite the recent discoveries of the modest role of FXI in hemostasis, a number of studies have shown a significant role for FXI in promoting thrombosis. While mice lacking the contact factors FXII, HK, PK or FXI are resistant to experimental-induced thrombosis^{14,15}, in humans, FXI seems to be strongest candidate for playing a role in thrombosis. Patients with severe FXI deficiency were reported to exhibit protection from ischemic stroke and a lower incidence of venous thromboembolism (VTE)¹⁶. Conversely, higher levels of FXI were associated with increased risk of VTE and ischemic stroke¹⁷. Reducing factor XI levels in patients undergoing unilateral total knee arthroplasty has been shown to be an effective method for the prevention of postoperative VTE, suggesting FXI inhibition as an effective method of anticoagulation in surgery¹⁸.

The contact pathway and the TF-FVIIa complex together have been shown to contribute to venous thrombosis in a mouse model, suggesting a combined role for the intrinsic and extrinsic pathways in thrombosis¹⁹. Our work suggests that FXI may provide the common link between these two pathways in thrombosis. We have observed that inhibition of FXI activation by FXIIa is protective in a mouse model of thrombosis and also beneficial in mouse model of TF-induced pulmonary embolism²⁰. Furthermore, we have shown that in a non-human primate model of thrombosis, the inhibition of FXI activation reduced intraluminal thrombus growth initiated by TF²¹. Our observations suggest this thrombotic potential of FXI can be explained by both the ability of FXIa to promote the extrinsic pathway of thrombin generation via inactivation of TFPI and by the feedback activation of FXI by thrombin to further amplify the extrinsic pathway.

Research into the role of FXI in hemostasis and thrombosis is ultimately focused on identifying new therapeutic targets to prevent thrombosis without affecting hemostasis. Current anticoagulants inhibit the core pathways of thrombin generation and as a result, all are associated with major bleeding complications. The development of agents to inhibit FXI is fully underway, with the promise of safe and efficacious anti-thrombotic therapies

due to the modest role of FXI in hemostasis relative to its role in thrombosis. Specifically, translational approaches are underway to inhibit the enzymatic function of FXI through monoclonal antibodies against FXI which block the activation of FIX or its activation by FXIIa, small-molecule inhibitors that block the active site of FXIa²² or targets FXIa and allosterically inhibits its activation of FIX²³, or using an antisense oligonucleotide (ASO) to reduce the synthesis of FXI²². These translational efforts should take into account that efforts to prevent thrombosis by effectively inducing transient hemophilia C may potentiate a bleeding risk in some patients. Prediction of bleeding in asymptomatic FXI deficiency, whether inherited or pharmacologically induced, poses an important dilemma to surgeons and may become an increasing clinical problem with the development of FXIa inhibitors that fully block the promiscuous enzymatic activity of FXIa that may be required for effective hemostasis.

Conclusion

Recent investigations have shown that FXIa can act on targets other than FIX, which may be relevant to its role in both hemostasis and thrombosis. The development of safe and effective antithrombotics targeting FXI should take into account that FXIa is able to activate factors of the extrinsic pathway such as FX, FV, and FVIII and also activate the TF-FVIIa pathway by inhibiting TFPI, and that polyP released from activated platelets can further enhance these activities of FXI significantly. In addition, companion diagnostics are required to identify which FXI-deficient patients and, in the future, FXI-anticoagulated patients could be at a risk of bleeding. Finally, further studies are needed to better understand the role of FXI in thrombosis and hemostasis to identify possible therapeutic targets against FXI that block its prothrombotic effect without affecting its hemostatic function.

Acknowledgements

This work was supported by grants from the National Institutes of Health (R01HL101972, R01GM116184).

References

- Schmaier AH. Physiologic activities of the contact activation system. *Thromb Res* 2014;133 (Suppl): S41-4.
- Mackman N, Tilley RE, Key NS. Role of the extrinsic pathway of blood coagulation in hemostasis and thrombosis. *Arter Thromb Vasc Biol* 2007;27:1687-93.
- Gailani D, Broze GJ. Factor XI activation in a revised model of blood coagulation. *Science* 1991;253:909-12.
- Puy C, Tucker EI, Wong ZC, Gailani D, Smith SA, Choi SH, et al. Factor XII promotes blood coagulation independent of factor XI in the presence of long chain polyphosphate. *J Thromb Haemost* 2013;11:1341-52.
- Matafonov A, Cheng Q, Geng Y, Verhamme IM, Umunakwe O, Tucker EI, et al. Evidence for factor IX-independent roles for factor XIa in blood coagulation. *J Thromb Haemost* 2013;11:2118-27.
- Puy C, Tucker EI, Matafonov A, Cheng Q, Zientek KD, Gailani D, et al. Activated factor XI increases the procoagulant activity of the extrinsic pathway by inactivating tissue factor pathway inhibitor. *Blood* 2015;125:1488-96.

7. Geng Y, Verhamme IM, Smith SB, Sun M-F, Matafonov A, Cheng Q, et al. The dimeric structure of factor XI and zymogen activation. *Blood* 2013;121:3962-9.
8. Choi SH, Smith SA, Morrissey JH. Polyphosphate is a cofactor for the activation of factor XI by thrombin. *Blood* 2011;118:6963-70.
9. Zhu S, Travers RJ, Morrissey JH, Diamond SL. FXIa and platelet polyphosphate as therapeutic targets during human blood clotting on collagen/tissue factor surfaces under flow. *Blood* 2015;126:1494-502.
10. Seligsohn U. Factor XI deficiency in humans. *J Thromb Haemost* 2009;7 (Suppl 1): 84-7.
11. Pike GN, Cumming AM, Hay CRM, Bolton-Maggs PHB, Burthem J. Sample conditions determine the ability of thrombin generation parameters to identify bleeding phenotype in FXI deficiency. *Blood* 2015;126:397-405.
12. Maroney SA, Cooley BC, Ferrel JP, Bonesho CE, Nielsen L V, Johansen PB, et al. Absence of hematopoietic tissue factor pathway inhibitor mitigates bleeding in mice with hemophilia. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012;109:3927-31.
13. Zucker M, Seligsohn U, Salomon O, Wolberg AS. Abnormal plasma clot structure and stability distinguish bleeding risk in patients with severe factor XI deficiency. *J Thromb Haemost* 2014;12:1121-30.
14. Revenko AS, Gao D, Crosby JR, Bhattacharjee G, Zhao C, May C, et al. Selective depletion of plasma prekallikrein or coagulation factor XII inhibits thrombosis in mice without increased risk of bleeding. *Blood* 2011;118:5302-11.
15. Wang X, Cheng Q, Xu L, Feuerstein GZ, Hsu M-Y, Smith PL, et al. Effects of factor IX or factor XI deficiency on ferric chloride-induced carotid artery occlusion in mice. *J Thromb Haemost* 2005;3:695-702.
16. Salomon O, Steinberg DM, Zucker M, Varon D, Zivelin A, Seligsohn U. Patients with severe factor XI deficiency have a reduced incidence of deep-vein thrombosis. *Thromb Haemost* 2011;105:269-73.
17. Meijers JC, Tekelenburg WL, Bouma BN, Bertina RM, Rosendaal FR. High levels of coagulation factor XI as a risk factor for venous thrombosis. *N Engl J Med* 2000;342:696-701.
18. Büller HR, Bethune C, Bhanot S, Gailani D, Monia BP, et al. Factor XI Antisense Oligonucleotide for Prevention of Venous Thrombosis. *N Engl J Med* 2014;372:232-40.
19. Von Brühl 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.
20. Cheng Q, Tucker EI, Pine MS, Sisler I, Matafonov A, Sun M-F, et al. A role for factor XIIa-mediated factor XI activation in thrombus formation in vivo. *Blood* 2010 [cited 2012 Oct 19];116:3981-9.
21. Gruber A, Hanson SR. Factor XI-dependence of surface- and tissue factor-initiated thrombus propagation in primates. *Blood* 2003;102:953-5.
22. Wong PC, Quan ML, Watson CA, Crain EJ, Harpel MR, Rendina AR, et al. In vitro, antithrombotic and bleeding time studies of BMS-654457, a small-molecule, reversible and direct inhibitor of factor XIa. *J Thromb Thrombolysis* 2015;40:416-23.
23. Karuturi R, Al-Horani RA, Mehta SC, Gailani D, Desai UR. Discovery of allosteric modulators of factor XIa by targeting hydrophobic domains adjacent to its heparin-binding site. *J Med Chem* 2013;56:2415-28.

Marcadores de NETs, como el ADN, calprotectina y mieloperoxidasa son factores de riesgo en la trombosis venosa

L. Martos, J. Oto, L.A. Ramón, Á. Fernández, S. Bonanad, F. España, S. Navarro, P. Medina

Grupo de Investigación en Hemostasia, Trombosis, Arteriosclerosis y Biología Vascular. Instituto de Investigación Sanitaria La Fe. Valencia

Introducción

La coagulación sanguínea es un proceso que se inicia rápidamente tras un daño vascular, con la finalidad de reparar el tejido dañado y mantener la homeostasis sanguínea. En los últimos años se ha descrito que la coagulación sanguínea también ejerce un papel inmunoprotector frente a la infección por patógenos en las heridas abiertas, con el fin de evitar las infecciones sistémicas. Ello ha propiciado la aparición del término “inmuntrombosis”¹ para definir la respuesta inmunitaria inducida por la formación de un trombo venoso, especialmente en la microvasculatura. Gracias a la acción conjunta de las células inmunitarias y de las proteínas de la coagulación, se genera un andamio intravascular que facilita el reconocimiento, contención y destrucción de patógenos, protegiendo así la integridad del huésped sin provocar daños colaterales¹.

La estrecha relación entre hemostasia e inflamación es crucial para que la eliminación de un patógeno invasor sea efectiva. En condiciones normales, ambos mecanismos están regulados a la baja. Sin embargo, tras la detección de un patógeno, estos mecanismos se activan e inician reacciones inmunitarias y de cicatrización de heridas. Cuando fallan los mecanismos reguladores, estas reacciones se exacerban alcanzando dimensiones patológicas. Estas complicaciones suelen estar causadas por la agregación plaquetaria masiva y la activación sistémica de la coagulación, seguido de hemorragias intensas a causa del consumo de plaquetas y factores de la coagulación. Además, la tendencia hacia la formación del coágulo que tiene lugar durante una infección severa se incrementa debido a la menor actividad de las tres vías principales de anticoagulación: la antitrombina, el inhibidor de la vía del factor tisular y el sistema de la proteína C². Estas situaciones conllevan una alta morbilidad y mortalidad y son difícilmente tratables³.

Relación entre coagulación, inflamación e inmunidad

La vía extrínseca de la coagulación se activa tras la exposición del factor tisular (FT). Este forma un complejo con el factor (F) VIIa, lo que a su vez activa al FX. Seguidamente, el FXa se ensambla en el complejo protrombinasa que cataliza la formación de trombina. Por último, esta trombina cataliza la conversión del fibrinógeno en fibrina, lo que inicia la formación del coágulo. Al mismo tiempo, la trombina activa a la proteína C para controlar el proceso de coagulación⁴. El FT se expresa constitutivamente en células extravasculares como fibroblastos, pericitos y células epiteliales. Sin embargo, en las células que están en contacto con las proteínas plasmáticas, el FT está encriptado para evitar el

inicio de la coagulación. Tras la aparición de una herida o la restricción del flujo sanguíneo, el FT se expone y desencadena la formación del coágulo de fibrina. El FT desempeña un papel muy importante en la inmuntrombosis. Así, los monocitos y las células endoteliales pueden sobreexpresar FT en su superficie en condiciones inflamatorias⁵. De hecho, el FT intravascular se encuentra principalmente en las células mieloides, fundamentalmente en los monocitos, y sobre la superficie de vesículas extracelulares, las cuales desencadenan la trombosis a través del FT expuesto en su superficie. Asimismo, el FT puede iniciar cascadas de señalización dependientes e independientes del receptor activado por proteasas (PAR) 2, las cuales inducen respuestas inflamatorias como la liberación de citoquinas, quimioquinas y factores de adhesión^{6,7}.

Los receptores PAR son un nexo de unión esencial entre la coagulación y la inflamación. Mientras que el FXa puede activar al PAR1 y al PAR2, la trombina puede también activar al PAR3. En ambos casos, la activación de estos receptores desencadena reacciones proinflamatorias como la inducción de la interleucina (IL)-6, IL-8, del factor de crecimiento transformante beta (TGF- β), y la proteína quimioatrayente de monocitos 1 (MCP-1)⁸. La activación del PAR1 por la proteína C activada (APC) es más compleja y requiere la presencia del receptor endotelial de la proteína C (EPCR) como anclaje. Opuestamente a la activación del PAR1 por el FXa o la trombina, la activación del PAR1 por la APC desencadena reacciones antiinflamatorias, antiapoptóticas y citoprotectoras como la inhibición de la adhesión leucocitaria y el mantenimiento de la barrera endotelial⁹.

Los estudios en modelos animales nos han permitido conocer los procesos que ocurren al inicio y durante la propagación de la trombosis venosa. En un estudio *in vivo* en animales, la reducción del 80% de la velocidad del flujo sanguíneo en la vena cava inferior causa la formación de un gran coágulo a los dos días en el 60% de los ratones¹⁰, cuya apariencia y composición es similar al coágulo humano. Este está formado principalmente por leucocitos, de los cuales el 70% son neutrófilos y el 30% son monocitos¹⁰. Los linfocitos no están presentes en este coágulo, lo cual pone de manifiesto la gran relevancia de la población de células mieloides circulantes en el proceso inicial de la formación del coágulo. En las horas posteriores a la restricción del flujo, los monocitos y neutrófilos son reclutados sobre la pared vascular morfológicamente intacta¹⁰. Estos ruedan y se adhieren al endotelio a medida que se recluta un mayor número de ellos durante la formación del coágulo. Este proceso es dependiente de selectinas, como la P-selectina^{11,12}. La P-selectina se libera de los cuerpos de Weibel-Palade tras la activación del endotelio. Así, la P-selectina derivada del endotelio, pero no la de las plaquetas, contribuye a la iniciación de la trombosis en ratones¹⁰. A su vez, las células endoteliales expresan moléculas de adhesión como el

factor von Willebrand (FvW) y la E-selectina que son capaces de capturar leucocitos¹³. En resumen, en la fase inicial de la trombosis se recluta un gran número de células del sistema inmunitario sobre la superficie del endotelio, de forma dependiente de la P-selectina y del FvW. Una vez activados, los neutrófilos y los monocitos promueven la formación del coágulo por varios mecanismos.

Papel de los neutrófilos en la trombosis

El FT procedente de los monocitos es un importante mediador de la coagulación. Sin embargo, los neutrófilos son la población leucocitaria más abundante en un trombo venoso en la fase inicial. En diversos modelos animales la neutropenia, o recuento bajo de neutrófilos, inhibe la trombosis venosa demostrando su papel crucial¹⁰. Además, se ha observado que la coagulación dependiente de monocitos y FT solo puede compensar parcialmente la pérdida de neutrófilos. Los neutrófilos contribuyen a la trombosis venosa de dos formas: mediante la activación directa del FXII y mediante la liberación de *neutrophil extracellular traps* (NETs). Los NETs son redes extracelulares de ADN, histonas y proteínas procedentes de los gránulos de los neutrófilos que son liberadas por estos como respuesta ante un estímulo inflamatorio o ante la presencia de patógenos. Tras la activación de los neutrófilos por bacterias o citoquinas, los enzimas de los gránulos se traslocan al núcleo. Como consecuencia, la histona (H) 3 se hiperacetilada y se descondensa la cromatina, seguidamente se rompe la membrana nuclear y finalmente la membrana externa, lo que provoca la NETosis o extravasación del contenido nuclear y citoplasmático al medio externo¹⁴. El ADN liberado se asocia a la H3 citrulinada junto con enzimas como la mieloperoxidasa (MPO), calprotectina, catépsina G y elastasa. Aunque fueron inicialmente identificados como un mecanismo de defensa para atrapar y eliminar a patógenos invasores, recientemente se ha descrito que los NETs son capaces de activar la vía extrínseca e intrínseca de la coagulación. Esto es debido a que los NETs proporcionan un andamio que estimula la adhesión y agregación plaquetaria, así como la formación y deposición de fibrina. Además, la superficie polianiónica de los NETs activa a las proteínas de la fase de contacto como el FXII, y también se puede unir al FT para iniciar las vías intrínseca y extrínseca de la coagulación, respectivamente¹.

Además de aumentar el riesgo trombótico, los NETs inhiben los anticoagulantes naturales. Las histonas contenidas en los NETs inhiben la función anticoagulante de la proteína C, puesto que interactúan con la trombomodulina y con la proteína C e inhiben su activación, aumentando aún más la generación de trombina y con ello el riesgo trombótico. Además, la elastasa de los neutrófilos y la mieloperoxidasa asociada a los NETs son capaces de degradar al inhibidor de la vía del FT y a la trombomodulina^{15,16}, limitando su función anticoagulante.

Por último, cabe destacar que, para disolver el coágulo y restaurar el flujo sanguíneo durante la trombolisis, es necesario degradar la fibrina, el FvW y los NETs. De hecho, en el tratamiento trombolítico con tPA, la plasmina generada no consigue lisar completamente el coágulo, ya que necesita actuar en combinación con la DNasa I, existente en el plasma, para lisar el andamio de ADN del coágulo y poder así eliminarlo totalmente¹⁴. Recientemente, se ha observado que esta actividad DNasa del plasma es

menor en pacientes con microangiopatías trombóticas agudas que en individuos sanos¹⁷. Por ello, el plasma de estos pacientes no puede degradar completamente los NETs *in vitro*, lo cual explicaría la mayor extensión de la trombosis que sufren estos pacientes en la microvasculatura. Cabe destacar que la suplementación del plasma de estos pacientes con DNasa I recombinante humana consiguió rescatar su capacidad de degradar los NETs, lo cual refuerza la necesidad de lisar completamente los NETs en la resolución de un trombo. Un efecto similar se ha observado en los pacientes con lupus eritematoso sistémico¹⁸. Estos pacientes desarrollan autoanticuerpos contra el ADN, histonas y las proteínas de los neutrófilos si los NETs no son eliminados rápidamente, y estos autoanticuerpos provocan nefritis. Así, se ha observado que los pacientes con nefritis provocada por lupus tienen una disminución en la actividad DNasa I en el suero, por lo que no pueden degradar correctamente los NETs, lo cual contribuye a la nefritis asociada al lupus.

Todos estos mecanismos revelan la gran importancia que los NETs ejercen en la iniciación, crecimiento y resolución del trombo. Además, todos estos datos sitúan a los NETs en el punto de mira para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas. Así, en modelos animales se ha observado que las histonas, componentes de los NETs, son liberadas como respuesta a la inflamación y contribuyen a la disfunción endotelial, disfunción renal, trombosis, hemorragias intraalveolares, fallo orgánico y muerte durante la sepsis¹⁹. En estos modelos de sepsis se ha demostrado que la administración de anticuerpos antihistonas previene la mortalidad. Interesantemente, la administración de APC también reduce la mortalidad, debido a que la APC es capaz de degradar las histonas reduciendo su citotoxicidad. Estos resultados sugieren que las histonas extracelulares pueden ser unas dianas moleculares interesantes en el tratamiento de la sepsis y otras enfermedades inflamatorias.

Papel de los NETs en el tromboembolismo venoso *in vivo*

La mayoría de los estudios anteriormente descritos, realizados para esclarecer el papel de los NETs en la trombosis, se han realizado en modelos animales. Sin embargo, ya existen evidencias incipientes sobre la relación entre NETs y riesgo trombótico en pacientes con diversas patologías protrombóticas^{17,18,20,21}. Concretamente, en un estudio de casos y controles con un número muy reducido de muestras, Díaz y cols.²² observaron un aumento de la concentración de ADN en el plasma de pacientes con trombosis venosa profunda. A su vez, van Montfoort y cols.²¹ observaron que el aumento en el plasma del nivel de nucleosomas y de complejos elastasa- α_1 -antitripsina, como marcadores de la activación de neutrófilos, en la fase aguda de la trombosis venosa profunda se asocia con un riesgo tres veces mayor de sufrir un evento. Sin embargo, en este estudio no evaluaron la implicación de los principales componentes de los NETs sobre el riesgo trombótico.

Por ello, hemos realizado un estudio con el fin de esclarecer el papel que ejercen los principales componentes de los NETs sobre el riesgo trombótico. Para ello, cuantificamos el ANA (PicoGreen, Life Technologies), los nucleosomas (ELISA, Roche), la calprotectina (ELISA, Hycult Biotech) y la MPO (ELISA, Abnova) en el plasma de 280 pacientes con trombosis y en 249 individuos sanos. De los pacientes, 192 tenían tromboembolismo venoso (TEV), 61 trombosis esplácica y 27 accidente cerebrovascular (ACV).

Con un modelo de regresión lineal realizado con el paquete estadístico R (versión 3.2.3), analizamos las diferencias en los niveles de cada uno de los parámetros de los NETs entre pacientes y controles (Figura 1). Los niveles de nucleosomas en estos individuos eran muy bajos y no pudimos cuantificarlos, posiblemente porque los pacientes no se encontraban en fase aguda en el momento de la recogida de las muestras. Tal y como se observa en la Figura 1,

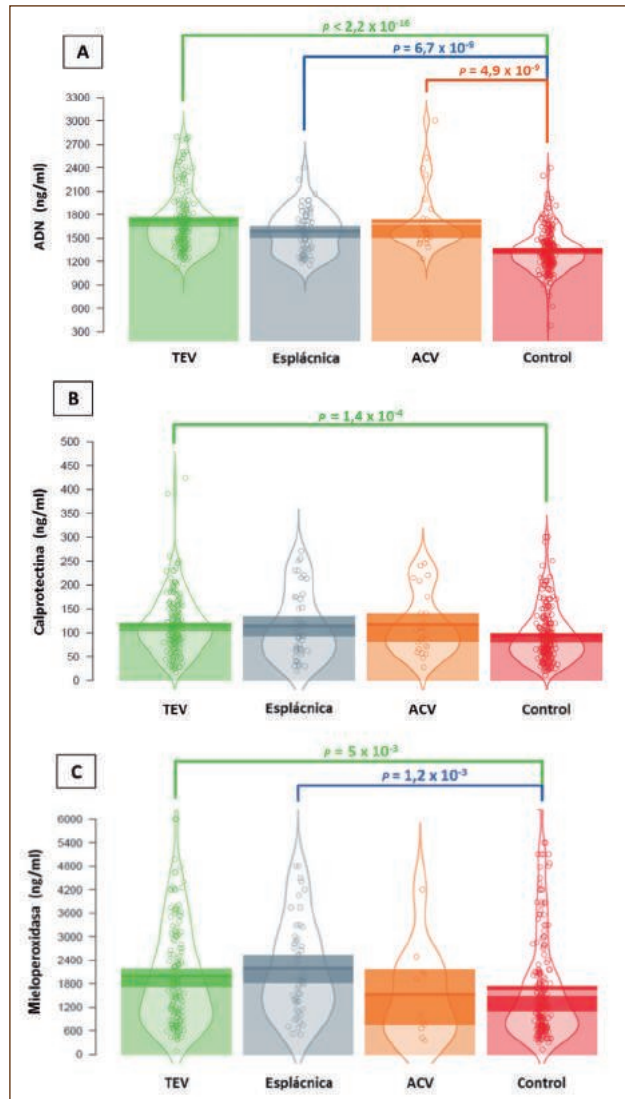


Figura 1. Niveles de cada parámetro de los NETs en los grupos clínicos estudiados (TEV, trombosis esplácnica, ACV y controles sanos). A) niveles de ADN. B) niveles de calprotectina. C) niveles de mieloperoxidasa. En cada gráfico se representa la media de la concentración del parámetro estudiado como una línea oscura. La zona sombreada oscura representa el highest density interval 95%, o probabilidad del 95% de que la media esté dentro de este rango de valores. Las observaciones se representan como círculos, y la silueta que los envuelve representa la densidad de observaciones para cada concentración del parámetro estudiado. TEV: tromboembolismo venoso; esplácnica, trombosis esplácnica; ACV; accidente cerebrovascular.

observamos un aumento muy significativo de los niveles de ADN en pacientes con TEV ($p < 2,2 \times 10^{-16}$), con trombosis esplácnica ($p = 6,7 \times 10^{-9}$) y con ACV ($p = 4,9 \times 10^{-9}$) respecto a los controles. Respecto a la calprotectina, observamos un aumento muy significativo en los pacientes con TEV ($p = 1,4 \times 10^{-4}$) respecto a los controles. Finalmente, observamos un aumento muy significativo en los niveles de MPO de los pacientes con TEV ($p = 5 \times 10^{-3}$) y en los pacientes con trombosis esplácnica ($p = 1,2 \times 10^{-3}$) respecto a los controles.

Puesto que no existe una forma directa de cuantificar los NETs en el plasma, analizamos la correlación entre los diferentes parámetros de los NETs estudiados. Observamos una correlación significativa entre los niveles de ADN y la calprotectina ($r = 0,28$; $p < 0,001$), pero no entre los niveles de ADN y MPO ($r = 0,01$; $p = 0,91$) o entre los niveles de calprotectina y MPO ($r = 0,05$; $p = 0,25$).

Finalmente, realizamos un *conditional density plot* para analizar cómo varía el riesgo de trombosis según la concentración de cada uno de los parámetros estudiados (Figura 2). Observa-

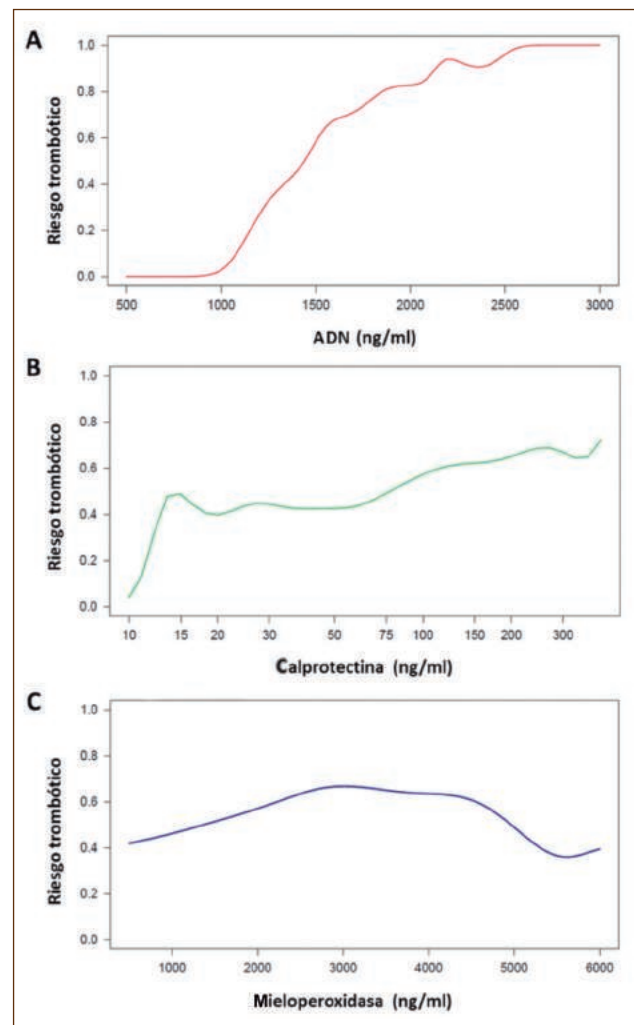


Figura 2. *Conditional density plot* para ver cómo varía el riesgo de trombosis según los valores de cada uno de los parámetros estudiados. A) ADN. B) calprotectina. C) mieloperoxidasa.

mos que, a niveles muy bajos de ADN, el riesgo de trombosis fue 0; mientras que a partir de una concentración de 1.000 ng/ml de ADN, el riesgo de trombosis aumentó de forma muy pronunciada hasta alcanzar un riesgo de 1 con una concentración de ADN en el plasma \leq 2.500 ng/ml. En el caso de la calprotectina observamos que el riesgo de trombosis aumentó muy pronunciadamente hasta 0,5 con una concentración en plasma \leq 14 ng/ml, mientras que el aumento del riesgo fue menos pronunciado entre 14 y 280 ng/ml de calprotectina en el plasma. Finalmente, observamos que las concentraciones más bajas de MPO en el plasma ya presentaron un riesgo trombótico asociado de 0,4, el cual aumentó progresivamente hasta 0,65 con una concentración de 3.000 ng/ml MPO en el plasma y se mantuvo hasta las concentraciones más elevadas de MPO. Así, la relación entre el riesgo trombótico y la concentración de MPO en el plasma no fue tan pronunciada como la del ADN y la calprotectina.

De nuestro estudio podemos concluir que los niveles aumentados de los marcadores de NETs en el plasma, ADN, calprotectina y MPO se asocian con un aumento significativo del riesgo de TEV. Además, cabe destacar que los niveles aumentados de ADN también se asocian con un aumento muy significativo del riesgo de ACV y de trombosis esplácnicas. Hemos observado una correlación entre los niveles de ADN y calprotectina en el plasma, y el ADN es el parámetro que mayor aumento del riesgo trombótico produce. En consonancia con otros estudios^{14,17,18}, nuestros resultados apoyarían el potencial uso de la DNasa I como nueva herramienta terapéutica para la prevención del TEV o para la trombolisis.

Conclusiones

La estrecha relación entre coagulación, inflamación e inmunidad pone de manifiesto que la coagulación es mucho más que un mecanismo reparador de vasos sanguíneos. Así, los procesos inflamatorios que se desencadenan ante la infección por un patógeno, junto a la necesidad de confinar y eliminar a estos para evitar la infección diseminada, son capaces de activar la coagulación tanto por la vía extrínseca como por la vía intrínseca. Esto se ve reforzado por la activación de mecanismos que reducen la funcionalidad de los anticoagulantes naturales, todo ello con la finalidad de reparar el daño endotelial producido y de eliminar de forma efectiva y localizada a los patógenos. En todos estos mecanismos, los neutrófilos desempeñan un papel esencial, fundamentalmente a través de la formación de NETs. Sin embargo, existe una evidencia creciente de que los NETs no solo intervienen en procesos trombóticos asociados a procesos infecciosos. Así, se ha descrito que diversos componentes de los NETs se asocian con un aumento del riesgo trombótico en diversas patologías. Es más, para la resolución de un coágulo parece necesario lisar de forma efectiva la estructura que conforman los NETs, y se ha observado que la reducción de actividad DNasa I en el plasma se asocia con una mayor tasa de eventos trombóticos y otras complicaciones en diversas patologías.

El conocimiento profundo de los mecanismos moleculares que participan en la formación y eliminación de los NETs ayudará a desarrollar nuevas estrategias terapéuticas para controlar su potencial protrombótico.

Agradecimientos

Agradecemos a María José Solmoirago su apoyo técnico.

Instituto de Salud Carlos III-FEDER (PI12/00027, Red RIC RD12/0042/0029, PIE13/00046, PI14/00079, PI14/00512, FI14/00269), Generalitat Valenciana (PrometeoII/2015/017) y Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia. Pilar Medina es investigadora en el SNS Miguel Servet (ISCIII CP09/00065 y CPII15/00002), Silvia Navarro es investigadora posdoctoral (PrometeoII/2015/017), Luís A. Ramón es investigador posdoctoral (ISCIII RD12/0042/0029) y Laura Martos es investigadora predoctoral (ISCIII FI14/00269)

Fuentes de financiación

Este trabajo ha sido financiado por el Instituto de Salud Carlos III-FEDER (PI12/00027, Red RIC RD12/0042/0029, PIE13/00046, PI14/00079, PI14/00512, FI14/00269), Generalitat Valenciana (PrometeoII/2015/017) y Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia. Pilar Medina es investigadora en el SNS Miguel Servet (ISCIII CP09/00065 y CPII15/00002), Silvia Navarro es investigadora posdoctoral (PrometeoII/2015/017), Luís A. Ramón es investigador posdoctoral (ISCIII RD12/0042/0029) y Laura Martos es investigadora predoctoral (ISCIII FI14/00269).

Bibliografía

- Engelmann B, Massberg S. Thrombosis as an intravascular effector of innate immunity. *Nat Rev Immunol* 2013;13:34-45.
- Levi M, van de Poll T. Inflammation and coagulation. *Crit Care Med* 2010;38(2 Suppl):S26-34.
- Angus DC, van der Poll T. Severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med* 2013;369:840-51.
- Dahlback B, Villoutreix BO. Regulation of blood coagulation by the protein C anticoagulant pathway: novel insights into structure-function relationships and molecular recognition. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:1311-20.
- Rao LV, Pendurthi UR. Regulation of tissue factor coagulant activity on cell surfaces. *J Thromb Haemost* 2012;10:2242-53.
- Chu AJ. Tissue factor mediates inflammation. *Arch Biochem Biophys* 2005;440:123-32.
- Srinivasan R, Bogdanov VY. Splice variants of Tissue Factor and integrin-mediated signaling. *Thromb Res* 2012;129 (Suppl 2):S34-7.
- Shrivastava S, McVey JH, Dorling A. The interface between coagulation and immunity. *Am J Transplant* 2007;7:499-506.
- Esmon CT. Protein C anticoagulant system--anti-inflammatory effects. *Semin Immunopathol* 2012;34:127-32.
- 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.
- Myers D Jr, Farris D, Hawley A, Wroblewski S, Chapman A, Stoolman L, et al. Selectins influence thrombosis in a mouse model of experimental deep venous thrombosis. *J Surg Res* 2002;108:212-21.
- Myers DD Jr, Rectenwald JE, Bedard PW, Kaila N, Shaw GD, Schaub RG, et al. Decreased venous thrombosis with an oral inhibitor of P selectin. *J Vasc Surg* 2005;42:329-36.
- Ley K, Laudanna C, Cybulsky MI, Nourshargh S. Getting to the site of inflammation: the leukocyte adhesion cascade updated. *Nat Rev Immunol* 2007;7:678-89.

14. Fuchs TA, Brill A, Wagner DD. Neutrophil extracellular trap (NET) impact on deep vein thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012;32:1777-83.
15. Massberg S, Grahl L, von Bruehl ML, Manukyan D, Pfeiler S, Goosmann C, et al. Reciprocal coupling of coagulation and innate immunity via neutrophil serine proteases. *Nat Med* 2010;16:887-96.
16. Glaser CB, Morser J, Clarke JH, Blasko E, McLean K, Kuhn I, et al. Oxidation of a specific methionine in thrombomodulin by activated neutrophil products blocks cofactor activity. A potential rapid mechanism for modulation of coagulation. *J Clin Invest* 1992;90:2565-73.
17. Jiménez-Alcázar M, Napirei M, Panda R, Kohler EC, Kremer Hovinga JA, Mannherz HG, et al. Impaired DNase1-mediated degradation of neutrophil extracellular traps is associated with acute thrombotic microangiopathies. *J Thromb Haemost* 2015;13:732-42.
18. Hakkim A, Furnrohr BG, Amann K, Laube B, Abed UA, Brinkmann V, et al. Impairment of neutrophil extracellular trap degradation is associated with lupus nephritis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010;107:9813-8.
19. Xu J, Zhang X, Pelayo R, Monestier M, Ammollo CT, Semeraro F, et al. Extracellular histones are major mediators of death in sepsis. *Nat Med* 2009;15:1318-21.
20. Demers M, Wagner DD. NETosis: a new factor in tumor progression and cancer-associated thrombosis. *Semin Thromb Hemost* 2014;40:277-83.
21. Van Montfoort ML, Stephan F, Lauw MN, Hutten BA, Van Mierlo GJ, Solati S, et al. Circulating nucleosomes and neutrophil activation as risk factors for deep vein thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2013;33:147-51.
22. Díaz JA, Fuchs TA, Jackson TO, Kremer Hovinga JA, Lammle B, Henke PK, et al. Plasma DNA is Elevated in Patients with Deep Vein Thrombosis. *J Vasc Surg Venous Lymphat Disord* 2013;1:341-8.

Factores de riesgo de TEV recurrente: aplicación práctica

R. Lecumberri, R. Figueroa

Servicio de Hematología. Clínica Universidad de Navarra. Pamplona

Introducción

La enfermedad tromboembólica venosa (ETE), que incluye tanto la trombosis venosa profunda (TVP) como la embolia de pulmón (EP), se considera una enfermedad episódica, pero de carácter crónico. Este carácter crónico viene dado tanto por la posibilidad de secuelas a largo plazo (síndrome posttrombótico o hipertensión pulmonar tromboembólica crónica) como por la elevada frecuencia de recurrencias. De forma general, el riesgo anual de recurrencia tras suspender el tratamiento anticoagulante después de un primer episodio de ETE es aproximadamente del 5%, sin llegar a dibujar una meseta en las curvas de incidencia acumulada. A los 10 años, la tasa de recurrencia alcanza el 40%¹.

El riesgo de recurrencia de la ETE depende de múltiples factores. La adecuada valoración de dicho riesgo nos va a permitir aportar al paciente una información valiosa para la toma de decisiones sobre la duración óptima del tratamiento anticoagulante tras haber sufrido un episodio tromboembólico. Por supuesto, en el otro lado de la balanza se deberá considerar el riesgo hemorrágico asociado a la anticoagulación, cuestión de enorme interés, pero que no abordaremos en esta ocasión.

Factores clínicos y de laboratorio que influyen el riesgo de recurrencia tras un primer episodio de TEV

Sin duda, uno de los factores más importantes es la presencia o ausencia de factores precipitantes en el primer episodio de ETE (Tabla 1). En una revisión sistemática de 15 estudios prospectivos y ensayos clínicos, el riesgo de recurrencia tras finalizar la anticoagulación fue del 0,7% por paciente-año en el caso de pacientes con ETE asociado a un factor de riesgo quirúrgico, 4,2% por paciente-año en ETE asociada a un factor no quirúrgico y del 7,4% por paciente-año para la ETE no provocada o idiopática². Esta es la principal justificación para la recomendación a favor del tratamiento anticoagulante indefinido en pacientes con un primer episodio de TVP proximal o EP no provocado y ausencia de alto riesgo hemorrágico³. Sin embargo, a los 10 años de seguimiento, solo la mitad de estos pacientes habrán sufrido una recurrencia, por lo que es necesario afinar mucho más la estratificación del riesgo para seleccionar mejor los pacientes que verdaderamente se beneficiarían de la prolongación del tratamiento anticoagulante.

El sexo masculino también se asocia de manera uniforme en diferentes estudios con un mayor riesgo de recurrencia, con un riesgo relativo de 1,6 (IC 95%, 1,2-2,0) en un metanálisis reciente⁴. Si se excluyen los factores hormonales, implicados en una porción

Tabla 1. Factores que influyen en el riesgo de recurrencia de la ETE

Duración insuficiente o mala calidad del tratamiento anticoagulante
Carácter no provocado
Sexo masculino
Trombofilia hereditaria
Síndrome antifosfolípido
Persistencia de trombosis residual
Dímero-D elevado tras finalizar la anticoagulación
Obesidad
Cáncer activo
Enfermedad inflamatoria intestinal
Reexposición a tratamiento hormonal/embarazo (en ETE asociada a dichos factores)
Uso de filtros de vena cava inferior

relevante de ETE en mujeres en edad reproductiva, los varones también presentan un mayor riesgo de sufrir un primer episodio tromboembólico (alrededor de 2 veces mayor que las mujeres)⁵. Se desconoce la razón última de esta diferencia, ya que no existen diferencias en prevalencia o fuerza relativa de factores de riesgo reconocidos de ETE.

La localización de la trombosis inicial también parece influir en el riesgo de recurrencia. Los pacientes con TVP proximal de extremidades inferiores presentan más recurrencias que aquellos con TVP distal (más allá del territorio poplíteo). En un reciente metaanálisis, el riesgo de recurrencia en pacientes con TVP también resultó superior al de pacientes que debutaron como EP (2,6% vs. 4,9%)⁶. Sin embargo, los pacientes con EP inicial recurren más como EP, mientras que los pacientes con TVP aislada de extremidades inferiores recurren con mayor frecuencia como TVP, lo que se traduce en una significativamente mayor mortalidad relacionada con el episodio (*case-fatality rate*) en el caso de la EP recurrente⁷. Sin duda, las consecuencias/gravedad de una posible recurrencia deben ser un punto que se ha de tener muy en cuenta en la toma de decisiones acerca de la continuidad o suspensión del tratamiento anticoagulante.

Dentro de los factores biológicos, el impacto de la trombofilia en el riesgo de recurrencia ha sido motivo de controversia debido a la disparidad de resultados obtenidos en diferentes estudios, en buena parte debido a diferencias metodológicas⁸. Tampoco la historia familiar de ETE parece ser predictor de recurrencia.

Globalmente, se puede afirmar que el papel de la trombofilia hereditaria (excluyendo los raros casos de defectos combinados) en el riesgo de recurrencia es modesto. De hecho, la trombofilia no se tiene en cuenta a la hora de las recomendaciones sobre la duración del tratamiento anticoagulante en las últimas ediciones de la guía de tratamiento antitrombótico del ACCP³. En este sentido, sorprende más que ni siquiera se tenga en cuenta el síndrome antifosfolípido. Aunque la evidencia disponible al respecto no es abundante, en la práctica habitual es frecuente anticoagular de forma prolongada a pacientes con ETEV y anticuerpos antifosfolípido confirmados⁹, particularmente en el caso de aquellos que resulten triple positivos o presenten títulos altos. Una aproximación novedosa ha sido la evaluación de posibles diferencias en la expresión génica (transcriptoma) de pacientes con recurrencia trombótica y sin ella tras un primer episodio de ETEV no provocada. El estudio RETRO mostró la existencia una expresión diferencial entre ambos grupos de pacientes¹⁰. El estudio de validación en una segunda población independiente confirmó una asociación de la expresión del gen *ACSF2*, implicado en el metabolismo de los ácidos grasos, con el riesgo de recurrencia. Se desconocen los posibles mecanismos implicados y sería deseable una confirmación de resultados en estudios con mayor número de pacientes.

Los niveles elevados de dímero-D (DD) al finalizar el tratamiento anticoagulante y en los meses posteriores se asocian con un mayor riesgo de recurrencia. Sin embargo, su valor predictivo positivo es reducido. La determinación seriada de DD tiene una utilidad relativa para identificar individuos con ETEV no provocada o asociada a factores de riesgo débiles con bajo riesgo de recurrencia^{11,12}. Dos problemas en relación con la utilización del DD para este fin son la insuficiente estandarización y la validación de los puntos de corte para cada reactivo. Esto último además puede complicarse sobremanera si, tratando de buscar una mayor rentabilidad de la técnica, se buscan puntos de corte ajustados para diferentes tramos de edad. De forma similar, en la población del estudio *MEGA follow-up*, los niveles plasmáticos elevados de FVIII tras la finalización de la anticoagulación también se han asociado con un mayor riesgo de recurrencia, con HR de 3,4 (IC95% 2,2-5,3) para niveles > 200 UI/dl frente a < 100 UI/dl¹³. En la práctica clínica habitual resulta complicado que un paciente reinicie la anticoagulación después de haberla suspendido, lo que lastra la utilidad del DD o del FVIII. Por otra parte, algunos estudios han descrito una asociación de parámetros relacionados con la generación de trombina con el riesgo de recurrencia¹⁴. Sin embargo, la naturaleza técnica de la prueba dificulta su implementación en laboratorios clínicos de rutina.

La importancia de la persistencia de trombosis residual también ha sido motivo de controversia. Al igual que sucedía con la trombofilia, el papel parece ser modesto (HR de 1,32, IC 95% 1,06-1,65) en un reciente metanálisis¹⁵, insuficiente para basar las decisiones únicamente en esta variable. Además, no hay que olvidar la dificultad para evaluar la persistencia de obstrucción venosa residual en algunos casos y que los criterios diagnósticos no están claramente definidos.

Por supuesto, la presencia de un cáncer activo es un reconocido factor de riesgo de recurrencia en pacientes con ETEV. En la ETEV asociada a cáncer las principales guías de práctica clínica recomiendan un mínimo de 3 meses de anticoagulación y prolongar el tratamiento anticoagulante mientras persista enfermedad activa.

Un reciente estudio ha demostrado la baja tasa de recurrencia en pacientes curados de la enfermedad neoplásica, y cómo una recidiva tumoral constituye un importante factor de riesgo de ETEV recurrente¹⁶. Sin embargo, el paciente con trombosis asociada a cáncer también presenta un riesgo relevante de recurrencia durante el tratamiento anticoagulante. De hecho, en caso de pacientes con ETEV no provocada que recurren durante la anticoagulación se debe descartar la presencia de una neoplasia oculta. Existe una escala validada (escala de Ottawa, **Tabla 2**) útil para estratificar el riesgo de recurrencia durante el tratamiento anticoagulante en pacientes con cáncer¹⁷, si bien por ahora no se ha demostrado una utilidad para plantear diferentes esquemas de tratamiento.

Otras situaciones clínicas que se han asociado con un aumento del riesgo de recurrencia de la ETEV son la obesidad, la enfermedad inflamatoria intestinal, el embarazo y el tratamiento estrogénico (en caso de nueva exposición a dicho factor de riesgo), o incluso la presencia de sintomatología depresiva^{8,18}.

Por último, determinados tratamientos concomitantes, además de la calidad del propio tratamiento anticoagulante inicial, influyen en el riesgo de recurrencia. La utilización de filtros en vena cava inferior aumenta el riesgo de TVP recurrente, tanto si se administra o no anticoagulación concomitante^{19,20}. Por el contrario, el uso de estatinas disminuye en torno al 40% el riesgo de recurrencia tromboembólica venosa, si bien se precisa confirmación mediante ensayos clínicos aleatorizados^{21,22}.

Modelos predictivos de ETEV recurrente

A partir de series prospectivas de pacientes con ETEV no provocada se han desarrollado varios modelos de evaluación del riesgo de recurrencia que incluyen combinaciones de variables con distintos pesos relativos. Destacan la escala de Rodger (*Men continue and HERDOO2*), el modelo predictivo de Viena, la escala DASH y la reciente escala DAMOVES²³⁻²⁶ (**Tabla 3**). Ninguna de ellas ha sido suficientemente validada en diferentes poblaciones de pacientes y, sobre todo, no existen estudios prospectivos en los que el manejo clínico de los pacientes se haya basado en su aplicación.

Una posible aproximación práctica

Centrándonos en la ETEV no provocada (no consideramos por tanto los episodios asociados a tratamiento hormonal o a cáncer),

Tabla 2. Escala predictiva de recurrencia tromboembólica durante el tratamiento anticoagulante en pacientes con trombosis asociada a cáncer (escala de Ottawa)

Factor de riesgo	Puntuación
Sexo femenino	+1
Cáncer de pulmón	+1
Historia previa de ETEV	+1
Cáncer de mama	-1
Estadio inicial (TNM I)	-2

Riesgo bajo = ≤ 0 puntos: recurrencia 4,5% a los 6 meses.
Riesgo alto = ≥ 1 punto: recurrencia 19,1%.

Tabla 3. Escalas predictivas del riesgo de recurrencia de ETEV

Escala	Men continue and Her D002	Viena	DASH	DAMOVES
N.º de pacientes	646	929	1818	398
Tipo de ETEV	No provocada	No provocada	No provocada	No provocada
Diseño	Cohorte prospectiva	Cohorte prospectiva	Metaanálisis de datos individuales	Cohorte prospectiva
Variables	Hombres: continúan AC Mujeres: Signos postrombóticos* (1 punto) DD durante AC $\geq 250 \mu\text{g/l}$ (1 punto) Obesidad (IMC $\geq 30 \text{ kg/m}^2$) (1 punto) Edad ≥ 65 años (1 punto)	Sexo Localización evento DD tras suspender la AC	DD anormal tras suspender AC (2 puntos) Edad ≤ 50 años (1 punto) Sexo masculino (1 punto) ETEVI asociada a estrógenos (-2 puntos)	Edad Sexo Obesidad DD anormal Trombofilia genética Venas varicosas
Riesgo anual de recurrencia	Mujeres ≤ 1 punto: 1,6% Mujeres ≥ 2 puntos: 14,1%	Del 2 al 15% en función del normograma	≤ 1 punto: 3,1% 2 puntos: 6,4% ≥ 3 puntos: 12,3%	< 11,5 puntos (normograma): < 5%

* hiperpigmentación, edema, enrojecimiento.
AC: anticoagulación; DD: dímero D.

es importante prestar atención en primer lugar a la localización del episodio. Si se trató de una EP, con o sin TVP asociada, particularmente si existió afectación de ramas arteriales pulmonares principales, nuestra sugerencia es mantener el tratamiento anticoagulante con carácter indefinido, valorando periódicamente el riesgo/beneficio de dicha continuación. El motivo es la frecuencia de recurrencia en forma de nueva EP y la superior tasa de mortalidad asociada a esta. Por el contrario, en las TVP distales, dada la menor incidencia de recurrencia y gravedad, y el riesgo hemorrágico asociado al tratamiento anticoagulante, se podría considerar la suspensión de la anticoagulación tras los primeros 3 meses. En el caso de las TVP proximales, transcurridos los primeros 3 meses de anticoagulación, cabría considerar el sexo y el DD, parámetros que están incluidos en la escala de Viena y en la escala DASH. El sexo masculino o la presencia de niveles de DD elevados (mejor la determinación seriada tras el fin de la anticoagulación) apoyarían la continuidad de la anticoagulación. Por supuesto, considerando en todas las circunstancias también el riesgo hemorrágico del paciente, si bien la adecuada valoración del riesgo hemorrágico de la prolongación del tratamiento anticoagulante es un tema muy complicado. Las escalas RIETE, ACCP, HAS-BLED pueden orientar, pero no se han validado para este fin.

Es fundamental hacer partícipe al paciente en la toma de decisiones. El mejor perfil de seguridad y la comodidad de uso de los anticoagulantes orales de acción directa podrían facilitar el tratamiento anticoagulante extendido. La profilaxis secundaria con AAS puede ser también una alternativa en algunos pacientes³.

Bibliografía

- Prandoni P, Noventa F, Ghirarduzzi A, Pengo V, Bernardi E, Pesavento R, et al. The risk of recurrent venous thromboembolism after discontinuing anticoagulation in patients with acute proximal deep vein thrombosis or pulmonary embolism. A prospective cohort study in 1,626 patients. *Haematologica* 2007;92(2):199-205.
- Iorio A, Kearon C, Filippucci E, Marcucci M, Macura A, Pengo V, et al. Risk of recurrence after a first episode of symptomatic venous thromboembolism provoked by a transient risk factor: a systematic review. *Arch Intern Med* 2010;170(19):1710-6.
- Kearon C, Akl EA, Ornelas J, Blaivas A, Jiménez D, Bounameaux H, et al. Antithrombotic Therapy for VTE Disease: CHEST Guideline and Expert Panel Report. *Chest* 2016;149(2):315-52.
- McRae S, Tran H, Schulman S, Ginsberg J, Kearon C. Effect of patient's sex on risk of recurrent venous thromboembolism: a meta-analysis. *Lancet* 2006;368(9533):371-8.
- Roach RE, Cannegieter SC, Lijfering WM. Differential risks in men and women for first and recurrent venous thrombosis: the role of genes and environment. *J Thromb Haemost* 2014;12(10):1593-600.
- Mearns ES, Coleman CI, Patel D, Saulsberry WJ, Corman A, Li D, Hernandez AV, et al. Index clinical manifestation of venous thromboembolism predicts early recurrence type and frequency: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Thromb Haemost* 2015;13(6):1043-52.
- Lecumberri R, Alfonso A, Jiménez D, Fernández Capitán C, Prandoni P, et al. Dynamics of case-fatality rates of recurrent thromboembolism and major bleeding in patients treated for venous thromboembolism. *Thromb Haemost* 2013;110(4):834-43.
- Streiff MB. Predicting the risk of recurrent venous thromboembolism (VTE). *J Thromb Thrombolysis* 2015;39(3):353-66.
- García D, Akl EA, Carr R, Kearon C. Antiphospholipid antibodies and the risk of recurrence after a first episode of venous thromboembolism: a systematic review. *Blood* 2013;122(5):817-24.
- Montes R, Gुरुceaga E, González-Porrás JR, Reverter JC, Marco P, Pina E, et al. Identification of new markers of recurrence in patients with unprovoked deep vein thrombosis by gene expression profiling: the retro study. *Eur J Haematol*. 2016 (en prensa).
- Palareti G, Cosmi B, Legnani C, Tosetto A, Brusi C, Iorio A, et al. D-dimer testing to determine the duration of anticoagulation therapy. *N Engl J Med* 2006;355(17):1780-9.
- Palareti G, Cosmi B, Legnani C, Antonucci E, De Micheli V, Ghirarduzzi A, et al. D-dimer to guide the duration of anticoagulation in patients with venous thromboembolism: a management study. *Blood* 2014;124(2):196-203.
- Timp JF, Lijfering WM, Flinterman LE, van Hylckama Vlieg A, le Cessie S, Rosendaal FR, et al. Predictive value of factor VIII levels for recurrent venous thrombosis: results from the MEGA follow-up study. *J Thromb Haemost* 2015;13(10):1823-32.

14. Besser M, Baglin C, Luddington R, van Hylckama Vlieg A, Baglin T. High rate of unprovoked recurrent venous thrombosis is associated with high thrombin-generating potential in a prospective cohort study. *J Thromb Haemost* 2008;6(10):1720-5.
15. Donadini MP, Ageno W, Antonucci E, Cosmi B, Kovacs MJ, Le Gal G, et al. Prognostic significance of residual venous obstruction in patients with treated unprovoked deep vein thrombosis: a patient-level meta-analysis. *Thromb Haemost* 2014; 111(1):172-9.
16. Van der Hulle T, den Exter PL, van den Hoven P, van der Hoeven JJ, van der Meer FJ, Eikenboom J, et al. Cohort Study on the Management of Cancer-Associated Venous Thromboembolism Aimed at the Safety of Stopping Anticoagulant Therapy in Patients Cured of Cancer. *Chest* 2016;149(5):1245-51.
17. Louzada ML, Carrier M, Lazo-Langner A, Dao V, Kovacs MJ, Ramsay TO, et al. Development of a clinical prediction rule for risk stratification of recurrent venous thromboembolism in patients with cancer-associated venous thromboembolism. *Circulation* 2012;126(4):448-54.
18. Von Känel R, Margani A, Stauber S, Meyer FA, Demarmels Biasutti F, Vökt F, et al. Depressive symptoms as a novel risk factor for recurrent venous thromboembolism: a longitudinal observational study in patients referred for thrombophilia investigation. *PLoS One* 2015;10(5):e0125858.
19. Muriel A, Jiménez D, Aujesky D, Bertolotti L, Decousus H, Laporte S, et al. Survival effects of inferior vena cava filter in patients with acute symptomatic venous thromboembolism and a significant bleeding risk. *J Am Coll Cardiol* 2014;63(16):1675-83.
20. White RH, Brunson A, Romano PS, Li Z, Wun T. Outcomes After Vena Cava Filter Use in Non-Cancer Patients with Acute Venous Thromboembolism: A Population-Based Study. *Circulation* 2016 (en prensa).
21. Tagalakis V, Eberg M, Kahn S, Azoulay L. Use of statins and reduced risk of recurrence of VTE in an older population. A population-based cohort study. *Thromb Haemost* 2016 (en prensa).
22. Smith NL, Harrington LB, Blondon M, Wiggins KL, Floyd JS, Sitlani CM, et al. The Association of Statin Therapy with the Risk of Recurrent Venous Thrombosis. *J Thromb Haemost* 2016 (en prensa).
23. Rodger MA, Kahn SR, Wells PS, Anderson DA, Chagnon I, Le Gal G, et al. Identifying unprovoked thromboembolism patients at low risk for recurrence who can discontinue anticoagulant therapy. *CMAJ* 2008;179(5):417-26.
24. Eichinger S, Heinze G, Jandeck LM, Kyrle PA. Risk assessment of recurrence in patients with unprovoked deep vein thrombosis or pulmonary embolism: the Vienna prediction model. *Circulation* 2010;121(14):1630-6.
25. Tosetto A, Iorio A, Marcucci M, Baglin T, Cushman M, Eichinger S, et al. Predicting disease recurrence in patients with previous unprovoked venous thromboembolism: a proposed prediction score (DASH). *J Thromb Haemost* 2012;10(6): 1019-25.
26. Franco Moreno AI, García Navarro MJ, Ortiz Sánchez J, Martín Díaz RM, Madroñal Cerezo E, de Ancos Aracil CL, et al. A risk score for prediction of recurrence in patients with unprovoked venous thromboembolism (DAMOVES). *Eur J Intern Med* 2016;29:59-64.

Coagulopatías hemorrágicas: avances en el tratamiento y aplicación de nuevas herramientas en el seguimiento

COORDINADORES: R. Núñez. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla
R. Parra. Banc de Sang i Teixits. Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona

La profilaxis es actualmente el mejor tratamiento para los pacientes con hemofilia grave. La prescripción del tratamiento profiláctico debe tener en cuenta diversos aspectos como el fenotipo hemorrágico del paciente, la actividad física, el estado articular, el nivel de FVIII en sangre y la adherencia a la pauta prescrita, entre otros. Las pautas de profilaxis deben ser flexibles y cambiar a medida que las circunstancias individuales del paciente se modifiquen. El conocimiento de la farmacocinética del paciente, esto es, cómo el organismo absorbe, distribuye y elimina el fármaco, puede ayudar a personalizar la profilaxis cuando se combina con el resto de factores. La farmacocinética del factor VIII es ahora más fácil de determinar en la práctica clínica con únicamente 2-3 muestras de sangre y un sencillo programa informático. De esta manera se consigue tratar al paciente de manera individualizada más que tratar la enfermedad de manera general. En este simposio la Dra. M.^a Eva Mingot del Hospital Universitario de Málaga analizará los estudios farmacocinéticos en hemofilia y su influencia en la profilaxis personalizada.

En los últimos años se han producido avances notables en el desarrollo de nuevos fármacos para tratar la hemofilia. Se han introducido modificaciones en las moléculas de FVIII y FIX para alargar la vida media del factor infundido, con lo que es posible administrar la profilaxis con mayor intervalo entre dosis y con el consiguiente beneficio para el paciente. Estos productos son seguros y no incrementan la tasa de inhibidores en los pacientes previamente tratados, según diversos estudios publicados. La vida media más larga de estas moléculas hace más accesible la profilaxis para algunos pacientes y en niños reduce la utilización de catéter venoso central, lo que permite que algunos pacientes inicien un programa de profilaxis. Todo parece indicar que estos productos abren una nueva etapa en el tratamiento de la hemofilia con el reto de encontrar su óptima integración en la práctica clínica habitual. En este sentido, la Dra. M.^a Teresa Álvarez Román del Hospital La Paz de Madrid revisará el papel de los factores de vida media prolongada en el tratamiento de la hemofilia junto con una aproximación al desarrollo clínico de diferentes moléculas no relacionadas con los factores de la coagulación como anticuerpos con acción mimética del FVIII, moléculas con inhibición de la antitrombina o del *tissue factor pathway inhibitor*.

La complicación más importante del tratamiento en la hemofilia es la aparición de inhibidor frente a FVIII o FIX. En presencia de un inhibidor, el tratamiento sustitutivo habitual es ineficaz y es necesario recurrir a los agentes *baipás* disponibles, que son el complejo protrombínico activado y el factor VII activado recombinante para el control de los episodios hemorrágicos. No obstante, los pacientes con hemofilia e inhibidor presentan un peor control de la hemorragia y mayor frecuencia de complicaciones como artropatía con discapacidad musculoesquelética grave. Algunos estudios han demostrado que la profilaxis con agentes *baipás* reduce la incidencia de hemorragia y mejora la calidad de vida. El Dr. Ramiro Núñez del Hospital Virgen del Rocío de Sevilla analizará en su ponencia el papel de la profilaxis en pacientes con inhibidor tanto desde el punto de vista de la eficacia en el control de las hemorragias, en la prevención de la artropatía y en el impacto económico, así como en otros factores que limitan su aplicación.

El diagnóstico de la hemofilia se basa en criterios clínicos y de laboratorio. Sin embargo, las pruebas de imagen se han convertido en una herramienta importante en el diagnóstico y evaluación de la artropatía hemofílica. La radiografía es la exploración clásica que demuestra la presencia de cambios avanzados, mientras que la resonancia magnética ofrece la posibilidad de visualizar los tejidos blandos y los cambios en el cartílago articular. La ecografía, por el contrario, es inocua, fácil de realizar y permite identificar la hemorragia articular, la hipertrofia sinovial y otras lesiones precoces de la artropatía hemofílica. La amplia experiencia en este campo del Dr. Felipe Querol del Hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia le permite analizar con autoridad el papel de la ecografía en la evaluación continuada del paciente con artropatía hemofílica.

En resumen, los temas de este simposio (la introducción de los estudios PK en la personalización de la profilaxis, la profilaxis en pacientes con inhibidor, la aparición de nuevas moléculas para el tratamiento de la hemofilia y la utilización de la ecografía en la práctica clínica) son materias de actualidad y de gran interés para todos aquellos profesionales implicados en el manejo de los pacientes con hemofilia.

Profilaxis personalizada, influencia de los estudios farmacocinéticos

M. E. Mingot Castellano

UGCi Hematología y Hemoterapia. Hospital Regional Universitario de Málaga. Málaga

Introducción

La profilaxis con factores de la coagulación en sujetos con hemofilia y fenotipo hemorrágico severo es el tratamiento de elección para preservar su estado musculoesquelético¹. Desde que en 1994 la Organización Mundial de la Salud (WHO), la Federación Mundial de Hemofilia (WFH) y el Comité Médico y Científico de la Fundación Nacional de Hemofilia de Estados Unidos (MASAC)^{2,3} recomiendan su uso, asistimos a un cambio drástico en la calidad de vida de este colectivo.

La profilaxis tiene como objetivo prevenir los sangrados y las complicaciones secundarias. Para ello, se propone convertir la hemofilia grave de un sujeto en moderada, manteniendo los niveles circulantes de factor VIII (FVIII) plasmático por encima del 1%. Este concepto proviene de los resultados del grupo sueco⁴ y han sido validados por otros autores⁵ y confirmados por metaanálisis⁶.

Existen distintos tipos de esquemas de profilaxis basados en la frecuencia y dosis de factor administradas. En la **Tabla 1** se describen sus principales características. Entre estos modelos se encuentra la profilaxis ajustada por parámetros farmacocinéticos. Su justificación es que la farmacocinética (PK) de los distintos factores VIII y IX disponibles en el mercado tiene una cierta variabilidad interindividual en los sujetos según la edad, índice de masa corporal, niveles de factor von Willebrand, etc. Conocer

el comportamiento de un factor de la coagulación determinado en un sujeto concreto, nos permite ajustar la dosis y frecuencia optimizando los resultados. En las próximas líneas revisaremos los conceptos básicos de la farmacocinética de los factores de la coagulación, la implicación clínica de los parámetros farmacocinéticos y las ventajas e inconvenientes de la profilaxis ajustada en base a los mismos.

Conceptos básicos sobre PK

El término farmacocinética hace referencia al comportamiento de un fármaco o sustancia en un organismo, incluyendo su absorción, distribución, metabolismo y distribución⁹. Para realizar un estudio de PK se realizan determinaciones de la actividad de factor de la coagulación residual en plasma tras la administración de una fórmula de este. En un papel logarítmico se representa en el eje de ordenadas la actividad del factor y en el de abscisas el tiempo de extracción. Estos valores dan lugar a una curva sobre la que se infieren a través de algoritmos matemáticos los parámetros farmacocinéticos que buscamos⁹. Estos parámetros son:

- Área bajo la curva de concentración vs. tiempo (del inglés, *area under the plasma concentration vs. time curve*, AUC): su valor es una medida de la biodisponibilidad del fármaco a lo largo del tiempo.

Tabla 1. Principales esquemas de profilaxis como tratamiento de sujetos con hemofilia A y B^{7,8}

Tipo de profilaxis	Ventajas	Inconvenientes
Dosis fijas: <ul style="list-style-type: none"> • Dosis altas (Sueco) • 25-40 ui/kg • 3-4 dosis/semana • Dosis intermedias (Holandés) • 15-25 ui/kg • 2-3 dosis/semana • Dosis bajas (Canadiense) • 50 ui/kg/semana • 1-3 dosis/semana 	Simple <ul style="list-style-type: none"> • Países ricos • TAS \leq 1 • Adecuado para pacientes con actividad física elevada 	Sobret ratamiento o infratratamiento <ul style="list-style-type: none"> • Alto coste económico • Probabilidad de pacientes sobret ratados • Necesidad de reservorios de administración
	Adaptada al paciente y sus necesidades <ul style="list-style-type: none"> • Permite ajustar el tratamiento al nivel valle que se considere óptimo para el paciente 	<ul style="list-style-type: none"> • TAS 1-2 • Más barato • Adecuado para adultos • El más barato de regímenes de dosis fijas • En países de menor renta per cápita facilita el acceso a profilaxis
Adaptada: <ul style="list-style-type: none"> • Farmacocinética 		Dificultad en definir las necesidades del paciente <ul style="list-style-type: none"> • Realización de PK (muestras múltiples, acceso a programas de PK) • Definir el nivel valle adecuado • Ajustar a actividad física del paciente

PK: estudio de farmacocinética; TAS: tasa anual de sangrados.

- Concentración máxima plasmática (del inglés, *maximun plasma concentration*, C_{max}) o pico de factor: hace referencia a la concentración máxima que alcanza un fármaco.
- Recuperación *in vivo* (de inglés, *in vivo recovery*, IVR): es la relación entre la concentración máxima espera y la obtenida de un producto.
- Nivel valle de factor: factor residual de un paciente en un momento concreto tras la administración del factor, normalmente antes de la siguiente dosis de profilaxis.
- Aclaramiento (del inglés *clearance*, CL): caracteriza la velocidad a la que se elimina un fármaco.
- Volumen de distribución (del inglés, *volumen of distribution*, $V_{d(ss)}$): es el volumen aparente en el que un fármaco se diluye en el organismo.
- Tiempo medio de circulación (del inglés, *mean residence time*, MRT): describe el tiempo medio de circulación de las moléculas de un fármaco desde que llega al organismo hasta que todo él es eliminado.
- Vida media (*terminal half-life*, $t^{1/2}$): es el tiempo que tarde en reducirse en un 50% la concentración de un fármaco en el organismo.

En la **Tabla 2** se recogen los valores medios de los parámetros descritos para los factores VIII y IX en el mercado.

Para realizar una farmacocinética las recomendaciones son las siguientes^{10,11}:

- Se recomienda un periodo de lavado de 72 horas para el factor VIII y 96 horas para el FIX.
- Se recomienda administrar un bolo de 50-75 UI/kg en caso de FIX y 25-50 UI/kg en caso de FVIII, idealmente en bolo intravenoso lento de 5 minutos. El cálculo debe hacerse usando la potencia real de los viales administrados y no la nominal.
- Deben realizarse determinaciones a lo largo de entre 2 y 2,5 vidas medias (FIX, 15 a 30 horas; FVIII, 11 a 17 horas). Se recomienda extraer muestras preinfusión e inmediatamente después (5-15 minutos aproximadamente) para realizar el IVR, luego a las 0,5, 1, 3, 6, 9, 24, 28, 32 y 48 horas de la infusión. Dada la dificultad de realizar tantas extracciones en los niños y algunos adultos, las determinaciones mínimas son cinco: preinfusión, a los 30 minutos, entre las 6 y 9 horas, 24 y 48 horas. En todos los casos, para la PK de un sujeto con hemofilia B se ampliará una determinación a las 72 horas.
- Resulta básico conocer la hora exacta (hora y minutos) de administraciones de factor y extracciones de las muestras.

- La técnica de determinación de los niveles de factor plasmático puede introducir gran variabilidad. No obstante, tanto la determinación coagulométrica como la cromogénica en el caso de FVIII están aceptadas, siempre y cuando se utilice un calibrador acorde a las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud y la International Society of Thrombosis and haemostasis (ISTH). Se debe intentar procesar todas las muestras de un mismo individuo al mismo tiempo para reducir la variabilidad intralaboratorio.

Existen básicamente dos modelos matemáticos para la valoración de los parámetros farmacocinéticos: modelos compartimentales y no compartimentales^{9,10}. La ISTH y la European Medicines Agency (EMA) se han decantado por el modelo no compartimental¹⁰. La justificación es que, pese a la facilidad de los cálculos para el modelo compartimental y la multitud de software desarrollados^{9,10}, existe gran variabilidad en función del esquema de extracción utilizado. Además, sabemos que la cinética de los factores y especialmente del FVIII es compleja y dependiente de otras moléculas como el factor von Willèbrand, los receptores de lipoproteínas o los receptores de asialoglicoproteínas, lo que ha motivado el diseño de modelos multicompartmentales actualmente en desarrollo.

Los modelos de farmacocinética bayesianos están en auge¹². Estos modelos realizan estudios de PK clásica, compartimentales o no, sobre un número suficiente de individuos. De acuerdo con dichos resultados desarrolla un modelo poblacional de PK de factor concreto. En un segundo tiempo, usando un número de determinaciones limitado del paciente, se pueden inferir los parámetros farmacocinéticos de un producto determinado¹³. Son muy prácticos y acercan la PK a la práctica clínica, reduciendo el número de extracciones al paciente. No obstante, no debemos perder de vista que se recomienda un mínimo de tres determinaciones (4, 24 y 48 horas) para el FVIII y que, aunque un solo punto puede dar información, el error en los cálculos de PK en tal caso puede ser de 17-26% si no se extraen los recomendados¹⁴.

Las indicaciones generales para la realización de un estudio de farmacocinética son⁹:

- Optimización de los esquemas de profilaxis: permite ajustar el esquema de profilaxis a los valores valle deseados y conocer la evolución de los niveles de factor en el sujeto en profilaxis para ajustar la actividad física de acuerdo a ellos^{7,8,9}. Algunos estudios describen un ahorro en el consumo de factor tras el ajuste por PK^{15,16}.

Tabla 2. Resultados de parámetros farmacocinéticos básicos con los factores VIII y IX en el mercado⁹

Parámetro	Unidades	rFVIII	rFVIII dominio B deleccionado	pdFVIII	rFIX	pdFIX
Concentración máxima	UI/dl	172	120	102-120	39	62
Aclaramiento	ml/kg/hora	3,1	3,2	2,9-3,9	-	-
Volumen de distribución	ml/kg	62	45	43-70	-	-
Vida media	hora	15-17	11	11-17	17-18	15-18
Recuperación	UI/dl o %	2,4	2,4	2,4-2,5	0,8-0,9	1,1-1,7

- En los cambios a un nuevo factor a un sujeto, nos ayuda a ajustar las dosis a demanda y en profilaxis según la cinética individual del fármaco en el paciente.
- En sujetos que no responden adecuadamente a las dosis indicadas, el aclaramiento del fármaco puede ser diferente y el conocimiento de la PK puede colaborar en el ajuste de dosis.
- Dosificación en niños: la vida media del FVIII se incrementa con la edad¹⁵. Algunos autores sugieren realizar un estudio de PK cada 2 años en la población infantil dadas las variaciones de volumen plasmático, hematocrito e índice de masa corporal que pueden experimentar¹⁷.
- En pacientes con inhibidor erradicado, los estudios de PK permiten confirmar la normalización de la vida media del factor infundido en el sujeto^{9,18}.
- Ajustar las dosis en sujetos obesos, ya que la recuperación de factor puede ser mayor de la esperada en este colectivo de pacientes con hemofilia¹⁹.

Influencia de los parámetros de PK en la evolución clínica del paciente en profilaxis

Son tres los parámetros farmacocinéticos que pueden resultar de interés para el ajuste del tratamiento profiláctico en los sujetos con hemofilia: niveles valle de factor antes de la siguiente dosis de profilaxis^{5,20}, niveles pico de factor y el área bajo la curva de concentración vs tiempo^{21,22}.

Niveles valle de factor

El nivel valle recomendado en profilaxis es superior a 1%^{9,15,20}. No obstante, hay sujetos con hemofilia que pueden necesitar niveles más elevados para prevenir los sangrados debido a la existencia de artropatía hemofílica previa¹⁴, una mayor actividad física^{5,7,8}, etc.

Existe discordancia en la literatura especializada a la hora de demostrar la correlación entre niveles valle de factor y la incidencia de sangrados. Ahnström y cols.²³ encuentran una correlación débil entre estas dos variables en una población de 64 sujetos con hemofilia grave sin artropatía hemofílica clínica, ni articulaciones diana. Por el contrario, Collins y cols.²⁰ describen en niños cómo por cada hora con niveles de FVIII inferiores al 1% se incrementa la tasa anual de sangrados un 2,2%. Esto ha sido validado por otros autores^{21,22}. Valentino y cols.²² en una cohorte prospectiva de 34 sujetos con hemofilia A y FVIII menor 2% en profilaxis, infieren por PK que la mediana de FVIII residual en los sangrados espontáneos es de 2,7% (0-27), de 3,6% (0-42) para los traumáticos y de 3,4% (0-42) para los hemartros. Describen cómo la mayoría de los hemartros traumáticos se producen con niveles de FVIII inferiores a 10% (mediana 3,8%) y tienen lugar a partir de las primeras 24 horas.

Como reflexión podríamos decir que los niveles valle deseables oscilan entre 1% y 5%, si bien los sangrados pueden producirse incluso con niveles altos. El nivel valle adecuado en un sujeto debe ser definido en función del perfil clínico del paciente, su estado articular de base y la susceptibilidad de sus articulaciones al sangrado⁵.

Niveles pico de factor

La relevancia de los niveles pico en la profilaxis aun no ha sido claramente dilucidada. Cuando aumentamos la frecuencia de dosificación en la profilaxis, alcanzamos niveles valle iguales o superiores con picos inferiores. Lindvall y cols.²⁴ evidenciaron este hecho, no obstante los pacientes no reducían sus sangrados, sino que al contrario, estos aumentaban con la administración de profilaxis diaria. Los autores justifican el hecho por la disminución del pico de factor que al resultar inferior protege menos al paciente en las horas de máxima actividad. En el mismo sentido, Valentino y cols.²¹ comparan los resultados de 34 pacientes con hemofilia A y FVIII inferior a 2% randomizados a recibir profilaxis estándar (50 UI/kg/48 horas) o ajustada por PK (20-80 UI/kg/3 días) ajustadas a valle de 1%. Encuentran que a menor pico mayor frecuencia de sangrados de forma estadísticamente significativa.

Por tanto, podríamos decir que los niveles pico de factor son relevantes en la prevención de sangrados. Deberíamos tener en cuenta estos niveles pico en el diseño del esquema de profilaxis, sobre todo en sujetos con actividad física más intensa, intentado hacer coincidir dichos picos con los de actividad. Los costes de este tratamiento deben ser valorados juiciosamente para no indicar dosis innecesariamente elevadas en sujetos que no lo necesitan, ni bajas en aquellos con mayores requerimientos, en los que las dosis bajas generan un gasto sin el beneficio clínico deseado.

Área bajo la curva de concentración vs. tiempo

Es escasa la evidencia científica al respecto. Collins y cols.²⁰ especulan sobre la influencia de los niveles valle en la prevención de los sangrados intercurrentes, el nivel pico en la prevención de sangrados en caso de actividad física y el área bajo la curva en la prevención de los sangrados subclínicos. Aunque parece lógico pensar que a mayor tiempo con niveles de factor superiores habrá menos sangrados, la única evidencia clínica del área bajo la curva ha sido aportada recientemente por Valentino y cols.²¹ en el estudio descrito en el párrafo anterior. Este grupo describe cómo los sujetos con AUC mayor presentan una menor tasa anual de sangrado en general. Cuando compara la AUC en las primeras 12 horas de la administración de factor entre sujetos con sangrados y sin ellos no encuentra diferencias estadísticamente significativas, pero los autores lo justifican por el tamaño de la serie.

Ventajas e inconvenientes de la profilaxis ajustada por PK

La profilaxis ajustada por PK puede presentar pros y contras. Entre las ventajas encontramos la posibilidad de individualización del tratamiento según el estilo de vida del paciente, una potencial mejora de la adherencia y un ahorro económico. Los principales inconvenientes son la dificultad del cálculo de los parámetros de PK y, sobre todo, la necesidad de extracción de múltiples muestras.

En referencia a los puntos a favor de la profilaxis ajustada, existe un único ensayo prospectivo randomizado^{21,25} según profilaxis estándar y ajustada por PK. En él no se detectan diferencias estadísticamente significativas en la reducción de los sangrados, la mejora de la adherencia al tratamiento o los costes. Respecto a los costes, Carlsson y cols.¹⁵ estiman, a través de modelos matemáticos, una reducción de

estos cercana al 43% al pasar de profilaxis a dosis 25-40 UI/kg/2-3 veces en semana a profilaxis ajustada por PK. Esta afirmación no ha sido confirmada en la práctica diaria por otros grupos en la literatura revisada. Tan solo Lindvall y cols.²⁴ demostraron reducir el consumo de factor al ajustar por PK la profilaxis a infusiones diarias. Como ya hemos comentado previamente, esto redujo el consumo para conseguir valles de 1% pero a costa de incrementar el número de sangrados, por lo que no está claro que esto reduzca los costes.

En cuanto a los inconvenientes descritos de la profilaxis ajustada por PK, Lock y cols.¹² evalúan un total de 114 sujetos con hemofilia en profilaxis, 19 padres de sujetos con hemofilia y 91 profesionales médicas. Concluyen que, en opinión de dichos colectivos, la posibilidad de una reducción de los sangrados y los costes para la sociedad justifican el número de extracciones y el consumo de recursos la aplicación de la PK a la profilaxis.

Profilaxis ajustada por PK y hemofilia B

La profilaxis ajustada por PK en sujetos con hemofilia B tiene ciertos matices diferenciales. Es bien conocido que los niveles de FIX plasmáticos no reflejan necesariamente la situación hemostática de un sujeto, ya que el FIX se acumula en el espacio extravascular, lo que constituye una reserva extra de este. Algunos estudios demuestran cómo el FIX se une al colágeno IV y puede resultar activo hemostáticamente, aunque en circulación no sea detectable²⁶. Esto hace que para conocer la eficacia del FIX no es solo necesario conocer la vida media y que quizás sean importantes otros parámetros de farmacocinética aún por explorar.

Otra cuestión es la metodología de PK en pacientes con hemofilia B. Recientemente Brekkan y cols.²⁷ han desarrollado un modelo tricompartimental de PK con 22 puntos con FIX derivado de plasma. A partir de él infieren la PK del factor analizado en un sujeto a través de un modelo bayesiano, utilizando entre 2 y 4 puntos de extracción el segundo y tercer día de su administración. Este modelo podría facilitar la realización de PK en sujetos con hemofilia B tratados con factores derivados plasmáticos.

Conclusiones

En pacientes con hemofilia A severa, la profilaxis ajustada por farmacocinética es una herramienta muy adecuada para conseguir los picos y valles de factor necesarios para cada paciente. No obstante, existe un gran variabilidad fenotípica en los sujetos con esta enfermedad, por lo que dichos picos y valles deben ser definidos y evaluados conforme a la clínica del sujetos y la evolución ortopédica, no en función de parámetros fijos no clínicos. La realización de un estudio de farmacocinética exige el cumplimiento de los requerimientos definidos por cada modelo en la fase preanalítica y analítica para deducir al máximo la variabilidad en los resultados. En sujetos con hemofilia B, los estudios de farmacocinética tienen especial complicación. Se necesitan nuevos ensayos clínicos que ayuden a definir cuál es la metodología y los parámetros farmacocinéticos adecuados a considerar.

Bibliografía

- World Federation of Hemophilia. General care and management of hemophilia. Hemophilia. World Federation of Guidelines for the management of hemophilia. Montreal: Blackwell Publishing Ltd., 2012. p. 7-20.
- Berntorp E, Boulyjantov V, Brettler D, et al. Modern treatment of haemophilia. Bull World Health Organ 1995; 73:1995:691-701.
- Lusher JM. Considerations for current and future managements of hemophilia and its complications. Haemophilia 1995;1:2-10.
- Nilsson IM, Hedner U, Ahlberg L. Haemophilia prophylaxis in Sweden. Acta Paediatr Scand 1976;65(2):129-35.
- Fischer K, Berntorp E. Targeting factor replacement therapy in severe hemophilia: which level is important? Seminars in Thrombosis and Hemostasis 2015;41:860-3.
- Iorio A, Marchesini E, Marcucci M, Stobart K, Chan AK. Clotting factor concentrates given to prevent bleeding and bleeding-related complications in people with haemophilia A or B. Cochrane Database Syst Rev 2011;9 CD003429.
- Berntorp E, Shapiro AD. Modern hemophilia care. Lancet 2012;379:1447-56.
- Carcao M, Srivastava A. Factor VIII/factor IX prophylaxis for severe hemophilia. Seminars in Hematology 2016;53(1): 3-9.
- Shapiro AD, Korth-Bradley J, Poon MS. Use of pharmacokinetic in the coagulation factor treatment of patients with haemophilia. Haemophilia 2005;11:571-82.
- M. Morfini. Pharmacokinetic studies: international guidelines for the conduct and interpretation of such studies. Haemophilia 2006;12(Suppl. 4): 6-11.
- Morfini M, Lee M, Messori A. The design and analysis of half-life and recovery studies for factor VIII and factor IX. Factor VIII/Factor IX Scientific and Standardization Committee of the International Society for Thrombosis and Haemostasis. Thromb Haemost 1991;66:384-6.
- Lock J, de Bekker-Grob EW, Urhan G, Peters M, Meijer K, Brons P, et al. Facilitating the implementation of pharmacokinetic-guided dosing of prophylaxis in haemophilia care by discrete choice experiment. Haemophilia 2016;22:1-10.
- Björkman S. Limited blood sampling for pharmacokinetic dose tailoring for FVIII in the prophylactic treatment of haemophilia A. Haemophilia 2010;16(4):597-605.
- Reininger AJ, Chehadeh HE. The principles of PK-tailored prophylaxis. Haemostaseologie 2013;33(Suppl 1):S32-S35.
- Carlsson M, Björkman S, Berntorp E. Multidose pharmacokinetics of factor IX: implications for dosing in prophylaxis. Haemophilia 1998;4:83-8.
- Mingot ME, Fernández J, García M, Palomo A, Heiniger AI. Pharmacokinetics of FVIII in clinical practice: resource optimization and effect on health and quality of life in haemophilia A. Haemophilia 2008;14(Suppl2):13.
- Ljung R, Auerswald G, Benson G, Jetter A, Jiménez-Yuste V, Lambert T, et al. Novel coagulation factor concentrates: issues relating to their clinical implementation and pharmacokinetic assessment for optimal prophylaxis in haemophilia patients. Haemophilia 2013;19(4):481-6
- C. Hay, D.M. DiMichele. The principal results of the International Immune Tolerance Study: a randomized dose comparison. Blood 2012;119: 1335-1344.
- Henrard S, Hermans C. Impact of being overweight on factor VIII dosing in children with haemophilia A. Haemophilia 2015;11. DOI: 10.1111/hae.12848.
- Collins PW, Blanchette V, Fischer K, Björkman S, Fritsch S, Schroth P, et al. Break-through bleeding in relation to predicted factor VIII levels in patients receiving prophylactic treatment for severe hemophilia. Blood 2009;113:413-20.
- Valentino LA, Pipe SW, Collins PW, Blanchette VS, Berntorp E, Fischer K, et al. Association of peak factor VIII levels and area under the curve with bleeding in patients with haemophilia A on every

- third day pharmacokinetic-guided prophylaxis. *Haemophilia* 2016;1. DOI: 10.1111/hae.12905. [Epub ahead of print].
22. Den Uijl JE, Mauser Bunschoten EP, Roosendaal G, Fischer K. Clinical severity of haemophilia A: does the classification of the 1950s still stand? *Haemophilia* 2011;17:849-53.
 23. Ahnström J, Berntorp E, Lindvall K, Björkman S. A 6-year follow-up of dosing, coagulation factor levels and bleedings in relation to joint status in the prophylactic treatment of haemophilia. *Haemophilia* 2004;10(6):689-97.
 24. Lindvall K, Astermark A, Björkman S, Ljung R, Carlsson KS, Perssons S, et al. Daily dosing prophylaxis for haemophilia: a randomized crossover pilot study evaluating feasibility and efficacy. *Haemophilia* 2012;18(6):855-9
 25. Valentino LA, Mamonov V, Hellmann A, Quon DV, Chybicka SA, Schrothe P, et al. A randomized comparison of two prophylaxis regimens and a paired comparison of on-demand and prophylaxis treatments in hemophilia A management. *J Thromb Haemost* 2012;10:359-67.
 26. Berntorp E, Dolan G, Hermans C, Laffan M, Santagostino E, Tiede A. Pharmacokinetics, phenotype and product choice in haemophilia B: how to strike a balance? *Haemophilia* 2014;20 (Suppl. 7),1-11
 27. Brekkan A, Berntorp E, Jensen K, Nielsen EI, Jönsson S. Population Pharmacokinetics of Plasma-Derived Factor IX: Procedures for Dose Individualization. *J Thromb Haemost* 2016;25. DOI: 10.1111/jth.13271. [Epub ahead of print]

Papel de los factores de vida media prolongada y nuevas moléculas en el tratamiento de la hemofilia

M. T. Álvarez Román, M. Martín Salces, I. Rivas Pollmar, V. Jiménez Yuste
Servicio de Hematología. Hospital Universitario La Paz. Madrid

Introducción

En la última mitad del siglo XX se han producido numerosos cambios en el abordaje terapéutico de los pacientes con hemofilia, lo cual ha conducido a una importante mejora de su estado articular y de su esperanza de vida. Uno de esos avances ha sido la instauración de regímenes de profilaxis en los pacientes con hemofilia grave, tratamiento actualmente recomendado por todos los comités científicos^{1,2}. Varios estudios prospectivos han demostrado que la profilaxis reduce el número de hemartros y mejora el estado articular, lo que favorece la integración de los pacientes en el trabajo, los deportes y las actividades de ocio, y mejora así su calidad de vida^{3,4}.

Para llevar a cabo la profilaxis, disponemos de concentrados plasmáticos y recombinantes, ambos eficaces y seguros, pero con una vida media ($t_{1/2}$) de 8-12 horas en el caso del factor VIII (FVIII) y de 18-24 horas en el del factor IX (FIX). Esto obliga a múltiples infusiones intravenosas (de 156 a 209 al año en hemofilia A y alrededor de 104 en hemofilia B), lo cual constituye una importante barrera para el cumplimiento del tratamiento.

Otro inconveniente de los concentrados actuales es que hasta un 30% de los pacientes con hemofilia A grave desarrollan inhibidor, lo cual complica el manejo, empeora la calidad de vida y aumenta la morbimortalidad y el coste.

Para solventar estos problemas se han desarrollado en los últimos años nuevos concentrados con un perfil farmacocinético diferente, cuyo objetivo principal es aumentar la $t_{1/2}$ del factor administrando y reducir así el número de infusiones. Dichos concentrados se denominan de manera genérica "concentrados de vida media larga" (EHL, del inglés *Extend Half Life*). Por otro lado, se han diseñado nuevas moléculas que utilizan vías alternativas para generar trombina. Estas moléculas son útiles en pacientes con inhibidor o sin él, tienen una $t_{1/2}$ más prolongada, son de administración subcutánea y parecen menos inmunógenas. Todos estos atributos las hacen muy atractivas para su utilización, aunque aún se encuentran en fases más iniciales de desarrollo clínico que los EHL⁵.

Alternativas disponibles

Concentrados de vida media larga (EHL)

Los mecanismos utilizados para aumentar la $t_{1/2}$ de los concentrados han sido la unión a la Fc de la IgG1 o a la albúmina, o la adición de moléculas de polietilenglicol (PEG)⁶. Los resultados de los ensayos clínicos realizados con estos concentrados en pacientes previamente tratados (PTP) indican que se puede prolongar la $t_{1/2}$ de 3 a 5 veces en el caso del FIX y de 1,4 a 1,5

veces en el caso del FVIII. En este último caso, parece ser que la menor prolongación de la $t_{1/2}$ es debida a que precisa del factor Von Willebrand (FvW) para su estabilización y transporte, por lo que únicamente se ha logrado aumentar la $t_{1/2}$ lo que dura este último, aproximadamente 18 horas^{7,8} (Tabla 1).

Actualmente, la Food and Drug Administration (FDA) ha aprobado dos EHL del FVIII (Eloctate[®] y Adynovate[®]) y uno del FIX (Alprolix[®]), mientras que la European Medicines Agency (EMA) solamente ha aprobado uno del FVIII (Elocta[®]).

Muchas cuestiones quedan por resolver, como las que se exponen a continuación, cuando estos fármacos estén disponibles para su utilización en la práctica clínica habitual.

¿Cuál de todos ellos será el más adecuado?

Aunque la farmacocinética (PK) de los diferentes EHL del FVIII es muy semejante, la molécula en sí es muy diferente (algunos tienen la molécula completa, otros presentan depleción del dominio B y otros tienen el dominio B truncado). Además, la línea celular utilizada para su producción también es diferente (células de ovario o renales de hámster chino, línea celular humana). Finalmente, el mecanismo utilizado para prolongar la $t_{1/2}$, tanto para el FVIII como para el FIX, varía dependiendo de las moléculas que se añadan, lo cual puede condicionar la elección de uno u otro en función de los eventuales efectos adversos que pudieran ocasionar a largo plazo dichas moléculas.

¿Reducirán los EHL la tasa anual de sangrados (ABR, del inglés *Annual Bleeding Rate*)?

En los estudios pivotaes del FVIII-Fc realizados en PTP adultos y adolescentes, la ABR del grupo que recibía profilaxis personalizada dos días a la semana fue de 1,6, y de 0,66 en el estudio de extensión. Esto mismo ocurrió en el estudio pivotal del rFVIII-rurioctacog alfa pegilado (BAX 855), donde la ABR fue de 1,9. En el momento actual no podemos afirmar que los EHL reducen la ABR, pues no existen ensayos comparativos entre estos y los concentrados convencionales. Además, los datos disponibles de ABR en estos últimos están referidos a medias en vez de a medianas y los estudios se realizaron con regímenes de profilaxis menos intensivos que los actuales⁹⁻¹². No obstante, en el estudio publicado por Konkle en PTP tratados con BAX 855 se mostraba que los pacientes en los que la $t_{1/2}$ del factor infundido era menor tenían una mayor ABR¹¹. Por este motivo, podríamos inferir que la mayor $t_{1/2}$ que tienen los EHL podría proteger en mayor medida de los sangrados, siempre y cuando la frecuencia de infusión sea la adecuada, pues el paciente mantendría niveles valle más altos.

Tabla 1. Moléculas

Producto	Compañía	Tecnología	Línea celular	t _{1/2} (h)	Mejora t _{1/2}	Ensayos		
						Adultos	Pediátricos	PUP
Moléculas de factor VIII								
Eloctate	Biogen Idec	Fusión con el fragmento Fc de la IgG1	HEK293H	18,8-19	1,5 veces	Aprobado por la FDA en 2014	Finalizado (NCT01458106)	En desarrollo (NCT02234323)
Bay 94-9027	Bayer Healthcare	Pegilación dirigida con PEG de 60 kDa en el dominio A3	BHK	19	1,5-1,6 veces	Ensayo en fase III completado (NCT01580293)	En desarrollo (NCT01775618)	No
Bax 855	Baxter	Pegilación química en lisinas específicas con PEG de 20 kDa	CHO	18 (1,4 x Advate)	1,5-1,6 veces	Aprobado por la FDA en 2015	Finalizado (NCT02210091)	En desarrollo (NCT02615691)
N8-GP	Novo-Nordisk	Glicopegilación dirigida con PEG modificada ácido siálico de 40 kDa en el dominio B	CHO	19	1,5-1,6 veces	Ensayo fase III completado (NCT01480180)	En desarrollo (NCT01731600)	En desarrollo (NCT02137850)
Bay 79-4980	Bayer Healthcare	PEG liposoma con rFVIII estándar	BHK	10,8				
Moléculas de FIX								
rIX-FP	CSL Behring	Fusión con albúmina recombinante	CHO	92-95	5 veces	Ensayo en fase III completado (NCT01496274)	Finalizado (NCT01662531)	En desarrollo (NCT02053792)
Alprolix	Biogen Idec	Fusión con fragmento Fc de la IgG1	HEK293H	56,7-82,1	3-5 veces	Aprobado por la FDA en 2014	Finalizado (NCT01440946)	Finalizado (NCT02234310)
N9-GP	Novo-Nordisk	Pegilación dirigida con PEG de 40 kDa	CHO	93	6 veces	Ensayo en fase III completado (NCT01333111)	En desarrollo (NCT01467427)	En desarrollo (NCT02141074)
HEK293H: human embryonic kidney 233 cells; BHK: baby hamster kidney; CHO: Chinese hamster ovary. CHO: Chinese hamster ovary; HEK293H: human embryonic kidney 233 cells.								

La única estrategia que podría poner en peligro estas cifras de ABR sería espaciar las infusiones más de lo adecuado para cada paciente en concreto¹³.

Esta baja ABR también se ha puesto de manifiesto con los EHL del FIX. Así, con el rFIXFP (FIX unido a albúmina) la ABsR (*Annual Bleeding spontaneous Rate*) fue de 0, y con el rFIXFc (FIX unido a Fc de la Ig1) administrado a 100 UI/kg/10 días fue de 1,4. Esto puede ser debido a un mejor perfil farmacocinético, una mayor área bajo la curva, una mejor recuperación del factor infundido y un menor aclaramiento^{14,15}.

¿Reducirán el número de infusiones?

En el caso del FVIII, los ensayos clínicos muestran una reducción de al menos una infusión a la semana sin comprometer su eficacia^{8,11}. En el ensayo clínico pivotal del FVIII Fc, los pacientes con profilaxis personalizada que recibían infusiones cada 3 o 5 días tenían una ABR de 1,6, frente a una ABR de 3,6 en aquellos que recibían una infusión a la semana (9). Por este motivo, en pacientes con hemofilia A, la profilaxis con una infusión a la semana quedaría reservada para pacientes muy

seleccionados (aquellos con farmacocinética favorable y fenotipo hemorrágico leve)¹⁶.

En 2015 Gringeri publicó una simulación basada en un modelo poblacional comparando la PK de un concentrado convencional (rAHF-PFM, Advate[®]) con el primer EHL aprobado por la FDA (rFVIII Fc). Estima en una semana el tiempo en el que un paciente tendría niveles de FVIII < 3% o > 10% con cada uno de los concentrados. El estudio concluye que una pauta de rFVIII convencional a 30 UI/kg/48 horas es equivalente a rFVIII Fc a 30 UI/kg/3 días (17). Esto supondría una reducción de 61 infusiones al año que, aunque no son resultados tan ventajosos como los obtenidos con los EHL del FIX, puede suponer un beneficio para algunos pacientes⁷.

Numerosas revisiones insisten en que, en el caso de los EHL del FVIII, no debemos olvidar que el objetivo de la profilaxis es evitar los episodios hemorrágicos, aunque podamos intentar espaciar las infusiones⁶.

En cuanto a los EHL del FIX podemos decir que han superado los beneficios esperados, pues mantienen su eficacia administrándolos con intervalos de 10-14 días, lo cual supone una media de 18 a 36 infusiones al año frente a las 104 infusiones anuales con los actuales^{9,14}.

¿Serán tratamientos excesivamente costosos?

En el caso del FVIII los resultados de los ensayos ponen de manifiesto que, si bien se reducía el número de infusiones, en la mayoría de los casos el consumo semanal de unidades era el mismo que con los concentrados convencionales. Por este motivo, si el coste de los EHL fuera superior a los convencionales, el esfuerzo económico para mantener una profilaxis efectiva sería importante.

Sin embargo, en el caso de los EHL del FIX, el número de unidades anuales administrado se redujo ostensiblemente (un 40% menos de consumo con respecto al FIX convencional)¹⁴.

Manejo de los EHL en la práctica clínica

Se podrán utilizar diversas pautas con los EHL dependiendo del objetivo que queramos alcanzar: mayores niveles valle, menor número de infusiones o una combinación de ambos.

En el caso de los EHL del FVIII, estudios basados en modelos de PK poblacional nos permiten inferir los resultados que conseguiríamos¹⁸:

- Reduciendo el número de infusiones y la dosis semanal, el paciente estaría más tiempo cerca del nivel valle con pocas $C_{máx}$ (concentraciones máximas o picos). Esto sería útil en pacientes con malos accesos venosos y vida sedentaria. Siempre que disminuyamos el número de infusiones, debemos tener presente no poner en peligro el principal objetivo de la profilaxis, que es evitar el desarrollo de artropatía. Esto es especialmente importante en niños, cuyas articulaciones son más sensibles al sangrado.
- Reduciendo el número de infusiones con la misma dosis semanal, obtendríamos mayores niveles valle y mayores $C_{máx}$.
- Manteniendo el número de infusiones y la misma dosis semanal obtendríamos mayores niveles valle, lo cual sería de gran utilidad en los pacientes que tienen sangrados a pesar de mantener niveles valle > 1%, en aquellos con articulaciones diana, o en los que realizan ejercicio físico intenso¹⁶.

Los beneficios de un menor número de infusiones serán: menos visitas al hospital y menos necesidad de catéteres venosos centrales (CVC) cuando el paciente inicia la profilaxis; posibilidad de administrar el concentrado a una hora más conveniente para el paciente (no

será necesaria la infusión a primera hora de la mañana); y posibilidad de incluir a pacientes en profilaxis cuya inclusión hasta ahora no se había contemplado (pacientes con hemofilia moderada, pacientes con hemofilia B que precisen más de una infusión al mes, etc.)¹⁴. Así, podremos iniciar la profilaxis antes, tendremos una mayor adherencia y, globalmente, una mayor protección frente al sangrado.

Si mantenemos las infusiones y alcanzamos niveles valle más altos, los pacientes no tendrían sangrado incluso tras realizar ejercicio físico intenso¹⁹. El único inconveniente de esta estrategia es que puede incrementar el coste de forma considerable.

Nuevas moléculas en el tratamiento de la hemofilia

Se encuentran en desarrollo otras moléculas diseñadas para aumentar la $t_{1/2}$, bien como modificaciones del FVIII o bien a través de otras estrategias para generar trombina, aunque en estados más iniciales (Tabla 2):

- *FVIII unido a ácido polisialílico*. La unión de ácidos polisialílicos dificulta la degradación enzimática de la proteína terapéutica. En el caso del FVIII, reduce la unión a los receptores LRP1 y, en estudios en ratones *knockout* para FVIII y FvW, la $t_{1/2}$ aumenta hasta cuatro veces⁵.
- *ACE 910*. Es un anticuerpo monoclonal humanizado bioespecífico (hBS23), dirigido contra el FIXa y el FX, que mimetiza la acción del FVIII como cofactor. Puede conseguir la hemostasia en pacientes con hemofilia congénita con inhibidor o sin él, así como en pacientes con hemofilia adquirida. Es de administración subcutánea y tiene una $t_{1/2}$ de hasta 3 semanas²⁰.
- *Anticuerpo monoclonal 2021, concizumab*. Es un anticuerpo monoclonal humanizado (mAb 2021) que bloquea la interacción entre el FXa y el inhibidor de la vía del factor tisular (TFPI, del inglés *Tissue Factor Pathway Inhibitor*), facilitando la generación de trombina. Se han finalizado los estudios de fase I con 28 adultos sanos y 24 pacientes con hemofilia, habiendo demostrado su eficacia y seguridad, tanto en la administración intravenosa como en la subcutánea²¹.
- *ALN-AT3*. Es un RNA de interferencia que reduce la síntesis de AT-III, aumentando la generación de trombina. Datos del ensayo de fase I realizado en sujetos sanos y en pacientes con hemofilia A grave muestran altas tasas de eficacia y seguridad, con una administración semanal vía subcutánea²².

Tabla 2. Nuevas moléculas

Producto	Dosis	Vía de administración	Ensayos clínicos	
Inhibición de anticoagulantes naturales				
Anticuerpo anti TPFI	Anticuerpo monoclonal 2021	Semanal	Subcutánea	Ensayo en fase I en desarrollo (NCT02490787)
EnsaRNAi-AT-III	ALN-AT3	Semanal	Subcutánea	Ensayo en fase I en desarrollo (NCT02035605) Ensayo en fase I/II en desarrollo (NCT02554773)
Promoción de la generación de trombina imitando la actividad del cofactor del FVIII				
Anticuerpo específico frente a FIXa y FX	ACE910	Semanal	Subcutánea	Ensayo en fase I/II completado (JapicCTI-121934)

Conclusiones

Se puede decir que estamos asistiendo a un cambio de paradigma en el abordaje terapéutico de los pacientes con hemofilia, con un gran arsenal terapéutico que nos permitirá personalizar más el tratamiento.

Así, en los pacientes con poca actividad física y/o malos accesos venosos, podremos espaciar las infusiones y, en aquellos que realicen ejercicio físico intenso y tengan buenos accesos venosos, se podrá mantener el número de infusiones aumentando los niveles valle. Otra opción es reducir las infusiones manteniendo niveles valle más altos; esta es la estrategia más adecuada para aquellos pacientes con vida activa, pero que no realizan ejercicio físico con alto riesgo de sangrado.

En pacientes con hemofilia B los EHL supondrán un gran cambio, pues permitirán espaciar las infusiones hasta 14 días, lo cual posiblemente aumentará la adherencia al tratamiento y llevará a mejores resultados.

Aunque los EHL del FVIII no han conseguido los resultados esperados, han logrado reducir, al menos una vez a la semana, el número de infusiones, lo cual puede ser beneficioso para pacientes con malos accesos venosos como la población pediátrica, evitando en algunos de ellos la implantación de CVC. No obstante, nos encontramos ante la incertidumbre de si espaciar las infusiones aumentará o no el riesgo de sangrado.

Al igual que con los concentrados convencionales, los EHL requieren una cuidadosa evaluación individual de la PK, con el fin de elegir un régimen con una combinación adecuada entre los niveles valle y los picos necesarios, adaptado al estilo de vida del paciente (17).

A la hora de diseñar un régimen profiláctico, debemos tener como principal objetivo evitar los episodios hemorrágicos, teniendo siempre en cuenta el coste económico, para lo cual es imprescindible personalizarlo en cada paciente.

En resumen, los EHL, fundamentalmente los del FIX, permitirán un menor número de infusiones, obtener niveles valle más altos y diseñar un tratamiento más individualizado, que nos llevará a una mayor protección articular y una mejor calidad de vida de los pacientes.

No obstante, aún nos quedan cosas importantes por saber. Desconocemos la tasa real de inhibidores, pues no están completados los estudios en PUP. Por otro lado, se desconoce el coste global del tratamiento, aunque, a la hora de valorar este aspecto, es necesario tener en cuenta la menor necesidad de CVC, el menor número de visitas al hospital, el menor daño articular y el menor número de cirugías ortopédicas. Finalmente, debemos considerar la mejora que supondrá en la calidad de vida de los pacientes el menor número de infusiones, así como la flexibilidad horaria en la administración.

En cuanto a las otras moléculas, el ACE910 puede suponer un gran cambio para los pacientes con hemofilia A en los que los EHL no han conseguido los resultados esperados. En los estudios clínicos ha mostrado una alta eficacia, con una mayor prolongación de la $t_{1/2}$ y con el beneficio añadido de la administración subcutánea.

Finalmente, los estudios de terapia génica están muy avanzados en pacientes con hemofilia B y posiblemente varíen de nuevo todas las líneas de tratamiento para estos pacientes.

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. Colvin BT, Astermark J, Fischer K, Gringeri A, Lassila R, Schramm W, et al; Inter Disciplinary Working Group. et al., European principles of haemophilia care. *Haemophilia* 2008;14(2):361-74.
3. Manco-Johnson MJ, Abshire TC, Shapiro AD, Riske B, Hacker MR, Kilcoyne R, et al. Prophylaxis versus episodic treatment to prevent joint disease in boys with severe hemophilia. *N Engl J Med* 2007;357(6):535-44.
4. Gringeri A, Lundin B, von Mackensen S, Mantovani L, Mannucci PM; ESPRIT Study Group. A randomized clinical trial of prophylaxis in children with hemophilia A (the ESPRIT Study). *J Thromb Haemost* 2011;9(4):700-10.
5. Fogarty PF. Biological rationale for new drugs in the bleeding disorders pipeline. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2011;2011:397-404.
6. Mahdi AJ, SG Obaji, Collins PW. Role of enhanced half-life factor VIII and IX in the treatment of haemophilia. *Br J Haematol* 2015;169(6):768-76.
7. Carcao M. Switching from current factor VIII (FVIII) to longer acting FVIII concentrates--what is the real potential benefit? *Haemophilia* 2015;21(3):297-9.
8. Shapiro AD, Ragni MV, Kulkarni R, Oldenberg 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.
9. Mahlangu J, Powell JS, Ragni MV, Chowdary P, Josephson NC, Pabinger I, et al. Phase 3 study of recombinant factor VIII Fc fusion protein in severe hemophilia A. *Blood* 2014; 123(3): 317-25.
10. Nolan B, Mahlangu J, Perry D, Young G, Liesner R, Konkle B, et al., Long-term safety and efficacy of recombinant factor VIII Fc fusion protein (rFVIII-Fc) in subjects with haemophilia A. *Haemophilia* 2016;22(1):72-80.
11. Konkle BA, Nolan B, Mahlangu J, Perry D, Young G, Liesner R, et al. Pegylated, full-length, recombinant factor VIII for prophylactic and on-demand treatment of severe hemophilia A. *Blood* 2015;126(9):1078-85.
12. Shapiro AD. Anti-hemophilic factor (recombinant), plasma/albumin-free method (octocog-alpha; ADVATE) in the management of hemophilia A. *Vasc Health Risk Manag* 2007;3(5):555-65.
13. Laffan MA, Lester W, O'Donnell JS, Will A, Tait RC, Goodeve A, et al. The diagnosis and management of von Willebrand disease: a United Kingdom Haemophilia Centre Doctors Organization guideline approved by the British Committee for Standards in Haematology. *Br J Haematol* 2014;167(4):453-65.
14. Santagostino E, Martinowitz U, Lissitchkov T, Pan-Petes B, Hanabusa H, Oldenburg J, et al. Long-acting recombinant coagulation factor IX albumin fusion protein (rIX-FP) in hemophilia B: results of a phase 3 trial. *Blood* 2016;127(14):1761-9.
15. Powell JS, Pasi KJ, Ragni MV, Ozelo MC, Valentino LA, Mahlangu JN, et al. Phase 3 study of recombinant factor IX Fc fusion protein in hemophilia B. *N Engl J Med* 2013; 369(24):2313-23.
16. Tiede A. Half-life extended factor VIII for the treatment of hemophilia A. *J Thromb Haemost* 2015;13(Suppl 1):S176-9.
17. 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.
18. Berntorp E, Negrier C, Gozzi P, Blaas PM, Lethagen S. Dosing regimens, FVIII levels and estimated haemostatic protection with special focus on rFVIII-Fc. *Haemophilia* 2016;22(3):389-96.
 19. Den Uijl IE, Fischer K, van Der Bom JG, Grobbee DE, Rosendaal FR, Plug I. Analysis of low frequency bleeding data: the association of joint bleeds according to baseline FVIII activity levels. *Haemophilia* 2011;17(1):41-4.
 20. Uchida N, Sambe T, Yoneyama K, Fukazawa N, Kawanishi T, Kobayashi S et al. A first-in-human phase I study of ACE910, a novel factor VIII-mimetic bispecific antibody, in healthy subjects. *Blood* 2016;127(13):1633-41.
 21. Chowdary P, Lethagen S, Friedrich U, Brand B, Hay C, Abdul Karim F, et al. Safety and pharmacokinetics of anti-TFPI antibody (conci-zumab) in healthy volunteers and patients with hemophilia: a randomized first human dose trial. *J Thromb Haemost* 2015;13(5):743-54.
 22. Pasi KJ. A Subcutaneously Administered Investigational RNAi Therapeutic (ALN-AT3) Targeting Antithrombin for Treatment of Hemophilia: Interim Weekly and Monthly Dosing Results in Patients with Hemophilia A or B Abstract 551 Hematology Am Soc Hematol 57th. Orlando, Florida; 2015.

Profilaxis en pacientes con inhibidor

R. Núñez

Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla

La profilaxis es la modalidad de tratamiento óptimo recomendada para el tratamiento de los pacientes con hemofilia grave sin inhibidor. El concepto de profilaxis surge de la experiencia acumulada en pacientes con hemofilia moderada en los que se observaba un menor número de sangrados y un menor desarrollo de artropatía que en los pacientes con afectación grave¹. Además, varios estudios prospectivos, tanto en niños como en adultos, han demostrado que esta administración regular de concentrados de factor reduce los eventos hemorrágicos articulares como otros episodios hemorrágicos graves, demostrando su eficacia para prevenir o retrasar la artropatía hemofílica en niños, así como para enlentecer la progresión de la misma en los adultos, mejorando su movilidad y su calidad de vida. En ambos grupos, la profilaxis previene además los sangrados de riesgo vital como pueden ser las hemorragias intracraneales²⁻⁴. Basándose en la información acumulada, la Organización Mundial de la Salud, la Federación Mundial de Hemofilia o MASAC entre otras recomiendan la profilaxis iniciada en edad temprana y continuada en el tiempo en el paciente con hemofilia grave como la modalidad de tratamiento aconsejada^{5,6}.

Sin embargo, la vida de un paciente hemofílico se puede ver alterada con el desarrollo de un inhibidor contra el FVIII/FIX, que actualmente es considerada la complicación más importante del tratamiento. Un inhibidor reduce la efectividad del tratamiento, lo que resulta en un aumento de la morbilidad con un coste también mucho mayor que en pacientes sin inhibidor⁷. Existe una gran variabilidad en la literatura especializada respecto a la frecuencia de inhibidores. En el caso de la hemofilia A, la frecuencia global de aparición de inhibidores varía según las series entre el 3% y el 52%, aunque se considera que un 20-33% de los pacientes con hemofilia A grave desarrollarán un inhibidor y menos frecuentemente en los casos de hemofilia A moderada/leve (3-13%)⁸. En hemofilia B la incidencia global se sitúa entre 1,5 y 3%, y es de un 9-23% para pacientes con deficiencia grave⁹.

La mayoría de los inhibidores se desarrollan a una edad temprana, con mayor riesgo en las primeras 50 exposiciones a los concentrados de factor, especialmente entre la 10 y la 20¹⁰. La erradicación del inhibidor mediante inmunotolerancia es la estrategia empleada, especialmente en los pacientes con hemofilia A grave, en los que la tasa de éxito se sitúa en el 70% aproximadamente¹¹.

La presencia de un inhibidor implica un control más difícil de los eventos hemorrágicos por la inefectividad de la terapia sustitutiva habitual. Para ello disponemos de los llamados agentes baipás, concretamente uno de origen plasmático, el complejo protrombínico activado (CCPa) (Feiba®) y otro recombinante, el factor VII activado (rFVIIa) (NovoSeven®); ambos han demostrado su efectividad para generar trombina en el sitio del sangrado, en ausencia

de FVIII o FIX, y por tanto son útiles para el tratamiento de las hemorragias en pacientes con inhibidor¹².

Diversos estudios han mostrado un elevado número de hemorragias en hemofílicos con inhibidor. En el estudio internacional de inmunotolerancia se registraron un total de 966 episodios hemorrágicos, con mayor frecuencia en el grupo de bajas dosis frente al de altas dosis y una *hazard ratio* de 2,20. Blanchette y Manco-Johnson consideran que la artropatía en el paciente con hemofilia e inhibidor es de aparición temprana y que el tratamiento profiláctico podría ser una opción útil¹³.

Si bien inicialmente el uso de estos agentes baipás en profilaxis no se había considerado, desde hace algunos años se han publicado series que apuntan hacia su utilidad y seguridad utilizados de forma profiláctica también en pacientes con inhibidor¹⁵⁻²⁰.

También disponemos de información proveniente de estudios prospectivos. En el Pro-FEIBA se incluyeron pacientes con hemofilia A e inhibidores de alto título, en los que se comparó la eficacia de 6 meses de profilaxis en dosis de 85 UI/kg \pm 15% 3 días a la semana frente a 6 meses de tratamiento a demanda, con un intervalo de tiempo sin tratamiento entre ambos periodos de 3 meses. Un total de 26 pacientes de 27,1 años de promedio (2,8-67,9) completaron los dos periodos de estudio. El grupo en profilaxis presentó una reducción del 62% de los eventos hemorrágicos globales y un 61% cuando se consideraron únicamente los articulares, con una reducción del 72% de los sangrados en articulaciones diana²¹. En otro ensayo prospectivo 17 pacientes fueron tratados con FEIBA (85 UI/kg cada 48 horas) frente a 19 pacientes tratados a demanda durante un año. La tasa anualizada de sangrados (ABR) fue de 7,9 en los tratados profilácticamente, significativamente inferior a 28,7 de los pacientes a demanda²². Konkle y cols. publicaron los resultados de un estudio prospectivo y aleatorizado para valorar la eficacia de rFVIIa en profilaxis secundaria, en el que se incluyeron 22 pacientes que fueron tratados durante 3 meses, con dosis de 90 o 270 μ g/kg/día seguidos otros 3 meses después de finalizar la profilaxis. Las hemorragias se redujeron en un 45% y en un 59% en los grupos de 90 y 270 μ g/kg/día, respectivamente. Esta reducción en los eventos hemorrágicos se mantuvo en el periodo posprofilaxis. También se observó una mejora en la calidad de vida, así como menor absentismo laboral o escolar²³.

Recientemente se ha publicado una guía de consenso española sobre profilaxis con agentes baipás basada en una exhaustiva revisión de la literatura científica²⁴. El panel de expertos recomienda que la profilaxis primaria se administre a largo plazo en pacientes sin evidencia de daño articular antes y durante la inmunotolerancia con el objetivo de prevenir el sangrado articular y las hemorragias amenazantes para la vida. Asimismo, aconsejan la continuación de la profilaxis con agentes baipás en aquellos pacientes que desarrollen inhibidor mientras se encontraran recibiendo profilaxis pri-

maria o secundaria con FVIII. La profilaxis secundaria continua a largo plazo es también recomendada con artropatía establecida para prevenir la recurrencia de eventos hemorrágicos, el desarrollo de articulaciones dianas o para enlentecer la progresión de un del daño articular ya establecido. En cuanto a una profilaxis a corto plazo (3-6 meses) el panel considera que debería considerarse en pacientes que precisen fisioterapia activa o prolongada y en pacientes mayores con articulaciones diana antes de actividades de riesgo para la aparición de sangrados.

Existe un interés cada vez mayor en la profilaxis en pacientes con inhibidor. Sin embargo, su uso continúa siendo limitado probablemente en relación con múltiples factores, como la menor eficacia de los agentes baipás comparada con el FVIII, los inconvenientes relacionados con su administración (vida media corta del rFVIIa o tiempo de infusión de CCPa), el coste de un tratamiento de este tipo a largo plazo o el riesgo asociado de fenómenos trombóticos, especialmente en pacientes de cierta edad.

Bibliografía

- Gringeri A. Prospective controlled studies on prophylaxis: an Italian approach. *Haemophilia* 2003;9(Suppl 1):38-42.
- Manco-Johnson MJ, Abshire TC, Shapiro AD, Riske B, Hacker MR, Kilcoyne R, et al. Prophylaxis versus episodic treatment to prevent joint disease in boys with severe hemophilia. *N Engl J Med* 2007;357(6):535-44.
- Gringeri A, Lundin B, von Mackensen S, Mantovani L, Mannucci PM. A randomized clinical trial of prophylaxis in children with hemophilia A (the ESPRIT Study). *J Thromb Haemost* 2011;9(4):700-10.
- Lusher JM. Considerations for current and future management of haemophilia and its complications. *Haemophilia* 1995;1:2-10.
- Srivastava A, Brewer AK, Mauser-Bunschoten EP, 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-e47.
- National Hemophilia Foundation. MASAC [Medical and Scientific Advisory Council] Recommendation 179. MASAC recommendation concerning prophylaxis (regular administration of clotting factor concentrate to prevent bleeding). Adopted November 4, 2007. Available at: <http://www.hemophilia.org/NHFWeb/MainPgs/MainNHF.aspx?menuid557&contentid51007>. Accessed August 29, 2014.
- Gringeri A, Lorenzo G, Mantovani P, Scalone L, Mannucci PM; for the COCIS Study Group. Cost of care and quality of life for patients with hemophilia complicated by inhibitors: the COCIS Study Group. *Blood* 2003;102:2358-63.
- Hay CR. The epidemiology of factor VIII inhibitors. *Haemophilia* 2006;12(Suppl 6):23-8.
- DiMichele D. Inhibitor development in haemophilia B: an orphan disease in need of attention. *Br J Haematol* 2007;138(3):305-15.
- Gouw SC, van der Bom JG, Marijke van den Berg H. Treatment-related risk factors of inhibitor development in previously untreated patients with hemophilia A: the CANAL cohort study. *Blood* 2007;109(11):4648-54.
- Hay CRM, DiMichele DM. The principal results of the International Immune Tolerance Study: A randomized dose comparison. *Blood* 2012;119:1335-44.
- Lloyd Jones M, Wigth J, Paisley S, Knight C. Control of bleeding in patients with haemophilia A with inhibitors: a systematic review. *Haemophilia* 2003;9:464-520.
- Blanchette VS, Manco-Johnson MJ. Meeting unmet needs in inhibitor patients. *Haemophilia* 2010;16(Suppl 3):46-51.
- Leissinger CA, Becton DL, Ewing NP, Valentino LA. Prophylactic treatment with activated prothrombin complex concentrate (FEIBA) reduces the frequency of bleeding episodes in paediatric patients with haemophilia A and inhibitors. *Haemophilia* 2007;13(3):249-55.
- Morfini M, Auerswald G, Kobelt RA, et al. Prophylactic treatment of haemophilia patients with inhibitors: clinical experience with recombinant factor VIIa in European Haemophilia Centres. *Haemophilia* 2007;13(5):502-7.
- Jiménez-Yuste V, Alvarez MT, Martín-Salces M, et al. Prophylaxis in 10 patients with severe haemophilia A and inhibitor: different approaches or different clinical situations. *Haemophilia* 2009;15(1):203-9.
- Valentino LA. The benefits of prophylactic treatment with APCC in patients with haemophilia and high-titre inhibitors: a retrospective case series. *Haemophilia* 2009;15(3):733-42.
- Ettingshausen CE, Kreuz W. Early long-term FEIBA prophylaxis in haemophilia A patients with inhibitor after failing immune tolerance induction: A prospective clinical case series. *Haemophilia* 2010;16(1):90-100.
- Young G, Auerswald G, Jiménez-Yuste V, et al. PRO-PACT: retrospective observational study on the prophylactic use of recombinant factor VIIa in hemophilia patients with inhibitors. *Thromb Res* 2012;130(6):864-70.
- Leissinger C, Gringeri A, Antmen B, et al. Anti-inhibitor coagulant complex prophylaxis in hemophilia with inhibitors. *N Engl J Med* 2011; 3;365(18):1684-92.
- Antunes SV, Tangada S, Stasyshyn O, et al. Randomized comparison of prophylaxis and ondemand regimens with FEIBA NF in the treatment of haemophilia A and B with inhibitors. *Haemophilia* 2014;20(1):65-72
- Konkle BA, Ebbesen LS, Erhardtsen E, et al. Randomized, prospective clinical trial of recombinant factor VIIa for secondary prophylaxis in hemophilia patients with inhibitors. *J Thromb Haemost* 2007;5(9):1904-13.
- López-Fernández MF, Altisent Roca C, Álvarez-Román MT, et al. Spanish Consensus Guidelines on prophylaxis with bypassing agents in patients with haemophilia and inhibitors. *Thromb Haemost* 2016;2;115(5):872-95.

Coagulopatías hemorrágicas: avances en el tratamiento y aplicación de nuevas herramientas en el seguimiento: ecografía

F. Querol Fuentes*

Unidad de Hemostasia y Trombosis. Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Universidad de Valencia. Valencia

Introducción

En el campo de las coagulopatías hemorrágicas, las lesiones en el aparato locomotor del paciente con hemofilia constituyen un problema característico, de consecuencias muy graves (Figura 1), cuyo diagnóstico, tratamiento y control evolutivo repercuten considerablemente en el concepto global de salud, incluyendo la calidad de vida y conceptos socioeconómicos^{1,2}.

Clásicamente, los cuidados de la patología hemofílica se llevan a cabo por un equipo multidisciplinar, liderado por un hematólogo, en el que para los problemas musculoesqueléticos destacan especialistas en rehabilitación, fisioterapeutas, ortopedistas y radiólogos¹.

Las técnicas de imagen constituyen herramientas actuales, sin duda las más objetivas, para el diagnóstico y control evolutivo de las lesiones musculoesqueléticas frecuentes en la patología de la hemofilia, con especial utilidad en el diagnóstico, prevención y tratamiento de la artropatía hemofílica³⁻⁸.

En el contexto global, tres características influyen en la importancia de los cuidados en la patología de la hemofilia:

1. Características sanitarias (patología con necesidad de atención clínica multidisciplinar continua).
2. Características sociales (dificultades de relación, escolares y laborales, motivadas principalmente por los problemas agudos, las visitas al hospital y las convalecencias y secuelas de las lesiones).

3. Características económicas (tratamientos especialmente caros).

Son características que confluyen en la atención de lesiones musculoesqueléticas en el paciente y, respecto al uso de nuevas herramientas, justifican sobradamente el conocimiento general y la unificación de criterios en los protocolos de exploración por imagen.

En relación con la ecografía, resumiendo sus ventajas a la rapidez, efectividad y eficiencia de la exploración, constituye un apoyo a la clínica de las lesiones ortopédicas, que se traduce en un mejor control de las lesiones agudas, de sus secuelas, la artropatía y, consecuentemente, a la prevención de discapacidades. Los protocolos exploratorios ecográficos persiguen dos finalidades básicas: la identificación del problema agudo (hemartrosis) y su control evolutivo, y como técnica alternativa a la resonancia magnética para la detección de lesiones precoces de la artropatía hemofílica⁵.

La hemartrosis se caracteriza por, inicialmente, las observaciones propias de la tumefacción local: dolor, calor, rubor, tumor (derrame) e impotencia funcional (déficit de movilidad y fuerza). El sangrado articular aparece como consecuencia de contusiones, esfuerzos puntuales y también gestos posturales o actividades repetitivas (una hemartrosis puede ocurrir incluso con el simple hecho de subir unos peldaños de escalera cuando, en el paciente con hemofilia, no es adecuado el nivel circulante en plasma de factor VIII o IX)^{1,5,9,10}.

En un paciente con hemofilia, en el caso de un traumatismo incluso mínimo, los síntomas no aparecen siempre de forma inme-

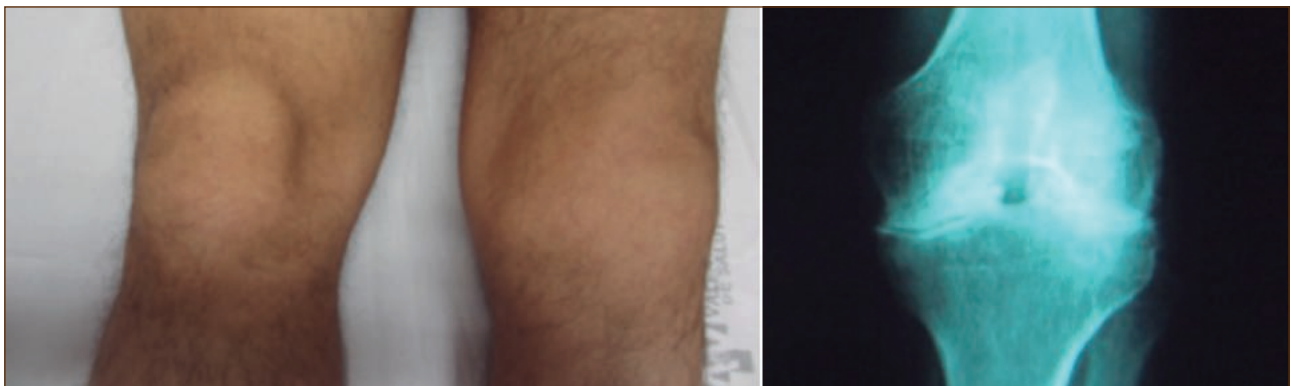


Figura 1. Hemorragia intraarticular aguda en paciente con hemofilia y la consecuencia de episodios repetidos: artropatía hemofílica.

* Felipa Querol Fuentes ha contado con el apoyo de una beca educativa de Baxalta part of Shire para el desarrollo, desde la Universidad de Valencia, de cursos de formación en ecografía musculoesquelética.

diata, a veces transcurren horas, y dice “notar” una “sensación de algo dentro de la articulación” que le advierte de que la lesión está agravándose; esa “sensación” ha sido definida como “aura”^{11,13}; el paciente sabe que algo está ocurriendo y, si se trata de un “paciente entrenado”, es consciente de la eficacia de la administración temprana del factor y de los beneficios de la aplicación del “frío” y la inmovilización. Aun con todo, notará cómo la articulación se le “hincha”, le “duele” y tiene dificultad para la movilización.

La presencia de sangre intraarticular representa lesión primaria de la membrana sinovial y alteración de los condrocitos del cartílago articular y es la principal causa de artropatía hemofílica^{9,12,13}. La persistencia del derrame y las características de su contenido constituyen una alteración objetiva de la infraestructura articular que, para su recuperación, se beneficia de la sinergia de la terapéutica sustitutiva de factores de la coagulación y de la fisioterapia.

La sospecha clínica de un derrame en la articulación, en nuestra opinión, requiere la confirmación diagnóstica y debería obtenerse utilizando la ecografía como primera opción⁵. En la práctica asistencial la evolución de la hemartrosis suele ser controlada con la clínica (dolor y movilidad), sintomatología que suele ceder tratada adecuadamente con protocolos de terapia sustitutiva de factor; sin embargo la utilización de la ecografía ha demostrado la persistencia de alteraciones al menos en la primera semana posesión¹⁴, alteraciones que sugieren la ausencia de normalidad y, consecuentemente, el incremento del riesgo del resangrado y del proceso degenerativo articular.

Se critica de la ecografía su particularidad “operador dependiente”, si bien una serie de trabajos^{5,15-19}, basados en la utilización de protocolos más o menos simples, defienden cómo los beneficios justifican ampliamente su utilidad y además demuestran que su uso como herramienta de primer orden en la consulta clínica diaria no constituye una interferencia en las competencias del radiólogo. Al respecto, y citando otros ejemplos de “herramientas diagnósticas”, el uso e interpretación de la electrocardiografía en las urgencias hospitalarias no implica interferir en las competencias del cardiólogo y, señalando específicamente la ecografía, el uso de estos aparatos por el ginecólogo, el cardiólogo, el reumatólogo o el especialista en medicina del deporte tampoco implica intrusismo en el área de conocimiento que domina el médico especialista en radiología.

El objetivo de este trabajo es destacar la formación en ecografía que imparte la Universidad, dirigido específicamente a la artropatía hemofílica, y señalar las características de un protocolo de exploración ecográfica sencillo, rápido y objetivo para el diagnóstico y control evolutivo de la hemartrosis.

Aspectos docentes de la formación en hemofilia que se imparte en la Universidad de Valencia

En la formación pregrado que imparte el Departamento de Fisioterapia de la Universidad de Valencia, contando con la colaboración de la Unidad de Hemostasia y Trombosis del Hospital Universitario y Politécnico La Fe, se desarrolló, desde 1992, un programa educacional para la evaluación y tratamiento de las alteraciones musculoesqueléticas frecuentes en la patología de la hemofilia. El programa incluye formación basal ecográfica (sonoanatomía) y reconocimiento de lesiones, al igual que el manejo de los protocolos exploratorios clínicos y radiológicos recomendados por la World Federation of Haemophilia.

El programa universitario fue el germen de los cursos formativos posgrado que, ininterrumpidamente, desde 1994, se llevan a cabo en el territorio español y también en Latinoamérica. Incluido en este contexto educacional, se han impartido en diferentes centros sanitarios del territorio español una serie de cursos básicos de 10 horas de duración, auspiciados por Baxter (actualmente Baxalta part of Shire), en el denominado proyecto docente HEMOECO. Este es un programa de formación dirigido principalmente a hematólogos, pero también a los miembros del equipo multidisciplinar que incluye médicos rehabilitadores, fisioterapeutas, personal de enfermería, etc., y en él se señala la importancia del control del hemartros agudo (Figura 2), que contempla aspectos clínicos y ecográficos.

El programa, además de la enseñanza de las herramientas básicas para el diagnóstico, la prevención y el control evolutivo de la artropatía hemofílica, dedica especial atención a un protocolo de exploración ecográfica, para imágenes basales de codos, rodillas y tobillos, y se fundamenta, principalmente, en la evidencia de que menos de un minuto es el tiempo necesario para disponer de una “primera imagen”, e, igualmente, demostrar que menos de un minuto es el tiempo necesario para explorar comparativamente un problema agudo articular.

Control evolutivo HEMARTROS AGUDO

Paciente: _____ Fecha visita diagnóstico: _____

ARTICULACIÓN:

Diagnóstico de artropatía previa: SI / NO _____ Fecha inicio episodio ACTUAL: _____ Ecografía ACTUAL: SI / NO _____ Ecografía PREVIA: SI / NO _____	Fecha ALTA CLÍNICA: Días evolutivos ALTA clínica: _____ Fecha ALTA ECOGRÁFICA: Días evolutivos: _____
--	--

Fecha					
<i>Día +</i>					
<i>Dolor</i>					
<i>Hinchazón</i>					
<i>ROM activo</i> <small>SIN dolor</small>					
<i>Esfuerzo/carga</i> <small>SIN dolor</small>					

Instrucciones cumplimentación:

- Dig. +: En la fecha de visita días transcurridos desde el episodio
- Dolor:
 - 0: NO
 - 1: Ligero (Es consciente de que molesta más que previo a episodio)
 - 2: Moderado. Interfiere actividad, puede mejorar con ayuda física y/o analgesia
 - 3: Impide actividad. Dificulta descanso. Requiere analgesia
- Hinchazón:
 - 0: NO evidente
 - 1: Presente
 - 2: Notable
 - 3: "A tensión"
- ROM activo SIN dolor: Grados de recorrido articular fijo/abstención
- Esfuerzo/carga: 0 posible e igual a situación previa; 1: No posible y/o menos que situación previa

Fecha de ALTA CLÍNICA corresponde:

- Dolor: 0
- Hinchazón: 0 o valor previo en caso de artropatía previa presente
- ROM activo: valor en grados previo a episodio
- Esfuerzo o carga: valor 0 Esfuerzo/carga posible e igual a situación previa; valor 1: Esfuerzo o carga provocan dolor que NO existía previamente

Observaciones: _____

Figura 2. Ficha de los datos clínicos habitualmente consignados en la exploración rutinaria de un hemartros y que, dentro del programa HEMOECO contempla la ecografía como herramienta objetiva de alteración de la estructura articular.

Características del protocolo ecográfico

Consiste en la exploración ecográfica rutinaria de codos, rodillas y tobillos y obliga a la obtención de una imagen basal (en ausencia de lesión aguda) en la que se establece el criterio diferenciado de “normalidad” o de “alteración estructural basal” (pacientes que han sufrido lesiones previas y la imagen es evidentemente distinta de la normalidad).

La imagen basal nos sirve para comparar, tras una “lesión aguda” con sospecha clínica de “lesión intrarticular”, la presencia de líquido (cuando no existía anteriormente) o su incremento (con relación a la imagen previa); cuando esto es posterior a una aparición espontánea de molestias y/o tras un traumatismo, da lugar a un diagnóstico inequívoco de lesión intrarticular aguda, y el objetivo básico de esta evaluación es el control de la evolución hasta el retorno a la situación basal (normalidad de las estructuras) para la profilaxis de la artropatía en la articulación afectada.

Obtención de la imagen

La exploración ecográfica rutinaria anual incluye los cortes ecográficos basales de las articulaciones de codos, rodillas y tobillos:

Codos: posición en flexión de 90 grados. Corte longitudinal en la zona media, utilizando como referencia la inserción del tendón

del tríceps y visualizando parte del olecranon y la “V” (almohadilla grasa) que conforma la sombra que proporciona el olecranon, el borde inferior del tríceps y el cóndilo humeral (Figura 3).

Rodillas: posición en flexión 20-30 grados. Corte longitudinal en la zona media, utilizando como referencia el polo superior de la patela con la inserción del tendón cuadriceps y visualizando la almohadilla grasa y la cortical femoral (Figura 4).

Tobillos: posición en equino 10-20 grados. Corte longitudinal en la zona correspondiente al tendón del extensor del hallux, cuya visualización conforma un “triángulo de almohadilla grasa” junto con la cabeza de la tibia y el cuello del astrágalo (Figura 5).

Resumen

La utilización de nuevas herramientas, para el diagnóstico y control de lesiones musculoesqueléticas, se condiciona al beneficio que proporcionan tanto en la exactitud como en la rapidez. Ambos conceptos los cumple la ecografía.

La urgencia asistencial de un hemartros exige datos objetivos y ecográficamente al menos un corte (imagen longitudinal medial de las articulaciones de codos, rodillas y tobillos) puede proporcionar esta objetividad, y es, en la mayoría de las ocasiones, suficiente para la decisión terapéutica.

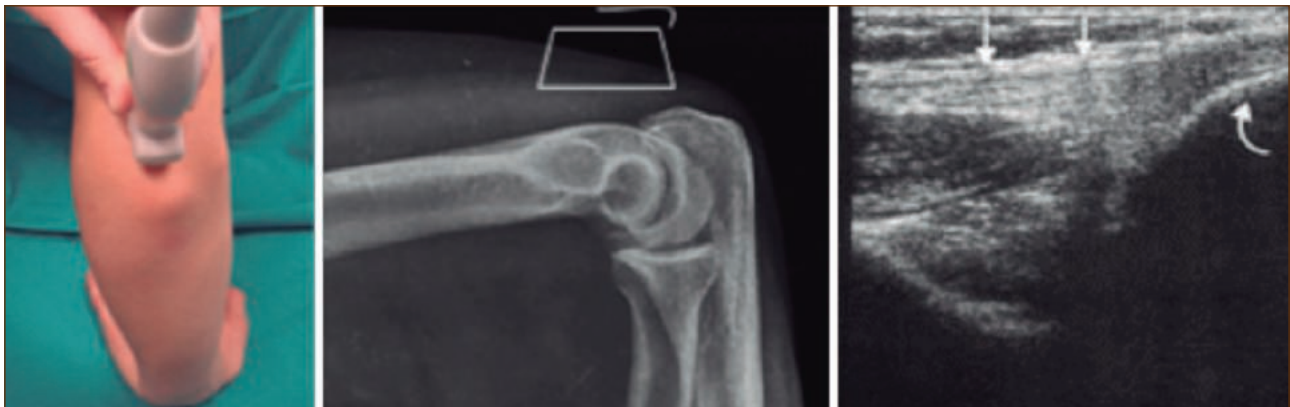


Figura 3. Codo: colocación del transductor e imagen obtenida.



Figura 4. Rodilla: colocación del transductor e imagen obtenida.

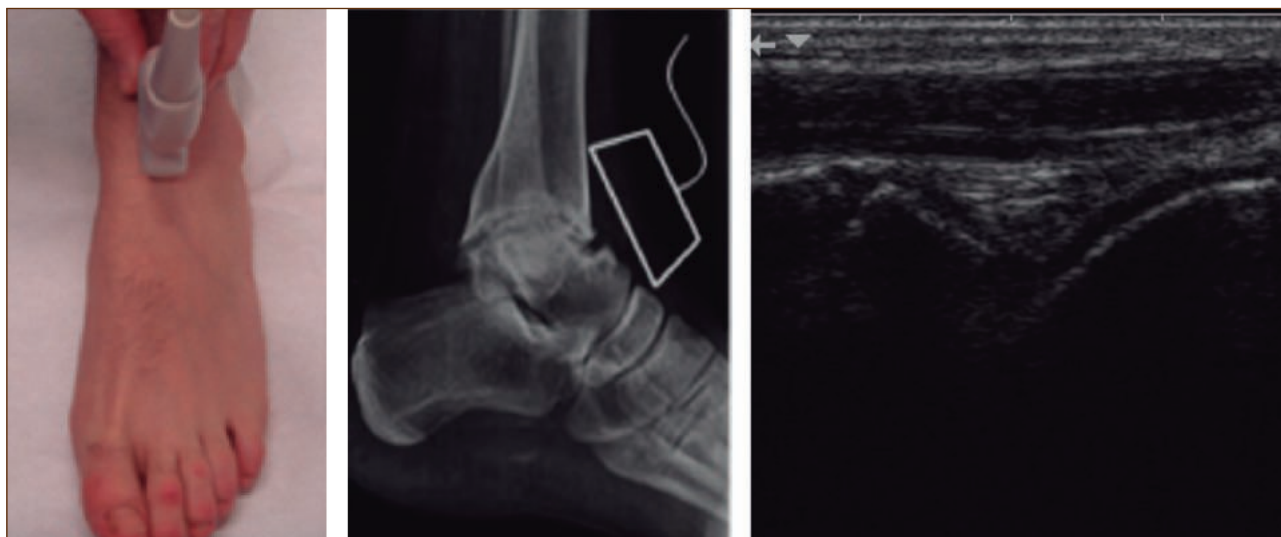


Figura 5. Tobillo: colocación del transductor e imagen obtenida.

El retraso en la administración de factor, en un proceso hemorrágico de un paciente hemofílico, siempre ocasiona daño articular. La disposición en la consulta de un ecógrafo de características básicas (sonda lineal 7-10 MHz) facilita la rapidez de la confirmación diagnóstica y un protocolo simple de adquisición de imagen no interfiere en el desarrollo de la labor asistencial global²⁰. Las posiciones exploratorias descritas en el protocolo coinciden con las recomendaciones generales^{21,22}.

En relación con la hemofilia y la ecografía, se describen diferentes cortes (posiciones del transductor) en las articulaciones de codos, rodillas y tobillos¹⁹, pero estas se relacionan para el diagnóstico de cambios estructurales referidos a la artropatía hemofílica. El protocolo descrito en el presente trabajo define el uso de solo una imagen concreta, un solo corte (posición del transductor en un eje longitudinal), utilizando referencias anatómicas y posturas estrictas pero simples, que pueden mostrar la presencia de líquido, donde antes no lo había (la imagen obtenida se compara con una imagen basal previa en ausencia de lesión aguda que se repite cada año). Esta única imagen ha sido suficiente para confirmar lesión aguda (derrame intrarticular) en el paciente hemofílico y proceder a la administración precoz de la terapia sustitutiva de factor para evitar su agravamiento.

Consideraciones finales

1. En un protocolo simple de exploración ecográfica articular, basado en referencias anatómicas concretas para la exploración de hemartrosis en pacientes hemofílicos, no existen diferencias significativas en la identificación objetiva de las estructuras identificadas.
2. La utilización de la ecografía como herramienta de primer orden en el diagnóstico de la hemartrosis permite objetivar datos útiles en el control evolutivo del proceso agudo.
3. En otro orden de cosas, no menos importantes en el contexto socio-económico-sanitario del tratamiento de la hemofi-

lia, el uso de la ecografía racionaliza el uso de la terapéutica sustitutiva de factor, apuntalando la frase de “ni una unidad de más pero tampoco una de menos”. Si la terapia hematológico-rehabilitadora no se mantiene hasta la objetivación de la “normalidad estructural”, las posibilidades de resangrado o la aceleración del proceso degenerativo pueden verse influenciadas negativamente, y si nuestro objetivo es la salud no podemos prescindir de las herramientas que la avalan.

Bibliografía

1. Srivastava A, Brewer AK, Mauser-Bunschoten EP, et al. Guidelines for the management of hemophilia. *Haemophilia* 2013;19(1):e1-47.
2. Valente M, Cortesi PA, Lassandro G, et al. Health economic models in hemophilia A and utility assumptions from a clinician's perspective. *Pediatr Blood Cancer* 2015;62(10):1826-31.
3. Kilcoyne RF, Nuss R. Radiological evaluation of hemophilic arthropathy. *Semin Thromb Hemost* 2003;29(1):43-8.
4. Muça-Perja M, Riva S, Grochowska B, Mangiafico L, Mago D, Gringeri A. Ultrasonography of haemophilic arthropathy. *Haemophilia* 2012;18(3):364-8.
5. Querol F, Rodríguez-Merchán EC. The role of ultrasonography in the diagnosis of the musculo-skeletal problems of haemophilia. *Haemophilia* 2012;18(3):e215-26.
6. Cross S, Vaidya S, Fotiadis N. Hemophilic arthropathy: a review of imaging and staging. *Semin Ultrasound CT MR* 2013;34(6): 516-24.
7. Li J, Ding X, Lyu B, et al. Ultrasonographic characteristics of hemophilic arthropathy in the knee joints. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi* 2014;35(5):434-7.
8. Doria AS, Keshava SN, Mohanta A, Jarrin J, Blanchette V, Srivastava A, et al. Diagnostic accuracy of ultrasound for assessment of hemophilic arthropathy: MRI correlation. *AJR Am J Roentgenol* 2015;204(3):336-47.
9. Rodríguez-Merchán EC, Goddard NJ, Lee CA. Editors. *Musculoskeletal Aspects of Haemophilia*. Massachusetts (USA): Blakwell Publishing; 2000.

10. Rodríguez-Merchán EC, Jiménez-Yuste V, Aznar JA, et al. Joint protection in haemophilia. *Haemophilia* 2011;17(Suppl 2):1-23.
11. Timmer MA, Pisters MF, de Kleijn P, de Bie RA, Fischer K, Schutgens RE. Differentiating between signs of intra-articular joint bleeding and chronic arthropathy in haemophilia: a narrative review of the literature. *Haemophilia* 2015;21(3):289-96.
12. Roosendaal G, Lefeber FP. Blood-induced joint damage in haemophilia. *Semin Thromb Hemost* 2003;29(1):37-42.
13. Roosendaal G, Lefeber FP. Pathogenesis of haemophilic arthropathy. *Haemophilia* 2006;12(Suppl 3):117-21.
14. Aznar JA, Pérez-Alenda S, Jaca M, García-Dasí M, Vila C, Moret A, et al. Home-delivered ultrasound monitoring for home treatment of haemarthrosis in haemophilia A. *Haemophilia* 2015;21(2):e147-50.
15. Klukowska A, Czyrny Z, Laguna P, Brzewski M, Serafin-Krol MA, Rokicka-Milewska R. Correlation between clinical, radiological and ultrasonographical image of knee joints in children with haemophilia. *Haemophilia* 2001;7(3):286-92.
16. Zukotynski K, Jarrin J, Babyn PS, Carcao M, Pazmino J, Stain AM, et al. Sonography for assessment of haemophilic arthropathy in children: a systematic protocol. *Haemophilia* 2007;13(3):293-304.
17. Acharya SS. Hemophilic joint disease current perspective and potential future strategies. *Transfus Apher Sci* 2008;6:4-11.
18. Melchiorre D, Linari S, Innocenti M, Biscoglio I, Toigo M, Cerinic MM, et al. Ultrasound detects joint damage and bleeding in haemophilic arthropathy: a proposal of a score. *Haemophilia* 2011;17(1):112-7.
19. Martinoli C, Della Casa Alberighi O, Di Minno G, Graziano E, Molinari AC, Pasta G, et al. Development and definition of a simplified scanning procedure and scoring method for Haemophilia Early Arthropathy Detection with Ultrasound (HEAD-US). *Thromb Haemost* 2013;109(6):1170-9.
20. Querol F, Aparisi F, Beltrán J, Cifrián C. Ecografía articular en hemofilia: ¿Una práctica para hematólogos? *Haematologica (Spanish Ed)*. 2009;94(1):175-81.
21. Bianchi S, Martinoli C. *Ecografía musculoesquelética*. Madrid: Marban; 2011.
22. Van Holsbeeck M, Introcaso JH. *Ecografía Muscular*. *Ecografía musculoesquelética*. Madrid: Marbán, 2008; p. 23-75.

Tratamiento antitrombótico

COORDINADORES: J. Mateo Arranz. Unidad de Hemostasia. Hospital de Sant Pau. Barcelona
J. R. González Porras. Complejo Asistencial Universitario de Salamanca. Salamanca

En los últimos años, entre otros ámbitos relacionados con la terapia antitrombótica, destacan dos por su impacto en la práctica clínica diaria. Uno de ellos es el tromboembolismo venoso (TEV) en pacientes con cáncer y el otro es la incorporación de los anticoagulantes orales de acción directa (ACOD) a las opciones terapéuticas en la prevención del embolismo de origen cardiaco en pacientes con fibrilación auricular o en la profilaxis y el tratamiento del TEV.

El TEV es la segunda causa de muerte en los pacientes con cáncer después de la progresión oncológica. Se estima que ocurre entre el 4-20% de los pacientes con cáncer y aparece en el 50% de las necropsias. Por otro lado, el TEV empeora el pronóstico de los pacientes oncológicos, que, además, presentan más recurrencias tromboembólicas y más complicaciones hemorrágicas que los pacientes que sufren TEV ni cáncer. Recientemente ha cobrado renovado interés la posibilidad de realizar profilaxis primaria del TEV en paciente con cáncer, aunque no disponemos de herramientas fiables para identificar en qué pacientes es más útil. Existen estudios en marcha que aportarán datos sobre la importancia de parámetros clínicos y biomarcadores en la identificación de los pacientes de elevado riesgo. En cuanto al tratamiento, las heparinas de bajo peso molecular durante al menos 3-6 meses son fármacos de elección sobre los antagonistas de la vitamina K, dado que hasta la actualidad no existen estudios que hayan realizado una comparación directa con los ACOD. Persisten dudas sobre cuál es la mejor opción a partir del periodo inicial de 3-6 meses debido a que las guías recomiendan mantener el tratamiento de manera indefinida mientras persista el cáncer o se realice tratamiento oncológico activo. Es una situación clínica frecuente, muy diversa y carecemos de evidencia científica de calidad. La Dra. Remedios Otero abordará estas cuestiones.

En cuanto a los ACOD, tras la publicación de los ensayos clínicos principales con buenos resultados globales, surgieron dudas sobre si estas ventajas se trasladarían a los pacientes en la práctica clínica real. Estas dudas fundamentalmente se debían a que la población de los pacientes candidatos es en general más anciana y pluripatológica que en los ensayos clínicos y en ocasiones las posologías aprobadas difieren de las empleadas en los ensayos clínicos. Recientemente ha aparecido una auténtica avalancha de datos obtenidos de registros de aseguradoras y de algunos centros independientes que incluyen varios cientos de miles de pacientes. Uno de ellos es el registro de Dresden (Alemania), liderado por el Dr. Jan Beyer-Westendorf. Los datos confirman, de manera general, el buen perfil de seguridad y eficacia de esta nueva familia de fármacos.

La disponibilidad de estos fármacos hace que aparezcan nuevas situaciones en la práctica clínica, en las que no hay suficiente experiencia. Una de ellas atañe directamente al laboratorio de hematología. El hematólogo debe conocer qué pruebas son las indicadas para titular el efecto o la concentración de estos fármacos. Debido a que estos fármacos son inhibidores de factores activos, encontraremos en el laboratorio de hemostasia alteraciones en algunas determinaciones funcionales (coagulativas o cromogénicas), que pueden ocasionar resultados e interpretaciones espurias. Por otra parte, aunque no se conoce si se puede mejorar la seguridad de estos fármacos mediante su ajuste en función de resultados de laboratorio, estos sí que pueden ayudar en el manejo de las complicaciones tromboembólicas y hemorrágicas o para decidir aplicar agentes de reversión ante cirugía o procedimientos de urgencia. Estos temas serán discutidos por la Dra. Noelia Vilalta.

Inicialmente los ACOD se comercializaron sin la disponibilidad de antagonistas específicos. Aunque las complicaciones hemorrágicas parecen menos frecuentes y menos graves que las que ocurren en pacientes que reciben antagonistas de la vitamina K, sigue habiendo situaciones agudas en las que la disponibilidad de un agente de reversión puede ser de gran ayuda. Existe en la actualidad un reversor específico de dabigatrán, idarucizumab, con un ensayo clínico con resultados parciales publicados y completos a punto de comunicar. Los buenos datos obtenidos han hecho que se haya aprobado por la FDA y la EMA y se haya comercializado de manera preferente para ocupar esta necesidad. En cuanto a la reversión de los inhibidores del factor Xa (apixabán, edoxabán y rivaroxabán), los fármacos más prometedores (andexanet alfa y ciraparantag) están aún en fases más o menos avanzadas de desarrollo clínico. La Dra. Vanessa Roldán actualizará el estado de desarrollo de los agentes reversores.

Avances en la trombosis en pacientes con cáncer

R. Otero Candelera

Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla

Los pacientes con cáncer tienen hasta 7 veces más riesgo de desarrollar enfermedad tromboembólica venosa (ETV) que la población general y la incidencia puede llegar hasta el 20% de los pacientes con cáncer según diversas publicaciones¹⁻⁴. El diagnóstico de ETV está en aumento en los últimos años, principalmente por mayor supervivencia, comorbilidades en los pacientes con cáncer y progreso en las técnicas de imagen para el diagnóstico de ETV. Recientemente el diagnóstico incidental del embolismo pulmonar (EP) presenta un interés clínico en pacientes con cáncer y se debe fundamentalmente al desarrollo y generalización del uso de la tomografía axial computarizada (TC)⁵. La incidencia real de ETV se desconoce, aunque se considera infraestimada, ya que el hallazgo de trombosis en series de autopsias en pacientes con cáncer puede llegar hasta el 50%⁶. El diagnóstico de ETV se correlaciona con una menor supervivencia global en pacientes con cáncer⁷. No está bien estudiado si este peor pronóstico se debe al incremento de mortalidad debido al propio evento trombotico o a una mayor agresividad tumoral en los pacientes que desarrollan ETV.

En la última actualización de la guía clínica de la ACCP se sugiere que los pacientes con ETV y cáncer sean tratados con HBPM en la fase aguda y hasta los 3 meses de tratamiento mejor que con anticoagulación oral (ACO) (grado 2B). Esta recomendación se sustenta en que las HBPM demostraron ser más efectivas que la ACO en cuanto que disminuyen las recurrencias; es más difícil mantener un rango terapéutico con ACO en pacientes con cáncer; la HBPM es más segura en pacientes con dificultad en tratamientos orales (ejemplo: pacientes que con frecuencia presentan vómitos como efectos secundarios de la quimioterapia) y es más fácil manejar y ajustar si se requieren intervenciones invasivas o si ocurren trombocitopenias. Un nuevo ensayo clínico randomizado de 900 pacientes con cáncer y ETV ha demostrado que la HBPM es más efectiva que la ACO en los primeros 6 meses de tratamiento⁸. Las HBPM son el tratamiento a largo plazo y extendido de elección en pacientes con cáncer y ETV sobre cualquier otro tipo de anticoagulantes orales directos (grado 2C). Aún más si se trata de pacientes con cáncer metastásico, ETV extensa y muy sintomática, pacientes con tratamiento quimioterápico y/o vómitos⁹. El papel que los anticoagulantes orales directos puedan tener en los pacientes con cáncer está aún por dilucidar.

El grupo de pacientes con cáncer y ETV es uno de los que plantea mayores retos clínicos en este momento. Su manejo puede ser complicado por la mayor frecuencia tanto de recidivas como hemorragias y el episodio de ETV no deja de ser una complicación, que puede tener consecuencias muy graves, en el proceso diagnóstico-terapéutico de la neoplasia que afecta a la calidad de vida de estos pacientes.

Además de las más frecuentes complicaciones que la ETV presenta en el paciente con cáncer, el principal reto clínico es la duración del tratamiento. En este sentido, las guías de práctica clínica son muy imprecisas cuando aconsejan anticoagular mientras el cáncer siga activo. Necesitamos investigaciones clínicas y nuevos biomarcadores que nos permitan tener herramientas pronósticas en el paciente con cáncer y que ayuden al clínico en la toma de la decisión de suspender o mantener la anticoagulación.

Bibliografía

1. Lyman GH, Khorana AA, Kuderer NM, Lee AY. Cancer and thrombosis: back to the future renewed interest in an old problem. *Cancer Invest* 2009;27:472-3.
2. Noble S, Pasi J. Epidemiology and pathophysiology of cancer-associated thrombosis. *Br J Cancer* 2010;102(Suppl 1):S2-9.
3. Wun T, White R. Venous thromboembolism (VTE) in patients with cancer: epidemiology and risk factors. *Cancer Invest* 2009;27:63-74.
4. Moore RA, Adel N, Riedel E, Bhutani M, Feldman DR, Tabbara NE, et al. High incidence of thromboembolic events in patients treated with cisplatin-based chemotherapy: a large retrospective analysis. *J Clin Oncol* 2011;29:3466-73.
5. Desai SR. Unsuspected pulmonary embolism on CT scanning: yet another headache for clinicians? *Thorax* 2007;62:470-2.
6. Svendsen E, Karwinski B. Prevalence of pulmonary embolism at necropsy in patients with cancer. *J Clin Pathol* 1989;42:805-9.
7. Sorensen HT, Mellekjaer L, Olsen JH, Baron JA. Prognosis of cancers associated with venous thromboembolism. *N Engl J Med* 2000;343:1846-50.
8. Lee AY, Kamphuisen PW, Meyer G, Bauersachs R, Janas MS, Jarner MF, et al. Tinzaparin vs. Warfarin for Treatment of Acute Venous Thromboembolism in Patients With Active Cancer: a randomized clinical trial. *JAMA* 2015;314(7):677-86.
9. Kearon C, Akl EA, Ornelas J, Blaivas A, Jimenez D, Bounameaux H, et al. Antithrombotic Therapy for VTE Disease: CHEST Guideline and Expert Panel Report. *Chest*. 2016;149(2):315-52. DOI:10.1016/j.chest.2015.11.026

Real-world evidence for non-vitamin K antagonist oral anticoagulants in atrial fibrillation

J. Beyer-Westendorf

Center for Vascular Medicine and Department of Medicine III. Division of Angiology, Thrombosis Research Unit. University Hospital "Carl Gustav Carus" Dresden. Dresden, Germany

Introduction

The non-vitamin K antagonist oral anticoagulants (NOACs) apixaban, dabigatran, edoxaban and rivaroxaban are approved for the prevention of stroke and systemic embolism in patients with non-valvular atrial fibrillation (AF) and one or more risk factors. The approvals of the NOACs in this setting were based on the results of large phase III clinical trials, which demonstrated similar or improved efficacy compared with warfarin, an acceptable safety profile and reductions in the rate of intracranial haemorrhage (ICH).

Randomized controlled trials (RCTs) are the most scientifically rigorous method of hypothesis testing available and are considered the gold standard for evaluating the efficacy of a particular intervention. By necessity, RCTs have strict study protocols and designs, with well-defined inclusion and exclusion criteria and adjudicated endpoints. However, both the risk profile and the management of patients enrolled in clinical trials may differ from that of patients seen in routine care, and this can impact on event rates and reduce the applicability of clinical trial data to a broader patient population.

This is where real-world data are of value. Definitions of what constitutes real-world data can vary, but it is widely accepted as healthcare data that have been collected outside the context of RCTs¹. Real-world studies are important because they can provide information about the benefits and harms of therapy in a wider population and establish whether outcomes seen in clinical trials are replicated in routine clinical practice. This is particularly important for safety outcomes. Even in large clinical trials, outcome rates, particularly for adverse events, can be so low or follow-up so short that rare events and complications may not be identified. Because real-world studies, and especially retrospective healthcare database analyses, can include a much larger number of patients and can cover a long period of follow-up, they provide the opportunity to detect safety signals that may not have been apparent in clinical trials. Real-world evidence is also important to gather information on the management and outcomes of patient groups that may have been under-represented or not even included in RCTs because of the study inclusion and exclusion criteria. Furthermore, real-life studies can evaluate treatment decision patterns or management strategies for treatment complications. Because of the randomization process and strict guidance from a trial protocol, such behavioural assessments cannot be derived from RCTs.

Real-world evidence for stroke prevention in atrial fibrillation with NOAC

Use of the NOACs in clinical practice continues to grow and there is accumulating real-world evidence relating to patient adhe-

rence to and persistence with these drugs and their safety and effectiveness in routine care. Several different sources of real-world data exist, including prospective studies, registry data and database analyses, but interpretation of these data is not always straightforward. At present, the majority of real-world studies have evaluated the use of rivaroxaban or dabigatran, and real-world data on apixaban and edoxaban are limited at present.

Safety

In clinical trials, all of the NOACs had similar or lower rates of major bleeding compared with warfarin, with significant reductions in ICH. A meta-analysis of the four pivotal NOAC trials confirmed these findings but highlighted an increased risk of gastrointestinal (GI) bleeding with the NOACs compared with warfarin².

Several real-world studies have evaluated major bleeding rates in patients taking NOACs and it is reassuring to note that irrespective of the type of study or the source of the data, patients in the NOAC cohorts consistently had similar or lower major bleeding rates compared with the respective VKA cohorts. For rivaroxaban, major bleeding rates in real-world studies were generally lower than those seen in ROCKET AF (2.1-3.3 per 100 patient-years compared with 3.6 per 100 patient-years)^{3,8}. This is probably in part because ROCKET AF enrolled a moderate-to-high-risk patient population (mean CHADS₂ score of 3.5) at increased risk of bleeding. In contrast, the range of major bleeding rates for dabigatran in real-world studies is consistent with findings from the RE-LY trial (2.1-4.3 per 100 patient-years compared with 2.9 [dabigatran 110 mg] and 3.4 [dabigatran 150 mg] per 100 patient-years)⁹⁻¹². There is a lack of apixaban real-world data, but one early evaluation of bleeding-related hospital readmission data from two US hospital claims databases indicated that among patients with non-valvular AF taking NOACs, apixaban reduced the risk of bleeding-related readmissions compared with rivaroxaban¹³.

In the Graham et al. study, the rates of bleeding for both dabigatran and warfarin were comparatively higher than the corresponding rates seen in other contemporary real-world studies¹¹. This may be explained by the fact that the Graham study included only elderly patients with AF, increasing the potential for bleeding events with the use of anticoagulant therapy¹¹. Another example could be the substantially lower rates of major bleeding seen in the Fontaine et al. study, which may be attributed to a bleeding definition that differed from those used in other studies¹⁴. In the Fontaine study, the definition of major bleeding was similar to the definition of critical bleeding used in ROCKET AF. In contrast, the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH) major bleeding definition used in several of the other real-world

studies is much broader and, therefore, it could be anticipated that higher major bleeding rates would be observed in these studies.

As seen in the phase III clinical trials, overall rates of ICH with the NOACs were also low^{6,14} in real-world studies and, if direct comparator treatments were also assessed, lower than^{9,11,15,16} or similar to^{3,17} those seen with warfarin. Regarding GI bleeding, the real-world evidence with rivaroxaban seems not to reflect the clinical trial results. In ROCKET AF and the meta-analysis described above, GI bleeding rates were significantly higher in patients receiving rivaroxaban versus warfarin therapy². However, in real-world studies, this signal was not reproducible and GI bleeding rates with rivaroxaban were consistently similar to rates seen with warfarin^{3,18,19}. For dabigatran, a similar increase in GI bleeding rates compared with warfarin was demonstrated in the RE-LY trial, but real-world findings are inconsistent. Several studies have shown similar or even lower GI bleeding rates for dabigatran compared with warfarin^{9,18-21} whereas other studies confirmed higher rates of GI bleeding with dabigatran^{11,16,20,22}.

Another important finding is the low case-fatality rate after NOAC related major bleeding. For instance, in the Dresden NOAC Registry, the case-fatality rate for a major bleeding event during rivaroxaban therapy was 6.3%⁴, which compares favourably with the approximately 15% case-fatality rate reported previously for patients 90 days after a VKA-related major bleeding.

Different from case-fatality rates of major bleeding are data on the incidence of fatal bleeding. A large pharmacovigilance study demonstrated low rates of fatal bleeding for rivaroxaban of 0.08 per 100 person years⁵, and a Danish registry study demonstrated fatal bleeding rates of 0.13-0.27 for dabigatran 150 mg, compared with 0.25-0.46 for warfarin²⁵. Although real-world data on fatal bleeding rates and post-major bleeding mortality rates are limited, the data that are available are consistent with findings from RCTs. A meta-analysis by Caldeira et al., of data from ARISTOTLE, ENGAGE-AF, ROCKET AF, J-ROCKET AF and RE-LY, found that NOACs decreased the risk of fatal bleeding by 47% and reduced the case-fatality rate by 32% compared with VKAs²⁶.

Effectiveness

In addition to safety information, real-world studies can also provide supportive information on the effectiveness of NOACs to prevent stroke. In phase III clinical trials, the NOACs were shown to be at least as effective as warfarin for the prevention of stroke and systemic embolism in patients with non-valvular AF; findings confirmed in a meta-analysis of the four pivotal trials². This meta-analysis also demonstrated that the NOACs were associated with a significant reduction in all-cause-mortality compared with warfarin².

Several real-world studies have evaluated the effectiveness of the NOACs and, as with the bleeding data, it is reassuring to note that the findings of the real-world studies reflect the outcomes observed in the clinical trials. Of note, retrospective healthcare database analyses tend to result in higher event rates compared with prospectively collected data from registries. The event rates also vary widely between the studies because of differences in patient populations and study design; in particular differences in the effectiveness endpoints used.

If event rates of the equivalent composite outcome of stroke and systemic embolism are compared between the real-world and phase III NOAC studies, they are lower in the real-world studies (0.8 vs. 1.1-1.7 per 100 patient-years, respectively)^{6,12}. An exception is the Laliberté et al. study, in which event rates with rivaroxaban were 4.6 per 100 patient-years and as high as 5.9 per 100 patient-years with VKA³. In the phase III studies, the highest event rates were associated either with lower dose use (RE-LY dabigatran 110 mg dose; 1.5 events per 100 patient-years) or a higher-risk patient population (ROCKET AF mean CHADS₂ = 3.5; 1.7 events per 100 patient-years). The mean CHADS₂ score in the Laliberté et al. study was 2.0; therefore, this cannot account for the higher event rates observed; these differences are more likely to be because of how the events were identified, *i.e.* a retrospective search strategy using ICD-9-CM codes³.

Independent of the applied design, the available real-world effectiveness data consistently demonstrate that NOACs appear to be at least as effective as VKAs in reducing the risk of cardiovascular outcomes including stroke, systemic embolism and transient ischaemic attack in patients with AF.

Furthermore, there is some real-world evidence to support a reduction in mortality risk with NOAC use as demonstrated in the Ruff *et al.* meta-analysis²; three real-world studies have demonstrated significant reductions in mortality with NOACs *versus* warfarin^{9,11,27}.

Conclusions

The value of real-world evidence to provide important information about a drug beyond that which can be established from RCTs is becoming increasingly recognized. What is less well understood are the differences between the varying sources of real-world data and how these can impact on study results and their interpretation. However, with these caveats in mind, when evaluating the currently available real-world evidence relating to the NOACs for stroke prevention in patients with AF, what is most striking is the consistency of the effectiveness and safety findings. Irrespective of the data source, in clinical practice the NOACs have been shown to be at least as effective as VKAs for the prevention of stroke and other cardiovascular outcomes, with similar or lower rates of major bleeding. Even more importantly, so far there is no evidence to suggest that major bleeding is more problematic or associated with inferior outcomes in NOAC recipients; indeed the first real-world evidence data have indicated the opposite. Overall, the available real-world evidence provides confirmation that the benefits of the NOACs for stroke prevention in patients with AF, as demonstrated in phase III RCTs, have translated into clinical practice. In conjunction with the additional advantages of simplified dosing, low potential for food and drug interactions and no requirement for routine coagulation monitoring, the NOACs are an attractive therapeutic option for patients with non-valvular AF who are at risk of stroke. It will be interesting to see if future real-world data on the use of apixaban and edoxaban will add to the emerging evidence base demonstrating strong effectiveness and safety profiles of the NOACs in clinical practice.

References

1. Garrison LP Jr, Neumann PJ, Erickson P, Marshall D, Mullins CD. Using real-world data for coverage and payment decisions:

- the ISPOR Real-World Data Task Force report. *Value Health* 2007;10(5):326-35.
2. Ruff CT, Giugliano RP, Braunwald E, Hoffman EB, Deenadayalu N, Ezekowitz MD, et al. Comparison of the efficacy and safety of new oral anticoagulants with warfarin in patients with atrial fibrillation: a meta-analysis of randomised trials. *Lancet* 2014;383(9921):955-62.
 3. Laliberte F, Cloutier M, Nelson WW, Coleman CI, Pilon D, Olson WH, et al. Real-world comparative effectiveness and safety of rivaroxaban and warfarin in nonvalvular atrial fibrillation patients. *Current medical research and opinion* 2014;30(7):1317-25.
 4. 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(6):955-62.
 5. Tamayo S, Frank Peacock W, Patel M, Sicignano N, Hopf KP, Fields LE, et al. Characterizing major bleeding in patients with nonvalvular atrial fibrillation: a pharmacovigilance study of 27 467 patients taking rivaroxaban. *Clin Cardiol* 2015;38(2):63-8.
 6. Camm AJ, Amarencu P, Haas S, Hess S, Kirchhof P, Kuhls S, et al. XANTUS: a real-world, prospective, observational study of patients treated with rivaroxaban for stroke prevention in atrial fibrillation. *Eur Heart J* 2015.
 7. Coleman CI, Antz M, Ehlken B, Evers T. REal-Life Evidence of stroke prevention in patients with atrial Fibrillation-The RELIEF study. *International journal of cardiology* 2016;203:882-4.
 8. Hecker J, Marten S, Keller L, Helmert S, Michalski F, Werth S, et al. Effectiveness and safety of rivaroxaban therapy in daily-care patients with atrial fibrillation. Results from the Dresden NOAC Registry. *Thromb Haemost* 2016;115(5):939-49.
 9. Larsen TB, Rasmussen LH, Skjoth F, Due KM, Callreus T, Rosenzweig M, et al. Efficacy and safety of dabigatran etexilate and warfarin in "real-world" patients with atrial fibrillation: a prospective nationwide cohort study. *J Am Coll Cardiol* 2013;61(22):2264-73.
 10. Beyer-Westendorf J, Ebertz F, Forster K, Gelbricht V, Michalski F, Kohler C, et al. Effectiveness and safety of dabigatran therapy in daily-care patients with atrial fibrillation. Results from the Dresden NOAC Registry. *Thromb Haemost* 2015;113(6).
 11. Graham DJ, Reichman ME, Wernecke M, Zhang R, Southworth MR, Levenson M, et al. Cardiovascular, bleeding, and mortality risks in elderly Medicare patients treated with dabigatran or warfarin for nonvalvular atrial fibrillation. *Circulation* 2015;131(2):157-64.
 12. Korenstra J, Wijtvliet EP, Veeger NJ, Geluk CA, Bartels GL, Posma JL, et al. Effectiveness and safety of dabigatran versus acenocoumarol in 'real-world' patients with atrial fibrillation. *Europace* 2016.
 13. Deitelzweig S, Bruno A, Trocio J, Tate N, Gupta K, Lin J, et al. An early evaluation of bleeding-related hospital readmissions among hospitalized patients with nonvalvular atrial fibrillation treated with direct oral anticoagulants. *Current medical research and opinion* 2016;32(3):573-82.
 14. Fontaine GV, Mathews KD, Woller SC, Stevens SM, Lloyd JF, Evans RS. Major bleeding with dabigatran and rivaroxaban in patients with atrial fibrillation: a real-world setting. *Clinical and applied thrombosis/hemostasis: official journal of the International Academy of Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis* 2014;20(7):665-72.
 15. Southworth MR, Reichman ME, Unger EF. Dabigatran and post-marketing reports of bleeding. *N Engl J Med* 2013;368(14):1272-4.
 16. Hernández I, Baik SH, Pinera A, Zhang Y. Risk of bleeding with dabigatran in atrial fibrillation. *JAMA Intern Med* 2015;175(1):18-24.
 17. Labaf A, Carlwe M, Svensson PJ. Efficacy and safety of novel oral anticoagulants in clinical practice: a report from three centers in Sweden. *Thromb J* 2014;12(1):29.
 18. Chang HY, Zhou M, Tang W, Alexander GC, Singh S. Risk of gastrointestinal bleeding associated with oral anticoagulants: population based retrospective cohort study. *Bmj* 2015;350:1585.
 19. Abraham NS, Singh S, Alexander GC, Heien H, Haas LR, Crown W, et al. Comparative risk of gastrointestinal bleeding with dabigatran, rivaroxaban, and warfarin: population based cohort study. *Bmj* 2015;350:1857.
 20. Sipahi I, Celik S, Tozun N. A comparison of results of the US food and drug administration's mini-sentinel program with randomized clinical trials: the case of gastrointestinal tract bleeding with dabigatran. *JAMA Intern Med* 2014;174(1):150-1.
 21. Nishtala PS, Gnjjidic D, Jamieson HA, Hanger HC, Kaluarachchi C, Hilmer SN. 'Real-world' haemorrhagic rates for warfarin and dabigatran using population-level data in New Zealand. *International journal of cardiology* 2016;203:746-52.
 22. Lauffenburger JC, Farley JF, Gehi AK, Rhoney DH, Brookhart MA, Fang G. Effectiveness and safety of dabigatran and warfarin in real-world US patients with non-valvular atrial fibrillation: a retrospective cohort study. *Journal of the American Heart Association* 2015;4(4).
 23. Halbritter K, Beyer-Westendorf J, Nowotny J, Pannach S, Kuhlisch E, Schellong SM. Hospitalization for vitamin-K-antagonist-related bleeding: treatment patterns and outcome. *J Thromb Haemost* 2013;11(4):651-9.
 24. Gomes T, Mamdani MM, Holbrook AM, Paterson JM, Hellings C, Juurlink DN. Rates of hemorrhage during warfarin therapy for atrial fibrillation. *Cmaj* 2013;185(2):E121-7.
 25. Larsen TB, Gorst-Rasmussen A, Rasmussen LH, Skjoth F, Rosenzweig M, Lip GY. Bleeding events among new starters and switchers to dabigatran compared with warfarin in atrial fibrillation. *Am J Med* 2014;127(7):650-6 e5.
 26. Caldeira D, Rodrigues FB, Barra M, Santos AT, de Abreu D, Goncalves N, et al. Non-vitamin K antagonist oral anticoagulants and major bleeding-related fatality in patients with atrial fibrillation and venous thromboembolism: a systematic review and meta-analysis. *Heart* 2015;101(15):1204-11.
 27. Leef G, Qin D, Althouse A, Alam MB, Rattan R, Munir MB, et al. Risk of Stroke and Death in Atrial Fibrillation by Type of Anticoagulation: A Propensity-Matched Analysis. *Pacing Clin Electrophysiol* 2015;38(11):1310-6.

Los anticoagulantes directos en el laboratorio de hemostasia

N. Vilalta, J. A. Millón, M. Carrasco, J. Mateo, J. C. Souto, J. Fontcuberta

Unitat d'Hemostàsia i Trombosi. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona

Introducción

Existen distintos tipos de fármacos anticoagulantes. Los anticoagulantes clásicos (heparina no fraccionada, heparina de bajo peso molecular, fondaparinux y antagonistas de la vitamina K) actúan sobre varias proteínas plasmáticas para reducir la generación de trombina. Los anticoagulantes directos (ADs) son una nueva generación de fármacos anticoagulantes que basa su mecanismo de acción en la inhibición directa de un solo factor de la coagulación: para el factor II, dabigatrán y para el factor X rivaroxabán, apixabán y edoxabán. Estos nuevos fármacos han demostrado su eficacia en la profilaxis y tratamiento de los eventos tromboticos venosos y en la prevención de embolismos de origen cardiaco en pacientes con fibrilación auricular¹⁻⁴.

Una de las ventajas de los anticoagulantes directos es que no precisan de monitorización continua de su efecto farmacológico, dado que presentan unas características farmacocinéticas y farmacodinámicas similares entre individuos poseen una ventana terapéutica amplia y tienen menos interacciones alimentarias y farmacológicas. Sin embargo, hay determinadas situaciones en las que la determinación de la actividad anticoagulante puede resultar útil: cirugías emergentes, sangrados vitales, sospecha de sobredosis, sospecha de incumplimiento terapéutico, edades avanzadas, disfunción hepatorenal o pesos extremos.

Métodos diagnósticos

Los ensayos de laboratorio habituales –tiempo de protrombina (TP) y tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa)– no son útiles para la correcta monitorización de estos fármacos por sensibilidad insuficiente de los reactivos y ausencia de linealidad dosis-respuesta.

Ambas clases de ADs pueden alterar la dosificación de varios factores de la coagulación. El estudio de trombofilia es particularmente vulnerable en este aspecto, ya que los ADs pueden aumentar los valores de proteína S y proteína C enmascarando un posible déficit de estas o una resistencia a la proteína C activada. También pueden dar falsos positivos en el caso del anticoagulante lúpico. Los ensayos basados en métodos cromogénicos pueden dar resultados falsamente elevados cuando se trata de dabigatrán y el sustrato lo es de la trombina o cuando es rivaroxabán, apixabán y edoxabán en sustratos del factor Xa⁵.

Afortunadamente, hay test de la coagulación que no se altera ante la presencia de ADs: tiempo de reptilasa (TR), fibrinógeno Clauss (con concentraciones de trombina elevadas), métodos inmunoturbidimétricos (dímero D, von Willebrand antigénico), métodos cromogénicos no basados en la actividad del factor II y el

factor X (proteína C y plasminógeno), el cofactor de la ristocetina y los métodos moleculares. No hay estudios sobre la interferencia de estos fármacos en los test de función plaquetaria⁵⁻⁷.

Al igual que sucede con otros fármacos, el test óptimo para la monitorización de los ADs se basa en la determinación de la concentración del fármaco en el plasma o en el suero⁸.

La cromatografía líquida con espectrometría de masas (CL-EM) es la técnica de referencia para la cuantificación plasmática y en sangre total de los ADs. A diferencia de los ensayos habituales, la CL-EM no tiene interferencias con otros factores de la coagulación ni con otros anticoagulantes, ni depende tanto de la fase preanalítica⁹.

Sin embargo, no es una técnica exenta de problemas: el procesamiento es largo, lo que la inutiliza para test urgentes, precisa de instrumentación cara y sofisticada y de un personal entrenado. Estas características limitan su uso al campo de la investigación¹⁰.

Además del método, hay que considerar otros aspectos como el tiempo que ha transcurrido desde la toma del fármaco hasta la extracción de la muestra. Los ADs suelen alcanzar la concentración máxima (C_{max}) entre las 2 y las 4 horas después de la toma. Evaluar la C_{max} resulta útil ante casos de trombosis en un paciente en tratamiento anticoagulante y, por otro lado, la determinación en el momento de la concentración mínima (C_{min}) ayuda a la interpretación en casos de sangrado (6).

Monitorización de los inhibidores directos de la trombina (IDT)

Dabigatrán es el primer inhibidor directo de la trombina aprobado para la prevención de eventos tromboembólicos en pacientes con fibrilación auricular y en pacientes sometidos a cirugía de reemplazo total de cadera y rodilla. También tiene indicación para el tratamiento de la trombosis venosa profunda (TVP) y de la embolia pulmonar (EP) y prevención de recurrencias de la TVP y de la EP¹. Después de su administración vía oral, es rápidamente hidrolizado *in vivo* a su metabolito activo. Su efecto es rápido y alcanza el pico máximo de concentración y actividad a las 2-3 horas. Distintos estudios muestran una relación estrecha entre la concentración plasmática de dabigatrán y su efecto anticoagulante. Dado que actúa sobre la trombina al inhibir el paso de fibrinógeno a fibrina, todos los parámetros básicos de la coagulación pueden verse afectados^{11,12}.

Distintos estudios han demostrado una relación lineal entre la concentración del fármaco y la *ratio de TTPa*. A concentraciones superiores a 200 ng/ml se alcanza un *plateau* impidiendo una cuantificación precisa. Los resultados varían según el analizador y el reactivo utilizado. Las distintas respuestas de los reactivos de TTPa a dabigatrán impiden que se pueda establecer un rango de TTPa a partir del que se consideren concentraciones supratrapéuticas^{11,19}.

El *TP* es un parámetro menos sensible que el *TTPa*. Dabigatrán tiene un efecto mínimo sobre el *TP*. La variabilidad entre reactivos es superior a la de los reactivos usados para el *TTPa*, por lo que no es adecuado para monitorizar el efecto anticoagulante de dabigatrán^{11,12}.

Por otro lado, el *tiempo de trombina (TT)* no es útil para monitorizar su efecto o medir su concentración por ser un parámetro extremadamente sensible. Es útil como mecanismo de exclusión de efecto de dabigatrán, ya que un *TT* normal sugiere una concentración mínima o ausencia de dabigatrán en la muestra^{11,12}.

La presencia de dabigatrán en una muestra puede interferir en la determinación del *fibrinógeno* mediante el método Clauss, infraestimándolo, cuando se usan bajas concentraciones de trombina. La determinación del fibrinógeno es correcta cuando las concentraciones de trombina son elevadas⁵.

Para estimar cuantitativamente los niveles plasmáticos de dabigatrán, existen dos métodos: la determinación del *TT* en el plasma prediluido o *Hemoclot thrombin inhibitor (HTI)*, o mediante métodos cromogénicos o coagulométricos usando el *tiempo de ecarina (ECT)*.

El *HTI* es un *TT* modificado en el que el plasma del paciente se diluye con cloruro sódico hasta una concentración de 1:8 a 1:20. La muestra se incuba con plasma normal antes de añadir trombina-alfa purificada. La dilución del plasma disminuye la respuesta exagerada del *TT* estándar. Se trata de un ensayo sensible y reproducible para la determinación de la concentración de dabigatrán y mantiene una relación lineal excelente entre los rangos infraterapéuticos y supratapéuticos^{5,11,12}.

El *ECT* es un ensayo específico para determinar la generación de trombina. Se añade a la muestra veneno de serpiente que transforma la protrombina a meizotrombina, que a su vez convierte el fibrinógeno en fibrina (*método coagulométrico*) o hidroliza un sustrato peptídico unido a un cromóforo (*método cromogénico*). La meizotrombina es inhibida por el *IDT*. Comparando los resultados del plasma del paciente con un estándar de calibración para el fármaco, se observa una correlación lineal entre la concentración plasmática de dabigatrán y la prolongación del *ECT*⁵.

El *ECT* se ha empleado sobre todo en el ámbito de la investigación. Se han desarrollado *kits* comerciales, pero no están validados ni estandarizados para el dabigatrán, ya que se ha observado una gran variabilidad inter-ensayo^{8,12}.

Monitorización de los inhibidores directos del factor X activado

Rivaroxabán fue el primer inhibidor directo del *FX* activado comercializado. Su efecto no solo se basa en la inhibición del *FXa* libre, sino que también inhibe el que forma parte del complejo protrombinasa y el presente en el coágulo⁶. Apixabán ha sido autorizado en Europa desde mayo de 2011 y edoxabán ha sido el último inhibidor desarrollado. Los tres tienen indicación para la profilaxis del tromboembolismo venoso en pacientes sometidos a cirugía de reemplazo total de cadera y rodilla, para la prevención del ictus en pacientes con fibrilación auricular y para el tratamiento y la prevención de recurrencias de la *TVP* y la *EP*¹.

Rivaroxabán y apixabán también han sido aprobados para el tratamiento de trombosis venosas^{6,15} y edoxabán (de momento solo

en Japón) para el tratamiento de recurrencias de trombosis venosas profundas y embolias pulmonares¹⁴.

Se ha observado una relación concentración-dependiente entre rivaroxabán y *TTPa* mientras que con apixabán es menor. Esta relación es curvilínea, lo que sugiere que la afinidad disminuye a medida que aumenta la concentración del fármaco⁶. Un *TTPa* normal no excluye la presencia de ninguno de los dos anticoagulantes¹⁵. Hay que considerar que esta sensibilidad depende del reactivo utilizado para la realización de la técnica.

Con edoxabán la experiencia es menor. También se ha observado que prolonga el *TTPa* de forma dosis dependiente tanto en estudios *in vivo* como *in vitro*, pero la correlación entre el *TTPa* y la concentración de edoxabán es modesta (R^2 entre 0,4 y 0,89). Se requieren concentraciones supratapéuticas de 500 ng/ml (los niveles habituales en pacientes tratados con edoxabán 60 mg al día son entre 120-250 ng/ml) para doblar el *TTPa*¹⁶.

El *TP* es más sensible ante la presencia de rivaroxabán que de apixabán, aunque también depende de los reactivos utilizados. Niveles terapéuticos de apixabán frecuentemente no alteran el *TP*⁷. Al igual que pasa con el *TTPa*, un *TP* normal, no excluye la presencia de los fármacos en la muestra¹⁵. El *TP* ante edoxabán muestra una relación lineal entre los niveles del fármaco y la prolongación del tiempo. La correlación sigue siendo modesta, pero superior que con el *TTPa*: R^2 entre 0,79 y 0,96. Se han observado (en todos los fármacos) diferencias de sensibilidad según la tromboplastina utilizada. La corrección de la ratio de *PT* utilizando el *ISI* tampoco reduce la variabilidad entre reactivos^{7,14,16,17}.

El *TT*, el *TR* y el *fibrinógeno* habitualmente no se encuentran alterados. El *TT* puede llegar a prolongarse en concentraciones supratapéuticas, pero no ante las dosis utilizadas habitualmente¹⁶.

Los ensayos *anti-Xa cromogénicos* o *coagulativos* se utilizan para determinar la presencia en el plasma de inhibidores directos del factor X activado. Se trata de un ensayo específico para la estimación del nivel de fármaco (utilizando unos calibradores concretos) y para valorar su actividad. Existe una correlación lineal entre la concentración del fármaco y el grado de inhibición observado. Aunque proporcionan información sobre la actividad anticoagulante de los *ADs*, hay que tener en cuenta que son vulnerables a distintas variables: concentraciones supratapéuticas e infraterapéuticas de los fármacos, coagulopatías, niveles elevados de factor VIII, presencia del anticoagulante lúpico, presencia de heparina en la muestra o variación entre instrumentos de medición⁶. Asimismo, en general, los ensayos específicos de monitorización anti-Xa muestran una buena correlación con la concentración del fármaco.

En el caso de edoxabán, la determinación de la actividad antiXa muestra una adecuada linealidad y correlación ($R^2 > 0,95$) entre la concentración plasmática y el efecto antiXa. En la mayoría de estudios se han utilizado los calibradores estándares para *HBPM*. Seguramente, el uso de calibradores específicos mejoraría la linealidad y la exactitud para cuantificar las concentraciones de edoxabán, sobre todo en casos de sobredosis ($> 200-300$ ng/ml)^{16,17}.

Conclusiones

Ante la evaluación del efecto de los *ADs* en un paciente, muchas veces nos enfrentamos a valores supratapéuticas o infraterapéuticas, dado que probablemente sea la hemorragia o la

trombosis una de las situaciones en las que podría estar justificada su evaluación. Hay que tener en cuenta, además, aspectos como el tiempo transcurrido desde la última dosis, la función renal y la información clínica⁵ (Tabla 1).

Dabigatrán: para su monitorización, los ensayos más útiles son el aPTT, dTT, HTI y ECT. Todos muestran una buena sensibilidad, reproducibilidad y linealidad a excepción del aPTT que pierde su linealidad a elevadas concentraciones de dabigatrán. Según recomendaciones recientes del comité de estandarización del ISTH, el TTPa es un test útil para monitorizar el efecto anticoagulante en situaciones de urgencia mientras que el dTT, HTI y ECT son test más útiles para estimar el efecto anticoagulante del fármaco^{18,19}.

Rivaroxabán: el TP resulta útil para determinar la intensidad de la anticoagulación en situaciones de emergencia, pero no para cuantificar concentraciones plasmáticas del fármaco. Para ello, los ensayos cromogénicos anti-Xa (con su calibrador específico) han demostrado una eficacia aceptable¹⁸. La INR no debe utilizarse, ya que está diseñado para el tratamiento con fármacos antivitaminas K.

Apixabán: no existe un test global que proporcione información sobre el efecto anticoagulante en situaciones de emergencia debido a la gran variabilidad entre reactivos. Aunque los reactivos sean sensibles, su prolongación tan solo informa de que el paciente está tomando el fármaco. Se está desarrollando un TP modificado en el que se añade cloruro cálcico a la tromboplastina para prolongar el tiempo de coagulación e incrementar la sensibilidad al fármaco. Los ensayos cromogénicos anti-Xa con un calibrador para el apixabán son el método más fiable para medir su farmacodinamia^{7,18}.

Edoxabán: el TP es más sensible que el TTPa para la monitorización del efecto anticoagulante, sin embargo, la información que proporciona es variable y dependiente de los reactivos utilizados. Los ensayos anti-Xa son útiles para determinar los niveles del fármaco aunque disminuye la exactitud ante concentraciones supratrapéuticas¹⁶.

Finalmente, hay que tener en cuenta que existen diferencias entre los resultados de los test realizados *in vitro* con plasma al que se le ha añadido el fármaco, respecto a los resultados obtenidos con las muestras de pacientes tratados con los fármacos⁵.

Bibliografía

- Abdel-Kader L, Avendaño C, Calvo G. Criterios y recomendaciones generales para el uso de nuevos anticoagulantes orales (NACO) en la prevención del ictus y la embolia sistémica en pacientes con fibrilación auricular no valvular. Agencia española de medicamentos y productos sanitarios. Informe de posicionamiento terapéutico. Diciembre 2013: <http://www.aemps.gob.es/medicamentosUsoHumano/informesPublicos/docs/criterios-anticoagulantes-oraales.pdf>
- 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.
- Patel MR, Mahaffey KW, Garg J, Pan G, Singer DE, Hacke W, et al. Rivaroxaban versus warfarin in nonvalvular atrial fibrillation. *N Engl J Med* 2011;365:883-91.
- Granger CB, Alexander JH, McMurray JJ, Lopes RD, Hylek EM, Hanna M, et al. Apixaban versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *N Engl J Med* 2011;365:981-92.
- Eby C. Novel anticoagulants and laboratory testing. *Int. Jnl. Lab. Hem* 2013;35:262-68.

Tabla 1. Monitorización de los ADs

Fármaco	Efecto anticoagulante	Concentración del fármaco
Dabigatrán	TTPa	TTd, ECT
Rivaroxabán	TP	Anti-Xa*
Apixabán	-	Anti-Xa*
Edoxabán	-	Anti-Xa

TTPa: tiempo parcial de tromboplastina activado; TTd: tiempo de trombina diluido, ECT: tiempo de ecarina; TP: tiempo de protrombina. *Usando calibradores específicos para el fármaco.

- Douxfls J, Mullier F, Loosen C, Chatelain C, Cjatelain B, Dogné JM. Assessment of the impact of rivaroxaban on coagulation assays: Laboratory recommendations for the monitoring of rivaroxaban and review of the literature. *Thromb Res* 2012;130:956-66.
- Cuker A, Siegal DM, Crowther MA, García DA. Laboratory measurement of the anticoagulant activity of the target-specific oral anticoagulant agents: A systematic review. *J Am Coll Cardiol* 2014;16:1128-39.
- Lippi G, Ardisino D, Quintavalla R, Vervellin G. Urgent monitoring of direct oral anticoagulants in patients with atrial fibrillation: a tentative approach based on routine laboratory tests. *J Thromb Thrombolysis* 2014;38:269-74.
- Schmitz EM, Boonen K, van den Heuvel DJ, van Dongen JL, Schellings MW, Emmen JM, et al. Determination of dabigatran, rivaroxaban and apixaban by ultra-performance liquid chromatography - tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) and coagulation assays for therapy monitoring of novel direct oral anticoagulants. *Thromb Haemost* 2014;12:1636-44.
- Lippi G, Favaloro EJ. Recent guidelines and recommendations for laboratory assessment of the direct oral anticoagulants (DOACs): is there consensus? *Clin Chem Lab Med* 2015;53:185-89.
- Hapgood G, Butler J, Malan E, Chuniyal S, Tran H. The effect of dabigatran on the activated partial thromboplastin time and thrombin time as determined by the Hemoclot thrombin inhibitor assay in patient plasma samples. *Thromb Haemos* 2013;110:308-15.
- Van Ryn J, Stangier J, Haertter S, Liesenfeld KH, Wienen W, Feuring M, et al. Effect of dabigatran on coagulation assays and reversal strategies. *Thromb Haemos* 2010;103:1116-27.
- Douxfls J, Mullier F, Robert S, Chatelain C, Chatelain B, Dogné JM. Impact of dabigatran on a large panel of routine or specific coagulation assays. *Thromb Haemos* 2012;107:985-97.
- Iba T, Emmi M, Hiki M, Nagayama M, Aihara K, Tabe Y, et al. Comparison of prothrombin time test used in the monitoring of edoxaban and their evaluation as indicators of the reversal effect. *Int J Hematol* 2015. DOI 10.1007/s12185-016-1975-5
- Bonar R, Favaloro EJ, Mohammed S, Ahuja M, Pasalic L, Sioufi J, et al. The effect of the direct factor Xa inhibitors apixaban and rivaroxaban on haemostasis tests: a comprehensive assessment using *in vitro* and *ex vivo* samples. *Pathology* 2016;48:60-71.
- Cuker A. Laboratory measurement of the anticoagulant activity of edoxaban: a systematic review. *J Thromb Thrombolysis* 2015;39:288-94.
- Douxfls J, Chatelain B, Chatelain C, Dogné J-M, Mullier F. Edoxaban: Impact on routine and specific coagulation assays. *Thromb Haemost* 2016;27:368-81.
- Douxfls J, Tamigniau A, Chatelain B, Goffinet C, Dogné JM, Mullier F. Measurement of non-VKA oral anticoagulants versus classic ones: the appropriate use of hemostasis assays. *Thromb J* 2014;4:12:24.
- Douxfls J, Mullier F, Robert S, Chatelain C, Chatelain B, Dogné JM. Impact of dabigatran on a large panel of routine or specific coagulation assays. *Thromb Haemos* 2012;107:985-97.

Impacto en la práctica clínica de los agentes reversores de los anticoagulantes orales. ¿En qué situaciones los vamos a emplear?

V. Roldán Schilling

Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia

Introducción

Los anticoagulantes orales de acción directa (ACODS) tienen un efecto selectivo en un único factor de la coagulación, actúan de forma directa y reversible obviando las propiedades farmacológicas desfavorables de los fármacos antivitaminas K (AVK), tales como una estrecha ventana terapéutica, numerosas interferencias tanto farmacológicas como dietéticas, regulación genética que condiciona una variabilidad de dosis entre los diferentes individuos y la necesidad de realizar controles analíticos periódicos. Actualmente son tres los fármacos autorizados en nuestro país, dabigatran (inhibidor directo de la trombina o factor II activado) y rivaroxaban y apixaban, que son inhibidores directos del factor X activo (FXa). Los tres fármacos tienen tres indicaciones aprobadas, que son la profilaxis de la trombosis venosa tras cirugía de reemplazo de cadera y rodilla, la profilaxis del ictus y embolismo sistémico en pacientes con fibrilación auricular no valvular (FANV) y el tratamiento y profilaxis secundaria de la trombosis venosa profunda y embolismo de pulmón, esta última no financiada por nuestro Servicio Nacional de Salud. Rivaroxaban además tiene la aprobación por parte de la Agencia Europea del Medicamento de la prevención secundaria tras un síndrome coronario agudo, aunque en nuestro país dicha indicación no está contemplada.

Aunque los tres fármacos han demostrado una reducción significativa del riesgo de hemorragia intracraneal y los estudios en vida real han demostrado que la incidencia de sangrado grave es menor que con los fármacos AVK, lo cierto es que el riesgo no es cero.

Una de las grandes ventajas de los ACODS es su corta vida media. Debido a ello, en muchas ocasiones, una estrategia de esperar y ver puede ser la más adecuada. Ello evita los riesgos, por un lado de los agentes de reversión y, por otro, el riesgo de trombosis inherente a la normalización de la coagulación en un paciente con una subyacente predisposición a la trombosis. De forma similar, esta actitud es la recomendable en caso de una cirugía urgente: intentar retrasarla el máximo tiempo posible. Sin embargo, un aspecto que se debe tener en cuenta es su aclaramiento renal, lo que tiene que estar muy presente a la hora de valorar las complicaciones hemorrágicas, al igual que es relevante conocer con precisión la hora de la toma del fármaco, pues la variación de los niveles plasmáticos puede ser importante entre periodos de tiempo no muy distantes. Los pacientes con mayor edad y con mayor deterioro renal tienen un riesgo de complicaciones hemorrágicas superior. Otro aspecto importante que se ha de considerar es la posología diferente que tienen los distintos ACODS, así dabigatran y apixaban se administran cada 12 horas, mientras que rivaroxaban y edoxaban su indicación es cada 24 horas¹.

La potencial eficacia de fármacos procoagulantes o generadores de trombina (tipo complejo protrombínico activado o no o

factor VII recombinante activo) para contrarrestar el efecto de los nuevos anticoagulantes, está basado en estudios *in vitro*, experimentación animal o estudios en sanos, junto con la publicación ocasional de casos clínicos. Respecto al complejo protrombínico activado, no hay experiencia en su uso fuera de los pacientes hemofílicos y las dosis recomendadas son bastante superiores a las habituales (30-50 U/kg), lo cual, unido a la ausencia de datos de seguridad en la población de pacientes anticoagulados, hace poco recomendable su uso. La utilización del factor VII recombinante es fuera de ficha técnica, ya que no se recomienda su uso en pacientes anticoagulados por la posible alta tasa de episodios tromboembólicos. El complejo protrombínico de cuatro factores, no activado, se perfila como la opción más segura, aunque no está clara la dosis (se sugiere administrar 50 U/kg, lo que es sensiblemente superior a la utilizada con los fármacos antivitaminas K) y su efecto es difícil de medir. Hay que decir que estos fármacos prohemostáticos no alteran la eliminación del fármaco. Así solo deben utilizarse en caso de sangrado grave y en pacientes que precisen cirugía urgente, solo en caso de sangrado incoercible durante y la poscirugía, pero no de forma profiláctica¹⁻³.

Actualmente hay 3 antídotos en distintas etapas de desarrollo y aprobación. Idarucizumab, es el antídoto para dabigatran y es el único que ya está aprobado para su uso en Europa y Estados Unidos, mientras que andexanet-alfa, antídoto para los fármacos anti-Xa (incluyendo heparinas de bajo peso molecular y fondaparinux) está en fase III. Por último, ciraparantag es un agente diseñado para revertir todos los ACODS, pero aún está en fase inicial de desarrollo.

Idarucizumab

Idarucizumab es un anticuerpo humanizado (fragmento de la región variable) que se une y neutraliza la acción anticoagulante de dabigatran. Su afinidad es 350 veces mayor que la de dabigatran por la trombina. El residuo benzamidina de dabigatran se inserta en una cavidad formada entre la cadena pesada y ligera del fragmento Fab y dicha interacción es similar al bloqueo de la trombina por parte de dabigatran. Se une al dabigatran libre y al ya unido a la trombina, pero no se une a la trombina, no activa a las plaquetas ni convierte el fibrinógeno en fibrina. La eficacia y seguridad de idarucizumab está siendo evaluada en un ensayo de fase III denominado REVERSE-AD. La publicación de resultados preliminares en 90 pacientes ha resultado en la aprobación del anticuerpo como antídoto para dabigatran por parte de la Agencia Europea del Medicamento y la FDA. Idarucizumab, administrado por vía endovenosa (2 dosis de 2,5 gramos separadas por 15 minutos), fue capaz de disminuir la fracción libre de dabigatran en el plasma, así como normalizar las pruebas de coagulación en más del 90% de los

pacientes. El perfil de seguridad fue bueno y tan solo un paciente sufrió un evento tromboembólico a las 72 horas^{4,5}.

Andexanet alfa

Se trata de una proteína recombinante (r-Antidote, PRT064445) que carece del dominio γ -carboxyglutámico del factor Xa nativo que le permite unirse a la membrana celular, pero si puede unirse al inhibidor del factor Xa directamente bloqueándolo. Además, una mutación de alanina por serina en el sitio activo que impide que pueda convertir la protrombina en trombina. Es capaz de corregir la hemostasia provocada por fármacos anti-Xa (rivaroxaban, apixaban, edoxaban, fondaparinux y heparinas de bajo peso molecular). De momento tan solo se han publicado resultados en sujetos sanos tratados con apixaban y rivaroxaban. Tras su administración, fue capaz de revertir el 90% de la actividad anti-Xa de apixaban y rivaroxaban, pero su corta vida media obliga a administrarlo en perfusión continua^{6,7}.

Conclusión

De momento, para la práctica clínica diaria el único antídoto disponible es el idarucizumab, en el caso de los fármacos anti-Xa debemos seguir usando el complejo protrombínico para el manejo de las complicaciones hemorrágicas graves en pacientes tratados

con ACODS. Es importante la creación de protocolos en cada hospital para el correcto manejo de los antídotos y de los fármacos generadores de trombina, para racionalizar su uso y evitar complicaciones añadidas.

Bibliografía

1. Heidbuchel H, Verhamme P, Alings M, Antz M, Diener HC, Hacke W, et al. Updated European Heart Rhythm Association Practical Guide on the use of non-vitamin K antagonist anticoagulants in patients with non-valvular atrial fibrillation. *Europace* 2015;17:1467-507.
2. Crowther M, Crowther MA. Antidotes for novel oral anticoagulants: current status and future potential. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2015;35(8):1736-45.
3. Cuker A, Siegal D. Monitoring and reversal of direct oral anticoagulants. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2015;2015:117-24.
4. Pollack CV Jr, Reilly PA, Eikelboom J, Glund S, Verhamme P, Bernstein RA, et al. Idarucizumab for Dabigatran Reversal. *N Engl J Med* 2015;373:511-20.
5. Eikelboom JW, Quinlan DJ, van Ryn J, Weitz JI. Idarucizumab: The Antidote for Reversal of Dabigatran. *Circulation* 2015;132:2412-22.
6. Siegal DM, Curnutte JT, Connolly SJ, Lu G, Conley PB, Wiens BL, et al. Andexanet Alfa for the Reversal of Factor Xa Inhibitor Activity. *N Engl J Med* 2015;373:2413-24.
7. Ghadimi K, Dombrowski KE, Levy JH, Welsby IJ. Andexanet alfa for the reversal of Factor Xa inhibitor related anticoagulation. *Expert Rev Hematol* 2016;9(2):115-22.

Sesión Plenaria

Coordinadores: **José María Moraleda**

Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia

Vicente Vicente García

Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia

Eulogio Conde García

Hospital Universitario Marqués de Valdecilla Santander

Vanessa Roldán Schilling

Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia

Insuficiencia medular

SP-001 *Next generation sequencing* en síndromes hereditarios con insuficiencia de médula ósea

Gálvez E. (1), Sebastián E. (1), Prudencio M. (1), Madero L. (1), Catalá A. (2), Beléndez C. (2), Díaz de Heredia C. (2), Galera A. (2), Plaza D. (2), Dasí M.ª Á. (2), Vallespín E. (3), Lapunzina P. (3), Perona R. (3), Surrallés J. (3), Bueren J. (3), Sevilla J. (1,2)

(1) Hospital Universitario Infantil Niño Jesús. Madrid. (2) Grupo de Fallos Medulares. Sociedad Española de Hematología y Oncología Pediátricas (SEHOP). Valencia. (3) Centro de Investigación Biomédica en Red Enfermedades Raras (CIBERER). Madrid

Introducción: Los síndromes hereditarios con insuficiencia de médula ósea (SHIMO) se caracterizan por ser muy similares clínicamente y genéticamente heterogéneos, lo que resulta en un diagnóstico complejo. La caracterización molecular es imprescindible para establecer el diagnóstico, tratamiento y pronóstico. Las técnicas de *next generation sequencing* (NGS) parecen ser una plataforma útil a la hora de caracterizar genéticamente los diferentes SHIMO. Por ello hemos diseñado un panel NGS con el objetivo de realizar un diagnóstico específico, rápido y rentable para estas patologías.

Método: Se ha diseñado un panel que incluye 164 genes implicados en diferentes SHIMO (Tabla 1). Se han procesado un total de 72 muestras. Los pacientes han sido clasificados en dos grupos: fallo medular inclasificable (FMI) y fallo medular clasificado (FMC). FMC se definió como aquellos pacientes con características orientadas a algún subtipo de SHIMO. Para el estudio NGS se ha empleado la plataforma NextSeq de Illumina (Roche). El análisis bioinformático ha sido orientado a la identificación de polimorfismos puntuales (SNP) e inserciones/deleciones de pequeños fragmentos de ADN. El análisis se ha realizado con ADN extraído a partir de muestras de sangre o células epiteliales.

Resultados: De las 72 muestras procesadas, un 8% (6/72) no fue apto para análisis. De las 66 aptas se han analizado un total de 48, incluidos 8 controles positivos. En el 60% (29/48) se detectaron mutaciones causales de la patología a estudio. En el 100% de los controles positivos se confirmó la mutación descrita. Del total de muestras analizadas (48), el 23% (11/48) se incluyó en el grupo de pacientes con FMI, obteniéndose rendimiento diagnóstico en el 36% (4/11). El 77% (37/48) restante se incluyó en el grupo de pacientes con FMC, detectándose mutación causal en el 68% (25/37) (Tabla 2). Sigue habiendo un porcentaje de pacientes sin diagnóstico genético, que parece más evidente en el grupo de FMI. Esto podría explicarse porque el gen responsable no haya sido descrito o por las limitaciones de la técnica (no permite detectar grandes deleciones/duplicaciones, mutaciones puntuales en mosaico < 50% ni mutaciones en promotores o regiones intrónicas alejadas más de 10 pb).

Conclusiones: Las técnicas de NGS son una opción rápida y rentable para el diagnóstico de pacientes con SHIMO. En nues-

Tabla 1.

Síndromes de fallo medular congénito

Anemia Fanconi
Disqueratosis congénita
Blackfan-diamond
Shwachman-diamond
Neutropenia congénita
Trombopenia con ausencia de radio
Trombopenia amegacariocítica
Trombopenia amegacariocítica con sinostosis radioulnar
Deleción 5q

Síndromes asociados con neutropenia

Disgenesia reticular
Síndrome WHIM
Síndrome de Barth
Hipoplasia pelo-cartilago
Síndrome Chediak-Higashi
Glucogenosis
Síndrome Griscelli
Síndrome de Cohen
Síndrome Hermansky-Pudlak
Enfermedad Charcot-Marie-Tooth
Síndrome Wolcott-Rallison
Ataxia-teleangiectasia
Anemia congénita diseritropoyética

Otros síndromes de inestabilidad cromosómica

Síndrome Nijmegen
Síndrome de Bloom
Síndrome Seckle
Síndrome ligasa IV
Ataxia-teleangiectasia-like
Síndrome Werner
Síndrome Roberts
Síndrome Warsaw
Síndrome Rothmund-Thomson

Otros

Anemia sideroblástica
Anemia megaloblástica tiamina-sensible

Trombopenias hereditarias

Síndrome Paris Trousseau
Megacariocitos hipobulados (reducción alfa gránulos)
Síndrome plaquetas grises
Enfermedades MYH9
Síndrome de Upshaw Schulman
Enfermedad de von Willebrand con trombopenia
Macrotrombocitopenia relacionada con TUBB1
Trombocitopenia relacionada con ITGA2/ITGB3
Macrotrombocitopenia familiar
Trombopenia asociada a LLA

tra serie hemos alcanzado el diagnóstico en el 60%, coincidiendo con lo descrito en la literatura especializada. Los pacientes no diagnosticados deberían incluirse en proyectos y programas de investigación.

Tabla 2. Distribución de pacientes según grupo

	Total (n)	Analizados (n)	Diagnóstico (n)
Fallo medular inclasificable	20	11	4
Fallo medular clasificado	46	37	25
Anemia de Blackfan-Diamond	11	11	9
Anemia de Fanconi	4	3	3
Neutropenia congénita	6	6	2
Trombopenia congénita	17	15	10
Schwachman-Diamond	3	1	1
Mielodisplasia hereditaria	1	1	0
Disqueratosis congénita	4	0	0

Financiación: Asociación Madrileña de Hematología y Hemoterapia (AMHH) y programa de Proyectos de Investigación Traslacional del CIBERER.

Leucemias agudas

SP-002 Metaanálisis de las anomalías citogenéticas crípticas en pacientes con leucemia mieloide aguda *de novo* con cariotipo normal

Ibáñez M. (1), Martínez-Rubio M.^a D. (2), Such E. (1), Onecha E. (3), Gómez-Seguí I. (1), Sellés J. (2), Company D. (1), Barragán E. (4), Ayala R. (3), Llop M. (4), López-Pavía M. (5), Neef A. (1), Martínez-López J. (3), Raspado I. (3), De Matteo B. (1), Esteban J. (1), Carretero C. (1), Martínez F. (1), Hernani R. (1), Andreu R. (1), Senent L. (1), Montesinos P. (1), Sanz M. (1), Cervera J. (6)

(1) Servicio de Hematología, (4) Departamento de Patología Médica y (6) Unidad de Genética. Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia. (2) Servicio de Arrays. Unidad de Genómica. Instituto de Investigación Sanitaria La Fe. Valencia. (3) Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid. (5) Servicio de Hematología. Hospital General de Valencia. Valencia

Introducción: Aproximadamente el 50% de los pacientes con leucemia mieloide aguda (LMA) no presenta alteraciones recurrentes por técnicas citogenéticas convencionales. Es posible realizar el estudio de variaciones en el número de copias (CNV) y pérdidas de heterocigosidad (LOH) mediante la tecnología de arrays de SNP (SNP-A). El estudio en paralelo de tejido sano permite discriminar las alteraciones adquiridas de aquellas con un carácter polimórfico.

Objetivos: Identificar mediante SNP-A la frecuencia de anomalías citogenéticas crípticas adquiridas en 225 pacientes con LMA *de novo* y cariotipo normal (CN).

Métodos: Se estudiaron muestras pareadas (somática/germinal) de 44 LMA-CN *de novo* (32 del Hospital Universitario y Politécnico La Fe y 12 del Hospital Universitario 12 de Octubre.

El estudio se amplió con 181 casos procedentes de repositorios públicos [n = 49 TCGA¹, n = 53, Kronke y cols.²; n = 30 Tadayuki y cols.³; y n = 49 Koren-Michowitz y cols.⁴]. Se emplearon arrays de alta densidad Genome-Wide Human SNP 6.0 (n = 181) y Cytoscan HD (n = 44) (Affymetrix, Santa Clara, CA). El análisis pareado se hizo con el programa Chromosome Analysis Suite[®] con el genoma de referencia GRCh33/hg19. Los criterios de detección para CNV fueron un mínimo de 20 sondas en 100 kb y para LOH, 100 sondas en 5.000 kb. Las alteraciones en la línea germinal se excluyeron del análisis mediante inspección visual y por comparación con las variaciones polimórficas reportadas en la Database of Genomic Variants. Las muestras fueron proporcionadas por el Biobanco La Fe.

El estudio se amplió con 181 casos procedentes de repositorios públicos [n = 49 TCGA (1), n = 53 Kronke y cols. (2), n = 30 Tadayuki y cols. (3) y n = 49 Koren-Michowitz y cols. (4)].

Resultados: En nuestra cohorte, el 57% (n = 25) de los pacientes presentó alteraciones crípticas, (2,32 alteraciones/pa (1-10). Las alteraciones se concentraron en los cr. 1 (n = 9); 11q (n = 8), 7q (n = 6) y 13q (n = 5) (Figura 1). Asimismo, las alteraciones implicaron a genes como *KMT2A*, *FLT3*, *ETV6*, *RUNX1* y *HNPKR*.

Del metaanálisis se detectaron un total de 304 anomalías crípticas en el cariotipo, 151 deleciones, 99 ganancias y 54 CN-LOH en el 67% de los pa. (n = 143). Los cr. más afectados fueron 1, 2, 5, 6, 7, 11, 13, 16 y 19. El mayor número de LOH se observó en 13q (involucrando a *FLT3*), 1p y 7p. En 19p se detectaron más deleciones, mientras que en los cr. 1, 4, 5 y 20 más inserciones. Respecto al pronóstico, ni la presencia de alteraciones crípticas ni el número de ellas mostraron un impacto significativo en la supervivencia global de los pacientes LMA-CN, incluso cuando se estratificaron en base a las mutaciones en *FLT3*-ITD.

Conclusiones: El 67% de los pacientes con LMA-CN presentó anomalías citogenéticas adicionales que no fueron detectables en el cariotipo convencional. La presencia de alteraciones crípticas no tuvo un impacto en el resultado de los pacientes, incluso cuando los pacientes se estratificaron en base al número de alteraciones o a la presencia de mutaciones en *FLT3*-ITD.

Financiación: Estudio financiado por Fundación Española de Hematología (FEHH), P112/01047, RD12/0036/0014, PIE13/00046, P113/01640, P113/02837, PT13/0010/0026, P114/01649 y PROMETEOII/2015/025.

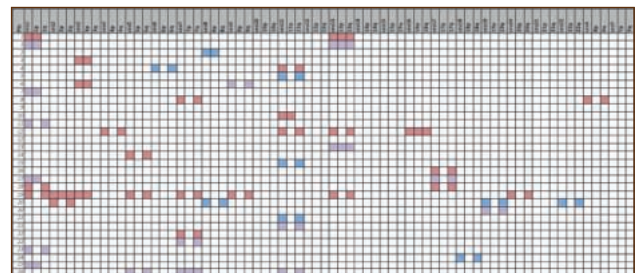


Figura 1. Anomalías citogenéticas crípticas en la cohorte independiente de 44 pacientes con LMA-CN *de novo*. Las pérdidas se representan en rojo, las ganancias en azul y las LOH en morado.

Bibliografía

1. Cancer Genome Atlas Research Network. Genomic and epigenomic landscapes of adult de novo acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2013;368:2059-74.
2. Kronke J, Bullinger L, Teleanu V, Tschurtz F, Gaidzik VI, et al. Clonal evolution in relapsed NPM1-mutated acute myeloid leukemia. *Blood* 2013;122(1):100-8.
3. Tadayuki A, Seishi O, Dugas M, Kawamata N, Yamamoto G, Nannya Y, et al. Frequent genomic abnormalities in acute myeloid leukemia/myelodysplastic syndrome with normal karyotype. *Haematologica* 2009;94(2):213-23.
4. Koren-Michowitz M, Sato-Otsubo A, Nagler A, Haferlach T, Ogawa S, Koefler HP. Older patients with normal karyotype acute myeloid leukemia have a higher rate of genomic changes compared to young patients as determined by SNP array analysis. *Leuk Res* 2012; 36(4):467-73.

Conceptos básicos en hemostasia

SP-003 Papel de *MIR-146A* en el desarrollo de aterosclerosis en un modelo murino

Arroyo A. B. (1), Del Monte A. (2), García Barberá N. (1), Caleprico M. S. (2), Andrés Manzano M. J. (2), Roldán V. (1), Salloum Asfar S. (1), Teruel Montoya R. (1), Vicente V. (1), González Conejero R. (1), Andrés V. (2), Martínez C. (1)

(1) Centro Regional de Hemodonación. Hospital Morales Meseguer. Universidad de Murcia-IMIB. Murcia. (2) Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares Carlos III (CNIC). Madrid

Introducción: La arteriosclerosis es un trastorno inflamatorio crónico de la pared de los vasos en el que monocitos y macrófagos reclutados en las placas de ateroma participan activando la vía de IRAK1/TRAF6/NF- κ B. *MIR146A* es un regulador negativo de esta vía, y se ha mostrado que su sobreexpresión disminuye la inflamación y la arteriosclerosis. Recientemente, hemos demostrado que la variante alélica T del SNP funcional rs2431697 del gen de *MIR146A* se asocia con niveles menores de miR-146a en monocitos y predice eventos cardiovasculares adversos en pacientes anticoagulados con fibrilación auricular al promover un aumento del estado inflamatorio.

Objetivo: Evaluar el papel de miR-146a del componente hematopoyético en el desarrollo de arteriosclerosis en un modelo murino.

Métodos: 30 ratones LDLr^{-/-} irradiados con dosis letales de rayos γ se trasplantaron con médula ósea (MO) de ratones *wild-type* (WT) o miR146a-KO (n = 3 por genotipo) (0.5E6 células/ratón). Se evaluó la eficacia y la eficiencia del trasplante al mes por citometría de flujo. Transcurridos 2 meses de dieta rica en grasa y colesterol, los animales se sacrificaron. Se extrajo plasma para bioquímica, hematología y estudio de NETosis, cuantificando ADNdc (Sytox Green) y actividad elastasa (ELISA). En RNA de arteria torácica se evaluó mediante RT-qPCR la expresión de F4/80 (marcador de macrófagos), miR146a-5p, IRAK1 y TRAF6. Además, se cuantificó la lesión arteriosclerótica en el

arco aórtico mediante tinción de Oil-Red, y se realizaron cortes transversales de la zona del corazón correspondiente a las válvulas aórticas para inmunohistoquímica.

Resultados: Tras la dieta, los animales aumentaron de peso ~4 g. No se encontraron diferencias en la hematología y en la bioquímica predieta y posdieta entre ambos grupos. Observamos niveles de ADNdc significativamente mayores en los ratones con MO miR-146a KO vs. WT (348 vs. 177 ng/ml; p = 0,03) así como en los niveles de elastasa (229 vs. 113 ng/ml; p = 0,002). En el ARN aórtico se confirmó infiltración por macrófagos (F4/80), sin observarse diferencias significativas en ambos grupos. La expresión de IRAK1 fue significativamente superior en los ratones con MO miR-146a KO (p = 0,01) y en TRAF6 se mantuvo la tendencia (p = 0,09). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en la formación de placa de ateroma entre ambos grupos, ni en el arco aórtico ni en las válvulas.

Conclusiones: La deficiencia de miR-146a exclusivamente en el componente hematopoyético no es suficiente para agravar la formación de arteriosclerosis en nuestro modelo murino. Sin embargo, la deficiencia en MO de miR-146a parece modular sus dianas en el endotelio y el proceso de NETosis. Es necesario realizar estudios adicionales para clarificar el papel de miR-146a en NETosis y para evaluar si la deficiencia sistémica de este miRNA contribuiría a la formación de lesiones arterioscleróticas y a un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular en pacientes con fibrilación auricular.

Financiación: RD12/0042/0050 y RD12/0042/0028; ISCIII y FEDER (P14/00253); Fundación Séneca 19873/GERM/15. El CNIC recibe apoyo del Ministerio de Economía y Competitividad (Centro de Excelencia Severo Ochoa, SEV-2015-0505) y de la Fundación Pro-CNIC.

Síndromes linfoproliferativos crónicos

SP-004 Utilidad de los niveles de NT-proBNP y de la escala FRESCO en la predicción de la miocardiotoxicidad inducida por antraciclinas en linfoma difuso de células grandes b tratado con R-CHOP

Ferraro M. (1), Gimeno E. (1), Gómez M. (2), Díaz J. (1), García-Pallarols F. (1), Sánchez-González B. (1), Martínez L. (2), Torres E. (2), Blee M. (2), Molina L. (2), Abella E. (1), Comín J. (2), Salar A. (1)

(1) Departamento de Hematología Clínica. Hospital Universitario del Mar. Barcelona. Grupo de Investigación Aplicada en Malalties Hematològiques. Instituto Municipal de Investigación Médica (IMIM). Barcelona.

(2) Departamento de Cardiología. Hospital Universitario del Mar. Barcelona

Introducción: Las antraciclinas son antibióticos citotóxicos que se utilizan en el tratamiento de los linfomas. La cardiotoxicidad es un efecto adverso característico que puede aparecer tanto de forma aguda/subaguda como a largo plazo. La detección precoz de disfunción cardíaca asintomática y la determinación de biomarcadores de riesgo de cardiotoxicidad por antraciclinas pueden ser importantes para prevenir daño cardíaco irreversible.

Objetivo: Evaluar de manera prospectiva la incidencia, el momento de la aparición y las variables clínico-biológicas asociadas con el desarrollo de la toxicidad cardíaca en pacientes con linfoma difuso de células grandes B (LDCGB) tratados con R-CHOP.

Pacientes y métodos: 166 pacientes con LDCGB diagnosticados desde mayo de 2004 hasta mayo de 2014. Se excluyeron: infección por VIH (10), tratamiento sin antraciclinas (21) y otras causas (5) (Tabla 1). Se determinó la fracción de eyección ventricular izquierda (FEVI) mediante ecocardiografía de alta resolución y el fragmento N-terminal del propéptido natriurético cerebral (NT-proBNP): previo inicio del tratamiento, al finalizarlo y cada 6 o 12 meses posteriormente. Se definió cardiotoxicidad como: FEVI < 55%, descenso > 15% si previa FEVI < 55% y/o clínica de insuficiencia cardíaca (ICC). Se utilizó la escala FRESCO para la predicción de riesgo cardiovascular a 10 años. Se determinó el estadístico C para los diferentes valores de NT-proBNP y escala FRESCO, y se realizó análisis de riesgos competitivos en la evaluación de cardiotoxicidad.

Resultados: Edad mediana 68 años (IQR: 54-75), 51% varones, NT-proBNP mediana 251,8 pg/ml (IQR: 76,2-560,1), FEVI mediana 64% (IQR: 60-69%) y escala FRESCO mediana 4,5 (IQR: 2,1-7,2). NT-proBNP se correlacionó con escala FRESCO, pero no con FEVI. Con un seguimiento mediano de 64,7 meses (IC 95%: 56,4-73,6) se observaron 24 eventos cardíacos (5 clínica ICC + FEVI normal, 7 clínica ICC+FEVI baja y 12 FEVI baja sin

clínica ICC). La incidencia acumulada de miocardiotoxicidad fue del 8,8% a 6 meses (IC 95%: 5,0-15,3), 12,3% a 12 meses (IC 95%: 7,6-19,6), 14,2% a 24 meses (IC 95% 9,1-21,9) y 17,6% a 5 años (IC 95% 11,6-26,1). El estadístico C identificó los valores de corte de NT-proBNP > 600 pg/ml y FRESCO > 4,5 y predijeron independientemente cardiotoxicidad (Hazard Ratio: 6,0 (IC95%: 2,7-13,5; p < 0,0001) y 4,2 (IC95%: 1,6-10,7; p: 0,0011), respectivamente). El análisis de riesgos competitivos evidenció una incidencia acumulada de cardiotoxicidad significativamente aumentada en los casos con NT-proBNP > 600 +/- FRESCO > 4,5 (Figura 1). Por último, se ha realizado el modelado computacional mediante 12 redes bayesianas para analizar las conexiones entre características demográficas, factores de riesgo cardiovascular, tratamiento, aparición de cardiotoxicidad y muerte (la Figura 2 ilustra una de las redes construidas).

Conclusiones: La miocardiotoxicidad por antraciclinas es un problema clínico relevante en la práctica diaria. Los pacientes con NT-proBNP = 600 pg/ml o escala FRESCO > 4,5 tienen un riesgo significativamente aumentado de miocardiotoxicidad por antraciclinas y deberían realizar un seguimiento cardiológico específico en unidades de cardiooncología desde el inicio del tratamiento.

Tabla 1. Características clínico-biológicas y factores de riesgo cardiovascular	
Número de pacientes	n (%) 130
Hipertensión	54 (42)
Dislipemia	23 (22)
Diabetes mellitus de tipo 2	34 (26)
Enfermedad vascular arterial	13 (10)
Hepatopatía	15 (14)
Fumadores activos o pasados	43 (33)
Pérdidas	5 (4)
IMC (índice de masa corporal) > 30	29 (27)
Enfermedad cardíaca previa	25 (19)
FEVI < 55%	9 (7)
NT-proBNP basal ≥ 600 pg/ml	28 (22)
Pérdidas	8 (6)
NT-proBNP basal ≥ 900 pg/ml	22 (17)
Pérdidas	8 (6)
IPI	
Riesgo bajo-medio	90 (69)
Riesgo alto	40 (31)
Anticiclinas	
Convencional	96 (74)
Liposomal no pegilada	34 (26)
Dosis acumuladas antraciclinas (mg/m²)	
> 195	69 (53)
> 299	59 (38)

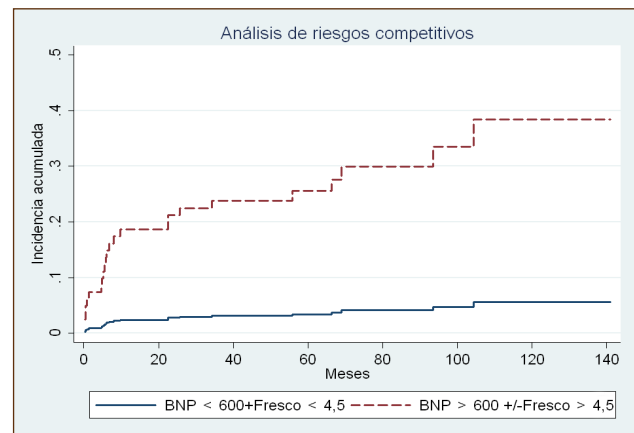


Figura 1. Análisis de riesgos competitivos.

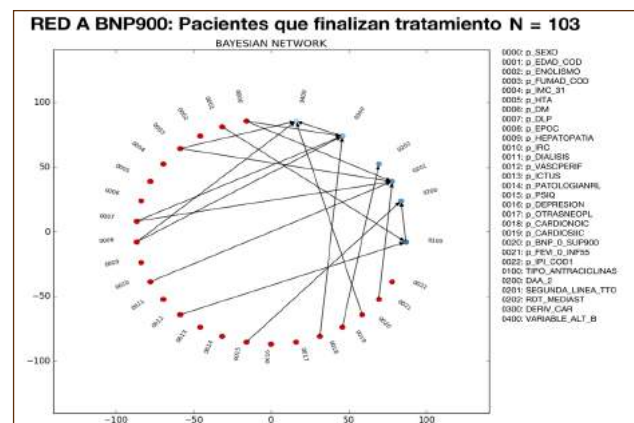


Figura 2. RED A BNP900: pacientes que finalizaron tratamiento.

Diátesis hemorrágica

SP-005 Identificación de 211 sujetos con deficiencia de FXI portadores de 10 mutaciones y seguimiento durante 20 años: implicaciones epidemiológicas, diagnósticas y clínicas

Esteban J. (1), De la Morena-Barrio M. E. (2,3), Salloum-Asfar S. (1), Padilla J. (1), Miñano A. (1), Campillo I. (1), Martínez-García M. Á. (1), Beltrán V. (1), Soria J. M. (4), Ferrer F. (2,3), Vidal F. (5,6), Martín L. (4), Vicente V. (2,3), Corral J. (2,3)

(1) Hospital Virgen del Castillo. Yecla, Murcia. (2) Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Centro Regional de Hemodonación. Universidad de Murcia. IMIB-Arixaca, Murcia. (3) Grupo de investigación CB15/00055. Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER). Instituto de Salud Carlos III (ISCIII). Madrid. (4) Unitat de Genòmica de Malalties Complexes. IIB-Sant Pau. Barcelona. (5) Coagulopaties congènites. Banc de Sang i Teixits. Barcelona. (6) Unitat de Diagnòstic i Teràpia Molecular. Vall d'Hebron Institut de Recerca. Universitat Autònoma de Barcelona (VHIR-UAB). Barcelona

Introducción: Recientes evidencias sustentan la relevancia hemostática del FXI. Su deficiencia, considerada un desorden raro, tiene escasa importancia hemorrágica pero podría proteger contra eventos trombóticos.

Objetivo: Caracterizar la deficiencia de FXI y sus consecuencias clínicas en un área de 60.000 habitantes de la Región de Murcia.

Métodos: En 20 años (1994-2014) se realizaron 324.764 pruebas de TTPa en 51.366 pacientes; se seleccionaron 1.700 que presentaron un TTPa: r prolongado (> 1,3). Descartados los no confirmados, anticoagulados y los anticoagulante lúpico, se estudiaron los factores de la vía intrínseca.

El análisis genético incluyó secuenciación (Sanger y NGS), MLPA y genotipado con sondas Taqman. El FXI plasmático se estudió mediante Western-blot.

Resultados: Identificamos 211 casos con deficiencia de FXI, 7 en homocigosis, 3 en heterocigosis compuesta y 201 en heterocigosis pertenecientes a 42 familias no relacionadas. Destacamos 3 mutaciones fundadoras: p.Cys56Arg (descrita en población vasco-francesa), p.Cys416Tyr y p.Glu565Lys identificadas en 23, 7 y 6 casos índice, respectivamente. Además, otras 8 mutaciones diferentes, 3 de ellas no descritas previamente, se detectaron en 7 casos índice. Dos mutaciones, una de ellas nueva, provocaron deficiencia CRM+ (proteína variante en plasma pero sin actividad funcional) (Tabla 1).

El TTPa no estaba prolongado (ratio < 1,3) en 51/211 casos con deficiencia de FXI (24%).

La incidencia de sangrado espontáneo fue escasa (13,6%) y muy moderado (epistaxis). Únicamente el 5,8% de las 207 intervenciones quirúrgicas y el 4,2% de los 118 partos presentaron complicaciones hemorrágicas, y solo 5 pacientes precisaron transfusiones. La mayor incidencia de hemorragias se produjo en intervenciones que afectaban a tejidos con alta actividad

Tabla 1. Alteraciones del F11 identificadas en nuestro estudio

Alteración F11	Mutación (HGMD)	Estatus genético	N	Tipo de deficiencia
p.Cys56Arg	CM020681	Homocigosis Heterocigosis	3 105	CRM-
p.Cys416Tyr	CM053240	Heterocigosis	19	CRM-
p.Cys56Arg & p.Cys416Tyr	CM020681 CM053240	Het compuesta	1	CRM- CRM-
p.Glu565Lys	CM051917	Heterocigosis	27	CRM-
p.Pro538Leu	CM051916	Homocigosis Heterocigosis	4 30	CRM+
p.Lys536Asn & p.Cys599Tyr	CM002953 Nueva	Het compuesta	2	CRM- CRM+
p.Lys536Asn	CM002953	Heterocigosis	1	CRM-
p.Cys599Tyr	Nueva	Heterocigosis	1	CRM+
p.Thr322Ile	CM950373	Heterocigosis	3	CRM-
p.Arg268Cys	CM035499	Heterocigosis	2	CRM-
c.325G>A	CS081910	Heterocigosis	4	CRM-
p.Ile426Thr	Nueva	Heterocigosis	4	CRM-
Duplicación exones 8 y 9	Nueva	Heterocigosis	5	CRM-

CRM: del inglés cross reactive material. CRM+: con proteína variante en circulación. CRM-: sin proteína variante en circulación. HGMD: Human mutation database.

fibrinolítica. La tasa de eventos hemorrágicos fue similar, independientemente de la administración profiláctica de plasma fresco congelado (PFC) (realizada en 58 ocasiones). Sin embargo, el PFC causó TRALI en dos pacientes. Nueve pacientes, con deficiencia de FXI bajo tratamiento anticoagulante (mayoritariamente por fibrilación auricular), no sufrieron complicaciones hemorrágicas.

Seis casos presentaron infarto agudo de miocardio y 8 ictus isquémico. Sin embargo, solo 2 casos sufrieron trombosis venosa (a pesar de que 16 pacientes también eran portadores del FV Leiden o protrombina G20210A).

Conclusiones: Identificamos una alta incidencia de deficiencia de FXI con notable variabilidad genética en un área de la Región de Murcia. Estos resultados, junto con la elevada incidencia de falsos negativos del TTPa y la escasa clínica hemorrágica de portadores, sugieren que la incidencia de este desorden en población general está subestimada y podría alcanzar el 1%.

La deficiencia de FXI no incrementa notablemente el riesgo hemorrágico, ni siquiera si se combina con tratamiento anticoagulante oral. La administración de PFC no supone ningún beneficio, pero puede tener importantes efectos adversos.

La deficiencia de FXI, particularmente en heterocigosis, no parece proteger de la trombosis arterial, pero podría proteger del desarrollo de trombosis venosa. Estos resultados, compatibles con los modelos animales y ensayos clínicos de silenciamiento de FXI, y junto a la alta incidencia de la deficiencia de FXI, apoyan

incluir este desorden en las pruebas de trombofilia para definir el riesgo trombótico de cada individuo.

Financiación: CB15/00055 (del ISCIII & FEDER); 19873/GERM/15 Fundación Séneca.

Gammopatías monoclonales

SP-006 Desarrollo de un modelo predictivo de riesgo de infecciones graves en pacientes con mieloma múltiple no candidatos a trasplante autólogo: datos del estudio FIRST

Lahuerta J. J. (1), Dumontet Ch. (2), Hulin C. (3), Dimopoulos M. A. (4), Belch A. (5), Dispenzieri A. (6), Ludwig H. (7), Rodon P. (8), Van Doogenbroeck J. (9), Qiu L. (10), Cavo M. (11), Van de Velde A. (12), Allangba O. (13), Hoon Lee J. (14), Boyle E. (15), Civet A. (16), Costa B. (17), Tinel A. (17), Gaston-Mathé Y. (16), Facon T. (15)

(1) Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid, Spain. (2) Hospices Civils de Lyon. Lyon, France. (3) CHU Bordeaux. Bordeaux, France. (4) National and Kapodistrian. University of Athens. Athens, Greece. (5) Cross Cancer Institute. Edmonton, AB, Canada. (6) Mayo Clinic Cancer Center. Rochester, MN, USA. (7) Wilhelminen Hospital. Wilhelminen Cancer Research Institute. Vienna, Austria. (8) Centre Hospitalier. Périgueux, France. (9) AZ Sint-Jan AV Brugge. Brugge, Belgium. (10) Blood Disease Hospital. Chinese Academy of Medical Science and Peking Union Medical College. Tianjin, China. (11) Seràgnoli Institute of Hematology. Bologna University School of Medicine. Bologna, Italy. (12) Universitair Ziekenhuis Antwerpen. Edegem, Belgium. (13) Centre Hospitalier Yves Le Foll. France. (14) Gachon University Gil Hospital. Incheon, Korea. (15) CHRU Lille. Lille, France. (16) YGM Consult. Quinten. Paris, France. (17) Celgene International Sàrl. Boudry, Switzerland

Antecedentes: Los pacientes (pts) con mieloma múltiple (MM) tienen un mayor riesgo de infecciones debido a la toxicidad de los tratamientos, inmunosupresión, comorbilidades, y edad avanzada. Además, presentan una baja respuesta inmune a la vacunación tanto para profilaxis víricas como bacterianas, por lo que existe una necesidad de medidas preventivas tempranas. El estudio pivotal FIRST comparó la eficacia de lenalidomida más dosis bajas de dexametasona (Rd) con la combinación de melfalán, prednisona y talidomida (MPT) en pts con MM no candidatos a trasplante.

Objetivos: Identificar los factores predictivos de infecciones en los primeros 4 meses del estudio FIRST y desarrollar un modelo predictivo de riesgo de infección.

Métodos: En el estudio FIRST, tras firmar el consentimiento, los pts fueron aleatorizados a recibir Rd continuo hasta la progresión, Rd x 18 ciclos (Rd18), o MPT. Para el presente análisis, se combinaron los datos de Rd continuo y Rd18. Se analizaron datos demográficos, antecedentes y características clínicas basales (incluyendo medicación concomitante) para identificar factores de riesgo para el tratamiento emergente (TE) grado = 3 de infecciones durante los primeros 4 meses. Los pts con una supervivencia libre de progresión (SLP) = 4 meses y sin infecciones TE = 3 durante los primeros 4 meses fueron excluidos. Se utilizó un algoritmo de descubrimiento de subgrupos para identificar los factores

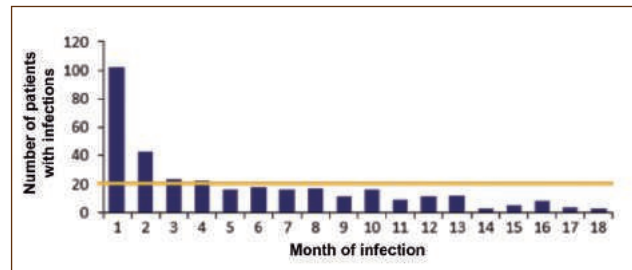


Figura 1. Number of new patients with TE grade ≥ 3 infections by month in the first 18 months.

asociados con un alto o bajo riesgo de infección. Las variables clínicas y biológicas más relevantes se utilizaron en un modelo multivariante de regresión logística con un proceso iterativo de selección de variables. Los pts con ausencia de datos en al menos 1 variable fueron excluidos (n = 9). A partir del modelo predictivo resultante, se desarrolló un sistema de puntuación mediante la asignación de -2 a 2 puntos a los factores de bajo o alto riesgo en función de su influencia en el modelo. La puntuación acumulada clasificó a los pts en dos grupos: alto riesgo (2 a 5 puntos) o bajo riesgo (-3 a 1 puntos) de infección.

Resultados: De los 1.623 incluidos en el estudio, 340 tenían TE = grado 3 y 56,2% de estos (n = 340) presentaron su primera infección en los primeros 4 meses (Figura 1). El riesgo de infección fue similar independientemente del brazo de tratamiento (p = 0,53). Los factores de riesgo fueron evaluados en 1.378 pts, y el modelo final identificó 4 variables (estado funcional según Cooperative Oncology Group Este, β2-microglobulina en suero, lactato deshidrogenasa y hemoglobina), que se asociaron de forma independiente con el grado TE = 3 infecciones que se producen en los primeros 4 meses (Tabla 1).

Los grupos de alto y bajo riesgo definidos por el sistema de puntuación (Tabla 1) se asociaron con tasas significativamente diferentes de TE de grado = 3 infecciones durante los primeros 4 meses (24% y 7%, respectivamente).

Resumen: El sistema de puntuación de riesgo que se describe en el presente trabajo identifica a los pacientes con mayor riesgo de infección durante los 4 primeros meses de tratamiento y puede ser utilizado para implementar estrategias adaptadas al riesgo para el tratamiento o la prevención de infecciones.

Tabla 1. Multivariate logistic regression model for TE grade ≥ 3 infection with in the first 4 months

Model	Pr (> z)	Points	Infection risk
Sβ2M ≤ 3 mh/l	0.02135	-2	Lower
ECOG = 0	0.06231	-1	Lower
Hemoglobin ≤ 11 g/dl	0.07660	1	Higher
ECOG ≥ 2	0,01583	1	Higher
LDH ≥ 200 U/l	0.00299	1	Higher
Sβ2M ≤ 6 mh/l	3.09E-06	3	Higher

Comunicaciones orales

Plaquetas/biología vascular

CO-136 Un patrón alterado de miRNAs en el líquido peritoneal de pacientes con endometriosis podría mediar la regulación de la angiogénesis y la vía Wnt favoreciendo la neovascularización de las lesiones

Marí-Alexandre J. (1), Barceló-Molina M. (1), García-Oms J. (2), Gilibert-Estellés J. (2), Braza-Boïls A. (1)

(1) Instituto de Investigación Sanitaria La Fe. Valencia. (2) Hospital General Universitario. Valencia

Introducción: La endometriosis, aunque se trata de una enfermedad ginecológica benigna, presenta mecanismos moleculares comunes con el cáncer. Resultados previos de nuestro grupo indicaban que componentes del líquido peritoneal (LP) de pacientes modifican el estado angiogénico de las células estromales obtenidas de endometrio de mujeres con endometriosis, comparado con las obtenidas de mujeres control. Se vieron alterados no solo factores angiogénicos y fibrinolíticos, sino también angiomiRNAs. Los miRNAs son pequeños RNAs no codificantes, reguladores de la expresión génica que, en el caso de los angiomiRNAs, regulan los principales mediadores angiogénicos. La presencia de miRNAs en varios biofluidos les postula un papel en la comunicación intercelular y pueden ser utilizados como biomarcadores.

Objetivo: Con el fin de comprender mejor el papel que desempeña el microambiente peritoneal en el establecimiento de lesiones extrauterinas y su neovascularización, nos propusimos como objetivo de este estudio evaluar los perfiles de miRNAs en LP de pacientes con endometriosis y controles y evaluar las principales vías afectadas por aquellos miRNAs diferentemente representados entre ambos grupos.

Métodos: Se estudiaron los perfiles de miRNAs utilizando la plataforma Affymetrix (GeneChip miRNA 4.0) en LP de 6 pacientes y 6 controles, pareadas por fase del ciclo menstrual y edad. Los resultados se analizaron con el *software* Partek Genomic Suite. El estudio de las dianas y las vías reguladas por aquellos miRNAs diferentemente representado se realizó empleando miRWalk 2.0.

Resultados: La representación del clúster jerárquico reveló que los perfiles de miRNAs en LP de pacientes se agrupan separados de los controles. Tras el análisis estadístico, se encontraron 126 miRNAs maduros diferentemente representados ($p < 0,05$; $\pm 1,2$ veces cambio_VC) (48 sobrerrepresentados y 78 infrarrepresentados). Dichos miRNAs potencialmente regulan vías relacionadas con cáncer, como la angiogénesis, la proliferación, la remodelación de la matriz extracelular y la vía Wnt. Algunos de los más sobrerrepresentados fueron el miR-486-5p ($p = 0,038$; VC = 8,23); el miR-451a ($p = 0,034$; VC = 4,17); miR-1343-5p ($p = 0,046$; VC = -3,42); miR-1231-5p ($p = 0,009$; VC = -3,51) y miR-1909-3p ($p = 0,047$; VC = -3,4) que tienen como dianas activadores de las vías Wnt y angiogénesis, demostrando de este modo la estrecha interrelación de ambas vías.

Conclusiones: El LP de pacientes con endometriosis presenta un perfil de miRNAs diferente comparado con el LP de mujeres control. Debido a la función de los miRNAs como comunicadores intercelulares, este hallazgo podría ser útil para comprender mejor los mecanismos peritoneales que permiten la implantación y supervivencia de las lesiones endometrióticas, destacando la importancia de la compleja regulación de las vías Wnt y la angiogénesis. Dichos resultados deben ser validados en un número mayor de muestras con el fin de perfilar el papel del microambiente peritoneal en el desarrollo de esta enfermedad.

Financiación: ISCIII and FEDER (P114/01309 and FI12/00012), RIC (RD12/0042/0029), Contrato "Sara Borrell" (CD13/0005) and IIS La Fe (2011-211).

CO-137 Factores angiogénicos y fibrinolíticos como biomarcadores de recidivas en endometriosis. Valoración del papel de los angiomiRNAs

Barceló-Molina M. (1), Marí-Alexandre J. (1), García-Oms J. (2), Gilibert-Estellés J. (2), Braza-Boïls A. (1)

(1) Instituto de Investigación Sanitaria La Fe. Valencia. (2) Hospital General Universitario. Valencia

Introducción: La endometriosis es una enfermedad ginecológica oncomimética y recurrente que condiciona la calidad de vida de las pacientes en términos de dolor e infertilidad. Se han descrito niveles aumentados de factores angiogénicos y fibrinolíticos en el endometrio de pacientes con endometriosis en comparación con mujeres control. Además, los miRNAs reguladores de la angiogénesis (angiomiRNAs) se encuentran también diferentemente expresados en endometrio eutópico y endometrioma ovárico en comparación con el endometrio de mujeres control. Los angiomiRNAs son miRNAs que regulan la transcripción génica de los principales factores angiogénicos.

Objetivo: El objetivo del presente estudio ha sido evaluar el papel de los principales factores angiogénicos y fibrinolíticos, así como de los angiomiRNAs como predictores de recidiva.

Material y métodos: Se estudiaron las siguientes muestras de pacientes con endometriosis: endometrio eutópico-EUT ($n = 42$), endometrioma ovárico-OMA ($n = 30$) y nódulo del tabique rectovaginal-NTRV ($n = 13$). Se midieron los niveles proteicos de VEGF-A, TSP-1, uPA y PAI-1 por ELISA. Los miRNA-21-5p, -373-3p, -424-5p y -556-3p se cuantificaron por qRT-PCR (miRCURY LNA; EXIQON). Se realizó el seguimiento durante 10 años desde la recogida de las muestras a las 42 pacientes para evaluar la incidencia de recidivas (confirmación quirúrgica).

Resultados: Se encontró una reducción significativa en los niveles de VEGF-A ($288,88 \pm 59,39$ vs. $136,48 \pm 48,84$ pg/ml; $p < 0,05$) y PAI-1 ($7,12 \pm 1,53$ vs. $2,91 \pm 0,97$ ng/ml; $p < 0,05$) en EUT de mujeres que habían recidivado en comparación con aquellas que no. miR-21-5p ($1,11 \pm 0,18$ vs. $0,56 \pm 0,08$; $p < 0,05$) y miR-424-5p ($0,49 \pm 0,08$ vs. $0,81 \pm 0,13$; $p < 0,05$) se encontraron diferentemente expresados en EUT de pacientes recidivantes.

Además, en OMA, se encontraron niveles de PAI-1 significativamente superiores en lesiones de pacientes que recidivaron posteriormente ($18,28 \pm 4,42$ vs. $37,12 \pm 11,85$ ng/ml; $p < 0,05$). Las lesiones del NTRV de estas pacientes presentaron niveles significativamente menores de los angiomiRNAs miR-373-3p ($1,35 \pm 0,53$ vs. $0,12 \pm 0,04$; $p < 0,05$) y miR-556-3p ($2,56 \pm 0,90$ vs. $0,01 \pm 0,00$; $p < 0,05$).

Conclusiones: Las mujeres que sufrieron recidivas presentaron lesiones con menor actividad angiogénica que aquellos tejidos procedentes de pacientes que no recidivaron en los siguientes 10 años. Ello sugiere un acceso ineficiente de los fármacos al tejido circundante que permite de este modo su supervivencia. Este estudio sugiere un posible papel de los angiomiRNAs -21-5p, -373-3p, -424-5p y -556-3p como biomarcadores de recidiva, así como VEGF-A y PAI-1. Sería necesario validar estos resultados en un grupo mayor de pacientes con el fin de definir un algoritmo que integre estos nuevos biomarcadores junto con marcadores clínicos clásicos que permita predecir y prevenir las recurrencias en endometriosis.

Financiación: ISCIII and FEDER (PI14/01309 and FI12/00012), RIC (RD12/0042/0029), Contrato "Sara Borrell" (CD13/0005) and IIS La Fe (2011-211).

CO-138 Evaluación de las vías de señalización que inhiben la activación plaquetaria en neonatos

Palma-Barqueros* V. (1), Torregrosa* J. M. (1), Caparrós-Pérez E. (1), Llanos M. C. (2), Blanco J. E. (2), Lozano M. L. (1), Teruel-Montoya R. (1), Antón A. I. (1), Vicente V. (1), Martínez C. (1), Rivera J. (1,3), Ferrer-Marín F. (1,3)

(1) Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Centro Regional de Hemodonación. IMIB-Arrixaca. Murcia. (2) Servicio de Ginecología y Obstetricia. Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. IMIB-Arrixaca. Murcia. (3) Grupo de investigación CB15/00055. Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER). Instituto de Salud Carlos III (ISCIII). Madrid

Introducción: Las plaquetas neonatales (PN) son, frente a las plaquetas de adulto (PA), intrínsecamente hiporreactivas, pero los mecanismos implicados no están completamente claros. La función plaquetaria depende del equilibrio entre vías de señalización que promueven la activación plaquetaria (vías activadoras) y otras que la inhiben (vías inhibidoras). Mientras la reactividad de las PN frente a distintos agonistas ha sido estudiada desde hace años, las vías inhibidoras no han sido apenas exploradas. Entre estas vías inhibidoras destacan las de los nucleótidos cíclicos AMPc y GMPc, que inhiben la activación plaquetaria activando a las proteínas cinasas PKA y PKG, respectivamente.

Métodos: Muestras de plasma rico en plaquetas (PRP) y/o plaquetas lavadas obtenidas de sangre periférica de adultos sanos y sangre cordón umbilical ($n = 9$) se incubaron con PGE1 (0-1 μ M) o con nitroprusiato sódico (NPS) (0-1 μ M), estimuladores de la síntesis de AMPc y GMPc, respectivamente. A continuación se midió: 1) agregación plaquetaria (LTA) en respuesta

a TRAP 25 μ M, ADP 5 μ M, U46619 2,5 μ M, trombina 0,5 U/ml y colágeno 5 μ g/ml; 2) liberación de selectina-P (CD62) inducida con TRAP 25 μ M o ADP 5 μ M por citometría de flujo; 3) expresión de PKG, PKA, VASP y VASP-fosforilada en Ser157 y Ser239 mediante inmunoblotting, y 4) niveles de AMPc inducidos con PGE1 (0-0,5 μ M) por ELISA.

Resultados: La capacidad de PGE1 para inhibir la LTA inducida con ADP y colágeno fue mayor en PN respecto a PA (IC50 [nM]: 16 ± 7 vs. 142 ± 56 , $p < 0,01$ para colágeno; 109 ± 60 vs. 424 ± 159 , $p < 0,01$ para ADP). No hubo diferencias en el caso de LTA inducida con TRAP. También observamos un mayor potencial de NPS para inhibir la LTA inducida con trombina, pero no con U46619 y colágeno, en plaquetas de neonatos (IC50 [nM]: $0,004 \pm 0,002$ vs. $0,18 \pm 0,3$, $p < 0,004$). La reducción con PGE1 de la expresión de CD62 inducida con ADP y/o TRAP fue similar en ambos grupos. Las plaquetas neonatales, vs. las de adulto, mostraron una menor expresión de PKG y PKA (64 ± 31 y $44 \pm 33\%$, respectivamente; $p < 0,05$). El nivel total de VASP en PA y PN fue similar, aunque la fosforilación de VASP en los residuos Ser239 y Ser157 inducida con PGE1 y NPS, respectivamente, estaba disminuida en PN alcanzando la significación estadística para PGE1. La PGE1 estimuló, de forma dosis-dependiente, la síntesis de AMPc tanto en PN como PA, pero el incremento neto en AMPc fue discretamente menor en las PN.

Conclusiones: Nuestros resultados sugieren una mayor sensibilidad funcional de las PN, vs. PA, a inhibidores de la activación plaquetaria como PGE1 y NPS. Este hecho podría justificarse, al menos parcialmente, por la menor expresión en PN de las proteínas diana PKA y PKG, de forma que niveles menores de AMPc/GMPc son suficientes para una activación adecuada de las vías inhibidoras.

*Estos autores contribuyeron igualmente. ISCIII (PI14/01956) y CIBERER (CB15/00055).

CO-139 Características biológicas de pacientes con PTI sin respuesta a tratamientos específicos para la disminución de destrucción mediada por receptores inmunes

Revilla N. (1), Campos R. M. (2), Miñano A. (1), Velasco F. (3), González N. (4), Ferrer R. (5), Fuentes I. (6), Bermejo N. (7), Bastida J. M. (8), Corral J. (9), Vicente V. (9), Lozano M. L. (1,9)

(1) Centro Regional de Hemodonación. Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. IMIB-Arrixaca. Universidad de Murcia. Murcia. (2) Hospital de Jerez. Jerez de la Frontera. Cádiz. (3) Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba. (4) Hospital Obispo Polanco. Teruel. (5) Hospital de Dénia. Dénia, Alicante. (6) Hospital Infanta Cristina. Badajoz. (7) Hospital San Pedro de Alcántara. Complejo Hospitalario de Cáceres. Cáceres. (8) Hospital Universitario Salamanca, IBSAL. Salamanca. (9) Grupo de investigación CB15/00055. Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER). Instituto de Salud Carlos III (ISCIII). Madrid

Introducción: Estudios previos han sugerido un mecanismo de destrucción plaquetaria independiente de receptores Fc γ en trombopenia inmune primaria (PTI) (1). La desialilación plaque-

taria mediada por anticuerpos podría condicionar destrucción en receptores hepáticos (Ashwell-Morell) y por ello asociarse a la falta de respuesta a los tratamientos que disminuyen la producción de autoanticuerpos o el aclaramiento plaquetario por macrófagos (esteroides, inmunoglobulinas o esplenectomía).

Métodos: Análisis prospectivo de 8 pacientes diagnosticados de PTI primaria sin respuesta a tratamientos convencionales (esteroides, inmunoglobulinas o esplenectomía). Como grupo control se analizaron muestras de 8 pacientes con PTI no refractarios. Se analizó el recuento de plaquetas y mediante citometría de flujo (CMF) su tamaño, la expresión en superficie de la glicoproteína (Gp) IIb, la activación/secreción de gránulos alfa plaquetarios y la pérdida

de ácidos siálicos en superficie mediante la unión de RCA-lectina a grupos de galactosa. En el suero de los pacientes se analizó la capacidad de inducir pérdida de ácidos siálicos en plaquetas normales y la especificidad de autoanticuerpos y en el plasma la potencial pérdida de ácidos siálicos en proteínas circulantes (FXI, FXII) mediante estudios de Western blot y/o HPLC (transferrina). Los resultados de CMF se expresan como ratio con respecto a plaquetas de controles sanos extraídos de forma paralela.

Resultados: Las características de los pacientes con PTI sin (grupo A) y con (grupo B) respuesta a tratamiento convencional se resumen en la **Tabla 1**. Las principales diferencias entre ambos grupos fueron el menor recuento de plaquetas ($p = 0,006$), su ma-

Tabla 1. Características de los pacientes

	Grupo A: PTI sin respuesta a tratamiento convencional (n = 8)	Grupo B: PTI con respuesta a tratamiento convencional (n = 8)	
Edad (mediana)	55 años (22-79)	30 años (20-63)	
Sexo	4H: 4M	3H: 5M	
Esplenec- tomizados	50%	75%	
Recuento plaquetario (media)	40 +/- 54 x 109/l Sin R a TPO-ra (n = 5): 4 +/- 6 x 109/l Con R a TPO-ra (n = 3): 97 +/- 49 x 109/l	260 +/- 172 x 109/l	*p = 0,006
FSC (ratio)	1,81 +/- 1,54 Sin R a TPO-ra (n = 5): 1,96 +/- 1,85 Con R a TPO-ra (n = 3): 0,90 +/- 0,30	1,21 +/- 0,38	p = 0,430
GpIIb (ratio)	1,93 +/- 1,02 Sin R a TPO-ra (n = 5): 1,91 +/- 1,42 Con R a TPO-ra (n = 3): 1,33 +/- 0,65	1,06 +/- 0,14	*p = 0,049
CD62-P plaquetas paciente	4,40 +/- 3,38 Sin R a TPO-ra (n = 5): 4,87 +/- 4,16 Con R a TPO-ra (n = 3): 2,14 +/- 1,06	2,49 +/- 2,78	p = 0,064
RCA-1 plaquetas paciente	3,01 +/- 2,45 Sin R a TPO-ra (n = 5): 1,96 +/- 1,85 Con R a TPO-ra (n = 3): 0,90 +/- 0,30	1,10 +/- 0,29	*p = 0,005
RCA-1 plaquetas control (suero paciente)	1,57 +/- 0,86 Sin R a TPO-ra (n = 5): 1,72 +/- 0,99 Con R a TPO-ra (n = 3): 1,19 +/- 0,33	1,29 +/- 0,78	p = 0,247
Especificidad de anticuerpo anti-Gp plaquetaria	Sin R a TPO-ra (n = 5): – Ib α : 2/5 – IIb: 2/5 – Mixto: 1/5 – Ninguno: 0 Con R a TPO-ra (n = 3): – Ib α : 0 – IIb: 1/3 – Mixto: 0 – Ninguno: 2/3	– Ib α : 0 – IIb: 1/8 – Mixto: 1/8 – Ninguno: 6/8	

Se considera no respondedor (grupo A) a los pacientes que no alcanzan respuestas plaquetarias completas con esplenectomía, esteroides y/o inmunoglobulinas. El grupo de no respondedores se ha subclasificado en función de respuesta o no a agonistas del receptor de la trombopoyetina (TPO-ra). Los resultados de citometría se expresan como mediana de intensidad de fluorescencia media respecto a plaquetas de controles. Abreviaturas: CE: corticoides; IGIV: inmunoglobulinas intravenosas; TPO-ra: agonistas del receptor de la trombopoyetina; R: respuesta.

yor expresión de GpIIb ($p = 0,049$) y la pérdida de ácidos siálicos en las Gp de membrana ($p = 0,005$) de pacientes en el grupo A. El subanálisis de estos enfermos mostró que los pacientes refractarios tanto a estrategias dirigidas a la reducción en la síntesis de autoanticuerpos o destrucción plaquetaria en receptores Fc γ como a agonistas del receptor de la trombopoyetina (TPO-ra) ($n = 5$) presentan una diferencia más señalada de dichos marcadores y adicionalmente mayor tamaño plaquetario y externalización de gránulos alfa. Además, la incubación del suero de pacientes que no responden a TPO-ra es capaz de inducir desialilación de plaquetas normales. No evidenciamos desialilación de las proteínas plasmáticas analizadas en estos 5 pacientes.

El estudio de especificidad de anticuerpos mostró positividad única para anti-GpIba en 2 enfermos del grupo que no respondió a terapias que incluían TPO-ra. Ningún paciente del grupo B presentó positividad única para este anticuerpo.

Conclusiones: Caracterizamos por primera vez en plaquetas de pacientes con PTI sin respuesta a tratamientos convencionales una superior desialilación de las proteínas de superficie plaquetaria, especialmente si se suma refractariedad al tratamiento con análogos de TPO-ra. De acuerdo con el estudio previo¹ estos resultados parecen relacionarse con la especificidad del autoanticuerpo y con su capacidad de inducir activación de plaquetas.

Bibliografía

1. Li J, van der Wal DE, Zhu G, Xu M, Yougbare I, Ma L, et al. Nat Commun. 2015;6:7737.

CO-140 Acción antiplaquetaria de apixaban en un modelo de trombosis con sangre circulante y en un sistema de generación de trombina mediada por plaquetas

López-Vilchez I., Pujadas-Mestres LI., Arellano-Rodrigo E., Reverter Calatayud J. C., Díaz-Ricart M., Escolar Albaladejo G.

Servicio de Hemoterapia y Hemostasia. Hospital Clínic de Barcelona. Centro de Diagnóstico Biomédico (CDB). Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer (IDIBAPS). Universidad de Barcelona. Barcelona

Introducción: Las plaquetas contribuyen a los eventos trombóticos e isquémicos en los territorios arteriales. La exposición de factor tisular en zonas de disrupción de la placa de ateroma promueve la generación local de trombina, potenciando más incorporación de plaquetas y fibrina en el trombo oclusivo en formación. Estos eventos se dan bajo condiciones hemodinámicas complejas. Hemos explorado el efecto de dosis bajas de apixaban (APIX) en la formación del trombo mediada por plaquetas bajo condiciones de flujo; explorando concentraciones de APIX 4 y 16 veces inferiores a la Cmax obtenida con dosis terapéuticas en la prevención y tratamiento de la trombosis venosa.

Métodos: Hemos evaluado el efecto del APIX (10, 40 y 160 ng/ml) sobre: 1) La interacción de plaquetas y la formación de fibrina sobre una superficie vascular lesionada, en condiciones de flujo con sangre circulando a través de una cámara anular;

2) las propiedades tromboelastométricas del coágulo en formación usando la tecnología ROTEM, y 3) la generación de trombina mediada por plaquetas mediante un ensayo fluorimétrico.

Resultados: El APIX demostró su acción antitrombótica y antiplaquetaria en las distintas aproximaciones. Los estudios de perfusión mostraron una disminución estadística en la presencia de agregados de mayor tamaño con APIX a partir de 40 ng/ml ($p < 0,01$ vs. control), observándose reducciones estadísticamente significativas en los porcentajes de superficie cubierta por plaquetas y por fibrina con APIX 160 ng/ml ($p < 0,05$ vs. control). Los estudios de tromboelastometría, mostraron alargamientos en los tiempos de coagulación y de formación del coágulo por APIX a partir de 40 ng/ml ($p < 0,05$ vs. control), pero sin llegar a comprometer su amplitud máxima. En cuanto a la generación de trombina facilitada por plaquetas, APIX a partir de 10 ng/ml inhibió de manera estadísticamente significativa tanto los parámetros dinámicos, como la cantidad total de trombina generada ($p < 0,05$ vs. controles).

Conclusiones: Nuestros resultados demuestran un efecto antiplaquetario de APIX en los estudios con sangre circulante. APIX inhibió la formación de fibrina a concentraciones elevadas. La acción antiplaquetaria de APIX podría estar relacionada con su capacidad para reducir la generación de trombina mediada por plaquetas. La combinación de las técnicas dinámicas y estáticas utilizadas en nuestros experimentos podría facilitar la elección de las dosis de anticoagulantes capaces de disminuir la incorporación de plaquetas en el trombo oclusivo, sin interferir con la formación de fibrina necesaria para la consolidación de la hemostasia.

Ayudas: FIS-PI13/00517, RD12/0042/0016, PIE15/00027, 2014-SGR-296.

CO-141 Estudio funcional de las micropartículas circulantes y TAFI en pacientes con obesidad mórbida, tras la cirugía bariátrica. Cambios en el perfil de riesgo cardiovascular

Marco Rico A., Sánchez Tejada L. Manera Manresa P., Marco Vera P.

Hospital General Universitario de Alicante. Alicante

Introducción: La obesidad mórbida (OM) es un factor de riesgo independiente para padecer cualquier manifestación de la enfermedad tromboembólica. Se asocia a un estado inflamatorio crónico que activa el sistema hemostático, y mayor incidencia de diabetes mellitus, hipertensión arterial, hiperlipemia y síndrome de apnea del sueño, confiriendo un estado de hipercoagulabilidad. La cirugía bariátrica produce una pérdida masiva de peso, mejorando el proceso inflamatorio y corrección de los factores de riesgo cardiovascular (FRCV). Sin embargo no disponemos de datos definitivos de biomarcadores del sistema hemostático tras la cirugía bariátrica que indiquen una mejoría del estado de hipercoagulabilidad. La actividad funcional de las micropartículas (AMP) procedentes de la activación celular de la hemostasia y la valoración del TAFI, expresión de inhibición de la fibrinólisis

inducido por la trombina, puede ser indicadores medibles del beneficio de la cirugía bariátrica, reduciendo el riesgo trombótico.

Objetivos: Analizar los cambios de la MP circulantes y del TAFI, en pacientes con OM antes y después de la cirugía bariátrica y su asociación a la mejoría del perfil cardiovascular.

Material y métodos: Estudio prospectivo en pacientes con OM intervenidos de cirugía bariátrica (mayo de 2014 -junio de 2015). Criterios de exclusión: trombosis previa, tratamientos antitrombóticos o no firmar el consentimiento informado. Se programaron 4 visitas con extracción de muestras de sangre: inclusión; preoperatorio-ayuno modificado; al mes de la cirugía y a los 6 meses. También se recogieron los cambios en los FRCV. La trombotprofilaxis fue con compresión neumática intermitente y HBPM durante 1 mes poscirugía. La determinación de la MP se realizó mediante la activación del tiempo de coagulación con fosfolípidos (PPL Diagnóstica Stago) y el TAFI mediante sustrato cromogénico (Stachrom TAFI Diagnostica Stago). El estudio estadístico se hizo con SPSS v 20. Valor de $p < 0,05$ para alcanzar la significación estadística.

Resultados: 74 pacientes completaron las 4 visitas. No hubo ningún episodio de tromboembolismo durante los 6 meses de seguimiento. 70% mujeres, edad media 45,6 años (35,5-55,8) El IMC medio 49,8 kg/m² (41,8-57,7). Se ha observado menor actividad MP tras la fase de ayuno modificado ($p: 0,003$), al mes poscirugía ($p < 0,001$) y a los 6 meses ($p: 0,002$) vs. la inclusión. La mayor reducción de MP circulantes se produce al mes de la cirugía manteniéndose a los 6 meses. El TAFI se redujo tras la fase de ayuno modificado ($p: 0,001$), al mes ($p < 0,001$) y a los 6 meses de la cirugía ($p < 0,001$). Los FRCV mejoraron tras la cirugía (Tabla 1).

Conclusiones: La reducción de la actividad de MP expresa una mejoría del proceso inflamatorio y por tanto menos activación celular de la hemostasia. El descenso de la actividad del TAFI, supone una mejoría de la capacidad fibrinolítica, siendo el ayuno modificado el que consigue la mayor reducción del TAFI. Por tanto la cirugía bariátrica mejora el perfil de hipercoagulabilidad/fibrinólisis en los pacientes con obesidad mórbida, y cambios significativos en los FRCV.

CO-142 Potenciación de la glutatión peroxidasa como estrategia antioxidante y antiinflamatoria en la disfunción endotelial asociada a la enfermedad renal crónica

Palomo M. (1), Martín-Rodríguez S. (2), Vera M. (3), Casas A. (3), Cruzado J. M. (4), Escolar G. (2), Díaz-Ricart M. (2)

(1) Instituto de Investigación de la Leucemia Josep Carreras. Servicio de Hemoterapia-Hemostasia. Hospital Clínico/Universidad de Barcelona.

(2) Servicio de Hemoterapia-Hemostasia. Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer (IDIBAPS). Hospital Clínico. Universidad de Barcelona. Barcelona. (3) Servicio de Nefrología. Hospital Clínico. Universidad de Barcelona. Barcelona. (4) Diaverum. Institut Hemodiàlisi Barcelona. Hospital Universitari de Bellvitge. Barcelona

Introducción: Los pacientes que padecen enfermedad renal crónica (ERC) presentan aterosclerosis acelerada precedida por el desarrollo de una disfunción endotelial caracterizada por un fenotipo

Tabla 1

Parámetro	En la inclusión (n)	Final de estudio (n)	p
Hipertensión	32	18	p: 0,035
DM	28	8	p: 0,001
Hipercolesterolemia	23	9	p: 0,015
SAOS	48	35	p: 0,045

proinflamatorio, protrombótico y de estrés oxidativo. Hemos evaluado el efecto de potenciar farmacológicamente la enzima glutatión peroxidasa (GPx) como estrategia antiinflamatoria y antioxidante en un modelo in vitro de disfunción endotelial asociado a ERC.

Métodos: Células endoteliales en cultivo (HUVEC) fueron tratadas con dos compuestos potenciadores de la vía de la GPx: ebselen, un mimético de la enzima, y N-acetilcisteína (NAC), que estimula la síntesis del glutatión, sustrato de la GPx, y promueve la actividad de la glutatión-S-transferasa (GST). Las HUVEC fueron expuestas a medio de cultivo suplementado con suero de pacientes urémicos en diálisis (U, n = 10) o de donantes sanos (C, n = 10) y se evaluaron cambios en la expresión del receptor de adhesión ICAM-1, la producción intracelular de especies reactivas de oxígeno (ROS) y la activación de p38 MAPK y del factor de transcripción NFκB (NFκB).

Resultados: La exposición de HUVEC a medio urémico resultó en un aumento significativo de la expresión de ICAM-1 (incremento de $111 \pm 1\%$ vs. C, n = 5, $p < 0,01$), la sobreproducción de ROS ($117 \pm 2\%$ vs. C, n = 5, $p < 0,01$) y la activación de p38 MAPK (incremento de $90 \pm 5\%$ vs. C, n = 5, $p < 0,05$) y de NFκB (incremento de $80 \pm 6\%$ vs. C, n = 4, $p < 0,01$). Los compuestos ebselen y NAC inhibieron el efecto de la exposición al suero urémico en la expresión de ICAM-1 (reducción de $47 \pm 3\%$ y $49 \pm 4\%$ vs. U, n = 5, $p < 0,05$) y la generación intracelular de ROS (reducción de $56 \pm 3\%$ y $62 \pm 6\%$ vs. U, n = 3, $p < 0,01$). Ambos compuestos también fueron capaces de reducir la activación de p38 MAPK (reducción de $49 \pm 9\%$ y $47 \pm 6\%$ vs. U, n = 5, $p < 0,01$) y de NFκB (reducción de $21 \pm 7\%$ y 31 ± 4 vs. U, n = 4, $p < 0,01$) inducida por el medio urémico.

Conclusiones: La disfunción endotelial se considera el primer paso en la progresión hacia la aterosclerosis en la ERC. Los resultados de este estudio sugieren que la potenciación farmacológica de la enzima GPx puede constituir una nueva estrategia de protección ante el desarrollo de disfunción endotelial en ERC (SAF2011-28214, RD12/0042/0016, FIS-PI13/005, 2014SGR296, PI14/01956, CB15/00055 y GER).

CO-143 La presencia de rasgos de maduración a basófilo en blastos de pacientes con leucemia aguda promielocítica se asocia a una diátesis hemorrágica severa al diagnóstico

Matarraz S. (1), Guerri V. (1), Colado E. (2), Chillón C. (3), Vidriales B. (3), González M. (3), Salvador Osuna C. (4), Caballero

T. (5), Van der Velden V. (6), Gutiérrez O. (7), Yeguas Bermejo A. (8), Martín I. (8), García Donas G. (9), Leoz P. (1), Fernández C. (1), Gutiérrez M. L. (1), Mayado A. (1), Barrena S. (1), López A. (1), Ciudad J. (1), Fierro M. (1), Rivas R. (1), Santos M. (1), Van Dongen J. (6), Orfao A. (1)

(1) Servicio de Citometría y Departamento de Medicina. Centro de Investigación del Cáncer. Universidad de Salamanca. Salamanca. (2) Laboratorio de Hematología. Hospital Universitario Central de Asturias, AGC. Oviedo. (3) Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Salamanca. Salamanca. (4) Servicio de Hematología. Hospital Miguel Servet. Zaragoza. (5) Servicio de Hematología. Hospital Virgen del Rocío. Sevilla. (6) Department of Immunology. Erasmus MC. University Medical Center Rotterdam. Rotterdam. Holanda. (7) Servicio de Hematología. Hospital Río Hortega. Valladolid. (8) Servicio de Hematología, Hospital Universitario de Getafe. Madrid. (9) Servicio de Hematología. Hospital Juan Ramón Jiménez. Huelva

Introducción: La introducción del ácido *trans*-retinoico en el esquema de tratamiento de la leucemia aguda promielocítica (LAP) ha resultado en la remisión completa de gran parte de los pacientes. Sin embargo, alrededor del 15% de casos presentan hemorragias severas o letales al diagnóstico. En este trabajo investigamos la asociación entre los patrones fenotípicos de las células leucémicas de médula ósea (MO) de estos pacientes y su asociación con el grado de hemorragias al diagnóstico.

Métodos: Estudiamos 118 muestras de MO de LAP al diagnóstico por citometría de flujo multiparamétrica empleando el panel *EuroFlow* para la caracterización de las células leucémicas. La diátesis hemorrágica fue reportada en 102 casos como leve (petequias, equimosis, hematomas), severa (afectación de órganos vitales, requerimiento transfusional) o ausente.

Resultados: Con respecto al grado de infiltración de la MO, no se observan diferencias entre pacientes con distinto grado de hemorragia. En cambio, aunque sí observamos mayor grado de infiltración en SP de pacientes con diátesis hemorrágica vs. LAP sin hemorragias (45% vs. 16% de blastos; $p = 0.01$), no existen diferencias entre pacientes con hemorragias leves y severas.

El estudio fenotípico muestra que los blastos en LAP expresan sistemáticamente (= 90% de los casos) CD117^{+/het}, CyMPO⁺⁺⁺, CD13⁺⁺⁺, CD15^{-dim}, CD64, CD33^{+/hi}, CD71^{dim}, CD38, CD123^{+/hi}, en ausencia de HLA-DR, CD10, CD11b y CD16, marcadores monocíticos/eritroides (CD14, CD300e, CD36, CD105), expresión aberrante de TdT y NG2, megacariocíticos (CD41, CD61, CD42a, CD42b) y linfoides (CD19, CD25, CD79a). Con menor frecuencia se expresan los antígenos de línea de basófilo CD203c (43% de los casos) y CD22 (14%), junto con CD4^{lo} (35%), CD34 (28%), CD35 (27%), CD7 y CD56 (20%).

Destaca la expresión de marcadores de línea de basófilo en blastos por su robusta asociación con el grado de hemorragias en LAP. Existe un aumento progresivo de casos con blastos CD203c+ en MO en LAP con diátesis hemorrágica ausente, leve y severa (15% vs. 45% y 80% de los casos; $p < 0,001$) y CD22+ (8% vs. 10% y 40%; $p = 0,01$). Además, la expresión aberrante de CD7 y CD34 se asoció también a hemorragias ($p = 0,03$), aunque sin diferencias entre los distintos grados. También el porcentaje de blastos 203c+ aumenta progresivamente en MO de estos casos (2% vs. 2.5% y 10%; $p < 0,001$), con diferencias muy significativas entre diátesis leve y severa ($p = 0,003$).

Además, extrapolamos la presencia de niveles ascendentes de blastos CD203c+ en SP desde las LAP con diátesis ausente vs. leve y severa (0.2% vs. 0.8 y 4%; $p=0.003$), con niveles significa-

Table 1. Hemostatic parameters from acute promyelocytic leukemia patients with vs. without bleeding manifestations at diagnosis

Hemostasia	Normal range	Non-hemorrhagic APL cases		Hemorrhagic APL cases		All APL cases		p-value
		Frequency	% abnormal cases	Frequency	% abnormal cases	Frequency	% abnormal cases	
Platelets (x 109/L)	125 - 450	30 (15 - 85)	6/6 (100%)	31 (2 - 150)	14/15 (93%)	31(2 - 150)	21/22 (95%)	0.9
INR	0.90 - 1.44	1.27 (1 - 1.41)	0/6 (0%)	1.25 (1 - 1.67)	3/16 (20%)	1.25 (1 - 1.67)	3/23 (13%)	0.6
Partial thromboplastin time (seconds)	26.0 - 39.0	27 (24-30)	4/8 (50%)	27 (24-31)	7/16 (44%)	27 (24 - 49)	11/25 (44%)	0.5
Prothrombin time (seconds)	8.50 - 13.0	14 (13-16.6)	5/5 (100%)	13 (11-19)	10/16 (62%)	14 (11 - 20)	16/22 (73%)	0.1
Prothrombin activity (%)	80 - 120	67 (45-97)	6/9 (67%)	72 (49-99)	11/16 (69%)	69 (45-99)	18/26 (70%)	0.8
Fibrinogen level (mg/dL)	140 - 400	263.5 (140-750)	1/10 (10%)	170 (50-260)	6/17 (35%)	200 (50-750)	7/28 (25%)	0.01
Von Clauss Fibrinogen (mg/dL)	150-400	180 (110-200)	1/3 (33%)	100 (50-140)	13/13 (100%)	100 (50-200)	15/17 (88%)	0.02
D dimer (mg/L)	0 - 230	7484 (2442-324100)	9/9 (100%)	6298 (1117-36145)	13/13 (100%)	7484 (0.06-324100)	22/22 (100%)	0.5
CD203c+ BM cells	-	1 (0-11%)	1/10 (10%)	6 (0-55%)	9/18 (50%)	3.6 (0-55%)	-	0.04

Results expressed as median values and range between brackets (frequency) and as number of altered cases and percentage between brackets (% abnormal).

Table 2. Hemostatic parameters from acute promyelocytic leukemia patients with mild vs. severe bleeding manifestations

Hemostasia	Normal range	Bleeding diathesis				p-value
		Mild		Severe		
		Frequency	% abnormal cases	Frequency	% abnormal cases	
Platelets (x 10 ⁹ /L)	125-450	46 (11-150)	6/7 (86%)	23.5 (2-43)	7/7 (100%)	0.06
INR	0.90-1.44	1.2 (1-1.5)	0/8 (0%)	1.3 (1.0-1.7)	3/7 (43%)	0.07
Partial thromboplastin time (seconds)	26.0-39.0	28 (24-30)	3/8 (37%)	26 (24-31)	4/7 (57%)	0.5
Prothrombin time (seconds)	8.50-13.0	13 (11-18)	4/8 (50%)	15 (12-19)	5/7 (70%)	0.4
Prothrombin activity (%)	80-120	74 (53-99)	5/8 (62%)	57 (49-98)	5/7 (70%)	0.3
Fibrinogen level (mg/dL)	140-400	165 (50-345)	4/10 (40%)	200 (86-260)	2/7 (28%)	0.6
Von Clauss Fibrinogen (mg/dL)	150-400	100 (50-130)	7/7 (100%)	90 (80-140)	5/5 (100%)	0.7
D dimer (mg/L)	0-230	3860 (1117-36145)	10/10 (100%)	23,630 (11248-36013)	2/2 (100%)	0.1
% CD203c+ BM cells	-	8% (0-55%)	5	3% (0-11%)	4	0.8

Results expressed as median values and range between brackets (frequency) and as number of altered cases and percentage between brackets (% abnormal).

tivamente superiores en hemorragias severas, y valores absolutos ascendentes en SP (0,01 vs. 0,06 y 0,1 x 10⁹/l; p = 0,004).

Finalmente, la presencia de > 1,6% de blastos CD203c⁺ en MO se asoció a una sensibilidad y especificidad de 76% y 67% (p < 0,001) en la predicción de hemorragias severas, junto con niveles > 0,2% en SP (76% y 64%; p = 0,004) y > 0,005 blastos CD203c⁺ x 10⁹/l (66% y 61%; p = 0,01).

Conclusión: Los rasgos de diferenciación a basófilo en células leucémicas de MO de pacientes con LAP se asocian a una mayor frecuencia y grado de severidad de la diátesis hemorrágica al diagnóstico.

Coagulopatías congénitas

CO-144 Evaluación de dos sistemas de activación de la vía de contacto para el diagnóstico de la deficiencia congénita de factor XI

Aroca C. (1), Esteban J. (2), De la Morena-Barrio M. E. (1,3), Miñano A. (1), Navarro I. (1), López A. (4), Salloum-Asfar S. (1), Beltrán Agulló V. (2), Vicente V. (1,3), Roldán V. (1), Corral J. (1,3)

(1) Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Centro Regional de Hemodonación. Universidad de Murcia, IMIB-Arrixaca. Murcia. (2) Hospital Virgen del Castillo. Yecla, Murcia. (3) Grupo de Investigación CB15/00055. Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER). Instituto de Salud Carlos III (ISCIII). Madrid. (4) Werfen S. A. Hospitalet de Llobregat, Barcelona

Introducción: El factor XI (FXI) participa en la fase de contacto y fase común de la coagulación. La deficiencia de FXI (hemofilia C) se considera un desorden raro, cuyo diagnóstico suele iniciarse tras el hallazgo, en muchas ocasiones casual, de

un TTPa prolongado (ratio > 1,3), confirmándose posteriormente mediante dosificación del FXI (FXI:C < 70%). La escasa clínica hemorrágica, junto con las limitaciones diagnósticas del TTPa, han llevado a plantear que la deficiencia de FXI esté subestimada. Debido a que la deficiencia de FXI podría proteger de eventos tromboticos, especialmente venosos, es preciso disponer de métodos sensibles y fiables que diagnostiquen esta deficiencia.

Objetivo: Evaluar el diagnóstico de la deficiencia de FXI con los sistemas de activación de la ruta de contacto.

Métodos: El estudio incluyó 140 sujetos con deficiencia de FXI caracterizados bioquímica, funcional y molecularmente (11 mutaciones diferentes) pertenecientes a 35 familias. Cuatro mutaciones (p.Cys56Arg, p.Pro538Leu, p.Glu565Lys, y p.Cys416Tyr) estaban presentes en 124 casos. Nueve pacientes presentaban el defecto molecular en homocigosis o heterocigosis compuesta y 131 eran heterocigotos. El polimorfismo funcional rs1801020 del *F12* se genotipó con sondas Taqman.

El plasma citratado se descongeló y analizó el mismo día en un coagulómetro ACL TOP500 con los mismos reactivos y sistemas de calibración y empleando dos sistemas de activación de la ruta de contacto de la misma empresa (Instrumentation Laboratory): SynthAFax, con ácido elálgico como agente activador del FXII y SynthASil, con sílica micronizada como activador del FXII.

Resultados: El TTPar fue más largo con ácido elálgico que con sílica: 1,60 ± 0,71 (rango 1,18-5,84) vs. 1,49 ± 0,42 (0,98-3,86), respectivamente; p < 0,01. Por ello, el porcentaje de falsos negativos (TTPar < 1,3) fue significativamente mayor con sílica (22,1%) que con ácido elálgico (12,1%) (p < 0,01); la mayor parte (42-46%) correspondientes a portadores de la mutación menos deletérea (p.Pro538Leu).

Los valores de FXI: C fueron superiores con ácido elálgico: 47,7 ± 12,7 (12,0-83,3) que con sílica: 40,4 ± 14,9 (0,4-73,1); p < 0,01, pero el ácido elálgico no permitió cuantificar los niveles de FXI:C en casos con deficiencia severa (heterocigotos compuestos

u homocigotos para p.Cys56Arg). Por ello, la sílica presentaba menos errores en el diagnóstico cuando se dosificaba FXI (FXI: C > 70%) (2,1%) que el ácido eláxico (5,7%), aunque las diferencias no alcanzaron significación estadística.

El polimorfismo del FXII retrasaba significativamente el TTPar en sujetos heterocigotos si se empleaba sílica (CC: $1,37 \pm 0,14$ vs. CT&TT: $1,44 \pm 0,13$; $p = 0,02$), pero apenas tenía efecto con ácido eláxico (CC: $1,44 \pm 0,14$ vs. CT&TT: $1,45 \pm 0,16$; $p = 0,75$). Este polimorfismo no ejercía ningún efecto sobre los niveles de FXI independientemente del método de activación empleado.

Conclusiones: El TTPa como sistema de cribado de la deficiencia de FXI presenta una alta tasa de falsos negativos, por lo que la prevalencia de esta deficiencia podría estar subestimada. El ácido eláxico (SynthAFax) presenta menores tasas de falsos negativos en TTPa, posiblemente por el menor efecto del polimorfismo del FXII. Sin embargo, no permite la cuantificación de FXI en pacientes con deficiencia severa y presenta más falsos negativos atendiendo al FXI: C que la sílica (SynthASil).

Financiación: CB15/00055 (del ISCIII & FEDER); 19873/GERM/15 Fundación Séneca

CO-145 Efecto de la procedencia del factor VIII en los resultados del ensayo de detección de inhibidores Bethesda-Nijmegen. Diferencias entre concentrados de factor VIII con factor Von Willebrand y de factor VIII aislado

Bravo Camisón M. I., Ortiz Fernández A. M., Costa Rierola M., Grancha Gamón S., Jorquera Nieto J. I.

Grifols. Parets del Vallès, Barcelona

Introducción: El ensayo Bethesda-Nijmegen (Nijmegen) mide la actividad de Factor VIII (FVIII) remanente después de mezclar plasma de paciente hemofílico con inhibidores con plasma normal, que contiene FVIII. En diferentes artículos se han descrito diferencias significativas entre la reactividad de distintos concentrados terapéuticos de FVIII frente a inhibidores. En el presente estudio se han analizado dichas diferencias utilizando una modificación del ensayo Nijmegen estándar en el que se reemplaza el plasma normal por plasma deficiente en FVIII al cual se ha añadido concentrado de FVIII de distintos tipos.

Métodos: El título de un *pool* de plasmas procedente de pacientes hemofílicos con inhibidores se evaluó mediante el ensayo Nijmegen estándar: el plasma del paciente con inhibidores (o diluciones con plasma deficiente en FVIII pero no en factor von Willebrand [FVW]) se mezcló con un volumen equivalente de plasma normal, que contiene FVIII, y se incubó durante 2 horas. Posteriormente el FVIII: C residual se evaluó utilizando el método de coagulación (one-stage). Para el ensayo Nijmegen modificado, el plasma normal se sustituyó por diferentes tipos de concentrados terapéuticos de FVIII (complejo natural FVIII/FVW y FVIII sin FVW [FVIII recombinante: rFVIII, BDD-rFVIII]), así como por un reactivo de laboratorio basado en BDD-rFVIII, diluido a 1 UI de FVIII con plasma deficiente en FVIII.

Resultados: Se obtuvieron títulos de inhibidores similares al utilizar el complejo natural FVIII/FVW y el plasma normal ($17,8 \pm 3,5$ UB/ml y $17,5 \pm 1,2$ UB/ml, respectivamente; $n = 3-4$). Por el contrario, se obtuvieron títulos de inhibidor mucho mayores con los concentrados de FVIII aislado: $23,7 \pm 1,7$ UB/ml con rFVIII ($n = 3$), $35,9 \pm 6,1$ UB/ml con el concentrado terapéutico BDD-rFVIII ($n = 3$) y $34,8 \pm 1,8$ UB/ml con el reactivo de laboratorio BDD-rFVIII ($n = 3$).

Conclusiones: El presente estudio indica que el ensayo Nijmegen está considerablemente influenciado por la procedencia del FVIII utilizado. Mientras que los concentrados de complejos naturales FVIII/FVW mostraron títulos comparables a los del plasma normal, los concentrados de FVIII aislado mostraron títulos de inhibidor mucho más elevados, a pesar de la presencia de FVW en el plasma deficiente en FVIII usado en el ensayo. Estos resultados in vitro, concuerdan con los resultados de recuperación de FVIII:C obtenidos por nuestro grupo en un modelo in vivo de ratones KO FVIII, así como en el caso de un paciente hemofílico descrito por Inoue y cols. (2006). Debido a la relevancia que estos hallazgos tienen en la práctica clínica, la titulación de inhibidores debería realizarse con aquellos concentrados de FVIII susceptibles de ser utilizados en el tratamiento de un paciente con inhibidor.

CO-146 Programa de tratamiento profiláctico personalizado con factor VIII en pacientes con hemofilia A moderada o severa. Asociación de los parámetros farmacocinéticos con las variables clínicas

Megías Vericat J. E. (1), Maqués R. (1), Haya S. (2), Cid A. R. (2), Querol F. (2), Monte E. (1), García Dasí M. (2), Caunedo P. (2), Vila C. (2), Bosch P. (2), Curats R. (2), Poveda J. L. (1), Bonanad S. (2)

(1) Servicio de Farmacia. Área Clínica del Medicamento. Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia. (2) Unidad de Hemostasia y Trombosis. Área Clínica de Onco-Hematología. Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia

Introducción: El perfil farmacocinético (FC) del FVIII presenta una elevada variabilidad entre hemofílicos, pudiendo tener importantes implicaciones clínicas en el tratamiento. La monitorización FC empleando el método bayesiana, extrayendo solamente 2-3 muestras, permite conocer los parámetros FC de los pacientes en profilaxis y asociarlos con el control de la patología.

Métodos: Estudio retrospectivo en pacientes con hemofilia A en profilaxis con FVIII recombinante de enero de 2014 a mayo de 2016. Se ha empleado el modelo bayesiano (myPKFit[®]) para realizar un perfil FC individualizado con los datos retrospectivos de los valores de FVIII recombinante (método coagulación en una etapa). Los parámetros FC analizados son: aclaramiento (Cl); volumen en estado estacionario (Vss); semivida plasmática ($t_{1/2}$); y tiempo para alcanzar niveles de FVIII < 1 UI/dl (T1UI).

Se ha determinado el coeficiente de variación (CV) de la $t_{1/2}$ intraindividual e interindividual, así como la prueba de Kruskal-Wallis (R[®] version 3.1.2) para comparar la $t_{1/2}$ y las variables clínicas: n^o sangrados anuales (ABR), n^o sangrados anuales

articulares (AJBR), *score* de Gilbert, escala de Pettersson, articulaciones afectas en MMII detectadas en RMN.

Resultados: Se han analizado 19 pacientes, con una edad media 32 años (DE 11,3; rango 11-46), y se han realizado 86 monitorizaciones FC (media 4,5 por paciente). En los pacientes de > 15 años los valores FC medios (DE) fueron: CI 0,03 (0,004) dl/h; Vss 0,5 (0,001) L; $t_{1/2}$ 14,1 (2,1) h; y TIUI 74,4 (14,4) h. Se categorizó la $t_{1/2}$ como corta (< p 25: 12,3 h), normal (p 25-p 75) y larga (> p 75: 14,4 h), con edades medias de 19,5; 39,4 y 35,8 años, respectivamente.

La variabilidad intraindividual de la $t_{1/2}$ varía muy poco de una determinación a otra, obteniendo CV medio de 3,6% (rango 0,3-6,6%). Sin embargo, el CV en la $t_{1/2}$ media entre pacientes fue del 14,8%, lo que sugiere una variabilidad interindividual a pesar del escaso número de casos. Se excluyeron específicamente los pacientes < 15 años (n = 2), ya que se caracterizan por $t_{1/2}$ menores que los adultos.

Cuando comparamos los pacientes según su $t_{1/2}$ se detectaron diferencias significativas en las medias de los *scores* del estado articular (Tabla 1), pero no en ABR y AJBR. El limitado número de pacientes solo permite observar diferencias en los pacientes con $t_{1/2}$ corta respecto al resto, pacientes que además tienen edades significativamente menores (p = 0,007). La menor edad de estos pacientes también justifica el menor daño articular observado. Tras excluir los dos pacientes < 15 años desaparecieron las diferencias significativas en los *scores* del estado articular, evidenciando que la edad podía ser una variable de confusión.

Variables	$t_{1/2}$ corta	$t_{1/2}$ normal	$t_{1/2}$ larga	P
Gilbert	5,5	22,1	17	0,028
Pettersson	1	25,9	17,6	0,008
RMN	1,2	2,6	2,0	0,042

Conclusiones: La monitorización farmacocinética ha puesto de manifiesto la baja variabilidad intraindividual, así como la variabilidad interindividual presente en nuestra población. La edad afecta en gran medida a la FC, por lo que debe valorarse de forma integrada con el resto de variables. La estimación bayesiana realizada con MyPKFit® permite conocer el perfil FC de cada paciente y puede ser una herramienta útil para personalizar la posología ajustándola al grado de actividad física y al patrón de sangrado.

Agradecimientos: Estudio está financiado por la Baxalta grant "H15-29403" otorgada para dicho proyecto.

CO-147 Estudio molecular del gen F7 en una cohorte de 104 individuos: análisis de la correlación fenotipo-genotipo

Comes Fernández N. (1,2), Ramírez Orihuela L. (1,2), Corrales Insa I. (1,2), Castillo Flores N. (1), Altisent Roca C. (3), Parra López R. (1,2), Vidal Pérez F. (1,2)

(1) Coagulopatías Congènites. Banc de Sang i Teixits. Barcelona. (2) Unitat de Diagnòstic i Teràpia Molecular. Vall d'Hebron Institut de Recerca-Universitat Autònoma de Barcelona (VHIR-UAB). Barcelona. (3) Unitat d'Hemofília. l'Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona.

Introducción: El déficit de factor VII está causado por diferentes tipos de mutaciones en el gen correspondiente (F7). Dado que presenta una herencia autosómica recesiva son necesarias dos mutaciones en *trans* o una única mutación en homocigosis, para que se produzca una disminución significativa de los niveles de actividad (FVII:C). Por otra parte, se ha reportado resultados controvertidos acerca de la contribución de determinados polimorfismos en F7 en la modulación de los niveles de FVII:C.

Objetivo: El objetivo del presente trabajo ha consistido en llevar a cabo el estudio clínico, fenotípico y genotípico de una cohorte de 104 individuos, provenientes de 81 familias con al menos un individuo afecto.

Métodos: Los pacientes y familiares han sido reclutados en la Unidad de Hemofilia del Hospital Universitario Vall d'Hebron. Para la caracterización molecular se ha llevado a cabo el diagnóstico directo mediante secuenciación del F7 empleado metodologías de diseño propio, basadas en la secuenciación tradicional de Sanger o en *Next Generation Sequencing* (NGS). Tras el filtrado bioinformático de los datos obtenidos mediante NGS, los cambios potencialmente responsables de la coagulopatía han sido verificados mediante secuenciación de *Sanger*. Asimismo, se ha incluido en el estudio el genotipado de tres polimorfismos ubicados en el promotor del F7 (-122T > C, -401G > T y 323insCC-TATATCCT), la inserción que 37 pb en el intrón 7, y el cambio R353Q del exón 9. Se han seleccionado estas variantes debido a los estudios previos publicados que las relacionan con los niveles de FVII:C, aunque sin resultados concluyentes.

Resultados: El genotipado de las mutaciones deletéreas ha quedado distribuido de la siguiente manera: 5 pacientes con una mutación en homocigosis, 6 con dos mutaciones en *trans*, 44 con una única mutación y 49 individuos sin mutación. En cuanto a la naturaleza de las mismas, se han hallado 49 mutaciones *missense*, 2 deleciones y 9 errores de *splicing*. El análisis de los resultados, considerando únicamente las mutaciones potencialmente responsables de la patología, revela que en muchos casos no existe una correlación estrecha entre el genotipo obtenido y los niveles de FVII:C. La incorporación al análisis de los datos correspondientes al estudio de polimorfismos y la comparación de fenotipos entre miembros pertenecientes a una misma familia o individuos no emparentados con idéntica mutación, permite observar una modulación en los niveles de FVII:C en presencia de determinados polimorfismos. Sin embargo, serán necesarios estudios multivariantes en profundidad para demostrar el valor estadísticamente significativo de estas variaciones.

Conclusiones: La heterogeneidad de la población estudiada y las características del F7 nos permiten concluir que no siempre es posible justificar los niveles de FVII:C mediante la presencia de variantes patogénicas. En el mismo sentido, en un elevado porcentaje de casos no se ha podido identificar la mutación responsable de los bajos niveles de FVII:C. En estos casos podría ser fundamental el análisis de otros factores, tales como los polimorfismos ya estudiados u otros de entre las múltiples variantes descritas en el gen.

CO-148 Estudio del origen de las mutaciones en casos de hemofilia esporádica para la identificación de potenciales mosaicismos somáticos y germinales

Ramirez Orihuela L. (1,2), Comes Fernández N. (1,2), Corrales Insa I. (1,2), Altisent Roca C. (3), Parra López R. (1,3), Vidal Pérez F. (1,2)

(1) Coagulopatías Congénitas. Banc de Sang i Teixits. Barcelona. (2) Unitat de Diagnòstic i Teràpia Molecular. Vall d'Hebron Institut de Recerca-Universitat Autònoma de Barcelona (VHIR-UAB). Barcelona. (3) Unitat d'Hemofília. Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona

Introducción: En una proporción importante de casos (entre el 30 y el 50%) la hemofilia aparece en familias sin antecedentes. Ello puede ser consecuencia de que la enfermedad permanezca oculta en mujeres portadoras durante una o varias generaciones, un mosaicismo somático o germinal materno o una mutación *de novo* en el paciente hemofílico, que a su vez puede ser un mosaico para la mutación. El mosaicismo es una alteración genética en la que, en un mismo individuo, coexisten dos o más poblaciones de células con distinto genotipo y ello tiene consecuencias cruciales para el consejo genético y diagnóstico prenatal.

Objetivo: El objetivo de nuestro estudio ha consistido en identificar y estudiar las familias esporádicas con el fin de tratar de determinar el origen de la mutación y la presencia de potenciales mosaicismos germinales o somáticos.

Métodos: Se ha llevado a cabo el examen retrospectivo de los pedigrís de un total de 476 familias afectas de hemofilia A (HA) o B (HB) con estudio genético realizado en los últimos 15 años para identificar los casos esporádicos. El estudio genético se llevó a cabo por LR-PCR, para la detección de la inversión del intrón 22 (Inv22), y secuenciación tradicional o masiva para mutaciones puntuales. El análisis de ligamiento para el seguimiento del cromosoma X portador de la mutación, se realizó mediante el genotipado simultáneo de 4 microsátélites.

Resultados: Entre las 261 familias estudiadas de las que disponemos de muestra materna, 122 son esporádicas. En 105 casos la madre es portadora de la mutación. De entre estos, en 77 casos se ha descartado el mosaicismo ya que se ha diagnosticado otra portadora en la familia. En los 17 casos restantes, la madre no es portadora. Estas familias son especialmente complejas de cara al consejo genético e incluyen 13 casos de HA y 4 de HB. En 8 casos únicamente disponemos del estudio molecular de paciente y madre, en 8 casos disponemos también de otras familiares no portadoras y en una familia disponemos de una hermana portadora. Las mutaciones responsables de la patología fueron; 10 *missense*, 5 *indels*, una inversión del Intrón 1 y una Inv22. A diferencia de lo descrito comúnmente, la Inv22 en este paciente no es debida a una mutación *de novo* durante la espermatogénesis en el abuelo materno, ya que la madre no es portadora. El porcentaje de familias esporádicas en las que madre o hijo pueden ser un mosaico para la mutación es relativamente elevado (14%) con diversas implicaciones en el consejo genético: las madres no portadoras pueden tener un segundo hijo afecto; un mosaico somático que no afecte a la línea germinal, podría conducir a la hemofilia en un varón sin afectar a sus descendientes; un caso esporádico de hemofilia leve, pue-

de ser un mosaico somático y germinal y podría tener un nieto con hemofilia más grave.

Conclusión: En la actualidad tecnologías como la PCR digital o la secuenciación masiva podrían ayudar a estudiar los potenciales mosaicismos para ofrecer una mejor predicción de la probabilidad de transmisión de la enfermedad.

CO-149 Programa de intervención cognitivo-comportamental para promocionar la adherencia a la profilaxis y el estado emocional de pacientes con hemofilia

García-Dasí M., Bonanad Boix S., Querol Fuentes F., Haya Guaita S., Cid Haro A. R.

Unidad de Hemostasia y Trombosis. Instituto de Investigaciones Sanitarias La Fe. Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia

Introducción: El apoyo psicológico forma parte del cuidado integral a pacientes con hemofilia grave (PcHG). El objetivo es enseñarles a manejar su enfermedad, adherirse al tratamiento y minimizar la interferencia en su funcionamiento diario.

La literatura sobre adherencia en PcHG se ha centrado en su medición. Sin embargo, los programas de intervención dirigidos a su promoción son escasos, poco estructurados y no ofrecen datos sobre su eficacia. La terapia cognitivo-conductual (TCC) para promocionar la adherencia se ha aplicado en otras enfermedades crónicas resultando eficaz y concluyendo la necesidad de abordar en ellos problemas emocionales por constituir un factor de riesgo para una baja adherencia.

Objetivos: Presentar un programa de TCC dirigido a la promoción de la adherencia y estado emocional de PcHG y ofrecer resultados preliminares de su eficacia.

Métodos: Diseño pre-post intervención, de comparación intra-individual, desarrollado en el Hospital Universitario y Politécnico La Fe, iniciado en marzo de 2015 y actualmente en *fase de seguimiento*. Se reclutaron PcHG, >18 años, en profilaxis con concentrados de factor VIII.

En la evaluación de PcHG, como indicadores de la eficacia del tratamiento, se recogieron las siguientes variables: adherencia (AD) (% de Factor VIII administrado vs. prescrito); grado de información (GI) (*Cuestionario de Evaluación sobre Hemofilia*); Estado emocional (EE): ansiedad (A), depresión (D) y autoestima (SE) (*Escala HAD* y *Cuestionario de Rosenberg*); interferencia en la vida diaria (IE) (*Escala de Inadaptación de Echeburúa*); apoyo social (AS) (*Escala MOS de Sherbourne*); locus de control interno (LCI) (*Escala Multidimensional de LC en Salud*); Autoeficacia (AE) (*Escala de Baessler*) y calidad de vida (CV) (*A36HemofiliaQoL*).

La intervención consta de 17 sesiones (S) de intervención, y 2 de seguimiento, a los 3 y 6 meses, siendo su contenido: evaluación basal (S. 1), psicoeducación (S. 2-4), módulo cognitivo (S. 6-7), autoestima (S. 8), manejo de dolor (S. 9-10), adherencia y prevención de sangrados (S. 11-13), dificultades asociadas al VIH (S. 14-15) y evaluación postratamiento (S. 16-17).

Resultados: 17 PcHG fueron reclutados, 14 han finalizado la intervención. Tras la TCC se observan, mediante prueba *t* de Stu-

dent, cambios estadísticamente significativos en el nivel de *AD* (media pre-tratamiento 67, post-tratamiento 81,07 $p = 0,006$), *GI* (13,93 vs. 23,29, $p = 0,000$), *EE: A* (14,21 vs. 7,43, $p = 0,001$), *D* (10,57 vs. 4,93, $p = 0,006$), *SE* (16,57 vs. 23,71, $p = 0,000$), *IE* (3,29 vs. 2,14, $p = 0,003$), *AS* (62,50 vs. 72,14, $p = 0,005$), *LCI* (14,21 vs. 26,86, $p = 0,000$), *AE* (60,57 vs. 98,64, $p = 0,001$) y *CV* (49,64 vs. 67,50, $p = 0,007$).

Conclusiones: La adherencia a la profilaxis reduce sangrados y está asociada a CV, resultando de crítica importancia desarrollar programas para promocionarla. La TCC ha provocado cambios en variables clínicas relevantes: *adherencia, conocimiento sobre la enfermedad, estado emocional, interferencia en la vida diaria, apoyo social, creencias promotoras del autocuidado y CV*, resultados preliminares que alientan a su uso en PcHG.

Financiación: Novo Nordisk HERO Research Grant 2014.

CO-150 Diagnóstico preciso de hemofilia A y enfermedad de Von Willebrand mediante secuenciación masiva de los genes *F8* y *VWF*, relevancia de las variantes intrónicas

Bastida J. M. (1), González-Porras J. R. (2), Jiménez C. (2), Benito R. (2), Ordóñez G. R. (3), Álvarez-Román M. T. (4), Janusz K. (2), Fontecha M. E. (5), Castillo D. (3), Fisac R. (6), García-Frade L. J. (5), Aguilar C. (7), Martínez-Badás M. P. (8), Bermejo N. (9), Herrero S. (10), Balanzategui A. (1), Martín-Antorán J. M. (11), Cebeiro M. J. (12), Aguilera C. (13), Prieto M. (14), Jiménez-Yuste V. (4), Hernández-Rivas J. M. (4), García-Sanz R. (4), González-Díaz M. (4), Sarasquete M. E. (4)

(1) Hospital Universitario de Salamanca, IBSAL. Salamanca. (2) Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca-IBSAL. Centro de Investigación Cáncer-CIC. Hospital Universitario de Salamanca. Salamanca. (3) DREAMgenics S. L. Oviedo, Asturias. (4) Unidad de Hemofilia. IDI-PAZ. Hospital Universitario La Paz. Madrid. (5) Hospital Universitario Río Hortega. Valladolid. (6) Hospital General. Segovia. (7) Complejo Asistencial de Soria. Soria. (8) Complejo Asistencial de Ávila. Ávila. (9) Hospital San Pedro de Alcántara. Cáceres. (10) Hospital General. Guadalajara. (11) Hospital Río Carrión. Palencia. (12) Hospital Clínico Universitario de Valladolid. Valladolid. (13) Hospital de El Bierzo. Ponferrada, León. (14) Complejo Asistencial de Burgos. Burgos

Introducción: La caracterización molecular de la hemofilia A (HA) es necesaria para confirmar su diagnóstico, establecer el estado de portadora, diferenciarla de la enfermedad de Von Willebrand (EVW) y detectar el riesgo para desarrollar inhibidores. En los casos de HA moderada y leve se lleva a cabo mediante la

secuenciación (Sanger) directa de los exones. Este método, caro y laborioso, falla hasta en el 10% de los casos. Las variantes genéticas causantes de la HA se distribuyen de forma heterogénea por todo el gen, siendo más del 70% *missense/nonsense* e *InDels*. Solo el 3% afecta a las regiones del *splicing*. Por otra parte, se ha descrito, recientemente, la presencia de variantes genéticas en regiones profundas intrónicas potencialmente involucradas en la etiopatogenia de la HA. Además, pacientes con niveles descendidos de FVIII sin mutaciones en el gen *F8*, pueden presentar variantes genéticas patogénicas en el gen *VWF*.

Material y métodos: Un total de 60 casos (58 varones y 2 portadoras sintomáticas o con niveles descendidos de FVIII y de las que desconocíamos la variante patogénica) fueron analizados mediante la tecnología de Next-generation sequencing (NGS). Se secuenciaron todas las regiones codificantes, intrónicas, promotoras y reguladoras de los genes *F8* y *VWF* mediante captura de secuencia en una plataforma de MiSeq® (Illumina). Las variantes genéticas identificadas se analizaron utilizando el software *VariantStudio* (v2.2) e *Integrative Genomics Viewer*. Se utilizaron programas bioinformáticos para predecir la patogenicidad de las regiones intrónicas/splicing (DREAMgenics) y se recalificaron según las últimas guías publicadas.

Resultados: El 90,5% de las regiones se capturaron con una profundidad de lectura de 641x y una cobertura media de al menos 50x. Se identificaron 500 variantes/muestra, de media. En el 98% (59/60) de las muestras se detectó la variante genética causante de la deficiencia de FVIII: en 47 muestras afectó a la región codificante de *F8*, en 8 a los exones de *VWF* y en 4 a las regiones intrónicas en *F8* (Tabla 1). En relación con las variantes intrónicas, en tres pacientes no relacionados detectamos la variante c.1010-842G > A en el intrón 7 y en el cuarto caso en el intrón 18 (c.5999-740T > C). El análisis de cosegregación de dichas variantes fue concordante con la herencia de la HA. En 8 casos se identificó una variante patogénica en *VWF*, recodificando el diagnóstico final (Tabla 2). La variante c.2561G > A en el exón 20 del gen *VWF* fue la más recurrente (4/8 50%). Solo en un caso se identificó una variante probablemente benigna (c.2365^a > G) que no permitió establecer un diagnóstico definitivo.

Conclusión: El análisis simultáneo y completo de los genes *VWF* y *F8* permite la correcta caracterización molecular y diagnóstica de los pacientes con deficiencia de FVIII de una forma rápida y costo-efectiva. Estudios funcionales y/o celulares son necesarios para confirmar la patogenicidad de las variantes intrónicas.

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

Tabla 1. Pacientes con HA confirmada por hallar su alteración molecular en F8

Exón	c.DNA	Proteína	Dominio	Tipo	Fenotipo	N.º paciente
2	c.197A > T	p.Lys66Ile	A1	Missense	Leve	1
3	c.280A > G	p.Thr94Ala	A1	Missense	Leve	1
4	c.396A > C	p.Glu132Asp	A1	Missense	Leve	1
4	c.541G > A	p.Val181Met	A1	Missense	Moderado	2
4	c.575T > C	p.Ile192Thr	A1	Missense	Leve	1
IVS7	c.1010-842G > A		A1	Missense	Leve	3
9	c.1288T > C	p.Tyr430His	A2	Missense	Leve	1
9	c.1307A > C	p.Gln436Pro	A2	Missense	Leve	1
9	c.1372C > T	p.Arg458Cys	A2	Missense	Leve	1
11	c.1648C > T	p.Arg550Cys	A2	Missense	Leve	2
11	c.1649G > A	p.Arg550His	A2	Missense	Leve	1
12	c.1834C > T	p.Arg612Cys	A2	Missense	Leve	3
13	c.2043G > A	p.Met681Ile	A2	Missense	Leve	1
14	c.5123G > A	p.Arg1708His	B	Missense	Leve	1
18	c.5954G > A	p.Arg1985Gln	A3	Missense	Leve	2
18	c.5936G > A	p.Gly1979Glu	A3	Missense	Leve	3
IVS18	c.5999-740T > C		A3	Missense	Leve	1
19	c.6046C > T	p.Arg2016Trp	A3	Missense	Moderado	1
19	c.6113A > G	p.Asn2038Ser	A3	Missense	Moderado	2
20	c.6118T > G	p.Cys2040Gly	A3	Missense	Leve	3
23	c.6506G > A	p.Arg2169His	C1	Missense	Leve	2
23	c.6533G > A	p.Arg2178His	C1	Missense	Leve	1
24	c.6622C > G	p.Gln2208Glu	C1	Missense	Leve	5
24	c.6623A > G	p.Gln2208Arg	C1	Missense	Leve	1
25	c.6750A > C	p.Gln2250His	C2	Missense	Leve	5
25	c.6845C > G	p.Ser2282Cys	C2	Missense	Leve	2
26	c.6977G > A	p.Arg2326Glu	C2	Missense	Leve	1
26	c.7031G > C	p.Gly2344Ala	C2	Missense	Leve	1

Tabla 2. Pacientes que presentan alteración en VWF, sin variante genética encontrada en F8

Exón	c.DNA	Proteína	Estado	Sexo	Diagnóstico
15	c.1922C > T	p.Ala641Val	Heterocigoto	Varón	EVW-1
18	c.2365A > G	p.Thr789Ala	Heterocigoto	Varón	---
20	c.2561G > A	p.Arg854Gln	Heterocigoto	Varón	Portador EVW-2N
20	c.2561G > A	p.Arg854Gln	Heterocigoto	Varón	EVW-2N
20	c.2561G > A	p.Arg854Gln	Heterocigoto	Mujer	EVW-2N
20	c.2561G > A	p.Arg854Gln	Heterocigoto	Mujer	Portador EVW-2N
21	c.2801T > C	p.Ile934Thr	Heterocigoto	Varón	Portador EVW-2N
28	c.3835G > A	p.Val1279Ile	Heterocigoto	Varón	EVW-1
46	c.7732C > T	p.Arg2578Cys	Heterocigoto	Varón	EVW-1

CO-151 Utilización de un modelo *in vitro* de hemofilia A para el estudio y caracterización de los mecanismos de acción de fármacos *readthrough* en mutaciones nonsense

Martorell Cedres LI. (1,2), Cortina Giner V. (2), Santamaría Ortiz A. (3), Parra López R. (4,5), Raya Chamorro Á. (6,7,8), Barquinero Mañez J. (1), Vidal Pérez F. (2,5)

(1)Terapia Génica y Celular y (2) Unidad de Diagnóstico y Terapia Molecular. Vall d'Hebron Institut de Recerca-Universitat Autònoma de Barcelona (VHIR-UAB). Barcelona. (3) Servicio de Hematología y (4) Unidad de Hemofilia. Unidad de Trombosis y Hemostasia. Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona. (5) Coagulopatías Congénitas, Banco de Sangre y Tejidos. Barcelona. (6) Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona (CMRB). Barcelona. (7) Institució Catalana de Recerca i Estudis Avançats (ICREA). Barcelona. (8) Centro de Investigación Biomédica en Red, Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina

(CIBER-BBN). Madrid. (9) Coagulopatías Congénitas, Banco de Sangre y Tejidos. Barcelona

Introducción: La estrategia de *Stop Codon Readthrough* se basa en el uso de fármacos que posibilitan ignorar la señal de terminación prematura (*Premature Termination Codons*, PTCs) y continuar la traducción, evitando así la generación de proteínas truncadas no funcionales debidas a mutaciones *nonsense*. Los agentes *readthrough* (RTA) se están investigando como terapia en enfermedades monogénicas causadas por este tipo de mutaciones. En este sentido, en hemofilia A (HA) aproximadamente el 10% de las mutaciones puntuales descritas son mutaciones *nonsense*. Nuestro grupo demostró la utilidad de un modelo *in vitro*, basado en células CHO transfectadas con variantes del *F8-BDD* (*F8* con el dominio B deleciónado) que contenían PTCs, para el análisis del mecanismo *readthrough* en HA. Utilizando las ventajas de este modelo el objetivo del estudio ha consistido en identificar y caracterizar la acción terapéutica de varios fármacos RTA en función del entorno molecular en el que se produce la mutación *nonsense*: triplete de parada, secuencias adyacentes y aminoácido codificado originalmente por el triplete mutado.

Métodos: Para ello, se han diseñado, sintetizado y analizado un total de 11 construcciones del *F8-BDD* que contienen diferentes PTCs: Q487X, Q1705X, Q1764X, W274X, W1726X, W2015X, W2131X, R1715X, R1822X, R1960X y R2071X. Se evaluó la respuesta a cinco RTAs (geneticina, gentamicina, ataluren, RTC13 y RTC14) mediante el análisis de la expresión del mRNA del *F8* por RT-PCR, la actividad coagulante del FVIII (FVIII:C) por ensayo cromogénico y los niveles y localización de la proteína por *Western-Blot* e inmunofluorescencia.

Resultados: Los resultados mostraron que todas las construcciones dan lugar a una acumulación intracelular de FVIII truncado. Tras el tratamiento farmacológico, 5 de los 11 cultivos transfectados con dichas variantes (Q487X, Q1764X, W274X, W2015X, W2131X) presentaron en el sobrenadante un incremento significativo en la FVIII:C. Este aumento se vio asociado a una menor acumulación intracelular de proteína truncada y un aumento de proteína completa. Un análisis exhaustivo del entorno molecular en el que ocurre el PTC ha permitido establecer unos criterios de eficacia en la respuesta a RTAs: a) el tratamiento con RTAs es más eficiente en PTCs que presentan la secuencia consenso T-Stop-C; b) el tratamiento con RTAs es más eficiente en PTCs tipo TGA (*opal*) que TAG (*amber*); c) el tratamiento con RTAs de PTCs produce un incremento en la FVIII:C cuando el aminoácido original mutado es triptófano (Trp = W) o glutamina (Gln = Q); d) el tratamiento con RTAs de PTCs cuando el aminoácido original mutado es arginina (Arg = R), a pesar de ser eficiente en la reducción intracelular de proteína truncada, dan lugar a una proteína no funcional, sin incremento de FVIII:C.

Conclusión: Los resultados obtenidos en este modelo proporcionan una prueba de concepto según la cual los RTA son capaces de rescatar la presencia de PTC con diferentes eficiencias dependiendo del entorno molecular. Este modelo mediante una prueba funcional basada en el incremento de la FVIII:C, permite profundizar en el análisis de los mecanismos de acción de los RTAs que podría suponer un beneficio futuro para pacientes hemofílicos.

Financiación: E-Rare-2 2011, HEMO-iPS, FIS, ISCIII (PI11/03024, PI11/03029). *Aspire Awards 2014 (Pfizer).*

Métodos de diagnóstico y marcadores

CO-152 Desarrollo de un método de metabolómica avanzada que nos permita establecer un perfil de metabolitos plasmáticos asociados con riesgo de sufrir un episodio trombótico

Fernández-Pardo Á. (1), Martos L. (1), Masiá A. (2), Ramón L. A. (1), Oto J. (1), Cid A. R. (1), Haya S. (1), Bonanad S. (1), España F. (1), Medina P. (1), Picó Y. (2), Navarro S. (1)

(1) IIS La Fe. Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia. (2) Facultad de Farmacia. Universidad de Valencia. Valencia

Introducción: Cambios cualitativos y cuantitativos en el equilibrio hemostático puede resultar en una hemorragia o una trombosis. Mediante los estudios de trombofilia actuales no se identifican a todos los individuos con alto riesgo de sufrir un evento trombótico, por lo que deben existir factores de riesgo desconocidos que pueden interactuar con los ya conocidos y explicar la enfermedad. Además, se sabe poco acerca de los factores ambientales que desencadenan la enfermedad trombótica, y la asociación entre la exposición a contaminantes ambientales y la incidencia trombótica es controvertida.

Objetivo: Desarrollar un método de metabolómica avanzada no dirigido que nos permita establecer un perfil característico de metabolitos plasmáticos en pacientes con tromboembolismo venoso (TEV).

Métodos: Se seleccionaron muestras de plasma citratado de 10 voluntarios sanos, 10 pacientes con historia de TEV provocado y 10 TEV no provocado. Puesto que el número de metabolitos identificados depende del procedimiento de extracción utilizado, comparamos 4 métodos de extracción de metabolitos en las muestras de plasma: extracción en frío con metanol, acetonitrilo o cada uno acidificado con 1 % de ácido fórmico. A continuación todas las muestras se analizaron mediante UHPLC-QqTOF-MS (ABSciex). El equipo se calibró cada tres muestras mediante calibración externa. Puesto que en la investigación metabolómica la etapa de desafío se produce durante la identificación de los metabolitos, hemos creado una biblioteca MS/MS propia de metabolitos descritos en plasma, que nos permite extraer los cromatogramas de los iones correspondientes a los diferentes metabolitos, mejorando su identificación.

Resultados: Los mejores resultados se obtuvieron para la extracción con metanol o acetonitrilo en frío. Los análisis metabolómicos no dirigidos mediante UHPLC-QqTOF-MS fueron analizados utilizando diferentes pruebas estadísticas, con el fin de

reducir el estudio solo para aquellas variables que tienen la información discriminante entre los grupos de estudio, y se llevaron a cabo utilizando el programa *PeakView* utilizando una biblioteca de metabolitos propia. Los resultados mostraron que son varios los metabolitos responsables de distinguir muestras de los grupos de estudio. Estos resultados son consistentes con resultados previos en el que las acilcarnitinas plasmáticas se asociaron con el riesgo trombótico. El siguiente paso será ampliar el estudio para incluir un mayor número de individuos y corroborar los resultados de este estudio, así como las implicaciones de estos metabolitos en el sistema de la coagulación.

Conclusiones: La metabolómica no focalizada es útil para la identificación de diferentes biomarcadores intermedios asociados con el TEV (contaminantes, metabolitos, sustancias producidas endógenamente debido a la exposición a los factores medioambientales, etc). Como resultado del desarrollo de esta actividad esperamos identificar nuevas moléculas implicadas en el sistema de la coagulación.

Financiación: ISCIII (PI12/00027, RD12/0042/0029, PI14/00512, PI14/00079, FI14/00269, CP09/00065, CPII5/00002), FEDER, Generalitat Valenciana (PROMETEOII/2015/017), IIS La Fe (2012/0221, 2014/0421, 2014/0718).

CO-153 Las trampas extracelulares de neutrófilos como marcador diagnóstico y pronóstico en el ictus isquémico

Latorre Campos A. M. (1), Lago A. (2), Vallés Giner J. (1), Santos Díaz M. T. (1), Candela N. (2), Moscardó A. (3)

(1) Instituto de Investigaciones Sanitarias La Fe. (2) Departamento de Neurología. (3) Instituto de Investigaciones Sanitarias La Fe. Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia

Introducción: Las trampas extracelulares de neutrófilos (NETs) se producen por los neutrófilos activados a través de distintos mecanismos, y están formados por ADN, histonas y enzimas proteolíticas, jugando un papel importante en la respuesta inmune. A su vez los NETs pueden activar a las plaquetas y la coagulación favoreciendo los procesos trombóticos. No se ha estudiado previamente su presencia e implicaciones en el ictus isquémico.

Objetivo: Estudiar en pacientes con ictus isquémico la presencia de NETs, y su correlación con marcadores de la enfermedad, tanto a nivel diagnóstico como pronóstico.

Pacientes y métodos: Se incluyeron en el estudio 243 pacientes con ictus isquémico. Se registraron los datos clínicos y demográficos incluyendo índices de daño neurológico tanto al ingreso como al alta. Como marcadores de los NETs en plasma se determinaron el ADN libre (cfADN) mediante una sonda fluorescente, los nucleosomas mediante técnicas de ELISA (*Cell Death detection kit*, Roche) y la histona 3 citrulinada (citH3) mediante un ELISA desarrollado en nuestro laboratorio.

Resultados: Los NETs están presentes en el plasma de pacientes con ictus isquémico, con valores elevados con respecto a controles (citH3 $0,079 \pm 0,002$ [0,040-0,284]; $p < 0,0001$), cfD-

NA ($42,133 \pm 0,93$ [10.672-98.460]; $p < 0,0001$), nucleosomas $0,325 \pm 0,016$ [0,04-1,87]; $p = 0,002$). Dentro de los pacientes, los NETs están incrementados en aquellos con fibrilación atrial, un proceso inflamatorio indicado por el ratio neutrófilos/linfocitos (cfDNA (Spearman's $r = 0,224$; $p = 0,000$), nucleosomas (Spearman's $r = 0,213$; $p = 0,001$) y citH3 (Spearman's $r = 0,246$; $p = 0,000$) o elevada glucosa. Aparece una elevada correlación entre los NETs e índices como el NIHSS, especialmente cuando este es superior a 8 (cfDNA: Spearman's $r = 0,272$; $p = 0,000$; citH3: Spearman's $r = 0,279$; $p = 0,000$; nucleosomas: Spearman's $r = 0,219$; $p = 0,001$). Encontramos también correlación entre los NETs y la estancia en el hospital y NIHSS y RANKIN al alta. Finalmente, los NETs al ingreso están elevados en aquellos pacientes que durante el ingreso sufren complicaciones sistémicas, o los que fallecen por causa cardiovascular en el período del año.

Conclusiones: La formación de NETs forma parte del proceso del ictus isquémico, y se asocia con su gravedad. Estos resultados abren una nueva vía de investigación para el diagnóstico y tratamiento del ictus isquémico.

Becas: FIS13/00016. Beca de la FETH. Becario de la FETH. Red Cardiovascular [RD12/0042/0003]. Sociedad Valenciana de Cardiología. Red Invictus

CO-154 Mutaciones exónicas en *SERPINC1* catalogadas como *missense* provocan deficiencia de antitrombina por defectos en el procesamiento de intrones

López Gálvez R. (1), González J. (2), Toderici M. (1), Padilla J. (1), Miñano A. (1), Vicente V. (3), Fernández-Alemán J. L. (2), Corral J. (1,3), De la Morena-Barrio M. E. (1,3)

(1) Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Centro Regional de Hemodonación. Universidad de Murcia, IMIB-Arrixaca. Murcia. (2) Departamento de Informática y Sistemas. Universidad de Murcia. Murcia (3) Grupo de Investigación CB15/00055. Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER). Instituto de Salud Carlos III (ISCIII). Madrid

Introducción: Las mutaciones que afectan al procesamiento de intrones están adquiriendo cada vez más protagonismo en el desarrollo de enfermedades genéticas. Nuestro grupo analizó 124 casos con deficiencia de antitrombina (AT) y mostró que el número de mutaciones que afectan al procesamiento de intrones (en sitios aceptores, donadores flanqueantes de exones, o incluso mutaciones profundas en intrones), era mayor del descrito en la Human Genetic Mutation Database (> 14%). Nuestra hipótesis es que ciertas mutaciones de exones y que se han catalogado como *missense* (cambio de un aminoácido por otro) o *non-sense* (cambio de un aminoácido por un codón de stop) podrían tener consecuencias patológicas al afectar al procesamiento de intrones y el cambio aminoacídico predicho de la secuencia primaria nunca tendría lugar.

Objetivo: Identificar y caracterizar mutaciones *missense* y *non-sense* en *SERPINC1* responsables de la deficiencia de AT afectando al procesamiento de intrones.

Material y métodos: Se desarrolló un algoritmo bioinformático para la automatización, a través del *software* Human Splicing Finder, de la simulación del efecto en el procesamiento de intrones de las 157 mutaciones *missense* y *non-sense* de *SERPINC1* descritas en la Human Gene Mutation Database. La validación experimental de la predicción se realizó en dos mutaciones seleccionadas p.Lys254Arg y p.Lys157Arg. Generamos estas variantes mediante mutagénesis dirigida en el plásmido que contiene el cDNA de AT en contexto beta: pCEP4/AT-S137A, y las expresamos en células HEK-EBNA. Los niveles proteicos, y la capacidad anticoagulante se analizaron mediante western blot y ensayos cromogénicos.

Resultados: El algoritmo mostró que 7 de las 157 mutaciones analizadas (4,5%) presentaban *scores* altos de creación o ruptura de sitios aceptores o donadores (> 85% probabilidad). Solo una variante rompía de forma significativa un sitio aceptor natural (p.Lys254Arg), las 6 restantes creaban sitios nuevos en el procesamiento de intrones (4 donadores y 2 aceptores). Para la validación experimental, seleccionamos las variantes p.Lys254Arg y p.Lys157Arg por presentar los mayores *scores* de predicción de afectación del procesamiento de intrones (90% y 88%, respectivamente). Ambas mutaciones estaban ya descritas en pacientes con deficiencia de AT tipo I, es decir sin proteína aberrante en circulación. Sin embargo, las células HEK-EBNA produjeron y secretaron ambas variantes al medio de cultivo con niveles similares a la AT silvestre. Además, las dos variantes presentaron actividad anticoagulante y formaban complejos trombina-antitrombina.

Conclusiones: Nuestros resultados demuestran que los cambios de aminoácidos p.Lys254Arg y p.Lys157Arg en la AT, descritos como mutaciones *missense* en exones del gen *SERPINC1* no interfieren en el plegamiento, secreción o funcionalidad de la proteína. Por ello, la deficiencia tipo I de AT detectada en portadores de estas mutaciones podría explicarse por un procesamiento aberrante de intrones como apoyan también los resultados *in silico* y por tanto, el cambio aminoacídico propuesto nunca se produciría. Todo ello sugiere el cambio de la denominación de estas mutaciones, de cambio *missense* (CM) a cambio de *splicing* (CS). Este estudio aporta nuevas evidencias de la trascendencia que tiene un incorrecto procesamiento de intrones en el desarrollo de la deficiencia de AT.

Financiación: P115/00079 yCB15/00055 (ISCHII&FEDER); 19873/GERM/15 Fundación Séneca.

CO-155 Marcadores de netosis predicen el riesgo de eventos cardiovasculares en pacientes con fibrilación auricular anticoagulados

Arroyo Ana B., Valledor P., García Barberá N., Rivera Caravaca J. M., Salloum Asfar S., Teruel Montoya R., Vicente V., Martínez C., González Conejero R., Roldán V.

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

Introducción: La trombogénesis en la fibrilación auricular (FA) es multifactorial y no solo está relacionada con la estasis

en una aurícula izquierda debido a una contracción patológica. La evidencia actual sugiere que la tendencia trombogénica en la FA está relacionada con varios mecanismos fisiopatológicos subyacentes. Los eventos adversos se presentan en un 4% de los pacientes con FA con anticoagulación oral. Hay pocos datos sobre la información pronóstica de complicaciones trombóticas que pueden proporcionar algunos biomarcadores plasmáticos en estos pacientes. Recientemente, se ha descrito una relación entre la formación de NET y la trombogénesis.

Objetivo: Investigar el valor de los niveles de ADN (ADNdc) y la actividad elastasa de neutrófilos en plasma como biomarcador pronóstico de eventos cardiovasculares en pacientes anticoagulados con FA.

Pacientes y métodos: Incluimos 76 donantes sanos (40% mujeres, edad media 67 ± 15) y 343 pacientes con FA < 75 años (38% mujeres, edad mediana 69, rango 63-72) con una anticoagulación estable (6 meses previos con INR = 2-3) y un seguimiento de 6 años (mediana de 2639 días). Los eventos cardiovasculares adversos se definieron como: combinado de eventos cardiovasculares (ictus previo, síndrome coronario agudo, edema agudo pulmón); ictus; mortalidad global y mortalidad cardiovascular. El ADNdc se cuantificó por fluorimetría (Sytox Green); la elastasa mediante ELISA comercial (Abcam). Las relaciones de ADNdc/AE /eventos se analizaron mediante regresión de Cox.

Resultados: Previamente demostramos que el ADNdc aumenta significativamente con la edad, por lo que seleccionamos pacientes < 75 años. Durante el seguimiento el 15% sufrió un combinado de eventos cardiovasculares, el 8% ictus y el 22% falleció por alguna causa. Encontramos una correlación positiva y significativa entre el ADNdc y la elastasa (Rho Spearman = 0,281; p < 0,001), por lo que solo esta última se utilizó en el análisis estadístico. Los niveles de elastasa fueron mayores en FA que en controles (mediana: 37,8 y 27,4 ng/ml, respectivamente) (p < 0,001). En el análisis multivariado ajustado por la puntuación CHA2DS2-VASc, la AE = 4.º cuartil se asoció con: combinado de eventos cardiovasculares (p: 0,034; HR: 2,21; IC95%: 1,05-3,48), ictus (p: 0,015; HR: 2,58; IC95%: 1,20-5,52), mortalidad global (p: 0,001; HR: 2,26; CI95%: 1,41-3,63) y mortalidad cardiovascular (p: 0,040; HR: 4,58; CI95%: 1,07-19,61).

Conclusiones: Entre los marcadores de NETosis analizados, la elastasa no se correlaciona con la edad y puede proporcionar información pronóstica específica para los eventos adversos en los pacientes con FA, restando valor al ADNdc debido a su dependencia de la edad. La validación de estos resultados en una población mayor abriría la posibilidad de implementar un marcador de este tipo en la práctica clínica.

Financiación: RD12/0042/0050; ISCHII y FEDER (P14/00253); Fundación Séneca 19873/GERM/15

CO-156 Microrna plasmáticos como biomarcadores de riesgo de ictus en pacientes con fibrilación auricular

Teruel-Montoya R. (1,2), Valledor P. (1,3), Arroyo A. B. (1,3), García-Barberá N. (1,3), Rivera-Caravaca J. M. (1,3), Salloum-

Asfar S. (1,3), Vicente V. (1,2), Marín F. (1,2), Roldán V. (1,3), González-Conejero R. (1,2), Martínez C. (1,2)

(1) Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Centro Regional de Hemodonación. Universidad de Murcia, IMIB-Arrixaca. Murcia. (2) Grupo de Investigación CB15/00055 del Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER). Instituto de Salud Carlos III (ISCIII). Madrid. (3) Servicio de Cardiología. Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Universidad de Murcia, IMIB-Arrixaca. Murcia

Introducción: La fibrilación auricular (FA) es la arritmia cardíaca más frecuente en la población, y está asociada a una gran morbimortalidad, aumentando hasta 5 veces el riesgo de ictus y tromboembolismo. En estos pacientes la atención se centra en el tratamiento preventivo, siendo la anticoagulación oral muy eficaz para la reducción del riesgo de ictus y embolismo sistémico. La indicación de anticoagulación se hace con escalas clínicas, estando actualmente en uso la CHA2DS2-VASc. Sin embargo, el poder discriminatorio de esta escala sigue siendo moderado y una proporción no despreciable de pacientes con FA sufren ictus a pesar de la profilaxis. Por ello, la búsqueda de biomarcadores plasmáticos avalados por un seguimiento clínico largo es sin duda un área muy relevante para mejorar la prevención y el tratamiento. En este sentido, los miRNA, pequeños RNA no codificantes, en los últimos años se han convertido en actores importantes de la biología cardiovascular.

Objetivo: Evaluar la expresión de miRNA plasmáticos en pacientes con FA anticoagulados y su valor como factor pronóstico del riesgo de ictus/embolismo sistémico.

Pacientes y métodos: De una cohorte inicial de 789 pacientes con FA anticoagulados, se seleccionaron al azar 10 pacientes que sufrieron ictus y otros 10 pacientes de similar edad y sexo que no habían sufrido dicho evento, con una mediana de seguimiento de 2.639 días (7 años). Las muestras se obtuvieron a los 6 meses del diagnóstico de FA cuando tenían una anticoagulación estable (INR = 2-3). La purificación de miRNA se realizó utilizando 200 µL de plasma, con Nucleo Spin miRNA Plasma Kit (Macherey-Nagel) y para la qRT-PCR se utilizó el array de *Serum/Plasma focus miRNAs PCR panel V4* (Exiqon). Los datos se analizaron con GraphPadPrism 5.

Resultados: De los 178 miRNA incluidos en el panel, seleccionamos 113, aquellos que se expresaban en al menos el 80% de las muestras. Los datos fueron normalizados con miR-103a y miR-191. Mediante un análisis de *t*-test Sidak-Bonferroni, identificamos 2 miRNA, miR-328 y miR-22-3p, que estaban sobre-expresados en pacientes con ECA, en comparación con los que no sufrieron ECA (p-value < 0,1; fold > 1,5). Los resultados del panel, se validaron en una segunda qRT-PCR individual. Esta vez, utilizando *t*-test no apareado de 2 colas, los resultados para miR-328 no se validaron (p-value = 0,066; fold = 1,66), pero los niveles de miR-22-3p (p-value = 0,017; fold = 2,13) se mantuvieron significativamente elevados en pacientes con ECA.

Conclusiones: El aumento de expresión de miR-22-3p, miRNA asociado con hipertrofia y remodelado cardíaco, en plasma de pacientes con FA anticoagulados con un ictus/embolismo sistémico, sugiere que este miRNA podría ser un marcador pronóstico de ictus. Dicho valor pronóstico podría aportar información adicional a las actuales escalas clínicas, como la CHA2DS2-

VASc. La validación de estos resultados en una cohorte más amplia abriría la posibilidad de implementar dicho marcador dentro de la práctica clínica.

Financiación: RD12/0042/0050; ISCIII y FEDER (P14/00253); Fundación Séneca 19873/GERM/15

CO-157 ¿Los NETs pueden predecir el embolismo pulmonar poscirugía en los pacientes con glioma?

Oto J. (1), Plana E. (1,2), Hervás D. (3), Martos L. (1), Ramón L. A. (1), Solmoirago M. J. (1), Fernández-Pardo Á. (1), España F. (1), Navarro S. (1), Artoni A. (4), Bucciarelli P. (5), Medina P. (4)

(1) Grupo de Investigación en Hemostasia, Trombosis, Arteriosclerosis y Biología Vascul. Instituto de Investigación Sanitaria La Fe. Valencia. (2) Servicio de Angiología y Cirugía Vascul. Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia. (3) Unidad de Bioestadística. Instituto de Investigación Sanitaria La Fe. Valencia. (4) Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico. Milan, Italia. (5) A. Bianchi Bonomi Hemophilia and Thrombosis Centre. Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico. Milan, Italia

Introducción: El cáncer representa la segunda causa de muerte en el mundo y la trombosis es una complicación frecuente que constituye la segunda causa de muerte en pacientes oncológicos. Además, los pacientes con cáncer sufren con frecuencia embolismo pulmonar (EP) incidental, especialmente tras la cirugía o la quimioterapia. Por tanto, se precisan nuevos biomarcadores que permitan identificar de forma temprana a los pacientes con cáncer con un alto riesgo trombótico. Los *neutrophil extracellular traps* (NETs) son redes altamente protrombóticas liberadas por los neutrófilos tras su activación. Además, los NETs también parecen regular la biología del tumor y estimular la metástasis. El objetivo de nuestro estudio fue evaluar la capacidad de los NETs para predecir antes de una cirugía el riesgo de EP post-quirúrgico en los pacientes con glioma.

Métodos: Realizamos un estudio de cohortes prospectivo en el que reclutamos a 10 pacientes con glioma, de los que obtuvimos sangre antes de la cirugía, en las 24 horas después de la cirugía, y a los 2-7 días después de la cirugía. Diagnosticamos objetivamente el EP entre los 2 y 7 días post-cirugía en 5 de los pacientes mediante estudios de perfusión pulmonar y tomografía computarizada pulmonar. Cuantificamos los marcadores de los NETs en todas las muestras de plasma de los pacientes: ADN con PicoGreen (Life Technologies), nucleosomas por ELISA (Roche), mieloperoxidasa por ELISA (Abnova) y calprotectina por ELISA (Hycult Biotech). Analizamos los resultados con el programa R (versión 3.2.3).

Resultados: Para evaluar el valor predictivo de los marcadores de NETs, comparamos la concentración de cada marcador antes de la cirugía en pacientes con glioma con y sin EP posquirúrgico mediante un modelo de regresión logística multivariante con el EP como variable respuesta. Evaluamos la precisión del modelo con el área bajo la curva (AUC) ROC y con la AUC validada mediante *bootstrapping*. Obtuvimos un modelo predictivo de EP en pacientes con glioma que incluye el ADN y la mielope-

roxidasa como predictores. Este modelo alcanzó una AUC = 0,88 (AUC validada = 0,77). Cabe destacar que las diferencias en los marcadores de NETs se mantuvieron estables con el tiempo al comparar pacientes con y sin EP.

Conclusiones: La concentración de ADN y mieloperoxidasa en plasma de pacientes con glioma antes de la cirugía podrían ser buenos predictores de EP incidental temprano tras la cirugía. Esta información podría ser de gran utilidad para prevenir los eventos trombóticos en estos pacientes a través de una trombotoprofilaxis personalizada. Se requieren estudios adicionales que validen nuestro modelo predictivo.

Financiación: ISCIII-FEDER (PI12/00027, Red RIC RD12/0042/0029, PIE13/00046, PI14/00079, PI14/00512, FI14/00269), Generalitat Valenciana (PrometeoII/2015/017) y Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia. PM es investigadora en el SNS Miguel Servet (ISCIII CP09/00065 y CP115/00002).

CO-158 Identificación de factores genéticos predisponentes de síndrome hemolítico urémico atípico (SHUa) en 73 pacientes: ventajas de *next generation sequencing* (NGS)

Martinho P., Silva Pinto C., Fidalgo T., Oliveira A. C., Sevivas T., Salvado R., Ribeiro M. L.

Serviço de Hematologia Clínica, CHUC

Introducción: El síndrome hemolítico urémico atípico (SHUa) es una enfermedad compleja e infrecuente, caracterizada por microangiopatía trombótica y lesión renal aguda en ausencia de Shiga toxina como desencadenante. El SHUa se asocia a dos tipos de mutaciones en varios genes del sistema del complemento: unas que causan pérdida de función de proteínas reguladoras del complemento (CFH, CFI, MCP e THBD); y otras que causan ganancia de función de las proteínas de activación, CFB y C3. Los haplotipos en el gen CFH y MCP (HR) y las deleciones en los genes homólogos CFHR1/3/4, con una prevalencia > 1% en la población general, son considerados de riesgo para SHUa. Por su complejidad/número de genes implicados, el estudio molecular, de esta patología, es muy caro. Actualmente, la metodología NGS, más económica y más rápida,

ha permitido esclarecer la fisiopatología de muchos casos clínicos sospechosos de SHUa.

Objetivo: Estudio de los genes de complemento y ADAMTS13 en 73 pacientes con sospecha de SHUa.

Material y métodos: Estudiamos 28 pacientes del CHUC y 45 de otros hospitales: 53 adultos (33F y 20M); 20 niños (12F y 8M); mediana = 35 años (3M-75A). Este estudio envolvió 2 metodologías: 1) de 2012-2015 se efectuó el estudio de 7 genes de complemento (CFH, CFI, MCP, C3, CFB, THBD, DGKE) por secuenciación Sanger (n = 33 pacientes); 2) desde marzo 2015 usamos una plataforma NGS (PGM, Ion Torrent) con un panel de genes que incluía los ya referidos y 4 más (CFHR1, CFHR3, CFHR4, ADAMTS13) (n = 40 pacientes). Las variantes detectadas por NGS se confirmaron por Sanger. De acuerdo con las "guidelines" internacionales, las variantes se analizaron en 5 programas *in silico*, si "deleterious" en menos de 3 (*score* < 3) se consideraron variantes benignas (VB), si *score* = 3, variantes patogénicas (VP). Variaciones sin referencias en las bases de datos internacionales (HGMD, FH-ahu, EXAC, 1.000 genomes) se consideraron "nuevas".

Resultados: Se encontraron 46 variantes diferentes (89% *missense*, 9% *splicing*, 2% *indel*), 24 son VP (10 nuevas) y 22 VB (2 nuevas). Las VP se identificaron en varios genes, la mayoría en CFH (38%), seguido de C3 (25%), CFI (17%) y MCP (8%) (Tabla 1). No fueron identificadas variantes en ADAMTS13. Los HR del CFH y MCP se encontraron en 71% de los pacientes, y la deleción CFHR3/CFHR1 (Del) en el 38%. Los cambios identificados en las 73 muestras han permitido formar 4 grupos de pacientes: 1) 28 pacientes con VP + (VB y/o HR y/o Del); 2) 14 pacientes con VB + (HR y/o Del); 3) 23 pacientes solo con HR y/o Del, y 2) 8 pacientes sin cambios en los genes estudiados.

Conclusión: El abordaje por NGS se demostró ventajosa; nos ha permitido estudiar más pacientes en menos tiempo y, en cada uno de ellos, obtener un mayor número de datos. En 64 pacientes (88%) se encontraron variantes en los varios genes que confirmaron la etiología multigénica y compleja de SHUa. La clasificación de patogénica/benigna de las múltiples variantes encontradas ha sido crucial para el análisis de los resultados, permitiendo una estratificación de severidad de modo a asegurar una correlación genotipo-fenotipo. Esta información es esencial, sobre todo cuando la rapidez de respuesta es importante para el establecimiento de estrategias terapéuticas e elucidación pronóstica.

Tabla 1: Variantes patogénicas (VP), 10 nuevas, identificadas en 28 pacientes con SHUa

Gen	Exón/intrón	Variantes patogénicas (Htz)			Haplotipo de riesgo		Delección CFHR3/CFHR1	Pacientes sexo/edad
		Nucleótido	Aminoácido	Score <i>in silico</i>	CFH H3-TGTG	MCPggaac		
CFH	E2	c.240T > G	p.Cys80Trp	3/5 (p)	-	Htz	Htz	F/3M
	E3	c.335A > G	p.Tyr112Cys	5/5 (p)	Htz	Hmz	-	F/39
	E5	c.493G > T	p.Asp165Tyr	5/5 (p)	Htz	Htz	Htz	F/45
	E18	c.2850G > T	p.Gln950His	4/5 (p)	-	-	Htz	F/35
	E20	c.3176T > C	p.Ile1059Thr	4/5 (p)	Htz	Htz	Htz	M/27
	E22	c.3562A > G	p.Lys1188Glu	4/5 (p)	Htz	-	-	F/37
	E22	c.3644G > T	p.Arg1215Leu	5/5 (p)	Hmz	-	-	M/35
	E22	c.3661G > T	p.Gly1221Trp	5/5 (p)	Htz	Hmz	-	M/3
	E22	c.3668T > A	p.Leu1223Gln	5/5 (p)	Htz	Htz	Htz	M/35
C3	E2	c.193A > C	p.Lys65Gln	3/5 (p)	Htz	-	Htz	F/54
					-	Hmz	Htz	M/12
					Hmz	Htz	-	F/33 (a)
					-	Hmz	-	F/35
	E7	c.730T > C	p.Tyr244His	4/5 (p)	-	-	-	M/75 (b)
	E8	c.820G > A	p.Gly274Arg	4/5 (p)	-	Htz	-	M/19
	E14	c.1775G > A	p.Arg592Gln	3/5 (p)	Htz	Htz	-	F/20
E17	c.2203C > T	p.Arg735Trp	5/5 (p)	Htz	Htz	-	F/69	
E41	c.4855A > C	p.Ser1619Arg	3/5 (p)	-	-	-	F/11(c)	
CFI	E3	c.452A > G	p.Asn151Ser	5/5 (p)	Hmz	Htz	-	F/33 (a)
	I3	c.482+6C > T	IVS3+6C > T	3/5 (p)	-	-	Htz	F/45
	E9	c.1025G > A	p.Gly342Glu	3/5 (p)	-	Htz	-	F/33
	I12	c.1534+5G > T		3/5 (p)	-	-	-	M/62
MCP	E6	c.800_820delins (20pb)		5/5 (p)	Htz	Htz	Htz	M/75 (b)
	I2	c.287-2A > G		5/5 (p)	Hmz	Htz	-	M/9
					Htz	Htz	Htz	F/38
CFHR5	E3	c.329T > C	p.Val110Ala	3/5 (p)	-	Htz	Hmz	M/35
CFHR3	I4	c.613+2T > C		5/5 (p)	-	-	-	F/65
CFHR4	E10	c.1655G > A	p.Gly552Glu	3/5 (p)	-	-	Htz	F/11 (c)
					-	-	Htz	M/13
								M/48

Variantes nuevas en negrita; p: variante patogénica; HTZ: heterocigotía; HMZ: homocigotía; F: femenino; M: masculino; (a), (b), (c): indican el mismo paciente.

CO-159 Interacción extracelular de la forma latente de la variante p.Arg393Cys de antitrombina con albumina mediante puente disulfuro

Toderici M. (1,2), De la Morena-Barrio M. E. (1,2), De Cos C. (3), Miñano A. (1), Padilla J. (1), Vicente V. (1,2), Corral J. (1,2)

(1) Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital General Universitario Morales Meseguer. Centro Regional de Hemodonación. Universidad de Murcia, IMIB-Arixaca. Murcia. (2) Grupo de Investigación CB15/00055 del Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER). Instituto de Salud Carlos III (ISCIII). Madrid. (3) Hospital Virgen del Mar. Cádiz

Introducción: La mutación p.Arg393Cys en el gen *SERPINC1* se ha descrito en 6 pacientes con trombosis y deficiencia tipo IIb de antitrombina (antitrombina Milano o Northwick park). El cambio del residuo P1 por cisteína permite la interacción de la antitrombina variante con la albúmina mediante un puente disulfuro. Sin embargo, el mecanismo por el que se realiza dicha interacción no se ha definido.

Métodos: El análisis de la antitrombina y otras proteínas plasmáticas se realizó mediante *Western blot* empleando diferentes condiciones electroforéticas (nativa en presencia y ausencia de urea 6 M; o desnaturalizantes, en presencia y ausencia de agentes reductores). Los estudios se hicieron con la muestra basal

e incubada a 42 °C. La actividad funcional anti-FXa se determinó por sistemas cromogénicos y los niveles antigénicos por ELISA. El estudio genético incluyó la secuenciación del promotor, exones y regiones flanqueantes del gen *SERPINC1*. Analizamos la expresión recombinante en células HEK-EBNA de la forma silvestre y forma mutada generada mediante mutagénesis dirigida.

Resultados: Estudiamos una familia con dos miembros diagnosticados de deficiencia de antitrombina. El hijo, un varón que sufrió un evento trombotico (TVP+TEP) espontáneo con 20 años de edad y su madre asintomática. Ambos sujetos eran portadores de una mutación en heterocigosis en el exón 7 del gen *SERPINC1* que afectaba al residuo P1 del centro reactivo (RCL): p.Arg393Cys (p.Arg425Cys contando el péptido señal). Los dos portadores presentaban actividad anti-FXa reducida (54 y 51%), deficiencia tipo II, ya que los niveles antigénicos fueron prácticamente normales (93 y 105%). Sorprendentemente, el estudio electroforético en condiciones nativas mostró tres bandas reconocidas por el anticuerpo anti-antitrombina. Además de la forma nativa correspondiente al alelo silvestre, se detectaron dos bandas adicionales de menor y mayor movilidad electroforética. El estudio en SDS confirmó la presencia de un complejo covalente unido por puentes disulfuro. La incubación tiempo dependiente del plasma a 42 grados durante 24 horas provocó la desaparición gradual de la banda de mayor movilidad electroforética en condiciones nativas a expensas de un incremento de la banda de menor movilidad correspondiente al complejo unido por puentes disulfuro con la albúmina. El modelo recombinante confirmó la deficiencia de tipo II de la mutación ya que la proteína variante se expresaba y secretaba al medio de cultivo con niveles similares a la proteína silvestre. Interesantemente, la suplementación del medio de cultivo con albúmina humana permitía la formación de un complejo con la variante unido por puentes disulfuro.

Conclusión: Nuestro estudio demuestra que la interacción de la antitrombina Milano, p.Arg393Cys con la albúmina mediante puentes disulfuro se puede producir extracelularmente, en el plasma, pero se restringe a la forma latente. La mutación en P1 desestabilizaría la forma nativa, aumentando la sensibilidad a transformarse a forma latente. El hecho de que el residuo P1 no forma parte de la hebra s4A en la forma latente podría justificar que fuera accesible para la formación de un puente disulfuro con una cisteína de la albúmina.

Financiación: PI15/00079 y CB15/00055 (ISCIII&FEDER); 19873/GERM/15 Fundación Séneca.

Plaquetas

CO-160 Caracterización de cuatro nuevas variantes moleculares de *RASGRP2* que impiden la activación de *αIIbβ3* mediada por CalDAG-GEFI causando disfunción plaquetaria y leucocitaria

Lozano M. L. (1,2), Bastida J. M. (3), Caparros E. (1), Barqueros V.(1), Padilla J. (1), Sevivas T. (4), Iruin G. (5), Cid A. R. (6), Adan-

Pedroso R. (5), Coucelo M. (4), Marques D. (4), González-Porras J. R. (3), Hernández-Rivas J. M. (3), Ferrer-Marin F. (1,2), Vicente V. (1,2), Watson S. P. (7), Bergmeier W. (8), Rivera J.(1,2)

(1) Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Centro Regional de Hemodonación. Universidad de Murcia. IMIB-Arrixaca. Murcia, España. (2) Grupo de Investigación CB15/0005. Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER). Instituto de Salud Carlos III (ISCIII). Madrid, España. (3) Servicio de Hematología. IBSAL-Hospital Universitario de Salamanca. Salamanca, España. (4) Serviço de Hematologia Clínica. Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, EPE. Coimbra, Portugal. (5) Servicios de Hematología, Pediatría y Oncología Infantil. Hospital de Cruces. Bilbao, España. (6) Unidad de Hemostasia y Trombosis. Servicio de Hematología y Hemostasia. Hospital Universitario Politécnico de la Fe. Valencia, España. (7) Institute of Cardiovascular Sciences. College of Medical and Dental Sciences. University of Birmingham. Birmingham, Reino Unido (8) Department of Pharmacology and McAllister. Heart Institute. University of North Carolina at Chapel Hill. Chapel Hill, NC, USA

Introducción: Defectos congénitos en proteínas clave en la activación de $\alpha IIb\beta 3$ pueden causar disfunción plaquetaria. CalDAG-GEFI, un intercambiador de nucleótidos de guanina codificado por *RASGRP2*, se expresa en plaquetas y neutrófilos y es esencial en la activación de Rap1 y la subsiguiente activación de integrinas. Hasta la fecha, solo se han descrito tres hermanos con disfunción plaquetaria causada por una variante *RASGRP2*.

Objetivos: Caracterizar funcional y molecularmente 5 pacientes de 4 familias no relacionadas con diátesis hemorrágica y alteración de la agregación plaquetaria.

Material y métodos: Los probandos eran 2 hermanos españoles (55 y 46 años), un niño de chino (9 años) y dos niños portugueses no relacionados (4 y 7 años), todos ellos con historial hemorrágico (BS = 7, BAT-ISTH) y sospecha de trastorno plaquetario hereditario. Evaluamos recuentos y morfología de células sanguíneas, funcionalidad plaquetar y de neutrófilos (PFA-100, glicoproteínas [GPs], secreción granular, unión de fibrinógeno [fg] por citometría de flujo, agregación, retracción de coágulo, adhesión y extensión sobre fg). El ADN de los pacientes se analizó por exoma completo (ExC) (casos españoles) o un panel NGS de 71 genes (los 3 niños). Las mutaciones halladas se confirmaron por Sanger. La expresión plaquetar de CalDAG-GEFI se cuantificó por *Western blot*. Purificamos una variante de CalDAG-GEFI y la forma nativa y comparamos su capacidad de activar Rap1 en un ensayo *in vitro* con Bodipy FL GDP.

Resultados: Los 5 pacientes mostraron recuentos y morfología plaquetaria y de neutrófilos normales, así como un patrón de función plaquetaria semejante: expresión normal de GPs (Ib/IX, $\alpha IIb\beta 3$, $\alpha IIb\beta 1$, GPVI); PFA-100 alargados (Col-Epi > 300s); agregación severamente disminuida en respuesta a ADP y dosis baja colágeno, pero normal o poco reducida con otros agonistas a dosis altas (PAR1, PAR4, CRP, Ac. Araquidónico, PMA); una escasa afectación de la secreción de selectina-P y ^{14}C -serotonina, y de la retracción de coágulo y adhesión/extensión plaquetar. Identificamos en los pacientes nuevas mutaciones homocigotas en *RASGRP2*: c.337C > T (p.R113X) (hermanos españoles); c.1142C > T (p.S381F) (niño chino) y c.706C > T (p.Q236X) o c.887G > A p.C296Y en cada uno de los niños portugueses. La expresión de CalDAG-GEFI, pero no la Rap1 ni la de su regula-

dor Rasa3, fue casi indetectable. La variante de CalDAG-GEFI p.S381F purificada, a diferencia de la nativa, mostró nula capacidad para activar Rap1 *in vitro*. En concordancia, las plaquetas de los enfermos mostraron una reducida unión de fg a α Ibb3, tras activación con todos los agonistas (ADP, PAR1, PAR4, CRP, convulxina) salvo con PMA (activador directo de α Ibb3). Los neutrófilos de los pacientes mostraron secreción (CD11b) normal, pero una reducción relevante en la unión de fg a la β 2 en células activadas con fMLP o Mn^{2+} . El modelado de las variantes p.381F y p.296Y (Pymol) mostró una importante repercusión conformacional en la estructura de CalDAG-GEFI nativa.

Conclusión: Presentamos la mayor serie descrita hasta el momento de anomalías congénitas funcionales de plaquetas y neutrófilos debidas a 4 nuevas mutaciones en *RASGRP2*. La caracterización de estas variantes refleja el impacto sobre la expresión/función de CalDAG-GEFI y por ende sobre la capacidad de las integrinas de estas células para activarse y unir sus ligandos

CO-161 El receptor de colágeno GPVI como posible diana farmacológica antiplaquetaria en infarto agudo de miocardio

Vélez P. (1), Ocaranza-Sánchez R. (2), López-Otero D. (2), Grigorian-Shamagian L. (3), García-Acuña J. M. (2), González-Juanatey J. R. (2), García Á. (1)

(1) Centro de Investigación en Medicina Molecular y Enfermedades Crónicas (CIMUS). Universidade de Santiago. Santiago de Compostela, A Coruña. (2) Servicio de Cardiología y Unidad Coronaria. Hospital Clínico Universitario de Santiago. Santiago de Compostela, A Coruña. (3) Heart Institute. Cedars-Sinai Medical Center. Los Angeles, USA

Introducción: La glicoproteína VI (GPVI) es un receptor de colágeno específico de plaquetas crítico para la formación de trombosis arterial *in vivo*. En el presente estudio, hemos analizado la vía de señalización de GPVI en plaquetas procedentes de pacientes con infarto agudo de miocardio con elevación del segmento ST (IAMCEST) y de controles con cardiopatía isquémica crónica estable.

Objetivo: Averiguar el grado de implicación de la vía de GPVI en el evento agudo. En primer lugar, se aislaron plaquetas de sangre venosa periférica y se activaron con el agonista específico de GPVI, CRP (*collagen-related peptide*). Muestras controles y de pacientes IAMCEST fueron comparadas mediante fosfoproteómica basada en inmunoprecipitaciones con anticuerpos anti-fosfotirosina (la vía de GPVI está basada en proteínas con actividad tirosina-quinasa), SDS-PAGE en gradiente, y espectrometría de masas. Las validaciones fueron mediante *western blot* en sangre periférica e intracoronaria de cohortes independientes de pacientes.

Resultados: Se identificaron 24 proteínas con distintos niveles de fosforilación en tirosina (pTyr) al comparar plaquetas sistémicas activadas con CRP procedentes de pacientes IAMCEST y de controles crónicos, cuatro de las cuales fueron seleccionadas para estudios de validación: PLCY2, G6f, SLP-76, y Dok-2. Los estudios mediante *western blot* demostraron que estas proteínas tenían unos mayores niveles pTyr en plaquetas de pacientes

IAMCEST, siendo estos niveles más pronunciados al analizar las plaquetas procedentes de sangre extraída de la arteria coronaria ocluida (lugar de la oclusión). Estudios de agregación llevados a cabo en paralelo, demostraron unos mayores niveles de agregación en respuesta a CRP y colágeno de las plaquetas procedentes de pacientes IAMCEST respecto a los controles crónicos.

Conclusión: En este estudio demostramos unos mayores niveles de activación de la vía de GPVI en pacientes IAMCEST, confirmando este receptor como una diana antitrombótica prometedora en infarto agudo de miocardio. Actualmente estamos tratando de identificar fármacos inhibidores de dicha diana.

Financiación: Este trabajo ha sido financiado por el MINECO y por la SETH-FETH (Primer premio para proyectos de investigación relacionados con trombosis y hemostasia, convocatoria 2013).

CO-162 Identificación de la filamina A como un nuevo regulador de la entrada capacitativa de calcio en plaquetas humanas

Bermejo Vega N. (1), Díez R. (2), Gutiérrez J. F. (2), Brull J. M. (3), Salido Ginés M. (2), Redondo P. C. (2), Rosado J. A. (2), López J. J. (2)

(1) Departamento de Hematología. Hospital San Pedro de Alcántara. Cáceres. (2) Departamento de Fisiología. Universidad de Extremadura. Cáceres. (3) Banco de Sangre de Extremadura. Mérida, Badajoz

Introducción: El ion Ca^{2+} y la filamina A (FLNA) son actores esenciales del mecanismo de agregación plaquetaria. Durante este proceso, la fosforilación dependiente de Ca^{2+} de la FLNA en el residuo Ser2152 le permite actuar como una proteína integradora de vías de señalización al asociarse con integrinas, complejos de receptores y segundos mensajeros¹. Estudios recientes han mostrado cuadros clínicos similares en pacientes con un déficit en la expresión de FLNA y en pacientes con Síndrome de Stormorken y con Síndrome plaquetario de York, ambos causados por una mutación de ganancia de función de STIM1, un componente esencial de la entrada capacitativa de Ca^{2+} (ECC). Estos cuadros clínicos se caracterizan por un estado preactivado de las plaquetas que causa un déficit en la agregación plaquetaria y trombocitopenia^{2,3}. En este estudio analizamos el posible papel de la fosforilación de la FLNA como un mecanismo integrador en la regulación de ECC.

Métodos: El aislamiento de plaquetas se realizó a partir de concentrados de plaquetas donados por el Banco de Sangre de Extremadura. La expresión, fosforilación y asociación de la FLNA con STIM1 se determinaron mediante inmunoprecipitación y Western Blotting. La determinación de los cambios en la concentración de Ca^{2+} citosólico ($[Ca^{2+}]_c$) se realizaron por fluorimetría usando la sonda fura-2.

Resultados: Nuestro estudio es el primero en mostrar a la FLNA como una proteína reguladora del mecanismo de la ECC. El tratamiento de las plaquetas con taspigargina, un activador de la ECC, promueve la fosforilación de la FLNA en el residuo Ser2152 y su asociación con STIM1. Esta asociación resultó ser dependiente de incrementos en la $[Ca^{2+}]_c$, como se demuestra tras la incubación de las plaquetas con dimetil-BAPTA. La combinación de técnicas de inmunoprecipitación, *western blotting* y la determinación de $[Ca^{2+}]_c$ con el uso de un activador (Brefel-

dina A) y un inhibidor (KT-5720) de la fosforilación de la FLNA en el residuo Ser2152 permitieron demostrar que esta fosforilación promueve la unión de la FLNA con STIM1 y que dicha asociación provoca una disminución del flujo de Ca²⁺ mediado por ECC.

Conclusión: La fosforilación de la FLNA en el residuo Ser2152 y su asociación con STIM1 actúa como un freno al flujo de Ca²⁺ extracelular mediado por la ECC. Trabajo financiado por el MINECO (BFU2013-45564-C2-1-P), Junta de Extremadura-FEDER (GR15029) y el programa Juan de la Cierva (JCI-2012-12934).

Bibliografía

1. Sayner SL, et al. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2011; 301:L117-124.
2. Berrou E, et al. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2013;33:e11-18.
3. Lacruz RS, Feske S. Ann N Y Acad Sci 2015;1356:45-79.

CO-163 Mecanismos reguladores de la reactividad plaquetaria neonatal: papel de los receptores plaquetarios con dominios ITAM e ITIM

Palma-Barqueros V. (1), Sánchez-Méndez J. V. (1), Caparrós-Pérez E. (1), Teruel-Montoya R. (1), Delgado J. L. (2), Blanco J. E. (2), Lozano M. L. (1), Antón A. I. (1), Vicente V. (1), Ferrer-Marín F. (1,3), Rivera J. (1,3)

(1) Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Centro Regional de Hemodonación. IMIB-Arrixaca. Murcia. (2) Servicio de Ginecología y Obstetricia. Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. IMIB-Arrixaca. Murcia. (3) Grupo de Investigación CB15/00055. Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER). Instituto de Salud Carlos III (ISCIII). Madrid

Introducción: Los inmunoreceptores plaquetarios con dominios tirosina activadores (ITAM: glicoproteína VI [GPVI], FcγRIIA, y CLEC-2) o inhibidores (ITIM: PECAM-1 o G6bB), son relevantes en la función de las plaquetas en procesos fisiológicos y patológicos como la hemostasia, integridad vascular, inflamación, o separación de vasos linfáticos y sanguíneos. Las plaquetas neonatales (PN) son, respecto a las de adulto (PA), intrínsecamente hiporreactivas frente a la mayoría de agonistas, por mecanismos desconocidos. El papel de los receptores ITAM e ITIM en esta hiporreactividad no ha sido explorado.

Métodos: En muestras de sangre periférica de voluntarios adultos y de cordón umbilical (n = 6), analizamos: 1) Expresión cuantitativa de las GPs Iba, IIIa, Ia y VI, CLEC-2, PECAM-1 y G6b por citometría de flujo (CF) (Platelet Gp Screen, Biocytex); 2) Niveles de GPVI y PECAM-1 en lisados plaquetarios por inmunoblotting; 3) Función de receptores de agonistas solubles (*i.e* receptores de siete dominios transmembrana acoplados a proteínas G o GPCR), y de receptores ITAM (GPVI, FcγRIIA y CLEC-2). Para ello medimos, por CF en sangre total diluida, la secreción de selectina-P (CD62) y la unión de fibrinógeno a GPIIb/IIIa, basalmente y tras estimulación con PAR-1 25 μM, PAR-4

250 μM, ADP 25 μM, CRP 5 μg/ml, CD9 5 μg/ml y rodocetina 100 nM, y 4) Señalización vía GPVI y CLEC-2, valorando la fosforilación de fosfolipasa C gamma 2 (PLCγ2) y tirosin cinasa de bazo (Syk), respecto a los niveles totales de PLCγ2 y Syk, por inmunoblotting fosfoespecífico (anti-PLCγ2 P-Tyr1217, anti-Syk P-Tyr525/526), en lisados de plaquetas activadas con CRP o rodocetina, agonistas de GPVI y CLEC-2, respectivamente (n = 3).

Resultados: Las PN, vs. PA, mostraron niveles (moléculas/plaqueta) significativamente reducidos de GP Ia (6.260 ± 1.262 vs. 7.861 ± 1.777, p = 0.003), pero no de las GPs IIIa y Iba. Mientras la expresión de CLEC-2 y G6b no fue significativamente distinta en PN y PA, si lo fue la de GPVI (5.421 ± 1.148 vs. 6.966 ± 929, p = 0.004) y la de PECAM-1 (8.915 ± 1.394 vs. 11.496 ± 1.657, p = 0,001). Los ensayos de inmunoblotting confirmaron la menor expresión de GPVI y PECAM-1 en PN (55 y 48% vs. PA, respectivamente, p < 0.05). Para todos los agonistas ensayados, la unión de fibrinógeno fue significativamente menor en PN que en PA (mediana de fluorescencia (MFI): 7 a 42% vs. PA, p < 0,05). También estaba reducida la secreción de selectina-P en PN estimuladas con PAR1 (MFI: 85 ± 13,8 vs. 145,2 ± 49,8, p = 0,01), CRP (MFI: 55,8±30,2 vs. 150,3 ± 60, p = 0,03) y rodocetina (MFI: 10,3 ± 8,8 vs. 48,7 ± 5,2, p = 0,01). En consonancia, los ensayos de señalización mostraron una menor fosforilación de PLCγ2 (P-Tyr1217) y Syk (P-Tyr525/526) en PN estimuladas con CRP y rodocetina en comparación con PA.

Conclusiones: Nuestro estudio revela diferencias significativas en la expresión de receptores plaquetarios durante el desarrollo. La expresión y/o funcionalidad de los receptores ITAM (GPVI, FcγRIIA, CLEC-2) es distinta en PN respecto a PA, y esto puede contribuir a la hiporeactividad plaquetaria neonatal. La disminución simultánea de GPVI y PECAM-1 podría ser un mecanismo compensatorio para evitar una excesiva hiporeactividad de las plaquetas neonatales.

Financiación: ISCIII (PI14/01956) y CIBERER (CB15/00055)

CO-164 El receptor de inmunidad innata TLR-4 participa en la internalización por plaquetas de micropartículas procoagulantes de origen plaquetario

López-Vilchez I., Hernández Garrido R. M., Molina Moreno P., Pino Ferrer M., Díaz-Ricart M., Escolar Albaladejo G.

(1) Servicio de Hemoterapia y Hemostasia. Hospital Clínic de Barcelona. Centro de Diagnóstico Biomédico. Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer (IDIBAPS). Universidad de Barcelona. Barcelona

Introducción: Las plaquetas poseen propiedades endocíticas. En estudios previos hemos demostrado que las plaquetas pueden internalizar microvesículas ricas en factor tisular, lo que incrementa su reactividad frente a una superficie trombogénica. Hemos investigado este proceso con micropartículas de origen plaquetario (PMP), que además de tener elevada actividad procoagulante, pueden modular la activación de células inflamatorias como los neutrófilos y exploramos la posible implicación de mecanismos de inmunidad innata mediadas a través del receptor TLR-4.

Métodos: Las PMP se obtuvieron por centrifugación de concentrados de plaquetas caducados. Evaluamos: 1) la internalización de PMP por plaquetas, utilizando microscopía confocal; 2) la asociación de plaquetas con PMP y la formación de agregados heterotípicos plaqueta-leucocito, mediante citometría de flujo; y 3) las propiedades tromboelastométricas de muestras de sangre citratada a la cual añadimos un 30% de plaquetas lavadas que contenían PMP. El papel del receptor TLR-4 fue explorado a través de su inhibición con un anticuerpo específico.

Resultados: Los estudios de microscopía confocal demostraron la internalización de PMP por plaquetas. La citometría mostró asociación PMP-plaquetas de forma proporcional a la concentración de PMP utilizada, alcanzando porcentajes de asociación del $86,1 \pm 6,7\%$ respecto a las muestras no expuestas a PMP. La incubación de las plaquetas con anti-TLR4 previa a la exposición a PMP produjo una disminución en la internalización de PMP ($57,1 \pm 7,9\%$ vs. PMP sin anti-TLR4; $p < 0,05$). Por otro lado, detectamos formación de agregados heterotípicos en las muestras expuestas a PMP ($8,4 \pm 0,8\%$ vs. $4,7 \pm 1,1\%$ en muestras sin PMP; $p = 0,014$); que no fue modificada en presencia de anti-TLR4. Los estudios de tromboelastometría demostraron que al añadir un 30% de plaquetas lavadas conteniendo PMP se producía un aceleramiento en el tiempo de coagulación ($54,6 \pm 4,9$ segundos vs. $62,1 \pm 5,2$ segundos en controles; $p < 0,05$), y en el tiempo de formación de coágulo ($119,6 \pm 6,1$ segundos vs. $79,4 \pm 5,8$ segundos en controles; $p < 0,05$). La adición de plaquetas lavadas con anti-TLR4 + PMP resultó en la normalización de los parámetros dinámicos.

Conclusión: Nuestros resultados confirman la capacidad endocítica de las plaquetas para sus propias micropartículas procoagulantes (autofagia), parcialmente mediada por mecanismos de inmunidad innata a través del receptor TLR-4 y con posibles implicaciones en la potenciación de la capacidad protrombótica de las plaquetas.

Ayudas: FIS-PI13/00517, RD12/0042/0016, PIE15/00027, 2014-SGR-296.

Tratamientos antitrombóticos

CO-165 Sistemas microfluídicos con superficies biomiméticas para la evaluación global de la hemostasia: estudio del efecto del apixaban

Mir Fuertes E. (1), Casals-Terré J. (2), Farre-Lladós J. (2), López-Vilchez I. (3), Arellano-Rodrigo E. (3), Díaz-Ricart M. (3), Escolar Albaladejo G. (3)

(1) Instituto de Investigación contra la Leucemia Josep Carreras. Barcelona, España. (2) Servicio de Hemoterapia y Hemostasia. Hospital Clínic de Barcelona. Centro de Diagnóstico Biomédico (CDB). Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer (IDIBAPS). Universidad de Barcelona. Barcelona, España.

(3) Departamento de Ingeniería Mecánica. Laboratorio MicroTech. Universidad Politécnica de Cataluña. Barcelona, España

Introducción: Las pruebas disponibles para evaluar la hemostasia se realizan en su mayoría en condiciones estáticas. No existe una metodología estandarizada que tenga en cuenta el entorno reológico en el que se desarrollan normalmente los mecanismos de la hemostasia. Los sistemas de microfluídica permiten investigar de forma simultánea diferentes condiciones experimentales, proporcionando información sobre la activación global de la hemostasia en condiciones de flujo, utilizando volúmenes de sangre inferiores a los requeridos por los sistemas macrofluídicos clásicos, y reduciendo el tiempo de procesado. Hemos aplicado dos modelos microfluídicos con superficies biomiméticas para la evaluación global de la hemostasia y su validación, a través del estudio del efecto del anticoagulante oral directo apixaban (APIX).

Métodos: Utilizamos dos tipos de microcámaras, un modelo comercial (Ibitlet uSlide⁰⁶, IBIDI) y otro no comercial con diseño personalizado, con menores diferencias en el ángulo de entrada de la sangre al microcanal. Se perfundieron alcuotas de sangre recalcificada (6 mM CaCl_2), a través de los canales biomiméticos recubiertos con colágeno fibrilar tipo I y factor tisular, durante 5 minutos a un coeficiente de cizalladura de 800/s. Ensayamos el efecto de distintas concentraciones de APIX (0, 10, 40 y 160 ng/ml, esta última equivalente a la Cmax terapéutica) en ambos dispositivos. Analizamos la interacción de plaquetas y la formación de fibrina sobre las superficies trombogénicas expuestas a sangre circulante utilizando técnicas de inmunofluorescencia mediante marcaje con anticuerpos específicos.

Resultados: La incubación con APIX causó disminuciones dosis-dependientes en la superficie cubierta por plaquetas, así como de fibrina, alcanzando niveles de significación estadística con 160 ng/ml ($*p < 0,05$ vs. control sin APIX y $\#p < 0,05$ vs. APIX 10 ng/ml). Los estudios de microfluídica realizados con sangre citratada recalcificada mostraron resultados similares con ambos dispositivos utilizados. La Tabla 1 resume los porcentajes de superficie cubierta obtenidos con la microcámara comercial.

Conclusión: Los modelos de microfluídica explorados ofrecen una alternativa a los sistemas macrofluídicos clásicos, que permite evaluar la hemostasia global en condiciones reológicas. Las microcámaras evaluadas pueden ser también de utilidad en la evaluación y monitorización de fármacos que interfieran la hemostasia, tanto a nivel de la interacción plaquetaria como a nivel de la formación de fibrina.

Ayudas: FIS-PI13/00517, RD12/0042/0016, PIE15/00027, 2014-SGR-296.

Tabla 1

[APIX] ng/ml	Plaquetas	Fibrina
0	$23,0 \pm 3,0$	$43,4 \pm 4,8$
10	$17,9 \pm 0,9$	$42,1 \pm 1,9$
40	$14,0 \pm 5,3$	$23,4 \pm 7,7$
160	$5,4 \pm 2,2^{*}\#$	$14,1 \pm 4,9^{*}\#$

CO-166 Prescripción y manejo de anticoagulantes orales de acción directa en pacientes con fibrilación auricular fuera de una unidad de terapia anticoagulante

Martí Sáez E., Segado Torres A., Amat Martínez P., Remigia Pellicer M. J., Pérez Martínez A., Ferrer Lores B., Gómez Calafat M., Medina Sánchez F., Solano Bercet C., Navarro Cubells B.

Hospital Clínico Universitario. Valencia

Introducción: El empleo de fármacos anticoagulantes en la prevención del ictus y la embolia sistémica en pacientes con fibrilación auricular (FA) afecta a un gran número de pacientes. A pesar de su estrecho margen terapéutico y su manejo complicado, los antagonistas de la vitamina K (AVK) han sido la base de la terapia anticoagulante durante años. La aparición de fármacos eficaces con un mejor perfil de seguridad ha supuesto un gran avance en este campo. Aunque su prescripción se ha visto limitada por las directrices del Ministerio de Sanidad, la realidad es que esta depende mucho de factores locales o individuales.

Objetivo: Analizar la prescripción de estos fármacos en el departamento de salud del Hospital Clínico de Valencia cuya población de influencia corresponde a 342.785 personas.

Métodos: Se trata de un estudio retrospectivo observacional. Los datos se obtuvieron del sistema de prescripción ambulatoria (G)AIA. Se extrajo un listado de pacientes que a fecha de 30 de octubre de 2015 tenían prescrito un ACOD para la indicación de prevención del ictus y la embolia sistémica en pacientes con FA en el Departamento Clínico-Malvarrosa. Los datos clínicos se obtuvieron del sistema de información ambulatorio (SIA) y de la historia de salud electrónica del hospital.

Resultados: Se registraron un total de 546 prescripciones, de las cuales 243 (44,5%) correspondían a dabigatran, 170 (31,1%) a rivaroxaban y 133 (24,4%) a apixaban. En este mismo período 4.656 pacientes se encontraban bajo tratamiento con AVK (con 64.881 controles/anuales).

El 50,7% de las indicaciones no se correspondían a las situaciones indicadas en el informe de posicionamiento terapéutico (Tabla 1). Además, solo el 52% de los pacientes habían recibido tratamiento con AVK previamente, en el resto se inició directamente el ACOD.

En cuanto al especialista prescriptor, más de la mitad de los casos (61,3%) fue Cardiología, seguido de Neurología (21,3%) y solo el 1% de los tratamientos se indicaron desde Hematología. En el análisis de seguimiento de estos pacientes, es llamativo que, pese que al inicio el tratamiento el 42% de los casos presentaba una insuficiencia renal moderada o severa; solo en un 9% de los casos se ha realizado control semestral del aclaramiento de creatinina, en contra de las recomendaciones publicadas. Respecto a las complicaciones, se registraron 23 (4,2%) episodios de ictus y 15 (2,8%) hemorragias graves con ACOD.

Conclusiones: En nuestro medio la prescripción de ACOD no se ajusta a las recomendaciones establecidas por el Ministerio en más de la mitad de los casos. Cardiología y Neurología son los principales prescriptores. Tampoco se realizan los seguimientos que

Tabla 1

	n	%
TRT < 60% en rango (aritmético)/65% (Rosendaal)	121	26,7
Imposibilidad de acceso a controles	14	3,1
Evento trombotico estando bien anticoagulado	26	5,7
Antecedente o elevado riesgo de hemorragia intracraneal	15	3,3
Cardioversión eléctrica	29	6,4
Hipersensibilidad o contraindicación a AVK	10	2,2
Hemorragia grave no digestiva con AVK	8	1,7
Otro motivo	230	50,7

aconsejan las guías. Una mayor supervisión por parte de la Unidad de Terapia Anticoagulante, junto con una valoración rigurosa de coste-eficacia a largo plazo podría ser útil para justificar o no la ampliación del visado en estos tratamientos e incluso su supresión.

CO-167 La inhibición de metaloproteasas de matriz (CM352) reduce de forma efectiva la hemorragia experimental asociada a anticoagulantes orales directos

Roncal C. (1), Molina E. (1), Rodríguez J. A. (1), Oyarzabal J. (1), Páramo J. A. (2), Hermida J. (1), Orbe J. (1)

(1) Centro de Investigación Médica Aplicada, CIMA. Universidad de Navarra. Navarra, Pamplona. (2) Clínica Universidad de Navarra. Universidad de Navarra. Navarra, Pamplona

Introducción: A pesar de sus muchas ventajas de los anticoagulantes orales directos (ACOD), el sangrado sigue siendo una potencial complicación grave. Las metaloproteasas de matriz (MMP) participan en la disolución del trombo y su inhibición se ha asociado al control de la hemorragia. El CM352, un nuevo antifibrinolítico inhibidor de MMP, es un candidato prometedor para el tratamiento agudo de la hemorragia. Hemos estudiado la eficacia del CM352, en el sangrado asociado al dabigatrán (D) y rivaroxabán (R) *in vitro* e *in vivo*.

Métodos: Se realizó tromboelastometría (ROTEM) con CM352 en presencia de células endoteliales inmovilizadas (EaHy926) para analizar la influencia directa de la inhibición de MMP en los efectos de los ACOD. También se evaluó la resistencia de los coágulos de sangre a la fibrinólisis en presencia de tPA exógeno. *In vivo*, cincuenta ratones (n = 10/grupo) recibieron D (4,5 mg/kg, i.p.) o R (3 mg/kg, i. v.) 90 y 60 minutos antes de la escisión de la cola, y se midió el tiempo de sangrado hasta los 30 minutos. Se infundieron CM352 o salino (i.v.) 5 min antes de la escisión. Además, se determinó el efecto del factor X activo (FXa) y trombina sobre la actividad fibrinolítica de las MMP *in vitro*, mediante ensayos fluorogénicos y antigénicos.

Resultados: Ambos anticoagulantes prolongaron significativamente el tiempo de coagulación (CT) en comparación con el

control (1.029 ± 28 s R, 983 ± 23 s D y control 562 ± 13 s, ambos $p < 0,01$) En el ROTEM. Sin embargo, el tiempo de lisis del coágulo (LT) se redujo significativamente con R (2.238 ± 197 s control vs. 1.469 ± 117 s R, $p < 0,01$), pero no con D, sugiriendo que el rivaroxabán ejerce un efecto fibrinolítico. El CM352 no modificó el CT de ambos ACOD, pero retrasó el LT en presencia de R (3.330 ± 103 s, $p < 0,05$). *In vivo*, la administración de CM352 controló la hemorragia inducida por R pero no por D (30 min R frente a $18 \pm 0,6$ min R+CM352, $p < 0,01$ y $29,3 \pm 0,5$ min D vs. $29,2 \pm 0,8$ min D+CM352, respectivamente). Los ensayos de Western blot y ELISA demostraron que FXa escinde la pro-enzima MMP10, pero no su forma activa, y no modifica su actividad, lo que sugiere que la inhibición de FXa por rivaroxabán evita la degradación de proMMP10, favoreciendo su actividad profibrinolítica. El CM352 en este contexto, inhibiría la actividad profibrinolítica de la MMP10, y controlaría la hemorragia inducida por esta proteasa.

Conclusiones: El CM352, mediante la inhibición de la actividad MMP, podría ser una alternativa para el manejo de los posibles eventos hemorrágicos del tratamiento con inhibidores del FXa.

Financiación: FIS (PI15/01807) y Gobierno de Navarra (02/2015).

CO-168 Bemiparina en el tratamiento de trombosis del paciente neonato crítico: incidencia en nuestro centro, análisis de factores de riesgo, ajuste de dosis y seguimiento

Meijón Ortigueira M. M., Rivas Pollmar I., Sánchez Vadillo I., Blanco Bañares M. J., Gutiérrez Alvarino M. M., De Soto Álvarez T., Reguera Ortega J. L., Martínez Velandia A., Goyanes Martín I., Martín Salces M., Álvarez Román M. T., Jiménez Yuste V.
Hospital Universitario La Paz. Madrid

Introducción y objetivos: Los neonatos que requieren ingreso en la UCI son una población de riesgo para el desarrollo de trombosis. Presentamos una serie de 29 casos con estas características tratados en nuestro centro con bemiparina en los años 2014-2015.

Material y métodos: Analizamos 22 niños y 7 niñas con edad gestacional entre 30-40 + 4 s y mediana de peso 2.850 g (765-4.000 g). Se realizó cesárea en el 13,8%. El 41,4% de los neonatos presentaban cardiopatías congénitas cianosantes, requiriendo cirugía con circulación extracorpórea y soporte ventilatorio. Un 48,3% desarrollaron sepsis graves, en un caso secundaria a neoplasia. Todos los pacientes precisaron accesos venosos centrales. Predominaron las trombosis localizadas en: vena yugular (20,7%), vena cava (13,8%) y aurícula derecha (13,8%). Se realizó estudio de trombofilia en el 48,3%, presentando un 20,7% algunas de las siguientes alteraciones: homocigosis factor V Leiden, heterocigosis G20210A protrombina, déficit de proteína C y déficit de AT.

Resultados: Nuestros pacientes inician tratamiento con bemiparina y monitorización con niveles de AntiXa, considerando anticoagulación terapéutica 0,5-1 UI/ml. Diferenciamos cuatro grupos. El primero (20,7%) inicia a dosis < 150 UI/kg/d, alcan-

zando AntiXa de 0,11-0,62 UI/ml. El 13,8% presentaron niveles infraterapéuticos (0,11-0,24 UI/ml) y el 6,9% consiguieron niveles en rango. El segundo grupo (48,3%) inicia con dosis de 150-159 UI/kg/día, alcanzando niveles de AntiXa de 0,13-0,42 UI/ml. Todos han presentado niveles infraterapéuticos. El tercer grupo (20,7%) inicia con dosis 160-200 UI/kg/d, alcanzando niveles de AntiXa de 0,44-0,8 UI/ml. El 6,9% presentaron niveles infraterapéuticos (0,44-0,46 UI/ml) y el 13,8% consiguieron niveles en rango. Un cuarto grupo (10,3%) requirió cambio de tratamiento de bemiparina a otra HBPM, quedando excluido.

En total precisaron incremento de dosis el 79,3% de los casos, alcanzando el rango terapéutico en una mediana de 6 días (1-64 d) desde el inicio del tratamiento, con una dosis media de 192 UI/kg/d (150-286 UI/kg/d). Solo un caso presentó una complicación hemorrágica que requirió suspensión de anticoagulación (160 UI/kg/d).

Conclusiones: El paciente neonato crítico presenta mayor incidencia de eventos trombóticos. Es importante detectar los principales factores de riesgo, diagnosticar precozmente y establecer un tratamiento dirigido. La dosis de inicio de Bemiparina recomendada en ficha técnica es 115 UI/kg/d en adultos, no estando establecida en neonatos. Iniciar a dosis > 160 UI/kg/d con monitorización adecuada de niveles AntiXa podría resultar un método eficaz, sencillo de realizar y con una baja incidencia de complicaciones hemorrágicas.

CO-169 Nuevos agentes moduladores de la actividad transcripcional del gen *SERPINC1*. Incremento de los niveles endógenos de antitrombina y su aplicación terapéutica

Toderici M. (1), De la Morena-Barrio M. E. (1,2), Miñano A. (1), Padilla J. (1), García-Barberá N. (1), Vicente V. (1,2), Corral J. (1,2)

(1) Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital General Universitario Morales Meseguer. Centro Regional de Hemodonación. Universidad de Murcia, IMIB-Arixaca. Murcia. (2) Grupo de Investigación CB15/00055. Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER). Instituto de Salud Carlos III (ISCIII). Madrid

Introducción: Existe poca información sobre agentes reguladores de la actividad transcripcional de *SERPINC1*, que codifica para antitrombina. La identificación de factores que incrementen los niveles de este potente anticoagulante endógeno tendría interesantes aplicaciones terapéuticas. El estudio de pacientes con niveles de antitrombina superiores a la normalidad puede ayudar en la identificación de nuevos agentes moduladores de *SERPINC1*.

Métodos: Secuenciación de *SERPINC1* de pacientes con niveles de antitrombina elevados. La antitrombina y otras proteínas plasmáticas (protrombina, antitripsina, FXI y FXII) se analizaron mediante *Western blot* y/o ensayos funcionales. El papel de diferentes agentes potenciales moduladores de la transcripción de *SERPINC1* se evaluó mediante qRT-PCR y *Western blot* en célu-

las HepG2 y en un modelo animal que incluía ratones silvestres (WT) y *Serpinc1* KO^{+/+}.

Resultados: El estudio de trombofilia de tres pacientes incluidos en la lista de espera de trasplante hepático mostró una inesperada actividad anti-FXa elevada (150-195%). Los estudios antigénicos confirmaron el aumento plasmático de antitrombina (110-140%), mientras que los niveles de otras proteínas hepáticas eran normales o reducidos. No encontramos alteraciones genéticas relevantes en *SERPINC1*. Los tres pacientes presentaban atresia de vías biliares, lo que junto al papel regulador detranscripcional que las sales biliares desempeñan, estimularon profundizar en el papel de estas sales en el control de *SERPINC1*. El estudio se completó con otros agentes que se han descrito que podrían regular la transcripción de *SERPINC1*: vitamina D, dexametasona, triyodotironina y GW4064. En el modelo celular, se confirmó que vitamina D (80 ng/ml), dexametasona (500 nM), GW4064 (1 μM) y triyodotironina (200 nM) provocaban un aumento moderado pero significativo de los niveles de mRNA de *SERPINC1*. De todas las sales biliares analizadas: ácido quenodesoxicólico (CDCA), ácido cólico (CA), ácido ursodesoxicólico (UDCA), ácido litocólico (LCA) y glicoenodesoxicólico (GCDCA); solo el CDCA y UDCA aumentaron significativamente de forma dosis dependiente los niveles transcripcionales de *SERPINC1*. Además, la combinación de CDCA, CA y vitamina D incrementó 3 veces los niveles de mRNA de *SERPINC1*. El tratamiento de ratones silvestres con sales biliares provocó un aumento de los transcritos de *SERPINC1* en el hígado 1,5; 2,4 y 2,5-veces para CDCA, CA y UDCA respectivamente. Este efecto también se observó en ratones *Serpinc1*^{+/+}, los cuales recuperaron niveles de expresión de *SERPINC1* normales (> 100%) cuando se trataron con CDCA o UDCA.

Conclusiones: Nuestro resultado confirma el papel regulador de la vitamina D, dexametasona, GW4064 y triyodotironina, e identifica nuevos moduladores de este potente anticoagulante, las sales biliares. Estos resultados explicarían el aumento de antitrombina en pacientes con acumulación de sales biliares, que posiblemente actuaría como agente citoprotector en respuesta a situaciones citotóxicas. Además, este estudio abre interesantes perspectivas terapéuticas alternativas a la suplementación con antitrombina exógena, potencialmente aplicables no solo a pacientes con deficiencia congénita o adquirida de antitrombina, sino también como profilaxis antitrombótica.

Financiación: PI15/00079 y CB15/00055 (ISCIII&FEDER); 19873/GERM/15 Fundación Séneca.

Trombosis

CO-170 Evaluación de una cohorte de pacientes oncológicos diagnosticados de tromboembolismo pulmonar ¿deberíamos aplicar el score Khorana?

García Ramírez P. (1), Gómez Arteta E. (1), Zabalza A. (2), Alvarellós M. (1), Montoya M. C. (1), Millacoy P. (1), Redondo A. M. (1), Paloma M. J. (1), Ezpeleta I. (1)

(1) Servicio de Hematología. Complejo Hospitalario de Navarra. Pamplona, Navarra. (2) Grupo Oncohematología. Navarrabiomed-Fundación Miguel Servet. Pamplona, Navarra

Introducción: Los pacientes oncológicos tienen un alto riesgo de presentar enfermedad tromboembólica venosa (ETE). La búsqueda de factores de riesgo y el diseño de *scores* que identifiquen pacientes con mayor probabilidad de presentar eventos tromboembólicos potencialmente prevenibles y susceptibles de profilaxis con heparina de bajo peso molecular (HBPM) está en auge.

Métodos: Estudio retrospectivo, observacional de pacientes oncológicos diagnosticados de tromboembolismo pulmonar (TEP) en el Complejo Hospitalario de Navarra de diciembre de 2010 a diciembre de 2015. Se analizan las características demográficas, la presencia de síntomas al diagnóstico, la estratificación del riesgo según el *score Khorana* y el tratamiento.

Resultados: 78 pacientes oncológicos fueron diagnósticos de TEP durante este periodo de 5 años. Ninguno llevaba profilaxis con HBPM en el momento del diagnóstico. Las características basales de los pacientes se muestran en la **Tabla 1**.

En el 21,8% (n = 17) el diagnóstico de TEP precedió al de la neoplasia, en el 26,9% (n = 21) se diagnosticó (al menos 1 mes) tras finalizar tratamiento antineoplásico, y un 51,3% (n = 40) durante el tratamiento antineoplásico (quimioterapia +/- radioterapia). En este último grupo de pacientes la mediana de tiempo desde el inicio del tratamiento y el diagnóstico de TEP fue de 2 meses (0-13). El *score Khorana* aplicado en este mismo grupo de pacientes (calculado al inicio del tratamiento) fue de bajo riesgo en el 15%, de riesgo intermedio en el 65% y de alto riesgo en el 20% (**Figura 1**).

Tabla 1: Características basales de los pacientes

	n (%)
Sexo, varones	54 (69,2%)
Mediana, edad (años)	66 (28-87)
Localización del cáncer:	
Pulmón	22 (28,2%)
Colorrectal	14 (17,9%)
Genitourinario	13 (16,6%)
Mama	6 (7,7%)
Páncreas	4 (5,1%)
Gástrico	4 (5,1%)
Ginecológico	4 (5,1%)
SNC	4 (5,1%)
Hematológico	3 (3,8%)
Esófago	1 (1,3%)
Otras	3 (3,8%)
Metástasis	46 (59%)
Incidental	30 (38,5%)
Régimen ambulatorio	60 (76,9%)

Reseñar que en esta serie todos los diagnósticos de TEP previos o simultáneos al diagnóstico de la neoplasia fueron a partir de enero de 2014, probablemente en relación a un incremento en la realización de pruebas diagnósticas para la búsqueda de una neoplasia oculta en los pacientes diagnosticados de TEP idiopático.

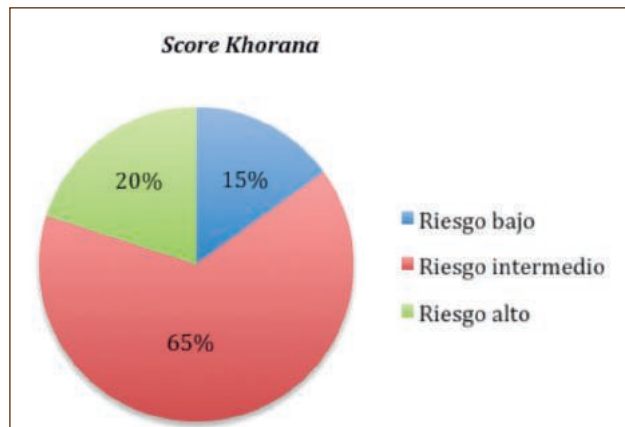


Figura 1. Estratificación del riesgo tromboembólico en pacientes en tratamiento activo antineoplásico según *score Khorana* (n = 40).

La mayoría de pacientes (96,2%) fueron tratados solo con enoxaparina a dosis terapéuticas (1 mg/kg/12 horas), salvo 2 tratados con heparina no fraccionada y 1 con un fármaco anticoagulante oral de acción directa dentro de un ensayo clínico.

Conclusión: En nuestra serie el 85% de los pacientes diagnosticados de TEP en el curso del tratamiento antineoplásico tenían un *score de Khorana* de riesgo intermedio o alto. Basado en el tipo de neoplasia, las cifras de hemoglobina, leucocitos y plaquetas pre-quimioterapia y el índice de masa corporal, al inicio del tratamiento, su aplicación es desigual entre centros y su uso no está respaldado de manera firme por las guías actuales.

El que haya un porcentaje tan elevado de pacientes con TEP clasificados como de riesgo intermedio o alto invita a la reflexión y hace necesarios ensayos clínicos comparando la incidencia de ETEV entre pacientes con similares *scores Khorana* randomizados a HBPM o a placebo.

CO-171 Consecuencias conformacionales y clínicas de la mutación pleiotrópica p.Met283Val en *SERPINC1*. Relevancia de los niveles altos de antitrombina latente en plasma

De la Morena-Barrio M. E. (1,2), Sandoval E. (3), Toderici M. (3), Navarro-Fernández J. (3), Rodríguez-Alen A. (3), Revilla N. (3), López-Gálvez R. (3), Miñano A. (3), Padilla J. (3), Cuesta J. (3), Corral J. (1,2), Vicente V. (1,2)

(1) Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Centro Regional de Hemodonación. Universidad de Murcia,

IMIB-Arrixaca. Murcia. (2) Grupo de Investigación CB15/00055 del Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER). Instituto de Salud Carlos III (ISCIII). Madrid. (3) Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Virgen de la Salud. Toledo

Introducción: La antitrombina (AT) es un relevante anticoagulante endógeno cuya deficiencia, causada principalmente por mutaciones en *SERPINC1*, incrementa significativamente el riesgo trombótico. El estudio de casos con deficiencia de AT podría ayudar a identificar nuevos dominios estructurales o funcionales en AT, podría aportar información relevante de formas minoritarias de AT, así como identificar nuevos factores clínicos que incrementen el riesgo trombótico.

Objetivo: Identificar el mecanismo responsable de la deficiencia de AT y los factores protrombóticos en una familia con gemelos dicigóticos.

Métodos: La actividad funcional, niveles antigénicos y la afinidad por heparina de AT se determinaron mediante métodos cromogénicos, ELISA y cross-inmuno-electroforesis, respectivamente. Se secuenciaron los exones y la región promotora de *SERPINC1*. La AT plasmática se evaluó en geles de SDS y nativos (en presencia y ausencia de urea), mediante western blot. Se expresaron proteínas recombinantes, generadas mediante mutagénesis dirigida, en células HEK-EBNA. La AT secretada al medio de cultivo e intracelular se estudió mediante western blot y ensayos funcionales. Se realizaron modelos estructurales *in silico*.

Resultados: Se estudiaron 4 miembros de una familia con deficiencia de AT tipo II (anti-FXa: 52%; anti-FIIa: 50%; Ag: 86%) incluyendo un niño prematuro (con menor actividad: 25%) y gemelos dicigóticos, uno de los cuales desarrolló trombosis venosa cerebral neonatal desencadenada por el uso de fórceps durante el parto, ocasionándole graves secuelas neurológicas. El 30% de la AT plasmática presentó baja afinidad por heparina, mayor movilidad electroforética en geles nativos y mayor estabilidad en geles de urea, características que corresponden con la AT latente. No observamos polímeros ni dímeros unidos por puentes disulfuro. Los sujetos con deficiencia eran portadores de la mutación p.Met283Val en heterocigosis. Esta mutación es nueva, afecta a un residuo de la hebra 3C, conservado en la superfamilia de las serpinas. Sin embargo, la variante p.Met283Ile fue identificada en un paciente con deficiencia tipo II de AT. La expresión recombinante de ambas variantes mostró una tasa normal de secreción al medio. Las ATs recombinantes no formaban dímeros unidos por puentes disulfuro, eran mayoritariamente hiperestables y sin actividad anticoagulante, aunque una pequeña proporción formaba complejos trombina-AT.

Clínicamente, pese a la alta proporción de AT latente en plasma (50 µg/ml), una molécula con potente actividad antiangiogénica, los portadores de esta mutación no presentaron defectos vasculares.

Conclusiones: Identificamos un nuevo residuo, Met283, localizado en la hebra 3C de AT involucrado en la estabilidad estructural de la AT y potencialmente de todas las serpinas. Mutaciones en este residuo podrían indirectamente abrir la hebra A central favoreciendo la transición a latente incluso en condiciones fisiológicas. De hecho, los portadores de la mutación

p.Met283Val presentan los mayores niveles descritos hasta la fecha de AT latente en plasma. Sin embargo, estos niveles no afectan a la angiogénesis. Finalmente, el desarrollo de trombosis cerebral en un neonato con deficiencia de AT que precisó uso de fórceps, junto a la alta incidencia de trombosis cerebral en neonatos con asistencia en el parto, sugieren evitar el uso de fórceps cuando alguno de los padres sea portador de un defecto trombofílico severo.

Financiación: PI15/00079 yCB15/00055 (ISCIII&FEDER); 19873/GERM/15 Fundación Séneca.

CO-172 HMGB1 está elevada en el síndrome coronario agudo con elevación ST y puede ser regulada por los tratamientos antitrombóticos

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

(1) Departamento Cardiología. (2) Departamento Medicina. Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia. Instituto de investigaciones sanitarias La Fe. Valencia

Introducción: *High mobility group box 1* (HMGB1) es una proteína multifuncional con capacidad inflamatoria localizada en el núcleo pero que puede ser liberada al medio en diversas circunstancias como un proceso inflamatorio, sepsis, isquemia, aterosclerosis, etc. Recientemente se ha demostrado que HMGB1 también es liberado por las plaquetas activadas, y juega un papel crítico en el proceso trombótico (1). Además puede unirse a las plaquetas a través de su receptor TLR4 produciendo su activación. Presenta también la capacidad de unir heparinas, lo que podría regular su función (2).

Objetivo: Estudiar en pacientes con síndrome coronario agudo con elevación del segmento ST (STEMI) la presencia de HMGB1 y la asociación con la clínica y los tratamientos antitrombóticos.

Pacientes y métodos: Se han estudiado 79 pacientes con STEMI. Se obtuvieron muestras de sangre venosa antes y después de la realización de una PCI con implantación de *stent*. Como control se estudiaron sujetos sanos sin medicación ($n = 17$). Los valores de HMGB1 en plasma citratado (expresados en ng/ml) se determinaron mediante un ELISA (IBL). Tratamientos: aspirina $n = 79$, ticagrelor $n = 22$, bivalirudina $n = 21$).

Resultados: En pacientes STEMI al ingreso los valores de HMGB1 están elevados ($4,20 \pm 0,54$) con respecto a sujetos control donde no es detectable. No encontramos diferencias según edad, sexo y otras variables demográficas y clínicas. Aquellos pacientes tratados previamente de forma crónica con hipolipemiantes presentan valores incrementados de HMGB1 ($5,54 \pm 0,91$ vs. $3,33 \pm 0,42$; $p = 0,017$). Tras la PCI se produce una disminución significativa de los valores de HMGB1 ($p = 0,036$). Sin embargo este descenso no se produce igualmente en todos los pacientes, sino que es especialmente significativo en aquellos pacientes tratados durante la PCI con ticagrelor frente a los tratados con clopidogrel o prasugrel y los tratados con bivalirudina como an-

ticoagulante frente a los tratados con heparina, en los que no se produce esta disminución. Finalmente encontramos que HMGB1 se asocia negativamente con la función plaquetaria determinada mediante agregometría óptica.

Conclusiones: Describimos por primera vez que HMGB1 se encuentra elevado en pacientes con STEMI. Esta elevación puede ser un reflejo del proceso inflamatorio, pero a su vez puede estar regulado por el efecto de las heparinas y la función plaquetaria.

(1) Vogel S J Clin Invest 2015. (2) Becas. FIS13/00016. Beca de la FETH. Becario de la FETH. Red Cardiovascular [RD12/0042/0003]. Sociedad Valenciana de Cardiología.

CO-173 Identificación de un perfil de microRNAs para predecir el riesgo trombótico de los pacientes con cáncer biliopancreático

Oto J. (1), Larsen A. C. (2), Plana E. (3), Hervás D. (4), Martos L. (1), Ramón L. A. (1), Solmoirago M. J. (1), Fernández-Pardo Á. (1), España F. (1), Navarro S. (1), Kristensen S. R. (5), Thorlacius-Ussing O.(6), Medina P. (1)

(1) Grupo de Investigación en Hemostasia, Trombosis, Arteriosclerosis y Biología Vascul. Instituto de Investigación Sanitaria La Fe. Valencia. (2) Department of Gastrointestinal Surgery and Center of Clinical Cancer Research. Aalborg University Hospital. Dinamarca. (3) Grupo de Investigación en Hemostasia, Trombosis, Arteriosclerosis y Biología Vascul. Instituto de Investigación Sanitaria La Fe. Servicio de Angiología y Cirugía Vascul, Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia. (4) Unidad de Bioestadística. Instituto de Investigación Sanitaria La Fe. Valencia. (5) Department of Clinical Biochemistry. Aalborg University Hospital. Department of Clinical Medicine. Aalborg University. Dinamarca. (6) Department of Gastrointestinal Surgery and Center of Clinical Cancer Research. Aalborg University Hospital. Department of Clinical Medicine. Aalborg University. Dinamarca

Introducción: El cáncer es la segunda causa de muerte en el mundo. El tromboembolismo venoso (TEV) es una complicación frecuente y la segunda causa de muerte en pacientes oncológicos. Por tanto, se precisan nuevos biomarcadores que permitan identificar de forma temprana a los pacientes con cáncer con un alto riesgo trombótico. Los microRNAs (miRNAs) son pequeñas moléculas de RNA no codificantes que regulan la expresión proteica. Además, los miRNAs parecen regular la progresión del cáncer y el TEV. Por ello, el objetivo de nuestro estudio fue identificar un perfil de miRNAs que nos permita identificar los pacientes con cáncer biliopancreático con un alto riesgo de TEV.

Métodos: Llevamos a cabo un estudio prospectivo en el que reclutamos pacientes con cáncer biliopancreático y les realizamos un seguimiento de dos años. Extrajimos sangre al diagnóstico y cada 3 meses. Seleccionamos 5 pacientes que desarrollaron TEV y 5 que no, y estudiamos la expresión de los miRNAs en plasma en el momento de inclusión y justo antes del evento trombótico con el Serum/plasma Focus microRNA PCR Panel V4 (Exiqon). Analizamos los resultados con el programa R (versión 3.2.3).

Resultados: Comparando el nivel de expresión de los miRNAs a la inclusión con el test Elastic Net, identificamos un perfil de 11 miRNAs disregulados en los pacientes que desarrollaron

TEV al seguimiento, comparados con los que no. El *fold-change* de estos miRNAs osciló entre -2,58 y 4,28. Cabe destacar que con el nivel de expresión de estos 11 miRNAs al diagnóstico podríamos calcular el riesgo de TEV de los pacientes con cáncer biliopancreático. Finalmente, comparando el nivel de expresión de los miRNAs a la inclusión y justo antes del TEV con un test T de muestras pareadas, identificamos 7 miRNAs disregulados. Actualmente estamos identificando sus proteínas diana, que podían estar provocando el TEV en estos pacientes.

Conclusiones: En nuestro estudio prospectivo hemos identificado un perfil de 11 miRNAs con el que podríamos calcular el riesgo de TEV de los pacientes con cáncer biliopancreático al diagnóstico. Esto podría propiciar el seguimiento más estrecho de los pacientes de alto riesgo y la tromboprofilaxis personalizada para prevenir TEV de repetición o sangrados. Además, hemos identificado 7 miRNAs disregulados en los pacientes justo antes del TEV. Estos miRNAs podrían ayudar a identificar los mecanismos desencadenantes del TEV en pacientes con cáncer biliopancreático.

Financiación: ISCIII-FEDER (PI12/00027, Red RIC RD12/0042/0029, PIE13/00046, PI14/00079, PI14/00512, FI14/00269), Generalitat Valenciana (PrometeoII/2015/017), Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia y OBEL Family Foundation (26145). PM es investigadora en el SNS Miguel Serret (ISCIII CP09/00065 y CPII15/00002).

CO-174 La presencia de agregados leucoplaquetarios como posibles biomarcadores de riesgo trombótico en niños con esferocitosis hereditaria y esplenectomía

García Blanes C. (1), Moscardó M. A. (2), Izquierdo Sebastián S. (1), Latorre Campos A. (2), Argilés Aparicio B. (1), Santos Díaz M. T. (2), Vallés Giner J. (2), Dasi Carpio M. Á. (1)

(1) Unidad de Hematología Pediátrica. Hospital Universitario y Politécnico la Fe. Valencia. (2) Instituto de Investigación Sanitaria Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia

Introducción: La esferocitosis hereditaria (EH) es una enfermedad hemolítica crónica de severidad variable, producida por la alteración de la estructura de la membrana eritrocitaria que condiciona el secuestro esplénico de los hematíes. La esplenectomía es por tanto el tratamiento utilizado en las formas graves, pero condiciona riesgo de sepsis por bacterias encapsuladas y últimamente se viene observando un aumento del riesgo trombótico (no justificado por la trombocitosis secundaria a la esplenectomía).

Objetivo: Analizar marcadores de activación plaquetaria como los agregados leucocito-plaqueta y monocito-plaqueta como posibles factores implicados en el aumento de riesgo trombótico.

Material y métodos: Estudio transversal descriptivo y analítico realizado en nuestro hospital, desde septiembre 2015 a mayo 2016. Se seleccionan niños diagnosticados de EH con y sin esplenectomía y niños sanos control con similar sexo y edad. Se

analizan los agregados leucocito-plaqueta y monocito-plaqueta mediante citometría de flujo. El análisis estadístico se realiza con STATA 12. Se utiliza test paramétrico (ANOVA), no paramétrico (Kruskal Wallis), se ajusta correlación de Pearson, con límite de significación del 95%. Para evitar factores de confusión e interacción se realiza regresión lineal múltiple.

Resultados: Se reclutan 38 niños, con predominio del sexo masculino (60,5%) y edad media 11.1 años (SD 3.9). Se clasifican en 3 grupos: niños sanos o control (n = 12), niños con EH no esplenectomizados (n = 13) y niños con EH y esplenectomía (n = 13). Los agregados leucocito-plaqueta y monocito-plaqueta varían en los grupos, con diferencias estadísticamente significativas (Tabla 1). Al comparar con el grupo sano, los agregados leucocito-plaqueta se duplican en el grupo EH, y triplican en el grupo EH con esplenectomía (Figura 1). El aumento de concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) y del número de plaquetas se correlaciona significativamente ($p < 0,05$) con mayor formación de agregados leucocito y monocito-plaqueta. La regresión lineal múltiple ajustada por número de plaquetas y leucocitos, muestra un incremento significativo de agregados leucocito-plaqueta en ambos grupos con mayor aumento en el grupo esplenectomizado y relaciona por cada incremento de 100.000 plaquetas/ml, un aumento del 2,2% de agregados leucocito-plaqueta ($p < 0,05$).

Tabla 1.

	Agregados leucocito-plaqueta (%)	Agregados monocito-plaqueta (%)
Sanos	7.2 (SD 4.1)	26.4 (SD 24.4)
EH	14.4 (SD 4.6)	54 (SD 22)
EH+Esplenect	20.1 (SD 5.4)	57.9 (SD 13)

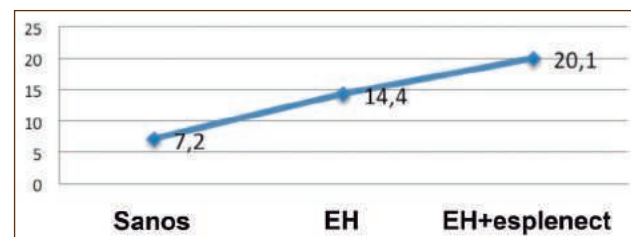


Figura 1. Agregados leucocito-plaqueta (%).

Conclusión: La activación plaquetar aumenta en los niños con esferocitosis hereditaria respecto a los controles, siendo mayor el incremento en los esplenectomizados y en relación con el grado de trombocitosis postesplenectomía.

Los agregados leucocito-plaqueta y monocito-plaqueta pueden ser un marcador biológico del riesgo tromboembólico en pacientes con EH.

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

Pósteres

Diátesis hemorrágica

PC-385 Estudio retrospectivo de la práctica clínica habitual de la hemofilia A y B en dos centros de España

Álvarez Román M. T. (1), Parra López R. (2), Jiménez Yuste V. (1), Altisent Roca C. (2), Myrén K.-J. (3), Osterling Koskinen L. (3), Moreno González M. L. (4), Lethagen S. (3)

(1) Servicio de Trombosis y Hemostasia. Hospital Universitario La Paz. Madrid, España. (2) Unidad de Hemofilia. Hospital Vall d'Hebron. Barcelona, España.

(3) Sobi. Estocolmo, Suecia. (4) Sobi. Madrid, España

Introducción: La práctica clínica de la hemofilia varía significativamente entre diferentes pacientes, países y regiones, y a menudo sus datos de tratamiento son incompletos, dificultando la asignación de recursos sanitarios.

Objetivo: El objetivo del estudio fue informar sobre la práctica clínica con FVIII/FIX durante 12 meses en pacientes con hemofilia A (HA) o hemofilia B (HB) previamente tratados en dos centros en Madrid y Barcelona.

Métodos: Este estudio fue parte de uno mayor observacional, retrospectivo de 12 meses que exploraba la práctica clínica y el uso de concentrados de factor en HA y HB, en varios países europeos. Para España, los datos anonimizados fueron recogidos de las historias clínicas. Se registraron datos de varones de todas las edades en tratamiento con factor los 24 meses anteriores a la inclusión, con niveles basales de FVIII/FIX = 5 IU/dl y sin inhibidores. Los datos se presentan de forma descriptiva.

Resultados: Se incluyeron 248 pacientes con HA y 45 con HB en el análisis de población para España; 83,1% y 60% presentaban hemofilia grave (FVIII/FIX < 1 IU/dl) respectivamente, de los cuales 68,4% y 44,4% estaba en profilaxis. Solo 11,9% de los pacientes con HA moderada seguía profilaxis. El 87,4% de los pacientes con HA menores de 20 años seguía tratamiento profiláctico, y el 41,2% de los = 20 años. Aunque el tratamiento a demanda fue el más común entre los pacientes con HB, todos aquellos con HB grave y menores de 20 años estaban en profilaxis. Los factores VIII/IX recombinantes fueron usados por el 80,6% y el 68,9% de los pacientes con HA o HB, respectivamente. Los pacientes en profilaxis y los más jóvenes utilizaban, proporcionalmente, más productos recombinantes. La dosis media (DE) prescrita semanalmente a pacientes en profilaxis con HA grave fue 93,8 (51,0) UI/kg y 75,3 (22,9) UI/kg para aquellos con HA moderada en profilaxis. La dosis media (DE) más alta prescrita se observó en los pacientes con HA grave menores de 12 años, 115,0 (67,1) UI/kg/semana, disminuyendo las dosis según aumentaba la edad; 79,3 (31,4) UI/kg/semana en el grupo de edad = 40 a < 60 años. La dosis media (DE) prescrita semanalmente a los pacientes con HB grave en profilaxis fue 63,6 (25,7) y 67,3 (17,4) UI/kg para los pacientes con HB moderada en profilaxis. La profilaxis se administró en días alternos o tres veces por semana a un 71,2% de los pacientes con HA. La mayoría (84,2%) de los pacientes con HB en profilaxis fueron tratados dos veces por semana.

Conclusiones: Estos datos proporcionan una visión actualizada de la práctica clínica de los pacientes con hemofilia en

dos centros españoles. La mayoría de los pacientes menores de 20 años seguía tratamiento profiláctico, mientras que el tratamiento a demanda fue más común en edades superiores y en pacientes con hemofilia moderada. El mayor consumo de factor se observó en niños menores de 12 años con HA. El tratamiento en días alternos o tres veces por semana en HA y dos veces por semana en HB fue el más habitual para los pacientes en profilaxis.

PC-386 Esplenectomía en el tratamiento de la PTI: incidencia de respuestas, complicaciones precoces y tardías. Estatus vacunal. Experiencia de un centro

Gómez del Castillo M. C., Salido Toimil F., Fernández Docampo M., López Fernández M. F.

Complejo Hospitalario Universitario A Coruña. A Coruña

Introducción: El tratamiento de la púrpura trombocitopénica idiopática (PTI) en primera línea son los esteroides, pero las recaídas son frecuentes. La esplenectomía es un tratamiento eficaz, pero conlleva riesgos asociados a la cirugía y complicaciones trombóticas, hemorrágicas e infecciosas.

Objetivo: Analizar las complicaciones relacionadas con la esplenectomía y el estatus vacunal antes y después de la cirugía.

Métodos: Se realizó un análisis retrospectivo de los pacientes esplenectomizados en nuestro centro entre 1983-2016. Se observó con especial atención la técnica quirúrgica utilizada, la incidencia y tipo de complicaciones (precoces y tardías), el estatus vacunal antes y después del procedimiento y la respuesta de la PTI al tratamiento quirúrgico (definida según la guía española de diagnóstico y tratamiento de PTI).

Resultados: Se realizaron 27 esplenectomías con una media de tratamientos previos recibidos de 1,87. La media de edad de los pacientes en el momento de realizar la esplenectomía fue de 35,6 años (12-65). Se realizaron mediante laparotomía 13 procedimientos (48,1%) y por laparoscopia 14 (51,8%). Nueve pacientes (33,3%) presentaron complicaciones infecciosas, hemorrágicas o trombóticas. Estas complicaciones se presentaron más en pacientes esplenectomizados por laparotomía (38,6%) que por laparoscopia (14,2%). Las complicaciones más frecuentes fueron las infecciosas (55,5%): meningitis neumocócica, sepsis por *Capnocytophaga*, abscesos subfrénicos y neumonía. Seguidas por las complicaciones hemorrágicas (33,3%): hematoma en lecho esplénico, hematoma de pared abdominal, laceración esplénica. Hubo un éxitus por TEP. El 69,2% (18) de los pacientes estaba vacunado frente a todos los encapsulados antes de la esplenectomía, frente al 11,5% que no lo estaba frente a ninguno y el 7,69% que lo estaba solo frente a *Haemophilus influenzae*. Existe un 11,5% de pacientes de los que no se conocía el estatus vacunal. El 46,1% de los pacientes (12) mantuvo la vacunación completa tras la esplenectomía, frente al 19,2% (5) que solo estaba vacunado frente a alguno de los encapsulados y al 26,9% que no mantenía la vacunación después del procedimiento. Hay un 7,6% de los pacientes en los que se desconoce el estatus vacunal después de la esplenectomía. Finalmente, se observó una incidencia de respuestas completas del 65,3%, respuestas parciales de 15,3% y no hubo respuesta en el 19,2% de las esplenectomías.

Conclusiones: Hubo más frecuencia de complicaciones en las esplenectomías por laparotomía (38,6%), siendo la complicación más frecuente la infección local (precoz) y por encapsulados tardíamente. La mayoría de los pacientes (69,2%) estaba vacunado frente a encapsulados antes de la esplenectomía. Sin embargo, solo mantenía este estatus posteriormente un 46,1%. De hecho, el 26,9% de los pacientes esplenectomizados no realizó ninguna actualización del calendario vacunal y el 19,2% solo se vacunó frente a alguno de los encapsulados. Por lo tanto es posible prevenir una parte importante de las complicaciones infecciosas tardías insistiendo en la vacunación. La incidencia de respuestas completas fue del 65,3%, similar a la descrita en otras series.

PC-387 Actitud terapéutica en el parto y puerperio en una cohorte de 15 mujeres diagnosticadas de enfermedad von Willebrand (EvW) tipo 2A

Celis M., Pérez-Montes R., García-Ávila S., Cuesta A., González-Mesones B., Núñez J., López-Pereira B., Sánchez-Escamilla M., Casado A., Conde E.

Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander

Objetivo: Evaluar la actitud terapéutica y eventos hemorrágicos durante el parto y puerperio en un grupo de 15 mujeres afectas de EvW tipo 2A.

Material y métodos: Analizamos un grupo de 15 mujeres con EvW tipo 2A y se revisaron retrospectivamente los datos relativos a 29 partos y 3 abortos desde 1968. Se recopilaban datos en relación al modo de parto (vaginal, 25 o cesárea, 4), hemorragias primarias (< 24 h) y secundarias, uso de hemoderivados, DDAVP y CFVIII, así como niveles de FVIII, FvW:RCo, FvW:Ag basales y preparto.

Resultados: Todas las pacientes tienen niveles basales de FvW:RCo inferiores a 25 UI/dl. Se produjeron complicaciones hemorrágicas en 13/25 (52%) de los partos vaginales evaluados y en una cesárea (1/4, 25%). De ellas fueron primarias 5 (17%), y secundarias 9 (31%). Todas las hemorragias acontecieron en mujeres sin diagnóstico de EvW, ni premedicación hemostática, excepto en dos que habían recibido premedicación con crioprecipitados. En 7 casos fue necesario transfundir concentrados de hemafés. Recibieron premedicación hemostática con CFVIII ricos en FvW 2 pacientes (2 partos), sin complicación hemorrágica. El resto de los partos 10/25 (40%) y las 3 cesáreas restantes no recibieron premedicación hemostática, ni tuvieron sangrado relevante. En este grupo, 6 partos en mujeres sin diagnóstico, y 7 con diagnóstico y niveles de FvW:RCo preparto superior a 50 UI/dL. Hubo hemorragia mayor en 2/3 abortos, aunque solo un caso requirió transfusión de CH.

Conclusiones: Las complicaciones hemorrágicas en partos y abortos son frecuentes en pacientes con EvW tipo 2A. En nuestra serie la mayor parte de las hemorragias ocurrieron en pacientes sin diagnóstico de coagulopatía, y por tanto sin premedicación hemostática. Por otro lado dentro de los pacientes diagnosticados, la mayoría (7/11) no precisó terapia profiláctica, con niveles de FvW:RCo superiores a 50 UI/dl y sin sangrados relevantes. En las últimas décadas la morbilidad en este contexto ha descendido en

base a mejoras diagnósticas, estrecho seguimiento y más adecuado manejo de la profilaxis antihemorrágica.

PC-388 Déficit de factor XI: ¿infrecuente o infradiagnosticado?

Fernández Mellid E., Fontanes Trabazo E., Arija Tejero O., Calviño Suárez M., Lorenzo Vizcaya Á., Varela Pérez M., Sánchez Sánchez M. J., Ferrero Díaz S., López González L., Vázquez Fernández R., Cobas Freire Á., Lavilla Rubira E., Arias Sanpedro J. A.

Hospital Universitario Lucus Augusti. Lugo

Introducción: El déficit de factor XI (DFXI) es una coagulopatía congénita infrecuente, en la que no hay una clara correlación entre los niveles de factor y la clínica hemorrágica, que se asocia además con eventos trombóticos en determinadas situaciones. Realizamos una descripción de los pacientes (pacs) con DFXI identificados en nuestro centro.

Método: Revisión del historial de pacs con DFXI con distintos niveles de severidad. Se ha valorado la clínica hemorrágica según el *Bleeding Score* (BS) empleado para enfermedad de Von Willebrand (EvW), considerando sangrado significativo una puntuación mayor o igual a 3.

Resultados: Se recogen 30 pacs con DFXI, 11 varones y 19 mujeres, con una mediana de edad al diagnóstico de 37,5 años (rango: 1 mes-84 años). Mayoritariamente fueron identificados a raíz de estudio familiar (16), seguido por estudio de TTPA alargado (12), y solo en 2 pacs por clínica hemorrágica. Presentan déficit severo (FXI coagulativo 1-20%) 6 pacs, moderado (FXI 20-70%) 20 pacs y niveles de FXI por encima de 70% 4 pacs. En cuanto al BS, es significativo en 10 pacs (rango 3-13 pts) y de ellos solo 3 presentan datos de sangrado mucoso espontáneo. Por otro lado, 5 pacs presentaron sangrado post-quirúrgico, 4 de ellos con BS = 6. Destaca que solo se realizó screening de déficit de IgA en 11 de los 30 pacs. No se identificó ningún inhibidor de FXI y ni tampoco déficits combinados asociados, salvo una paciente con antecedentes familiares de EvW. El estudio genético de DFXI fue realizado en 20 pacs (Banc de Sang i Teixits, Barcelona), siendo las alteraciones evidenciadas todas sustituciones, salvo un codón de parada, y los exones del cromosoma 4 implicados: 3, 5, 6, 8, 9 y 11. Tres pacs son dobles heterocigotos (5+11, 11+6, 5+8) y 2 pacs son homocigotos para el exón 11 y 5 respectivamente. Recibieron profilaxis 10 pacs, presentando reacciones infusionales a PFC 2 de ellos, un varón con DFXI moderado y una mujer con DFXI severo, ambos dobles heterocigotos. En cuanto a las manifestaciones trombóticas, se identificaron 2 eventos de cardiopatía isquémica (2 pacs con DFXI moderado), 1 accidente isquémico transitorio (con DFXI moderado) y 3 abortos (1 DFXI severo y 2 moderados). Fueron en total 26 gestaciones en 19 mujeres (3 con DFXI severo, 13 moderado y 3 leve), sin registrarse complicaciones hemorrágicas, aunque al menos en 1 caso con DFXI severo se preparó con PFC durante el expulsivo.

Conclusiones: Se confirma discrepancia entre nivel de FXI y BS. La profilaxis prequirúrgica fue efectiva en nuestros pacs, recordar realizar *screening* de Ig A. Llama la atención la asociación entre reacciones transfusionales y dobles heterocigotos en nuestra serie.

PC-389 Caracterización del síndrome anticoagulante lúpico-hipoprotrombinemia mediante tromboelastometría y citometría de flujo

Carreño Gómez-Tarragona G. (1), Fernández Bellos I. (2), Justo Sanz R. (2), Gómez Rojas S. (1), Castro Quismondo N. (1), Monzón Manzano E. (2), Butta N. (2), Pérez Segura G. (1), Martínez Velandia A. M. (2), Zafra Torres D. (1), Meijón Ortigueira M. M. (2), Díaz Rueda T. (1), Moliz Córdón C. (3), Rivas Pollmar I. (2), Martín Salces M. (2), Álvarez Román M. T. (2), Jiménez Yuste V. (2), Martínez López J. (1)

(1) Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid. (2) Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario La Paz. Madrid. (3) Servicio de Nefrología. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid

Introducción: El síndrome de anticoagulante lúpico-hipoprotrombinemia (LAHS) es un trastorno caracterizado por el déficit adquirido de protrombina (FII) junto a la presencia de anticoagulante lúpico (AL). Clínicamente se caracteriza por la diátesis hemorrágica aunque se han descrito casos de trombosis. El inhibidor del FII no produce inactivación de la protrombina sino que aumenta su aclaramiento. No existe consenso sobre cuál es el mejor tratamiento o sobre el manejo de la hemorragia grave en estos pacientes.

Objetivo: El objetivo de este trabajo es describir la hemostasia en LAHS empleando técnicas viscoelásticas y determinando la función plaquetaria por citometría de flujo, algo no descrito previamente en la literatura.

Métodos: Se estudiaron dos pacientes previamente diagnosticados de LAHS. Se dosificaron los factores de la coagulación (SynthAFax) y el AL. La función plaquetaria se evaluó por citometría de flujo (CMF, FACScan, BD Biosciences) determinando la unión de PAC1, anticuerpo que solo reconoce la forma activa del receptor de fibrinógeno, y la cinética de formación del coágulo mediante tromboelastometría rotacional (ROTEM®, condiciones inTEM y exTEM). Con el ROTEM® se determinó la respuesta *ex vivo* a FVII recombinante activado (rFVIIa) (1 y 3 mcg/ml, equivalentes a 90 y 270 mcg/kg), a concentrado de complejo protrombínico activado (CCPa) (0,3 y 0,6 UI/ml, equivalentes a 50 y 100 UI/kg) y a concentrado de complejo protrombínico (CCP) (0,3 y 1 UI/ml, equivalentes a 50 y 150 UI/kg).

Resultados: Ambos pacientes tenían AL, TTPA alargados y déficit de FII aunque uno de ellos en rango hemostático (paciente 2). Ambos pacientes tuvieron tiempos de coagulación (CT) alargados en inTEM, perfil tromboelastográfico característico de pacientes con AL, pero solo el paciente 1 (FII = 19%) lo presentaba en exTEM, test sensible a deficiencias de factores de la coagulación de la vía común como el FII (Tablas I y II).

Se realizaron pruebas *ex vivo* en condición exTEM en muestras del paciente 1 utilizando distintos concentrados de factores (rFVIIa, CCPa y CCP) no observándose respuesta a ninguno de ellos (Tabla II). Las plaquetas de ambos pacientes mostraron menor capacidad de activación del receptor de fibrinógeno (unión de PAC1) tras estimulación con TRAP 100 microM y ADP 10 microM siendo el resto de parámetros normales (Tabla III).

Conclusiones: Las pruebas *ex vivo* con ROTEM® mostraron en el paciente 1 una falta de respuesta hemostática a la adición de CCP, CCPa y rFVIIa. Esto contrasta con el mecanismo de acción del inhibidor, ya que la adición de CCP y CCPa debería corregir

Tabla I. Estudio coagulación y hemograma de los dos pacientes con LASH

	Paciente 1	Paciente 2
Tiempo de Protrombina (8.5-13.8)	19,1 s	12,5 s
Actividad de Protrombina (75-140)	50%	88%
INR (0.80-1.20)	1,63	1,08
TTPA (26-39)	88,6 s	63 s
Mezcla TTPA inmediata	84,6 s	55 s
Fibrinógeno Clauss (200-450)	540	442
Tiempo de Trombina (14-22)	15,2 s	14,7 s
Factor II (65-130)	19%	43%
Factor V (65-130)	87%	101%
Factor VII (65-130)	105%	106%
Factor X (65-130)	88%	67%
Factor VIII (60-150)	18%	26%
Factor IX (60-130)	9%	19%
Factor XI (60-130)	5%	17%
Factor XII (60-130)	12%	23%
Anticoagulante Lúpico	+	+
TTPA (SynthAFax)	74,7 s	43,8 s
Factor VIII (SynthAFax)	123%	80%
Factor IX (SynthAFax)	122%	72%
Factor XI (SynthAFax)	97%	86%
Factor XII (SynthAFax)	78%	66%
Factor II mezcla	55%	69%
Plaquetas (140-450)	123x10 ⁹ /L	83x10 ⁹ /L
Hemoglobina (13-16.8)	10,0 g/dl	13,2 g/dl
Leucocitos (4000-11300)	7000/μl	5600/μl

Tabla II. Datos ROTEM®

ROTEM®	CT (s)	CFT (s)	MCF (mm)
inTEM PACIENTE 1 BASAL	452	91	73
inTEM PACIENTE 2 BASAL	282	97	57
exTEM PACIENTE 1 BASAL	173	55	71
exTEM PACIENTE 2 BASAL	75	104	56
exTEM PACIENTE 1 CCPa 0,3 UI/ml	183	61	68
exTEM PACIENTE 1 CCPa 0,6 UI/ml	178	64	66
exTEM PACIENTE 1 rFVIIa 1 mcg/ml	167	59	69
exTEM PACIENTE 1 rFVIIa 3 mcg/ml	163	61	78
exTEM PACIENTE 1 CCP 0.3 UI/ml	178	71	67
exTEM PACIENTE 1 CCP 1 UI/ml	162	112	62

CCPa: concentrado de complejo protrombínico activado; rFVIIa: factor VII recombinante activado; CCP: concentrado de complejo protrombínico.

Tabla III. Estudio por citometría de flujo de la función plaquetaria (controles = 6)

Mfx% of VIS	Media Controles	Desviación estándar controles	Paciente 1	Paciente 2
PAC-1 BASAL	13,2	5,0	8,2	19,9
PAC-1-TRAP	4.200,1	1.804,1	185,2	1.231,2
PAC-1-ADP	5.841,8	2.392,2	2.181,4	3.037,5
P-SELEC BASAL	433,6	273,2	222,3	291,4
P-SELEC-TRAP	5.829,4	1.019,5	4.364,7	5.756
P-SELEC-ADP	2.090,6	437,4	2.066,5	1.475,8
CD63-TRAP	2.070,2	1.185,8	2.440,7	3.881,7
CD41-PE	35.540,6	6.467,3	33.756,1	35.012,1
CD61-FITC	15.833,1	6.426,1	20.593,3	24.655,2
CD42a	22.793,4	4.444,5	19.017,2	24.630
CD42b	14.427,4	2.595,8	12.796,4	21.385,6

Mfx% of VIS: fluorescencia media x porcentaje de células positivas para el marcador;
PAC-1: GP IIb/IIIa activada; TRAP: *thrombin receptor activating peptide*.

el defecto hemostático al aportar FII. Este hecho podría explicarse por la trombocitopatía observada en el paciente y/o porque las condiciones utilizadas en el ROTEM® no sean las adecuadas para monitorizar la respuesta a CCP, CCPa y rFVIIa en este tipo de pacientes.

La transfusión de plaquetas podría tener un papel en caso de hemorragia dada la menor capacidad de activación del receptor de fibrinógeno observada en estos pacientes.

PC-390 Púrpura trombocitopénica idiopática: seguimiento de pacientes en tratamiento con agentes trombopoyéticos como segunda línea de tratamiento. Incidencia de efectos adversos, complicaciones hemorrágicas y tipos de respuesta

Meijón Ortigueira M. M., Álvarez Román M. T., Sánchez Vadillo I., Rivas Pollmar I., Reguera Ortega J. L., de Soto Álvarez T., Martínez Velandia A., Goyanes Martín I., Martín Salces M., Jiménez Yuste V.

Hospital Universitario La Paz. Madrid

Introducción y objetivos: Los agentes trombopoyéticos (TRA), eltrombopag y romiplostim, son fármacos utilizados en el tratamiento de la púrpura trombocitopénica idiopática (PTI) crónica. El objetivo de este trabajo es presentar los resultados del seguimiento de una serie de 31 pacientes tratados con TRA en nuestro centro entre 2013-2015.

Material y métodos: Se han analizado 31 pacientes (13 varones/18 mujeres) con una mediana de edad de 62 años (16-88 años) en seguimiento en nuestro centro en un periodo de 36 meses. El 87% han recibido tratamiento previo únicamente con corticoides/inmunoglobulinas IV (IGIV) y el 13% dos o más líneas. Un 13% han sido esplenectomizados. El 16% han presentado episodios hemorrágicos de carácter leve en los 12 meses previos al inicio de tratamiento con TRA.

Resultados: Nuestros pacientes inician tratamiento con eltrombopag a 50 mg/d con una cifra media de 23.000/mcl plaquetas. El 45% han precisado incremento de dosis a 75 mg/d. La duración del tratamiento oscila entre 2 y 45 meses. Durante el seguimiento se ha documentado un caso de toxicidad hepática leve, con resolución tras la interrupción del tratamiento, dos casos de toxicidad gastrointestinal, uno de carácter leve y otro moderado, precisando este último de un periodo breve de hospitalización para tratamiento de soporte y un caso de IAM que requiere la suspensión del fármaco. Un 19% han presentado episodios hemorrágicos leves. En un 61,3% se ha objetivado respuesta completa, un 22,6% respuesta parcial, un 9,7% falta de respuesta y un 6,4% pérdida de respuesta. Los dos últimos grupos inician tratamiento con un segundo TRA (romiplostim), con una cifra media de 25.300/mcl plaquetas, a dosis de 3 mg/kg/s (1 de los casos: 1 mg/kg/s), con una dosis máxima de 10 mg/kg/s, durante un periodo de 1 a 26 meses. En un 33,3% (n = 2) se ha objetivado respuesta completa y en un 16,7% (n = 1) respuesta parcial. No reacciones adversas documentadas. El 9,6% se ha considerado no respondedor tras recibir tratamiento con ambos agonistas, sin mejoría. Han recibido medicación concomitante durante su seguimiento (IGIV/corticoides) solo aquellos pacientes con cifras de plaquetas menores de 20.000/mcl y manifestaciones hemorrágicas (32,2%).

Conclusiones: Los TRA se encuentran actualmente indicados en pacientes adultos con PTI crónica. En algunos casos pacientes que no responden a un TRA pueden tener buena respuesta al otro agonista. Constituyen por tanto una alternativa de alta eficacia, con un bajo perfil de toxicidad y cuyo empleo es cada vez más frecuente en la práctica clínica.

PC-391 Actitud terapéutica ante cirugía mayor en una cohorte de 32 pacientes con diagnóstico de enfermedad von Willebrand (EvW) tipo 2A

García-Ávila S., Pérez-Montes R., Celis M., González-Mesones B., Cuesta A., Núñez J., Ormazábal I., Casado A., Sánchez-Escamilla M., Conde E.

Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander

Objetivo: Evaluar la hemorragia y actitud terapéutica ante intervenciones quirúrgicas mayores en una cohorte de pacientes diagnosticados de EvW tipo 2A.

Material y métodos: Analizamos un grupo de 32 pacientes con EvW tipo 2A (14 varones/18 mujeres) y se revisaron retrospectivamente los datos relativos a 35 intervenciones quirúrgicas (4 apendicectomías, 1 tiroidectomía, 8 cirugías ginecológicas, 1 uro-

lógica, 6 traumatológicas, 7 de área ORL, 6 de tubo digestivo, 1 herniorrafia y 1 craneotomía descompresiva).

Resultados: En el 94% (33/35) de las cirugías evaluadas los pacientes recibieron premedicación hemostática. La mayoría con DDAVP (15/33, 45%), con crioprecipitado en aquellas cirugías previas a 1990 (7/33, 21%) y resto (11/33, 33%) con concentrados de FVIII ricos en FvW (CFVIII). Solo se produjeron 2 complicaciones hemorrágicas postoperatorias, que requirieron la transfusión de concentrado de hemáties. Un paciente sin premedicación, y con posterior diagnóstico de la coagulopatía y otro paciente con mala respuesta tras DDAVP que respondió a CFVIII. En todos los pacientes los niveles basales de FvW:RCo fueron inferiores a 25 UI/dl. Se alcanzaron niveles precirugía de FvW:RCo superiores a 50 UI/dl en todas las premedicaciones con CFVIII, y en 8/15 (53%) de las premedicaciones con DDAVP. Estos últimos alcanzaron niveles de FVIII, mediana de 73 UI/dl.

Conclusiones: En algunos trabajos se advierte de la pobre respuesta hemostática al DDAVP en pacientes diagnosticados de EvW tipo 2A. Un 42% de los paciente de nuestra serie (15/35) fueron premedicados con DDAVP con buena respuesta clínica, y tratándose en todos los casos de cirugías de moderado riesgo hemorrágico (2 apendicectomías, 3 cirugías digestivas, 3 ginecológicas, 4 traumatológicas y 3 de área ORL). Solo en un caso se objetivó fracaso terapéutico que finalmente respondió a CFVIII. Las cirugías de elevado riesgo hemorrágico y niños menores de 3 años, recibieron de entrada CFVIII.

PC-392 Estudio de la idoneidad de uso del complejo protrombínico para la reversión del efecto anticoagulante de los antivitaminas K en situaciones de sangrado vital

Cerezo-Manchado J. J., García-Ramírez J. D., Salazar-Rosa V., García Candel F., Berenguer Piqueras M., Cabañas Perianes V., Salido Fiérrez E., Pérez López R., Labbadia F., Moya Arnao M., Sánchez Salinas A., Blanquer Blanquer M., Monserrat Coll J., Rosique P., Moreno M. J., García-Hernández A. M., Muñoz Esparza C., Martínez Marín A., Gómez Espuch J., Rubio Tejero A., Ramón Mitat A., Moraleta Jiménez J. M.

Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. IMIB-Arrixaca. Universidad de Murcia. Murcia

Introducción y objetivo: El manejo de los pacientes con una hemorragia grave cuando están en tratamiento con antagonistas de vitamina K (AVK) es un reto clínico común en nuestro medio siendo la frecuencia de alrededor de un 0,8% pacientes-año. Los concentrados de complejo de protrombínico (CCP) proporcionan una rápida reversión de la coagulopatía inducida por los fármacos AVK. Sin embargo, actualmente, aún no existe una estrategia única de dosificación de CCP, ni si quiera para situaciones de emergencia, aunque si distintas guías de las sociedades científicas como orientación para su manejo (1). Por este motivo se propuso realizar una revisión sistemática de su uso en nuestro hospital para describir la actuación de los pacientes tratados con CCP.

Métodos: Se realizó un estudio retrospectivo de los pacientes que fueron tratados con CCP en nuestro hospital de 2014 a 2016.

La indicación y dosificación del CCP se realizó según criterio clínico. Las variables principales investigadas fueron: dosis de CCP usada, servicio que lo prescribe, indicación, presencia de hemorragia, complicaciones posteriores y si se consultó con Hematología. Los análisis estadísticos se realizaron con SPSS 21.0 (SPSS Inc., Chicago, IL).

Resultados: Se incluyeron un total de 37 pacientes, 21 hombres (56.8%) y 16 mujeres (43.2%), con una edad media de 70,8 años. La dosis media de CCP usada fue de 1760 UI en una sola dosis, siendo los servicios quirúrgicos los que más lo administraron (75.7%) con Neurocirugía en primer lugar (15 casos). La causa más frecuente de prescripción fue la hemorragia del sistema nervioso central (46%). En el momento de la indicación, en un 40.5% no había evidencia de hemorragia, solo el 5.4% presentaba inestabilidad hemodinámica, y el 19% de los pacientes no estaban anticoagulados. Independientemente del motivo de administración, solo en un 10.8% de los casos se consultó con hematología. Por tanto, según las recomendaciones recogidas en las guías actuales (1), el CCP no estaba indicado en un 48.6% de los pacientes. Cirugía cardiovascular fue el servicio que menos atendió a las recomendaciones. En cuanto a las complicaciones derivadas del CCP, solo se registró una embolia pulmonar (2.7%).

Conclusión: A pesar de haber registrado un elevado número de tratamientos administrados fuera de indicación, esta se ha revelado segura. Sin embargo, se hace necesario realizar una mayor educación farmacológica, haciendo hincapié en aquellos servicios que menos atienden a las indicaciones pautadas.

Bibliografía

1. Guyatt, et al. Executive summary: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis. 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. American College of Chest Physicians Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis Panel. Chest 2012;141(2 Suppl):7S-47S.

PC-393 Utilidad de una encuesta para la detección precoz de coagulopatías en un servicio de otorrinolaringología pediátrica

Berruero Moreno R. (1), Cardelús S. (2), Calvente Rubio L. (3), Torredadell Burriel M. (3), Dina E. (2), Díaz Anadón Á. (2), Wienberg P. (2), Ruiz Llobet A. (1), Català Temprano A. (1), Rives Solà S. (1), Camós Guijosa M. (3)

(1) Servicio de Hematología y Oncología Pediátricas. (2) Servicio de Otorrinolaringología Pediátrica. (3) Laboratorio de Hematología. Institut de Recerca Pediàtrica. Hospital Sant Joan de Déu. Esplugues de Llobregat, Barcelona

Introducción: El uso de cuestionarios validados como cribado de coagulopatías en pacientes adultos ha sido ampliamente descrito y validado. Existe un cuestionario ideado para la edad pediátrica ("Pediatric Bleeding Score"), pero cuya utilidad es cuestionada por su complejidad y la falta de antecedentes hemorrágicos en niños.

Objetivo: El objetivo principal de este estudio fue la detección precoz de coagulopatía en pacientes pediátricos mediante un

cuestionario simplificado y adaptado a una consulta de otorrinolaringología (ORL).

Material y métodos: Estudio prospectivo en pacientes pediátricos atendidos a lo largo del año 2015 en la consulta de ORL con indicación de adenoidectomía y/o amigdalectomía. Se generó un cuestionario de seis preguntas basado en el ya validado “Pediatric Bleeding Score”, aunque más sencillo y con respuestas tipo sí/no, en el que se valoraban los antecedentes hemorrágicos que requirieron atención médica y/o antecedentes familiares.

Si el resultado era positivo (con dos respuestas afirmativas, o necesidad de atención médica tras un sangrado), el paciente era referido al Servicio de Hematología, quien realizaba un cribado clínico y analítico para descartar las coagulopatías congénitas más frecuentes. Se valoró, además, a aquellos pacientes que presentaron un sangrado relevante durante o después de la intervención quirúrgica programada.

Resultados: Se realizaron un total de 230 encuestas, obteniendo un resultado positivo en siete pacientes. La edad mediana de los pacientes encuestados fue de 5 años [1-18 años]. Ninguno de estos siete pacientes fue diagnosticado de algún tipo de coagulopatía tras la valoración inicial, ni tampoco presentó una complicación hemorrágica durante o después de la intervención. Del total de 1.093 amigdalectomías y/o adenoidectomías realizadas durante el periodo del estudio, 16 pacientes (1,4%) presentaron una hemorragia relevante peri o postoperatoria. La mediana de edad de los niños que sangraron fue de 6 años [3-9 años]. Siete pacientes (0,6%) fueron reintervenidos y tres (0,2%) precisaron soporte transfusional con concentrado de hemáties. De los pacientes que sufrieron una hemorragia postquirúrgica, 15/16 fueron valorados por el Servicio de Hematología. Ninguno había obtenido una puntuación positiva en el cuestionario inicial, pero tras el sangrado, todos los casos tuvieron una valoración positiva para ambos cuestionarios (positiva en cuestionario sencillo y valor = 2 en el “Pediatric Bleeding Score”). En todos ellos se realizó un estudio analítico y únicamente un paciente fue diagnosticado de una enfermedad de von Willebrand. A destacar, este paciente había presentado la caída de la hemoglobina más acusada (5,6 g/dl).

Conclusiones: En nuestra serie, el uso de un cuestionario sencillo no fue útil para detectar pacientes afectados de coagulopatías antes de la intervención, probablemente debido a la falta de antecedentes por la corta edad de los niños. Por lo tanto, creemos recomendable la valoración clínica y analítica de cara a descartar coagulopatías congénitas únicamente en aquellos niños que presentan un sangrado postoperatorio. Nuestros hallazgos sugieren que algunos datos clínicos, como la necesidad de transfusión, podrían servir para orientar la presencia de patología hemorrágica subyacente.

PC-394 Caracterización de la variabilidad polimórfica del gen del vWF en la cohorte del registro PCM-EVW-ES e influencia sobre el fenotipo

Borràs N. (1), Corrales I. (2), Batlle J. (1), Pérez-Rodríguez A. (2), López-Fernández M. F. (3), Cid A. R. (3), Bonanad S. (3), Parra R. (4), Mingot-Castellano M. E. (4), Balda I. (1), Altisent C. (5), Vidal F. (6)

(1) Banc de Sang i Teixits. Barcelona. (2) Vall d'Hebron Institut de Recerca - Universitat Autònoma de Barcelona (VHIR-UAB). Barcelona. (3) Complexo Hospitalario Universitario A Coruña, INIBIC. A Coruña. (4) Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia. (5) Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona. (6) Hospital Regional Universitario de Málaga. Málaga

Introducción: La enfermedad de von Willebrand (vWD) está causada por una alteración cuantitativa o cualitativa de la proteína codificada por el gen del vWF (vWF). La correlación genotipo-fenotipo de esta enfermedad no siempre es concordante, ya que los niveles plasmáticos de vWF (vWF:Ag) se ven influenciados por varios factores como el grupo sanguíneo, la edad, el sexo, el ejercicio, uso de anticonceptivos orales, etc. Asimismo, el vWF es altamente polimórfico y, gracias a la información derivada de las nuevas técnicas de secuenciación masiva (NGS), se han podido identificar variantes en individuos sanos que contribuyen a la variabilidad de los niveles de vWF:Ag y de FVIII:C.

Objetivo: El objetivo de este trabajo consiste en dilucidar el potencial efecto de los polimorfismos del vWF en la modulación del fenotipo de la VWD. Se ha utilizado la información genética de los 480 pacientes incluidos en el registro nacional PCM-EVW-ES. En todos ellos se secuenció el vWF (exones, regiones intrónicas flanqueantes y promotor) mediante un protocolo basado en NGS y puesto a punto en uno de los laboratorios centrales del estudio. A partir de los datos moleculares de la cohorte, se han identificado un total de 20 polimorfismos no sinónimos y 25 polimorfismos sinónimos. Para los estudios iniciales de asociación se han seleccionado los 9 polimorfismos no sinónimos con mayor frecuencia alélica: p.Gln852Arg (0.95), p.His484Arg (0.71), p.Thr1381Ala (0.69), p.Thr789Ala (0.34), p.Val471Ile (0.23), p.Val1565Leu (0.08), p.Asp1472His (0.11), p.Gly2705Arg (0.07), p.Phe2561Tyr (0.05), y p.Asn318Lys (0.05). Estos están en concordancia con los más frecuentes en población española (CIBERER Spanish Variant Server) y población europea (1000G Dataset), pero son discordantes con los más frecuentes en población africana (1000G Dataset). Es destacable que los polimorfismos previamente reportados en población sana afroamericana con efecto sobre los niveles de vWF:Ag y FVIII:C, tienen una frecuencia despreciable o nula en nuestra cohorte y en población europea, por lo que algunos de ellos han sido tradicionalmente considerados responsables de la enfermedad. A pesar de que es complejo evaluar el efecto de los polimorfismos sobre el fenotipo en una cohorte de pacientes con VWD, se ha iniciado el estudio de los arriba indicados en conjuntos de pacientes con características moleculares homogéneas, como por ejemplo, pacientes tipo 1 sin mutación o pacientes con una misma mutación.

Resultados: Los resultados de este análisis indican una modulación del fenotipo (vWF:Ag, vWF:RCo, FVIII:C y clínica hemorrágica) por parte de determinados polimorfismos. Sin embargo, serán necesarios estudios en profundidad multivariantes para demostrar el valor estadísticamente significativo de estas variaciones.

Conclusiones: En conclusión, debido a la gran variabilidad genética del vWF, es necesario un análisis exhaustivo de las frecuencias de la cohorte a estudiar antes de proceder al estudio del efecto integral de las mutaciones patogénicas y de las variantes polimórficas. Disponer de una cohorte de pacientes muy bien definida clínica y fenotípicamente nos permitirá conocer el efecto real

de los polimorfismos que se traducirá directamente en una mejor comprensión de la fisiopatología de la VWD.

Financiación: MINECO-FIS-ISCHII (PII201494 PII5/01643 y RD12/0042/0053). Baxter BioScience Grant (H13-000845).

PC-395 Trombopenia fetal y neonatal aloinmune: experiencia de un centro

Ferreira G., Sevivas T., Azevedo J., Mendes M. J., Salvado R., Ribeiro L.

Serviço de Hematologia Clínica. Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra. Portugal

Introducción: La trombopenia fetal y neonatal aloinmune (TFNAI) es una enfermedad potencialmente catastrófica. Se caracteriza por la destrucción de las plaquetas (PLQ) fetales o de recién-nacidos (RN) por aloanticuerpos maternos dirigidos contra antígenos humanos plaquetares (HPA) heredados del padre. Clínicamente tiene un espectro amplio, desde formas indolentes hasta hemorragia intracraneal (HIC) fatal. La sospecha diagnóstica es crucial para instaurar precozmente un tratamiento eficaz y para su prevención en embarazos posteriores. La confirmación de esta entidad incluye la determinación de incompatibilidad antígeno plaquetario paterno-materno, detección de aloanticuerpos plaquetarios maternos y el genotipo HPA de los padres.

Objetivos: Caracterizar la población de RN con TFNAI observada en los últimos 3 años en nuestro centro.

Pacientes y métodos: Siete RN con edad gestacional mediana de 38 semanas (mín. 36, máx. 39, DP \pm 1,15), predominio del sexo masculino (M: F 2,5: 1) y ausencia de antecedentes familiares, con TFNAI confirmada. Un RN, sexo masculino, con edad gestacional 37 semanas e historia familiar positiva en la anterior gestación. Todas las gestaciones fueron vigiladas; 2 RN G1P1, 2 RN G2P2, 2 RN G3P3, 1 RN G2P1, 1 G3P2. Observados entre agosto/2013 y abril/2016. Análisis estadístico con *software SPSS20*.

Resultados: *Clínica y recuento plaquetar:* 2 asintomáticos (recuento PLQ medio: 20G/L); 3 con petequias (recuento PLQ medio: 19G/L); 1 con equimosis (recuento PLQ medio: 12G/L) y 1 con hemorragia de la mucosa oral (recuento PLQ medio: 9G/L). La exploración con ultrasonidos transcranianos no mostró señales de HIC. *Anticuerpos:* 3 anti-HLA clase 1; 1 tenía concomitantemente anti-HPA-1a y anti-HLA clase 1; 1 anti-HPA-1a; 1 anti-HPA-3b y 1 anti-HPA 15b. *Tratamiento:* 5 con transfusión PLQ *random* e IGIV. 1 PLQ *random*, IGIV y esteroides. El RN con historia familiar positiva no necesitó tratamiento por tener sido instaurado un régimen terapéutico profiláctico en la madre con IGIV y esteroides. El RN cuya madre hizo profilaxis nació con PLQ 200 G/l. En los otros casos la mediana del tiempo hasta la recuperación completa de recuento plaquetario fue de 148 h (6 días), recuento PLQ medio de 138,71G/l (mín 110; máx. 179; DP \pm 22,42). No se observó ningún efecto adverso de la terapéutica.

Conclusiones: Como se ha descrito en la literatura, las manifestaciones clínicas de TFNAI presentan una gran variabilidad y puede ser provocada por diferentes anticuerpos. En nuestros pacientes la transfusión de PLQ *random* corrigió rápidamente la trombopenia previniendo el desarrollo de complicaciones

hemorrágicas graves, por lo que la consideramos un tratamiento útil cuando no están disponibles *pool* PLQ HPA compatibles. El tratamiento coadyuvante con IGIV/esteroides probablemente ayudó a consolidar el resultado de la terapéutica. La estrecha vigilancia durante el embarazo y el tratamiento profiláctico en el RN con historia familiar, condujo al nacimiento de un RN saludable.

PC-396 Experiencia en el uso de concentrado de complejo protrombínico (Octaplex®) en un centro hospitalario

Gómez Toboso D., Lorente Alegre P., García Navarro I., Medina Á., Cánovas Giménez V., Mas Ochoa C., Alonso Prieto C., Benet Campos C., Carrera Merino M. D., López Chuliá F.

Hospital Arnau de Vilanova. Lleida

Introducción y objetivo: La existencia de una población anti-coagulada cada vez mayor en número y edad asocia un aumento de complicaciones clínicas que obligan a la reversión del efecto anticoagulante. Los concentrados de complejo protrombínico (CCP) son preparados de factores de la coagulación que contienen factores vitamina K. Incluidos en la mayoría de protocolos de manejo de las complicaciones graves asociadas a la terapia anticoagulante, su uso más extendido, incluye el tratamiento urgente de hemorragias mayores con riesgo vital en pacientes tratados con AVK y la reversión urgente del efecto anticoagulante en situaciones con indicación quirúrgica no demorable. El objetivo del presente estudio es analizar la experiencia de uso del CCP (Octaplex®) en situaciones críticas, en términos de eficacia, seguridad y confirmar que se realiza una correcta prescripción del mismo ajustado al protocolo hospitalario.

Material y métodos: Estudio retrospectivo, donde se analizan los pacientes tratados con CCP en el periodo de tiempo comprendido entre enero de 2015 y abril de 2016. Se obtuvieron datos de 57 pacientes tratados con AVK por distintas indicaciones y que presentaron una complicación hemorrágica grave o una complicación clínica con indicación quirúrgica urgente. La dosis administrada de Octaplex® se basó en el cálculo de dosis establecido en ficha técnica.

Resultados: Se analizaron un total de 57 pacientes, 43 tratados en 2015 y 14 en 2016.

Las principales características de los pacientes se resumen en la [tabla I](#):

Tabla I. Características de los pacientes

N.º de pacientes (hombre/mujer)	57 (24/33)
Edad (mediana)	80 (49-93)
Motivo de anticoagulación (FA/valvulopatía/ETV)	(47/4/5)
Mortalidad (%)	12 (2 1)
– Hemorragia intracraneal	7 (58)
– Hemorragia digestiva	3 (25)
– Infección meningea	1 (8)
– Bloqueo AV completo	1 (8)

El motivo que obligó al uso de CCP: reversión para cirugía urgente 13 (22%), hemorragia digestiva 15 (26%), hemorragia intracraneal 17 (30%) y otros sangrados 12 (21%) (Fig. 1).

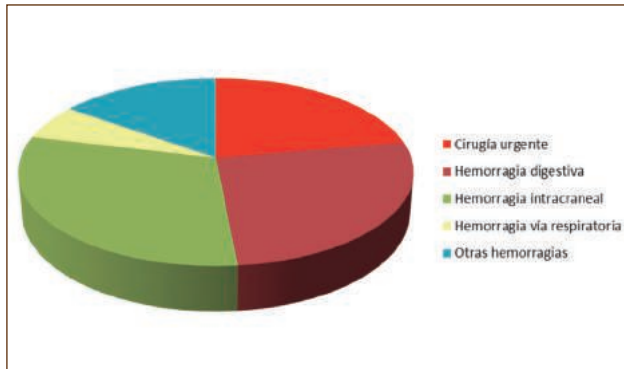


Figura 1. Motivo de reversión.

La mediana de INR previo fue de 3,1 (1,4-26) y del INR post-tratamiento 1,3 (1-2), se consiguió una reversión hasta niveles considerados infraterapéuticos ($\text{INR} \leq 1,5$) en 45 pacientes (78%). De las muertes por causa hemorrágica, 7 casos (70%) fueron secundarias a distintos sangrados intracraneales (HSA, hemorragia intraparenquimatosa) y, si bien la distribución por sexo fue de 5 varones (30%) y 12 mujeres (70%), todos los fallecimientos se produjeron en mujeres ($p = 0,026$). La administración de CCP no asoció ninguna reacción alérgica. En cuanto a su conocido riesgo protrombótico únicamente se describe un evento isquémico cerebrovascular.

Conclusiones: Se confirma que la indicación de uso de CCP se ajustó a las indicaciones recogidas en el protocolo de uso hospitalario, que requiere de la conformidad de hematología, en un intento de supervisar el correcto uso del mismo. La eficacia, en términos de reversión del efecto anticoagulante, fue similar al descrito en la literatura científica. El escaso número de eventos tromboembólicos reflejados confirma un adecuado perfil de seguridad. Las muertes se asociaron a la existencia de complicaciones hemorrágicas graves, se trata de situaciones con un elevado riesgo vital, en las que se requiere una actuación urgente y protocolizada que incluya tratamientos que permitan una rápida administración y una reversión urgente del efecto anticoagulante.

PC-397 Análisis prospectivo de las alteraciones de la hemostasia y efectos secundarios hemorrágicos inducidos por ibrutinib

Vidal R., García Raso A., Córdoba R., Castaño T., Askari E., Pérez M., Llamas P.

Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz. Madrid

Introducción: Ibrutinib es un inhibidor covalente de 1ª generación de la tirosina quinasa de Bruton (TKB), aprobado para el tratamiento del linfoma de células del manto (LCM), leucemia linfocítica crónica (LLC) y macroglobulinemia de Waldenstrom (MW). La TKB se expresa en las plaquetas y se cree que tiene un papel central en la activación de las mismas a través de la vía de GPIb y GPIV. Sin embargo, la importancia clínica de la inhibición de TKB no está claramente definida en cuanto a la aparición de complicaciones hemorrágicas, aunque es conocido que los pacientes con deficiencia congénita TKB no presentan un mayor riesgo hemorrágico.

Objetivos: a) Identificar las posibles alteraciones en la hemostasia causadas por ibrutinib en pacientes que comienzan a tomar el medicamento. Para ello se analizará la hemostasia basal (antes de iniciar el tratamiento) y se repetirá el estudio tras un periodo de tratamiento con el fármaco; y b) recoger la aparición de efectos adversos hemorrágicos en pacientes que comienzan a tomar ibrutinib.

Pacientes y métodos: Estudio prospectivo que incluyó a 11 pacientes con diagnóstico de LCM, LLC o MW tratada en 2ª línea o más, con ibrutinib en monoterapia. Se analizaron los siguientes parámetros en los días 0, 10 y 28 de tratamiento con ibrutinib: TTPA, TP, recuento de plaquetas, PFA-100, agregación plaquetaria en sangre total mediante técnica multiplate con AA, ADP, ristocetina y TRAP como agonistas. También se analizó el factor von Willebrand antigénico (FvW Ag), cofactor ristocetina (Risto-co) y el factor VIII coagulante. Mediante la revisión de la historia clínica electrónica se recogió la aparición de complicaciones hemorrágicas durante el tratamiento.

Resultados: Las tablas I y II muestran para cada paciente el estudio basal de hemostasia (antes de iniciar el tratamiento), a los 10 y a los 28 días de haber iniciado el tratamiento con ibrutinib. Ningún paciente ha presentado complicaciones hemorrágicas severas. Tres pacientes presentaron complicaciones hemorrágicas menores. De estos, 1 paciente recibía tratamiento anticoagulante con dosis intermedias de enoxaparina y otro presentaba niveles bajos de FvW y Risto-co, lo que sugería una posible enfermedad de von Willebrand adquirida, no conocida previamente.

Conclusiones:

- Más del 50% de los pacientes tienen un estudio basal de hemostasia alterado. La biología de la enfermedad parece causar cambios en la hemostasia primaria que confieren un riesgo hemorrágico basal independientemente del tratamiento utilizado.
- Únicamente hemos observado complicaciones hemorrágicas leves. Dos de los 3 pacientes con complicaciones hemorrágicas presentaban otros factores de riesgo de sangrado asociados.
- PFA-100, COL/EPI, está prolongado en casi el 50% de los pacientes tras inicio de ibrutinib en comparación con el estudio basal.
- Se observa una variabilidad interindividual en cuanto a la alteración de la hemostasia y la aparición de clínica hemorrágica.

Tabla I. Resultados de los estudios de hemostasia para los pacientes tratados con ibrutinib en los días 0, 10 y 28 de tratamiento

Pacientes Sexo (edad)	Plaquetas (µL) (150-450 x 103)			TTPA (26-36 s)			TP (10-14 s)			FvW Ag (50-160%)			Co-ristocetina (50-150%)			Diagnóstico	Dosis (mg/24 h)
	D0	D10	D28	D0	D10	D28	D0	D10	D28	D0	D10	D28	D0	D10	D28		
H (62)	170	163	293	31	30	31	11	11	11	168	163	162	116	117	114	LCM	560
H (71)	166	229	161	30	30	31	12	11	11	356	208	209	126	117	121	LLC	560
M (73)	70	46	65	26	28	26	11	11	10	176	131	159	118	116	117	LLC (PTI)	560
H (51)	143	129	150	30	31	33	12	11	11	187	185	171	140	130	130	LCM FA (enoxaparina 100 IU/24 h)	560
H (64)	205	200	211	36	33	38	10	11	11	200	214	219	130	131	150	MW	420
M (53)	134	130	346	27	27	28	10	10	11	196	113	191	113	143	132	LLC	420
M (82)	117	97	33	32	39	37	10	11	12	209	219	219	127	146	48	LLC FA (bemiparina 3.500 IU/24 h)	560
H (54)	77	90	130	30	34	33	11	10	10	100	54	62	32	13	47	LLC	420
M (63)	135	120	108	30	25	32	11	11	12	215	294	195	143	150	47	LCM	560
H (88)	103	116	130	35	34	33	11	11	10	202	208	216	148	134	143	LCM	420
H (55)	196	171	159	30	29	31	12	11	11	185	194	203	145	125	148	LCM	560

Tabla II. Resultados de los estudios de hemostasia para los pacientes tratados con ibrutinib en los días 0, 10 y 28 de tratamiento

Sexo (edad)	Tiempo de obturación (s)						Agregación plaquetaria (AUC)												Complicaciones
	COL/EPI (94-165)			COL/ADP (71-119)			TRAP (92-152)			ADP (79-141)			AA (55-117)			RISTO (65-116)			
	D0	D10	D28	D0	D10	D28	D0	D10	D28	D0	D10	D28	D0	D10	D28	D0	D10	D28	
H (62)	129	217	141	108	107	69	132	107	132	83	65	113	85	91	126	64	49	116	Sin complicaciones
H (71)	94	114	131	83	66	69	88	81	70	33	28	30	69	76	67	60	77	57	Sin complicaciones
M (73)	233	283	234	153	109	141	87	86	76	22	15	27	46	55	46	28	16	9	Sin complicaciones
H (51)	176	256	> 300	105	105	92	113	122	125	48	57	73	87	100	117	88	80	87	Petequias en MMII y glúteos
H (64)	111	108	79	63	86	65	98	82	101	68	61	74	88	77	105	87	75	101	Esquimosis manos y antebrazos
M (53)	230	231	110	157	94	70	8	50	46	4	6	10	9	31	38	6	47	22	Sin complicaciones
M (82)	188	191	142	97	121	149	67	70	17	28	39	5	50	58	38	65	38	3	Sin complicaciones
H (54)	260	186	210	190	192	> 300	16	50	61	4	10	8	15	42	65	14	32	60	Petequias MMII y MMSS
M (63)	136	245	263	86	94	107	2	19		1	9	2	8	36	21	6	6	6	Esquimosis antebrazos y espalda. Hemorragia subconjuntival
H (88)	175	287	258	145	126	83	73	58	66	44	27	37	43	54	63	57	59	67	Sin complicaciones
H (55)	121	> 284	122	80	110	74	132	-	140	92	-	78	84	-	132	93	-	105	Sin complicaciones

PC-398 Estudio descriptivo de enfermedad de von Willebrand adquirido en el Área 1 de Salud de la Región de Murcia

García-Candel F., Cerezo J. J., Moya M., Martínez A., Fernández E., Melero A., Berenguer M., Pérez R., Moreno M. J., Salido E., Funes C., Cabañas V., García Hernández A., Moraleda J. M.

Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia

Introducción: La enfermedad de von Willebrand adquirida (EvWa) es un trastorno de la hemostasia que frecuentemente pasa desapercibida y que puede ser confundida con la enfermedad de von Willebrand congénita. Existen muchos casos infradiagnosticados y existe un amplio espectro clínico y dificultades diagnósticas en el laboratorio. Son alteraciones cualitativas, estructurales o funcionales del FvW, no hereditarias y con aumento del riesgo hemorrágico. Es clave excluir la historia de sangrado en otros miembros de la familia. Es una alteración relativamente infrecuente y suelen estar asociadas a otras alteraciones subyacentes.

Objetivo: Nuestro objetivo es describir los casos de EvWa en nuestra área de salud, enfermedades asociadas y clínica hemorrágica presente al diagnóstico y tratamiento hemostático recibido.

Material y métodos: Hemos registrado de forma retrospectiva 7 casos diagnosticados de EvWa desde 2010 hasta 2016, con una mediana de edad de 69 años (78-7). Se han estudiado los niveles de FvW antigénico (FvW Ag) y cofactor de ristocetina (FvWCoR) en el analizado ACL-TOP 700 CTS (*Instrumentation Laboratory*) y la clínica hemorrágica al diagnóstico.

Resultados: Hemos detectado 7 casos, de los que 4 (57%) estaban asociados a síndromes mieloproliferativos crónicos, siendo más frecuentes los casos con trombocitemia esencial (TE) (2 casos), seguidos por mielofibrosis primaria (1 caso) y otro caso con mastocitosis asociada a leucemia mielomonocítica crónica. Destacar un caso asociado a TE en edad pediátrica que no se asoció a clínica hemorrágica. Los restantes tres casos (43%) estaban asociados a gammopatía monoclonal, dos casos (66%) tipo Ig G y 1 caso (33%) IgA. Al diagnóstico, el 100% de los pacientes presentaban un ratio FvWCoR/FvW Ag descendido. Seis pacientes (85%) presentaban FvW Ag normal. Seis pacientes (85%) tenían FvW CoR menor de 40%. Tres casos (43%) presentaban TTPa alargado. En el momento del diagnóstico, presentaron clínica hemorrágica 4 pacientes (57%) (3 casos [75%] con gammopatía monoclonal y un caso [25%] con mielofibrosis). De estos pacientes, 2 pacientes (50%) presentaron un TTPa alargado al diagnóstico. Los casos de sangrado se trataron con concentrado de FVIII rico en FvW, añadiendo inmunoglobulinas inespecíficas en los casos de GMSI IgG. En el caso de GMSI IgA fue precisa la asociación de plasmaféresis.

Conclusiones: Aunque esta complicación es muy rara, es muy posible que esté infradiagnosticada y adquiere especial importancia la sospecha de esta complicación en los casos de sangrados no explicados en pacientes con patologías potencialmente asociadas. En algunos casos, la normalidad del TTPa no excluye esta complicación. Es muy importante tratar la enfermedad de base y adecuar el tratamiento hemostático al mecanismo productor de la patología hemostática, sobre todo a la hora de asociar inmunoglobulinas inespecíficas (solo útiles en los casos de gammopatías IgG). Se requiere fomentar el registro de esta complicación para conocer el comportamiento de esta patología.

PC-399 Evaluación de sangrado en trastornos de la coagulación utilizando el ISTH-SSC BAT score: experiencia en un hospital central

Silva Azevedo A. P., Ferreira K., Freire I., Gago T.

Servicio de Patología Clínica. Hospital São Francisco Xavier. Centro Hospitalar Lisboa Ocidental. Lisboa, Portugal

Introducción: Un gran número de herramientas de evaluación de la coagulación (*Bleeding Assessment Tools - BATs*) se han desarrollado para estandarizar la historia de sangrado. Una historia personal de hemorragia mucocutánea excesiva es un componente clave en el diagnóstico de una serie de trastornos de sangrado severos, incluyendo la enfermedad de von Willebrand (EvW), trastornos de la función plaquetaria y deficiencias de factores de coagulación.

Objetivo: El objetivo de este estudio fue evaluar la utilidad diagnóstica del ISTH-SSC BAT para los trastornos de la coagulación hereditarios, determinar la incidencia de cada trastorno hemorrágico y la frecuencia de padrón de sangrado respectivo.

Métodos: Se estudiaron retrospectivamente un total de 120 pacientes remitidos a nuestra consulta de coagulación con sospecha de trastorno hemorrágico heredado o hallazgos incidentales en las pruebas de rutina que motivaron investigación, entre 2009 y mayo de 2016. Se utilizó como población de control un grupo de 30 individuos sanos. A todos se les había aplicado el ISTH-BAT.

Resultados: De los 120 pacientes estudiados, 48 tenían un trastorno hemorrágico heredado (16 pacientes con EvW, 14 con déficit de factor XI, 5 con déficit factor VIII, 5 con déficit de factor VII y los restantes con trastornos variados). Entre estos, el número de mujeres es aproximadamente igual a la cantidad de hombres y la edad media fue de 41,5 años, variando entre 1 y 86 años. El ISTH-BAT score fue positivo y se superponen en los varios trastornos de la coagulación identificados; lo de los individuos sanos ha variado entre 0 y 4. La distribución de la frecuencia de patrón de sangrado mostró que los hematomas, epistaxis, menorragias y sangrado en las cirugías son los síntomas más frecuentes de sangrado.

Conclusiones: El patrón de sangrado junto con el BAT score es útil en la discriminación de los diferentes tipos de trastornos hemostáticos. Los pacientes con score bajo/normal, deben ser evaluados para descartar completamente la posibilidad de trastornos de sangrado severos. Por lo tanto, un enfoque estandarizado y cuantitativo, utilizando cuestionarios para calcular los scores de sangrado debe ser evaluado. En este sentido, ISTH-BAT fue útil.

PC-400 Síndrome de Wiskott-Aldrich: 2 casos con diferente tamaño plaquetario y diagnóstico previo de trombocitopenia inmune

Bastida J. M. (1), Benito R. (2), Pérez-Andrés M. (3), Revilla N. (4), Janusz K. (2), del Rey M. (2), Riesco S. (1), González B. (5), Padilla J. (4), Galera A. (6), Bueno D. (5), Hortal A. (1), Blanco E. (3), López-Cadenas F. (1), Vicente V. (4), Hernández-Rivas J. M. (1), Rivera J. (4), González-Porras J. R. (1), Lozano M. L. (4)

(1) Hospital Universitario Salamanca. IBSAL. Salamanca. (2) IBSAL, IBMCC, CIC, Universidad de Salamanca-CSIC. Salamanca. (3) Centro Investigación

Cáncer (IBMCC, CSIC-USAL), IBSAL, y Servicio de Citometría (NUCLEUS). Universidad de Salamanca. Salamanca. (4) Centro Regional de Hemodonación. Hospital Universitario Morales Meseguer, IMIB-Arrixaca. Murcia. (5) Hospital Universitario La Paz. Madrid. (6) Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia

Introducción: La trombocitopenia inmune (PTI) es la causa de trombocitopenia más frecuente en la infancia. El diagnóstico es de exclusión. Las trombocitopenias hereditarias (TH) son un grupo heterogéneo de enfermedades raras que son habitualmente diagnosticadas y tratadas como una PTI. En niños, una de las causas de trombocitopenia que siempre se debe tener presente es el síndrome de Wiskott-Aldrich (SWA). El SWA se caracteriza por la tríada clásica de ecemas, infecciones y microtrombocitopenia. Este último hallazgo permite su diferenciación con otros tipos de trombocitopenia. El objetivo del estudio ha sido establecer el diagnóstico correcto de 2 casos tratados previamente como PTI.

Material y métodos: Presentamos 2 casos con diferente gravedad clínica y hallazgos de laboratorio. *Caso clínico 1:* niño que a la edad de 2 años presenta petequias, equimosis y una cifra de plaquetas $4,1 \times 10^9/l$ y un VPM elevado (20,5 fl). El frotis de sangre periférica mostraba plaquetas gigantes y el aspirado de médula ósea (AMO) una hiperplasia megacariocítica. El paciente se diagnosticó de PTI y fue refractario a 6 líneas de tratamiento. En dos ocasiones requirió un ingreso en UCI por shock hemorrágico. *Caso clínico 2:* niño de 4 años con un recuento plaquetario fluctuante ($40-80 \times 10^9/l$) y un VPM normal (7.9 fl) desde el nacimiento. Durante los procesos infecciosos, llegaba a descender hasta $P < 20 \times 10^9/L$, acompañado de petequias y epistaxis. El frotis y AMO eran sugerentes de PTI por lo que recibió tratamiento estándar con corticoides e inmunoglobulinas, alcanzando respuesta parcial.

Resultados: El ADN extraído de cada paciente fue analizado mediante un panel de 71 genes relacionados con los trastornos plaquetarios hereditarios en una plataforma de Next-generation sequencing mediante la captura de secuencia (Illumina MiSeq). En el primer caso se identificó una nueva microdelección de 1bp (p.Arg268Glyfs*40) en homocigosis en el exón 9 del gen WAS. Se confirmó el estado de portadora de la madre mediante secuenciación convencional. El análisis por citometría de flujo (CMF) mostró la ausencia de expresión de la proteína WAS (WASp) en las células T, en el propósis, mientras que la portadora presentaba un patrón bimodal (heterocigosis). El diagnóstico final fue compatible con una forma clásica de SWA caracterizada por una trombocitopenia grave pero con VPM elevado. A los 4 meses del diagnóstico el paciente fue sometido a un trasplante alogénico de donante no emparentado sin ninguna complicación, con un recuento plaquetario normal y un quimerismo completo. En el segundo caso se identificó una variante genética en el *splicing* (IVS6+5 g>a) en WAS. La expresión de WASp por CMF estaba levemente disminuida, mientras que en la madre mostraba un patrón normal. El caso fue compatible con una forma leve de SWA o trombocitopenia ligada al cromosoma X (TLX), presentando una microtrombocitopenia con respuesta al tratamiento de PTI.

Conclusión: Es importante incluir la sospecha de SWA o TLX en el diagnóstico diferencial de trombocitopenia crónica en niños, incluso en los casos con VPM normal o elevado y que no respon-

dan al tratamiento de PTI. La detección de variantes genéticas nos ayudará a establecer la correlación entre el genotipo y fenotipo de los pacientes, incluso con el VPM.

PC-401 Déficit adquirido de factor XIII y encefalitis autoinmune

Arias Fernández T., Bernardo Gutiérrez Á., Fonseca Mourelle A., Ávila Idrovo L. F., Soto Ortega I.

Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo

Introducción: El déficit adquirido de factor XIII causado por autoanticuerpos es un cuadro raro y grave que suele afectar a pacientes ancianos y puede ser idiopático o asociarse a enfermedades autoinmunes, tumores o tratamientos farmacológicos.

Caso clínico: Mujer de 78 años que acude a urgencias por fiebre de 48 horas de evolución y alteraciones neurológicas de inicio brusco. *Antecedentes:* HTA, fibrilación auricular anticoagulada con AVK, insuficiencia mitral moderada e hipertrofia ventricular izquierda. Se diagnostica de meningoencefalitis vírica e inicia tratamiento con aciclovir. Se suspendió el tratamiento anticoagulante oral y se pautó enoxaparina. Tras tres semanas de tratamiento, sufre empeoramiento neurológico, se confirma una complicación autoinmune postinfecciosa y se inician corticoides e inmunoglobulinas. Un mes después, la paciente presenta anemia brusca (6,7 g/dl de hemoglobina) y hematoma a tensión de miembro inferior izquierdo. Se reduce la dosis de enoxaparina, se drena el hematoma y se liga del punto de sangrado. Siendo normales los parámetros analíticos estudiados en el escrutinio de diátesis hemorrágica, se determinó el nivel de FXIII, que fue del 28%. Se demostró la presencia de un inhibidor frente al factor XIII (1.0 UB) por lo que se suspende la HBPM, se inicia tratamiento con FXIII comercial (15 UI/kg) y se asocia rituximab por su doble efecto frente a la encefalitis y el inhibidor. Recibió 2000 unidades de concentrado de factor XIII con excelente evolución, desaparición del inhibidor y normalización de los niveles de factor XIII. Para el control de la clínica neurológica requirió asociar tratamiento con ciclofosfamida (Figs. 1-3).

Discusión: El déficit adquirido de FXIII por la presencia de un inhibidor es un cuadro muy infrecuente y grave, con clínica hemorrágica grave (espontánea o tras intervenciones quirúrgicas) que puede ser fatal. El diagnóstico puede resultar difícil por la normalidad de los parámetros analíticos de hemostasia habituales. Desde 1967 se han publicado 63 casos en el mundo. Más frecuente en ancianos, la edad es el principal factor de riesgo, probablemente debido a la pérdida de la tolerancia inmunológica. Un 50% de los casos son idiopáticos, el resto se asocia a otras patologías (neoplasias, fármacos o enfermedades autoinmunes). En este caso se diagnostica un déficit adquirido con inhibidor frente al factor XIII en una anciana con encefalitis autoinmune postherpética. El objetivo del tratamiento del déficit adquirido de factor XIII es doble: control del sangrado con concentrado de factor XIII y erradicación del inhibidor con inmunosupresores. La rapidez en el estudio del sangrado, con la confirmación del inhibidor frente al factor XIII, permitió un inicio precoz del tratamiento con concentrado de fac-

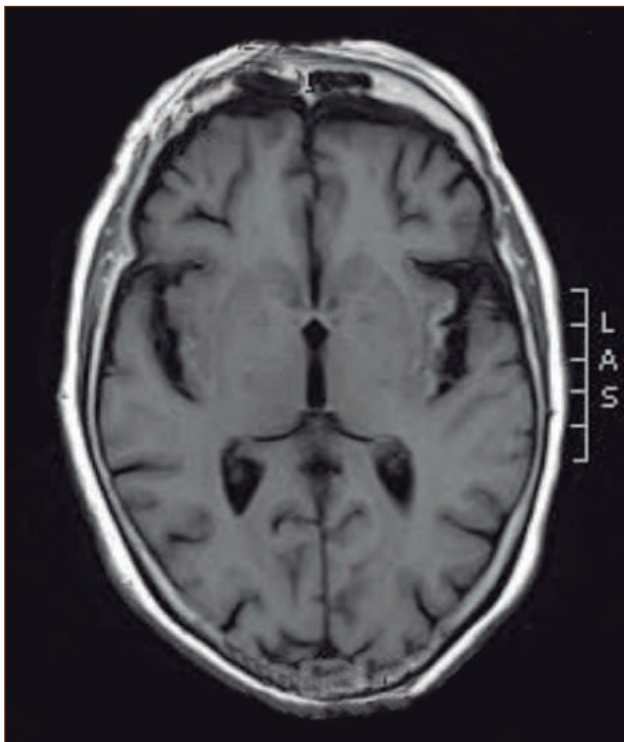


Figura 1.

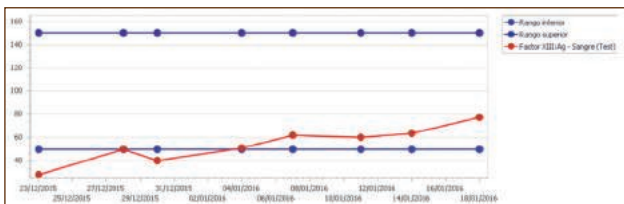


Figura 2.

tor XIII, rituximab y ciclofosfamida. Actualmente se encuentra bajo control ambulatorio, reiniciado el tratamiento anticoagulante oral, con gran mejoría de los síntomas neurológicos y desaparición de la clínica hemorrágica.

Conclusiones: Se debe pensar en un déficit de factor XIII ante un sangrado grave no explicada por otras circunstancias clínicas o analíticas. El éxito del tratamiento radica en la rapidez en el diagnóstico e instauración del tratamiento.

PC-402 Déficit combinado de factor XIII y alfa2-antiplasmina adquirido y asociado a diátesis hemorrágica

Díaz-Polo E. (1), Martín-Fernández L. (2), Caballero A. C. (1), Vilalta N. (1), Ramírez L. (3), Vidal F. (3), Souto J. C. (1)

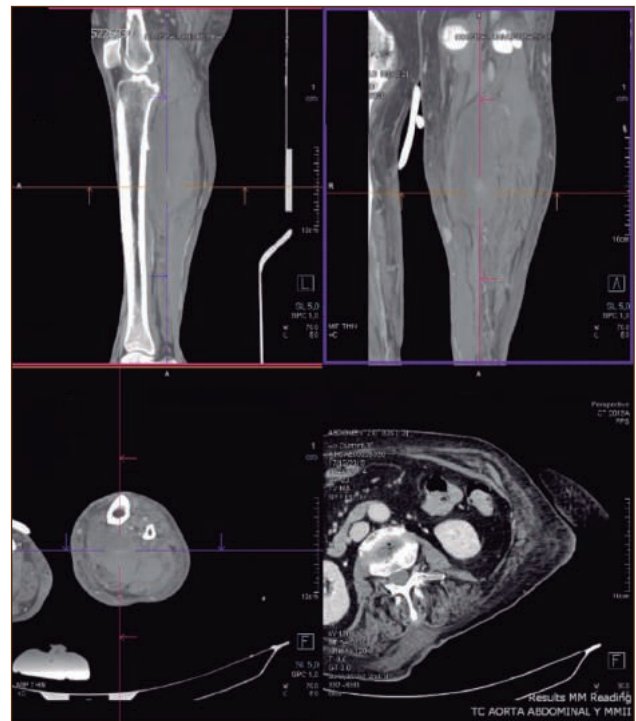


Figura 3.

(1) Unitat d’Hemostàsia i Trombosi. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Institut d’Investigació Biomèdica Sant Pau (IIB-Sant Pau). Barcelona. (2) Unitat de Genòmica de Malalties Complexes. IIB-Sant Pau. Barcelona. (3) Coagulopaties congènites. Banc de Sang i Teixits. Barcelona. Unitat de Diagnòstic i Teràpia Molecular. Vall d’Hebron Institut de Recerca. Universitat Autònoma de Barcelona (VHIR-UAB). Barcelona

Introducción: La deficiencia congénita de factor XIII (FXIII), enzima de la cascada de la coagulación, y la deficiencia congénita del inhibidor de la fibrinólisis alfa2-antiplasmina (a2-AP), son trastornos raros de transmisión autosómica recesiva asociados a diátesis hemorrágica. Por otra parte, la deficiencia adquirida de FXIII está asociada a enfermedades crónicas (renal, hepática), síndromes linfoproliferativos y a algunos fármacos que en general no condicionan sangrado significativo, mientras que el déficit adquirido de a2-AP puede detectarse en pacientes con enfermedad hepática severa, renal, coagulación intravascular diseminada, así como receptores de terapia trombolítica.

Caso clínico: Presentamos el caso clínico de un paciente de 90 años con historia de diátesis hemorrágica asociada a intervenciones quirúrgicas y traumatismos, aparecida desde los 88 años, sin historia personal previa ni familiar de sangrado y con antecedentes de hipertensión, hipercolesterolemia y enfermedad renal crónica estadio III.

Métodos: El diagnóstico clínico se realizó mediante hemograma, estudio bioquímico y estudio hemostático. Además, para el diagnóstico genético se realizó *Next Generation Sequencing* (NGS) mediante *TruSight One Sequencing Kit* (Illumina) en la

plataforma MiSeq (Illumina) y los resultados se analizaron con el programa bioinformático *VariantStudio* (Illumina).

Resultados: El estudio clínico (Tablas I y II) presentaba un filtrado glomerular alterado, relacionado con su enfermedad de base, hiperfibrinólisis, déficit de factor XIII (FXIII) y alfa2-antiplasmina (a2-AP). Se detectaron 9.269 variantes genéticas, entre las cuales no se identificó ninguna mutación causal en los genes candidatos *SERPINF2*, *F13A1*, *F13B*, *PLG*, *FGA*, *FGB* y *FGG*. Además, se estudiaron 1 hija, 2 hermanas y 1 sobrina, que no tenían antecedentes de sangrado excesivo. Todas las determinaciones fueron normales, incluidos los niveles plasmáticos de FXIII y a2-AP.

Conclusiones: Presentamos el primer caso de déficit combinado y adquirido de FXIII y a2-AP, del cual tenemos conocimiento, y probablemente relacionado con la enfermedad renal crónica. El estudio de déficit de factor XIII y a2-AP debería incluirse en la evaluación de trastornos hemorrágicos, cuando se hayan descartado otras causas más frecuentes relacionadas con la coagulación plasmática o la función plaquetaria. El estudio genético mediante técnicas modernas, como NGS, puede ser muy útil para la caracterización clínica de las causas.

Financiación: RD12/0042/0032, RD12/0042/0053 y PFIS F112/00322.

PC-403 Hemofilia a adquirida: experiencia de un centro

Martínez García A. B. (1), Romera Martínez M. (1), Iturbe Hernández T. (1), Gutiérrez-Meca Maestre D. P. (1), García Candel F. (2), Cerezo Manchado J. J. (2), Cabañas Perianes V. (2), Martínez Marín A. (2), Martínez Frances A. (1)

(1) Hospital General Universitario Santa Lucía. Cartagena, Murcia. (2) Hospital General Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia

Introducción: Los casos que nos ocupan tienen en común la aparición de clínica hemorrágica con el hallazgo de un TTPA alargado previamente normal.

Casos clínicos:

Caso clínico 1: Varón de 86 años que en mayo del 2014 consulta por clínica hemorrágica cutánea el último mes y hematuria de 48 horas de evolución. Antecedentes personales (AP): linfoma no Hodgkin en RC desde 1992. Enfermedad de Alzheimer avanzada. No clínica hemorrágica previa. Analítica: TTPA 2.1 confirmado en dos determinaciones. Coagulación previa: TTPA 1.1. Anticoagulante lúpico (AcL) negativo, fibrinógeno normal. Se realiza test de mezcla que no corrige, con alargamiento progresivo de TTPA en test de incubación a los 30-60-90 min. Se confirma factor VIII (FVIII) de 0% y título de inhibidor anti FVIII 104 UB/ml. Dado el estado general del paciente, de acuerdo con la familia se limita la realización de pruebas complementarias y se inicia prednisona (PDN) 1 mg/kg vía oral ambulatoriamente. Evoluciona favorablemente, con resolución del sangrado, normalización del TTPA, negativización de inhibidor y FVIII > 100%, por lo que se reducen corticoides progresivamente. En agosto 2014 el paciente fallece por infección respiratoria.

Caso clínico 2: Mujer de 90 años que en mayo del 2015 consulta en Urgencias por hematuria. AP: HTA esencial, AIT en diciembre 2013 y polimialgia reumática que ha requerido varias tandas de corticoterapia. Refiere hematuria, hemorragia subconjuntival y gingivorragia de cinco días de evolución. En analítica se objetiva TP 1 y TTPA 2.7, previo TTPA de enero 2016 de 0.9. El test de mezcla inmediato corrige, con alargamiento de TTPA tras incubación. Se descartó presencia de AcL. La cuantificación del FVIII es del 0%, con título de inhibidor anti FVIII de 18 UB/ml. Se inicia tratamiento hemostático *bypass* con Novoseven 100 µg/kg/3 h y tratamiento erradicador con PDN a 1 mg/kg/día. La hematuria se resuelve en 36 horas, permitiendo el espaciamento progresivo de NovoSeven. Se han descartado enfermedades autoinmunes, infecciosas o tumorales asociadas. Actualmente pendientes de nueva determinación de FVIII, titulación de inhibidor y estudio de epítotos.

Discusión: la hemofilia adquirida es una entidad poco frecuente que se caracteriza por la aparición de anticuerpos dirigidos contra el factor VIII de la coagulación. En nuestros casos el test de mezcla presentó un alargamiento de TTPA con mayor tiempo de

Tabla I. Hemograma y estudio bioquímico del probando

Ensayo	Hemoglobina g/L	Plaquetas 10E9/L	Leucocitos 10E9/L	Filtrado glomerular mL/min/1,73 m ²	TTPA ratio	TP INR	TT (segundos)	TR (segundos)
Inicial	126	130	5,65	45	0,91	1,21	27,50	19

TTPA ratio: Ratio de tiempo de tromboplastina. TP INR: Tiempo de protrombina. TT: Tiempo de trombina. TR: Tiempo de reptilasa.

Tabla II. Estudio hemostático del probando

Ensayo	FXIII	FXIII-I	a2-AP-f	AP-i	Plasminógeno %	Fibrinógeno g/L	FVL	PFA100	TGT	CLT
Inicial	20	Neg	40	Neg	-	0,84	-	Normal	Normal	Acortado
1.º control	21	-	36	-	52	-	Neg	-	-	-

FXIII: Factor XIII. FXIII-I: Inhibidor del Factor XIII, a2-AP-f: Alfa2-antiplasmina funcional. AP-i: Inhibidor antiplasmina. FVL: Factor V de Leiden. PFA100: Función plaquetar EPI y ADP. TGT: Test de generación de trombina. CLT: Tiempo de lisis del coágulo. Neg: Negativo.

incubación, compatible con la existencia de un inhibidor de coagulación, y el título de este no determinaba la gravedad de la clínica hemorrágica ni el tiempo de respuesta. El tratamiento erradicador (PDN) es esencial para normalizar el TTPA y el factor VIII. En conclusión, la hemofilia adquirida debe estar presente en el diagnóstico diferencial siempre que nos encontremos ante un paciente pluripatológico con clínica hemorrágica y alargamiento de TTPA.

PC-404 Colocación de catéter venoso central en pacientes con hemofilia grave y complicaciones. Experiencia de un centro

De Ramón Sánchez C. (1), García Candel F. (2), Moya Arnao M. (2), Martínez Marín A. (2), Fernández Poveda E. (2)

(1) Hospital Clínico Universitario de Valladolid. Valladolid. (2) Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia

Introducción: La colocación de un catéter venoso central (CVC) en pacientes con hemofilia grave se realiza con dos objetivos fundamentalmente que son la administración de profilaxis con concentrado de factor VIII o IX para evitar sangrados severos y la realización de inmunotolerancia (ITI) cuando se detecta un inhibidor. Como cualquier procedimiento invasivo tiene potenciales complicaciones como el sangrado durante o posterior a su colocación, la infección del dispositivo que puede producir importantes bacteriemias o la obstrucción por fenómenos trombóticos.

Métodos: Estudio retrospectivo observacional en el que se recogieron datos demográficos, clínicos y analíticos de 10 pacientes.

Resultados: Se reclutan 10 pacientes diagnosticados de hemofilia grave A (70%) y B (30%) con CVC. Todos los pacientes han sido estudiados genéticamente, el grupo con hemofilia A presentan inversión del intrón 22 (42,8%) o traslocaciones (57,2%) en los exones 8, 12, 22 y 24 del gen del factor VIII; en el caso de la hemofilia B traslocaciones de los exones 2 (66,7%) y 8 (33,3%) del gen del factor IX. El motivo de colocación del CVC fue en el 60% de los casos la administración de profilaxis, y en el 40% restante la realización de ITI. La mitad de los pacientes desarrollaron un inhibidor consiguiendo su borrado el 60% y el resto, en un caso se consiguió respuesta parcial y en otro se perdió el seguimiento por cambio de residencia (Fig. 1). La complicación más frecuente fue la infección (40%) que requirió tratamiento antibiótico y retirada del CVC, siendo en dos casos recurrente. En todos los casos con complicaciones, el paciente presentaba inhibidor y tenía < 2 años de edad. La media de días hasta la infección fue de 240. Los microorganismos responsables fueron *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stafilococo aureus* y *Streptococo viridans*. El resto de complicaciones fueron hematomas localizados en la zona de inserción (20%) y microtrombosis del CVC (20%). El 40% no sufrió ninguna complicación.

Conclusiones: No se observan episodios hemorrágicos graves relacionados con el procedimiento, dado que a los pacientes se les administró concentrado de factor en régimen profiláctico según protocolo. Solo presentaron en dos casos hematomas localizados en la zona de colocación que remitieron en días. Las infecciones relacionadas con CVC son las complicaciones más frecuentes,

además en dos pacientes son recurrentes a pesar del cambio de dispositivo. Esto podría estar en relación con la presencia de inhibidor y la necesidad de tratamiento frecuente. A pesar del pequeño tamaño muestral podemos concluir que la colocación temporal de este dispositivo es segura y con buenos resultados, aunque se recomienda su uso el menor tiempo posible hasta que se pueda utilizar con seguridad la venopunción directa para evitar las complicaciones derivadas en los pacientes de alto riesgo.

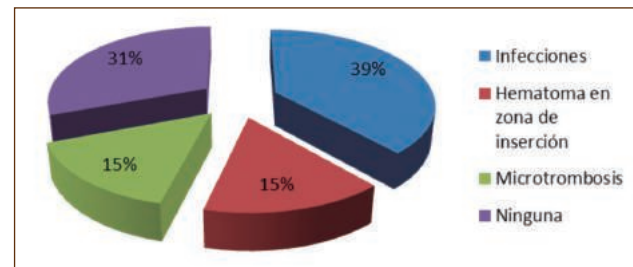


Figura 1.

PC-405 Enfermedad cardiaca en pacientes con coagulopatías congénitas: experiencia CCC-HSM

Medeiros Pereira A., Catarino C., Rodrigues F., Pereira C., Palricas Costa A.

Hospital de Santa María. Lisboa, Portugal

Introducción: El enfoque médico y quirúrgico en pacientes con coagulopatías y enfermedad cardiaca es un desafío, incrementado por la ausencia de *guidelines* específicas y por el número limitado de casos reportados. Este trabajo presenta la experiencia del CCC-HSM en el control de la hemostasia en procedimientos cardiacos invasivos en enfermos con coagulopatía congénita.

Métodos: Han sido revisados los procesos de 8 enfermos seguidos en CCC-HSM (hemofilia A grave = 2, hemofilia A ligera = 1, EVW tipo 1 grave = 1, EVW tipo 2M = 3, EVW tipo 2N = 1) sometidos a procedimientos invasivos por enfermedad cardiaca valvular/coronaria (angina inestable, enfermedad tronco común + 3 vasos, FA crónica, estenosis aórtica/mitral, BAV de alto grado, IAM).

Resultados: Los procedimientos quirúrgicos incluyen: intervención coronaria percutánea = 2, reemplazo de válvula aórtica con implantación de prótesis biológica = 1, reemplazo de válvula mitral = 1, implantación de cardioversor-desfibrilador = 1, cierre percutáneo de la orejuela izquierda = 1, implantación de marcapasos VVIR = 1, bypass coronario = 1. De los 8 enfermos, 6 son hombres y 2 mujeres, entre 48 y 84 años. Todos los enfermos presentan 1 o más factores de riesgo cardiovascular. Niveles hemostáticos de FVIII/FVW han sido mantenidos con la administración de concentrados de factores de coagulación y no se han verificado complicaciones hemorrágicas. En 2 enfermos no ha sido posible evaluar retrospectivamente datos relativos al diagnóstico cardiológico y detalles de las cirugías realizadas. Uno de los enfermos

ha fallecido de complicaciones de enfermedad hepática crónica, 1 de complicaciones no hemorrágicas de la cirugía cardiaca y 2 del que no se sabe la causa de muerte.

Conclusiones: Nuestra experiencia indica que con una sinergia de esfuerzos entre cardiólogos y hematólogos/imuno-hemoterapeutas se puede llevar a cabo con seguridad procedimientos cardíacos invasivos en enfermos con coagulopatías. En ausencia de *guidelines* específicas el uso de concentrados de factores coagulantes se deberá hacer con cuidado de modo a contrarrestar el riesgo hemorrágico asociado al uso de antiagregante y anticoagulantes orales. Los 4 enfermos aún vivos se encuentran actualmente bajo terapia antiagregante con aspirina (2), antiagregante doble aspirina + clopidogrel (1) y anticoagulante con varfine (1). Dos enfermos con EVW 2M han presentado un aumento de sangrados espontáneos y traumáticos durante el período bajo terapia antiagregante doble.

PC-406 Hemofilia A adquirida: casos clínicos

Paulo Aires A. M., Aires dos Santos A., Antunes M., Marques Diniz M. J.

Hospital de São José. Centro Hospitalar Lisboa Central. Portugal

Introducción: La hemofilia A adquirida (HAA) es un trastorno hemorrágico raro caracterizado por la presencia de autoanticuerpos contra el factor VIII (FVIII) circulante, en pacientes sin historia previa de coagulopatía. Ocurre en pacientes de ambos sexos, observándose aproximadamente en la mitad de los casos asociación a procesos patológicos heterogéneos como enfermedades autoinmunes, malignas así como estadios fisiológicos como el embarazo, parto y puerperio. La hemorragia se manifiesta de formas variables presentándose en su mayoría como hemorragia mucocutánea. El diagnóstico se basa en el hallazgo de prolongación del tiempo parcial de tromboplastina activada (TPTA), disminución de la actividad del FVIII y presencia de inhibidores del FVIII en un paciente con manifestaciones hemorrágicas. El tratamiento de HAA incluye el control de las manifestaciones hemorrágicas y la supresión de la producción del anticuerpo.

Material y métodos: Los autores presentan la casuística de los pacientes con hemofilia adquirida en los últimos 10 años en su departamento.

Resultados: Fueron encontrados 6 pacientes (5 hombres y 1 mujer) con edad mediana de 78 años. Las manifestaciones hemorrágicas, fundamentalmente del tipo mucocutáneo, fueron las equimosis, los hematomas musculares y retroperitoneales, la hematuria y el sangrado digestivo. El diagnóstico se realizó por el hallazgo de una prolongación inexplicable del tiempo parcial de tromboplastina activada (TPTA) – 40.9-102 s. y prolongación del TPTA en mezclas de plasma del paciente y plasma normal, con disminución de la actividad del factor VIII (0.3-4.5%). Se confirmó la presencia de inhibidores del factor VIII (1.62-102UB). El tratamiento antihemorrágico se realizó con el concentrado de factor VIIa recombinante (FVIIar) y el concentrado del complejo protrombínico (CCPA), con buena respuesta, excepto en uno de los pacientes que falleció con hematoma retroperitoneal. La inmu-

nosupresión se realizó con la administración de prednisona, 1 mg/kg/día, durante 4-6 semanas, con erradicación del inhibidor en 4 de los pacientes.

Conclusiones: La HAA debe sospecharse en un paciente con manifestaciones hemorrágicas de comienzo agudo sin historia previa de trastornos de la hemostasia, que se acompañan de una prolongación inexplicable del TPTA. Los concentrados del factor VIIa recombinante (FVIIar) y del complejo protrombínico (CCPA) representan el tratamiento antihemorrágico de primera línea. La prednisona sola o en asociación con la ciclofosfamida, constituye el tratamiento inmunosupresor de primera línea. En la muestra estudiada la inmunosupresión con prednisona erradicó el inhibidor en el 83% de los casos. El tratamiento antihemorrágico así como el inmunosupresor deben iniciarse de forma inmediata independiente del título del inhibidor presentado.

PC-407 Hemofilia A adquirida: una patología de diagnóstico difícil y tardío

De Cos Hohr C., Yera Cobo M., Sevillano Ruiz-Mateos C., Morán Sánchez J., López Rodríguez R., Garrastazu Sánchez M. P., Paz Coll A.

Hospital Univesitario Puerta del Mar. Cádiz

Introducción: La hemofilia adquirida (HA) es un desorden hemorrágico de origen autoinmune causado por autoanticuerpos específicos que inhiben la acción de un factor de coagulación, siendo los más comunes los del FVIII. Incidencia 0,2-4/10⁶ habitantes/año, infradiagnosticada. Edad media: 64 años (2-93). 50% de casos, con enfermedad asociada.

El sangrado puede ser grave y potencialmente mortal en > 70%, más frecuente en tejidos blandos. El 30% presenta sangrado leve, no requiere tratamiento hemostático. Mortalidad es 22-31%. Se debe sospechar si hemorragia súbita, con TTPA alargado y sin historia de coagulopatía previa. El diagnóstico es difícil, desconocimiento de la enfermedad. Requiere de tratamiento precoz independientemente del título de inhibidor y del nivel de FVIII: inmunosupresor, siendo CFM+PRD el más utilizado, y hemostático si clínica hemorrágica severa con rFVIIa (90 microgramos/kg/2-3 h) o CCPa (50-100U/kg/8-12 h) no habiendo diferencias en eficacia.

Casos clínicos: Presentamos cuatro casos de hemofilia A adquirida diagnosticadas en nuestro centro, con distinto comportamiento clínico e importante demora en el diagnóstico (Tabla I).

Caso clínico 1: Varón, 64 años, pluripatológico. Estudio por TTPA alargado desde hace 3 meses. Previamente sintomatología hemorrágica, posteriormente asintomático. Tratado inicialmente con PRD 1 mg/kg/día + CFM 2 mg/kg/día, disminución dosis PRD por intolerancia. Borramiento inhibidor mantenido, 31 meses.

Caso clínico 2: Varón, 59 años, atendido en Urgencias por hematuria y hematoma tricípital dcho. Recibía AAS 100, suspendido. Posteriormente síndrome compartimental MSI, fasciotomía. Inmunosupresión: CFM 2 mg/kg/día +PRD 1 mg/kg/día y tratamiento hemostático: rFVIIa 90 µg/kg/4 h-2 h en función de evolución. Ac. tranexámico: 10 mg/kg/8 h. Primeras 48 h sangrado

Tabla 1.

	Paciente 1	Paciente 2	Paciente 3	Paciente 4
Antecedentes personales	Colitis ulcerosa, psoriasis, espondilitis anquilopoyética	No	Factores de riesgo cardiovascular	SAOS, hipotioidismo, cirugía reciente fractura cadera
Clínica hemorrágica previa al diagnóstico	Hematuria, hematomas	Hematuria Hematoma tríceps	Exodoncias sangrantes con anemización Hematomas, rectorragias	Hematoma MII, hematoma MSI, hematoma de pared abdominal
Clínica hemorrágica severa	No	Sd. compartimental	No	Hemorragia intraparenquimatosa
TTPA	TTPA 52" r 1.56 TTPA-m: 30"	TTPA 52.3" r 1.57 TTPA-m: 33.3"	TPTA 42.8 seg r 1.42 TPTA-m 35 seg	TTPA 65" r 2.16 TTPA-m: 32.6"
Hemoterapia	No	Sí	No	Sí
Demora diagnóstico	3 meses	14 días	4 meses	12 días
Tratamiento antitrombótico	No	AAS 100	AAS 100	HBPM
FVIIIc Título inhibidor	2% 15,4 UB	1º día FVIIIc 48% Inhibidor 1 UB 2º día 9%, 6,5 UB	14% 230 UB	6%, 3,8 UB
Inmunosupresión	CFM 2 mg/kg/día +PRD 0,3 mg/kg/día	CFM 2 mg/kg/día + PRD 1 mg/kg/día	CFM 2 mg/kg/día + PRD 10 mg/día	-
Complicación infecciosa	No	No	No	-
Tratamiento hemostático	No	rFVIIa	No	-
Tiempo en alcanzar remisión	40 días	18 días	12 días tras añadir PRD dosis bajas	Éxito
Tiempo desde remisión	31 meses	9 meses	5 meses	-

severo, importantes requerimientos transfusionales. Alcanza estabilidad hemodinámica manteniendo tratamiento anterior con abstención de cualquier procedimiento traumático. Estudio etiológico positividad analítica específica de cirrosis biliar primaria aunque sin datos clínicos. Éxito terapéutico mantenido tras 8 meses.

Caso clínico 3: Varón, 59 años, factores de riesgo cardiovascular asociados (diabetes *mellitus*). ETEV en postoperatorio de hernia umbilical. Antecedente de exodoncias sangrantes, hematomas y rectorragia. Recibe AAS 100. TTPA alargado "de novo", no valorado. Tres meses después, diagnóstico HA. No sangrado actual. Estudio etiológico negativo. Iniciamos tratamiento solo CFM (2 mg/kg/día), sin respuesta, asociando posteriormente PRD 10 mg diarios, borramiento de inhibidor y normalización de FVIII, mantenida 5 meses después.

Caso clínico 4: Mujer, 74 años, ingreso por anemia severa, extenso hematoma de miembro inferior dcho., relacionado con cirugía de fractura de cadera un mes antes. Trombosis venosa superficial en postoperatorio, HBPM terapéutica al ingreso. Posteriormente, hematoma de MSI y hematoma de pared abdominal. Diagnóstico de HA 12 días después del ingreso, falleciendo el mismo día por hemorragia intraparenquimatosa, con sangrado intraventricular y hemorragia subaracnoidea.

Conclusiones:

1. El diagnóstico de hemofilia adquirida es una sospecha clínica que debe ser confirmada por los datos de laboratorio: pacien-

tes con clínica hemorrágica, sin antecedentes hemorrágicos y TTPA alargado con coagulaciones previas normales.

2. No debemos excluir a pacientes en tratamiento antitrombótico.
3. Ni los niveles de FVIII circulante ni el título de inhibidor son predictores del riesgo hemorrágico.
4. En 2/4 pacientes fue suficiente la asociación de corticoides a dosis bajas con ciclofosfamida para obtener respuesta.
5. Instauración precoz del tratamiento. Su intensidad y duración dependerán de la sintomatología hemorrágica, localización y cuantía, y de las comorbilidades del paciente.
6. Fundamental la información sobre esta patología. Multidisciplinar.

PC-408 Estudio retrospectivo de los pacientes diagnosticados de hemofilia adquirida en nuestro centro durante los últimos 12 años

Jiménez Fernández D., Morente Constantín E., Entrena Ureña L., Gutiérrez Pimentel M. J., García Ruiz M. A., Gómez Morales M., Jurado Chacón M.

Servicio de Hematología y Hemoterapia. Complejo Hospitalario Universitario de Granada. Granada

Introducción: La hemofilia adquirida (HA) es un trastorno autoinmune causado por autoanticuerpos contra epítomos activos del factor VIII, caracterizado por la aparición de sangrados. Pese a su infrecuencia, nos encontramos frente a una entidad con una gran importancia debido a la morbimortalidad asociada y a las dificultades que puede llegar a presentar para su diagnóstico.

Objetivos: Estudio observacional retrospectivo evaluando clínica, tratamiento y evolución de los pacientes diagnosticados de HA en nuestro centro entre 2003 y 2015.

Material y método: Presentamos 6 pacientes con 7 episodios de hemofilia adquirida. El 66% de los pacientes son mujeres con una edad media de 53 años (29-84) y todos los casos se diagnosticaron a raíz de sangrados: 6 de los episodios fueron sangrados cutáneos y musculares y uno de los casos, que apareció en el postoperatorio de una cirugía de hernioplastia inguinal, fue un sangrado postquirúrgico excesivo. Como antecedentes, 2 de los pacientes se encontraban en remisión de tumores de órgano sólido y una paciente había presentado un cuadro autoinmune con trombopenia y una determinación positiva de anticuerpos anticardiolipina (no confirmada posteriormente). Dentro de los posibles desencadenantes tenemos 2 casos postparto y uno pocos meses tras un aborto tardío. Todos los pacientes presentaban, al diagnóstico, niveles de factor VIII por debajo del 5% con una media de 1.4% (0%-4%) y una media de 17.31 UB (2.5-204.8). En cuanto al tratamiento, 6 de los 7 episodios precisaron tratamiento hemostático con factor VIIa a dosis altas. El otro caso se trataba de un sangrado cutáneo que se trató únicamente con antifibrinolíticos orales. Para la erradicación del inhibidor se administraron esteroides asociados a ciclofosfamida en 3 casos (43%), a rituximab en 2 casos (28.5%); se asoció ciclofosfamida y rituximab en una paciente y azatioprina en otra.

Resultados: Los pacientes respondieron en 6 de los 7 episodios (85.7%) al tratamiento inmunosupresor con recuperación completa de la hemostasia y cese de la clínica de sangrado. No obstante, de los 6 pacientes iniciales, 3 fueron éxitos (50%): 2 por complicaciones infecciosas del tratamiento inmunosupresor y una paciente por falta de respuesta. La única paciente que no respondió se trató de una mujer que, tras un primer episodio tratado con corticoides y rituximab, presentó una recaída a los 3 años sin mejoría con tratamiento con ciclofosfamida, pero con un rápido deterioro físico, por el cual fallece.

Conclusiones: En nuestra experiencia, el factor VII recombinante demostró ser eficaz en el control de la clínica hemorrágica en todos los casos en los que se usó. En cuanto al tratamiento inmunosupresor, nuestra muestra no permite analizar diferencias entre los distintos fármacos usados pero, con las opciones utilizadas, nos encontramos con tasas de respuestas muy altas, si bien esto puede estar influido porque 3 de nuestros pacientes se trataban de hemofilias adquiridas relacionadas con la gestación, las cuales presentan un mejor pronóstico en todas las series. Por otro lado, el hecho de que 2 de los pacientes fallecieron por complicaciones infecciosas nos hace pensar que, quizás, en una población tan añosa, deberíamos ser muy cuidadosos con el tratamiento inmunosupresor, tratando de forma individualizada y planteando la administración de profilaxis antiinfecciosa.

PC-409 Validación de la versión española de la escala VERITAS-Pro para evaluar adherencia al tratamiento con factor VIII en pacientes con hemofilia (PcH)

Bonnad Boix S. (1), García-Dasí M. (2), Mingot Castellano E. (3), Jiménez Yuste V. (4), Amián A. (5), Paloma Mora M. J. (6), López Fernández M. F. (7), Pérez Garrido R. (8), Gracia A. (9), Fernández Mosteirín N. (10), Galmés B. (11), Marco Vera P. (12), Duncan N. (13)

(1) Unidad de Hemostasia y Trombosis. Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia, España. (2) Instituto de Investigaciones Sanitarias La Fe. Unidad de Hemostasia y Trombosis. Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia, España. (3) Hospital Carlos Haya. Málaga, España. (4) Hospital La Paz. Madrid, España. (5) Hospital Juan Ramón Jiménez. Huelva, España. (6) Hospital Virgen del Camino. Pamplona, Navarra. España. (7) Hospital Juan Canalejo. A Coruña, España. (8) Hospital Virgen del Rocío. Sevilla, España. (9) Hospital Torrecárdenas. Almería, España. (10) Hospital Miguel Servet. Zaragoza, España. (11) Hospital Son Espases. Palma de Mallorca, España. (12) Hospital General de Alicante. Alicante, España. (13) Indiana Hemophilia and Thrombosis Center. Indianapolis, Indiana. EE. UU.

Introducción: Diversos estudios han cuantificado la adherencia en hemofilia pero, debido a la diversidad de métodos utilizados, los resultados son contradictorios. Las medidas de autoinforme son un método apropiado pero no disponemos en España de un instrumento validado. En 2014 iniciamos un estudio prospectivo (AURIGA-Pro) dirigido a conocer la adherencia en PcH adultos, siendo uno de sus objetivos validar la escala estadounidense VERITAS-Pro de evaluación de adherencia a la profilaxis. Consta de 24 ítems agrupados en 6 factores: *frecuencia, dosificación, planificación, recuerdo, omisiones y comunicación*.

Objetivo: Validar en el contexto español la escala VERITAS-Pro para la evaluación de la adherencia a la profilaxis en PcH.

Método: *Adaptación transcultural:* traducción y retro-traducción por lingüistas independientes y consenso con expertos en hemofilia; evaluación con panel de expertos y pacientes; redacción final y administración a pacientes. Evaluación de propiedades psicométricas: factibilidad; fiabilidad test-retest (reevaluación de 21 pacientes a los 15 días) calculando la correlación para ambas puntuaciones y utilizándose como criterio de estabilidad clínica la Clinical Global Impression of Change; consistencia interna, mediante Alpha de Cronbach; validez de constructo, mediante análisis factorial exploratorio (AFE); validez convergente, a través de la correlación entre VERITAS y las escalas *locus de control (LC)*, *autoeficacia*, *creencias en salud* y *valor asignado a la salud (VAS)*; y validez de criterio, por comparación de puntuaciones con las variables *duración del tratamiento*, *nº de infusiones* y *episodios hemorrágicos*.

Resultados: Se incluyeron 83 PcHAG en profilaxis, > 18 años (33,3, DS = 2,2) de 11 hospitales españoles. La traducción por dos lingüistas se consensó con 2 investigadores generando una versión que fue valorada por 2 expertos y 14 pacientes en *importancia* y *comprensibilidad*. Los expertos otorgaron valores > 4,7/5 en comprensión y > 3,9/5 en importancia. Los pacientes consideraron los 24 ítems importantes y comprensibles (> 4), excepto uno (2,9). La valoración identificó ítems 8 y 12 candidatos a revisión (<3),

mejorándose su redacción por consenso. Las respuestas y criterio clínico apoyaron la factibilidad de la escala. El análisis psicométrico mostró fiabilidad test-retest, $> 0,79$ ($p < ,0001$) y consistencia interna ($\alpha = 0,84$); validez de constructo, manteniendo la estructura original ($> 0,33$), validez de criterio con *duración del tratamiento* ($\rho = 0,26$, $p = 0,021$) y validez convergente con *LC interno* (creencia en su capacidad para manejar el tratamiento, $\rho = 0,23$, $p = 0,06$), *Susceptibilidad percibida* ($\rho = -0,23$, $p = 0,04$), *Beneficios* de la profilaxis ($\rho = 0,22$, $p = 0,06$) y *VAS* ($\rho = 0,21$, $p = 0,06$) (Tablas I y II).

Conclusión: Los resultados demuestran la factibilidad, fiabilidad y validez del instrumento para la evaluación de la adherencia en PcH, constituyendo una herramienta apropiada para la clínica e investigación en España.

Fuentes de financiación: Bayer Hispania S.L.

PC-410 Estado articular de pacientes con hemofilia B evaluado mediante técnica ecográfica HEAD-US

Jiménez-Yuste V. (1), Álvarez-Román M. T. (1), Martín-Salces M. (1), de la Corte-Rodríguez H. (1), Altisent C. (2), Parra R. (2), Núñez-Vázquez R. (3), Pérez-Garrido R. (3), García-Candel F. (4), Bonanad S. (5), Alonso N. (6), Fernández-Mosteirín N. (7), López-Ansoar E. (8), García-Frade L. J. (9), Pérez N. (10), Gutiérrez-

Pimentel M. J. (11), Bermejo N. (12), Fernández-Arias I. (13), Kim H. K. (13)

(1) Hospital Universitario La Paz. Madrid. (2) Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona. (3) Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. (4) Hospital Clínico Universitario La Arrixaca. Murcia. (5) Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia. (6) Hospital Infanta Cristina. Badajoz. (7) Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza. (8) Complejo Hospitalario Universitario de Ourense. Ourense. (9) Hospital Universitario Río Hortega. Valladolid. (10) Complejo Hospitalario Torrecárdenas. Almería. (11) Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada. (12) Hospital San Pedro de Alcántara. Cáceres. (13) Pfizer SLU. Madrid

Introducción: La aplicación de la ecografía en la práctica rutinaria de las consultas de hemofilia supone grandes avances en el seguimiento asequible, frecuente y efectivo de los pacientes hemofílicos, aunque la lectura estas imágenes presenta el inconveniente de ser dependiente del observador. Los protocolos desarrollados en los últimos años y la nueva escala de valoración HEAD-US pueden ayudar a estandarizar la ecografía en el diagnóstico y seguimiento de la artropatía hemofílica. El HEAD-US es una escala aditiva con evaluaciones de la articulación que indican actividad de la enfermedad (hipertrofia sinovial) y daño en las articulaciones (cartílago y hueso), determinándose la puntuación total como la suma de las puntuaciones asociadas a cada uno de los ítems (hipertrofia sinovial, 0-2; cartílago, 0-4; hueso, 0-2).

Métodos: Estudio observacional, multicéntrico y transversal con el objetivo de conocer el estado articular bilateral de codo, rodilla y tobillo de pacientes con hemofilia B en España utilizando

Tabla I. Fiabilidad test-retest y consistencia interna

VERITAS-Pro	Fiabilidad test-retest						Fiabilidad consistencia interna
	Media basal (DS)	Mediana basal (Q1, Q3)	Media retest (DS)	Mediana retest (Q1, Q3)	Rho	p	Alpha de Cronbach
Frecuencia	6,4 (2,2)	6,0 (5,0, 8,0)	8,0 (2,4)	8,0 (7,0, 10,0)	0,90	<,0001	0,79
Dosificación	5,5 (2,7)	5,0 (4,0, 6,0)	5,5 (2,7)	5,0 (4,0, 6,0)	0,79	<,0001	0,60
Planificación	7,8 (2,2)	8,0 (6,0, 9,0)	8,9 (2,6)	9,0 (8,0, 10,0)	0,85	<,0001	0,45
Recuerdo	6,9 (2,2)	7,0 (5,0, 8,0)	7,7 (2,5)	8,0 (6,0, 9,0)	0,86	<,0001	0,80
Omisiones	6,1 (2,4)	5,0 (4,0, 7,0)	8,1 (2,6)	8,0 (7,0, 10,0)	0,79	<,0001	0,87
Comunicación	8,9 (3,2)	9,0 (7,0, 11,0)	9,5 (3,2)	9,0 (7,0, 12,0)	0,97	<,0001	0,70
Puntuación total	41,6 (9,5)	40,0 (34,0, 46,0)	47,6 (10,3)	47,0 (39,0, 54,0)	0,88	<,0001	0,84

DS: desviación estándar. Rho: Rho de Spearman.

Tabla II. Validez convergente: VERITAS-Pro y MHLCS, EAP, CS y EVAS

Validez convergente				
MHLCS Rho (p) LCI A LCOP	EAP Rho (p)	CS Rho (p) S B BA G	EVAS Rho (p)	
0,23 (0,06) 0,12 (0,33) -0,12 (0,27)	0,09 (0,42)	-0,23 (0,04) -0,22 (0,06) 0,15 (0,21) -0,00 (0,99)	-0,21 (0,06)	

MHLCS: escala del locus de control en salud; LCI: locus de control interno; A: azar; LCOP: locus de control otros poderosos. EAP: escala de autoeficacia percibida. CS: escala de creencias sobre la salud; S: susceptibilidad; B: beneficios; BA: barreras; M: motivación; G: gravedad. EVAS: escala de valor asignado a la salud.

técnica ecográfica y score HEAD-US. En cada visita, dos observadores distintos realizan las ecografías en cada articulación en estudio con el mismo ecógrafo. Son elegibles todos los pacientes con hemofilia B a partir de 14 años de edad que acudan a la visita concertada para el estudio, independientemente de su situación clínica, gravedad de la hemofilia y tratamientos recibidos.

Resultados: Se analizaron los datos de 82 pacientes (edad media $38,9 \pm 16,4$ años) de los 12 centros participantes: 27% (n = 22) eran pacientes con hemofilia B leve, 23% (n = 19) moderada y 50% (n = 41) grave. El 60% (n = 49) recibían tratamiento a demanda (71% pacientes leves y moderados), y el 40% (n = 33) estaban bajo régimen en profilaxis (82% graves). Las puntuaciones HEAD-US obtenidas de cada articulación empeoraron progresivamente según la gravedad de la hemofilia, reflejando un peor estado articular relacionado con esta. Atendiendo a la modalidad de tratamiento, los pacientes en profilaxis presentaron mejor estado articular al obtener puntuaciones más bajas vs. a demanda en todas las articulaciones, siendo esta diferencia significativa ($p = 0,04$) en la rodilla derecha. En el grupo a demanda, al compararlos según gravedad de la hemofilia, se observó un empeoramiento significativo ($p < 0,05$) de las puntuaciones de cada articulación e ítem, a excepción de la hipertrofia sinovial en ambos tobillos, según se avanzaba de pacientes leves (n = 17), a moderados (n = 18) y a graves (n = 18).

Conclusiones: El estado articular de los pacientes con hemofilia B medido mediante la escala HEAD-US empeora progresivamente según la gravedad de la enfermedad. Los pacientes graves en tratamiento a demanda exhiben un resultado significativamente peor en la mayoría de las articulaciones analizadas. Este estudio es muy relevante dado el alto número de pacientes incluidos con una patología de muy baja frecuencia como es la hemofilia B.

Fuente de financiación: Este estudio está patrocinado por Pfizer SLU.

PC-411 Hemorragia intracraneal en pacientes hemofílicos seguidos en el centro de coagulopatías congénitas (CCC) del Hospital de Santa Maria, Lisboa (1993-2015)

Rodrigues F., Palricas Costa A., Catarino C., Medeiros Pereira A. Hospital Santa Maria. Lisboa, Portugal

Introducción: La hemorragia intracraneal (HIC) puede suceder espontáneamente, o después de un pequeño traumatismo, en los pacientes hemofílicos. Es la hemorragia más grave en pacientes con esta enfermedad y con frecuencia la primera manifestación clínica. La HIC está relacionada a una alta mortalidad o secuelas neurológicas graves. Un rápido diagnóstico y terapéutica precoz e intensiva son fundamentales en la prevención de sus complicaciones.

Método: Estudio retrospectivo con el objetivo de evaluar la HIC en pacientes hemofílicos seguidos en el CCC del Hospital de Santa Maria, Lisboa, entre 1993 y 2015, para evaluar la incidencia, factores de riesgo, tratamiento realizado y las complicaciones relacionadas en este grupo de pacientes.

Resultados: Durante este periodo se siguieron 156 pacientes con hemofilia, habiendo sido confirmados 15 episodios de HIC en 12 pacientes, de los cuales 3 volvieron a sufrir un episodio de HIC. Todos los pacientes presentaban un diagnóstico de hemofilia grave, teniendo 6 episodios observados en pacientes con inhibidores. Los episodios de HIC fueron diagnosticados entre los 5 días de vida los 31 años, habiendo 6 episodios ocurridos en el primer año de vida y en 5 fue la primera manifestación clínica. Dos episodios ocurrieron en un adulto de 31 años, con hemofilia grave e inhibidores. Fue posible identificar la historia reciente de trauma en 8 episodios. En lo que respecta a la localización de la hemorragia, 7 HIC fueron intracerebrales y 8 fueron extra-axiales. Todos los pacientes realizaron terapéutica de sustitución, con duración mediana de 24 días (1-152), habiéndose verificado la aparición de inhibidores en 5 pacientes. Se mantuvo terapéutica profiláctica secundaria en 8 pacientes, con diferentes tratamientos terapéuticos y su duración. En ninguno de los pacientes bajo terapéutica profiláctica aparecieron nuevos episodios de HIC. Fueron realizados procedimientos neuroquirúrgicos en 8 episodios de HIC. A pesar de la terapéutica realizada, dos pacientes fallecieron en la secuencia de un segundo episodio de HIC. De los pacientes que sobrevivieron se verificaron secuelas neurológicas permanentes en dos pacientes.

Conclusiones: En los pacientes seguidos en nuestro centro, esta terapéutica intensiva se relacionó con un aumento de casos de pacientes con inhibidores. Antecedentes de HIC, la existencia de traumatismo y la presencia de inhibidores fueron los factores más importantes para la aparición de HIC en este grupo de pacientes. De la evaluación de los resultados de los *outcomes*, parece que se confirma el papel protector de la profilaxis en la prevención de HIC.

PC-412 Eficacia de la plataforma Medtep Hemofilia en el tratamiento profiláctico

Torres-Ortuño A. (1), Cuesta-Barriuso R. (2), Nieto-Munuera J. (1), López-Pina J. A. (3), Panisello Royo J. M. (4), Sagarra Valls G. (4)

(1) Departamento de Psiquiatría y Psicología Social. Facultad de Medicina. Universidad de Murcia. Murcia. (2) Departamento de Fisioterapia, Podología y Danza. Facultad de Ciencias de la Actividad Física, Deporte y Fisioterapia. Universidad Europea de Madrid. Madrid. (3) Departamento de Psicología Básica y Metodología. Facultad de Psicología. Universidad de Murcia. Murcia. (4) Medtep Inc.

Introducción: La adherencia al tratamiento profiláctico es un factor crítico en el control y la evolución de los pacientes con hemofilia, para la prevención de lesiones articulares degenerativas. La generalización de aplicaciones informáticas en terminales móviles, ofrece una posibilidad terapéutica en estos pacientes, ofreciendo amplias posibilidades de abordaje terapéutico y preventivo.

Objetivo: El objetivo del presente estudio es evaluar la eficacia de la plataforma *Medtep Hemofilia* en relación a la adherencia al tratamiento profiláctico.

Métodos: Se han reclutado 46 pacientes con hemofilia A y B en profilaxis, mayores de 13 años, en diferentes regiones de España. Los pacientes fueron invitados a utilizar la plataforma *Medtep hemofilia*, que permite mantener un registro de su tratamiento y de los procesos hemorrágicos que presentan. La eficacia de la plataforma se ha evaluado con la versión española de la escala *VERITAS-Pro*, validada recientemente por nuestro grupo, y que evalúa los momentos de aplicación, dosificación, planificación, recuerdo, saltarse y comunicación. Igualmente se ha evaluado la percepción de calidad de vida con el cuestionario *Short Form-36 Health Survey* (SF-36). Para el análisis estadístico se ha utilizado la prueba t-Student y el coeficiente de correlación de Pearson.

Resultados: La media de edad de los pacientes es de 25,98 años (DS = 10.17), la mayoría con hemofilia A (86.7%) y fenotipo severo (91.1%). El 4% de los pacientes invitados no se registraron a la plataforma y el 11% no activaron su cuenta. En la **tabla I** se muestran los datos de participación. Del total de pacientes registrados y activados, 32 de ellos (82%) siguen activos tras 6 meses de utilización de la plataforma con una cumplimentación terapéutica reportada del 94%. Tras un mes de uso de la plataforma *Medtep hemofilia*, se encontraron diferencias significativas en calidad de vida: *funcionamiento físico* ($p < .05$), *función física* ($p < .05$), *vitalidad* ($p < .01$) y puntuación sumaria del componente físico ($p < .01$). También hubo diferencias en la adherencia: *momento* ($p < .01$), *planificación* ($p < .05$), *saltarse* ($p < .01$) y *total* ($p < .01$). Igualmente hay correlaciones entre *cumplimentación* y calidad de vida en *Salud General* ($p = .299$).

Conclusiones: El uso de la plataforma *Medtep* ayuda a los pacientes con hemofilia a mejorar la adherencia al tratamiento profiláctico. El 70% del total de los pacientes permanecen activos registrando sus datos en *Medtep Hemofilia* a los 6 meses de comenzar el estudio. Estos resultados abren nuevas posibilidades para los tratamientos terapéuticos y preventivos de estos pacientes, especialmente en los más jóvenes.

PC-413 Reducción de la tasa anualizada de sangrado tras la implementación de estudios de farmacocinética en el ajuste de esquemas de profilaxis en sujetos con hemofilia A

Mingot-Castellano M. E. (1), Núñez Ramiro J. (2)

(1) Hospital Regional Universitario de Málaga. Málaga. (2) Hospital Regional Universitario Virgen del Rocío. Sevilla

Introducción y objetivos: En sujetos con hemofilia A grave, el ajuste de los esquemas de profilaxis según la farmacocinética del producto utilizado ayuda a la individualización del tratamiento. Los estudios de farmacocinética (PK) estándar requieren para su realización de la extracción de entre 6 y 10 muestras en sujetos adultos. Por este motivo, en la práctica clínica habitual su realización y generalización es difícil, dada la pérdida de horas de trabajo o estudio que pueden suponer. El uso de modelos poblacionales bayesianos para estimar los parámetros farmacocinéticos de un producto de factor VIII (FVIII) puede reducir el número de

Tabla I. Registro de la participación de los sujetos incluidos en el estudio

	n	% total (n = 46)	% act (n = 39)
Total invitados	46	100,00%	n.a
No registrados	2	4,35%	n.a
Registrados	44	95,65%	n.a
Cuenta no activada	5	10,87%	n.a
Cuenta activada	39	84,78%	100,00%
No activos	7	15,22%	17,95%
Activos	32	69,57%	82,05%

N: número de participantes; % total: porcentaje de participación total; % act: porcentaje de participación sobre activos, a los 6 meses; n.a.: no aplica.

extracciones y con ello facilita su implementación. myPKFiT® (Baxter Healthcare Corporation) es un dispositivo *on line* basado en el análisis bayesiano para facilitar la estimación de parámetros de PK individual en sujetos con hemofilia A tratados con Advate®. Este *software* requiere de la determinación de los niveles de FVIII plasmático al menos en dos muestras de un mismo sujeto entre las 4 y 48 horas siguientes a la exposición a dicho factor. Nuestro objetivo es conocer el impacto sobre la clínica hemorrágica de sujetos con hemofilia A del ajuste de profilaxis por PK según sistema bayesiano tipo myPKFiT.

Material y métodos: Se trata de un estudio observacional de serie de casos de dos centros españoles. Evalúa a 16 sujetos con hemofilia A (12 severa y 4 moderada) con edades comprendidas entre los 15 y 52 años. Salvo un paciente en tratamiento a la demanda, los sujetos estaban al inicio de estudio en régimen de profilaxis, con una mediana de tiempo en profilaxis de 10 años (rango = 0-26). Todos los sujetos incluidos tenían indicado FVIII recombinante tipo Advate®. La profilaxis fue ajustada por parámetros farmacocinéticos según myPKFiT entre 2014 y 2015. Los niveles valle de ajuste fueron 1-2% según la actividad física del sujeto (escala de Broderick) y la situación articular (score de Gilbert). Evaluamos la tasa anual de sangrados (ABR), la tasa anual de sangrados articulares (AJBR) y el consumo de FVIII antes y después del ajuste de la profilaxis por PK realizado.

Resultados: El perfil de PK del fármaco en cada sujeto con myPKFiT fue realizado con 2, 3 y 4 muestras en 11,3 y 2 pacientes respectivamente. La vida media del FVIII fue de 13,4 horas de media (± 2.6 DE). Tras el ajuste por PK implementado, se objetivó una reducción significativa de la ABR (media 4,0 vs. 2,2; $p = 0,0342$) y del AJBR (media 2,5 vs. 1,4; $p = 0,0885$), excluyendo del análisis al paciente que pasó de tratamiento a demanda a profilaxis ($n = 15$). Evidenciamos un incremento del FVIII consumido, si bien esta diferencia fue menor y no estadísticamente significativa (277750€ vs. 290437€; $p = 0,6286$).

Conclusiones: En nuestra serie, encontramos un beneficio clínico sin incremento significativo del coste, en la implementación de estudios de PK de modelo bayesiano para la individualización del tratamiento profiláctico en sujetos con hemofilia A severa y moderada.

Trombosis

PC-414 Impacto del estudio molecular de los genes PROC, PROS1 y SERPINC1 en pacientes con trombosis venosa

Oliveira A. C., Martinho P., Fidalgo T., Pinto C., Gonçalves E., Marques D., Sevivas T., Salvado R., Ribeiro M. L.

Serviço de Hematologia Clínica. Centro Hospitalar Universitário de Coimbra. Coimbra, Portugal

Introducción: La trombosis venosa es una enfermedad multi-génica y multifactorial siendo las deficiencias de proteína C(DPC), S(DPS) y antitrombina(DAT), importantes factores de riesgo. La prevalencia de estos déficits es baja (3-5%-DPC, 1,5%- DPS y 1-3%-DAT), siendo probablemente subdiagnosticados. Las pruebas funcionales disponibles son poco sensibles a déficits ligeros o a ciertas mutaciones asociadas a niveles plasmáticos normales. El estudio molecular de los genes PROC, PROS1 y *SERPINC1* aumenta la capacidad diagnóstica de estas deficiencias, permite una correlación genotipo/fenotipo y la identificación de portadores en riesgo.

Objetivo: Estudiar los genes PROC, PROS1 y *SERPINC1* en individuos con: a) déficits o niveles plasmáticos en el límite inferior de la normalidad de PC y/o PS y/o AT; y b) niveles plasmáticos normales, con historia de trombosis venosa significativa.

Material y métodos: Fueron estudiados 172 individuos (128 mujeres), con TEP (8,1%), TV (33,7%), TA (7%) y complicaciones obstétricas (18,6%); 32,6% tenían una historia familiar de trombosis. Estudios funcionales: PSL, PCact y ATact -niveles comparados con valores de referencia ajustados a la edad, confirmados en 2 muestras diferentes. Estudios moleculares: ASPCR, secuenciación directa Sanger y MLPA.

Resultados: De los 172 pacientes estudiados, 130 tenían uno de los déficits (34,3% DPC, 38,3% DPS y 3,5% DAT); 1 déficit de PC y PS; 34 niveles normales de PC, PS y AT; 7 estaban anticoagulados. La capacidad de detección de mutaciones fue de 97% DPC, 31,8% DPS y 33,3% en DAT. En 102 individuos se encontraron 26 mutaciones diferentes (12 PROC, 10 PROS1 y 6 *SERPINC1*). La mayoría de las mutaciones eran *missense* (*SERPINC1*: 75%; PROC: 75%; PROS1: 70%) siendo la p.Ser501Pro (PS Herleen) encontrada en 46% individuos DPS. La mutación PROC p.Arg199* se identificó en 18 pacientes con DPC tipo I y asociada con un fenotipo grave. Las mutaciones PROS1 p.Val1191Cysfs*6, p.Ala307Cysfs*22 y p.R451* fueron encontradas en DPS severas. En 2 individuos con DPS se detectó una heterocigotía compuesta (PROS1 p.Pro76Leu y p.Ala307Cysfs*22); en el individuo con déficit conjunto de PC y PS fue confirmada la heterocigotía compuesta/doble (PROC-13A>G; PROS1 p.N166H y p.A307Cfs*22). Fueron encontradas 2 mutaciones no descritas: p.Cys105Arg PROC y *SERPINC1* p.YTyr95Serfs*18. El 60% de los individuos con mutaciones en *SERPINC1* y 18,9% en PROS1, tenían niveles normales de AT y PS. El tipo de mutación y su localización en cada gen se correlacionaron, en déficits, con la gravedad fenotípica. Las mutaciones encontradas, asociados con

niveles plasmáticos normales, son mutaciones *missense* con efecto fenotípico más ligero.

Conclusiones: El estudio del gen PROC, PROS1 y *SERPINC1* ha permitido identificar mutaciones en casi todos DPC; en los DPS y DAT el éxito es menor, sobre todo en los déficits ligeros. El estudio de varios genes mediante secuenciación masiva (NGS) incluirá otros genes candidatos y aumentará la capacidad de diagnóstico de estos déficits. Por otro lado, se detectaron mutaciones en los pacientes con niveles plasmáticos normales, lo que confirma el fallo en la detección de cambios cualitativos por los ensayos funcionales disponibles. Dado su valor añadido, la prueba molecular debe ser considerada para identificar pacientes con antecedentes personales/familiares significativos de trombosis, con niveles "normales/*borderline*" de estas proteínas. La integración de los datos clínicos juega un papel crucial en la correlación genotipo/fenotipo para evaluar la necesidad de profilaxis primaria o secundaria y medidas profilácticas en situación de riesgo.

PC-415 Caracterización molecular amplia de una familia con trobophilia: implicación de múltiples alteraciones genéticas de perfil de bajo riesgo trombotico

Carrasco Expósito M., Tirado García I., Romero Román I., Vilalta Setó n., Mateo Arranz J., Millón Caño J. A., Fontcuberta Boj J.

Unidad de Hemostasia. Hospital de Sant Pau. Barcelona

Introducción y objetivos: La trobophilia es un enfermedad compleja donde múltiples factores genéticos interaccionan entre ellos y con el ambiente para generar un gradiente de susceptibilidad a padecer la enfermedad. Uno de estos factores es el déficit de antitrombina (AT). La antitrombina (AT) es un inhibidor de serín proteasas que inactiva, entre otros, al Factor IIa y Xa. El objetivo de este estudio fue caracterizar a una familia con varios miembros con trombosis venosa y déficit de antitrombina Cambridge tipo II.

Se realizó un estudio biológico de trombosis en la propósitos ampliándose a sus familiares. Se incluyeron en el estudio las mutaciones del factor V Leiden, del gen de la protrombina F2G20210A, del factor XII F12C46T, mutación AT Cambridge tipo II (*SERPINC1* G13268T; p.Ala384Ser) y genotipo de grupo ABO.

Caso clínico: El propósitos es un paciente mujer que a la edad de 79 años presentó TVP poplítea idiopática. El estudio biológico resultó portadora heterocigota G/T para la mutación AT Cambridge tipo II y BO2 del grupo ABO. En su historia familiar, respecto a la trombosis, consta una hija con TVP poplítea a los 30 años secundaria a un politraumatismo, en esos momentos en tratamiento con anticonceptivos orales y fumadora. Se realizó estudio genético donde resultó ser heterocigota la mutación F2G20210A y A1B del ABO. Padre fallecido y con antecedente de TVP paraneoplásica. No otros antecedentes de trombosis conocidos en la familia. Se amplió estudio genético al resto de la familia con los siguientes resultados relevantes: hija segunda de la propósitos (actualmente 49 años): doble heterocigota para la mutación F2G20210A y AT Cambridge tipo II y A1O2 del ABO. Nieto de la primera hija (actualmente 30 años): homocigosis para la F2G20210A y

homocigoto A1A1 para el ABO. Su padre resultó presentar también homocigosis para la mutación F2G20210A sin antecedentes personales ni familiares de trombosis en esta parte de la familia. Nietos por parte de la segunda hija (10 y 15 años actualmente): ambos heterocigotos para mutación AT Cambridge tipo II, siendo uno de ellos además heterocigoto para la mutación F2G20210A y homocigoto T/T para F12C46T.

Discusión: En este trabajo describimos una familia con anti-trombina Cambridge tipo II en combinación con múltiples factores genéticos. La familia presentaba una clara clínica trombotica en diferentes miembros de la familia. Este ejemplo representa la composición oligogénica de la enfermedad tromboembólica, donde múltiples defectos genéticos coexisten modulando el riesgo a padecer la enfermedad.

Red Investigación Cardiovascular RD12/0042/0032.

PC-416 Caracterización de la hemostasia y el daño vascular en lupus eritematoso sistémico mediante técnicas globales y marcadores plasmáticos

Monzón Manzano E. (1), Fernández Bello I. (1), Martínez Barrios J. (2), López-Longo F. J. (2), Jiménez Yuste V. (1), Butta N. (1)

(1) Unidad de Trombosis y Hemostasia. Hospital Universitario La Paz-IDIPaz. Madrid. (2) Unidad de Reumatología. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid

Introducción: El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad autoinmune de origen desconocido con una alta tasa de mortalidad asociada a enfermedad cardiovascular donde un endotelio disfuncional y un entorno de hipercoagulabilidad pueden contribuir a un aumento en la incidencia de eventos tromboticos.

En este trabajo caracterizamos la hemostasia en pacientes con LES mediante tromboelastometría rotacional (ROTEM®), test de generación de trombina y niveles de PAI-1, y determinamos la relación entre el perfil hemostático, la actividad de la enfermedad y el daño endotelial.

Métodos: Se incluyeron 39 pacientes con LES sin historia de eventos tromboticos y 25 controles sanos. El ROTEM® se realizó en sangre citrada en condición naTEM (activación por vía de contacto). Se evaluó: tiempo de coagulación (CT, tiempo desde el comienzo del análisis hasta la amplitud de 2 mm, segundos [s]); el ángulo alfa (velocidad de polimerización de la fibrina, grados); la firmeza máxima del coágulo (MCF, mm); el tiempo de formación de coágulo (CFT, tiempo desde la amplitud de 2 mm hasta la amplitud de 20 mm, s) y la amplitud a los 5 minutos (A5, mm). La generación de trombina asociada al factor tisular (FT) de micropartículas (MP) se determinó mediante Trombinografía Automática Calibrada (CAT) con MP-Reagent (Diagnostica Stago). Se evaluó el potencial endógeno de trombina (ETP, trombina total generada); el tiempo de latencia (LT, tiempo hasta obtener una concentración de 10 nM de trombina); el tiempo al pico (ttPico, tiempo hasta alcanzar la máxima concentración de trombina) y el pico (concentración máxima de trombina). Los niveles plasmáticos de E-selectina y PAI-1 se determinaron mediante ELISA.

El análisis estadístico se realizó con SPSS v.9.0.

Resultados: Los parámetros del ROTEM® mostraron un perfil hipercoagulable en pacientes con LES. El CT y el CFT fueron menores ($p < 0,001$), y el MCF, ángulo alfa y A5 fueron mayores ($p < 0,001$, $p < 0,02$ y $p < 0,001$, respectivamente) respecto a los observados en controles. Los parámetros del CAT no mostraron diferencias significativas entre ambos grupos. Se observó una correlación baja pero significativa entre la actividad de la enfermedad (SLEDAI) y el CT (test de Spearman; $r = -0,3577$, $p < 0,05$). En los pacientes con LES, la generación de trombina asociada a MP se correlacionó significativamente con los parámetros del ROTEM® (Tabla I). El daño endotelial se evaluó midiendo PAI-1 y E-selectina en plasma. No se observaron diferencias en el nivel de E-selectina entre ambos grupos, sin embargo, PAI-1 estaba elevado en el grupo de pacientes con LES ($p < 0,006$). Los niveles plasmáticos de PAI-1 no se correlacionaron con los parámetros del ROTEM®.

Conclusiones: El ROTEM® permite detectar un estado hipercoagulable en pacientes con LES. Se observó una relación entre el estado hipercoagulable en pacientes con LES y la actividad de la enfermedad. El estado hipercoagulable puede estar relacionado con el incremento de FT asociado a MP y al incremento de los niveles plasmáticos de PAI-1.

Tabla I. Correlaciones entre ROTEM® y CAT

		Tiempo de latencia (MP)	ETP (MP)	Pico (MP)	ttPico (MP)
CT	r	0,536	-0,547	-0,541	0,519
	p	0,010	0,008	0,009	0,013
	N	22	22	22	22
A5	r	-0,410	0,589	0,566	-0,403
	p	0,058	0,004	0,006	0,063
	N	22	22	22	22
CFT	r	0,443	-0,552	-0,30	0,431
	p	0,039	0,008	0,011	0,45
	N	22	22	22	22
MCF	r	-0,260	0,477	0,463	-0,254
	p	0,242	0,025	0,030	0,255
	N	22	22	22	22
MCF-t	r	0,487	-0,464	-0,458	0,490
	p	0,022	0,030	0,032	0,020
	N	22	22	22	22
alfa	r	-0,445	0,561	0,539	-0,431
	p	0,038	0,007	0,010	0,045
	N	22	22	22	22

Se observó una dependencia estadísticamente significativa entre la velocidad de formación del coágulo (descrita por los parámetros alfa, CFT y MCF-t), la fortaleza del coágulo (descrita por los parámetros AS y MCF) y la capacidad de generación de trombina dependiente de la presencia de factor tisular asociado a micropartículas (ETP y Pico). Aparecen sombreadas en azul las correlaciones estadísticamente significativas.

PC-417 Estudio de las trombosis en la infancia en un hospital terciario universitario

Yus Cebrián M. F., Fernández Mosteirín N., Coello de Portugal Casana C., Andrade Campos M., Calvo Villas J. M. (1)

Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza

Introducción: El objetivo de este estudio retrospectivo es mostrar la experiencia en el manejo de la patología trombótica en un hospital universitario.

Pacientes y métodos: Se revisaron las historias de todos los pacientes.

Resultados: Se incluyeron 48 pacientes (19 niñas) con 49 trombosis. La edad mediana fue 1 año (rango, 0-17); 24 eran lactantes (25% neonatos) y 24 > 1 año. La localización fue: 19 accidentes cerebrovasculares (ACVA), 13 trombosis venosas profundas (TVP), 8 trombosis de senos venosos cerebrales (TSVC), 4 trombosis de porta/vena cava inferior, 2 isquemias arteriales de extremidades, 1 *purpura fulminans*, 1 trombosis de vena subclavia y 1 de vena suprahepática. Distribución por edades: 18 recién nacidos (RN) (< 1 mes), 6 lactantes < 1 año, 12 niños (1-13 años) y 12 adolescentes (14-17 años). La presentación de la trombosis según la edad fue: 12 ACVA en RN, 2 TVP y 2 trombosis de la vena porta en lactantes; 4 TSVC en escolares y 6 TVP en adolescentes. Los FR adquiridos fueron sepsis y cáncer en 15 y 6 pacientes, 4 portadores de CVC, 3 cardiopatías congénitas (CC), 2 sepsis + CC, 4 malformaciones arteriales, 1 inmovilización, 1 tratamiento hormonal + sepsis, y 1 encefalopatía hipóxico-isquémica perinatal (EHH). En 12 casos no se encontró FR trombótico. El cribaje de trombofilia se realizó en 36 niños con 9 estudios positivos: 2 mutaciones G20210A protrombina, 1 mutación G20210A + MTHFR, 1 mutación R506Q, 1 descenso de Proteína S, 1 anticoagulante lúpico (AL), 1 descenso de Proteína S + AL y 1 síndrome antifosfolípido-like. *Tratamiento anticoagulante:* 3 niños fueron tratados con heparina no fraccionada y 30 con enoxaparina (1 mg/kg/12 h). Mediana de tiempo de anticoagulación 3 meses. La media de controles de anti-Xa fue 6,96 (1-22) y controles en rango 4,61 (0-19). Un ACVA se trató con antifibrinolíticos, 4 ACVA con AAS y 15 sin terapia antitrombótica. El riesgo relativo de trombosis fue 6,2% (3/48) y la razón de mortalidad 4,1% (2/48). Los exitus fueron por patología subyacente: 1 EHH y 1 progresión tumoral. Un niño presentó sangrado gastrointestinal durante la anticoagulación.

Conclusiones: La distribución de las trombosis pediátricas por localización y edad fue similar a lo publicado. Los estudios de trombofilia en niños pequeños con la hemostasia en desarrollo se deben interpretar con cautela. En nuestra experiencia la monitorización del factor anti-Xa en pacientes pediátricos con trombosis es útil en el control del tratamiento con enoxaparina.

PC-418 Evaluación del uso de tromboprolifaxis farmacológica e incidencia de tromboembolismo venoso en pacientes oncológicos hospitalizados

Figueroa Mora R. (1), Alfonso Piérola A. (1), Villar Fernández S. (1), García-Mouriz A (1), Martínez Calle N. (1), Marcos Jubilar M. (1), López Picazo J. (1), Gil-Bazo I. (1), Páramo Fernández J. A. (1), Hermida J. (2), Lecumberri Villamediana R. (1)

(1) Clínica Universidad de Navarra. Pamplona, Navarra. (2) Centro de Investigación Médica Aplicada. Pamplona, Navarra

Introducción: Los pacientes con cáncer que precisan hospitalización presentan alto riesgo de tromboembolismo venoso (TEV). Aunque múltiples guías de práctica clínica recomiendan el uso sistemático de tromboprolifaxis farmacológica con heparina de bajo peso molecular (HBPM) en esta población, salvo si existe contraindicación, continúa existiendo una prescripción subóptima de la misma. El objetivo de este trabajo es presentar datos actuales de uso de tromboprolifaxis e incidencia de TEV en un hospital universitario, utilizando un sistema de alerta electrónica para la prevención del TEV.

Métodos: Estudio prospectivo incluyendo pacientes adultos consecutivos hospitalizados en los departamentos de Oncología y Hematología con cáncer activo. Para la estratificación del riesgo trombótico se siguió la escala PRETEMED modificada. Mediante el *software* del sistema de alerta electrónica se recogieron las variables clínicas y analíticas durante la hospitalización. Se ha evaluado la incidencia de TEV (confirmado por métodos objetivos), hemorragia mayor+clínicamente relevante y mortalidad durante la hospitalización y 30 días tras el alta hospitalaria. El análisis estadístico descriptivo y la correlación entre variables clínicas e incidencia de TEV (regresión logística) se realizó con el programa SSPS v20.

Resultados: Entre abril de 2014 y abril de 2016 se incluyeron un total de 1.127 pacientes (edad media 62 ± 13 años; 58,5% varones). 227 (20,1%) presentaban un tumor hematológico. Entre las neoplasias sólidas, las localizaciones más frecuentes fueron colorrectal (178) y pulmón (153). En el 53% de los casos, la neoplasia se encontraba en estadios avanzados. El 85% de los pacientes seguía tratamiento quimioterápico. La mediana de puntuación del riesgo de TEV fue 5 puntos (rango 3-13). Se pautó profilaxis con HBPM durante la hospitalización en el 67% de los pacientes. Durante la hospitalización y seguimiento posterior se registraron 29 episodios de TEV (2,6%), 37 eventos hemorrágicos clínicamente relevantes (4,1%) y 136 fallecimientos (12%). En 22 de los 29 episodios de TEV (75,8%), este aconteció a pesar de una adecuada tromboprolifaxis durante la hospitalización. No se encontró una correlación significativa entre ninguna de las variables clínicas analizadas y el riesgo de TEV.

Conclusión: Existe espacio de mejora en la tasa de utilización de tromboprolifaxis en pacientes con cáncer hospitalizados. No obstante, un porcentaje relevante de episodios tromboembólicos en esta población acontecen a pesar de una adecuada prescripción de la misma durante la hospitalización.

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por una beca para la investigación biomédica con bemparina de Laboratorios Farmacéuticos ROVI y por una ayuda a proyectos de investigación del Instituto de Salud Carlos III y del FEDER (P113/01029).

PC-419 Expresión diferencial de macropartículas circulantes (MP) en pacientes con enfermedad tromboembólica venosa (ETV) y pacientes con cáncer

Sánchez-López V. (1), Ferrer M. (1), Elías T. (1), Arellano-Orden E. (1), Jara L. (1), Rodríguez-Martorell F. J. (1), Sánchez-Díaz J. M. (1), España F. (2), Ramón-Núñez L. (2), Lobo-Beristain J. L. (3), Gao L. (1), Otero-Candelera R. (4)

(1) Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBiS). Hospital Universitario Virgen del Rocío/CSIC/Universidad de Sevilla. Sevilla. (2) Instituto de Investigación Sanitaria-Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia. (3) Hospital de Txagorritxu. Vitoria-Gasteiz, Araba. (4) Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBiS). Hospital Universitario Virgen del Rocío/CSIC/Universidad de Sevilla. Sevilla. Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Respiratorias (CIBERES), España

Introducción: Las MP son microvesículas entre 0,1 μm -1 μm de diámetro liberadas por las células durante procesos de activación, daño o apoptosis. Sus propiedades y funciones están determinadas por la célula que las origina. Son un reflejo de la activación celular o degeneración tisular *in vivo* y se les atribuye un papel como biomarcadores diagnósticos y/o pronósticos de procesos patofisiológicos. Elevados niveles de MP están asociados a diversas patologías relacionadas con procesos de inflamación, coagulación o angiogénesis.

Objetivo: Evaluar la expresión diferencial de MP circulantes en dos cohortes de pacientes: 1 diagnosticados de ETV sin cáncer; 2 diagnosticados de cáncer sin ETV.

Métodos: A los pacientes se les extrajo sangre venosa en tubos citratados. La sangre se centrifugó a 1.500 g 30 min 4 °C sin freno para obtener plasma pobre en plaquetas (PPP). Mediante citometría de flujo (BD LSRII Fortessa) en el PPP se cuantificaron los niveles de MP totales, MP positivas para factor tisular (FT), MP positivas para glicoproteína sP-selectina ligando 1 (PSGL-1) y el origen celular (endotelial, leucocitario o plaquetar) utilizando anticuerpos conjugados monoclonales. La calibración del citómetro se realizó con bolas de calibración Megamix plus-SSC (Biotec). Se consideraron MP todo evento de tamaño entre 0,1 μm -1 μm positivo para Annexin V. Para la cuantificación se emplearon bolas de contaje Perfect count beads (Cytognos). Adicionalmente se determinaron niveles de dímero D y sP-selectina mediante inmunoensayo.

Resultados: Se estudiaron 138 pacientes con ETV (edad media: 64.41 \pm 15.6, 5.8% hombres) y 96 pacientes con cáncer en estadio avanzado (edad media: 63.3 \pm 10.2, 69.8% hombres) distribuidos en 47 pulmonares, 28 gástrico-pancreáticos y 21 de colon. Se observó un aumento significativo de los niveles de MP con FT en los pacientes con ETV comparándolos con los niveles en pacientes con cáncer, así como en las determinaciones de dímero D y sP-selectina (Tabla I).

Conclusión: Los niveles de MP con FT en superficie, así como los niveles de dímero D y de sP-selectina discriminan entre pacientes con ETV no asociada a cáncer y pacientes con cáncer no asociados a ETV.

FIS PI 11/02308.

Tabla I. MP/mL. Mediana (rango intercuartílico)

Determinaciones	VTE (n = 138)	Cáncer (n = 96)	p-valor
MP/ml *10 ³	13489,52 (13788,34)	15410,92 (13115,04)	0,208
EMP / ml	23678,08 (17472)	20360,46 (19075)	0,797
PMP /ml *10 ³	10910,90 (11689,29)	12311,48 (10654,37)	0,146
LMP /ml	85455,86 (64869)	71543,69 (60808)	0,860
PSGL1+MP/ml	4382,67 (5323)	5149,44 (9732)	0,156
PSGL1+LMP/ml	1653,63 (1915)	1771,53 (1866)	0,312
TF+MP/ml	15021,22 (23524)	10461,61(17043)	0,027
FT+PMP/ml	3389,69 (9465)	3980,86 (7532)	0,857
Dímero D ($\mu\text{g/l}$)	3890,00 (5841,75)	687,00 (1123,00)	< 0,001
sP-selectina (ng/ml)	50,54 (32,25)	373,74 (20.17)	< 0,001

PC-420 Estudio de factores procoagulantes en pacientes con cáncer que desarrollan enfermedad tromboembólica

Sánchez-López V. (1), Ferrer M. (2), Elías T. (2), Beato C. (3), Arellano-Orden E. (1), Jara L. (2), Rodríguez-Martorell F. J. (2), Medina P. (4), Sánchez-Díaz J. M. (2), Gao L. (1), Otero-Candelera R. (2)

(1) Instituto de Biomedicina de Sevilla. Sevilla. (2) Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. (3) Hospital NISA. Pardo de Aravaca, Madrid. (4) Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia

Introducción: La trombosis es una de las complicaciones más frecuentes entre los pacientes con cáncer. Las micropartículas (MP) son unas microvesículas de entre 0.1 μm y 1 μm de diámetro liberadas por las células en condiciones de activación, daño o apoptosis. Son un reflejo de activación celular o degeneración tisular *in vivo* y se les atribuye un papel como biomarcadores diagnósticos y/o pronósticos de procesos patofisiológicos. Elevados niveles de MP se han encontrado en pacientes con diversas patologías relacionadas con procesos de inflamación, coagulación o angiogénesis.

Objetivo: Realizar un seguimiento de 2 años a pacientes con cáncer en estadio avanzado y diferenciarlos según si desarrollan o no trombosis. Evaluar la expresión diferencial de MP circulantes y otros factores procoagulantes entre los pacientes con cáncer que desarrollaron trombosis y los que no la desarrollaron.

Métodos: A los pacientes se les extrajo sangre venosa en tubos citratados. La sangre se centrifugó a 1.500 g 30 min 4 °C sin freno para obtener plasma pobre en plaquetas (PPP). Mediante citometría de flujo (BD LSRII Fortessa) en el PPP se cuantificaron los niveles de MP totales, MP positivas para factor tisular (FT), MP positivas para glicoproteína P-selectina ligando 1 (PSGL-1) y el origen celular (endotelial, leucocitario o plaquetar) utilizando anticuerpos conjugados monoclonales. La calibración del citómetro se realizó con bolas de calibración Megamix plus-SSC (Biotec). Se consideraron MP todo evento de tamaño entre 0,1 μm -1 μm positivo para Annexin V. Para la cuantificación (MP/ μl) se emplearon

bolas de conteaje Perfect count beads (Cytognos). Adicionalmente se determinaron niveles de Dímero D y sP-selectina mediante inmunoensayo.

Resultados: Se incluyeron un total de 120 pacientes con cáncer gastrointestinal y pulmonar en estadio avanzado (edad media: 62.00 ± 10.5 , 70% hombres) de los cuales 18 tuvieron eventos trombóticos. Los pacientes con cáncer asociado a trombosis presentaron niveles de MP leucocitarias positivas para PSGL-1 significativamente más bajos que los niveles de los pacientes oncológicos que no desarrollaron trombosis. En pacientes con cáncer de colon asociado a trombosis se encontraron altos los niveles de Dímero D comparados con pacientes con cáncer sin trombosis. No encontramos diferencias significativas entre los grupos cuando se compararon los niveles del resto de subpoblaciones de MP estudiadas.

Conclusión: Según nuestro estudio los niveles de MP leucocitarias positivas para PSGL-1 diferencian pacientes con cáncer que desarrollan trombosis de pacientes con cáncer que no la desarrollan. Por otro lado los niveles de Dímero D son capaces de diferenciar pacientes con cáncer de colon que desarrollan trombosis de pacientes oncológicos sin trombosis.

FIS PI 11/02308.

PC-421 Incidencia y factores de riesgo de la trombosis venosa profunda (TVP) asociada a catéter central de inserción periférica (PICC) en pacientes hematológicos

Baile M., Veiga Á., Arratibel N., Rodríguez B., Sastre M., del Rey Ó., Martín Ana Á., Vázquez L., Sánchez-Guijo F., López-Corral L., López-Parra M., Pérez-López E., García-Sanz R., Martín A., Cabrero M., Caballero D., González-Porras J. R., Bastida J. M.

Complejo Asistencial Universitario de Salamanca. Salamanca

Introducción: Los catéteres centrales de acceso venoso periférico (PICC) son útiles en las pacientes hematológicas por la necesidad de tratamiento intravenoso prolongado, soporte transfusional y extracciones analíticas rutinarias. Sin embargo, no están exentos de complicaciones. Los objetivos de nuestro estudio fueron: a) analizar la incidencia de TVP asociada a PICC en pacientes hematológicos, b) describir los posibles factores implicados en su aparición y c) evaluar su manejo terapéutico.

Material y métodos: Análisis retrospectivo de 165 pacientes portadores de PICC de poliuretano canalizado por enfermeras experimentadas en la técnica desde mayo/2010 hasta mayo/2016. Hasta el año 2014 la técnica de canalización fue ciega y a partir de 2015 eco-guiada. Se definió caso de TVP la presencia de segmento venoso no compresible por ecografía-doppler. Realizamos el análisis uni y multivariante para determinar los factores implicados en la aparición de TVP mediante regresión logística (SPSS v.20).

Resultados: La incidencia global de TVP asociada a PICC fue de 7,9% (n = 13). Las características de los pacientes y su asociación o no a TVP se describen en la [tabla I](#), [ver página siguiente](#). De los 13 pacientes con TVP relacionada con el catéter, 5 estaban diagnosticados de LNH, 4 de LLA, 3 de LH y 1 MM. El 92% (n = 12) esta-

ban recibiendo quimioterapia, 4 asociaban infección activa (31%), un caso tenía antecedente de TVP previa y otro de inmovilización reciente. La mediana de aparición de la TVP fue de 35 días, siendo en 7 de ellos (53,85%) en los primeros 30 días tras la inserción. En 8 casos (61,5%) el DD se elevó al diagnóstico. La mediana de plaquetas fue de 201,000/ml. Todos los casos presentaban enfermedad activa durante la canalización y en ningún caso hubo complicaciones relacionadas con la técnica. No se describió ningún caso en pacientes con hemopatía mielóide (LMA/SMD) ni en pacientes en remisión completa. Comparando con los pacientes que no presentaron TVP, la incidencia fue significativamente mayor en pacientes con LLA y LH, así como en aquellos que recibieron L-asa. El análisis univariante mostró que la edad > 50 años (p = 0,08), la LLA (p = 0,006), el LH (p = 0,015) y el tratamiento con L-Asa (p = 0,039) presentaron mayor riesgo de TVP asociada a PICC, mientras que el diagnóstico de LLA [33,3(1,5-725); p = 0,026] y LH [23,5(1,5-382); p = 0,026] mantenían su influencia independiente en el análisis multivariante. La estrategia terapéutica consistió en la retirada del catéter (mediana de 3 días) y el tratamiento con heparina de bajo peso molecular desde el diagnóstico hasta una mediana de 92 días (mínimo 30 días). Ningún paciente padeció progresión de TVP, TEP o retrombosis.

Conclusiones:

1. La incidencia de TVP asociada a PICC es asumible y está en concordancia con la reportada en la literatura.
2. Los pacientes diagnosticados de LLA y LH tienen mayor riesgo de sufrir una TVP asociada a PICC, por lo que se podría plantear la realización de profilaxis antitrombótica.
3. El manejo de la TVP asociada a catéter es complicada.
4. Es necesario realizar estudios en series más amplias que permitan evaluar las situaciones de riesgo de TVP en este tipo de pacientes.

PC-422 La cirugía bariátrica mejora el perfil de hipercoagulabilidad en los pacientes con obesidad mórbida

Marco Rico A., Sánchez Tejada L., López Castaño F., Marco Vera P.
Hospital General Universitario de Alicante. Alicante

Introducción: La obesidad mórbida es un estado inflamatorio crónico, que se asocia a activación del sistema hemostático, lo que genera una situación de hipercoagulabilidad. Además la obesidad es un factor de riesgo independiente para el tromboembolismo venoso. Tras la cirugía bariátrica los pacientes consiguen una pérdida masiva de peso corporal y una mejoría de los factores de riesgo cardiovascular. Esta pérdida de peso también mejora el estado inflamatorio, factores metabólicos y hemodinámicos. Por tanto es de suponer que estos cambios también se asocien a una mejoría de los parámetros de hemostáticos, y así disminuir el riesgo de tromboembolismo. La medición de la generación de trombina es una forma objetiva de cuantificación del estado de hipercoagulabilidad, como prueba global de la hemostasia.

Objetivos: Evaluar los cambios inducidos por la cirugía bariátrica como factores de corrección del perfil de hipercoagulabilidad

Tabla I. Características clínicas e incidencia de TVP asociada a PICC				
Características		No TVP: 152 (92,1%)	Sí TVP: 13 (7,9%)	p valor
Edad	<50 años: 51 (31,5%)	45 (86,5%)	6 (5,3%)	0,07
	>50 años: 113 (68,5%)	106 (94,7%)	7 (13,5%)	
Sexo	Varón: 93 (56,4%)	84 (90,3%)	9 (9,7%)	0,25
	Mujer: 72 (43,6%)	68 (94,4%)	4 (5,6%)	
FRCV	No: 79 (47,9%)	72 (91,1%)	7 (8,9%)	0,23
	Uno: 56 (33,9%)	54 (96,3%)	2 (3,6%)	
	Dos o más: 30 (18,29%)	26 (86,6%)	4 (13,3%)	
Factores protrombóticos	Cirugía reciente: 25 (15,29%)	23 (92,1%)	2 (8%)	0,62
	TVP previa: 25 (15,2%)	10 (90,9%)	1 (9,1%)	0,61
	Inmovilización: (10,7%)	16 (94,1%)	1 (5,9%)	0,6
	Traumatismo: 6 (3,6%)	6 (100%)	0 (0%)	0,61
Enfermedad hematológica	LNH: 75 (45,5%)	70 (93,3%)	5 (6,3%)	0,08
	LMA/SMD: 41 (24,8%)	41 (100%)	0 (0%)	
	MM/AL: 17 (10,3%)	16 (94,1%)	1 (5,9%)	
	LLA: 14 (8,5%)	10 (71,4%)	4 (28,6%)	
	LH: 13 (7,9%)	10 (76,9%)	3 (23,1%)	
	OTROS: 5 (3%)	5 (100%)	0 (0%)	
Situación/enfermedad	Activa: 137 (83,3%)	124 (90,5%)	13 (9,5%)	0,08
	R. completa: 29 (16,7%)	28 (100%)	0 (0%)	
Trasplante MO	No: 122 (73,9%)	111 (91%)	11 (9%)	TPH Sí vs NO 0,29
	Sí: 43 (28,2%)	41 (95,3%)	2 (4,7%)	
	Alogénico: 30 (16,1%)	29 (96,7%)	1 (3,3%)	Alo vs Auto 0,50
	Autólogo: 12 (7,3%)	11 (91,7%)	1 (8,3%)	
Fármacos "proTVP"	L-Asa: 12 (7,3%)	9 (6,9%)	3 (23,1%)	0,02
	IMiDs: 17 (%)	16 (94,3%)	1 (5,7%)	0,57
	EPO: 10 (6,1%)	9 (90%)	1 (10%)	
	Analog.TPO: 2 (1,2%)	2 (100%)	0 (0%)	0,40
	G-SCF: 88 (53,3%)	82 (93,2%)	6 (6,8%)	
Profilaxis antiTVP	NO: 126 (77%)	120 (95,2%)	6 (4,8%)	0,31
	HMBP: 19 (11,7%)	16 (84,2%)	3 (15,8%)	
	AAS: 15 (9,5%)	15 (100%)	0 (0%)	
	ACOs: 3 (1,8%)	2 (66,7%)	1 (33,3%)	
Factores PICC	Técnica de inserción			0,06
	Ciega: 90 (54,5%)	86 (95,6%)	4 (4,4%)	
	Ecoguiada 75 (45,5%)	66 (88%)	9 (12%)	
	Complicaciones insercción			0,1
	No 135 (81,8%)	27 (100%)	0 (0%)	
	Sí 27 (16,4%)	123 (81,1%)	12 (8,9%)	
Localización central			0,31	
Cavo-auricular: 72 (43,6%)	66 (91,7%)	6 (8,3%)		
Aurícula derecha: 44 (26,7%)	41 (93,2%)	3 (6,8%)		
Cava superior: 28 (17%)	24 (85,7%)	4 (14,3%)		

en pacientes con obesidad mórbida, y analizar su asociación al perfil de riesgo cardiovascular.

Material y métodos: Hemos realizado un estudio prospectivo, en pacientes candidatos a cirugía bariátrica, incluidos desde mayo de 2014 a julio de 2015 en el Hospital General Universitario de Alicante. Se excluyeron a aquellos pacientes que tenían antecedentes personales de tromboembolismo venoso o arterial, o que estaban en tratamiento antitrombótico. El estudio fue aprobado por el comité ético de nuestro hospital. A todos los pacientes se les extrajeron muestras a la entrada en el estudio, tras la realización del ayuno

modificado, al mes de la cirugía y 6 meses tras la intervención. La generación de trombina se midió mediante el trombograma calibrado automático, por fluorimetría, según el método de Hemker (Calibrated Automatic Thrombinogram, Diagnostica Stago, París). Analizamos el tiempo de latencia (LT seg.); Pico máximo de trombina (PMAX); Tiempo para alcanzar el pico de trombina (TMAX seg); Potencial Endógeno de Trombina (ETP); y tiempo de inhibición (ST seg.). Todos los pacientes recibieron tromboprofilaxis post-quirúrgica durante 30 días. Para el análisis de datos se utilizó el programa SPSS v.20, dando como significación estadística $p < 0,05$.

Resultados: Setenta y cuatro pacientes completaron las 4 extracciones de sangre y las visitas programadas. 70% mujeres, edad media 45,6 años (35,5-55,8). El IMC medio 49,8 kg/m² (41,8-57,7). Respecto a los parámetros de la generación de trombina: el LT se alargó de forma significativa al mes y a los 6 meses de la cirugía. El P_{MAX} disminuyó de forma significativa al mes y a los 6 meses de la cirugía, al igual que el ETP que también disminuyó de forma significativa al mes y a los 6 meses de la cirugía. No encontramos cambios significativos entre la vista basal y la prequirúrgica (ayuno modificado).

Conclusiones: La cirugía bariátrica mejora la situación de hipercoagulabilidad de los pacientes con obesidad mórbida, expresado como una disminución significativa de la generación de trombina, especialmente el pico máximo de trombina y el ETP, y contribuye a modificar el perfil de riesgo cardiovascular de estos pacientes.

PC-423 Estudio de asociación entre los SNP F11 rs2036914 y ABO rs2519093 y la enfermedad tromboembólica venosa en una muestra de población portuguesa

Manco L. (1), Martinho P. (2), Fidalgo T. (2), Silva C. (2), Oliveira A. C. (2), Salvado R. (2), Ribeiro M. L. (2)

(1) Universidade de Coimbra. Coimbra, Portugal. (2) Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra. Coimbra, Portugal

Introducción: La enfermedad *tromboembólica venosa* (ETV) es la expresión patológica del desarrollo de un coágulo de sangre (trombo), en las venas profundas de la pierna que puede obstaculizar la circulación venosa (trombosis venosa profunda) o posteriormente embolizar, viajar a los pulmones y provocar la embolia pulmonar (tromboembolismo pulmonar). ETV es una entidad multifactorial causada por interacciones gen-gen y gen-medio ambiente. Doce genes han demostrado alojar variantes comunes y de baja frecuencia de susceptibilidad para ETV: *ABO*, *F11*, *F2*, *F5*, *FGG*, *GP6*, *KNG1*, *PROCR*, *SLC44A2*, *STXBP5*, *TSPAN15* y *VWF*. La base genética de ETV en las poblaciones de ascendencia europea ha sido bien establecida para las deficiencias de proteína C, FV Leiden y la variante protrombina G20210A. Los grupos sanguíneos no-O son un factor de riesgo común, pero suave para TEV.

Objetivo: El objetivo de este trabajo fue investigar la asociación entre dos SNPs en el genes *ABO* (rs2519093) y *F11* (rs2036914) con la ETV en una muestra de pacientes portugueses.

Métodos: Se estudiaron 127 pacientes con antecedentes de ETV tratada en 2014-2015 en CHUC, 18-65 años de edad, de ambos sexos (hombres 37, mujeres 90). Se excluyeron los individuos con antecedentes de neoplasia, los portadores de deficiencia de proteína C, S y antitrombina, con mutación homocigótica FV Leiden o protrombina G20210A. Los controles fueron 100 individuos, 20-57 años de edad, de ambos sexos (hombres 13, mujeres 88), sanos, sin antecedentes personales o familiares de ETV, trabajadores de CHUC. Después de consentimiento informado, se extrajo ADN genómico de muestras de sangre periférica. El SNP rs2519093 se analizó mediante RFLP utilizando DdeI y rs2036914

fue analizado mediante el ensayo TaqMan. El análisis estadística fue realizado con *software* PLINK.

Resultados: La tasa de genotipificación total fue de 0,984. Las frecuencias de los alelos fueron F11 rs2036914 T: 0,391, C: 0,609 (N=224) y ABO rs2519093 A: 0,323, G: 0,677 (n = 223) en el conjunto de la población. Las frecuencias de alelos menores (MAF) en la población de referencia vs. grupo afectado fueron: C: 0,399/C: 0,384 para F11 rs2036914 y A: 0,275/A: 0,365 para ABO rs2519093. Las distribuciones de genotipo estaban en equilibrio de Hardy-Weinberg para los dos polimorfismos F11 y ABO en la población total (p = 0,16 y p = 0,22, respectivamente), afectada (p = 0,13 y p = 0,55, respectivamente) y de referencia (p = 0,83 y p = 0,31, respectivamente). El análisis de regresión logística, en el modelo aditivo, no reveló asociación estadísticamente significativa con ETV para F11 rs2036914 (OR = 0,933, p = 0,734) y reveló una asociación marginalmente significativa para el alelo de riesgo A del SNP ABO rs2519093 (OR = 1,559; p = 0,043).

Conclusiones: Este trabajo, sugiere que el SNP rs2519093 situado en el intrón 1 del gen *ABO*, puede estar asociado con TVE (OR ~1,60), en concordancia con estudios anteriores. Este estudio no replica en la población portuguesa observaciones anteriores en otras poblaciones europeas de asociaciones significativas entre el SNP F11 rs2036914 y ETV.

PC-424 Profilaxis y tratamiento de la trombosis venosa asociada a catéter venoso central en pacientes con cáncer: resultados de un estudio DELPHI

Lecumberri R. (1), Jiménez Fonseca P. (2), Carmona-Bayonas A. (3), Fontcuberta J. (4), Font C. (5), Suárez C. (6), Otero R. (7), Rubio A. (8), Ruiz Artacho P. (9), Monreal M. (10), Muñoz A. (11), Colomé E. (12), Pérez Segura P. (13)

(1) Servicio de Hematología. Clínica Universidad de Navarra. Pamplona, Navarra. (2) Servicio de Oncología Médica. Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo, Asturias. (3) Servicio de Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia. (4) Unidad de Hemostasia y Trombosis. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. (5) Servicio de Oncología Médica. Hospital Clínic. Barcelona. (6) Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario La Princesa. Madrid. (7) Servicio de Neumología. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. (8) Servicio de Farmacia. Hospital Virgen de la Salud. Toledo. (9) Servicio de Urgencias. Hospital Universitario Clínico San Carlos. Madrid. (10) Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario Germans Trias i Pujol. Badalona, Barcelona. (11) Servicio de Oncología Médica. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. (12) Laboratorios LEO-Pharma S.A. Barcelona. (13) Servicio de Oncología Médica. Hospital Universitario Clínico San Carlos. Madrid

Introducción: La trombosis venosa asociada al empleo de un catéter venoso central (TVP-CVC) es una complicación frecuente en el paciente oncológico. La calidad de la evidencia existente acerca de la prevención y tratamiento de esta complicación es baja. El propósito del estudio fue desarrollar recomendaciones y proporcionar opiniones de expertos aplicables a nuestro entorno.

Método: Se utilizó la metodología Delphi para evaluar el grado de acuerdo sobre 31 cuestiones en un panel de 27 expertos de

diferentes especialidades involucradas en el manejo de la trombosis asociada a cáncer. Los participantes dieron sus respuestas por vía electrónica mediante una escala tipo Likert que iba desde 1 (totalmente en desacuerdo) a 4 (totalmente de acuerdo). Se consideró que existía consenso en las recomendaciones en las que al menos el 70% de los panelistas votó “totalmente de acuerdo” o “totalmente en desacuerdo”. Las recomendaciones que no alcanzaron un grado de acuerdo = 70% en la primera consulta fueron sometidas a una segunda ronda. Se presentan los resultados sobre la prevención y tratamiento de la TVP-CVC asociada a cáncer.

Resultados: Existía consenso entre los expertos en no recomendar profilaxis farmacológica de forma sistemática para la prevención de la TVP-CVC, así como en la necesidad de diagnóstico objetivo mediante ecografía-doppler, no siendo preciso confirmar con otras exploraciones adicionales (TAC o venografía). Con respecto al tratamiento, no se alcanzó ningún consenso, con la excepción de la no utilización de anticoagulantes orales de acción directa (ACOD) en este contexto (Tabla I). Dicotomizando las respuestas en dos grupos (totalmente o básicamente de acuerdo vs totalmente o básicamente en desacuerdo) se observaba consenso en recomendar tratamiento con HBPM durante 3-6 meses frente a otras opciones terapéuticas.

Conclusiones: El manejo de la TVP-CVC en los pacientes con cáncer es una cuestión no resuelta, existiendo discrepancias entre los propios expertos. Se precisan más estudios que aporten nuevas evidencias para definir el tratamiento óptimo de estos pacientes.

PC-425 Trombosis venosa cerebral masiva en recién nacido con déficit congénito de antitrombina secundario a mutación en el exón 3 del gen SERPINC1 C481c>

Izquierdo Sebastián S. (1), Argilés Aparicio B. (1), García Blanes C. (1), Corral de La Calle J. (2), Dasí Carpio M. Á. (1)

(1) Unidad de Hematología Pediátrica. Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia. (2) Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer y Centro Regional de Hemodonación. IMIB, Universidad de Murcia. Murcia

Introducción: El déficit congénito de antitrombina (AT) es un raro pero importante factor de riesgo de trombofilia con heren-

Tabla I. Trombosis asociada a catéter venoso central		
	Delphi Tipo de consenso	Delphi Expertos
En la ETEV asociada a catéter venoso central	n	27
Debe confirmarse mediante ultrasonografía doppler.	Acuerdo total Mediana (Q1, Q3)	85% 4 (4-4)
Además de ultrasonografía sería recomendable realizar otras pruebas complementarias (venografía o TAC de contraste).	Desacuerdo total Mediana (Q1, Q3)	11% 2 (2-2)
Si no se ha confirmado por ultrasonografía se deben realizar venografía o TAC por contraste.	Acuerdo total Mediana (Q1, Q3)	37% 3 (3-4)
En una trombosis venosa profunda de miembros superiores axilar o más proximal se debe realizar una supervisión más exhaustiva (p.ej. ultrasonografías seriadas) que en las trombosis más distales.	Acuerdo total Mediana (Q1, Q3)	7% 3 (2-3)
La profilaxis de la ETEV asociada al catéter está indicada	n	27
En los pacientes con otros factores de riesgo de trombosis.	Acuerdo total Mediana (Q1, Q3)	11% 3 (2-3)
No se recomienda el uso sistemático de trombopprofilaxis farmacológica.	Acuerdo total Mediana (Q1, Q3)	85% 4 (4-4)
El tratamiento de la ETV asociada al catéter venoso central	n	27
Debe realizarse con HBPM durante 3-6 meses.	Acuerdo total Mediana (Q1, Q3)	48% 3 (3-4)
Debe iniciarse con HBPM y pasar a AVK posteriormente.	Desacuerdo total Mediana (Q1, Q3)	59% 1 (1-2)
Debe realizarse con con ACOD durante 3-6 meses.	Desacuerdo total Mediana (Q1, Q3)	70% 1 (1-2)
La eficacia de los nuevos ACOD es similar a las HBPM.	Desacuerdo total Mediana (Q1, Q3)	63% 2 (1-2)
La relación beneficio/riesgo de los nuevos ACOD es similar a las HBPM.	Desacuerdo total Mediana (Q1, Q3)	63% 2 (1-2)
La trombólisis está recomendada en casos de trombosis refractaria y muy extensa que no progresa tras la retirada del catéter.	Desacuerdo total Mediana (Q1, Q3)	0% 2 (2-3)

cia autosómica dominante que causa trombosis venosas graves en niños. La verdadera prevalencia se desconoce y se estima (población adulta) de un 0,2%. La expresión clínica, correlación genotipo-fenotipo, manejo y seguimiento no están bien establecidas en la infancia.

Presentamos un caso de trombosis venosa cerebral masiva y su manejo en neonato con déficit de AT.

Caso clínico: Varón remitido a nuestro hospital a los 6 días de vida por trombosis de senos venosos. Madre diagnosticada de déficit de AT (tasa 42-46%), en un estudio familiar, sin antecedentes de eventos tromboembólicos. Embarazo normal. Parto no instrumentado. Circular de cordón. Ingresado a los 4 días de vida por crisis convulsiva. La RMN cerebral muestra trombosis masiva del seno longitudinal superior, inferior, seno transversal y confluencia de los senos rectos. Múltiples pequeños infartos en ambos hemisferios. La tasa de AT al diagnóstico de trombosis fue de 18%. Se administró enoxaparina a 2 mg/kg/12 horas y se trasladó a nuestro hospital. A su llegada control de anti-Xa de 0.1 UI/mL. Se inició tratamiento con concentrado de AT (40 UI/kg) alcanzando a las 9 horas tasa de AT de 60% y anti-Xa de 0.57 UI/mL. Las dosis posteriores de AT se ajustaron para mantener AT \geq 100% (47-169%, mediana de 109%). El anti-Xa se mantuvo entre 0.42-1.10 UI/mL, mediana 0.69 UI/mL. Tras 5 semanas de tratamiento la RM cerebral mostró una resolución casi completa de la trombosis con pequeños restos trombóticos en tercio medio de seno longitudinal superior, tercio medio de seno transversal derecho. Seno recto filiforme. Resto de senos intracraneales y yugulares permeables por lo que se mantuvo la anticoagulación a dosis profilácticas y tasa de AT alrededor del 70%. Tras un total de 59 días de tratamiento sustitutivo con AT se inicia profilaxis con acenocumarol que se mantiene hasta el momento actual (37 semanas). La evolución ha sido favorable sin déficits neurológicos. Ausencia de complicaciones hemorrágicas o nuevas trombosis durante los 10 meses de seguimiento. En ausencia de tratamiento sustitutivo presenta una tasa de AT 46% (8 meses de edad). Se ha detectado una mutación en el exón 3 del gen SERPINC1 en heterocigosis C481c>t (mutación con alto riesgo trombótico). Resto de estudio de trombofilia negativo.

Discusión: El déficit congénito de AT es un factor de riesgo de trombofilia que puede causar severos eventos trombóticos en la infancia. Su diagnóstico es indispensable para el adecuado manejo de la trombosis.

La evolución clínica favorable del paciente es el resultado del tratamiento con AT, alcanzando una tasa $>100\%$, de forma mantenida en el tiempo y asociada a una adecuada anticoagulación con enoxaparina ajustada para evitar complicaciones hemorrágicas o fallos de tratamiento. Con ello se consigue la práctica resolución de la trombosis minimizando así las secuelas neurológicas.

En este caso contrasta la ausencia de clínica trombótica en la madre, con la severidad de la trombosis de nuestro paciente sin que existan otros factores de riesgo trombótico añadidos al parto salvo la circular de cordón.

PC-426 Trombosis venosa profunda en paciente deficiencia genética de cistationina beta-sintetasa. A propósito de un caso

Juan García P., Perona Blazquez Á., Juncos Tobarra M. Á., Da Silva Cabañero B., García-Alcalá Hernández M., García Fernández F. J., Varo Castro M. J., Navarro Casado L.

Complejo Hospitalario Universitario de Albacete. Albacete

Introducción: La homocisteína es un aminoácido azufrado esencial sintetizado a partir de la metionina presente en las proteínas de los alimentos. Se conoce como 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).

Las causas genéticas de homocistinuria son: a) las deficiencias totales o parciales de las enzimas implicadas: básicamente CBS; b) defectos del metabolismo de cobalamina/folato; y c) deficiencias en sistemas de transporte. 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: a) I278T, que responde a B6; y b) G307S, que no responde a B6. No obstante, en la Península Ibérica la mutación T191M, sin respuesta a la piridoxina es la más prevalente. El principal motivo de morbimortalidad en la homocistinuria está representado por los fenómenos tromboembólicos. También posee toxicidad sobre los sistemas óseo, ocular, nervioso y vascular. Su tratamiento consiste en: a) aumentar la actividad enzimática administrando piridoxina; b) dieta baja en metionina, pobre en proteínas totales y suplementada con cisteína y con cistina; y c) betaína: cofactor en la remetilación de la homocisteína, efectiva en pacientes no respondedores a piridoxina.

Objetivo: Describir un caso clínico de HC en un paciente con trombosis venosa profunda (TVP), así como su diagnóstico.

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 que ingresa por TVP 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 de déficit de CBS, apareciendo hipermetioninemia. Para confirmar dicho déficit se solicita estudio genético, siendo negativo para las mutaciones I278T, G307S y T191M. Se procedió a solicitar la secuenciación completa del gen y se identificó por secuenciación la presencia en homocigosis de la mutación patogénica c1058C>T. Es mutación *missense* que conduce a la sustitución de un aminoácido treonina por metionina en la posición 353, compatible con un fenotipo de homocistinuria.

Conclusiones: La prevalencia de HC es baja, en nuestro país la mutación que se presenta con mayor frecuencia es la T191M. Nuestros resultados sugieren la necesidad de una secuenciación completa del gen ante una gran sospecha clínica para confirmar el diagnóstico, puesto que los pacientes piridoxina-resistentes con el tratamiento temprano (dietético y/o medicamentoso) presentan una evolución clínica buena o aceptable y el pronóstico en pacientes no tratados es malo pues un 25% mueren de vasculopatía antes de los 30 años.

Plaquetas/biología vascular

PC-427 Estudio retrospectivo del efecto del tratamiento con oseltamivir sobre el recuento plaquetario

Revilla N. (1), Heras I. (1), de la Morena-Barrio M. E. (2), Iniesta P. (1), Nieto J. B. (1), Corral J. (2), Vicente V. (2), Lozano M. L. (2)

(1) Centro Regional de Hemodonación. Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. IMIB-Arrixaca. Universidad de Murcia. Murcia. (2) Grupo de investigación CB15/00055 del Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER). Instituto de Salud Carlos III (ISCIII). Madrid.

Introducción: La escisión de ácidos siálicos terminales de las plaquetas durante la senescencia por parte de sialidasas favorece la eliminación de estas a nivel hepático (1). Un único trabajo reciente sugiere que la inhibición de sialidasas mediante oseltamivir (Tamiflu®), el agente utilizado a nivel clínico para tratamiento del virus Influenza, se relaciona con una tendencia a incrementos en recuentos plaquetarios (2).

Objetivo: El objetivo de este trabajo fue analizar el impacto que el tratamiento con oseltamivir tiene sobre las cifras de plaquetas.

Métodos: Estudio retrospectivo de 168 pacientes consecutivos del Servicio de Hematología y Oncología Médica que recibieron tratamiento con oseltamivir por sospecha de gripe desde nov-2009 a mar-2015. 82 pacientes fueron excluidos por haber recibido quimioterapia oral o sistémica mielotóxica en los 30 días previos y 38 pacientes por no disponer del recuento plaquetario previo al inicio de tratamiento. El diagnóstico microbiológico se llevó a cabo mediante métodos de inmunofluorescencia y enzimo-inmunoanálisis (EIA) en exudado nasofaríngeo y en los casos negativos, se realizó PCR específica. Se evaluó el recuento de plaquetas previo al inicio de tratamiento y tras finalización del mismo (mediana de 5 días), así como tras recuperación del síndrome infeccioso (mediana de 30 días) en los que estuviese disponible (n = 44/48).

Resultados: Los pacientes finalmente evaluables (n = 48) fueron divididos en pacientes con gripe (con positividad a cualquiera de los métodos diagnósticos, n = 34) y pacientes sin gripe (n = 14). La mediana de edad fue de 58,0 y 59,5 años; respectivamente. La dosis de oseltamivir fue de 75 mg/12 horas x 5 días para todos los pacientes, excepto para 3 del grupo de gripe confirmada que recibieron 150 mg/12 horas x 10 días (receptores de trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos en los 2 años anteriores). En el conjunto de pacientes se observó un aumento significativo de los recuentos de plaquetas después del tratamiento con oseltamivir ($170 \pm 95 \times 10^9/L$ en el momento basal vs. $190 \pm 103 \times 10^9/L$ a los 5 días de finalización del tratamiento, $p = 0,04$). Al igual que en el trabajo publicado (2), este efecto fue independiente de la presencia o no de infección por el virus de la gripe (Tabla I). Adicionalmente, la valoración de los recuentos de plaquetas al mes de la finalización del inhibidor no reflejó una oscilación significativa respecto a los recuentos de plaquetas a los 5 días del tratamiento ($182 \pm 91 \times 10^9/L$ vs. $184 \pm 100 \times 10^9/L$).

Conclusiones: Nuestro estudio confirma que el tratamiento con inhibidores de la sialidasa se asocia con un aumento del recuento plaquetario, independientemente de la presencia de infección por gripe. Si bien no se descarta que el ascenso de las plaquetas pueda relacionarse con una resolución de un proceso vírico, la estabilidad de las cifras de plaquetas a largo plazo tras la finalización de este tratamiento puede indicar una inhibición tardía que contribuye a la reducción en la eliminación de plaquetas a nivel de receptor hepático de proteínas desialiladas.

Bibliografía

- Grozovsky R et al. Nat Med 2015;21(1):47-54.
- Jansen AJ et al. Am J Hematol 2015;90(5):E94-E95.

PC-428 Disminución de la agregación plaquetar medida por agregometría de impedancia (Multiplate) en pacientes en tratamiento con dabigatran

Cerezo-Manchado J. J., García-Candel F., Cabañas Perianes V., Salido Fierrez E., Berenguer Piqueras M., Pérez López R., Labbadia F., Blanquer Blanquer M., García-Hernández A., Martínez García A. B., Moya Arnao M., Martínez Marín A., Fernández Poveda E., Navarro Almenzar B., Arroniz F., Moraleda Jiménez J. M.

Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, IMIB-Arrixaca. Universidad de Murcia. Murcia

Introducción y objetivo: El dabigatran es un anticoagulante oral de acción directa (ACOD) que se ha mostrado eficaz y seguro

Tabla I

Recuento de plaquetas PRE y POST oseltamivir (media, DS)	Pacientes con gripe (n = 34)		Pacientes sin gripe (n = 14)	
		PRE: 156 +/- 92 x 10 ⁹ /L	POST: 174 +/- 99 x 10 ⁹ /L	PRE: 203 +/- 94 x 10 ⁹ /L
	p = 0,139		p = 0,158	

en la prevención de los fenómenos tromboembólicos que sufren los pacientes con fibrilación auricular no valvular (FA). Este fármaco actúa de manera directa inhibiendo la trombina y provoca sobre todo una alteración de la vía intrínseca de la coagulación y de la vía final. La trombina es un agonista plaquetar, por lo que el dabigatran podría estar implicado en disfunciones de la agregación, aunque su impacto real en la función plaquetar no está totalmente determinado. Por este motivo realizamos un estudio preliminar en nuestro hospital para determinar la agregación plaquetar en pacientes tratados con dabigatran.

Métodos: Se realizó un estudio observacional en 17 pacientes elegidos de forma aleatoria que hubieran iniciado dabigatran en el último año en nuestro centro. Los resultados se compararon con los obtenidos en 8 donantes sanos de plaquetas escogidos aleatoriamente de nuestra base de datos. La agregación de plaquetas se cuantificó en los pacientes y controles usando MEA (Multiplate, Roche Diagnostics, Suiza). La indicación y dosificación de dabigatran se había realizado según criterio clínico. Las variables principales investigadas fueron: tiempo de agregación con cuatro agonistas: trombina, ADP, colágeno, ristocetina, TTPA, además de INR, dímero D, función renal y hepática y los parámetros demográficos habituales. Los análisis estadísticos se realizaron con SPSS 21.0 (SPSS Inc., Chicago, IL).

Resultados: Todos los pacientes tenían como indicación para el tratamiento con dabigatran una FA, las dosis de dabigatran fueron, 110 mg, en 7 pacientes (41%), y 150 mg en 10 pacientes (58%). Ningún paciente tomaba antiagregantes. La agregación de plaquetas inducida por TRAP medida por MEA no fue significativamente diferente en los pacientes en comparación con los controles 121 RI(94-127) vs. 122 RI(108-137) unidades ($p = 0.711$). Sin embargo la agregación usando como agonistas colágeno y ristocetina estaba significativamente disminuida en los pacientes con respecto a los controles, 48 RI(32-63) vs. 83 RI(69-110) ($p = 0.05$) y 76 RI(71-32) vs. 120 RI(97-142) unidades ($p < 0.01$). No hubo diferencias en la agregación dependiendo de la dosis de dabigatran.

Conclusión: A pesar de las limitaciones del estudio, observamos una alteración en la agregación plaquetaria medida por MEA en los pacientes tratados con dabigatran comparada con los controles sanos, pero al contrario de lo que cabría esperar, no explicada por la vía de la trombina. Estos hallazgos deben ser confirmados en estudios más potentes diseñados para este fin, ya que hasta la fecha no hemos encontrado en la literatura resultados similares.

PC-429 La fosforilación de STAT3 en plaquetas está regulada por el receptor del tromboxano, y modulada por glucosa, insulina y aspirina

Latorre Ana M., Vallés J., Santos M. T., Moscardó A.

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 en las plaquetas, a través del receptor del colágeno GPVI (1). Sin embargo no se han estudiado sus implicaciones en la respuesta plaquetaria con otros agonistas, ni los mecanismos de su regulación.

Objetivos: Investigar la implicación de la fosforilación de STAT3 en la transmisión de señales en plaquetas y estudiar su regulación por glucosa, insulina y aspirina.

Métodos: Empleamos plaquetas humanas lavadas. Para estudiar el papel de la fosforilación de STAT3 en la función plaquetaria, realizamos cinéticas a diversos tiempos, empleando distintas dosis de glucosa, insulina y aspirina. Como agonistas usamos trombina, colágeno y U466919 (análogo estable del TXA₂). La fosforilación de STAT3 se detecta mediante el empleo de anticuerpos específicos (*cell signaling*).

Resultados: En plaquetas en reposo STAT3 se encuentra parcialmente fosforilada. En el estudio cinético de la agregación plaquetaria, se observa que tras la activación con colágeno (1 o 16 mg/ml), trombina (0.1 U/ml) o U466919 (1 mM) se produce un aumento de la fosforilación de STAT3. El empleo de SQ29.548 (1 mM) (bloqueante del receptor del TXA₂), impide la fosforilación de STAT3 inducida por todos los agonistas, sugiriendo que la fosforilación de STAT3 no es específica del receptor GPVI del colágeno, sino del receptor del TXA₂. La incubación de las plaquetas con distintas dosis de glucosa (5 mM, 15 mM, 25 mM) o insulina (1 nM, 10 nM, 100 nM) produce un aumento de la fosforilación de STAT3 de forma dosis y tiempo dependiente, pero evita el incremento de la fosforilación inducida por agonistas. Por su parte la aspirina provoca la defosforilación completa de STAT3 en plaquetas en reposo y bloquea su fosforilación al activar con los distintos agonistas.

Conclusiones: Describimos por primera vez cómo la fosforilación de STAT3 es clave en los mecanismos de transmisión de señales inducidos por el TXA₂. Además demostramos que esta vía de señalización está regulada por glucosa e insulina. Finalmente describimos como un nuevo proceso regulado por la aspirina en plaquetas independiente de la síntesis de TXA₂ es el bloqueo de la fosforilación de STAT3. Nuestros resultados abren nuevas vías de investigación en la regulación de la función plaquetaria a través del control de la fosforilación de proteínas.

Bibliografía

1. Zhou Z. Circulation 2013. Becas. FIS13/00016. Beca de la FETH. Becario de la FETH. Red Cardiovascular [RD12/0042/0003]. Sociedad Valenciana de Cardiología.

PC-430 Respuesta al tratamiento (TTO) con rituximab en pacientes (PTS) diagnosticados de púrpura trombótica trombocitopénica (PTT) resistente a recambios plasmáticos masivos (RPM)

Abril Sabater L. (1), Xicoy Cirici B. (1), Morgades de la Fe M. (1), Goterris Viciado R. (2), Gómez Seguí I. (3), de la Rubia Comos J. (3), Grífols Ronda J. R. (1), Alonso Nogués E. (1), Rodríguez Hernández I. (1), Millá Santos F. (1), Navarro Ferrando T. (1), Maluquer Artigal C. (1), Linares Alberich M. (1), Sarrate García E. (1), Triguero Moreno A. (1), Feli Frasnado E. (1), Ribera Santasusana J. M. (1)

(1) Servicios de Hematología. ICO-Hospital Germans Trias i Pujol. Institut de Recerca Contra la Leucèmia Josep Carreras. Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona. (2) Hospital Clínico Universitario. Valencia. (3) Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia

Introducción: El tratamiento de primera línea de la PTT consiste en la combinación de RPM 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.

Tabla I	
PTT secundaria*	10/69 (52%)
Fiebre	15/69 (22%)
Alteraciones neurológicas	36/69 (52%)
Diátesis hemorrágica	20/45 (44%)
Leucocitos (x10e9/L) (n = 68)	8,9 [4,10;21,80]
Hemoglobina (g/L) (n = 69)	87 [44;148]
Plaquetas (x10e9/L) (n = 69)	15 [4;148]
Reticulocitos (x10e9/L) (n = 35)	144 [5,90;3374]
LDH (U/L) (n = 65)	1474 [26;5193]
Bilirrubina (mg/dL) (n = 67)	2,42 [0,10;24]
Creatinina (mg/dL) (n = 68)	2,98 [2;99]
Actividad ADAMTS13 < 5%	21/21 (100%)
IgG anti-ADAMTS13 positiva	16/16 (100%)
Trasfusión de CH	33/45 (73%)
Trasfusión de plaquetas	21/45 (47%)
Infusión de plasma	16/68 (28%)
Glucocorticoides	14 (20%)
Días entre diagnóstico e inicio RPM (n = 69)	1 [0;13]
Número de RPM (n = 46)	10 [3;39]
Otros tratamientos	42 (60%)
Esplenectomía	2 (3%)
Vincristina	1 (1%)
Rituximab	25 (36%)
Esplenectomía + rituximab	3 (4%)
Vincristina + rituximab	10 (14%)
Esplenectomía + vincristina + rituximab	1 (1%)

*Causas de PPT secundaria: puerperio (n = 1), GEA por *Campylobacter* (n = 1), amebiasis intestinal (n = 1), meningioma (n = 1), adenocarcinoma (n = 2), infección por VIH (n = 1), infección por VVZ tratada con Aciclovir (n = 1), infección por VHC tratada con ribavirina e interferón (n = 2). Se administró rituximab (375 mg/m²/semanales durante 4 semanas) en un total de 39 pts (56%).

Método: Análisis retrospectivo de 70 episodios de PTT (en 60 pts) diagnosticados en tres centros entre 1992 y 2016. Se recogieron las principales características clínico-biológicas y la respuesta al tratamiento.

Resultados: Veintinueve pts (41%) eran varones. Mediana de edad 44 años (19-81). Las características clínico-biológicas se describen en la **tabla I**. Treinta y cinco pts (50%) respondieron a la primera línea de tratamiento. La mediana de días entre el primer RPM y la RC fue de 5 (2-23). De los pts que no respondieron a RPM o que presentaron una exacerbación de la enfermedad, en 39 (56%) se administró una segunda línea con rituximab (375 mg/m²/semanales durante 4 semanas). De los pts que recibieron rituximab, un 90% alcanzaron una RC. La mediana de días entre el inicio del rituximab y la RC fue de 14 (3-35). La mediana de seguimiento de los pts vivos fue de 3,43 años (0,18-15,71). La probabilidad de SG a los 5 años fue del 81% (IC95%: 68%; 94%) y a los 10 años del 72% (IC95%: 52%; 92%). La probabilidad de SG a los 5 años en los pts que recibieron rituximab fue del 96% (IC95%: 88%; 100%), superior a la de los pts que no recibieron rituximab que fue del 69% (IC95%: 50%; 88%) (p = 0,042) (**Fig. 1**). Nueve pts fallecieron pero solo en dos la muerte se atribuyó a la PTT (shock hemorrágico).

Conclusiones: En este estudio, la mitad de los pts con PTT respondió al tto de primera línea con RPM. La mayoría de los pts que recibieron rituximab respondieron. La supervivencia global fue superior en los pts que recibieron rituximab, lo que sugiere que el rituximab puede ser una buena opción terapéutica de segunda línea en la PTT.

Financiado en parte con la beca PI10/01417 del Fondo de Investigaciones Sanitarias, RD12/0036/0029 de RTICC, Instituto Carlos III, 2014SGR225(GRE), Generalitat de Catalunya, y una ayuda de la Fundación "La Caixa".

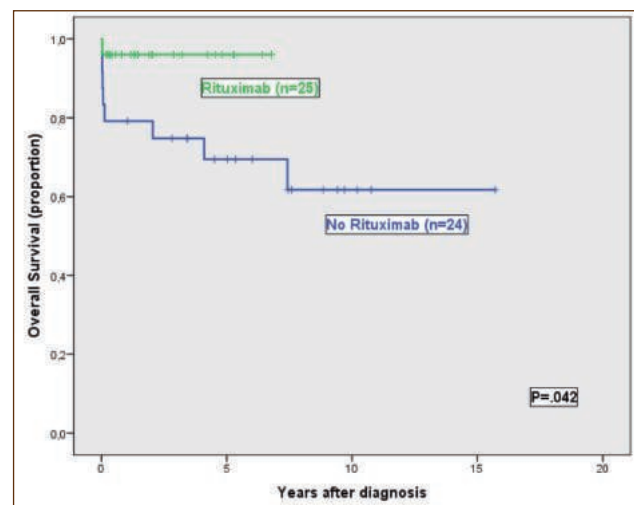


Figura 1.

PC-431 Macrotrombocitopenia autosómica dominante: casuística de un centro

Lau C., Pereira M., Gonçalves M., Cruz E., Lima M., Morais S.

Departamento de Hematología. Hospital de Santo António. Centro Hospitalar do Porto (HSA/CHP). Porto, Portugal

Introducción: Las trombocitopenias hereditarias son un grupo heterogéneo de enfermedades raras y de difícil caracterización. Hay una serie de estrategias propuestas para su estudio, pero la combinación del patrón de herencia con el tamaño plaquetario se ha mostrado prometedora. Esta estrategia permite diferenciar el grupo de las macrotrombocitopenias autosómicas dominantes (MTAD), caracterizado por trombocitopenia, plaquetas grandes/gigantes y síntomas hemorrágicos leves/moderados.

Las MTAD son defectos en la producción final de las plaquetas: el principal mecanismo se debe a defectos cuantitativos o cualitativos de la formación de la pro-plaqueta a partir de megacariocitos maduros, debido a cambios en los componentes de acto-miosina del citoesqueleto plaquetario (1). Son ejemplos de estas enfermedades los trastornos relacionados con MYH9 (MYH9RD) que incluyen un grupo heterogéneo de síndromes: *Epstein*, *Fechtner*, *Sebastian* y la Anomalía de *May-Hegglin*; las variantes de transmisión dominante del Síndrome de *Bernard-Soulier*; las macrotrombocitopenias con disminución de la expresión de la integrina $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$; así como la macrotrombocitopenia familiar asociada a mutaciones en el gen *ACTN 1*, descrita recientemente. Con fenotipo similar a MTAD, la enfermedad de von Willebrand 2B (vWD 2B) con mutaciones en el exón 28 del gen de vWF, en muy pocas familias, asocia macrotrombocitopenia y agregados de plaquetas circulantes, por interferencia en la megacariopoyesis (probablemente debido a la expresión anormal del gen de vWF mutado en la superficie de megacariocitos maduros y pro-plaquetas).

Métodos y resultados: Se describen las características clínicas y laboratoriales de pacientes seguidos en nuestro centro: siete familias presentan MTAD con disminución de la expresión de $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ (26 individuos), siete familias presentan MYH9RD (17 individuos: 13 confirmados y 4 probables), una familia presenta síndrome de *Bernard Soulier*, variante autosómica dominante (5 individuos) y por último una familia presenta vWD 2B. Hay aún dos familias que tienen MTAD de etiología desconocida.

Conclusiones: Esta revisión nos permitió evaluar las características clínicas y laboratoriales que se encuentran en las diferentes entidades y con esto discutir estrategias diagnósticas.

La MTAD más frecuente en nuestro Centro fue la trombocitopenia asociada a la deficiencia parcial de $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$, seguida de MYH9RD. Cabe señalar que en MYH9RD, la identificación de mutaciones tiene valor pronóstico, permitiendo una intervención precoz dirigida al síndrome asociado. Nos fue posible verificar que el análisis de los parámetros plaquetarios suministrados en los contadores hematológicos automatizados (volumen plaquetario medio y fracción de plaquetas inmaduras) y el conteo de plaquetas variable en las diferentes metodologías, nos pueden hacer plantear la existencia de estos trastornos.

PC-432 Características procoagulantes de las plaquetas de pacientes con trombocitopenia inmune

Justo Sanz R., Monzón Manzano E., Álvarez Román M. T., Martín Salces M., Fernández Bello I., Rivas Pollmar M. I., Rivas Muñoz S., Jiménez Yuste V., Butta Coll N.

Unidad de Trombosis y Hemostasia. Hospital Universitario La Paz-IdiPaz. Madrid

Introducción: La trombocitopenia inmune (PTI) es un trastorno autoinmune caracterizado por una disminución transitoria o persistente del recuento de plaquetas. Los pacientes con (PTI) presentan grandes variaciones en el número y la actividad de las plaquetas aunque las manifestaciones de sangrado no son tan frecuentes ni intensas como cabría esperar.

Objetivo: El objetivo de este estudio es conocer el perfil procoagulante de las plaquetas de los pacientes con PTI con el objeto de dilucidar si alguna característica de las mismas puede explicar esta observación.

Métodos: Se incluyeron 23 pacientes con PTI (edad media \pm ES: 59.6 ± 16.1 años) y 35 sujetos sanos (edad media de 41.9 ± 13.5 años) de ambos sexos y mayores de edad. La activación plaquetaria se evaluó por citometría de flujo (CMF, FACScan, BD Biosciences) determinando la unión de PAC1, anticuerpo que reconoce solo la forma activa del receptor de fibrinógeno, marcado con fluoresceína (FITC), tras activación con TRAP 100 μM (agonista del receptor PAR-1) y con ADP 10 μM . El recuento de plaquetas se determinó con un contador Coulter Ac-T diff (Beckman Coulter, Madrid). La exposición de fosfatidilserina (PS) en la superficie plaquetaria se determinó midiendo la unión a plaquetas de anexina V-FITC por CMF. La unión del factor (F) V activado (a) y del FXa (Haemtech, Alemania) a plaquetas lavadas se determinó por CMF usando anticuerpos monoclonales anti-FVa y anti-FXa marcados con FITC.

Resultados: Los pacientes con PTI tenían un número variable de plaquetas (141 ± 98). Las plaquetas de los pacientes con PTI mostraron menor capacidad de activación del receptor de fibrinógeno tras estimulación con TRAP y con ADP. También se observó una disminución en la capacidad de liberación de P-Selectina de los gránulos alfa tras la estimulación con los agonistas. Esta disminución en la actividad plaquetaria no se debió a una disminución en la expresión del receptor de fibrinógeno en las plaquetas de los pacientes con PTI. Las plaquetas de los pacientes con PTI exponían más PS que las de los controles (fluorescencia media [FM]: controles: 336 ± 128 , PTI: 588 ± 25 , $p < 0.05$). Dado que la PS es el sitio de anclaje del complejo protrombinasa, estudiamos la unión de los FVa y FXa en condiciones basales y tras activar las plaquetas con TRAP. La unión de estos factores en ambas condiciones fue mayor en el grupo de pacientes con PTI ($p < 0.05$). Cuanto menor era el número de plaquetas mayor era la exposición de PS (Spearman $r = -0.518$, $p < 0.001$), y la unión de FVa (Spearman $r = -0.8571$, $p < 0.005$) y de FXa (Spearman $r = -0.7455$, $p < 0.005$).

Conclusiones: Los pacientes con PTI mostraron menor capacidad de activación del receptor de fibrinógeno y de expresión de P-Selectina tras la estimulación con agonistas.

Las plaquetas de los pacientes con PTI tienen una mayor superficie procoagulante con mayor capacidad para unir el complejo protrombina (FXaVa) que el grupo control. Esto podría ser un mecanismo procoagulante compensatorio que podría reducir el riesgo de sangrado de los pacientes con PTI.

Ministerio de Economía y Competitividad. Fondo Europeo de Desarrollo Regional. Unión Europea. P115/01457

PC-433 Caracterización de las vesículas extracelulares en un modelo experimental de infarto de miocardio

Rodríguez J. A. (1), Orbe J. (1), Abizanda G. (2), Prósper F. (2), Páramo J. A. (2), Roncal C. (1)

(1) Centro de Investigación Médica Aplicada. Universidad de Navarra. Pamplona, Navarra. (2) Clínica Universidad de Navarra. Pamplona, Navarra

Introducción: Las vesículas extracelulares (EV) son liberadas a la circulación por todas las células del organismo en condiciones fisiológicas y aumentan en condiciones patológicas. Están cargadas con receptores, proteínas, microRNA, etc. de la célula u órgano de procedencia y tienen la capacidad de transferir información biológica a otras células diana. Por tanto, se pueden considerar mensajeros intercelulares así como marcadores de activación y daño celular y se ha propuesto que su determinación en circulación podría representar un nuevo marcador de riesgo cardiovascular.

Objetivos: a) determinar los cambios en el número y el origen celular de las EV en un modelo experimental de infarto de miocardio (IM) en ratón; y b) analizar *in vitro* la interacción de las EV de origen cardíaco con el endotelio.

Métodos: Se realizó un modelo experimental de IM en ratones C57BL6/J por ligadura de la arteria coronaria descendente anterior izquierda. Se determinó el número y origen celular de EV por citometría de flujo, con anticuerpos frente a CD41 (plaquetas), CD31 (células endoteliales), CD45 (leucocitos), TER119 (eritrocitos) y conexina-43 (cardiomiocitos) en plasma doble centrifugado obtenido a nivel basal y 3, 15 y 30 días post-isquemia. *In vitro*, se incubaron células endoteliales murinas (línea celular MS1) en presencia de EVs producidas por cardiomiocitos murinos (línea celular HL1), para estudiar su internalización por microscopía confocal.

Resultados: El número total de EV fue similar antes (806 ± 12 EV/mL) y después de ischemia (EV/mL: 741 ± 108 D3, 670 ± 84 D15, 704 ± 84 D30). No se observaron cambios en el número de EV derivadas de leucocitos, plaquetas o eritrocitos a los distintos tiempos post-infarto. Sin embargo, las EV endoteliales incrementaron un 50% a los 3 días post-isquemia y gradualmente volvieron a nivel basal, mientras que las EV de cardiomiocitos aumentaron un 35% a los 3 días, manteniéndose elevadas a los 15 días (216 ± 16 EV/mL, $p = 0.037$) y disminuyendo a día 30 (200 ± 13 EV/mL). *In vitro*, las células endoteliales MS1 internalizaron las EV purificadas de los cardiomiocitos HL1.

Conclusiones: El aumento temprano de las EV de origen cardíaco y endotelial en la sangre circulante tras ischemia miocárdica, y su progresivo descenso en estadios más tardíos, indica una liberación

dinámica de EV en respuesta al daño orgánico. *In vitro*, la internalización endotelial de las EV derivadas de cardiomiocitos sugiere que pueden tener una función fisiopatológica.

Fuente de financiación: FIS (P114/01152).

PC-434 Método modificado para evaluar la función plaquetar por agregometría

Barreira R. (1,2), Patrício D. (1), Carvalho A. (2), Gabriel A. J. (2), Simões A. T. (1), Oliveira A. C. (1), Fidalgo T. (1), Sevivas T. (1), Salvado R. (1), Pego J. M. (1), Rodrigues F. (1), Ribeiro M. L. (1)

(1) Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra. Coimbra, Portugal. (2) Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Coimbra. Coimbra, Portugal

Introducción: La agregometría, prueba estándar para diagnóstico de trastornos plaquetarios, es una técnica de difícil ejecución e interpretación subjetiva por su considerable dependencia del operador siendo de difícil normalización, en especial en los aparatos más antiguos. Con el fin de aclarar trastornos plaquetarios, su desenvolvimiento, ha adquirido, en los últimos años un carácter perentorio. El desarrollo de pruebas más sencillas y con menos dependencia del operador fundamental para obtener resultados más objetivos y normalizados.

Objetivo: Aplicación de nueva metodología, más fácil y fiable, para análisis cuantitativo de las curvas de agregación plaquetaria.

Material y métodos: Población 34 muestras: 14 controles y 20 pacientes con sospecha de trombopatía. Utilizamos: Analizador CELL-DYN Sapphire™ para recuento de plaquetas (PLT), volumen medio plaquetar (MPV) y anisocitosis plaquetaria (PDW); agregómetro, Dual Aggro - meterChrono -log^o, para curvas de agregación plaquetaria con agonistas: ristocetina (Rist), colágeno (Col 2 mg/ml), ADP 5 y 10 μM, epinefrina (Epi 10 mM), ácido araquidónico (AAR) 0,5 y 1,6 M y TRAP 25 M; software Digitize it para analizar curvas de agregación, este programa proporciona coordenadas para posterior transferencia a formato.csv. Integral de Riemann en hoja de cálculo Excel $(b1 + b2) / 2 * (A2 - A1)$ que correlaciona tiempo con la agregación, para cálculo de área bajo la curva (AUC). Programa GraphPad Prism 5 para análisis estadístico (significación estadística $p < 0,05$).

Resultados: Valores de referencia en tabla I. Diferencia de medias: Control/pacientes AUC: Rist, $t = 900$, $p = 0,053$; AAR0.5, $t = 3600$, $p = 0,0121$; AAR1.6, $t = 880$, $p = 0,458$; ADP 5, $t = 4700$, $p = 0,049$; ADP 10, $t = 3,900$, $p = 0,022$; EPI10, $t = 3700$, $p = 0,024$; TRAP, $t = 1,900$, $p = 0,164$; Col, prueba $t = 5600$, $p = 0,007$. Valores de AUC inferior a 50% de los valores de referencia fueron considerados alteración de función plaquetaria: curva de agregación "anormal". De todos pacientes: 10 tuvieron valores AUC bajos (4 con solo 1 agonista y 6 con = 2). De 4 con respuesta reducida solo 1 agonista: 1 con ristocetina, 3 epinefrina. Los 6 con respuesta reducida con = 2 agonistas: 2 disminución con ADP y EPI, 2 disminución con Col y EPI, 1 con disminución de AAR, ADP, EPI y Col y 1 con respuesta anormal con todos, menos con ristocetina). Fueron considerados normales 13 pacientes y anormales 7: 1 síndrome de Bernard-Soulier, 5 defectos SPD / señal y 1 trombostenia de

Glantzman. Mediante prueba k de Cohen se observó muy buen acuerdo con la evaluación cualitativa ($k = 0,81$).

Conclusión: Clasificación de curvas de agregación en “normal” o “anormal” usando este método cuantitativo estaba de acuerdo con la metodología cualitativa estándar. Permitted confirmación de resultados en curvas dudosas en la metodología cualitativa, sobre todo en defectos SPD/Señal. Es posible, en agregómetros manuales, valorizar la metodología sin perder información, sin aumento de coste pero mejorando en calidad y simplicidad.

Tabla I. Valores de referencia AUC				
	Media		Desviación estándar	Intervalo de referencia
AUC Rist	10.966,747	±	1.355,409	9.611 - 12.322
AUC AAR. 0,5	8.052,294	±	3.150,209	4.902 - 11.203
AUC AAR 1,6	9.374,395	±	3.520,967	5.853 - 12.895
AUC ADP 5	8.126,895	±	2.141,946	5.985 - 10.269
AUC ADP 10	9.175,829	±	2.151,864	7.024 - 11.328
AUC EPI 5	4.954,743	±	2.354,884	2.782 - 7.492
AUC EPI 10	4.954,743	±	3.299,827	1.655 - 8.255
AUC TRAP	10.615,016	±	1.695,809	8.919 - 12.311
AUC Col	10.013,561	±	3.816,961	6.197 - 13.831

PC-435 Venlafaxina reduce la respuesta plaquetaria mediada por inhibición de mecanismos serotonin-adrenérgicos y altera la dinámica de formación del coágulo

López-Vilchez I. (1), Torramadé Moix S. (1), Navarro Odriozola V. (2), Molina Moreno P. (1), Pino Ferrer M. (1), Díaz-Ricart M. (1), Gastó Ferrer C. (2), Escolar Albaladejo G. (1)

(1) Servicio de Hemoterapia y Hemostasia. Hospital Clínic. Barcelona. Centro de Diagnóstico Biomédico. Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer (IDIBAPS). Universidad de Barcelona. Barcelona. (2) Servicio de Psiquiatría. Hospital Clínic. Instituto Clínic de Neurociencias. Barcelona

Introducción: Las enfermedades cardiovasculares y la depresión son dos condiciones comórbidas con alta prevalencia en los países desarrollados. Estudios epidemiológicos indican que los pacientes con depresión mayor tratados con fármacos antidepressivos moduladores del sistema serotoninérgico presentan menor riesgo cardiovascular en comparación con los pacientes no tratados. La venlafaxina (VFX) es un inhibidor dual de la recaptación de la serotonina (5-HT) y norepinefrina (EPI), utilizado en el tratamiento de los casos más graves de depresión mayor. Hemos investigado el efecto *in vitro* de la VFX en la hemostasia primaria y en las propiedades tromboelastométricas del coágulo.

Métodos: Los experimentos se realizaron con muestras de sangre citrada procedentes de donantes sanos, incubando poste-

riormente en presencia y en ausencia de VFX a distintas concentraciones. Evaluamos el funcionalismo plaquetario mediante agregometría convencional con distintos agonistas: ácido araquidónico (1.4 mM), colágeno (2.5 µg/mL), ADP (0.5-2 µM) ± 5-HT (5 µM) y EPI (10 µM) ± 5-HT (5 µM). El estado de la coagulación se investigó mediante tromboelastometría, activando la vía extrínseca con factor tisular y fosfolípidos.

Resultados: Alícuotas de plasma rico en plaquetas incubadas con las distintas concentraciones de VFX mostraron menores porcentajes de agregación plaquetaria alcanzando reducciones significativamente estadísticas respecto los controles con VFX a partir de 1.25 µg/mL (ADP (0.5 µM) + 5-HT; $p < 0.01$) y con VFX a partir de 2.5 µg/mL (ADP (2 µM) + 5HT y EPI ± 5-HT; $p < 0.05$). No se observaron modificaciones por VFX en los perfiles de agregación con agonistas potentes como el ácido araquidónico y el colágeno. Los estudios de tromboelastometría mostraron un alargamiento en el tiempo de formación del coágulo con VFX 5.0 µg/mL, acompañado por una disminución de la amplitud máxima del mismo ($p < 0.05$ vs. control).

Conclusiones: Los estudios *in vitro* con VFX indican que la inhibición de los mecanismos serotonin-adrenérgicos en plaquetas tiene un efecto modulador de la hemostasia, tanto a nivel plaquetario como de la dinámica de formación del coágulo y de su consistencia final.

Ayudas: FIS-PI13/00517, RD12/0042/0016, PIE15/00027, 2014-SGR-296.

PC-436 Fracción de plaquetas inmaduras y su aplicación en el diagnóstico diferencial entre trombocitopenias congénitas y adquiridas

Neves J. (1), Faria Coelho C. (1), Teixeira C. (1), Cruz E. (2), Lau C. (2), Morais S. (2), Freitas I. (1),

(1) Serviço de Hematologia Laboratorial. (2) Serviço de Hematologia Clínica. Centro Hospitalar do Porto. Porto, Portugal

Introducción: La fracción de plaquetas inmaduras (IPF) cuantifica la población de plaquetas con un mayor contenido de ARN, lo que puede reflejar la respuesta trombopoyética medular. Este nuevo parámetro se encuentra disponible en los analizadores de hematología basados en citometría de flujo con potencial aplicación clínica en el diagnóstico diferencial de las trombocitopenias. Las trombocitopenias congénitas son un grupo heterogéneo de entidades de difícil identificación, consideradas en el pasado situaciones raras, cuya prevalencia se cree subestimada. El diagnóstico tardío y sin antecedentes familiares puede llevar a un diagnóstico equivoco de trombocitopenia adquirida, sobre todo púrpura trombocitopénica inmune (PTI). Así, el diagnóstico diferencial de las trombocitopenias congénitas y adquiridas es imprescindible a fin de evitar tratamientos innecesarios y perjudiciales. En particular, el diagnóstico diferencial de las trombocitopenias congénitas y PTI puede ser clínicamente difícil, lo que requiere experiencia en la evaluación de la morfología de las plaquetas y la conjugación con pruebas más específicas. Una vez que estas pruebas no están dispo-

nibles en la mayoría de los laboratorios clínicos, se ha intensificado la búsqueda de nuevos marcadores que permiten la diferenciación de estas entidades. En este contexto, la determinación de IPF puede proporcionar una alternativa reproducible y ventajosa.

Material y métodos: Se hizo un estudio prospectivo que incluyó a 28 pacientes con diagnóstico de PTI, 9 pacientes con macrotrombocitopenia familiar asociada a MYH9 (MTMYH9), 31 pacientes con otras macrotrombocitopenias congénitas y 50 individuos sanos. La determinación de los parámetros de plaquetas automatizados se llevó a cabo en el analizador hematológico Sysmex XE-5000 y la morfología de las plaquetas se evaluó mediante microscopía óptica.

Resultados: La IPF se presentó significativamente aumentada en todos los grupos de estudio en relación con el grupo control ($3.9 \pm 1.2\%$, $p < 0.001$). Los valores más altos se observaron en el grupo MTMYH9 ($61.3 \pm 11.1\%$), seguido por el grupo de otras macrotrombocitopenias congénitas ($20.3 \pm 11.9\%$) y el grupo de PTI ($9.9 \pm 5.2\%$). Todas las diferencias observadas entre los distintos grupos fueron estadísticamente significativas ($p < 0.001$) (Figs. 1-3).

Conclusión: Los resultados obtenidos en el grupo de pacientes MTMYH9 nos permiten concluir que este parámetro es suficientemente discriminatorio para esta patología. Así, en la presencia de una IPF muy aumentada ($> 50\%$), después de la exclusión de la agregación plaquetaria, el diagnóstico de MTMYH9 debe ser considerado. El valor de la IPF fue significativamente mayor en los pacientes con trombocitopenias congénitas que en los pacientes con PTI. Por lo tanto, la presencia de niveles más altos de IPF debe guiar el estudio en el sentido de descartar una trombocitopenia congénita, aunque este parámetro no es completamente discriminatorio de la situación. En conclusión, los resultados sugieren la IPF como un parámetro automatizado, de rápida ejecución y bajo coste, útil para el diagnóstico diferencial de las trombocitopenias congénitas y adquiridas.

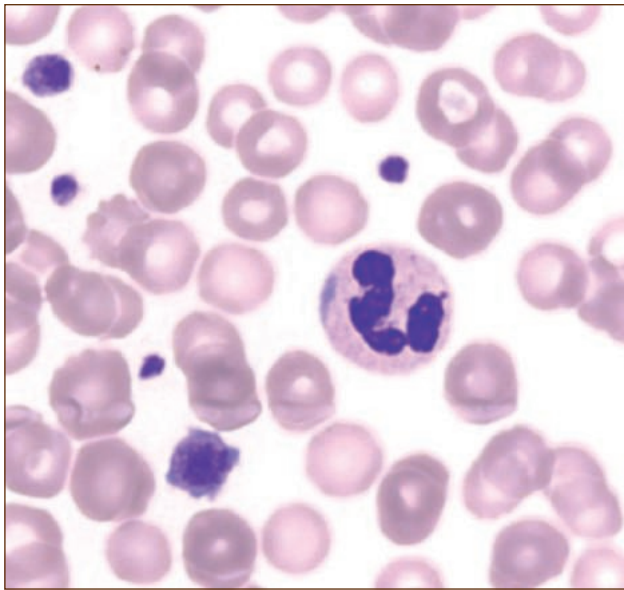


Figura 1.

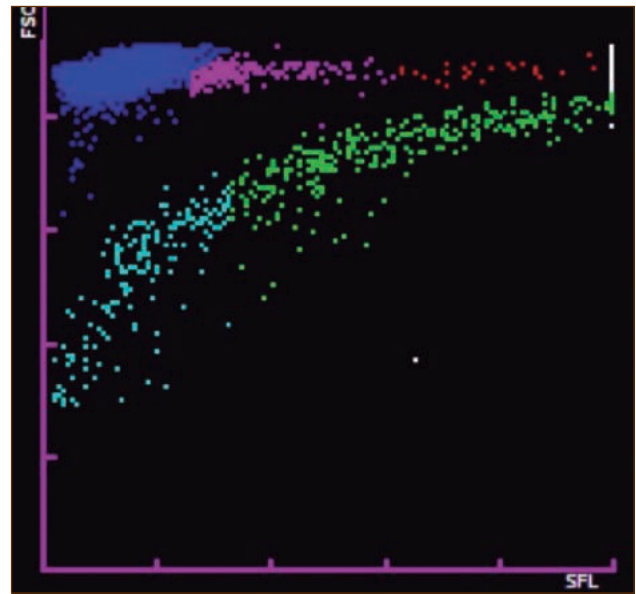


Figura 2.

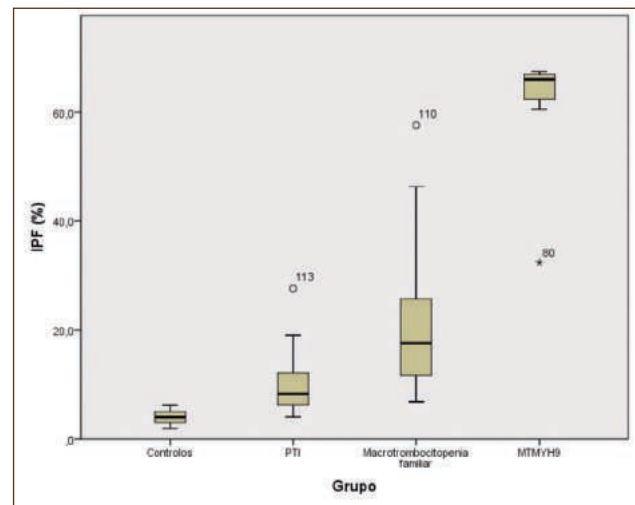


Figura 3.

PC-437 Inhibidores de la neuraminidasa en el tratamiento de la trombopenia inmune primaria

Campo Palacio H. J., Campos Álvarez R. M., Salamanca Cuenca A., Verdugo Cabeza de Vaca M. V., Lozano Muñoz M. L.

Hospital Jerez Puerta del Sur. Cádiz

Introducción: La trombopenia inmune primaria (PTI), es un trastorno autoinmune caracterizado por la destrucción prematura plaquetaria debido a la unión de un autoanticuerpo a las

glucoproteínas plaquetarias y posterior depuración por el sistema fagocítico mononuclear. Un 80% de los pacientes tienen anticuerpos antiGPIIb/IIIa, 20% anticuerpos antiGPIB y/o ambos. El tratamiento de primera línea se basa en terapia inmunosupresora e inmunomoduladora. La esplenectomía está indicada como tratamiento de segunda línea en pacientes no respondedores, alcanzando tasas de respuesta por encima del 80%. Sin embargo, un 15% de los pacientes son refractarios a ambas líneas. Estudios recientes en PTI crónica sugieren que la presencia de anticuerpos antiGIB puede estar relacionada con escasa respuesta al tratamiento convencional así como a la desialilación plaquetaria. Esto conduce a una eliminación plaquetaria mediada por los receptores Ashwell-Morell del hepatocito, en ausencia de macrófagos. Por lo cual, los inhibidores de la sialidasa pueden tener un papel importante. El oseltamivir es un fármaco utilizado en infección por el virus de la influenza y ha demostrado que puede reducir la actividad neuraminidasa del virus así como inhibir la sialilación de los glicolípidos de superficie de células T. Presentamos el caso de una paciente con PTI refractaria a múltiples líneas que recibió oseltamivir.

Caso clínico: Mujer 64 años diagnosticada de PTI, recibió inicialmente dosis altas de corticoides e IGIV, alcanzando remisión completa (RC) durante 15 años. Tras dicho periodo recae con trombopenia grave sin respuesta al tratamiento esteroideo ni IGIV, e inicia tratamiento con agentes trombopoyéticos (TPO). Tras dosis máximas de TPO sin respuesta inicia danazol y rituximab, de igual forma sin respuesta. Por hemorragia digestiva baja grave se realiza esplenectomía continuando con TPO y danazol a dosis máximas. Dos meses postesplenectomía consiguió cifras plaquetas seguras pero fluctuantes (a veces trombocitosis). Durante dicho periodo presenta trombosis masiva mesentérica y portal que precisó heparina dosis terapéuticas y cese de TPO y danazol. Tras dos meses de tratamiento con heparina y cifras plaquetas adecuada de nuevo perdida de respuesta que obliga al uso de múltiples agentes inmunosupresores: vincristina, azatioprina (AZT), micofenolato de mofetilo y ciclosporina sin respuesta. Ante la dificultad de manejo se realiza estudio plaquetario: positividad ambos anticuerpos antiplaquetarios y déficit importante de ácidos siálicos terminales en superficie plaquetaria y actividad neuraminidasa en plasma, datos compatibles con destrucción plaquetaria independiente de receptores inmunes, que podría justificar la refractariedad. Como último recurso terapéutico utilizamos oseltamivir, tras consentimiento informado, administrándose 75 mg /12 h durante 5 días. Al finalizar el oseltamivir, se observa normalización en la expresión de ácidos siálicos, aunque persistía trombopénica, por lo que añadimos AZT con el fin de obtener un efecto sinérgico. Actualmente la paciente mantiene tratamiento con AZT 50 mg/12 h y permanece en RC desde hace 10 meses.

Conclusiones: En nuestro caso, el oseltamivir restauró la membrana plaquetaria evitando su destrucción por el sistema retículoendotelial hepático y permitió que fármacos inmunosupresores controlaran el mecanismo destrucción inmune. Actualmente no está indicado en PTI, sin embargo, este caso demuestra la necesidad de realizar estudios prospectivos que permitan demostrar la eficacia de dicho fármaco y posibilidad nuevas indicaciones.

PC-438 Micropartículas circulantes como biomarcadores de endometriosis profunda

Tàssies D. (1), Munrós J. (2), Martínez-Zamora M. Á. (2), Torrente M. Á. (1), Rius M. (2), Pérez A. (2), Carmona F. (2), Balasch J. (2), Reverter J. C. (1)

(1) Servicio de Hemostasia y Hemoterapia. (2) Instituto Clínico de Ginecología, Obstetricia y Neonatología. Hospital Clínic. Barcelona

Introducción: Las micropartículas circulantes (MPc) son pequeñas vesículas procedentes de la membrana citoplasmática que se originan tras la activación o apoptosis de diferentes tipos celulares. Entre las funciones en las que las MPc parecen estar implicadas se encuentran la inflamación, la disfunción endotelial, la trombosis y la angiogénesis. La endometriosis infiltrativa profunda (EIP) es una enfermedad crónica en cuya patogenia intervienen la inflamación y la angiogénesis, por lo que los niveles de MPc pueden estar elevados en estos pacientes. Asimismo, se ha descrito una elevación de la expresión de factor tisular (FT) en endometrio ectópico y eutópico de pacientes con endometriosis, por lo que el medio inflamatorio de esta enfermedad puede contribuir a la generación de MPc portadoras de FT (MP-FT).

Objetivo: El objetivo de este estudio es determinar los niveles de MPc y MP-FT en pacientes sanos, pacientes con endometriosis peritoneal u ovárica sin EIP y pacientes con EIP.

Métodos: Los tres grupos formados son: pacientes con EIP sometidos a cirugía (grupo EIP), pacientes con endometriosis ovárica o peritoneal sin EIP sometidos a cirugía (grupo no EIP) y pacientes sometidos a cirugía por patología anexial benigna sin signos de endometriosis (grupo C). Las MPc se determinaron mediante un ensayo funcional de captura con annexina V. Las MP-FT se midieron por ensayo funcional por unión al anticuerpo anti-FT.

Resultados: No se hallaron diferencias estadísticamente significativas en la edad, índice de masa corporal y hábito tabáquico. El grupo EIP mostró niveles más elevados de MPc (nM equivalente de fosfatidilserina [media, percentiles 25-75]: 34,50, 20,30-41,20) comparado con el grupo no EIP (23,80, 13,5-40) y el grupo C (13,70, 8,13-25,60) [p = 0,001]. No se encontraron diferencias significativas en los niveles de MP-FT entre los tres grupos analizados.

Conclusiones: Las pacientes con EIP presentan niveles más elevados de MPc en comparación con pacientes sin EIP o sin endometriosis, por lo que las MPc pueden ser un biomarcador de EIP.

Trabajo parcialmente financiado por FIS P111/00977.

PC-439 Diagnóstico de trombopatías congénitas: experiencia de 6 años en un centro asistencial

Seara Sevivas T., Marques D., Coucelo M., Oliveira A., Silva Pinto C., Martinho P., Fidalgo T., Salvado R.

Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra. Coimbra, Portugal

Introducción: Las trombopatías congénitas (Tc) son motivo frecuente de envío a consulta de especialidad. Sin embargo, su caracterización es problemática para la mayoría de los centros

asistenciales. Generalmente los pacientes presentan tendencia hemorrágica leve/moderada y muchas veces solo se diagnostican tras una hemorragia inesperada, en contexto traumático, quirúrgico, o asociada a fármacos con acción antiagregante. Algunas son más fáciles de diagnosticar, como los defectos *major* de receptores de membrana (SBS, TG), pero todas las otras, resultantes de defectos de las vías de señalización (DS), formación y secreción de gránulos (DG) o trastornos del citoesqueleto y de la actividad procoagulante, tienen un diagnóstico complejo.

Objetivo: Describir nuestra experiencia de los últimos 6 años en el diagnóstico de Tc, ilustrando la dificultad en obtener diagnósticos conclusivos.

Material y métodos: Estudiados 68 propósitos (46 adultos, 22 niños) y 12 familiares, pertenecientes a 8 familias. Enviados a consulta por historia hemorrágica significativa para el paciente/padres/médico asistente, necesidad de maniobras invasivas, trombopenia o estudios familiares. Población pediátrica (9/13?) con mediana de

edades de 10 (1-18). Población adulta (31/15?), edad mediana de 43 (19-77). Se cuantificó la clínica hemorrágica a través del *score* ISTH- BAT. Previamente excluidas trombopenia inmune y enfermedad de von Willebrand. Se hizo un perfil funcional y morfológico plaquetario (hemograma, frotis, PFA100, agregación (LTA), expresión de glicoproteínas y activación-secreción por citometría de flujo (CF)).

Resultados: 28 pacientes presentaba un *score* hemorrágico = 3. Después de estudio PFA, LTA y CF: *Grupo de pacientes con trombopenia:* n = 19 (14 propósitos, 5 familiares), 2 sospecha de disminución de receptores a-2 adrenérgicos, 5 DS/DG, 12 sin diagnóstico; *Grupo de pacientes con PFA normal:* n = 28 (22 propósitos, 6 familiares), 25 estudios normales, 1 disminución de la Gpa, 2 sospecha de disminución receptores a-2 adrenérgicos; *Grupo de pacientes con PFA alterado:* n = 33 (32 propósitos, 1 familiar), 21 estudios normales, 3 sospecha de *Gi receptor defect*, 7 DS/DG, de los cuales 1 prosiguió estudios moleculares juntamente con 1 sospecha de SBS monoalélica y 1 sospecha de TG (Fig. 1).

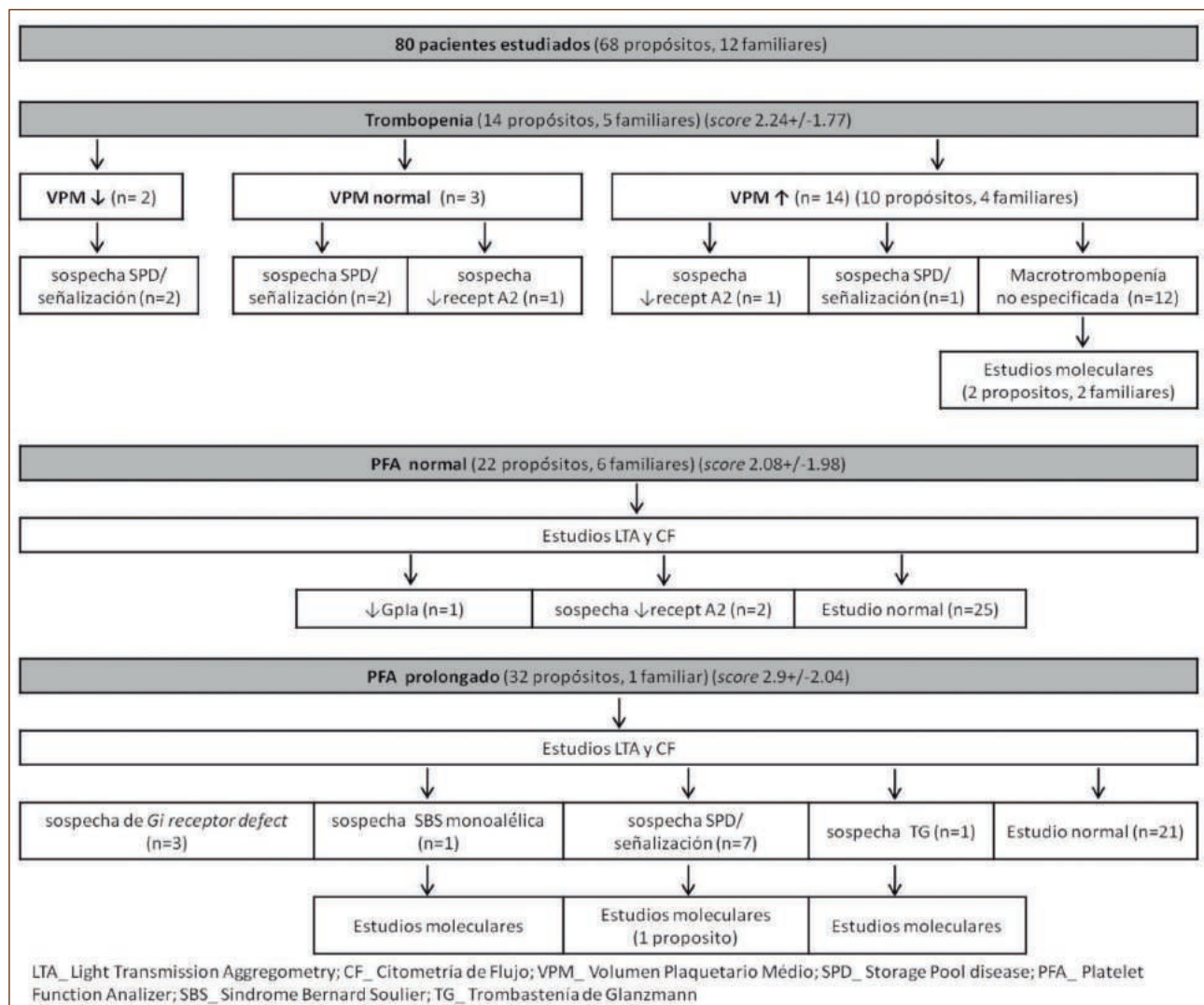


Figura 1. Resultado de los estudios funcionales de plaqueta por LTA y CF.

Conclusiones: En nuestros pacientes los *scores* son homogéneos en todos los grupos, no sirviendo como un discriminador. Las Tc son patologías difíciles de caracterizar y en nuestra población tenemos sospechas diagnósticas idénticas en grupos con características de *screening* distintas, lo que dificulta aún más el diagnóstico específico. A pesar de contarnos con estudios LTA y CF, algunos pacientes solo pudieron ser rotulados con hipótesis diagnósticas no especificadas. Enviamos a estudios moleculares las trombopenias familiares y las disfunciones con historia hemorrágica preocupante. Aun así, la clasificación en grupos diagnósticos fue importante en situaciones pre quirúrgicas donde cualquier evidencia laboratorial que elucide nuestra actuación es, siempre, bien recibida.

PC-440 Niveles de micropartículas tras cistectomía ovárica frente vaporización por láser en el tratamiento laparoscópico de endometriomas ováricos. Resultados preliminares

Torrente M. Á. (1), Martínez-Zamora M. Á. (2), Munrós J. (2), Rius M. (2), Pérez A. (2), Carmona F. (2), Balasch J. (2), Reverter J. C. (1), Tàssies D. (1)

(1) Servicio de Hemostasia y Hemoterapia. (2) Instituto Clínico de Ginecología, Obstetricia y Neonatología. Hospital Clínic. Barcelona

Introducción: Las micropartículas (MP) son pequeñas vesículas procedentes de la membrana citoplasmática que se originan tras la activación o apoptosis de diferentes tipos celulares. Entre las funciones en las que las MP parecen estar implicadas se encuentran la inflamación, la disfunción endotelial, la trombosis y la angiogénesis. Los endometriomas ováricos son tratados por excisión quirúrgica o por vaporización laparoscópica por láser. Esta última técnica, utilizando el nuevo láser de CO₂ AcoPulse 40WG (Lumenis®), ofrece una gran precisión sobre el tejido y una mayor rapidez del procedimiento quirúrgico. La hipótesis que se plantea es que las pacientes tratadas con láser desarrollarán una respuesta inflamatoria menor medida por niveles de MP.

Objetivo: El objetivo del presente estudio es evaluar la inflamación mediante la determinación de los niveles de MP circulantes en pacientes con endometriomas ováricos que son sometidas a cirugía usando la técnica excisional o la ablación por láser de CO₂.

Métodos: Ensayo clínico prospectivo aleatorizado. Se incluyeron desde febrero de 2016 siete pacientes sometidas a cirugía excisional (grupo 1) y cinco a vaporización por láser (grupo 2). Criterios de inclusión: edad 18-40 años, endometrioma unilateral = 3 cm. **Criterios de exclusión:** cirugía pélvica previa, enfermedad crónica, antecedentes de cáncer o sospecha de neoplasia. Se obtuvo una muestra de sangre pre y post cirugía. Las MP se determinaron mediante un ensayo funcional de captura con annexina V.

Resultados: No hubo diferencias estadísticamente significativas en la edad, índice de masa corporal y hábito tabáquico. Ambos grupos mostraron niveles de MP similares antes de la cirugía (nM equivalente de phosphatidylserina [media ± DS], grupo 1: 26,2 ± 5,4; grupo 2: 22,6 ± 4,5; p = 0,3). Tras la cirugía, se observó un incremento de los niveles de MP en las pacientes del grupo 1 (43,5

± 10,8) frente al grupo 2 (28,8 ± 12,6), pese a que estas diferencias no alcanzaron una significación estadística (p = 0,09).

Conclusiones: Los resultados preliminares de este estudio muestran que las pacientes del grupo 1 tienen una tendencia a tener niveles postquirúrgicos de MP más altos comparados con los del grupo 2, lo que sugiere una menor respuesta inflamatoria tras vaporización laparoscópica con láser CO₂ de los endometriomas comparado con la técnica excisional.

Trabajo parcialmente financiado por FIS P111/00977.

PC-441 ¿Se puede suspender el tratamiento con agonistas del receptor de la trombopoyetina en la trombocitopenia inmune?

Velázquez Kennedy K. (1), Martínez-Geijo Román C. (1), Escolano Escobar C. (2), García Vela J. A. (1), Chica Gullón E. (2), López Jiménez F. J. (1)

(1) Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid. (2) Hospital Universitario de Getafe. Getafe, Madrid

Introducción: Los agonistas del receptor de la trombopoyetina (AR-TPO) han sido empleados como segunda y tercera línea de tratamiento de la trombopenia inmune (PTI). Actúan estimulando la producción plaquetaria y la supervivencia de los megacariocitos (1). Aunque han demostrado elevadas tasas de respuesta en estudios con largos periodos de seguimiento (2,3), las cifras suelen retornar a niveles pre-tratamiento una vez interrumpe el fármaco. Sin embargo, se han descrito casos de pacientes que han mantenido una remisión completa una vez suspendido el tratamiento (4,5).

Casos clínicos:

Caso clínico 1: Mujer con trombopenia de origen multifactorial diagnosticada en mayo de 2010 a los 52 años. Tenía antecedentes de infección por VIH y hepatopatía crónica por VHC y enolismo. Tras refractariedad a 3 líneas de tratamiento: corticoides, dapsona y esplenectomía, se decide iniciar Romiplostin con buena respuesta. En octubre de 2015, tras 4 años de tratamiento y ante una elevación de la cifra de plaquetas > 700.000, se suspende el AR-TPO y la paciente se mantiene en remisión completa.

Caso clínico 2: Varón con PTI diagnosticado en julio de 2010 a los 75 años. Tenía antecedentes de adenocarcinoma colorrectal por lo que estaba recibiendo en tratamiento con capecitabina, que se suspende por sospecha etiológica sin mejoría. Recibe tratamiento con corticoides intermitentes a lo largo de los 12 meses siguientes, y tras volverse refractario se realiza esplenectomía sin respuesta en Septiembre 2010. Posteriormente inicia tratamiento con Romiplostin con buena respuesta, que mantiene durante 5 años. Se decide suspender el tratamiento en febrero de 2016 por trombocitosis > 800.000. Ha permanecido en remisión completa sostenida hasta la fecha.

Caso clínico 3: Mujer de 73 años con antecedentes de AHAI que se diagnostica de PTI en Mayo 2014. Tras constatar refractariedad a corticoides, se realiza esplenectomía con terapia puente con dexametasona e IgIV. Tras respuesta transitoria inicial, presenta nueva recaída por lo que inicia Eltrombopag a dosis de 50 mg/d con buena respuesta. Tras estabilización de cifras se inicia descenso gradual hasta suspensión 9 meses después. Ha permanecido en respuesta completa sostenida 6 meses.

Caso clínico 4: Mujer de 46 años, diagnosticada de PTI en junio 2013, que presenta respuesta parcial a prednisona pero se hace corticodependiente con desarrollo de complicaciones, por lo que se realiza esplenectomía en marzo 2015. Presenta respuesta inmediata tras cirugía pero recae a la semana, por lo que se inicia Eltrombopag con buena respuesta. Tras estabilización de cifras se inicia descenso gradual hasta suspensión tras 9 meses. Mantiene respuesta sostenida 6 meses después.

Discusión: Se ha postulado que el tratamiento con AR-TPO puede restablecer la tolerancia inmune mediada por una mejoría en la función de las células TRegs, y una reducción del ambiente pro-inflamatorio mediado por citoquinas (6). Hasta la fecha, no se han encontrado factores pronósticos que ayuden a predecir qué pacientes mantendrán una respuesta sostenida tras la suspensión de AR-TPO (4). Se ha visto que la re-exposición a AR-TPO tras su interrupción vuelve a producir incrementos de las cifras sin evidencia de taquifilaxis (4), por lo que parece razonable interrumpir el tratamiento con AR-TPO en pacientes seleccionados.

Bibliografía

1. Kuter DJ. New thrombopoietic growth factors. Clin Lymphoma Myeloma 2009;9(Suppl 3):S347-356.
2. Shirasugi Y, Ando K, Miyazaki K, Tomiyama Y, Iwato K, Okamoto S, et al. An open-label extension study evaluating the safety and efficacy of romiplostim for up to 3.5 years in thrombocytopenic Japanese patients with immune thrombocytopenic purpura (ITP). Int J Hematol 2012;95(6):652-9.
3. Saleh MN, Bussel JB, Cheng G, Meyer O, Bailey CK, Arning M, et al. Safety and efficacy of eltrombopag for treatment of chronic immune thrombocytopenia: results of the long-term, open-label EXTEND study. Blood 2013;121(3):537-45.
4. Carpenedo M, Cantoni S, Coccini V, Fedele M, Morra E, Pogliani EM. Feasibility of romiplostim discontinuation in adult thrombopoietin-receptor agonist responsive patients with primary immune thrombocytopenia: an observational retrospective report in real life clinical practice. Hematol Rep 2015;7(1):5673.
5. González-López TJ, Pascual C, Álvarez-Román MT, Fernández-Fuertes F, Sánchez-González B, Caparrós I, et al. Successful discontinuation of eltrombopag after complete remission in patients with primary immune thrombocytopenia. Am J Hematol 2015;90(3):E40-43.
6. Bao W, Bussel JB, Heck S, He W, Karpoff M, Boulad N, et al. Improved regulatory T-cell activity in patients with chronic immune thrombocytopenia treated with thrombopoietic agents. Blood 2010;116(22):4639-45.

Tratamientos antitrombóticos

PC-442 Prevención de hemorragia digestiva recurrente en pacientes anticoagulados con antagonistas de la vitamina K: estudio aleatorizado comparando warfarina con bemparina

Carrasco Expósito M. (1), Ardèvol Ribalta A. (2), Alvarado Tapias E. (2), Vilalta Setó N. (1), Millón Caño J. (1), Fontcuberta Boj J. (1), Villanueva Sánchez C. (2), Mateo Arranz J. (1)

(1) Unitat d'Hemostàsia i Trombosi. (2) Servei de Patologia Digestiva. Hospital de Sant Pau. Barcelona

Introducción: Debido al incremento de la prescripción de anticoagulantes, cada vez son más prevalentes en los pacientes con hemorragia digestiva aguda (HD). A pesar de los estudios etiológicos, la HD en anticoagulados presenta una elevada prevalencia de origen oscuro y una considerable tasa de recidiva hemorrágica. Los antagonistas de la vitamina K (AVK) son los ACO más utilizados. Su manejo es complejo y las recidivas hemorrágicas frecuentes. Las heparinas de bajo peso molecular (HBPM) ofrecen un mejor perfil farmacocinético y niveles de anticoagulación más estables, por lo que podrían ser más seguras que los AVK.

Objetivo: Evaluar si bemparina a dosis anticoagulantes ajustadas disminuye las recurrencias de HD comparada con warfarina en pacientes con HD asociada a AVKs e indicación para mantener la anticoagulación.

Métodos: Estudio prospectivo, abierto, controlado y aleatorizado entre 2012-2016 que incluyó pacientes anticoagulados con riesgo embolígeno elevado que tras un episodio de HD, eran candidatos a mantener anticoagulación. Se incluyeron pacientes con HD grave no susceptible de tratamiento endoscópico por su origen oscuro o por la presencia de lesiones múltiples. Tras control del episodio agudo se aleatorizaron en 2 grupos: uno de pacientes recibió warfarina (rango de INR adecuado a su indicación) y otro bemparina (anti-Xa objetivo, 0,4-1,0 unidades anti-Xa/ml pico máximo).

Resultados: Se incluyeron 46 pacientes, 24 en el grupo bemparina y 22 en el grupo warfarina. La indicación del tratamiento fue: prótesis valvulares mitrales (5 pacientes), prótesis múltiples (4), fibrilación auricular (FA) embolígena (6), FA + valvulopatías (18), tromboembolismo venoso y trombofilia (4), FA aislada con CHADS2>3 (5). En 41 pacientes la FA estaba presente. Las indicaciones estaban distribuidas homogéneamente entre ambos grupos. El seguimiento medio fue de 1.123 días (rango 434-1.689). La HD fue de origen diverticular en 19 casos (41.3%), por angiodisplasias en 4 (8.7%) y de origen no filiado en 23 (50%). Los grupos eran comparables en edad, sexo y otras características basales. No hubo diferencias en cuanto a la severidad del episodio HD inicial. El INR al ingreso de la HD inicial fue supratrapéutico en 16 (67%) del grupo de bemparina y en 16 (73%) del grupo warfarina. En el grupo warfarina, 6 (27% presentaron recidiva y ninguno en el grupo bemparina ($p = 0.004$ por log-rank). No se observaron episodios tromboembólicos en ningún paciente. Presentaron complicaciones relacionadas con su patología cardiovascular de base un 17% tratado con bemparina vs. un 14% tratado con warfarina e infecciones en 17% vs. 0% ($p = 0.09$). La probabilidad de supervivencia fue similar en ambos grupos (15% vs. 11% a 12 meses, respectivamente; HR = 2,5; IC 95% = 0,5-12,7; $p = 0.27$).

Conclusiones: En pacientes anticoagulados con HD severa que precisen mantener la anticoagulación, el uso de bemparina a dosis ajustadas según niveles anti-Xa disminuye la recurrencia de HD a largo plazo en comparación con warfarina. No se observaron complicaciones tromboembólicas a pesar del alto riesgo de los pacientes. No se observó influencia en la supervivencia.

ClinicalTrials.gov: NCT01727453; EC 2010, EC10-135. Ayuda Internacional para la investigación biomédica con bempiparina 2012. Laboratorios Rovi.

PC-443 Evaluación de la escala SAME-TT2R2 en “mundo real” como predictor de la calidad de la anticoagulación oral en pacientes tratados con antagonistas de la vitamina K

Segura Díaz A., Calvo Villas J. M., Lacalle Aicua L., Espinosa Lara N., Salvador Rupérez E., Fernández Mosteirín N., Delgado Beltrán P.

Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza

Introducción: La escala SAME-TT2R2 ha sido validada como una herramienta clínica que predice la calidad del control de la anticoagulación en pacientes diagnosticados de fibrilación auricular no valvular (FANV) en tratamiento con fármacos antagonistas de la vitamina K (AVK) con el fin de ayudarnos a decidir un mejor esquema terapéutico.

Objetivo: Valorar la utilidad en práctica clínica habitual del score SAME-TT2R2 para la predicción de la calidad del control de anticoagulación en los pacientes con FANV en tratamiento con fármacos AVK.

Método: Se han incluido en este estudio, de forma retrospectiva, todos los pacientes con FANV que iniciaron tratamiento con AVK durante el año 2015 en nuestro hospital. Los pacientes fueron seleccionados mediante el programa informático de control de anticoagulación oral GOTA (Werfen®). Se registraron variables demográficas y clínicas de los pacientes y se calcularon las puntuaciones de las escalas SAME-TT2R2, CHAD2S, CHA2DS2VASc y HAS-BLED. Se consideró un buen control de anticoagulación si el tiempo en rango de terapia (TRT) de los últimos 6 meses utilizando como INR en rango para FANV entre 2-3 (d+/- 0,1) era mayor o igual del 65%. Utilizamos las curvas ROC del modelo para calcular el área bajo la curva (AUC) con un IC del 95%.

Resultados: Se analizaron 220 pacientes 119 (54,4%) varones con una mediana de edad de 78 años (rango, 42-95 años). Los servicios con más solicitudes de inicio ACO por FANV fueron Urgencias con 84 solicitudes y Cardiología con 82. La media de controles durante el tratamiento con AVK fue 10,4, DE 4,3. Las medianas de las puntuaciones de las escalas fueron: CHAD2S, 2 (rango, 0-6); CHA2DS2VASc, 4 (rango, 1-8) y HAS-BLED 1 (rango, 0-5). Las puntuaciones de la escala SAME-TT2R oscilaron entre 0 y 5, de los que en 120 pacientes (54,8%) fueron > 2. El porcentaje de pacientes con buen control de anticoagulación con AVK (TTR > 65%) fue similar entre SAME-TT2R de 0-1 (68,3%) vs. SAME-TT2R > 2 (64,4%) (p = 0,593, NS). Aunque las complicaciones trombóticas y hemorrágicas con AVK fueron mayores entre pacientes con SAME-TT2R > 2 (13,3%) vs. SAME-TT2R 0-1 (8,1%), la diferencia no fue significativa (p = 0,805, NS). El AUC para un SAME-TT2R > 2 fue de 0,47 (IC95% 0,40-0,56).

Conclusiones: En nuestra experiencia en práctica clínica habitual la escala SAME-TT2R2 no ha sido capaz de predecir la calidad de anticoagulación (medido mediante TRT a 6 meses) en los pacien-

tes con FANV en tratamiento con AVK. Será necesario un mayor seguimiento de esta serie y la inclusión de nuevos pacientes de forma prospectiva para determinar la utilidad de la escala SAME-TT2R2 como herramienta de decisión clínica en nuestros pacientes.

PC-444 Relación del tiempo terapéutico en rango de los pacientes tratados con antagonistas de la vitamina K, con la incidencia de episodios tromboembólicos. Experiencia de un solo centro

Peris J., Mostacedo S. Z., Carro I., Pina E., Rossello E., Domenech P.

Hospital Universitario de Bellvitge. Hospitalet de Llobregat, Barcelona

Introducción: El tratamiento anticoagulante con antagonistas de la vitamina K (AVK) está indicado en la profilaxis del tromboembolismo en pacientes con fibrilación auricular (FA) y prótesis valvulares, estos fármacos requieren monitorización mediante el INR (International Normalized Ratio), su efectividad está estrechamente relacionada con el tiempo terapéutico en rango (TTR).

Objetivo: Revisar los pacientes anticoagulados con AVK, por FA o prótesis valvulares que han presentado episodios tromboembólicos en los últimos 5 años, y determinar la relación con el TTR y la actitud terapéutica posterior al episodio.

Pacientes y métodos: Revisar los accidentes tromboembólicos registrados en la base de datos de nuestro hospital desde enero de 2011 de los pacientes anticoagulados. Determinar el TTS del año previo al episodio tromboembólico, y la posterior actitud terapéutica.

Resultados: Identificamos 178 episodios tromboembólicos en 166 pacientes. Cincuenta y siete accidentes isquémicos transitorios (AIT); 108 ictus isquémicos y 13 tromboembolismos sistémicos. La indicación de la anticoagulación era FA 87 pacientes; prótesis mecánica aórtica 13 pacientes; prótesis mecánica mitral o doble 65 pacientes y 1 paciente con síndrome antifosfolípido. En el global de los pacientes un 53% tenían un TTS < 50%; 31% TTS 51-70%; y solo un 16% tenían un TTS > 70%, cuando se analiza por diagnósticos los resultados son similares (Tabla I). En 7 pacientes se había suspendido la anticoagulación por algún procedimiento cruento.

En cuanto a la actitud terapéutica posterior a un 36% de los pacientes se les aumentó el rango terapéutico y/o se añadió tratamiento antiagregante; al 26% se les cambió el fármaco y en un 38% de los casos no se realizó ningún cambio. Cuando se analiza

Tabla I. TTS Tiempo terapéutico en rango

	Fibrilación auricular Pacientes (%) n = 96	Prótesis mecánica mitral Pacientes (%) n = 69	Prótesis mecánica aórtica Pacientes (%) n = 13
TTS = 50%	50 (52%)	39 (56%)	5 (38%)
TTS 50%-70%	27 (28%)	22 (32%)	5 (38%)
TTS > 70%	19 (20%)	8 (12%)	3 (24%)

por diagnósticos se observan diferencias, en los pacientes con FA se cambia a anticoagulantes orales de acción directa (ACOD) en un 40% de casos, mientras que en los pacientes con prótesis valvulares la actitud más frecuente fue aumentar el rango terapéutico o añadir antiagregantes (51% de los pacientes).

Conclusiones: El TTS se relaciona con la posibilidad de presentar eventos tromboembólicos, en nuestra revisión solo un 16% de los pacientes que habían presentado episodios tenían un TTS superior al 70%. La actitud más frecuente después de un episodio tromboembólico en los pacientes con FA fue cambiar a un ACOD, mientras que en los pacientes con prótesis valvulares fue aumentar el rango terapéutico o añadir antiagregantes plaquetares.

PC-445 Complicaciones de anticoagulantes orales de acción directa, ¿cuál es la situación real? Experiencia de nuestro centro

Kestler González K., García Díez M., Domínguez Velasco N., Herruzo Delgado B., Rodríguez Fernández A.

Unidad de Gestión Clínica de Hematología. Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla

Introducción: Desde la aprobación de los anticoagulantes orales de acción directa (ACOD) para la prevención de ictus en pacientes con fibrilación auricular no valvular y el tratamiento enfermedad tromboembólica venosa, su uso se ha extendido como alternativa a

los antivitaminas K (AVK). Sin embargo, disponemos de poca experiencia en la práctica clínica de su manejo y complicaciones.

Objetivos: Analizar las complicaciones derivadas de pacientes en tratamiento con ACOD en nuestra área.

Material y métodos: Estudio retrospectivo descriptivo de las complicaciones en pacientes en tratamiento con ACOD que requirieron valoración por el servicio de Hematología en Urgencias entre enero 2014 y mayo 2016. Se recogieron datos de interconsultas realizadas a trombología y se analizó: motivo de inicio de ACOD a través de los programas electrónicos, tipo y dosis utilizada, función renal al momento del evento, antiagregación (AA) concomitante, tipo de complicación hemorrágica (CH) o trombótica (CT), antecedentes personales o factores de riesgo que predispongán a la complicación y manejo que requirió.

Resultados: A un total de 1222 pacientes se han visado para tratamiento con ACOD en nuestra área en este periodo. El fármaco más utilizado fue rivaroxaban en 455 pacientes (37.2%) seguido de dabigatran (35.3%) y apixaban (27.4%). Se analizaron 14 casos que presentaron alguna complicación por ACOD (1.1% del total de los tratados). La media de edad fue de 80 años. De estos 14 casos, el 85.7% fueron CH y 14.2% CT. Aparece un 25% de casos con CH y antecedentes personales que sugerían aumento del riesgo hemorrágico, 25% con empeoramiento de función renal y 25% con AA asociada, con 2 casos que presentaban los 3 factores de riesgo antes descritos. Existió un rango entre 4-24 horas entre la última toma de ACOD y el evento. Un 35.7% requirieron tratamiento hemostático urgente y fueron éxitos el 21.4%. El 100% de las CT tienen causa clara para tener nuevo evento trombótico (Tablas I-III).

Tabla I. Datos de la población

Fármacos y dosis	Apixaban (APX)		Dabigatran (DBG)		Rivaroxaban (RVX)	
	2,5 mg/12 h	5 mg/12 h	110 mg/12 h	150 mg/12 h	15 mg/24 h	20 mg/24 h
Frecuencia	2 (14.2%)	1 (7.1%)	2 (14.2%)	3 (21.4%)	3 (21.4%)	3 (21.4%)
Media edad	80.5	66	80.5	76.6	86.6	81
Indicación	7.1% por trombosis (1) y 14.2% por FA (2)		35.7% por FA (5)		1 por trombosis (7.1%) y 5 por FA (35.7%)	
Antiagregados	0		0		3 (21.4%)	
Complicación	1 trombosis (7.1%) y 2 hemorragias (14.2%)		1 trombosis (7.1%) y 4 hemorragias (28.6%)		0 trombosis y 6 hemorragias (42.9%)	
Éxitos	0		1		2	

Tabla II. Eventos hemorrágicos

	Apixaban (APX)	Dabigatran (DBG)	Rivaroxaban (RVX)
Tipo de evento hemorrágico	1 hemorragia digestiva baja y 1 hematuria	4 casos de rectorragia, 1 caso asociado a metrorragia y 2 casos asociados a melenas	3 casos de sangrado SNC y 3 casos de hemorragia digestiva baja
Empeoramiento de función renal	1 caso	0 casos	2 casos
Antecedente personal de riesgo	0 casos	0 casos	3 casos
Toma de antiagregantes	0 casos	0 casos	3 casos
Media de tiempo desde toma de ACOD	10 h	14 h	13 h
Necesidad de reversión	1 caso	2 casos	2 casos
Éxitos	0 casos	1 caso	2 casos

Tabla III. Eventos trombóticos			
	Apixaban (APX)	Dabigatran (DBG)	Rivaroxaban (RVX)
Tipo de evento trombótico	1 ictus isquémico por evento cardioembólico	1 trombosis venosa profunda	0 casos
Empeoramiento de función renal	0 caso	0 casos	0 casos
Antecedente personal de riesgo	Anticoagulado por trombosis arterial	Olvido de tomas	0 casos
Media de tiempo desde toma de ACOD	12 h	12 h	0 h
Éxitus	0 casos	0 caso	0 casos

Conclusión: Los ACOD han aparecido como una adecuada alternativa terapéutica a AVK. Los ACOD han demostrado un mejor perfil de seguridad, pero se debe recordar la importancia de la valoración completa de paciente antes de iniciar ACOD y cierta vigilancia al tratarse de pacientes mayores pluripatológicos. Se han descrito situaciones de alto riesgo de sangrado, como asociación con AA, insuficiencia renal y/o hepática que no permita eliminación de fármaco y patología de base que eleve riesgo de sangrado (PE: úlcera gastrointestinal, neoplasia con alto riesgo hemorrágico). En nuestra población, las complicaciones trombóticas no se relacionan con la efectividad de los fármacos, pero con características propias de los pacientes (antecedente de trombosis u olvidos en tomas).

PC-446 Complicaciones hemorrágicas y tromboembólicas en los pacientes tratados con dabigatran, rivaroxaban y apixaban. Análisis retrospectivo de un solo centro

Peris J., Mostacedo S. Z., Carro I., Pina E., Rosselló E., Domenech P.

Hospital Universitario de Bellvitge. 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 y tromboembólicas 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 cada uno de estos anticoagulantes en los últimos 5 años (mayo 2011-abril 2016).

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 2016. Identificamos todos los episodios de hemorragia o episodios tromboembólicos que consta en ella, en los pacientes tratados 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 687 pacientes han tomado estos fármacos con una media de seguimiento de 14.67 meses (1-56 meses). 99 pacientes dabigatran; 331 rivaroxaban; y 257 apixaban. Se han producido un total de 23 hemorragias mayores, lo que supone una incidencia de 2.85% anual. Cuando analizamos cada fármaco la incidencia es la siguiente: dabigatran (10 episodios) 4.53% anual; rivaroxaban (10 episodios) 2.62% anual y apixaban (3 episodios) 1.24% anual. La localización de las hemorragias fueron 13 digestivas; 6 cerebrales y 4 en otras localizaciones. Hubo una muerte por hemorragia cerebral, el resto de resolvieron favorablemente, y solo en 4 casos fue necesario administrar fármacos procoagulantes. Durante el mismo periodo se han detectado 5 episodios de ictus o embolia sistémica grave, lo que supone un 0.47% anual. Dabigatran (1 episodio) 0.45% anual; rivaroxaban (3 episodios) 0.78% anual y apixaban (1 episodio) 0.40% anual.

Conclusiones: 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 hasta hace poco de antídotos específicos. La muestra es pequeña y las poblaciones tratadas con los diferentes fármacos no son comparables. Además probablemente se trata de un población de alto riesgo hemorrágico, 25 de los pacientes habían presentado previamente hemorragias graves en tratamiento con AVK, 14 de ellas cerebrales. La incidencia de ictus isquémico y embolismo sistémico ha sido muy baja, teniendo en cuenta además que un 10% de los pacientes con ACOD habían presentado ictus previo durante la terapia con AVK.

PC-447 Monitorización de niveles de antiXa en pacientes anticoagulados con tumores sólidos o síndromes linfoproliferativos

Ruiz Mercado M., Domínguez Muñoz M. Á., Jiménez Bárcenas R., Núñez Vázquez R., Rodríguez Martorell F. J.

Unidad de Gestión Clínica de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBIS). CSIC. Universidad de Sevilla. Sevilla

Introducción: En pacientes con neoplasias en tratamiento activo de quimioterapia que requieren anticoagulación el tratamiento de elección es la heparina de bajo peso molecular (HBPM). Se acepta que la monitorización de su efecto mediante la actividad anti-factor

activado (aXa) es aconsejable en pacientes con pesos extremos, de edad avanzada, en niños, en el embarazo o en insuficiencia renal. La heparanasa es una enzima secretada por algunos tumores malignos (mama, próstata, entre otros) que degrada el heparán sulfato en la matriz extracelular, resultando en una supresión de la actividad anticoagulante de la HBPM (1) lo que explica la resistencia a la heparina descrita en algunos pacientes oncológicos.

Paciente, material y métodos: Estudio retrospectivo unicéntrico de los pacientes con tumor sólido o síndrome linfoproliferativo en tratamiento activo de quimioterapia derivados a consulta de hematología para monitorización de aXa a las 4 horas de la administración de la HBPM desde abril de 2015 a marzo de 2016.

Resultados: Se recogieron un total de 32 pacientes -distribución por sexo: 15 mujeres/ 17 varones, mediana de edad: 62,5 (17- 86) años-. Los tipos de neoplasias se recogen en la **figura 1**. Los motivos de anticoagulación eran: 46,9% TVP y/o TEP, 28,1% fibrilación auricular/flutter auricular, 9,4% prótesis mitral mecánica, 6,3% prótesis aórtica mecánica, 9,4% otras. Hubo 1 caso con síndrome antifosfolípido secundario. Ocho pacientes tenían insuficiencia renal, 3 sobrepeso y 3 trombocitopenia a la hora del cambio de anticoagulación de antivitaminas K a HBPM. El 87,5% recibían HBPM a dosis terapéuticas y el 12,5% a dosis intermedias. Un paciente además tomaba AAS 100 mg. Del total de niveles de aXa realizados en los pacientes durante el periodo mediana de seguimiento de 171 días (rango: 18-665 días), el 35,4% estaban infra o supratrapéuticos requiriendo un cambio de dosis de la heparina administrada. En 19/32 (59,3%) casos hubo que incrementar la dosis de HBPM, sin registrarse eventos trombóticos en el periodo infrarango. En el 12,5% de los pacientes se notificó sangrado en el contexto de niveles altos de aXa: en 2 casos se redujo la dosis resolviéndose el sangrado, en 1 se redujo dosis sin cese del mismo, requiriendo el cambio de molécula de HBPM y en 1 se cambió a pauta de administración cada 12 horas. No se ha demostrado diferencias entre las HBPM empleadas (enoxaparina, tinzaparina y dalteparina).

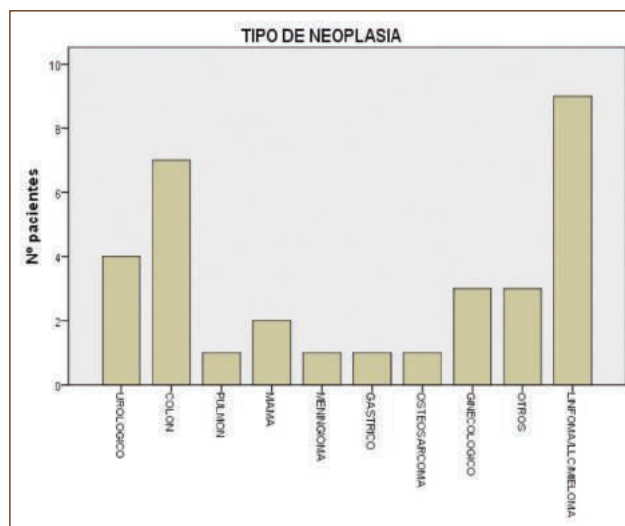


Figura 1.

Conclusiones: Nuestro estudio muestra que hay pacientes oncológicos que no alcanzan valores terapéuticos de anticoagulación con la HBPM a dosis estándar ajustada por peso en las primeras semanas de iniciada la quimioterapia, lo que podría traducirse en eventos trombóticos (y/o complicaciones hemorrágicas) en una población de riesgo per se. En la población analizada, no demostramos dicho beneficio clínico posiblemente por el número limitado de pacientes aunque sugerimos la monitorización periódica de niveles aXa para la detección precoz de sobredosificación que evite las complicaciones hemorrágicas, especialmente en pacientes con obesidad, trombopenia y deterioro renal.

Bibliografía

1. Nasser NJ, Na'amad M, Weinberg I, Gabizon AA. Pharmacokinetics of low molecular weight heparin in patients with malignant tumors. *Anti-Cancer Drugs* 2015;26(1):106-11.

PC-448 Tratamiento anticoagulante en pacientes con diagnóstico de trombofilia y alergia documentada a heparina de bajo peso molecular. Experiencia de un hospital comarcal

Díaz Jordán Bolívar L., Frigal Ruiz A. B., Romero Pino M. J., Rodríguez Domínguez B., López-Quiñones Pimentel A. R.

Hospital General Virgen de Altagracia. Manzanares, Ciudad Real

Introducción: Las heparinas de bajo peso molecular (HBPM) son mucopolisacáridos que se obtienen de la despolimerización de la heparina convencional, siendo el tratamiento anticoagulante de elección durante la gestación o previa la realización de procedimientos invasivos. Su efecto adverso más registrado son las lesiones equimóticas en las zonas de aplicación, si bien las reacciones cutáneas de hipersensibilidad tardía (tipo IV) también están descritas. El objetivo de nuestro estudio ha sido analizar la experiencia en el manejo anticoagulante y alergia documentada a HBPM en nuestro centro.

Métodos: Se han analizado de forma retrospectiva desde mayo/2010 hasta mayo/2015 un total de seis casos con reacciones cutáneas (eritema, eccema, edema) postaplicación de HBPM con posterior estudio de Alergología. Se recogieron datos epidemiológicos, estudio de pruebas epicutáneas/intradérmicas y evolución postratamiento.

Resultados: De los seis pacientes con diagnóstico de trombofilia, cuatro de ellos ya estaban anticoagulados previamente con acenocumarol, suspendiéndose de forma temporal por intervencionismo, las dos restantes eran gestantes de reciente inicio. Todos iniciaron tratamiento con enoxaparina ajustada a rango terapéutico. El 50% presentó placas eritematoedematosas, y el 50% restante lesiones tumefactas eczematosas, 1-5 días posteriores en el área de inoculación. Se realizaron pruebas epicutáneas estándar de GEI-DAC, Chemotechnique y heparinas (sódicas, HBPM disponibles en nuestro hospital y fondaparinux), que no presentaron positividades relevantes a las 48 y 96 horas. Las pruebas intradérmicas a

la lectura de siete días fueron positivas para enoxaparina, bemiparina, tinzaparina y heparina sódica y negativa para fondaparinux en la totalidad de la muestra. Un 33% presentaron lectura dudosa para dalteparina, realizándose pruebas de provocación mediante punción subcutánea a los agentes de lectura dudosa/negativa a los siete días, resultando negativas tanto para dalteparina como fondaparinux. Dicho 33% recibió tratamiento con dalteparina, el restante con fondaparinux, sin incidencias posteriores (Tabla I).

Conclusiones: Las características clínicas/alergológicas de nuestra serie son similares a los estudios previos, destacando a la enoxaparina como la HBPM más comúnmente implicada en las reacciones de hipersensibilidad en nuestro centro, debido a su mayor uso. La evolución clínica del proceso suele ser benigno y remitir tras la suspensión del fármaco, siendo las pruebas intradérmicas y la provocación subcutánea el “patrón oro”. El fondaparinux es una opción anticoagulante válida en estos pacientes, debido a la alta probabilidad de reacciones cruzadas con otras heparinas.

PC-449 Niveles de antiXa en muestras de rutina de pacientes anticoagulados con anticoagulantes de acción directa

Muñiz Lobato S., Morán Alcalá M., López Sampayo M., González Fernández E., González Ordóñez Á. J.

Hospital San Agustín. Avilés, Asturias

Introducción: Los anticoagulantes de acción directa (ACOD) están siendo utilizados cada vez con más frecuencia en nuestro medio para prevención y tratamiento de eventos tromboembólicos. Estos tratamientos no precisan monitorización rutinaria, sin embargo, en determinadas situaciones (hemorragias, fallos de tratamiento, intervenciones quirúrgicas urgentes,...) podríamos precisar medirlos. Para ello se han desarrollado técnicas cromogénicas específicas para cada fármaco.

Objetivo: El objetivo de nuestro estudio es medir los niveles de antiXa, en pacientes anticoagulados con ACOD en muestras obtenidas de forma rutinaria y compararlos con los valores esperados publicados para cada fármaco.

Población y métodos: Estudio observacional analítico de muestras de pacientes anticoagulados con rivaroxaban y apixaban extraídas de forma rutinaria. Todos llevaban bajo tratamiento más de seis meses cuando se realizó la extracción de la muestra y aseguraban buena adherencia. La indicación por la que estaban anticoagulados era fibrilación auricular no valvular, excepto dos pacientes que la indicación era enfermedad tromboembólica venosa. Además se recogieron los siguientes datos: edad, momento de la extracción de la muestra (pico o valle), filtrado glomerular estimado (FGe), dosis, CHADSVASC y HASBLED. Se efectuó TP y TTPa en plasma citratado, la concentración de rivaroxaban y apixaban se midió mediante niveles de antiXa utilizando controles y calibradores específicos de HemosIL® y Technoview® respectivamente.

Resultados: Se recogen 76 muestras: 45 de pacientes tratados con rivaroxaban y 31 de apixaban. La población a tratamiento con rivaroxaban presenta una edad de 77.5 años (50-90), 22 mujeres y 23 hombres, 15 pacientes recibían dosis de 15 mg y 30 pacientes la

Tabla I. Descripción de la muestra analizada. Tratamiento anticoagulante en pacientes con diagnóstico de trombofilia y alergia documentada a heparina de bajo peso molecular. Experiencia de un hospital comarcal

Paciente	Edad	Sexo	Motivo HBPM	Tipo HBPM	Reacción cutánea	Reacción cruzada	Tratamiento usado
1	29	F	Inicio anticoagulación (gestación)	Enoxaparina AAS 100 mg	Placas eritematoedematosas	Bemiparina Tinzaparina Dalteparina Heparina sódica	Fondaparinux
2	33	F	Inicio anticoagulación (gestación)	Enoxaparina AAS 100 mg	Placas eritematoedematosas	Bemiparina Tinzaparina Dalteparina Heparina sódica	Fondaparinux
3	60	F	Intervencionismo	Enoxaparina	Lesiones tumefactas eccematosas	Bemiparina Tinzaparina Heparina sódica	Dalteparina
4	68	M	Intervencionismo	Enoxaparina	Placas eritematoedematosas	Bemiparina Tinzaparina Dalteparina Heparina sódica	Fondaparinux
5	73	M	Intervencionismo	Enoxaparina	Lesiones tumefactas eccematosas	Bemiparina Tinzaparina Dalteparina Heparina sódica	Fondaparinux
6	77	F	Intervencionismo	Enoxaparina	Lesiones tumefactas eccematosas	Bemiparina Tinzaparina Heparina sódica	Dalteparina

dosis de 20 mg. El FGe medio 59.9 ml/min, un CHADSVASC 3.79 (1-8), con un HASBLED 2.93 (1-5). Las muestras fueron recogidas en valle, habiendo pasado entre 18 y 24 h de la toma anterior, excepto en un paciente 10 h. El estudio de coagulación fue normal. La mediana de concentración fue de 22.9 ng/mL, oscilando entre 0 y 139.9, los valores esperados descritos en la literatura eran de 32 (6-239), en nuestro grupo de pacientes el 89% se encontraban en este rango, existían 5 pacientes con resultado 0 ng/mL. Los 31 pacientes que recibieron apixaban tenían una edad de 82.4 años (68-94), 15 mujeres y 16 hombres, 14 de ellos recibían dosis de 2.5 mg y 17 de 5 mg. El FGe es 58.2 mL/min, CHADSVASC era 4.8 (2-9) y HASBLED 3 (1-5). Las muestras fueron recogidas inmediatamente antes de la siguiente toma, obteniendo TP y TTPa normal. La mediana de concentración para la dosis 2.5 mg fue 114.2 ng/mL (38.1-277.4), siendo la publicada de 79 (34-162) y para la dosis de 5 mg 177.1 ng/mL (55.6-636.1), la publicada es de 103 (41-230). En nuestros datos observamos cifras más elevadas a las descritas, sin existir correlación con alteraciones en el estudio de coagulación ni complicaciones hemorrágicas (Tabla I).

Tabla I				
	Rivaroxaban		Apixaban	
n	46		31	
Edad	77.5		82.4	
Dosis/pacientes	15 mg	15	2.5 mg	14
	20 mg	30	5 mg	17
FGe (mL/min)	59.9		58.2	
CHADSVASC	3.79		4.8	
HASBLED	2.93		3	
Concentración obtenida (ng/mL)	22.9 (0-139.9)		2.5 mg	114.2 (38.1-277.4)
			5 mg	177.1 (55.6-636.1)
Concentración teórica (ng/mL)	32 (6.239)		2.5 mg	79 (34-162)
			5 mg	103 (41-230)

Conclusiones: La actividad de antiXa es una técnica útil para calcular la concentración de rivaroxaban y apixaban, que podría ser útil en caso de complicaciones, aunque parece que no están bien establecidas las concentraciones “valle” en cada fármaco.

PC-450 Evaluación del primer año del programa de autocontrol del tratamiento anticoagulante oral con fármacos antivitamina K en el Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín

González Pinedo L., Quintana París L., Acosta Fleitas C., Cruz Cruz N., Navarro García N., Sáez Salinas A., González Martín J. M., Molero Labarta T.

Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín. Las Palmas de Gran Canaria

Introducción: El número de pacientes en tratamiento anticoagulante oral (TAO) aumenta cada año. En nuestro medio, el tratamiento con fármacos antivitamina-K (AVK) sigue siendo mayoritario a pesar de sus limitaciones. Con el objetivo de mejorar la eficacia y seguridad de este tratamiento se pueden utilizar varias estrategias enfocadas a mejorar el tiempo en rango terapéutico (TRT) del paciente. Una de ellas es el Programa de Autocontrol. En esta modalidad de control del TAO es fundamental evaluar de forma estrecha los INR y las decisiones del paciente sobre su tratamiento anticoagulante, reflejados en su TRT, para confirmar que esta opción de tratamiento permite optimizar la calidad del TAO.

Objetivo: Evaluar el TRT de los pacientes que iniciaron el Programa de Autocontrol del TAO en el Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín (HUGCDN) de junio-2015 a mayo-2016.

Método: Se seleccionaron pacientes con indicación de tratamiento con AVK del HUGCDN en base a los siguientes criterios: indicación de anticoagulación indefinida, buena comprensión de su tratamiento, capacidad para su gestión y toma de decisiones. Para la inclusión en el programa de Autocontrol se realizó un entrenamiento individualizado en la Unidad de Tratamiento Anticoagulante del HUGCDN. Los pacientes firmaron consentimiento informado aceptando su inclusión. Un año después del inicio de este programa se analizaron los datos de 13 pacientes incluidos en el mismo con un periodo de seguimiento de autocontrol de al menos 4 meses. Se calculó el TRT de cada paciente antes del inicio del autocontrol (12 meses anteriores cuando fue posible) y posteriormente. Este cálculo se hizo mediante porcentaje de INR en rango (%TRT) y también por el método de Rosendaal (TRT-R). Se utilizó el test de Shapiro-Wilk para comprobar la normalidad de los datos de las variables cuantitativas. Se utilizó el test de Wilcoxon para comparar datos relacionados. El programa estadístico utilizado fue R Core Team (2014).

Resultados: Se analizaron 13 pacientes: 6 hombres y 7 mujeres. La mediana de edad fue de 38 años (rango: 30-79). El rango de INR establecido era de 2,5 a 3,5 para 4 pacientes (portadores de válvulas mecánicas mitrales y mitroaórticas) y de 2 a 3 para 9 pacientes (prótesis aórticas, prótesis pulmonar, fibrilación auricular y enfermedad tromboembólica venosa). Dos pacientes iniciaron autocontrol habiendo estado en tratamiento con AVK durante menos de 6 meses. La mediana de %TRT antes y después del autocontrol fue de 50,35% y 66,7% respectivamente (p-valor: 0,002). La mediana de TRT-R antes y después del autocontrol fue de 48,75% y 62,1% respectivamente (p-valor: 0,01). Durante el período de seguimiento los pacientes en este programa no presentaron complicaciones clínicas trombóticas ni hemorrágicas. Un paciente finalizó autocontrol al requerir aumento del rango terapéutico. Solo en un paciente se observó disminución del TRT, objetivándose errores en las decisiones tomadas durante el autocontrol.

Conclusiones: Al evaluar el programa de autocontrol del HUGCDN un año después de su inicio se observó aumento significativo de la mediana del TRT en porcentaje de INR en rango y por el método de Rosendaal de los pacientes incluidos en dicho programa.

PC-451 Uso de complejo protrombínico en la práctica clínica habitual en nuestro centro hospitalario

De Ramón Sánchez C. (1), Lado Cives T. (1), Bombín Canal C. (1), Zato Hernández E. (1), Cebeira Moro M. J. (1), Enríquez Olivar L. (2), Izquierdo Muñoz S. (2), Hernando Verdugo M. (2), Peñarribia Ponce M. J. (1)

(1) Servicio de Hematología y Hemoterapia. (2) Servicio de Farmacia Hospitalaria. Hospital Clínico Universitario de Valladolid. Valladolid

Introducción: Los concentrados de complejo protrombínico (CCP) son compuestos que contienen factores de coagulación vitamina K dependientes (II, VII, IX, X) con actividad hemostática, así como proteínas C y S. Está indicado para revertir de forma urgente los efectos de los fármacos antivitaminas K.

Métodos: Estudio observacional retrospectivo, incluyendo 100 pacientes que han recibido al menos una unidad de CCP durante el periodo de enero 2015 a marzo 2016. Se revisaron las historias clínicas y parámetros analíticos. Se evaluó la adecuada indicación clínica del CCP así como su eficacia en la reversión del efecto vitamina K; con el objetivo de realizar un protocolo clínico asistencial.

Resultados: *Indicaciones:* hemorragias agudas o con compromiso vital en el 36% de los casos, intervención quirúrgica urgente en el 54%, procedimientos diagnósticos o terapéuticos invasivos en el 3%, politraumatismos en el 3%, y del 4% restante no hay datos (Fig. 1). En el subgrupo de pacientes con sangrado grave (36%), el 41.6% (15/36) correspondía a hemorragia cerebral, el 27.7% (10/36) a sangrados digestivos, el 22.2% (8/36) a sangrados postquirúrgicos y el 8.3% (3/36) a politraumatismos severos. El 80% de los pacientes en los que se pautó CCP estaban con tratamiento anticoagulante, con acenocumarol el 73%, con anticoagulantes orales de acción directa un 4%, con heparinas de bajo peso molecular el 2% y con bivalirudina el 1%. De los pacientes no anticoagulados (20%) uno estaba recibiendo doble antiagregación y tres presentaban fallo hepático. El número de viales de CCP utilizados (500 mg cada vial) fue igual o menor a 2 en el 69% de los casos, 3 viales en el 22% y 4 viales en el 9%. En nuestra revisión se comprobó el INR en el 86% de los casos, en el 12% se realizó pasadas 24 horas, y el 2% restante fueron éxitos. Del subgrupo de pacientes anticoagulados con acenocumarol (73) que recibieron CCP, en el 89% (65/73) se monitorizó el INR en menos de 24 horas, observándose reversión en el 57.5% (42/73). El número

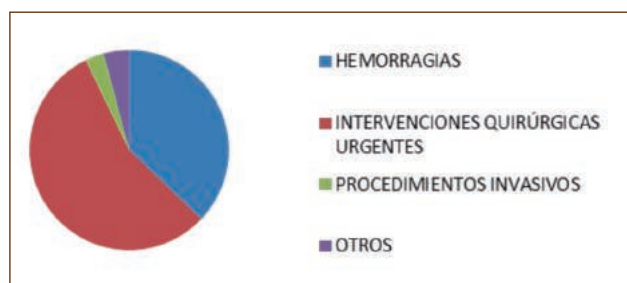


Figura 1. Indicaciones CCP en nuestro centro.

de viales recibidos en este subgrupo fue: igual o menor a 2 en el 65.7% (48/73), 3 viales en el 24.7% (18/73) y 4 viales en el 9.6% restante (7/73).

Conclusiones: La indicación principal en nuestro hospital del CCP ha sido la cirugía urgente y el cese de hemorragias graves en pacientes anticoagulados con dicumarínicos. En casi el 60% de los pacientes anticoagulados con acenocumarol que recibieron CCP no se consiguió reversión; probablemente por dosis inferiores a las recomendadas por ficha técnica. Este estudio nos permite analizar la pauta habitual del CCP en nuestro centro y sentar las bases para establecer un protocolo de actuación multidisciplinar y optimizar así su uso de forma individualizada.

PC-452 Estudio de seguridad y eficacia de los anticoagulantes de acción directa para el tratamiento de la enfermedad tromboembólica venosa

Cerezo-Manchado J. J., Martínez Marín A., Rosa-Salazar V., García-Ramírez J. D., García-Candel F., Cabañas Perianes V., Berenguer Piqueras M., Salido Fierrez E., Pérez López R., Muñoz Esparza C., Labbadia F., Blanquer Blanquer M., García-Hernández A. M., Ramón Mitat A., Moya Arnao M., Fernández Poveda E., Navarro Almenzar B., Moraleda Jiménez J. M.

Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. IMIB-Arrixaca. Universidad de Murcia. Murcia

Introducción: Desde la aprobación del uso de los anticoagulantes de acción directa (ACOD) para el tratamiento de la enfermedad tromboembólica venosa (ETV), el uso de estos fármacos ha ido en aumento, dado su excelente perfil de seguridad en los ensayos clínicos que dieron lugar a su aprobación (1-3) y pese a las limitaciones derivadas de la necesidad de visado en nuestro país. Las limitaciones para su uso en ETV han determinado que aún existan pocos estudios que confirmen la eficacia y la seguridad de estos fármacos en la práctica clínica habitual.

Objetivos: Estudiar la eficacia y seguridad de la administración de ACOD en una serie de pacientes diagnosticados de ETV en nuestro hospital durante 5 años.

Métodos: Se realizó un estudio retrospectivo de los pacientes que fueron tratados con ACOD para la ETV desde 2010-2015 en el Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Los pacientes fueron seguidos hasta discontinuación del fármaco o hasta el último seguimiento. La dosis de ACOD y su indicación fue elegida a criterio clínico. Las variables principales investigadas fueron el número de sangrados mayores y número de eventos tromboembólicos. 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 70 pacientes. La mediana de edad fue de 65 años (40-77) siendo 33 varones (55%). El diagnóstico más frecuente al inicio del tratamiento fue trombosis venosa proximal aislada 35 (49%). Treinta pacientes tenían algún tipo de comorbilidad siendo la hipertensión arterial la más común (44%). El ACOD más utilizado fue el apixaban (37 pacientes,

52%), seguido de rivaroxaban (21 pacientes, 30%) y dabigatran (12 pacientes, 18%). Con una mediana de seguimiento de 177 días (95-482), se observó un nuevo evento tromboembólico en tres pacientes (4%), de los que uno había suspendido el tratamiento por cuenta propia. Durante el seguimiento no se registró ningún episodio de sangrado mayor, ni ninguna muerte relacionada con el tratamiento, aunque fallecieron dos pacientes (3%) debido a un cuadro infeccioso y una neoplasia respectivamente.

Conclusión: Los datos de nuestra serie son similares a los publicados en el estudio AMPLIFY (2), EINSTEIN (1) y RE-COVER (3) confirmando los datos de seguridad y eficacia de estos fármacos en nuestro medio.

Bibliografía

1. The EINSTEIN Investigators. Oral rivaroxaban for symptomatic venous thromboembolism. *N Engl J Med* 2010;363:2499-510.
2. AMPLIFY Investigators. Oral apixaban for the treatment of acute venous thromboembolism. *N Engl J Med* 2013;369(9):799-808.
3. RE-COVER Study Group. Dabigatran versus warfarin in the treatment of acute venous thromboembolism. *N Engl J Med* 2009;361(24):2342-52.

PC-453 Ictus en pacientes anticoagulados, revisión en un único centro

Martínez Roca A. (1), Aguinaco Culebras R. (1), Escoda Teigell L. (1), Pellisé Guinjoan A. (2), Ustrell Roig X. (2), Talarn Forcadell C. (1), Do Nascimento J. (1), Vallansot R. (1), Esteban Figuerola A. (1), Giménez Pérez T. (1), Araguás Arasanz C. (1), Sarrà Escarre J. (1)

(1) Servicio de Hematología. (2) Servicio de Neurología. ICO-Hospital Universitari de Tarragona Joan XXIII. Tarragona

Objetivo: El objetivo de nuestra revisión era estudiar la población de pacientes anticoagulados que sufrieron un ictus, enfocando nuestra atención en las características demográficas, factores de riesgo asociados y correcto rango de tratamiento basados en el ratio internacional normalizado (INR).

Materiales y métodos: Retrospectivamente evaluamos 788 pacientes consecutivos quienes tuvieron un evento isquémico o hemorrágico entre el 2011 y enero del 2016, analizando aquellos que se encontraban recibiendo anticoagulación al momento del ictus, un total de 52 con especial atención en la etiología, antecedentes patológicos e INR en la fase aguda.

Resultados: La edad media era de 74 años. La población se dividía en 20 mujeres (38%) y 32 (61%) hombres. EL número de ictus isquémicos fue de 42 (80%) y de ictus hemorrágicos de 10 (19%). De esta población 11 (21%) tenían antecedentes de alcoholismo moderado o severo, y 4 (7%) eran fumadores activos. Se observó hipertensión arterial en 48 (92%), diabetes mellitus en 22 (42%) y dislipidemia en 23 (44%). En 20 (38%) de ellos existía historia previa de ictus y en 4 (7%) historia de AIT. Se evidenció antecedente de cardiopatía isquémica en 9 (17%) pacientes y en 50 (96%) cardiopatía embolígena. Cuarenta y siete (90%) de los pacientes estaban anticoagulados con anti vitamina K y 5 (9%) con anticoagulantes directos (rivaroxaban 1, apixaban 1 y dabiga-

tran 3). De estos 36 (69%) presentaban un INR > 3 y 11 (5%) un INR < 3. Solo 18 (34%) pacientes tenían un INR dentro de rango y 29 de ellos (56%) se encontraban por debajo de rango terapéutico. La razón principal para la anticoagulación era la fibrilación auricular en 47 (90%). 10 (19%) de los pacientes se encontraba tomando AAS al momento del ictus.

Conclusiones: Algunos pacientes que toman anticoagulantes sufren ictus, predominantemente isquémicos. Se confirman como factores de riesgo el estar por debajo de rango terapéutico, comorbilidades asociadas a arterioesclerosis y el antecedente de ictus previo. En un 19% de pacientes el tratamiento conjunto con antiagregantes no protegió del evento isquémico.

Bibliografía recomendada:

1. Cano LM, Cardona P, Quesada H, Lara B, Rubio F. Ischaemic stroke in patients treated with oral anticoagulants. *Neurología* 2014 Dec 16.
2. Rodríguez-Campello A, Roquer-González J, Gomis-Codina M, Munteis E, Ois-Santiago AJ, Herraiz-Rocamora J. Hemorragia cerebral en pacientes en tratamiento con anticoagulantes orales. *Rev Neurol* 2005;40:19-22.

PC-454 Monitorización de la heparina de bajo peso molecular en gestantes de alto riesgo

Lacalle Aicua L., Espinosa Lara N., Tercero-Mora Rodríguez M., Segura Díaz A., Ferrer Garrido G., Salvador Rupérez E., Murillo Flórez I., Calvo Villas J. M., Fernández Mosteirín N., Delgado Beltrán P.

Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza

Introducción y objetivos: La monitorización de la actividad del factor anti-Xa en gestantes de alto riesgo en profilaxis con heparinas de bajo peso molecular (HBPM) es controvertida. El objetivo de este estudio retrospectivo y observacional es evaluar nuestra experiencia en la monitorización de dicho tratamiento empleando la determinación de niveles de anti-FXa en las gestantes de alto riesgo en profilaxis y tratamiento con HBPM desde junio de 2011 a mayo de 2016 en nuestro hospital.

Métodos: Se analizaron los parámetros demográficos, datos de trombofilia congénita y/o adquirida, la historia obstétrica, episodios trombóticos y complicaciones obstétricas de 138 embarazadas de alto riesgo con 153 gestaciones. Se revisó el tratamiento antitrombótico, dosificación inicial, cambios de dosis y niveles de anti-FXa durante el seguimiento.

Resultados: La mediana de edad fue de 35 años (rango: 20-47 años). La mayoría de las gestantes recibieron enoxaparina (150 gestaciones), 147 a dosis profilácticas (133 a dosis de 40 mg/24h) y 3 a dosis terapéuticas: 2 por antecedentes de TVP y 1 por TEP en la semana 11 de gestación. 3 pacientes recibieron bemiparina a dosis de 5000U, 7500U y 10,000U; todas ellas en régimen profiláctico, una por antecedentes de trombofilia y las dos últimas por síndrome antifosfolipídico. Las indicaciones de HBPM fueron: estudio de trombofilia positivo en 113 pacientes (7 casos de déficit de proteína C, 17 déficit de proteína S, 10 mutaciones de Factor V Leiden, 2 déficit de Antitrombina, 11 homocigosis para MTHFR, 39 síndro-

me antifosfolipídico y 27 heterocigosis del gen MTHFR asociado a trombosis); mala historia obstétrica en 12 pacientes; antecedentes de TVP en 17 pacientes y otras causas 11 pacientes (4 accidentes isquémicos transitorios por FOP, 3 FIV, 1 anemia falciforme, 1 Sd. Raynaud, 1 obesidad y 1 tromboembolismo oftálmico). La mediana de controles de anti-FXa por gestación fue 8 (rango: 1-16). La media del valor de anti-FXa en profilaxis fue 0,24 UI/mL (rango, 0,07-0,87). Fue necesario incrementar la dosis de HBPM durante el seguimiento en 52 gestaciones (33,9%), y 14 precisaron ajustes adicionales de dosis según el valor anti-FXa. Se detectaron 6 amenazas de aborto, 2 retrasos de crecimiento intrauterino, 1 amenaza de parto pretérmino, 1 atonía uterina y 1 hematoma postquirúrgico. Dos pacientes con niveles infraterapéuticos de factor Xa tuvieron 1 TVP y 1 muerte fetal a las 37 semanas de gestación por eclampsia.

Conclusión: Los resultados de la monitorización de anti-FXa en gestantes de alto riesgo tratadas con HBPM fueron similares a los comunicados por otros autores. El incremento habitual de la dosis de HBPM en nuestras gestantes sugiere la necesidad de planificar una estrecha monitorización de la actividad de anti-FXa hasta conseguir los niveles deseados. A pesar de las guías disponibles sobre anticoagulación en gestantes de alto riesgo, sería interesante actualizar las recomendaciones de monitorización del efecto de las HBPM durante la gestación que garanticen una anticoagulación segura y eficaz para gestantes de riesgo.

Conceptos básicos en hemostasia

PC-455 Estudio clínico y molecular de una cohorte de 24 pacientes con déficit de fibrinógeno en el Hospital Vall d'Hebron de Barcelona

Maluquer Artigal C. (1), Ramírez Orihuela L. (2), Comes Fernández N. (3), Borràs Agustí N. (3), Corrales Insa I. (3), Parra López R. (4), Vidal Pérez F. (3), Altisent Roca C. (1)

(1) Unidad de Hemofilia. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Hospital Vall d'Hebron. Barcelona. (2) Banc de Sang i Teixits. Barcelona. (3) Banc de Sant i Teixits. Unitat de Diagnòstic i Teràpia Molecular. Hospital Vall d'Hebron. Barcelona. (4) Unitat de Hemofilia. Hospital Vall d'Hebrón. Banc de Ssang i Teixits. Barcelona

Introducción: Los defectos congénitos del fibrinógeno representan el 8% de las coagulopatías raras; la prevalencia de la afibrinogenemia es extremadamente baja y la de la hipo y disfibrinogenemia puede estar infravalorada por la ausencia de clínica hemorrágica en alrededor del 50% de los casos. Las trombosis pueden estar presentes en un 20-25% de los pacientes con disfibrinogenemia.

Objetivo: Estudiar y caracterizar clínica, fenotípica y molecularmente una cohorte de pacientes con déficit congénito de fibrinógeno.

Métodos: Estudio retrospectivo de 24 pacientes de 15 familias (16 mujeres y 8 varones) con una mediana de edad de 16.5 años

[0;61], diagnosticados en los últimos 10 años en la Unitat d'He-mofilia. En el análisis descriptivo se ha tenido en cuenta el motivo de diagnóstico, manifestaciones clínicas, estudio de fibrinógeno (fibrinógeno derivado y Clauss, tiempo de trombina y tiempo de reptilase) y las necesidades terapéuticas. Estudio molecular de los genes implicados (*FGG*, *FGA*, *FGB*) mediante secuenciación masiva utilizando un panel de genes relacionados con coagulopa-tías congénitas.

Resultados: *Motivos de consulta:* 2 pacientes por clínica hemorrágica, 10 pacientes se diagnosticaron fortuitamente en una analítica de control y 12 por estudio familiar. Se ha encontrado la mutación responsable del trastorno en 14 de las 15 familias estudiadas. Cuatro familias presentan una mutación en el *FGA*, 2 en el *FGB*, 7 en el *FGG* y una familia presenta mutación tanto en *FGB* como en *FGG*. Se han identificado 11 mutaciones *missense* (*FGA*:p.P222T, *FGA*:p.R38G, *FGB*:p.R285C, *FGB*:p.R478L, *FGG*:p.A108G, *FGG*:p.A353T, *FGG*:p.G359S, *FGG*:p.R301C, *FGG*:p.R301H, *FGG*:p.R401L, *FGG*:p.Y375D) y una *indel* (*FGA*: p.G316EfsX103). Seis de estas mutaciones no habían sido descritas previamente. Los pacientes se clasificaron como: disfibrinogenemias (15); hipodisfibrinogenemias (5); hipofibrinogenemias (3) y afibrinogenemia (19). El 60% de los pacientes con disfibrinogenemia y el 66% con hipofibrinogenemia permanecían asintomáticos. En un 30% de los casos se presentaron manifestaciones clínicas leves. Diecinueve pacientes nunca han precisado tratamiento, en 4 se ha realizado tratamiento previo a intervención quirúrgica y la afibrinogenemia sigue tratamiento a demanda. Ninguno de los pacientes ha presentado complicación trombótica.

Conclusiones: Las manifestaciones clínicas de esta cohorte son similares a las descritas en la literatura, predominando los casos asintomáticos. La ausencia de clínica dificulta la indicación de estudios de fibrinógeno. El hecho de que la mediana de edad sea baja puede justificar que, de momento, ningún paciente haya presentado ninguna complicación trombótica.

PC-456 Frecuencia de complicaciones en la terapia anticoagulante puente perioperatoria en el Hospital Universitario Severo Ochoa de Madrid

Condori Arenas Myrna H., Rodríguez González R., Sánchez Fontarigo N., Amores Contreras G., Díaz Goyzueta M., Requena M. J., Sánchez Godoy P.

Hospital Severo Ochoa. Leganés, Madrid

Introducción: Los riesgos perioperatorios que presenta el paciente anticoagulado son dinámicos y dependen mucho del criterio médico del servicio tratante. En nuestro hospital la valoración del riesgo de complicaciones trombóticas y hemorrágicas se realiza en colaboración estrecha con el Servicio de Hematología quienes hemos elaborado Protocolos Normalizados de manejo con el fin de disminuir la morbimortalidad por dichas complicaciones. El motivo del presente trabajo es describir y analizar la frecuencia de presentación de complicaciones trombóticas y hemorrágicas con el propósito de evaluar y mejorar nuestros procesos.

Métodos: Estudio retrospectivo, observacional y descriptivo. Se revisaron las historias clínicas de todos los pacientes anticoagulados que fueron sometidos a intervención convencional en el Servicio de Cirugía General y Digestiva del Hospital Universitario Severo Ochoa durante el periodo abril del 2007 -abril del 2016.

Resultados: Un total de 1079 pacientes anticoagulados fueron sometidos a cirugía general y digestiva. El 99.6% de pacientes (1075) estaban anticoagulados con antagonista de la vitamina K (AVK). Las causas de anticoagulación más frecuente fueron: fibrilación auricular no valvular seguida de la trombosis venosa profunda (TVP), en tercer lugar y con diferencia significativa prótesis valvulares mecánicas seguidas de síndrome antifosfolípido, enfermedad cerebrovascular y trombofilia primaria. Del total de pacientes un 94% (1025) recibieron terapia puente con heparina de bajo peso molecular (HBPM) con una mediana de 3 días de suspensión de la anticoagulación previo al procedimiento y con una mediana de 2 días para el reinicio del agente anticoagulante que previamente se le administraba.

De la población estudiada 15 pacientes (1.4%) presentaron complicaciones de tipo hemorrágico y 2 pacientes (0.19%) de tipo trombótico. Al realizar el análisis por tipo de procedimiento las complicaciones hemorrágicas solo se presentaron en aquellos casos sometidos a cirugía mayor con una mediana de tiempo de presentación de hemorragia de 3 días. De los 15 pacientes con sangrado 12 (80%) habían sido manejados con heparina no fraccionada (HNF) y 3 pacientes (20%) con HBPM como terapia puente. Los eventos hemorrágicos más graves fueron 2 pacientes con hemorragia digestiva alta y 1 caso de hemoperitoneo que requirieron terapia transfusional evolucionando en forma favorable. No hemos incluido a los pacientes que fueron reintervenidos para revisión de hemostasia en los que se encontró causa quirúrgica. Solo en 2 casos observamos complicación trombótica: uno de ellos Ictus que requirió ingreso prolongado y un caso de Tromboembolismo Pulmonar. Ambos pacientes anticoagulados por TVP. La mediana de presentación de complicación trombótica fue de 4 días desde la intervención. Los dos casos recibieron HBPM como terapia puente.

Conclusiones: En nuestra revisión se ha documentado que la complicación hemorrágica (1.4%) es más frecuente que la trombótica (0.18%) y que el manejo perioperatorio del paciente anticoagulado, en conjunto con el Servicio de Hematología siguiendo Protocolos consensuados hace que la morbimortalidad por dichas complicaciones sea inferior a lo esperado.

PC-457 Anticoagulante lúpico: ¿cuándo, por qué y a quién?

Lorenzo Vizcaya Á., Fernández Mellid E., Fontanes Trabazo E., Calviño Suárez M., Arija Tejero O., López González L., Varela Pérez M., Lavilla Rubira E., Vázquez Fernández R., Cobas Freire Á., Sánchez Sánchez M. J., Ferrero Díaz S., Arias Sampedro J. A.
Hospital Universitario Lucus Augusti. Lugo

Introducción: La determinación del anticoagulante lúpico (AL) es una de las pruebas analíticas más solicitadas en los Laboratorios de Coagulación, importante para identificar la presencia

de anticuerpos antifosfolípido (AAF) circulantes, relacionados con diversos procesos autoinmunes (AI). Es una técnica poco estandarizada y específica, siendo fundamental una orientación diagnóstica para considerarla fiable y confirmar su positividad con dos determinaciones separadas al menos 12 semanas.

Objetivo: Valorar la utilidad del test de AL como método de *screening*, comprobando la validez del resultado: presencia de AL correctamente confirmada, procesos relacionados, subtipos de AAF identificados y las consecuencias diagnósticas, pronósticas y de tratamiento.

Métodos: Revisamos los resultados positivos de AL obtenidos en nuestro Centro entre enero y diciembre de 2015. La técnica empleada ha sido el test de veneno de víbora de Russell (dRVVT), empleando un ratio (R) normalizado (resultado muestra/resultado muestra control), considerando negativo si $R < 1.2$, indeterminado si $R 1.2-1.3$, y positivo si $R > 1.3$. En las muestras con resultado positivo confirmado, se revisó la presencia de otros AAF, realizados mediante técnica ELISA. Reevaluamos los diagnósticos de las diversas entidades clínicas según las Guías Internacionales, como los casos catalogados como SAF, según los criterios de Sapporo revisados. Analizamos variables epidemiológicas, factores de riesgo cardiovascular (FRCV), eventos trombóticos venosos, arteriales y recurrentes, asociación con otras alteraciones analíticas, tratamientos recibidos y evolución.

Resultado: Se realizaron 626 determinaciones de AL, con resultado positivo el 32%, indeterminado 13% y negativo 55% correspondientes a 510 pacientes, demostrándose en el 13% un AL positivo. El 19% de las determinaciones positivas, se realizaron coincidiendo con procesos agudos, sobre todo infecciosos. Solo en un 13% de pacientes se confirmaron los AL positivos. Las indicaciones de *screening* de AL estuvieron en relación procesos AI (28%), estudios de trombofilia (20%) y TTPA alargado (16%). Destaca la solicitud en un 12% sin una causa justificable. En las sospechas de trombofilia, se confirmó AL en el 5% de los pacientes. De estos, el 46% no cumplían criterios SAF y se identificaban otras causas de trombofilia congénita (proteína S, AT-III...). El 6% de los pacientes estudiados por trombosis o procesos AI cumplieron criterios SAF. El 69% presentaban FRCV. En los casos de eventos trombóticos, presentaron inmovilización un 31%. Un 34% fueron SAF secundarios, principalmente en relación con LES (19%) y SAF con complicaciones obstétricas (22%). Observamos las siguientes manifestaciones trombóticas en nuestros SAF: arteriales 28%, venosas 44%, obstétricas 19% y mixtas 9%. Intentamos realizar en los pacientes con AAF confirmados, una aproximación del score pronóstico GASSP. Los pacientes con AAF positivo+FRCV, tienen un score GASSP similar a los que sí cumplen criterios SAF. El 52% presentaban algún proceso AI, y el 83% recibía algún tipo de tratamiento (anticoagulación o antiagregación (72%) por otras comorbilidades) y puede que ello les proteja de trombosis frente al mal valor pronóstico que tiene el GASSP.

Conclusiones: El AL es una técnica muy usada y útil en el diagnóstico de procesos AI y trombóticos, siempre que se emplee en el momento y contexto adecuados. Los AAF tienen peso específico en el riesgo de trombosis, que puede ser contrarrestado con un tratamiento o profilaxis adecuada, como parece reflejarse en nuestra población.

Métodos de diagnóstico y marcadores

PC-458 Los anticuerpos anti- β 2-glicoproteína I IgG antidominio I son un factor de riesgo para trombosis en el síndrome antifosfolípido

Marco Rico A., Sánchez Tejada L., Marco Vera P.

Hospital General Universitario de Alicante. Alicante

Introducción: El síndrome antifosfolípido (SAF) es la suma de trombosis y con anticuerpos antifosfolípidos (AAF): anticardiolipina (ACA), anti- β 2-glicoproteína I (β 2GP) y anticoagulante lúpico (ACL). Aquellos pacientes triples positivos (ACA IgG, β 2GP IgG y ACL) presentan mayor riesgo de trombosis. Sin embargo un porcentaje importante de pacientes con AAF positivos persistentes no desarrollan trombosis. Los anticuerpos contra dominio I de β 2-glicoproteína I IgG (anti β 2GPIgG dominio I) son prevalentes en SAF y existe controversia sobre su asociación a trombosis. Sin embargo, no están incluidos en los criterios de Sydney.

Objetivo: Evaluar el impacto clínico de anti β 2GPIgG dominio I en SAF.

Material y métodos: Incluimos 130 pacientes (76% mujeres) todos con anticuerpos positivos anti- β 2-glicoproteína IgG. El 21% asintomáticos, el 33% con enfermedad autoinmune, y el 46% presentaban SAF (44 trombóticos y 16 obstétricos). Los AAF, incluyendo los anti β 2GPIgG dominio I se procesaron en un analizador automatizado por quimioluminiscencia (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 anti β 2GPIgG dominio I fueron positivos en el 54% de los pacientes con SAF trombótico; en el 37,5% de los SAF obstétricos; en el 39% de los pacientes con enfermedades; y en el 29% de los sujetos asintomáticos. El 54% de los SAF trombóticos expresaron anti β 2GPI IgG dominio I lo que supuso un riesgo de 2,129 veces mayor de expresar anti β 2GPIgG dominio I en este grupo respecto al resto de diagnósticos ($p = 0,043$). La sensibilidad para trombosis fue del 54,5% y la especificidad del 64%. El valor predictivo positivo (VPP) fue del 43% y el valor predictivo negativo (VPN) del 73%. El ACL fue positivo en el 68,2% de los SAF trombóticos, 50% de los SAF obstétricos, 32,6% de los pacientes con enfermedades autoinmunes y el 44,4% de los asintomáticos, con diferencia estadísticamente significativa entre los grupos ($p = 0,010$). Los ACA IgG resultaron positivos en el 61% de los SAF trombóticos, 50% de los SAF obstétricos, en 58% de los pacientes con enfermedades autoinmunes y en el 59% de los asintomáticos ($p=0,889$). El 61,4% de los pacientes positivos para ACA IgG, β 2GP IgG y ACL co-expresaron anti β 2GPIgG dominio I, lo que supuso un riesgo 13 veces mayor de expresar anti β 2GPIgG dominio I respecto a aquellos que no eran triple positivos ($p < 0,001$). El 89,1% de los pacientes positivos para ACA IgG y β 2GP IgG expresaron también el anti β 2GPIgG dominio I, lo que supuso un riesgo 14,519 veces mayor de expresar anti β 2GPIgG dominio I respecto a aquellos que no referían esta doble combinación ($p < 0,001$).

Conclusiones: Los anti β 2GPIgG dominio I fueron más prevalentes en pacientes con trombosis. Los pacientes con triple positividad (ACA IgG, β 2GP IgG y ACL) y con doble positividad (β 2GP IgG y ACA IgG), asociados con mayor incidencia de trombosis, presentan un riesgo > 10 veces de co-expresar anti β 2GPIgG dominio I. Los pacientes negativos a los anti β 2GPIgG dominio I se consideraron de bajo riesgo de trombótico dado su alto VPN.

PC-459 Inducción *ex vivo* de depósitos de c5b9 sobre células endoteliales como técnica para la evaluación de la activación del sistema del complemento y monitorización del tratamiento con eculizumab en el síndrome hemolítico urémico atípico

Palomo M. (1), Blasco M. (2), Molina P. (3), Escolar G. (3), Campistol J. M. (2), Díaz-Ricart M. (3)

(1) Instituto de Investigación Contra la Leucemia Josep Carreras. Servicio de Hemoterapia-Hemostasia. Hospital Clínic. Universidad de Barcelona. Barcelona. (2) Servicio de Nefrología y Trasplante Renal. Hospital Clínic. Universidad de Barcelona. Barcelona. (3) Servicio de Hemoterapia-Hemostasia. Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer (IDIBAPS). Hospital Clínic. Universidad de Barcelona. Barcelona

Introducción: El síndrome hemolítico urémico atípico (SHUa) es una enfermedad ultrarrara, de naturaleza sistémica y elevada morbi-mortalidad asociada. Esta patología está causada por una pérdida de regulación de la vía alternativa del complemento que conduce a la formación del complejo de ataque a la membrana (C5b9) y la lisis celular del endotelio. En los años 80 se inició su tratamiento con terapia plasmática y en el año 2011 se aprobó eculizumab, un fármaco que bloquea la fase final del complemento. Pese a que este último tratamiento ha supuesto un cambio en la historia natural del SHUa, en la actualidad no existen marcadores que sirvan para detectar aquellos pacientes que puedan estar sobre- o infra-tratados.

Métodos: Con el objetivo de monitorizar la actividad de la enfermedad, hemos desarrollado una técnica para medir la fase final de la activación del sistema complemento utilizando dos reactivos biológicos distintos: suero y plasma. Células endoteliales microvasculares (HMEC) en cultivo fueron expuestas a suero o plasma de pacientes con SHUa, en distintas fases de la enfermedad. Los depósitos de la proteína C5b9 del complemento sobre la superficie celular fueron cuantificados mediante inmunofluorescencia y microscopía óptica.

Resultados: La exposición de HMEC a suero y plasma de pacientes con SHUa resultó en un aumento significativo de los depósitos de C5b9 sobre la superficie celular, que disminuyó muy significativamente tras el tratamiento con eculizumab. La utilización de plasma produjo unos resultados mucho más concluyentes, reproducibles y objetivos. Además del depósito de C5b9, también observamos cambios en la generación y distribución de fibras de fibrina sobre la superficie celular.

Conclusiones: Los resultados obtenidos apuntan a que esta técnica podría consolidarse como una herramienta asistencial tanto

para determinar cuándo es necesario el tratamiento con eculizumab, como para ajustar la dosis del fármaco y sus intervalos de administración.

PC-460 Valor pronóstico a corto plazo de la anemia en pacientes con insuficiencia cardiaca aguda

Fernández Rodríguez M. Á. (1), Sánchez González M. (1), Arguello Junquera M. (1), Martínez Carballeira D. (1), Herrero Puente P. (1), Martín J. (2), Llorens P. (3), Jacob J. (4), Miró Ó. (5)

(1) Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo, Asturias. (2) Hospital Clínico Universitario. Madrid. (3) Hospital Clínico de Alicante. Alicante. (4) Hospital Universitario de Bellvitge. L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona. (5) Hospital Clínic. Barcelona

Introducción: La insuficiencia cardiaca (IC) es uno de los problemas más importantes de salud pública en los países desarrollados. Su prevalencia es elevada (16% en los mayores de 75 años). Constituye una de las principales causas de hospitalización, mortalidad y coste sanitario en España. La mayoría de los estudios en los que se establecen los factores pronósticos en insuficiencia cardiaca aguda (ICA) se ha realizado en pacientes ingresados sin incluir pacientes dados de alta en los Servicios de Urgencias (SUH) y con poca representación de pacientes españoles. El papel de la anemia como factor desencadenante de descompensación cardiaca es bien conocido. La anemia en los pacientes con IC es probablemente multifactorial. Múltiples estudios observacionales han encontrado que la presencia de anemia condiciona un peor pronóstico en pacientes con IC en términos de mortalidad (total y cardiaca) y reingresos por descompensación.

Objetivo: El objetivo de este estudio es determinar la importancia de la anemia como factor predictor de mortalidad precoz en pacientes con ICA atendidos en SUH.

Métodos: Estudio observacional, de cohortes prospectivo, sin intervención y multicéntrico. Se reclutaron de forma consecutiva pacientes que acudieron a los SUH de los centros participantes por un episodio de ICA. Se les realizó un seguimiento durante los 30 días posteriores a su asistencia. Se analizaron variables sociodemográficas, antecedentes del paciente, datos del episodio agudo, parámetros analíticos habituales en la atención de estos pacientes y los datos finales del episodio de ICA (alta a domicilio o ingreso en el hospital). Se definió anemia según los criterios de la OMS.

Resultados: Se incluyeron en el estudio 8.648 pacientes de los que tenían anemia 4.917 (56,8%). La comparación entre los pacientes con anemia y los que no la presentaban están en la **tabla I**. Los pacientes con anemia eran de más edad, mayor porcentaje de varones, más comorbilidades (HTA, DM, dislipemias, valvulopatía, cardiopatía isquémica, EPOC, arteriopatía periférica o episodios previos de IC). La toma previa de antiagregantes era superior en el grupo de anemia sin observarse diferencias en cuanto a la toma de anticoagulantes orales. La función renal alterada era más frecuente también en el grupo de anemia. La OR cruda de la anemia para la mortalidad a los 30 días es de 1.35 (IC95%: 1.10-1.66). Cuando se introduce en el modelo el resto

de variables con diferencias en el análisis bivalente la OR de la anemia es 1.07 (IQ95%: 0.87-1.31)

Tabla I. Características diferenciales entre los pacientes en función de si tienen o no anemia

	Grupo anemia n = 4.917	Grupo control n = 3.731	p
<i>Variables sociodemográficas</i>			
Edad (años) [media (DS)]	80.2 (9.5)	78.9 (10.6)	< 0.001
Sexo femenino [n (%)]	2065 (53.3)	2273 (59.7)	< 0.001
<i>Variables de comorbilidad</i>			
Hipertensión arterial [n (%)]	4276 (85.5)	3098 (81.4)	< 0.001
Diabetes mellitus [n (%)]	2424 (48.4)	1300 (34.1)	< 0.001
Dislipemia [n (%)]	2182 (43.6)	1496 (39.3)	< 0.001
Cardiopatía isquémica [n (%)]	1661 (33.2)	1010 (26.5)	< 0.001
Valvulopatía [n (%)]	1455 (29.1)	943 (24.8)	< 0.001
Enfermedad renal crónica [n (%)]	1511 (30.2)	525 (13.8)	< 0.001
Enfermedad cerebrovascular [n (%)]	702 (14.1)	416 (11.0)	< 0.001
Arteriopatía periférica [n (%)]	505 (10.1)	246 (6.5)	< 0.001
Episodio previo de IC [n (%)]	3230 (64.5)	2103 (55.2)	< 0.001
<i>Situación basal</i>			
NYHA basal III-IV [n (%)]	135 (24.7)	776 (20.4)	< 0.001
Barthel < 60 puntos [n (%)] ¹	1094 (25.4)	625 (19.3)	< 0.001
<i>Tratamiento previo a la consulta en urgencias</i>			
Anticoagulación oral [n (%)]	1275 (25.5)	99 (24.4)	0.17
Antiagregación [n (%)]	1928 (38.5)	1254 (32.9)	< 0.001
<i>Pruebas de laboratorio y exploraciones complementarias</i>			
Urea (mg/dl) [media (DS)]	70.9 (46.2)	55.4 (34.7)	< 0.001
Creatinina (mg/dl) [media (DS)]	1.51 (0.95)	1.16 (0.63)	< 0.001
FGe < 60 ml/min/1,73 m ² [n (%)]	3159 (63.1)	1741 (45.7)	< 0.001
Fibrilación auricular en el ECG [n (%)] ⁵	2054 (46.3)	1700 (51.1)	< 0.001
Ingreso hospitalario [n (%)]	3820 (76.4)	2794 (73.4)	0.001
<i>Seguimiento</i>			
Mortalidad a los 7 días [n (%)]	230 (4.7)	136 (3.6)	0.018
Mortalidad a los 14 días [n (%)]	343 (7.0)	199 (5.3)	0.002
Mortalidad a los 30 días [n (%)]	513 (10.4)	273 (7.3)	<0.001

Conclusión: La prevalencia de anemia en nuestro estudio es elevada (57%). El grupo de los pacientes con anemia presentaba un perfil de mayor riesgo vascular (edad, factores de riesgo vascular y grado funcional) y más comorbilidades. Se observa relación entre la anemia y mortalidad precoz en estos pacientes pero viene determinada no directamente por ella sino por las características propias de la población con anemia.

PC-461 Recuento absoluto de las poblaciones de células en el líquido cefalorraquídeo de pacientes con leucemia linfoblástica aguda B

De Sousa M. E., Palmeira C., Godinho I., Pires A. M., Azevedo C., Martins G.

Instituto Português de Oncologia Francisco Gentil. Porto, Portugal

Introducción: La afectación del sistema nervioso central (SNC) por las células patológicas es una evaluación obligada en los pacientes pediátricos. Por las normas internacionales, se lleva a cabo el recuento de células en cámara de Neubauer y la caracterización morfológica mediante microscopía. Junto a la evaluación citológica, la inmunofenotipaje, por citometría de flujo (CF) es utilizada para caracterizar las poblaciones celulares. Puesto que la CF es un método más sensible y específico, tratamos de analizar un protocolo de recuento absoluto por CF comparándolo con el método de referencia, con el propósito de implementarlo en la rutina.

Métodos: Se evaluaron 23 muestras de LCR de pacientes pediátricos con leucemia linfoblástica aguda B (LLA-B). Las muestras se procesaron para la caracterización inmunofenotípica de las poblaciones presentes y detección de células neoplásicas. Antes de la adquisición se añadió un volumen de esferas (Perfect Count CYTOGNOS) a cada tubo. La adquisición de las muestras se hizo en el citómetro de flujo FACSCanto II (BD) y los archivos obtenidos se analizaron con el software Infinicyt (Cytognos). Los resultados obtenidos por CF se compararon con la evaluación citológica.

Resultados: La comparación del recuento de células absoluto por los dos métodos demostró una correlación de 0,999. Las 23 muestras analizadas por CF presentan células, aunque en la cámara 4 son negativas (en estos cuatro casos, el número de células/μl por CF varió entre 0,07 y 1,13). Ningún caso de menos de 5 células/μl por microscopía, mostró más de 5 células/μL por CF. Por otro lado, las 6 muestras que en cámara han revelado un valor igual o superior a 5 células/μL (5-317 células) mostraron una variación de 4,6 a 453 células/μL, por CF.

Conclusiones: Los recuentos absolutos de las poblaciones de células por CF presentes en el LCR de pacientes pediátricos con LLA-B, mostraron una alta correlación con los resultados del método convencional (en la cámara de recuento Neubauer). La CF permitió, no solo hacer el recuento absoluto de las células, sino también caracterizar las diferentes poblaciones presentes en el LCR, la diferenciación de células anormales respecto a las células normales y se reveló un método útil para implementar en la rutina.

PC-462 ¿Es suficiente un único test para diagnosticar el anticoagulante lúpico?

Martínez-Robles V., Ballina B., Machado González M. Á., González Laguna S., García Furones J., Pérez Gutiérrez B., Rodríguez García J. A.

Complejo Asistencial Universitario de León. León

Introducción: Se denomina anticoagulante lúpico (AL) a un grupo heterogéneo de inmunoglobulinas dirigidas contra fosfolí-

pidos (FL) de carga negativa. Debido a su heterogeneidad, aunque in vitro pueden prolongar los tiempos de coagulación dependientes de FL, no hay ningún test que pueda identificarlo en su totalidad, constituyendo un reto diagnóstico. El comité de estandarización de la ISTH recomienda: a) realizar dos ensayos diferentes dependientes de FL considerando el de veneno de víbora de Russel diluido (dRVVT) como test principal; b) evidenciar que la prolongación no se corrige en prueba de mezclas 1:1 con plasma normal; y c) confirmación mediante los mismos tests de escrutinio usando altas concentraciones de FL.

Objetivo: Evaluar si con un único test, junto con el apoyo del estudio basal de coagulación (EBC), pudiera ser suficiente para el diagnóstico de AL.

Método: Se analizaron 273 estudios considerados positivos de entre los realizados en nuestro laboratorio. Todas las muestras se procesaron en un analizador ACL TOP 700 tras una doble centrifugación para garantizar la ausencia de contaminación plaquetar como fuente de FL. Se realizó estudio de *screening* y confirmación de Sílica Clotting Time (SCT) y de dRVVT (HemosIL, IL). Se interpretó como AL positivo cuando la ratio normalizada fuese = 1,20 en cualquiera de los dos ensayos, considerándose débil (ratio: 1,21-1,49), moderado (1,50-1,99) e intenso por encima de ese valor.

Resultados: En 79 casos (28,9%) la única prueba alterada fue el SCT y en 99 (36,3%) lo fue el dRVVT, observándose alteración de ambas en el resto. En el 26,4% de casos la existencia de un AL positivo no tuvo ninguna repercusión en el EBC (ratios =1,30); mientras que en el 59% originó un alargamiento exclusivamente del TTPA, en el 2,6% solo del TP y en el restante 12,1% de ambas vías de la coagulación. La probabilidad de que siendo una de las determinaciones intensamente positiva (ratio = 2) la otra sea normal fue baja, aumentando esta de forma importante ante una positividad débil (Tabla I). El EBC fue completamente normal en el 25,3% (20/79) de los pacientes que únicamente presentaban dRVVT alterado y en el 39,4% (39/99) de los que solo la presentaban en SCT, siendo esto más frecuente cuando la positividad de los test era débil (Tabla II).

Conclusiones:

1. En un 65,2% de los casos fue positivo un único ensayo dependiente de FL, fundamentalmente cuando la positividad es débil.
2. Aunque el TTPA fue el test de rutina más sensible, no hubo ninguna alteración del EBC hasta en un 26,4% de los casos.
3. Aun considerando las potenciales alteraciones del EBC, si únicamente se hubiese determinado el dRVVT, un 7,3% de los casos hubiesen quedado sin diagnosticar. Por tanto, consideramos que la recomendación de la ISTH de realizar un doble ensayo está plenamente justificada.

Tabla I

Ratio SCT	% dRVVT normal	Ratio dRVVT	% SCT normal
1,20-1,49	60/84 (71,4%)	1,20-1,49	81/130 (62,3%)
1,50-1,99	18/56 (32,1%)	1,50-1,99	16/53 (30,2%)
≥ 2	1/33 (3%)	≥ 2	2/10 (20%)

Tabla II	
	TP + TTPA normales
dRVVT normal + SCTR 1,20-1,49 (60)	16 (26,7%)
dRVVT normal + SCTR 1,50-1,99 (18)	4 (22,2%)
dRVVT normal + SCTR ≥ 2 (1)	0 (0%)
SCT normal + dRVVT 1,20-1,49 (81)	34 (42,0%)
SCT normal + dRVVT 1,50-1,99 (16)	4 (25,0%)
SCT normal + dRVVT ≥ 2 (2)	1 (50,0%)

PC-463 Monitorización del ADAMTS 13 tras el episodio agudo de púrpura trombótica trombopénica (PTT): prevenir recaídas

Manresa Manresa P., López Castaño F., Molina Pomares I., Sarmiento Palao H., Hernández Matero L.

Hospital General Universitario de Alicante. Alicante

Introducción: El diagnóstico de la PTT adquirida se basa en una actividad disminuida de la proteasa ADAMTS 13 debida a la presencia de autoanticuerpos. El tratamiento estándar consiste en la combinación de recambios plasmáticos y corticoides hasta alcanzar respuesta clínica y biológica. La inclusión de otros fármacos como el Rituximab u otros inmunosupresores depende del protocolo utilizado y de la respuesta del paciente (recaída, refractariedad). Actualmente, no se ha protocolizado el seguimiento de estos pacientes con mediciones adicionales de actividad y

anticuerpos ADAMTS 13 post-tratamiento. En nuestro centro se ha incluido un seguimiento que permite detectar distintas situaciones de riesgo para el paciente. Este trabajo pretende valorar la eficacia de este protocolo.

Métodos: Una vez alcanzada la respuesta con el tratamiento mencionado, los pacientes son monitorizados inmediatamente (día +1 tras finalizar tratamiento) determinando Actividad Adamts 13 (normal > 40%) y autoanticuerpos (normal < 10 UI/mL). Si los resultados son patológicos, se repite la determinación el día +7, +14 con vigilancia clínica y de los niveles de plaquetas. Si permanecen patológicos, aun con plaquetas en rango normal, se considera una refractariedad y se procede a tratamiento de segunda línea. Adicionalmente, todos los pacientes son monitorizados bianualmente con actividad y autoanticuerpos ADAMTS 13. En caso de detectar valores patológicos se procede igualmente, con vigilancia y determinaciones durante 15 días y tratamiento.

Resultados: Total pacientes en seguimiento: 14 (10 mujeres, 4 hombres, rango edad 33-72 años). Periodo de seguimiento: inicio 2015 hasta la fecha. Detección de recaídas "silentes" o subclínicas: 4. Tres de ellos reciben rituximab con respuesta biológica mantenida (actividad > 40%, autoanticuerpos negativos. Un paciente renuncia al tratamiento con rituximab y sigue vigilancia estrecha. Detección precoz de refractariedad: 1 caso.

Conclusiones: La monitorización de ADAMTS 13 precozmente tras la respuesta clínica permite detectar los casos refractarios y recaídas subclínicas de forma precoz y administrar tratamiento de segunda línea sin esperar a la recaída clínica. En esta serie, 5 de 15 pacientes se beneficiaron de este seguimiento. La monitorización programada dos veces al año permite detectar pacientes en riesgo de recaída inminente, o en situación de recaídas silentes (plaquetas normales, actividad ADAMTS 13 < 10%).

Publicación

Diátesis hemorrágica

PB-140 Mecanismo de los eventos hemorrágicos y defectos en la hemostasia primaria durante el tratamiento con ibrutinib. Experiencia en la vida real

Acedo Domínguez N., Loscertales Pueyo J., Aguado Bueno B., Paz Núñez Y., Jiménez Barral E., Arriero García Á. V., Rodrigo Gil S., Almero S., Santamaría Pérez I., Alegre Amor A.

Hospital Universitario La Princesa. Madrid

Introducción y objetivos: Ibrutinib (Imbruvica®) es el primer inhibidor de la tirosin kinasa de Bruton (BTK) registrado para el tratamiento de la leucemia linfocítica crónica (LLC), linfoma de células del manto (LCM) y macroglobulinemia de Waldenström (MW).

Se ha asociado con un incremento del riesgo de episodios hemorrágicos, principalmente grado = 2. Un posible mecanismo podría ser el papel de la BTK en la activación plaquetaria via GPIIb, GPVI y FVW. Aquí presentamos nuestra experiencia respecto a eventos hemorrágicos y alteraciones en las pruebas de hemostasia de pacientes con LLC tratados con Ibrutinib.

Pacientes y métodos: Diez pacientes con LLC en recaída que comenzaron Ibrutinib entre diciembre/2012 y marzo/2016. La mediana de edad fue 69 años (rango: 42-83 años). Ocho de ellos eran varones. La mediana de exposición al fármaco fue 17 meses (rango: 1-38). Tras 9 a 36 meses del inicio del tratamiento (mediana 22 meses), 6/10 fueron entrevistados de forma exhaustiva sobre sus antecedentes de eventos hemorrágicos y se realizaron las siguientes determinaciones de laboratorio: niveles de factor VIII, antígeno y actividad del FvW, análisis de la función plaquetaria (PFA-100®) con ADP y epinefrina y estudios de agregación con colágeno, ADP y ácido araquidónico. Durante el estudio, todos los pacientes mantuvieron cifra de plaquetas por encima de $100 \times 10^9/l$.

Resultados: Dos de los 10 pacientes presentaron eventos hemorrágicos (grado 1 o 2), que consistieron en hematomas espontáneos en las primeras semanas de tratamiento. 4 pacientes se sometieron a procedimientos invasivos menores sin complicaciones, suspendiendo el fármaco al menos tres días antes y después. Dos pacientes se encontraban en tratamiento concomitante con antiagregantes¹ o anticoagulantes (1, HBPM por FA) y no tuvieron eventos hemorrágicos. Todos los pacientes estudiados (6/6) tenían niveles normales o ligeramente elevados de F VIII, FvW:Ag y FvW:Ac. Dos pacientes tenían PFA-100® alterado y agregaciones plaquetarias alteradas con todos los agonistas. Un caso tenía PFA-100® normal, pero agregación con colágeno y AA levemente alterada.

Conclusiones: Nuestra limitada experiencia muestra un riesgo moderado de eventos hemorrágicos menores relacionados con disfunción plaquetaria ocasionada por efecto del fármaco. A pesar del hecho de que no disponemos de estudios basales, las alteraciones en la hemostasia primaria, incluyendo PFA-100® y especialmente en la agregometría, podría esperarse de forma precoz tras la exposición a Ibrutinib.

Bibliografía

1. Lipsky AH, et al. Incidence and risk factors of bleeding-related adverse events in patients with chronic lymphocytic leukemia treated with ibrutinib. *Haematologica* 2015;100(12):1571-8.
2. Levade M, et al. Ibrutinib treatment affects collagen and von Willebrand factor-dependent platelet functions. *Blood* 2014;124(26):3991-5.

PB-14 Incidencia de comorbilidades en pacientes con hemofilia y edad avanzada

Ferrer Garrido G., Espinosa Lara N., Fernández Mosteirín N., Calvo Villas J. M., Rupay Rojas R., Lacalle Aicua L., Delgado Beltrán P.

Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza

Introducción: El aumento de la esperanza de vida en pacientes con hemofilia ha supuesto el aumento de patologías propias de la edad y/o relacionados con su enfermedad de base.

Objetivo: Analizar la incidencia de comorbilidades y patología asociada a la edad en pacientes con Hemofilia A y B (HA y HB) ≥ 40 años en un servicio de referencia.

Pacientes y Métodos: Se analizan variables demográficas y características clínicas de los pacientes con hemofilia ≥ 40 años controlados en nuestro Centro en los últimos 2 años. Se revisó la presencia de enfermedad cardiovascular, articular, hepatopatía, neoplasias, afectación renal y/o insuficiencia renal crónica (IRC). Se registraron infecciones por virus de hepatitis C (VHC) y virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y presencia de comorbilidad general (HTA, obesidad y dislipemia).

Resultados: Se revisaron las historias clínicas de 24 pacientes con 42 enfermedades asociadas; mediana de edad: 55,5 años (rango, 40-77), de ellos 19 HA: 16 leves, 1 moderada y 2 graves, mediana edad 56 años (40-77) y 5 HB: 3 leves y 2 graves, mediana edad 55 años (47-58). *Distribución por edad:* 40-55 años: 12 casos, 56-70 años: 9 pacientes, > 70 años: 3 pacientes. La **Tabla 1** refleja las características clínicas de la serie. Otras patologías: 6 HTA, 8 obesidad/dislipemia, 2 EPOC, 3 diabetes y 5 casos de tabaquismo. Dos pacientes (1 HA leve y 1 HB grave) estaban diagnosticados de enfermedad Inflamatoria Intestinal crónica. En 5 casos se administraron concentrados de factor previo a cirugía/procedimientos invasivos: 2 HA leve previo a exéresis de carcinoma basocelular, 1 con HA leve previo a coronariografía y actualmente con aspirina, otro con HA leve previo a implantación de prótesis de rodilla por gonartrosis y un paciente HB moderada con un síndrome mielodisplásico (CRDM) previo a aspirado medular. Solo un caso de HA leve falleció por complicaciones secundarias a cirrosis hepática por VHC.

Conclusiones: La prevalencia de comorbilidades en pacientes con hemofilia ≥ 40 años es similar a la referida en la literatura. En nuestra experiencia más de la mitad de los hemofílicos presentan infección por VHC, con una menor prevalencia de cirrosis hepática que lo publicado y cerca de 1/3 de los pacientes con hemofilia desarrollaron una IRC. A pesar de la baja prevalencia (< 10%) de patología cardiovascular, que sugiere un efecto protector de la

Tabla 1.

Patología grupo	Total pacientes 24		Distribución edad (n)		Comentarios
	Patologías (n = 42)	n/Grado			
Cardiaca	2 (4,76%)	1 HA leve 1 HA leve	40-55 56-70 > 70	- 1 1	Cateterismo cardiaco coronaria Enfermedad del nodo sinusal. Implantación de marcapasos (hematoma postprocedimiento previo al diagnóstico de HA)
Hepática/infecciosa	13 (30,95%)	6 HA leve 3 HA grave 2 HB leve 2 HB grave	40-55 56-70 > 70	6 6 1	Infección por VIH (13) Coinfección VIH (3 HA grave y coinfección VHB) Cirrosis hepática (3 HA leve) Transplante hepático (2 HA leve, 1 hepatocarcinoma)
Neoplasias	5 (11,90%)	6 HA leve	40-55 56-70 > 70	- 3 3	Hepatocarcinoma (1 HA leve 58 años) Hipertrofia Benigna Próstata (2) Adenocarcinoma de próstata y Carcinoma Basocelular (1) Carcinoma Basocelular (1)
Renal	6 (14,29%)	4 HA leve 1 HA grave 1 HB grave	40-55 56-70 > 70	1 3 2	IRC estadio 1-2 (5 > 55 años) Hidronefrosis (1 HA leve) Litotricia por litiasis renal (1 HA grave)
Articular	16 (38,1%)	11 HA leve 2 HA grave 2 HB leve 1 HB grave	40-55 56-70 > 70	11 4 1	Psoriasis con artropatía (1 HA leve) Articulación diana: Rosilla (3 HA grave) Gonartrosis (3 HA leve, 2 HA grave y 1 HB grave)

coagulopatía, la prevalencia de factores de riesgo cardiovascular como hiperlipidemia o HTA es elevada (20-30%). Por tanto, la mayor longevidad de los pacientes con hemofilia condiciona la aparición de enfermedades asociadas a la edad y obligan a adoptar medidas diagnósticas y terapéuticas.

PB-142 Prevalencia de articulación diana en pacientes con hemofilia

Espinosa L. N., Ferrer Garrido G., Lacalle Aicua L., Segura Díaz A., Salvador Rupérez E., Villalba Montaner M., Fernández Mosteirín N., Calvo Villas J. M., Godoy Molias A. C., Delgado Beltrán M. P.

Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza

Introducción: En la última década se han propuesto diferentes definiciones de articulación diana (AD) que han resultado de utilidad en el ámbito clínico y de estudios de investigación. Estas definiciones incluyen un número concreto de sangrados en una articulación dentro de un determinado periodo de tiempo, la más reciente ha sido propuesta por el Comité Científico de Estandarización de la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia (ISTH) e incluye la presencia de ≥ 3 sangrados espontáneos en un periodo de 6 meses.

Objetivo: Analizar la prevalencia de AD de acuerdo con la definición propuesta por la ISTH en pacientes con hemofilia grave A y B controlados en nuestro centro en los últimos 2 años.

Pacientes y métodos: Se revisaron las historias clínicas de 29 pacientes con hemofilia A y B, grave y moderada, se analizaron el número de sangrados articulares empleando la definición

de la ISTH, esquema terapéutico y hallazgos radiológicos tanto en los episodios agudos como en la valoración del estado articular.

Resultados: Del total de pacientes, 25 presentaban hemofilia A grave (HAG) (4 de ellos con presencia de inhibidor) y 4 hemofilia B grave (HBG). La mediana de edad en el momento de la evaluación fue de 21 años (rango: 1-50 años). Con respecto al programa de profilaxis se encontró la siguiente distribución: 8 (27,58%) pacientes cada 48 horas, 9 (31,03%) 3 veces por semana, 9 (31,03%) 2 veces por semana, 2 (6,4%) cada 2 semanas y 1 (3,44%) a demanda. Se registraron durante el periodo estudiado 28 episodios, media de 0,9, en 15 pacientes, 10 (66,6%) 1 episodio, 2 (13,4%) 2 episodios y 3 pacientes (20%) 3 o más episodios. Las articulaciones afectadas en los episodios registrados fueron: tobillo (39,28%), rodilla (35,72%) y codo (25%). En 3 casos se documentó afectación de la misma articulación, cumpliendo los criterios establecidos permitiendo identificar articulación diana, dos de ellos con HAG y uno con HBG. Las AD identificadas en estos fueron: tobillo (2 casos) y rodilla (1 caso) todos ellos con adecuada adherencia al programa de profilaxis. La valoración radiológica del total de eventos articulares agudos se realizó en 13 episodios (46,42%) mediante ecografía en el 69,23% y radiografía AP y lateral en el 30,76%. El estado articular fue valorado mediante resonancia magnética nuclear en 11 pacientes, se detectaron hallazgos radiológicos compatibles con artropatía hemofílica en 7 pacientes (63,63%), de ellos, 3 casos (42,85%) correspondían a aquellos que cumplían criterio de AD según la ISTH y 4 (52,14%) restantes no presentaron eventos agudos articulares.

Conclusiones: A pesar de la instauración del tratamiento profiláctico la identificación precoz de AD sigue siendo un reto y para evitar la aparición de artropatía hemofílica. Las definiciones de AD basadas únicamente en criterios clínicos infraestiman la prevalencia real de AD en los pacientes con hemofilia. Sería recomendable

incorporar a estas definiciones parámetros radiológicos que permitan identificar AD que no han presentado manifestaciones clínicas.

PB-143 Un raro caso de hemofilia adquirida e hipertiroidismo

Esteban Figuerola A., Palmas Candia F., Aguinaco Culebras R., Vallansot R., Escoda Teigell L.

Hospital Joan XXIII. Tarragona

Introducción: La hemofilia adquirida es una rara afección (0,2-1,5 casos/millón hab/año) que consiste en la aparición de inhibidores contra factores de la coagulación. El 50% de los casos son idiopáticos y el otro 50% se asocian a fármacos, partos, cirugía y sobretudo enfermedades inmunológicas como lupus o tiroiditis autoinmune entre otros. Presentamos un caso a tal efecto.

Caso clínico: Varón de 79 años con antecedentes de hipertensión arterial y asma bronquial en tratamiento con torasemida e inhaladores. Como antecedente familiar relevante, su hija padece enfermedad de Graves-Basedow. Acude a urgencias por cuadro de palpitaciones, nerviosismo, cambios de humor y pérdida de 4 kg peso en un mes junto con hematomas espontáneos no traumáticos. A la exploración física destaca taquicardia, leves sibilancias inspiratorias pulmonares, hematomas en extremidades inferiores y en tobillo izquierdo. Nódulo tiroideo no doloroso a la palpación. *Análítica:* Hb 10,7 g/dl leucocitos $11,9 \times 10^9/l$ (fórmula normal), plaquetas 283.000. Bioquímica normal. rTP 1.13, rTTPA > 8, fibrinógeno 565 mg/dl. No corrección de tiempos con test de mezclas. Ratio normalizada de silica clotting test (rSCT): 1,49, ratio normalizada veneno de Rusell (rdRVVT) 1.59. FVIII 0.1%. Presencia de inhibidor FVIII > 60 Uu Bethesda. Resto de factores normales. TSH < 0,01 mUI/ml (0.55-4,78 mUI/ml), T4L 5,62 ng/dl (0,89-1,76 ng/dl). Ac-Antiperoxidasa < 10,0 UI/ml (0-35,0 UI/ml), Ac Anti-tiroglobulina < 20 UI/ml (0-40,0 UI/ml), Ac anti-receptor de TSH 0,4 UI/l (0-1,8 UI/l). Ante el diagnóstico de hemofilia severa adquirida secundaria a hipertiroidismo clínico a estudio se decide ingreso. Se realiza gammagrafía (tecnecio 99m) y ecografía tiroidea que informan hipertiroidismo primario con nódulo frío tiroideo derecho de 25 x 21 mm de aspecto mixto; y nódulo izquierdo sólido de 10 mm. Se orienta como bocio multinodular tóxico. No se realiza punción aspiración con aguja fina dado el riesgo hemorrágico. Inicia tratamiento con metimazol 30 mg/d, prednisona 1,5 mg/kg/d, ciclofosfamida 50 mg/d y Fandi 4000 U/12 h por hematoma en tobillo las primeras 48 h. Ante la mejora del cuadro clínico y ascenso de niveles de FVIII hasta 1,5%, es dado de alta con ciclofosfamida, corticoides y metimazol en pauta descendente. Se objetivaron niveles normales de FVIII y de hormonas tiroideas al mes y a los 2 meses, respectivamente, del inicio del tratamiento. A los 8 meses se retiró metimazol aunque persistía bocio multinodular y se mantuvo una función tiroidea y niveles de FVIII normales. Actualmente el paciente presenta un TTPA alargado que sugiere persistencia de inhibidor a título bajo, ya que los niveles de FVIII se mantienen normales (Tabla 1 y Figura 1).

Discusión: Únicamente se han descrito dos casos de hemofilia adquirida secundaria a hipertiroidismo inmune y enfermedad de

Control	TSH	T4L	FVIII	Anti-FVIII	rTTPA	Tratamiento
10/7/15	<0,01	5,62	-	-	5,82	-
14/7/15	<0,01	5,68	0,1%	>60	>8	Fandi 4000/12 h Pred 1,5/mg/kg (120 mg) Metimazol 30 mg
15/7/15	<0,01	5,44	0,7	-	>8	-
16/7/15	-	-	0,7	-	4,31	Suspende fandi
27/7/15	-	2,14	1,5	-	3,08	Pred 90 mg Genoxal 50 mg Metimazol 30 mg
12/8/15	0,01	1,08	62,7	-	1,07	Pred 90 mg Genoxal 50 mg Metimazol 30 mg
31/8/15	0,27	0,59	257,6	-	0,92	Pred 45 mg Genoxal 50 mg Metimazol 15mg
28/9/15	2,58	1,04	160	-	1,46	Pred 30 mg Genoxal 50 mg Metimazol 5 mg
21/10/15	-	-	193	-	1,46	Pred 10 mg Genoxal 50 mg Metimazol 5 mg
2/12/15	-	-	168	-	1,54	Pred 2.5 mg Genoxal 50 mg Metimazol 5 mg
29/1/16	4,14	1,21	147,9	-	1,27	Pred 5 mg Genoxal 50 mg Metimazol 2.5 mg
9/3/16	2,48	1,15	133,7	-	1,5	Pred 5 mg Genoxal 50 mg Stop metimazol

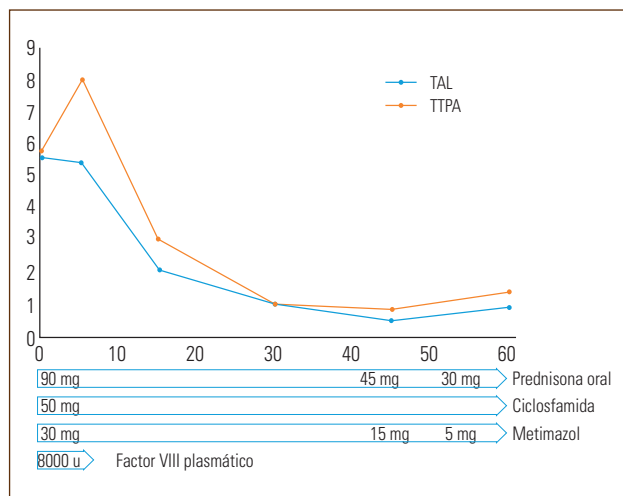


Figura 1.

Graves-Basedow. En nuestro caso, el paciente debuta con clínica de hemofilia e hipertiroidismo conjuntamente, sin otros antecedentes que pudieran desencadenar dicho cuadro de hemofilia. A pesar de no haberse hallado positividad para anticuerpos antitiroideos, se observó la disminución del inhibidor y progresiva recuperación de los niveles de FVIII con el tratamiento antitiroideo e inmunosupresor. La coincidencia en el tiempo del inicio y la mejora de la hemofilia adquirida y el hipertiroidismo en este paciente, nos hace sospechar que estén relacionadas; haciendo de este el tercer caso de hemofilia asociada a hipertiroidismo descrito en la literatura.

PB-144 Cuando escuches galopar... quizás no sean caballos

Moreno Ramírez S., Rodríguez Hidalgo A., Daza Pozo S., Sandoval Bareto E. M., Rodríguez Alen J. A., Cuesta Tovar J., Rollón Simón N.

Hospital Virgen de la Salud. Toledo

Casos clínicos: Presentamos dos casos clínicos:

Caso clínico 1: Varón de 75 años con antecedentes de hipertensión, diabetes, flutter auricular angicoagulado con dabigatrán y ACV isquémico sin secuelas neurológicas, que es intervenido de un carcinoma de la vía biliar en progresión. En el postoperatorio presentó deterioro progresivo con inestabilidad hemodinámica que precisó cirugía urgente por hemoperitoneo masivo. Se objetivaron tres puntos de sangrado en sábana difusos que se controlaron con parches hemostáticos. En los días posteriores comienza con alteración del estudio de coagulación previamente normal, con TP de 31% y TTPA de 67 segundos, que no corregía con vitamina K. En el estudio de factores se evidencia un déficit del 3.5% del factor V de la coagulación con el resto de factores de vía intrínseca y extrínseca normales. Se demostró la presencia de inhibidor frente al FV de la coagulación con un título inicial de 193 UB. Recibió tratamiento con esteroides a dosis de 1 mg/kg/día con buena evolución tanto clínica como analítica. A los 20 días presentaba un estudio de coagulación y unos niveles de FV normales, y no presentó clínica hemorrágica a ningún nivel. Desafortunadamente por progresión de su enfermedad y aparición de metástasis hepáticas, el paciente fallece por fracaso multiorgánico.

Caso clínico 2: Mujer de 88 años hipertensa que acude a urgencias por dolor y hematoma espontáneo en zona mandibular derecha de 24 horas de evolución, leve disfagia, sin disnea ni sangrado a otro nivel. Niega antecedente traumático. Es valorada por otorrinolaringología quienes evidencian un hematoma en ambas mucosas yugales y carrillo derecho. Cirugía maxilofacial descarta intervención en ese momento. Los resultados analíticos son normales, salvo un TTPA de 54 segundos que no corrige con plasma normal, sugerente de la presencia de un inhibidor. Se amplía estudio con factores de vía intrínseca destacando unos niveles de FVIII de 8,8%. Se confirmó la presencia de inhibidor contra el FVIII con un título inicial de 54 UB. Recibió factor VII activado y antifibrinolíticos para control del sangrado y tratamiento inmunosupresor con esteroides y ciclofosfamida desde el diagnóstico. Durante el ingreso se realizaron múltiples estudios complementarios que descartaron patología de base responsable del desarrollo del inhibidor. Tuvo una buena evolución clínica y analítica

al inicio con reducción progresiva de FVII activado, pero durante el ingreso presentó nuevo sangrado con grandes hematomas en ambos brazos lo que hizo necesario volver a aumentar la dosis y frecuencia de administración de FVII activado. Mantuvo tratamiento con esteroides y ciclofosfamida hasta completar 5 semanas con reducción progresiva de la corticoterapia. A lo largo del ingreso, desarrolló una fibrilación auricular previamente no conocida, asintomática y sin repercusión hemodinámica, con frecuencias cardiacas controladas en todo momento. Tras seis meses desde el diagnóstico, la paciente mantiene remisión completa tanto clínica sin nuevos episodios de sangrado, como analítica con un estudio de coagulación normal, un FVIII de 168% y un estudio de inhibidor negativo (Figuras 1-3).



Figura 1.



Figura 2.

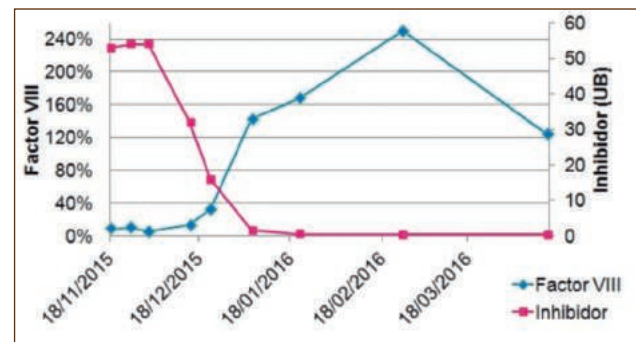


Figura 3. Evolución inhibidor y FVIII.

PB-145 Paciente con hemofilia A y patología arterial coronaria. Manejo de los procedimientos coronarios percutáneos

Fernández-Mosteirín N., Calvo Villas J. M.

Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza

Introducción y objetivo: Las mejoras en el manejo terapéutico de la hemofilia han dado lugar a un incremento de la esperanza de vida de estos pacientes. Las distintas patologías asociadas a la edad, especialmente la enfermedad coronaria, ha ido incrementándose en los últimos años en los pacientes con hemofilia. Estos pacientes parecen tener un pronóstico cardiovascular más desfavorable debido a una mayor prevalencia de hipertensión arterial. Con el objeto de minimizar el riesgo hemorrágico asociado al tratamiento antitrombótico y al intervencionismo cardíaco es necesario corregir la deficiencia de factor en estas situaciones.

Métodos: Se analizaron los parámetros demográficos y analíticos, así como aspectos relacionados con el tratamiento y aparición de complicaciones en un paciente con hemofilia A leve que fue sometido a cateterismo cardíaco.

Resultados: Paciente de 61 años de edad con hemofilia A (FVIII:C residual 0,076 UI/ml-1) que presenta clínica compatible con angina estable por lo que se indica realización de coronariografía (CRG) con la posibilidad de llevar a cabo intervencionismo coronario percutáneo (ICP). El paciente presentaba como factores de riesgo cardiovascular HTA en tratamiento con bisoprolol y tabaquismo (20 cigarrillos/día), asimismo recibía desde hacía 7 meses tratamiento antiagregante con dosis bajas de aspirina (100 mg/día). La CRG fue realizada mediante acceso arterial radial. Previo al procedimiento se administró un bolo de 2.500 UI de FVIII recombinante con objeto de alcanzar unos niveles de FVIII:C de 0,80 UI/ml-1, y una dosis de 4.000 UI de heparina no fraccionada fue administrada durante el intervencionismo cardíaco. La CRG no mostró oclusión coronaria grave, por lo que no se inició tratamiento antiagregante ni precisó implantación de stent. El paciente no recibió tratamiento con heparina tras el procedimiento. A las 12 horas del ICP se administró una nueva dosis de 1000 UI de FVIII recombinante para alcanzar niveles de 0,50 UI/ml-1. No se observaron complicaciones tromboticas y/o hemorrágicas durante el seguimiento. Se indicó mantener tratamiento a largo plazo con aspirina 100 mg/día.

Conclusiones: La CRG o ICP en pacientes con hemofilia y de acuerdo con las recomendaciones de expertos (Schutgens RE et al. Haemophilia 2009; 15: 952-958) son procedimientos factibles y seguros. De acuerdo con estas guías la CRG fue realizada en nuestro paciente a través de acceso arterial radial, administrando tratamiento con concentrados de FVIII para alcanzar niveles pico de 0,80 UI/ml-1 y valle a las 12-24 horas postprocedimiento de 0,50 UI/ml-1. Asimismo no se recomienda la administración de heparina tras el procedimiento en pacientes con hemofilia.

PB-146 Posible efecto inhibitorio en algunos factores de la coagulación del tratamiento con tolvaptan (inhibidor del receptor V2 de vasopresina). A propósito de un caso

Alonso Escobar M. N. (1), Moreno Risco B. (1), Toro Barahona J.(1), Hernández E. (1), Groiss Buiza J. (1), Vagace Valero J. M. (2), García Domínguez M. (2), Rincón Ferrari R. (1), Ramos F. de Soria R. (1), Campano Val J. (1), Casado Calderón S. (1), Cabanillas Núñez Y. (1), de la Maya Retamar M.ª D. (1), Bajo Gómez R. (1)

(1) Complejo Hospitalario Universitario Infanta Cristina. Badajoz. (2) Complejo Hospitalario Universitario Infanta Cristina. Hospital Materno Infantil. Badajoz

Introducción: Desde 2008 está aprobado el uso del antagonista del receptor tipo 2 (V2R) de vasopresina, tolvaptan. Indicado en hiponatremia euvolémica e hipervolémica. Tratamiento potencial en poliquistosis renal. Actúa en tubo colector, membrana basolateral renal y en endotelio vascular, con efecto inhibitorio en liberación de factor Von Willebrand (FVW) y factor VIII (FVIII) con posible repercusión clínica. Hay pocos pacientes descritos en los que tolvaptan disminuye la respuesta a la desmopresina conocida sin dicho tratamiento, sin incremento esperable en niveles de FVW y FVIII. Presentamos un paciente con este tratamiento, ante un preoperatorio.

Objetivo: Llamar la atención sobre la posible repercusión en la hemostasia de un tratamiento no usual, en nuestra práctica, tolvaptan, antagonista V2R de la vasopresina.

Caso clínico: Paciente de 75 años con HTA, F. auricular anticoagulado con acenocumarol, cardiopatía isquémico-HTA, con marcapasos DDDR, EPOC, SAOS, parkinsonismo, crisis comiciales, isquemia crónica de miembro inferior izquierdo (MII) grado IV, meningioma del seno cavernoso, SIADH. Varias cirugías sin complicaciones hemorrágicas. Tratamiento con 13 fármacos, y tolvaptan por 9 meses. Grupo sanguíneo A pos. Antecedentes familiares de hemofilia A leve, no portador de la mutación familiar Arg612Cys, c.1834C/T del exón 12 del gen del FVIII, estudiado en 2009: FVIII:C 108 UI/dl, VWF: Ag 162 UI/dl, VWF:RCo 150 UI/dl, FXI:C 125 UI/dl, FIX:C 172 UI/dl, UI/dl, FXII:C 97 UI/dl. Pendiente endarterectomía de arteria femoral común izquierda y profundoplastia con parche de pericardio en lesión talar crónica MII. Consultan por APTT ratio 1,47, en muestra sin heparina, corrige prueba mezclas, INR 1,08, Fib 625 mg/dl, dímero D 157 ng/ml. Anticoagulante lúpico negativo. FVIII:C 60 UI/dl, VWF: Ag 112 UI/dl, VWF:RCo 98 UI/dl, FXI:C 76 UI/dl, FIX:C 76 UI/dl, UI/dl, FXII:C 72 UI/dl. En muestra 1:1 con plasma normal, tras 2 h a 37 °C, FVIII 95 UI/dl. Se descarta inhibidor. No se descarta déficit leve factor contacto. Revisando la medicación, y dado tolvaptan, y FRCV de base, se administran 1000 UI de Kogenate® en la hora previa a la cirugía (VIII próximo a límite inferior aconsejable en cirugía mayor). El TTPA ratio pasa a 1,3, Fib 570 mg/dl, VWF: Ag 181 UI/dl, VWF: RCo 121 UI/dl, FVIII: C 74 UI/dl. Cirugía sin incidencias. Buena evolución clínica, con ajuste dosis de HBPM y evitando AINE perioperatoriamente.

Conclusiones: Durante el tratamiento con tolvaptan la desmopresina puede no ser adecuada en la profilaxis o tratamiento del sangrado, dada escasa respuesta atribuible a la inhibición de V2R.

En nuestro paciente, el hallazgo de FVIII 60%, y FVW no elevado respecto a lo esperable por reactante de fase aguda, nos llevó a relacionar tolvaptan como posible causa. Por la inadecuada respuesta publicada a desmopresina, y los FRCV de base, se empleó factor VIIIr como profilaxis del sangrado preoperatorio, se evitaron AINE y se redujo dosis de HBPM. En pacientes con pluripatología, politratados, debe realizarse un estudio exhaustivo de los tratamientos, ante posibles efectos infrecuentes e inesperados pero con repercusión en cuanto al riesgo de sangrado, como en este caso.

PB-147 Coagulopatías congénitas combinadas

Herrero Martín S., Pinedo Albiz B., Morales Sanz D., de Miguel Llorente D., Fernández Maqueda C., Vázquez Ramo A., Golbano N.
Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Guadalajara. Guadalajara

Introducción: Se han descrito diferentes déficits congénitos combinados de dos o más factores de la coagulación, bien por deficiencias coincidentes o en otros casos asociada a una única alteración genética. Destacar, el déficit de FV y FVIII de la coagulación, causado por un defecto en el transporte intracelular del FV y el FVIII a través del retículo endoplasmático, y el déficit hereditario combinado de factores de la coagulación vitamina K dependientes, por defectos genéticos en la gama-glutamil-carboxilasa o en el complejo epóxido-reductasa de la VK, con disminución de los niveles de los factores de coagulación II, VII, IX y X. Por otro lado se han descrito alteraciones combinadas en FVII y FX, que podrían originarse por alteraciones citogenéticas en cromosoma 13. También se han descrito alteraciones de los FVII y FVIII, con un papel central en la iniciación y propagación, de la formación de fibrina. El Hospital Universitario de Guadalajara, único en nuestra provincia, atiende a un total de 255.426 habitantes, permitiendo obtener datos centralizados de toda la población de Guadalajara.

Objetivo: Conocer en nuestra región el número pacientes con deficiencias combinadas de los factores de coagulación.

Pacientes y métodos: Pacientes de nuestra provincia registrados y estudiados en nuestro servicio en los últimos 6 años. Se excluyen pacientes fallecidos en este periodo.

Resultados: Un total de 13 pacientes presentan déficit combinados de factores de coagulación (Tabla 1).

Conclusiones: En la provincia de Guadalajara contamos con un número aproximado de 165 pacientes con déficits de factores poco frecuentes de coagulación, sin incluir pacientes afectos de hemofilia A, B ni enfermedad de Von Willebrand, lo que supone 0,06% de nuestra población. La imposibilidad de estudio genético en nuestro centro, así como el no tener un centro de referencia

de estudio genético en nuestra comunidad para alteraciones de la coagulación, hace difícil investigar sobre la posible asociación etiopatogénica de algunas de estas alteraciones.

Métodos de diagnóstico y marcadores

PB-148 Rendimiento de la BAG guiada por imagen en hematología

Morán Sánchez J., Fernández Valle M. C., Sánchez-Porro del Río M.C., García Villanego J., Sevillano Ruiz-Mateos C., Capote García J., Capote Huelva F. J., Marchante Cepillo I., Martín Reina M. V., Pérez Requena J., Palomo González M., Cabello Torres P., Atienza Cuevas L., Paz Coll A.
Hospital Universitario Puerta del Mar. Cádiz

Introducción: La biopsia con aguja gruesa (BAG) está sustituyendo cada vez más frecuentemente a las técnicas quirúrgicas de escisión de adenopatías y masas de partes blandas en el diagnóstico en Hematología. Previamente, la biopsia mediante cirugía abierta o laparoscópica se consideraban el “gold estándar” en el diagnóstico de patologías hematológicas, fundamentalmente los linfomas. El uso de estas técnicas dirigidas por imagen ha permitido el diagnóstico preciso con pequeñas muestras de tejido sin necesidad de una biopsia escisional. Además, se asocian a un número menor de complicaciones y menor coste, permitiendo alcanzar áreas de difícil localización. Son particularmente importantes en pacientes con estado clínico deteriorado o que contraindique la anestesia general y/o la biopsia quirúrgica abierta.

Material y métodos: Evaluamos de forma retrospectiva el rendimiento de las biopsias dirigidas por imagen en nuestro servicio en los últimos 4 años (2013-2016).

Resultados: En total se estudiaron 18 pacientes, de los cuales 13 (72,2%) fueron mujeres, con una media de 67 años y una mediana de 68,5. Las técnicas radiodirigidas evaluadas fueron 24, bien por necesidad de repetir la prueba o por progresión de la enfermedad. De estas 24, se realizaron 6 PAAF, 4 de ellas guiadas por TAC (tumoración esplénica, tumoración retroperitoneal, de partes blandas en pared torácica y paravertebral) y 2 por ecografía (adenopatía submandibular y nódulo renal). De todas, 2 fueron diagnósticas y 4 no rentables, por material insuficiente o acelular, o por orientación diagnóstica no concluyente. Estas 4 últimas fueron sometidas a BAG guiadas por TAC, precisando únicamente una de ellas la exéresis adenopática para su diagnóstico definitivo. En 17 ocasiones se realizaron BAG guiadas por TAC y en 1 por ecografía (masa raíz mesentérica). Las localizaciones de las primeras fueron: 5 de adenopatías retroperitoneales, 2 intraperitoneales, 2 de masas pélvicas, 2 de tumoraciones blandas de pared torácica, 1 LOE hepática, 1 lesión abdominal retrogástrica, 1 lesión lítica sacra, 1 lesión blanda a nivel de L3 y otra ósea a nivel de L5 y 1 lesión nodular pararenal. Del total de BAG realizadas (18), el 77,7%

Tabla 1

	FVII +FVW	FXI +FVW	FXI +FXII	FXI+FXII +FVW	FX +FXII	FVII +FX
N.º pacientes	1	4	5	1	1	1
Ratio TTPA	1	1-1,4	1,5-1,4	2	1,8	1
AP%	31	94-100	94-95	99	67	64

(14) fueron rentables desde el punto de vista diagnóstico; 3 necesitaron repetición de la prueba (1 PAAF, 1 biopsia quirúrgica y una nueva BAG); en 1 caso no se pudo confirmar diagnóstico. Respecto a las patologías diagnosticadas mediante estas técnicas el 50% (9) fueron LDCG B, 2 L. foliculares, 2 mielomas, 1 L. de zona marginal, 1 linfoma con rasgos intermedios entre LDCG B y Burkitt, 1 SLP (sin especificar), 1 SMD y un Ca renal.

El 72,2% fueron diagnósticos *de novo* y el 27,8% patologías en progresión.

Conclusiones:

1. Aunque el método ideal de diagnóstico en nuestros pacientes es la exéresis completa de la adenopatía, la BAG ha mostrado una gran rentabilidad diagnóstica con escasa dificultad, coste y complicaciones.
2. La BAG guiada radiológicamente fue suficiente para establecer el diagnóstico en el 77,7% de las muestras.
3. El diagnóstico fue *de novo* en el 72,2% de los pacientes.
4. El mayor porcentaje de los diagnósticos mediante estas técnicas correspondió a linfomas de alto grado.
5. La PAAF no es un procedimiento adecuado ni rentable en nuestros pacientes.

PB-149 Dificultad en la confirmación de la normalidad de factores vía intrínseca en muestras con anticoagulante lúpico positivo según reactivo APTT. Serie de casos

Crespo Núñez C., Alonso Escobar N., Moreno Risco M. B., Toro Barahona J., Hernández Sánchez E., Casado Calderón M. S., Groiss Buiza J., Campano Val J., Ramos Fernández de Soria R., Cabanillas Núñez M. Y., Fuentes Gutiérrez I., Elduayen Izaguerri R., Bajo Gómez R.

Complejo Hospitalario Universitario de Badajoz. Badajoz

Introducción: La medición de los factores de vía intrínseca (F.V.I) de la coagulación, por ensayo de una fase, se basa en APTTs en plasma citratado recalcificado (citrato trisódico 0,105 mol/l; 3,2%) y con reactivo que contenga fosfolípidos sustitutos de la superficie plaquetar y una sustancia activadora, como ácido eláxico no particulado, kaolín, celite o sílica micronizada. Es conocida la diferente sensibilidad de reactivos de APTTs a la presencia de anticoagulante lúpico (AL). Presentamos una serie de casos con diferencias en la cuantificación de F.V.I. en función del reactivo SynthASil(IL) o SynthAFax(IL) en pacientes con AL positivo.

Material y métodos: Se presentan cinco pacientes derivados a consulta en segundo semestre 2015 para estudio por diferentes causas, con APTTs alargados. Se solicita estudio de coagulación basal, prueba de mezclas APTT, determinación de AL (dRVVT, (screen y confirmatorio(IL) Silica Clotting time (IL), screen, confirmatorio, cuantificación de F.V.I., realizados en ACL TOP 700 con SynthASil. Factor Von Willebrand, acs anticardiolipinas si correspondía por indicación de base.

Resultados: En todos los pacientes se confirmó el A.L positivo. En todos, los F.V.I. estaban disminuidos con reactivo SynthASil,

y en 3, algunos factores eran < 5%, siendo imposible demostrar su incremento y corrección con la diluciones progresivas de la muestra, como tradicionalmente se recomienda. Ante necesidad por preoperatorio, se decidió usar SynthAFax para la cuantificación de F.V.I. Con SynthAFax los F.V.I. resultaron normales. No se había producido cambio de lote de reactivo SynthASil ni ajustes en el ACL TOP 700 previo a la cuantificación anormal repetida de F.V.I. No disponemos de ensayos cromogénicos para FXI, FIX, -FXII para confirmar normalidad.

Conclusiones: Los reactivos SynthASil y SynthAFax contienen distintas sustancias activadoras (sílica o ácido eláxico respectivamente), ambos con fosfolípidos sintéticos de alta calidad, sin especificar concentración. SynthASil es muy sensible al AL y SynthAFax, en la práctica, menos sensible y posiblemente con diferencias en la composición y cantidad de fosfolípidos. La sensibilidad de reactivos APTT al AL disminuye conforme aumenta el contenido de fosfolípidos del reactivo. Esto influye en diferente comportamiento de reactivos en la cuantificación de F.V.I. dificultando la demostración de su normalidad como en los casos descritos. La ISTH, no recomienda el uso de reactivos con ácido eláxico por su alta concentración en fosfolípidos, para el despistaje de A.L. pero en muestras con AL fuertemente positivo pueden ser útiles APTT tipo SynthAFax para la cuantificación de los F.V.I.

PB-150 Alteración del patrón de las curvas de hibridación en el análisis del polimorfismo C677T de la MTHFR debido a la variante Val225Ile

Tirado García I. (1), Romero Román L. (1), Oliver Samper A. (2), Vilalta Seto N. (1), Coll Torrents I. (1), Martínez-Sánchez E. (1), Mateo Arranz J. (1), Souto Andrés J. C. (1), Fontcuberta Boj J. (1)

(1) Unitat d'Homeostasia i Trombosi. Servei d'Hematologia. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. (2) Servicio de Hematología. Fundació Puigvert. Barcelona

Introducción: El polimorfismo más aceptado que influye en la variabilidad de los niveles de homocisteína es el rs1801133 del gen de la metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR). Produce una sustitución en el nucleótido C677T y un cambio de aminoácido Ala222Val generando una variante de MTHFR termolábil con una capacidad reducida para metabolizar la homocisteína. Esta variante se correlaciona con hiperhomocisteinemia leve-moderada, factor de riesgo conocido en la ETV.

Objetivo: En este trabajo describimos los resultados de un paciente con patrón atípico en los análisis de las curvas de hibridación del C677T del gen de la MTHFR.

Pacientes y métodos: El paciente, hombre que a la edad de 49 años presentó una trombosis en la vena renal derecha idiopática. Se analizó un estudio biológico que incluía: el estudio básico de hemostasia, anticuerpos antifosfolípidos, inhibidores de la coagulación (antitrombina, proteína C) y estudio de mutaciones del factor V Leiden, la F2G20210A, F12C46T y C677T del gen de la MTHFR. Se analizaron los controles internos rutinarios. Se analizó el polimorfismo rs1801133 C677T del gen de la MTHFR

mediante PCR en tiempo real con el Light Cyler 480 (Roche) con sondas fluorescentes específicas de alelo. La secuenciación directa se realizó con el equipo ABI3500 (Applied Biosystem) por el método de Sanger.

Resultados: En el análisis por PCR en tiempo real LC480 con sondas específicas de alelo del polimorfismo C677T del paciente en estudio se observó un patrón atípico en las curvas de hibridación y alteración de las temperaturas de hibridación. La secuenciación directa reveló la presencia, en heterocigosis, de una variante cercana, rs200100285 A/G que genera un cambio de aminoácido Val225Ile. Esta variante está descrita en las bases de datos genéticas de acceso público por el Proyecto 1000 Genomas, y es poco frecuente en nuestro medio (< 0,01%). En nuestro centro se han procesado 500 análisis del polimorfismo C677T con el equipo LightCycler en 10 años. En ningún caso se ha detectado la presencia del rs200100285 por lo que esta variante es rara en nuestro medio.

Conclusiones: La determinación mediante PCR en tiempo real con sondas fluorescentes específicas de alelo con el sistema Light Cyler resulta una técnica robusta para el estudio de polimorfismos y mutaciones puntuales en diagnóstico clínico. La presencia de alguna variante cercana a la estudiada altera el patrón de curvas de hibridación y hacen posible su detección.

Red Investigación Cardiovascular RD12/0042/0032.

Plaquetas/biología vascular

PB-151 Ausencia de actividad ADAMTS-13 en paciente tras tratamiento con clopidogrel

Pino Ferre M., Palomo Udaeta M., Escolar Albadalejo G., Pereira A., Díaz Ricart M.

Servicio de Hemoterapia-Hemostasia. Centre de Diagnòstic Biomèdic (CDB). Hospital Clínic. IDIBAPS. Barcelona

Introducción: La púrpura trombocitopénica trombótica (PTT) es un síndrome hematológico con una elevada mortalidad asociada, caracterizado por trombocitopenia, anemia hemolítica microangiopática, y alteraciones neurológicas con frecuencia. La mayoría de los casos de PTT son debidos a un déficit grave de la metaloproteasa del factor de von Willebrand (vWF), ADAMTS-13, por desarrollo de anticuerpos inhibitorios (PTT adquirida). Existen casos de PTT adquirida asociados al tratamiento con antiagregantes plaquetarios dirigidos a inhibir el receptor para el ADP, como la ticlopidina y el clopidogrel.

Material y métodos: Una mujer (32 años) fue atendida en nuestro hospital a causa de la aparición repentina de ictericia, petequias, disartria y hemiparesia tras 7 días de tratamiento con clopidogrel. La paciente estaba alerta, sensible y orientada mentalmente. Ocho años antes, la paciente presentó una hemorragia subaracnoidea debido a la ruptura de un aneurisma, y se le practicó una embolización intravascular. Una semana antes del nuevo ingreso,

la angiografía 3D de control mostró signos de revascularización del aneurisma, por lo que se practicó nueva embolización y colocación de stent. La paciente inició tratamiento con aspirina (100 mg/día) y clopidogrel (300 mg, seguido de 75 mg/día). Tras el ingreso y para confirmar diagnóstico diferencial de PTT, realizamos hemograma, medida de parámetros bioquímicos, LDH en suero, frotis de sangre, niveles del complemento y determinación de los parámetros relacionados con ADAMTS-13 (actividad, mediante FRETs, antígeno y presencia de IgG anti-ADAMTS-13).

Resultados y conclusión: Los resultados de laboratorio fueron los siguientes: Hb de 79 g/l, recuento plaquetario de $11 \times 10^9/l$, reticulocitos de $80 \times 10^9/l$, bilirrubina de 3,1 mg/dl, creatinina de 0.8 mg/dl, y LDH de 2.250 U/l (normal < 450 U/l), presencia de numerosos esquistocitos, tiempos de protrombina y tromboplastina normales, serología para VHB, VHC y VIH negativa, complemento normal y ausencia de anticuerpos antinucleares. La actividad ADAMTS-13 fue < 5%, con presencia de IgG (52,7 U/ml), antes del recambio plasmático, y se recuperó durante y después del tratamiento, tras disminuir el título de IgG (9,9 U/ml y 5,25 U/ml, respectivamente). Los niveles de ADAMTS-13 antigénico fueron inicialmente de 103,4 ng/ml y aumentaron hasta 573.65 ng/ml después de la finalización del tratamiento, aunque se mantuvo por debajo del rango normal reportado (700-1.400 ng/ml). La suspensión del tratamiento y el recambio plasmático llevó a la remisión completa y sostenida de la paciente. Este caso supone una nueva evidencia sobre la asociación entre el tratamiento con clopidogrel y la aparición de PTT. La PTT apareció en un plazo de una semana después de iniciar el tratamiento.

PB-152 Evaluación de los estudios por sospecha de trombopenia por heparina en un hospital de tercer nivel

Villalba Montaner M., Salvador Rupérez E., Lacalle Aicua L., Espinosa Lara N., Segura Díaz A., Fernández Mosteirín N., Calvo Villas J. M., Delgado Beltrán P.

Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza

Introducción: La trombocitopenia por anticuerpos contra el complejo factor plaquetario 4 (FP4)-heparina (TH) es una complicación clínica grave que debe sospecharse en pacientes en tratamiento con heparina que desarrollan trombopenia y/o trombosis durante su administración.

Objetivo: Revisar las solicitudes de los estudios de laboratorio por sospecha de TH en nuestro laboratorio en el último año.

Pacientes y métodos: Se analizaron las variables demográficas, características clínicas y datos de laboratorio de los pacientes con sospecha clínica y/o analítica de TH a los que se solicitó determinación de anticuerpos antiFP4-heparina. Para su detección se empleó un inmunoensayo turbidimétrico de partículas de látex en muestras de plasma citratado con el reactivo HemosIL HIT-Ab_(PF4-H)TM.

Resultados: Se revisaron las solicitudes de 17 pacientes con una mediana de edad de 71,5 años (rango, 54-91). La mediana del recuento plaquetar al ingreso fue $159.000/mm^3$ (rango, 6.000-

252.000/mm³), y la mediana del recuento al momento del estudio de TH fue 52.000/mm³ (rango, 6.000-135.000/mm³). Se administró heparina no fraccionada en 6 pacientes y heparinas de bajo peso molecular (HBPM) en 8 pacientes (7 profiláctica: 4 fibrilación auricular, 1 antecedentes de TEP, 1 bioprótesis aórtica, 1 prótesis metálica y 1 paciente con HBPM terapéutica por trombosis venosa profunda). El tiempo entre el inicio de la administración de la heparina y la solicitud del estudio fue 7 días (rango, 3-60). Tres pacientes desarrollaron trombosis (1 embolismo en extremidad inferior derecha, 1 AIT + isquemia aguda miembro inferior derecho, y 1 ACV + agravamiento de isquemia arterial) durante el tratamiento con heparina. Nueve pacientes tuvieron un antecedente quirúrgico (4 cirugía cardíaca, 4 cirugía vascular, 1 neurocirugía) previo a la trombopenia. Dos pacientes tuvieron la prueba de laboratorio de determinación de anticuerpos positiva por lo que se suspendió la heparina y se administró fondaparinux. Uno de los casos, a pesar de negativizar la prueba de laboratorio recibió anticoagulación con argatrobán. Aplicando la escala clínica de las 4T ambos pacientes presentaron un score de alta probabilidad (6-8 puntos). Tras suspender la administración de heparina el tiempo de recuperación plaquetaria en los dos pacientes fue respectivamente de 7 y 13 días.

Conclusión: En nuestra experiencia, la positividad de los anticuerpos mediante la prueba inmunológica HemosIL HIT-Ab_(PF4-H)TM en el laboratorio se ha asociado a un score 4T de alta sospecha clínica de HT. Todos los pacientes evolucionaron favorablemente con la suspensión de la heparina y el cambio a anticoagulación con fondaparinux lo que ha resultado ser una estrategia efectiva en el manejo de los pacientes con sospecha de HT.

PB-153 Análisis retrospectivo del uso fuera de indicación de los análogos de la trombotopoyetina en un hospital universitario

Bosch A., Novelli S., García I., Moreno E., Martino R., Sierra J.

Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona

Introducción: Los análogos de la trombotopoyetina (aTPO) están indicados en 2.^a línea para tratamiento de púrpura trombocitopénica inmune, aplasia medular y para disminuir el efecto trombocitopénico de los antivirales en el tratamiento del VHC. Debido a su eficacia, los aTPO se han utilizado fuera de indicación y de forma compasiva, para tratar trombocitopenias secundarias graves con bajo rendimiento transfusional y que suponen un número elevado de transfusiones.

Objetivo: El objetivo de este estudio es describir de forma retrospectiva las indicaciones y resultados del uso de aTPO fuera de indicación en un hospital universitario.

Métodos: Se recogieron de forma retrospectiva todos los pacientes que recibieron tratamiento con aTPO fuera de indicación en nuestro hospital desde agosto 2009 hasta febrero 2016. Se recogieron variables demográficas, patología de base, indicación del uso de aTPO y seguimiento.

Se evaluó la eficacia del tratamiento en función del alcance de una cifra de plaquetas superior a 50 x 10⁹/l (respuesta analítica a aTPO).

Resultados: En la **Tabla 1** se describen las características basales de los 22 pacientes incluidos en el estudio. La mediana del tiempo de seguimiento fue de 8 meses (1-47). La mediana de recuento plaquetario al inicio de aTPO fue 16 x 10⁹/l. Cinco pacientes (23%) habían presentado previamente una hemorragia clínicamente significativa. Un 55% (n = 12) del total de pacientes presentó respuesta analítica al tratamiento con aTPO. La mediana del tiempo desde inicio tratamiento hasta la respuesta fue de 4,5 semanas. Del total, 21 casos recibieron Romiplostim como primera opción, con una dosis mediana al inicio de 1 mcg/kg/semana y de respuesta de 4 mcg/kg/semana (1-8). Dos de ellos (9%) requirieron el cambio a eltrombopag sin alcanzarse respuesta en ningún caso. Un paciente recibió eltrombopag como primera opción, que se sustituyó por romiplostim por falta de respuesta. La mediana de duración del tratamiento con cualquier aTPO fue 11,5 semanas. Durante el periodo de estudio, dos pacientes presentaron cuadros hemorrágicos: uno de ellos, un sangrado digestivo clínicamente relevante sin haber alcanzado aún la respuesta al fármaco y otro un hematoma subdural con cifras de 54 x 10⁹/l plaquetas.

Tabla 1. Características de la población

Variable	Total = 22 casos	
Mediana edad (años)	56 (8-87)	
	Frecuencia n	Porcentaje (%)
Género		
Mujer	11	(50)
Hombre	11	(50)
Diagnóstico de base		
Leucemia linfoblástica aguda	2	(9)
Leucemia mieloide aguda	5	(23)
Linfoma de Hodgkin	2	(9)
Linfoma no Hodgkin	3	(14)
Mieloma múltiple	1	(5)
Síndrome mielodisplásico	7	(32)
Neoplasia sólida	2	(9)
Trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH)		
Sí	16	(73)
aloTPH	11	(50)
autoTPH	5	(23)
No	6	(27)
Indicación de tratamiento con aTPO		
Hipoplasia megacariocítica post QT	2	(9)
Hipoplasia megacariocítica post aloTPH	9	(41)
Hipoplasia megacariocítica post autoTPH	1	(5)
Hipoplasia megacariocítica 2 ^a a enfermedad de base	9	(41)
Hipoplasia megacariocítica 2 ^a a tratamiento anti CMV	1	(5)

No se observaron eventos trombóticos ni toxicidades grado 3-4 que obligasen a suspender el tratamiento.

Conclusiones: Los aTPO son una alternativa segura y eficaz para mejorar las cifras de plaquetas en pacientes con riesgo alto de sangrado en los que las transfusiones de plaquetas no rinden o suponen un número elevado de transfusiones. Esta nueva opción terapéutica abre un nuevo ámbito de estudio centrado en la búsqueda de factores clínicos y analíticos predictores de una buena respuesta al tratamiento.

PB-154 Hemorragia alveolar: una presentación clínica poco frecuente en trombostenia de Glanzmann

Catarino C., Palricas Costa A., Rodrigues F., Pereira A.

Centro Hospitalar Lisboa Norte - Hospital de Santa Maria (HSM). Lisboa

Introducción: La trombostenia de Glanzmann (GT) es una enfermedad hemorrágica rara, autosómica recesiva, causado por una deficiencia o disfunción de la glicoproteína IIb/IIIa, lo que resulta en la agregación plaquetaria defectuosa. El TG puede manifestarse después de su nacimiento, seguido por episodios de hemorragia mucocutánea y hematomas espontáneos. Las epistaxis y gingivorragias son las manifestaciones clínicas más comunes. En las mujeres, se hace el diagnóstico, a menudo en el momento de la menarquia con episodios de difícil controlar los períodos menstruales pesados. El TG también puede presentarse con hemorragia grave en situaciones de cirugía o trauma menor. El diagnóstico de TG incluye generalmente recuento de plaquetas normal o en el límite inferior, tiempo de hemorragia y PFA prolongados. La agregometría plaquetaria es la prueba estándar para evaluar la función de plaquetas, con alta especificidad para el TG. La confirmación de la enfermedad es a través del análisis de la mutación genética en los genes ITGA2B y ITGB3.

Métodos y resultados: Los autores describen el caso de una mujer de 43 años con TG seguido en Consulta de Coagulopatías Congénitas en HSM desde 18 años, con frecuentes episodios de difícil controlar los períodos menstruales pesados, que requieren hospitalización y se asocia con anemia por deficiencia de hierro, seguido en consulta ginecológica. Se sometió a una gastrectomía parcial electiva en marzo/2010, bajo terapia con concentrado de plaquetas y rFVIIa. En septiembre/2015 comenzó disnea, fiebre y astenia, que radiológicamente, se interpretó como infección respiratoria. Fue hospitalizado durante 6 días y llevó a la terapia con rFVIIa durante la hospitalización, dado el riesgo de discrasia asociado con síntomas respiratorios. Los hemocultivos y cultivos de orina fueron negativos. En noviembre/2015, fue admitido en la SUC con el empeoramiento de las quejas iniciales y hemoptisis y fue admitido en el Departamento de Neumología diagnosticado con neumonía adquirida en la comunidad + hemorragia alveolar. Se inició tratamiento antibiótico empírico y el esquema de rFVIIa, con una mejoría clínica de los síntomas respiratorios y discrasias. Los hemocultivos y cultivos de orina fueron negativos. Fue dado de alta en D7, todavía bajo tratamiento con rFVIIa, que se mantuvo durante 5 días. En enero/2016 tuvimos segundo episodio

de hemoptisis e insuficiencia respiratoria y fue hospitalizado con diagnóstico de infección respiratoria con hemorragia alveolar en el contexto de TG. La Rx de tórax mostró “infiltrado difuso en el 1/3 inferior del hemitórax derecho y 2/3 inferiores del hemitórax izquierdo”. El videobroncofibroscopia reveló “sangrado moderado en una toalla...” El examen citológico confirmó la hemorragia alveolar. Los resultados de los hemocultivos, cultivo de orina y del lavado broncoalveolar fueron negativos. Durante la hospitalización siempre estuvo bajo la terapia con rFVIIa sin recurrencia de la hemoptisis, a partir del primera de administración. En este último episodio de hemorragia alveolar (interpretada entonces como la tercera) y debido a la repetición de los síntomas, se decidió a la terapia profiláctica rFVIIa durante aproximadamente 1 mes.

Conclusiones: El rFVIIa ha demostrado su eficacia en el control de la hemorragia alveolar en el contexto de TG y sin problemas.

Tratamientos antitrombóticos

PB-155 Fallos de implantación recurrentes. Uso clínico de la heparina

Fariñas García M. (1), Rodríguez Paino M. (1), Olaso Echániz E. (1), Sánchez Ramón S. (2), Lucas de la Vega V. (3), López Martínez L. (3), Blanco Maldonado Z. (3), González Villafañez V. (3), Macedo Pereira J. (3), Da Silva C. (1), Rodríguez Gambarte J. D. (1), Gil Herrera J. (4), Verdú Merino V. (3)

(1) Servicio de Hematología. Clínica Santa Elena. Madrid. (2) Servicio de Inmunología. Hospital Ruber. Madrid. (3) Servicio de Ginecología. Clínica Ginefiv. Madrid. (4) Servicio de Inmunología. Clínica Tambre. Madrid

Introducción: Numerosas publicaciones indican que la heparina de bajo peso molecular (HBPM) puede influir en la implantación del blastocisto y la invasión trofoblástica. Los estudios randomizados en reproducción asistida de Urman, Berker y Qublan sugieren beneficio de la HBPM en mujeres con al menos 3 fallos de implantación, pero el número de pacientes es pequeño. Estudios importantes no randomizados (Lodigiani y Grandone) encuentran beneficio de la HBPM pero sugieren confirmación con ensayos randomizados. En el estudio italiano de Grandone el % esperable de nacidos vivos en 595 mujeres que ya han realizado 3 ciclos con ovocitos suyos y lo intentan sin ovodonación es del 26% en menores de 38 años y del 0% con al menos 38 años. En España en la valoración de los resultados se debe considerar la influencia de la ovodonación. Presentamos nuestra experiencia en mujeres con al menos 3 transferencias embrionarias con resultado de fallo de implantación y/o abortos y reciben HBPM en nuevos intentos.

Métodos: Revisamos 163 pacientes consecutivos con estos criterios valorados en consulta hasta 1-1-2014 que recibieron HBPM (la mayoría tinzaparina a dosis profiláctica de alto riesgo) desde antes de la transferencia embrionaria y durante el embarazo y puerperio. Se valora el resultado de nacido vivo transcurridos al menos

24 meses. Se realizó estudio de trombofilia y se valoró riesgo trombótico. La mayoría reciben además AAS 100 mg.

Resultados: Tipo de trombofilia: la testada de forma habitual (mut. protrombina, FV Leiden, déficit Prot. S) 12%. FVIII elevado y/o mut. homoC46T FXII 46%. Anticardiolipina + débil 12%, prot. S en límite bajo 9%. Solo la controvertida C677T MTHFR (homo) 7%. Sin trombofilia objetivada 12%. Los resultados de nacidos vivos según edades y tipo de procedimiento se reflejan en la **Tabla 1**:

Edad	< 38 años	38-39	40 o más
Total de pacientes	68	35	60
Nacidos vivos (NV)	48 (71%)	20 (57%)	29 (48%)
NV con ovocitos propios	23 (34%)	7 (20%)	5 (8%)
NV con ovodonación y varios intentos previos de ovodonación	8 (12%)	7 (20%)	21 (35%)
NV con ovodonación tras intentos previos solo con ovocitos propios	9	3	3
NV con embarazo natural	8	3	3

Conclusiones: Nuestra experiencia sugiere un potencial papel de la HBPM para mejorar el número de nacidos vivos en la reproducción asistida en mujeres con al menos tres intentos fallidos. Se necesitan ensayos randomizados controlados. En España el efecto positivo de la ovodonación hace recomendable el estudio en subgrupos: sin ovodonación y pacientes que ya han tenido intentos previos con ovodonación.

PB-156 Trombopprofilaxis con heparina de bajo peso molecular como alternativa a tratamiento con antivitaminas K: experiencia en nuestro centro

García Ruiz M. A. (1), Morente Constantín E. (1), Romero García P. (2), Gómez Morales M. (1), Gutiérrez Pimentel M. J. (1), Jurado Chacón M. (1)

(1) Complejo Universitario de Granada. Granada. (2) Complejo Asistencial de Soria. Soria

Introducción y objetivo: Las heparinas de bajo peso molecular (HBPM) constituyen el anticoagulante de elección en el tratamiento de la trombosis asociada al cáncer, en embarazo y en situaciones con contraindicación de anticoagulantes orales (antivitaminas K, AVK o anticoagulantes orales directos, ACODs). Las HBPM no requieren monitorización de laboratorio, salvo situaciones especiales mediante niveles anti-Xa. Pretendemos evaluar el uso de HBPM a dosis plenas de forma continuada en la prevención de enfermedad tromboembólica venosa (ETE) en pacientes con indicación de anticoagulación indefinida y contraindicación a AVK y/o cáncer activo y evaluar las complicaciones tipo hemorrágico o trombótico, y otros posibles efectos secundarios.

Métodos: Evaluamos un grupo de pacientes anticoagulados con HBPM y seguimiento con determinaciones de niveles anti-Xa en un período de 5 años. Algunos pacientes habían recibido tratamiento previo con AVK, y otros solo HBPM. El motivo principal de suspensión de AVK fue por diátesis hemorrágicas de repetición (incluso requerimientos transfusionales crónicos) y los ictus. Estudiamos 157 pacientes. Todos, recibieron HBPM a dosis ajustadas a peso, según niveles de anti-Xa, de edades entre 10 y 97 años.

Como indicación de anticoagulación principal: 64 arritmias (fibrilación auricular la más frecuente), 73 ETEV y 20 prótesis valvulares (8 aórticas, 8 mitrales y 4 doble prótesis). Múltiples casos presentaban varias diagnósticos, y el 80% comorbilidades importantes (Ictus, valvulopatías, cardiopatía isquémica, IAM, stents, trombofilia). Hubo un caso de resistencia y uno de reacción alérgica a AVK. Del total de pacientes, 33 casos presentaban cáncer y 18 insuficiencia renal. Previo al tratamiento, se evaluó hemograma, coagulación básica, urea y creatinina. Los tipos de HBPM fueron (**Figura 1**):

- Tinzaparina sódica: 85 pacientes; 40 arritmias, 32 ETEV y 13 prótesis valvulares cardíacas. Dieciocho casos con cáncer.
- Bemiparina sódica: 51 casos; 31 ETEV, 14 arritmias y 6 prótesis. 10 casos con cáncer.
- Enoxaparina sódica: 21 casos; 10 arritmias, 10 ETEV y 1 prótesis. 5 casos de cáncer.

El tiempo de seguimiento varió desde 5 años de tratamiento hasta 6 meses. 5 casos durante 5 años, 7 casos 4 años, 14 casos 3 años, 40 casos 2 años, 45 casos 1 año y el resto < 1 año.

Resultados: En los pacientes que presentaban sangrado secundario a AVK, este desapareció totalmente con la heparina. Diez pacientes presentaron complicaciones: 5 hemorragias mucosas, dos episodios de ictus en un enfermo, una hemoptisis, una TVP y un sangrado en la zona de punción de la heparina, que no requirieron suspensión del tratamiento, tan solo ajuste de dosis. Durante el estudio hubo 10 muertes (2 por cáncer y 8 por su enfermedad de base), ningún caso fue debido al tratamiento anticoagulante.

Conclusiones: Los resultados obtenidos confirman la eficacia, seguridad y la rentabilidad de uso de HBPM de forma continuada en la prevención de ETEV en casos con contraindicación a AVK

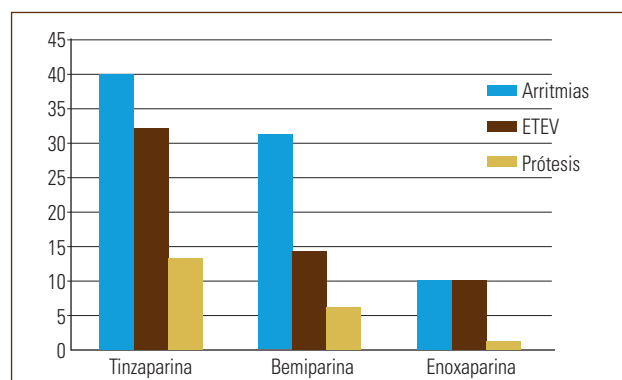


Figura 1.

y ACODs, asociado o no a cáncer. Los niveles de anti-Xa son muy útiles para ajuste de dosis. En nuestra serie se demuestra que la HBPM es segura, estudios posteriores proporcionarán datos de confirmación valiosos para apoyar el uso de la HBPM para el tratamiento prolongado en pacientes con contraindicación a anticoagulación oral.

PB-157 Nuevos anticoagulantes orales en el área de salud de Badajoz

Suárez Varela Pineda S. (1), Rodríguez Pérez L. (2), Pérez Caballero F. L. (2), Gallego Fuentes R. (2), Buitrago F. (2)

(1) Hospital San Pedro de Alcántara. Cáceres. (2) Centro de Salud La Paz. Badajoz

Introducción y objetivo: En los últimos años se han desarrollado nuevos anticoagulantes orales (NACOS) como alternativa a los antagonistas de la vitamina K (AVK), siendo la prevención de complicaciones tromboembólicas en pacientes con fibrilación auricular (FA) no valvular su principal indicación. El objetivo del estudio fue conocer el perfil de prescripción de los NACOS en base a las recomendaciones de las agencias sanitarias, la contribución de las distintas especialidades y las complicaciones durante el periodo de seguimiento.

Métodos: Estudio observacional, de seguimiento de 352 pacientes del área sanitaria de Badajoz con prescripción de NACOS (dabigatrán, rivaroxabán o apixabán) entre el 1-12- 2011 y el 30-11- 2012, finalizando el periodo de seguimiento el 1-03- 2016.

Resultados: La edad media de los pacientes (60,5% mujeres) fue de 75,6 años, y el tiempo medio de seguimiento $2,7 \pm 0,9$ años. La mayoría de NACOS fueron prescritos por cardiólogos (64,3%), seguidos por internistas (20,0%), neurólogos (8,6%) y traumatólogos (7,1%), sin ninguna participación de hematólogos. La FA no valvular fue el diagnóstico más frecuentemente señalado (77,0%) para solicitar la autorización de la prescripción, sin que constara la toma previa de un antagonista de la vitamina K en el 50,8% de los pacientes. Al menos un 7,7% de los pacientes suspendieron los NACOS por algún efecto adverso grave relacionado con su toma (el 8,1% de los pacientes que iniciaron tratamiento con dabigatrán, el 8,6% de quienes tomaban rivaroxabán y el 2,6% de quienes tomaban apixabán) y un 2,6% de los pacientes (el 3,8% de los pacientes que tomaban dabigatrán y el 1,6% de quienes tomaban rivaroxabán) murieron por una causa probablemente relacionada con el consumo del NACO (Tablas 1 y 2).

Conclusiones: El mayor porcentaje de prescripción de NACOS corresponde a cardiólogos, generalmente por una FA no valvular, y ninguna de las prescripciones fue realizada por hematólogos. En más de la mitad de los casos los NACOS son utilizados como primera opción de tratamiento, sin seguir las directrices de la Agencia Española del Medicamento (AEMPS), que indican cuales son las excepciones para no iniciar un tratamiento anticoagulante previo con un AVK. El porcentaje de eventos adversos graves y de muertes probablemente relacionadas, así como la experiencia clínica todavía limitada a largo plazo en la práctica asistencial, obliga a una prescripción más rigurosa y a un seguimiento y vigilancia estrecha de estos fármacos.

Tabla 1. Causas de los abandonos posiblemente relacionados con la toma de NACOS

	Dabigatrán	Rivaroxabán	Apixabán
Hemorragias gastrointestinales	5	5	1
Insuficiencia renal	1	2	
Púrpura	2		
Anemia	3	1	
Hematuria	1		1
Alergia	1		
Ictus isquémico		2	
Ictus hemorrágico	1		
Insuficiencia cardiaca	1		
	15	10	2

Tabla 2. Causas de muerte posiblemente relacionadas con la toma de NACOS

	Dabigatrán	Rivaroxabán	Apixabán
Ictus hemorrágico	4		
Isquemia mesentérica	1		
Ictus isquémico		1	
Rectorragia		1	
Isquemia de miembros inferiores	2		

PB-158 Comparación de la probabilidad de eventos vasculares, hemorrágicos y mortalidad en pacientes con fibrilación auricular en tratamiento con anticoagulantes de acción directa y antagonistas de la vitamina K

Castiñeiras Jiménez V. (1), Fernández Muñoz H. (2), Tudela Andreu R. (2), Navarro Castro A. M. (2), Melero Amor A. (2), Muñia Juárez B. S. (2), Periago Peralta A. (2), Romero Orcajada M. J. (2), Hernández Morante J. J. (1)

(1) Universidad Católica de Murcia. Murcia. (2) Servicio de Hematología. Hospital Universitario Rafael Méndez. Lorca, Murcia

Introducción: Los anticoagulantes orales de acción directa (ACODs) son fármacos con un perfil farmacocinético más predecible y seguro que los antagonistas de la vitamina K (ACO). Se ha descrito en los diferentes ensayos clínicos en función de la dosis y fármaco utilizado, una reducción de los episodios de ictus isquémico, de hemorragias intracraneales y de la mortalidad en los pacientes en tratamiento con ACODs respecto a ACO.

Objetivo: El objetivo de nuestro estudio es comparar la mortalidad, las complicaciones tromboembólicas y hemorrágicas en una pequeña cohorte de pacientes en tratamiento con ACODs y ACO.

Metodología: Desde enero de 2015 a abril de 2016 se seleccionaron 50 pacientes con FA no valvular paroxística o permanente, que iniciaron tratamiento en nuestra área con ACODs. Esta población se comparó con una muestra de 50 pacientes con FA *de novo* que inició tratamiento con ACO en el mismo periodo. Se registró la mortalidad por cualquier causa, los eventos tromboticos –ACV, embolias y síndrome coronario agudo (SCA)–, los eventos hemorrágicos mayores (criterios de la ISTH), y un ítem global de eventos totales (mortalidad, eventos tromboticos y hemorrágicos).

Resultados: La mediana de puntuación de CHADS y CHADS-VASc, fue similar en ambos grupos 2 (2-3, $p = 0,43$) y 4 (3-5, $p = 0,83$). No hubo diferencias estadísticas significativas en las características clínicas basales de ambos grupos (peso, talla, IMC, aclaramiento renal, HTA, DM, hipercolesterolemia, depresión, EPOC o episodios de insuficiencia cardiaca). Durante el seguimiento, hubo 4 episodios hemorrágicos mayores en los pacientes con ACODs (1 ACV hemorrágico y 3 hemorragias gastrointestinales), y ningún evento en los ACO ($p = 0,06$). Respecto a los eventos tromboticos, tanto en el grupo ACODs como en el ACO se registraron 2 episodios (1 ACV y 1 SCA) vs. (2 ACV), respectivamente. Hubo 4 fallecimientos en el grupo ACODs vs. 1 en el ACO ($p = 0,18$). Nuestro ítem global mostró 7 eventos totales en el grupo ACODs vs. 3 eventos en el grupo ACO, sin observarse diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,18$).

Conclusión: Nuestro estudio observa una tendencia hacia una mayor mortalidad y eventos hemorrágicos en los pacientes con ACODs respecto a los tratados con ACO. Diferentes factores no cuantificados en el estudio como la adherencia al tratamiento u otros factores cardiovasculares no controlados podrían justificar estos hallazgos. En cualquier caso, consideramos necesario un seguimiento a más largo plazo y con un mayor tamaño muestral para poder confirmar que los ACODs presentan mayor riesgo de evento adverso, en especial de eventos hemorrágicos mayores.

PB-159 Beneficios del tratamiento con heparinas de bajo peso molecular en mujeres con complicaciones obstétricas

Castaño T., García Raso A., Vidal R., Llamas P.
Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz. Madrid

Introducción: Existe un gran interés en mujeres con malos antecedentes obstétricos que buscan el embarazo y que no siempre presentan un riesgo trombotico claro. Se han descrito efectos pleiotrópicos de las HBPM, al margen de su acción como agente anticoagulante, que podrían favorecer la gestación y una evolución exitosa de la misma. Los efectos no anticoagulantes de las heparinas están implicados en la implantación y desarrollo trofoblástico, y permiten mejorar la receptividad del endometrio y decidualización del estroma endometrial, así como la adhesión e invasión del trofoblasto (\uparrow TFPI, \uparrow ILGF, inhibición P-selectina y E-caderina, \downarrow VEGF, \downarrow TGF, \downarrow TNF, interacción metaloproteasas de matriz y citocinas).

Objetivo: Analizar el motivo por el que las mujeres en edad fértil son remitidas desde obstetricia a la consulta de trombosis, las medidas terapéuticas adoptadas y la evolución del embarazo.

Pacientes y métodos: Hemos estudiado un grupo de 198 mujeres con edad media $35,88 \pm 4,05$ años (22-45) las cuales fueron remitidas a la Unidad de Trombosis para valoración por problemas relacionados con la gestación (Figura 1A). De cada una de ellas se recogieron los siguientes datos: edad, antecedentes obstétricos, n.º y momento del aborto, antecedentes personales y familiares de trombosis, trombofilia hereditaria y adquirida, tratamiento anticoagulante recibido, evolución del embarazo y datos del parto.

Resultados: El 64,6% ($n = 128$) de las mujeres eran mayores de 35 años, y el 63,1% ($n = 125$) habían sufrido al menos un aborto espontáneo previamente: el 43% ($n = 86$) habían sufrido dos y el 27% ($n = 56$) tres o más. La Figura 1B muestra el trimestre en el cual las pacientes fueron atendidas por primera vez. Se excluyeron del estudio 38 pacientes que fueron remitidas por una trombosis previa sin otras complicaciones obstétricas (todas estas pacientes fueron tratadas con dosis terapéuticas de HBPM). De las 160 pacientes restantes 118 (74%) fueron tratadas con HBPM durante el embarazo (Figura 2). El 90% de las mujeres tratadas ($n = 145$) consiguieron un hijo, solo en 15 casos el embarazo no progresó. Se presentaron complicaciones en 20 pacientes (12,5%), ninguna de ellas relacionada con el uso de HBPM.

Conclusión: Cada vez son más frecuentes los problemas gestacionales (esterilidad, abortos de repetición, fallos FIV...) en la mayoría de los casos de origen desconocido. Probablemente el modelo de vida actual, mujer orofesional que busca embarazo a edad más avanzada, esté implicado en estos procesos. El uso de HBPM a dosis profilácticas parece mejorar la tasa de gestaciones exitosas, en nuestro caso obtuvimos una tasa de éxito del 90%. Aun así, el grado de evidencia en esta población sigue siendo escaso por lo que son necesarios más estudios que incluyan a un mayor número de pacientes.

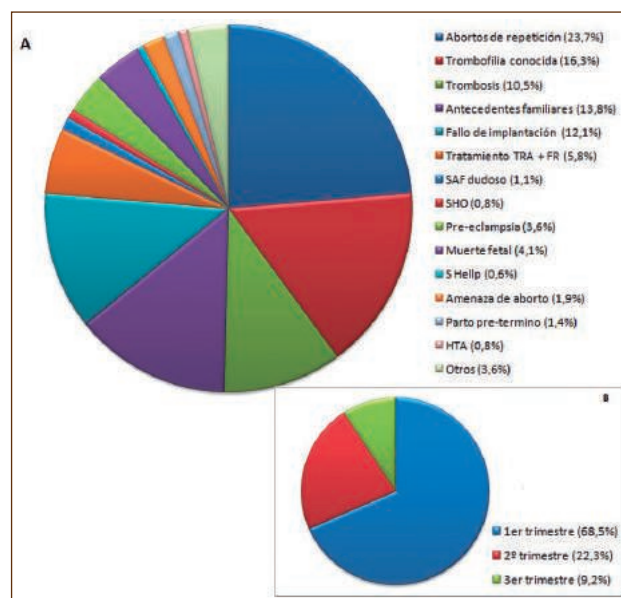


Figura 1. A. Motivos por los que las pacientes fueron derivadas a la consulta de anticoagulación de la Unidad de Trombosis. B. Trimestre en el que las pacientes fueron atendidas por primera vez.

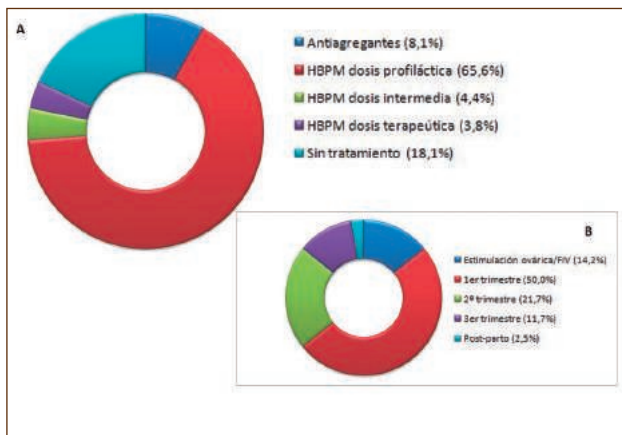


Figura 2. A. Tipo de tratamiento recibido. B. Inicio del tratamiento.

PB-160 Satisfacción y resultados en la puesta en marcha de la Unidad de Autocontrol del Hospital Arnau de Vilanova de Valencia

García Navarro I. M., Lorente Alegre P., Gómez Toboso D., Cánovas Giménez V., Hueso Zarandíeta A., Jiménez Clavijo A., Almiñana Navalón Á., Martínez Blázquez L., López Chulia F.

Hospital Arnau de Vilanova. Valencia

Introducción: La anticoagulación refleja una de las áreas asistenciales donde más transformación se está experimentando. Adecuaremos a cada tipo de paciente /diagnóstico el método de control en anticoagulación más idóneo, según el perfil de cada uno de ellos, podemos ofrecer alternativas satisfactorias y eficaces. La mejora en calidad, eficacia y eficiencia reduce al mínimo el riesgo de complicaciones y mejora la satisfacción de los pacientes.

Objetivo: Evaluar los resultados en la unidad en autocontrol en anticoagulación en el área 6 de la Comunidad Valenciana, como centro piloto, aportando una mayor calidad en nuestros anticoagulados.

Métodos: La Unidad de Autocontrol se inició en 2014. Hay 27 pacientes seleccionados, que firman su consentimiento informado. Realizan un cursillo de entrenamiento en grupos de tres pacientes, pudiendo estar acompañados de algún familiar. Iniciamos al paciente en el manejo del coagulómetro portátil y educación en su autodosificación y algoritmos de ajuste. El flujo de comunicación se mantiene entre los profesionales a través del control telefónico y en todo momento los pacientes están asesorados por el equipo clínico. Se les realizó una encuesta de satisfacción del programa.

Resultados: Analizamos 25 pacientes 15 mujeres (60%)-10 hombres (40%). Media de edad fue 49,5 (rango 20-60). Hacen una visita semanal a los quince días, al mes, a los tres meses y a los seis meses. Incluimos 10 pacientes con prótesis aórtica mecánica; 2 pacientes con Prótesis valvular aórtica y mitral mecánica; 2 con prótesis valvular mecánica; 4 con arteriopatía; 4 con tromboembolismo pulmonar recurrente; 1 con accidente cerebral vascular isquémico cardioembólico. El TRT (tiempo en rango terapéutico) medio de 15 pacientes es mayor al 60% y de 10 pacientes

es de casi el 60%. El % de la media en el TRT es del 62,9%. Hay un 60% de pacientes que están por arriba del 60% en TRT. No presentado ningún efecto adverso trombótico, ni hemorrágico. *Incidencias recogidas por enfermería:* a) un fallo en la dosificación; b) un solo paciente tuvo miedo a la punción digital, supero con la educación, no suspende el programa; y c) dos abandonos, uno por incumplimiento de las visitas posteriores y otro por negativa de hacer la reeducación.

Conclusiones: El autocontrol es un método idóneo para incrementar la satisfacción e independencia de los pacientes, mejorar el control de su INR, mejor TRT, sin complicaciones hemorrágicas y trombóticas. Mejoran su calidad de vida siendo más responsables del control, potencia la adherencia al tratamiento. Veinticinco pacientes de los 27 han manifestado estar muy satisfechos con la unidad de autocontrol.

PB-161 Utilidad práctica de la monitorización biológica de los anticoagulantes de acción directa

Bernardo Gutiérrez Á., Arias Fernández T., Ávila Idrovo L. F., Soto Ortega I., Fonseca Mourelle A.

Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo, Asturias

Introducción: Los ACOD no precisan la monitorización rutinaria de su efecto anticoagulante, aunque la generalización de su uso hace cada vez más frecuente la necesidad del control de su actividad, en pacientes con insuficiencia renal, con aparición de eventos trombóticos o hemorrágicos durante el tratamiento o ante la necesidad de un procedimiento invasivo urgente. En la actualidad los rangos de referencia se obtienen extrapolando los resultados obtenidos en los ensayos pivotaes de cada uno de los fármacos o de los escasos estudios farmacocinéticos existentes, de ahí el interés y la necesidad de estudios en la práctica clínica habitual en determinadas circunstancias.

Objetivos: Demostrar si existe correlación de nuestros resultados de Laboratorio y los que muestran los ensayos clínicos pivotaes. Determinar si el aumento o disminución del efecto anticoagulante de los ACOD se correlaciona con clínica hemorrágica o trombótica y determinar el grado de correcta anticoagulación y adherencia en nuestros pacientes anticoagulados con ACOD del Área Sanitaria IV del Principado de Asturias.

Material y métodos: Se realizaron controles de actividad anti IIa y anti Xa a las 2-3 horas (concentración máxima) de la toma del ACOD a todos los pacientes en un analizador ACL TOP 500, los controles, calibradores y reactivos utilizados fueron de la casa comercial Werfen. Se utilizó un método coagulométrico estandarizado a partir de una dosis fija de trombina bovina para determinar el efecto anticoagulante de los fármacos anti IIa (Dabigatrán). Se utilizó un método basado en un ensayo cromogénico que determina el factor Xa residual para valorar el efecto de los fármacos anti Xa (Rivaroxabán y Apixabán). Los resultados de ambos Test se expresan en ng/mL. Finalmente se hizo una revisión de las Historias Clínicas de los pacientes correlacionando los datos biológicos de Laboratorio con los datos clínicos.

Resultados: Las tasas de hemorragia y trombosis son similares a las descritas en los ensayos pivotaes para cada ACOD. Al medir el impacto sobre los tiempos del estudio de coagulación, dabigatrán aumenta frecuentemente el TTPA en más de un 70% de los anticoagulados con este fármaco, mientras que rivaroxabán afecta más al TP, siendo apixabán el fármaco que menos interfiere tanto en el TP como en el TTPA. Se objetiva un leve aumento de hemorragias cutáneas leves en el caso de apixabán, respecto al estudio pivotal que se correlacionan con dosis altas de fármaco activo en sangre. Por otro lado, es rivaroxabán el fármaco que se encuentra con más frecuencia fuera de rango, sobre todo en sus concentraciones valle, sin traducirse esto en una pérdida de seguridad o eficacia. Se observa una mayor tendencia a presentar episodios hemorrágicos graves con dabigatrán. Por último, a través de esta monitorización de Laboratorio descubrimos un 30% de pacientes que no tomaban el fármaco o lo tomaban de forma incorrecta (Tabla 1 y Figuras 1 y 2).

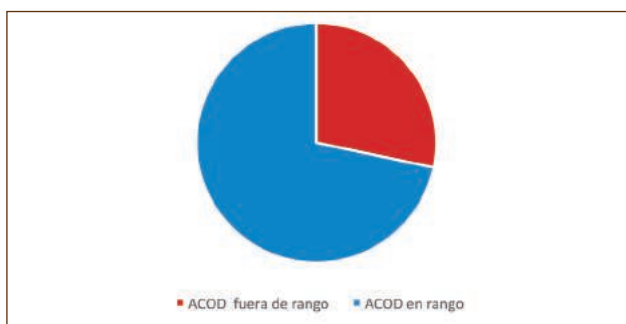


Figura 1. ACOD dentro y fuera de los rangos establecidos para cada fármaco (dabigatrán, rivaroxabán y apixabán).

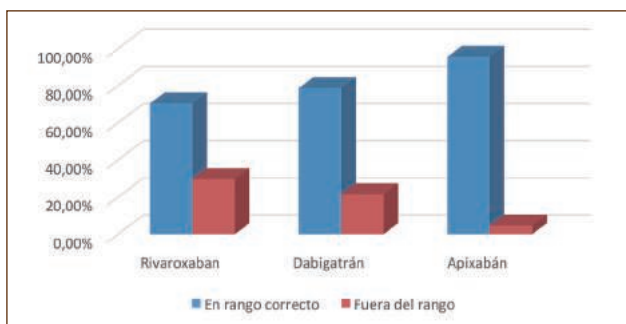


Figura 2. Porcentaje de determinaciones de niveles de ACOD dentro del rango terapéutico para cada fármaco.

Conclusiones: Analizando un total de 109 pacientes, se demuestra que la monitorización del efecto de los ACODs con los Test utilizados en nuestro Laboratorio es precisa y segura. Además, aporta una información fundamental de cara al mejor manejo del paciente anticoagulados con estos fármacos en distintas situaciones clínicas, sirviendo de mecanismo de control de la adherencia terapéutica.

PB-162 Tratamiento con anticoagulantes orales directos: experiencia de un centro

Millón Caño J. A., Vilalta Setó N., Carrasco Expósito M., Souto Andrés J. C., Fontcuberta Boj J., Mateo Arranz J.

Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona

Objetivo: En este estudio presentamos las características de los pacientes que fueron atendidos en nuestra unidad en tratamiento con dabigatrán, rivaroxabán y apixabán. Hemos excluido las indicaciones de profilaxis del TEV en cirugía electiva de reemplazo de cadera o rodilla.

Métodos y resultados: Hemos seguido a 471 pacientes, desde enero de 2011 hasta diciembre de 2015. La mediana de tiempo en tratamiento con dabigatrán fue de 631 días (1-1807), con rivaroxabán de 505 días (7 - 1757) y con apixabán de 325 días (2 - 772). La edad media de los pacientes con dabigatrán fue de 76 años (29 - 93), con rivaroxabán de 71 años (20 - 93) y con apixabán de 77 años (44 - 95). *Indicaciones anticoagulación:* fibrilación auricular (98,5%), TEP/TVP o TFS de repetición (0,5%), otros (1%) para dabigatrán; fibrilación auricular (72,1%), TEP/TVP o TFS de repetición (24,3%), otros (3,6%) para rivaroxabán; fibrilación auricular (97,6%), TEP/TVP o TFS de repetición (0,8%), otros (1,6%) para apixabán. La media de CHA2DS2VASc de los pacientes con dabigatrán era de 4.32, de los pacientes con rivaroxabán de 4,25 y de los pacientes con apixabán de 4,67. Un 0,5% de los pacientes con dabigatrán tenían un FG 15-29 ml/min, un 10,1% un FG 30-49 ml/min y un 89,4% un FG > 50 ml/min. Un 3,6% de los pacientes con rivaroxabán tenían un FG 15-29 ml/min, un 15% un FG 30-49 ml/min y un 81,4% un FG > 50 ml/min. Un 11,3% de los pacientes con apixabán tenían un FG 15-29 ml/min, un 33,9% un FG 30-49 ml/min y un 54,8% un FG > 50 ml/min. Un 2,4% de los pacientes con dabigatrán iniciaron el tratamiento con dosis incorrectas (1,4% con dosis fuera de ficha técnica). Un 10% de los pacientes con rivaroxabán iniciaron el tratamiento con dosis incorrectas (5,7% con dosis fuera de ficha técnica). Un 2,4% de los pacientes con apixabán iniciaron el tratamiento con dosis incorrectas. Un 8% de los pacientes con dabigatrán tuvieron que

Tabla 1. ACOD más prescritos en nuestra área y sus complicaciones

Prescritos en nuestra área	Toxicidades	Hemorragias leves	Hemorragias Graves	Trombosis	Alargamiento TTPA	Alargamiento TP
Rivaroxban: 51,08%	3,70%	5,60%	7,14%	3,70%	12,96%	16,66%
Apixaban: 22,00%	5%	5,00%	5,00%	0%	0%	18,00%
Dabigatrán: 26,92%	14,00%	4,6000%	10,71%	3,57%	71,48%	28,57%

retirar el tratamiento por efectos adversos no hemorrágicos (más de la mitad por dispepsia) y un 5,7% de los pacientes con rivaroxabán por mareos, alopecia, mialgias, astenia o rash. *Incidencia de hemorragias graves:* dabigatrán 2,23% pacientes-año, rivaroxabán 7,74% pacientes-año, apixabán 4,52% pacientes-año. *Incidencia de complicaciones trombóticas:* dabigatrán 2,79 pacientes-año, rivaroxabán 5,16% pacientes-año, apixabán 4,52% pacientes-año.

Conclusiones: Nuestra tasa de complicaciones de pacientes bajo tratamiento con rivaroxabán y apixabán fue superior a la esperada. Probablemente hubo un sesgo de selección causado por la derivación de pacientes a nuestra consulta motivada por haber sufrido una complicación. En muchas de estas complicaciones se asociaron factores ajenos al fármaco: dosis inadecuadas, escasa adherencia, anemias no estudiadas... La media de edad de nuestra serie así como el índice CHA2DS2VASc eran más elevados que en otras series reportadas en la literatura. En el caso de rivaroxabán objetivamos un control deficiente previo a la complicación en muchos casos. En el caso de apixabán los pacientes tenían FG < 50 en un elevado porcentaje. Al ajustar según la función renal, las complicaciones eran mucho menores para todos los anticoagulantes orales directos en los pacientes con FG > 50 ml/min.

PB-163 El impacto de los anticoagulantes orales de acción directa en la anticoagulación de la fibrilación auricular en nuestra provincia

Herrero Martín S. (1), Pinedo Albiz B. (1), Carretero Albiñana E. (2), Cabellos Moratilla E. (1), Vázquez Ramos A. (1), Fernández Maqueda C. (1), Pérez Barriopedro M. (1), Arbeteta Juanis J. (1), Díaz Morfa M. (1)

(1) Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Guadalajara (HUG). Guadalajara. (2) Servicio de Farmacia. GAI. Guadalajara

Introducción: El desarrollo de nuevos anticoagulantes orales de acción directa (ACODs), con mecanismos de acción más específicos y mayor margen terapéutico, no siendo necesario el control analítico rutinario, ha supuesto que desde el 2011 nuestras bases de datos de pacientes anticoagulados en la provincia de Guadalajara no reflejen la realidad de los pacientes anticoagulados, ya que la mayoría de estos pacientes no pasan por nuestro servicio y han dejado de quedar registrados en la antigua base de datos (TAOCAM) de pacientes con anti-vitamina K (AVK), fácilmente visualizada e integrada en el sistema informático de centros de salud y hospital. Con la intención de no perder esta información y que estos pacientes también queden registrados, se solicitó la inclusión de estos nuevos fármacos al responsable de TAOCAM, en la base existente de AVK y se solicitaron los datos a la inspección de Farmacia. El Hospital Universitario de Guadalajara, único en nuestra provincia, atiende a un total de 255.426 habitantes, permitiendo obtener datos centralizados de toda la población de Guadalajara.

Objetivo: Conocer en nuestra región el número de pacientes anticoagulados por FA (fibrilación auricular), lo que supone en la mayoría de los casos un tratamiento indefinido.

Pacientes y métodos: Los pacientes objeto de estudio son aquellos afectos de FA anticoagulados, tanto con AVK como con

ACODs, desde el año 2011 al 2015. La obtención de datos se realiza a través del servicio de Inspección de Farmacia, laboratorio de coagulación e historias clínicas, desde 2001 a primer semestre 2015. No se han contabilizado los pacientes fallecidos en este periodo.

Resultados: Pacientes registrados en TAO en tratamiento ACO (anticoagulante oral) por FA (desde 2011):

- Dabigatrán: 200 pacientes (71 nuevos tratamientos y 129 desde un AVK).
- Rivaroxabán: 128 pacientes (41 nuevos tratamientos y 87 desde un AVK).
- Apixabán: 111 pacientes (59 nuevos tratamientos y 52 desde un AVK).
- Pacientes con FA y ACOD: 439.
- Pacientes con FA y AVK: 2265 pacientes.
- Pacientes anticoagulados por FA: 2.704.

Conclusiones: El 1% de nuestra población está anticoagulada por FA. Un total de 2265 (84%) con AVK y 439 (16%) con ACODs. Del total de pacientes con ACODs, el 46% están con dabigatrán (el primero que se comercializó para FA), 29% con rivaroxabán y 25% para apixabán. Si atendemos a los últimos datos facilitados que corresponden al primer semestre 2015, 60 pacientes han iniciado tratamiento con ACOD y más de la mitad lo han hecho con apixabán: apixabán: 35 (58%), rivaroxabán: 15 (25%) y dabigatrán: 10 (17%). Los servicios de Hematología deberían valorar incluir estos pacientes en las bases de los AVK, y así tener datos conjuntos, actualizados y más reales de sus pacientes anticoagulados. Esta información es útil que sea visible para el clínico y para el hematólogo tanto en su vertiente clínica (realizar terapias puente...) como de laboratorio (validación e interpretación de pruebas artefactadas por los ACOD), como docente, promoviendo la educación de sanitarios y usuarios del tratamiento antiacoagulante.

PB-164 Valoración de la prescripción de dosis e interferencias farmacológicas con los anticoagulantes orales de acción directa en pacientes con fibrilación auricular no valvular

Fernández Muñoz H. (1), Castiñeiras Jiménez V. (2), Tudela Andreu R. (1), Navarro Castro A. M. (1), Melero Amor A. (1), Muiña Juárez B. S. (1), Periago Peralta A. (1), Romero Orcajada M. J. (1), Hernández Morante J. J. (2)

(1) Servicio de Hematología. Hospital Universitario Rafael Méndez. Lorca, Murcia. (2) Universidad Católica de Murcia. Murcia

Introducción. Los objetivos fundamentales de una consulta de ACODs son valorar la correcta dosificación, la adherencia al tratamiento, interacciones farmacológicas, o la monitorización de la función renal para detectar deterioros de la función renal, que puedan implicar un aumento del riesgo trombótico o hemorrágico.

Objetivo: El objetivo de nuestro estudio es valorar el efecto de las interacciones farmacológicas y de la incorrecta dosificación en

la probabilidad de sufrir eventos vasculares, hemorrágicos y en la mortalidad en una cohorte de pacientes en tratamiento con ACODs.

Metodología: Desde enero 2015 a abril del 2016 se incluyeron 50 pacientes con FA no valvular paroxística o permanente, que iniciaron tratamiento con los ACODs. Se registró la correcta dosificación y fármacos que pudieran interferir con la actividad de los ACODs. Se evaluó el efecto de la dosificación incorrecta e interacción farmacológica (grupo 1), *versus* los pacientes sin interacciones y con correcta dosificación (grupo 2), con la mortalidad por causa cardiovascular, los eventos tromboticos –A-CV, embolias y síndrome coronario agudo (SCA)–, los eventos hemorrágicos mayores (criterios de la ISTH), y un ítem global de eventos totales.

Resultados: Un 26% de los pacientes tuvo una prescripción de la dosis inadecuada o fármaco que deben ser usados con precaución o sin datos (dronedrona y Apixabán) (Tabla 1). Un paciente precisó la suspensión del tratamiento con ACODs por insuficiencia renal grave (< 20 ml/min). La mediana de puntuación de CHADS y CHADS-VASc, fue de 2 (2-3) y 4 (3-5). Durante el seguimiento, hubo 1 episodio hemorrágico mayor en el grupo 1 vs. 3 eventos en el grupo 2 ($p = 0,7$). El episodio hemorrágico mayor en el grupo 1 sucedió en 1 paciente en tratamiento con antiinflamatorios. No hubo eventos tromboticos ni muertes en el grupo 1, mientras que en el grupo 2, se registró 2 episodios tromboticos y 2 fallecimientos sin observarse diferencia significativa ($p = 0,4$ y $p = 0,28$, respectivamente). Nuestro ítem global mostro 1 evento total en el grupo 1 vs. 6 eventos en el grupo 2, sin observarse diferencia estadística ($p = 0,4$).

Conclusión: Nuestro estudio observa que un 26% de los pacientes de nuestra muestra tiene una mala prescripción de dosis según ficha técnica y/o de fármacos con probable interacción, sin asociarse una mayor proporción de eventos tromboticos, hemorrágicos o mortalidad. En cualquier caso, consideramos necesario un seguimiento a más largo plazo y con un mayor tamaño muestral para poder confirmar si la infradosificación se asocia a mayor riesgo de evento tromboticos o si la supradosisificación o uso de antiinflamatorios a eventos hemorrágicos mayores.

Tabla 1. Tabla de resultados

Prescripción \ fármacos	Sin interacción	Antiinflamatorios	Dronedrona
Adecuada	37	2	1
Infradosificado	1	1	0
Supradosificado	7	0	1

PB-165 Perfil de seguridad de los nuevos anticoagulantes orales (NACOS) en la práctica clínica habitual

Valero Núñez M. (1), Belenguer Varea Á. (2), Lluch García R. (2), Fabregat Bolufer A. B. (2), Bru Orobal N. (2), Llopis Calatayud I. (2), Vicente Sánchez A. I. (2), Arnao Herraiz M. (3)

(1) Hospital Arnau de Vilanova. Valencia. (2) Hospital de La Ribera. Alzira, Valencia. (3) Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia

Introducción: Los NACOS, inhibidores directos de la trombina o del factor Xa son cada vez más utilizados en pacientes con fibrilación auricular no valvular (FANV). Los ensayos mostraron no inferioridad o superioridad en la prevención de ictus y embolia sistémica y en la incidencia de hemorragias mayores de estos NACOS en comparación con warfarina. Varios estudios poscomercialización confirman estos resultados de seguridad de los NACOS en pacientes con FANV en la práctica clínica habitual.

Métodos: Se trata de un estudio observacional retrospectivo. Se entrevistó a todos los pacientes tratados con NACOS en el área de salud durante un año. Las características recogidas de los pacientes fueron la edad, la función renal, factores de riesgo cardiovascular, antiagregación, CHADS2VASC, HASBLED y tipo y dosis de NACCO. Se recogieron todos los eventos tromboticos y hemorrágicos ocurridos durante el tratamiento.

Resultados: Se entrevistaron 531 pacientes. 242 hombres, 289 mujeres. 225 anticoagulados con dabigatrán, 193 con rivaroxaban, 113 con apixaban. 219 a dosis habitual, 312 a dosis ajustadas, según las guías clínicas establecidas. Se recogieron 119 hemorragias, todas tuvieron lugar durante el año de recogida de datos. De las variables analizadas no mostraron aumentar el riesgo de sangrado: el tipo de NACO, la dosis empleada, el filtrado glomerular, la edad, la HTA, la DM, la dislipemia, el CHADS2VASC ni la administración concomitante de antiagregantes (51 pacientes). Sí mostró aumentar el riesgo de manera significativa el presentar HAS-BLED de alto riesgo (19,4% de hemorragias en pacientes con HAS-BLED de bajo riesgo frente a 31,6% en pacientes de alto riesgo).

Conclusiones:

1. Los NACOS son fármacos ampliamente utilizados, y con una tendencia a incrementar su utilización. Por este motivo, debemos familiarizarnos con su mecanismo de acción, dosificación y complicaciones.
2. En el área de salud objeto del estudio la indicación de NACOS se realiza con mayor frecuencia por el servicio de cardiología, seguido por orden de frecuencia por los servicios de atención primaria, medicina interna, hematología, neurología, geriatría y urgencias.
3. La serie de pacientes recogida muestra que se trata de fármacos seguros, con una baja incidencia de eventos hemorrágicos, muy baja de eventos hemorrágicos mayores.
4. En el análisis inicial, no modifican significativamente el riesgo de sangrado ni la asociación de tratamiento antiagregante, ni los factores de riesgo cardiovascular ni el tipo de NACO o su dosificación. La disminución del filtrado glomerular con una correcta selección del fármaco y su dosificación, tampoco.
5. El HAS-BLED, escala de riesgo hemorrágico ideada para estimar el riesgo en pacientes en tratamiento con fármacos antivitaminas K, podría ser una herramienta útil para predecir el riesgo hemorrágico también en este grupo de fármacos.
6. En cualquier caso, se debe continuar la recogida, estudio y análisis de datos relacionados con los NACOS empleados para la prevención del ictus y embolia sistémica en FANV, ya que se trata de un grupo de fármacos que se ha convertido en un arma fundamental en el tratamiento de estos pacientes.

PB-166 Síndrome de Wunderlich en paciente en tratamiento antitrombótico con heparinas de bajo peso molecular

Bernardo Gutiérrez Á., Ávila Idrovo L. F., Fonseca Mourelle A., Arias Fernández T., Soto Ortega I.

Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo, Asturias

Introducción: La hemorragia renal o perirrenal espontánea, o síndrome de Wunderlich es una entidad rara que podría suponer un riesgo vital, muchas veces sin causa aparente, favorecidas por la anticoagulación. De manera global podemos clasificar como posibles etiologías de la hemorragia retroperitoneal espontánea (HRE) las de origen sistémico y las de origen local, dentro de este primer grupo están las asociadas con vasculitis y las asociadas a trastornos de la coagulación como terapia antiagregante, anticoagulante, discrasias sanguíneas (Leucemia, policitemia, hemofilia, púrpura trombocitopénica) y hemodiálisis.

Caso clínico: Varón de 80 años que como antecedentes presenta HTA, cáncer de próstata desde el 2005 en tratamiento hormonal y con metástasis óseas, insuficiencia renal crónica, y que hace aproximadamente 1 mes le diagnostica de TEPA bilateral masivo y TVP de MID de origen paraneoplásico, por lo que se inicia tratamiento antitrombótico con tinzaparina (14.000 UI/24 h). Un mes más tarde acude al Servicio de Urgencias con mal estado general taquicardia hipotensión y dolor en fosa renal izquierda tipo continuo de gran intensidad. En analítica con una hemoglobina de 7,6 g/dl, estudio básico de coagulación normal. Creatinina: de 3.94 y un FGE 14 ml/min. Se le solicita ecografía en la que se detecta un nódulo heterogéneo en el polo inferior del riñón izquierdo. Dada la mala situación del paciente se le realiza angioTAC en que diagnostica gran hematoma retroperitoneal con signos de sangrado activo en el riñón izquierdo y un segundo hematoma en el espacio pararenal posterior izquierdo. No se evidenció causa local que justificase el sangrado ya sea angioliomas, carcinoma, etc. (Figuras 1-3).

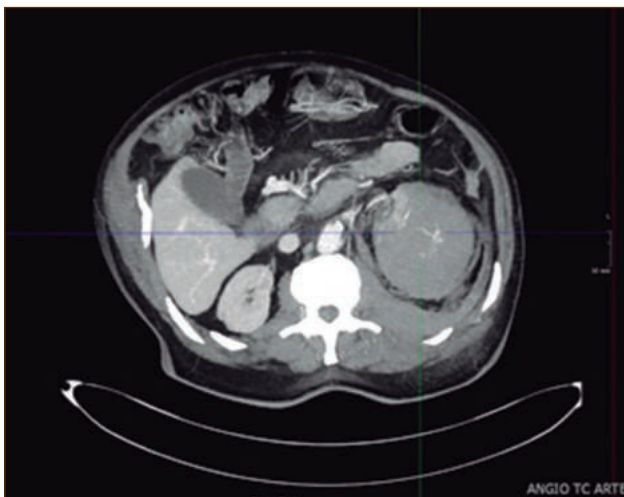


Figura 1. Imagen TAC con contraste sagital.

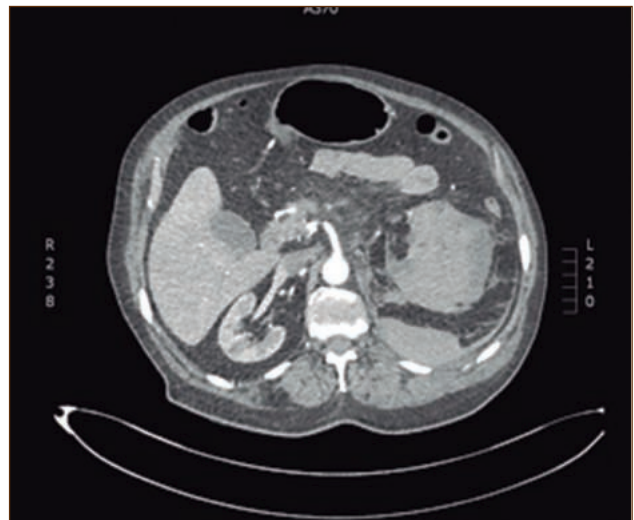


Figura 2. Imagen de TAC transversal¹.



Figura 3. Imagen de TAC transversal².

Tras reversión con sulfato de protamina y embolización completa del riñón izquierdo el paciente evolucionó satisfactoriamente, se reinició tratamiento antitrombótico a 48 horas tras el episodio de sangrado sin nuevas complicaciones.

Discusión: En la mayoría de los casos, los hematomas renales obedecen a causas traumáticas y rara vez, las no traumáticas son responsables del sangrado. El cuadro clínico descrito como síndrome de Wunderlich se presenta como consecuencia de la formación de una

colección hemática en la fosa renal provocada por una causa no traumática. Son causas de este síndrome, las lesiones orgánicas renales malignas como el adenocarcinoma, tumor de Wilms, benignas, como angiomiolipoma, y otras causas infrecuentes como el uso de anticoagulantes y antiagregantes plaquetarios pueden tener importancia en su formación y, en algunos casos, no se encuentra ninguna causa. Las causas de sangrado perirrenal espontáneo son muy variadas y la diátesis hemorrágica solo se puede aceptar cuando las demás causas se han descartado adecuadamente como en nuestro caso; en el que, tras excluir otras posibles causas se comprobó una sobre dosificación de heparinas debida a una insuficiencia renal. Se propone como manejo terapéutico Corrección del *shock*, de la coagulopatía, y embolización selectiva, para las lesiones de origen vascular.

Conclusiones: La rápida identificación y el tratamiento precoz son los pilares fundamentales para que los pacientes anticoagulados que presentan el síndrome de Wunderlich, no sufran complicaciones mortales o se precise de una nefrectomía con la consiguiente morbimortalidad asociada. Se debe tener en cuenta esta compilación hemorrágica grave en todos nuestros pacientes bajo tratamiento antitrombótico.

Bibliografía recomendada

1. Estrada Villarraga JC, Duarte Niño CA. Síndrome de Wunderlich una causa de abdomen agudo. *Revista de Urología* 2010:3-4.
2. Randhawa N, MS IV, Kaleel M, Jacob J. Wunderlich Syndrome: A Case Report and Literature Review. University of Sint Eustatius School of Medicine; 2014. p. 3.
3. Rey Rey J, López García S, Domínguez Freire F, Alonso Rodrigo A, Rodríguez Iglesias B, Ojea Calvo A. Síndrome de Wunderlich: importancia del diagnóstico por imagen. *Actas de Urología* 2008:918.
4. Sierra-Díaz E, Belmonte-Hernández MV, Villanueva-Pérez MA, García-Gutiérrez M. Non-traumatic spontaneous retroperitoneal bleeding: the effect of an early and accurate diagnosis. 2015:206-10.
5. Manresa Ramón N, Nájera Pérez MD, Page del Pozo MA. Establecimiento de un protocolo para el uso de la heparina en pacientes con características especiales. *Farmacia Hospitalaria* 2014:135-44.

PB-167 Administración de heparina de bajo peso molecular en embarazadas con riesgo trombótico. Estudio de casos en el Hospital Son Llátzer

Serra Toral F, Domínguez Esteve J, González Bachs E, Borrás Vives J. B., Cladera Serra A., del Campo García R., Guerra Hernando J. M., Gómez Pérez D., Mascaró Riera M., Bargay Leonart J.

Hospital Son Llátzer. Palma de Mallorca

Objetivo: El objetivo de este trabajo ha sido realizar un análisis descriptivo de las pacientes embarazadas que se han administrado heparina de bajo peso molecular (HBPM) por antecedente o riesgo trombótico.

Métodos: Revisión retrospectiva de las historias clínicas de dichas pacientes, se han analizado descriptivamente los datos mediante SPSS.

Resultados: Se ha realizado un seguimiento de mujeres embarazadas en tratamiento con HBPM en nuestro hospital, de las cuales hemos estudiado los 34 casos con antecedente de trombofilia familiar, antecedente personal de trombosis previa o trombosis actual. Nuestro tiempo de observación prospectivo fue desde marzo de 2007 hasta mayo de 2015. La mediana de edad fue de 37,79 años (21,3-42,5). Hubo 7 casos que precisaron anticoagulación completa por trombosis en el embarazo (sin tratamiento previo con HBPM). Del resto de casos (27), 19 recibieron HBPM durante todo el embarazo por antecedente trombótico o trombofilia de alto riesgo. Ocho embarazos recibieron HBPM de manera profiláctica únicamente durante el tercer trimestre, por ser de riesgo trombótico bajo o intermedio. De los casos con trombosis, dos fueron trombosis venosa profunda (TVP), uno un tromboembolismo pulmonar (TEP), tres trombosis venosa superficial (TVS) y uno una trombosis arterial (TA) (Tabla 1). Aunque las guías actuales no indican la necesidad de administrar HBPM en el 3er trimestre en las pacientes de riesgo intermedio o bajo, en nuestra serie, todos los casos recibieron HBPM en dicho trimestre. Se estudiaron las siguientes complicaciones: Trombosis, trombopenia inducida por heparina, plaquetopenia, alteración hepática, abortos, administración de epidural, hemorragias. Ninguna de nuestras pacientes tuvo complicación o progresión trombótica ni ninguna tuvo complicación hemorrágica, no hubo ningún caso en el que no se pudiera administrar anestesia epidural debido a la administración previa de heparina.

Tabla 1. Casos con trombosis

	Tipos de trombosis	Semana gestacion	Trombofilia
Caso 1	TPV	19	Mutación FXII
Caso 2	TPV	25	Déficit proteína S
Caso 3	TEP	9	Mutación FII
Caso 4	TVS	36	No trombofilia
Caso 5	TVS	33	Síndrome varicoso
Caso 6	TVS	41	Síndrome varicoso
Caso 7	TA	22	Factor V Leiden

Conclusiones: Las guías actuales muestran baja evidencia de necesidad de profilaxis anteparto. Nosotros hemos optado por realizar profilaxis en 3er trimestre con una eficacia del 100% y 0% de complicaciones.

PB-168 Anticoagulantes orales directos en síndrome antifosfolípido: una serie de casos

Bermejo Vega N., Ibáñez Espacio F., Carnicero F., Sigüenza Salgado R., Casas Avilés I., Pérez Leal F. A., Suárez-Varela S., Cáceres S., Bañas H., Cardesa Rocío, Bergua Burgués J. M.

Hospital San Pedro de Alcántara. Cáceres

Introducción: El síndrome antifosfolípido (SAF) es una enfermedad protrombótica caracterizada por trombosis y/o complicaciones obstétricas en presencia de anticuerpos antifosfolípidos. El manejo de la trombosis se basa en la anticoagulación oral a largo plazo con antagonistas de la vitamina K (AVK). Entre los posibles tratamientos futuros del SAF se incluyen los Anticoagulantes Orales Directos (ACOD).

Objetivo: Describir una serie de casos de pacientes con SAF tratados con ACOD.

Pacientes y métodos: Revisión clínica de tres pacientes con trombosis venosa y/o arterial en el contexto de SAF, anticoagulados con ACOD entre mayo de 2014 y mayo de 2016.

Resultados: Los tres pacientes presentaban SAF primario con trombosis venosa y/o arterial. Todos recibieron anticoagulación oral inicialmente con AVK durante una media de 44 + 29.01 meses (rango 66-3 meses). Los motivos para cambiar el anticoagulante oral fueron, respectivamente, Intolerancia a la Lactosa, Recurrencia Trombótica bajo AVK y Resistencia a AVK. Dos pacientes recibieron Dabigatran 110 mg y un paciente Apixaban 5 mg, en función del Filtrado glomerular. La media del periodo de seguimiento con ACOD ha sido 15.66 + 6.23 meses (rango 24-9 meses). Hasta el momento no se han observado recurrencias trombóticas ni efectos adversos relevantes (Tabla 1).

Conclusiones: El cambio de AVK por ACOD en pacientes con SAF con dificultad para obtener una correcta anticoagulación con AVK parece ser clínicamente razonable y, en nuestra experiencia, muy positivo, pero hasta que los resultados de ensayos prospectivos aleatorizados estén disponibles, los ACOD deben utilizarse con precaución en este grupo de pacientes.

PB-169 Eficacia y seguridad del uso de heparina de bajo peso molecular en embarazadas con antecedentes de abortos: estudio de casos en el Hospital Son Llàtzer

Domínguez J., Serra F., Gonzáles E., Borrás J., Cladera A., del Campo R., Gómez D., Guerra J. M., Mascaró M., Bargay J.

Hospital Son Llàtzer. Palma de Mallorca

Introducción y objetivo: Actualmente se aconseja profilaxis de heparinas de bajo peso molecular (HBPM) en el embarazo en mujeres con antecedentes de abortos previos. Esto se debe a la presencia de estudios in vitro que demuestran el beneficio de la HBPM en el embarazo y estudios in vivo en los que se observa un incremento de la probabilidad de llevar a término el embarazo. Actualmente no existen estudios con evidencia que justifiquen el uso de HBPM para evitar que se produzcan abortos. Por este motivo se procede a revisar las mujeres que han recibido HBPM durante el embarazo por antecedente de abortos, con el objetivo de determinar la eficacia y seguridad del uso de la HBPM.

Métodos: Estudio retrospectivo descriptivo de mujeres con antecedentes de abortos que recibieron HBPM durante el embarazo, del año 2009 al 2015, del Hospital Son Llàtzer. Se realiza subestudio de las mujeres sin antecedentes de embarazo a término. Análisis estadístico descriptivo realizado con IBM-SPSS®.

Pacientes	Sexo	Fecha de nacimiento	Trombofilia hereditaria	Filtrado glomerular	Hª trombótica	Inicio/fin tratamiento VKA Total	ACOD	Inicio/fin seguimiento ACOD Total	Motivos del cambio	Recurrencia trombótica con ACOD	Efectos secundarios ACOD
Paciente 1	F	11/06/1969	No	> 60 ml/mn	TVP ESI	01/2009 05/2014 63 meses	Dabigatran 110 mg	05/2014 05/2016 24 meses	Intolerancia a la lactosa	No	No
Paciente 2	M	04/03/1987	Deficiencia parcial de proteína S	40 ml/mn	TVP renal y EEII Isquemia Arterial aguda de la grasa sc	03/2009 12/2014 66 meses	Apixaban 5 mg	02/2015 05/2016 14 meses	Recurrencia Trombótica bajo AVK o HBPM +/- AAS 100 mg	No	No
Paciente 3	M	16/07/1974	No	> 60 ml/mn	ACVA	05/2015 08/2015 3 meses	Dabigatran 110 mg	08/2015 05/2016 9 meses	Resistencia a AVK	No	Dispepsia leve al inicio

F (femenino), M (masculino), TVP (trombosis venosa profunda), ESI (extremidad superior izquierda), EEII (extremidades inferiores), sc (subcutánea), ACVA (accidente cerebrovascular agudo), VKA (antagonistas de la vitamina K), ACOD (anticoagulantes orales de acción directa), HBPM (heparina de bajo peso molecular), AAS (ácido acetilsalicílico).

Resultados: Se estudiaron 45 mujeres con una mediana de edad de 34,9 años, de estas el 93,3% (42) consiguieron un embarazo a término con HBPM. No hubo ninguna complicación asociada a la HBPM. El 87,2% (34/39) recibieron anestesia epidural, desconociéndose el motivo por el que el resto no. Como el 40% (18/45) de las mujeres tenían antecedentes de embarazo a término se ha estudiado el conjunto de mujeres que no habían presentado embarazo a término previo (27). Las características de estas se exponen en la **tabla 1**:

Tabla 1		
Mediana de edad		34,2 años
Trombosis previa		11,1% (3/27)
No trombofilia conocida		25,9% (7/27)
Trombofilia conocida		74,1% (20/27)
Riesgo trombofilia:	Alto	30% (6/20)
	Intermedio	50% (10/20)
	Bajo	20% (4/20)
Mediana de abortos previos		3 (1-7)
Mediana de semanas de gestación en aborto		9 (3-39)
Tratamiento en aborto previo	HBPM	18,5% (5/27)
	AAS	3,7% (1/27)

La mayoría de las mujeres iniciaron tinzaparina (24/27, 88,9%), a dosis profilácticas (26/27, 96,30%) y en el primer trimestre (21/27, 77,8%), consiguiendo un embarazo a término en el 92,6% (25/27). Las que abortaron (2/2) presentaban anticuerpos antifosfolípido y fueron tratadas con HBPM y ácido acetilsalicílico (AAS).

Conclusiones: Los datos de la serie demuestran la eficacia de HBPM para evitar que se produzcan abortos, 42 de 45 mujeres con antecedentes de abortos consiguieron un embarazo a término; de las 27 mujeres que no tenía antecedentes de embarazo a término 25 lo consiguieron. Destacar las mujeres que abortaron presentaban anticuerpos antifosfolípidos. Los datos corroboran el perfil de seguridad de la HBPM. No obstante hacen falta más estudios in vivo para demostrar de forma significativa la eficacia de la HBPM.

Trombosis

PB-170 Riesgo de trombosis y hemorragia en pacientes con policitemia vera y fibrilación auricular que reciben profilaxis con anticoagulación oral

De Freitas A.

Servicio de Hematología. Hospital del Mar-IMIM. Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona

Introducción: La policitemia vera (PV) es una neoplasia mieloproliferativa crónica que se caracteriza por un incremento de la masa eritrocitaria lo cual conlleva un riesgo aumentado de trombosis y hemorragia. Se desconoce si los pacientes que padecen simultáneamente PV y fibrilación auricular (FA) tienen el mismo riesgo de trombosis y hemorragia que aquellos que solo sufren FA.

Pacientes y métodos: Se incluyeron un total de 186 pacientes tratados con anticoagulación oral, de los cuáles 62 padecían simultáneamente PV y FA (grupo casos) y 124 solo sufren FA (grupo control). La supervivencia libre de trombosis (SLT) y hemorragia (SLH) se calculó mediante el método de Kaplan Meier usando el test de log Rank para las comparaciones. Para el análisis multivariante se empleó la regresión de Cox.

Resultados: La mediana de edad al inicio del tratamiento con anticoagulación oral fue de 77 años en los casos (extremos: 55-96) y de 73 años en el grupo control (extremos: 51-91) sin diferencias significativas entre los grupos ($p = 0,071$). El 100% de los pacientes de los casos recibió tratamiento anticoagulante con acenocumarol respecto a un 90,3% de los controles, el 9,7% restante del grupo control recibió tratamiento con warfarina. La mediana de seguimiento de los pacientes en tratamiento anticoagulante fue de 2,9 años en los casos y 3,7 años en el grupo control. Durante el período de anticoagulación se registraron 21 trombosis y 17 hemorragias graves. La probabilidad de trombosis a los 5 años fue del 6,3% en los pacientes con PV y del 10% en los controles ($p = 0,668$). Los pacientes de sexo masculino tendieron a presentar una mayor probabilidad de trombosis que los del sexo femenino (probabilidad a los 5 años del 11,3% frente al 6,3%, $p = 0,069$). En cuanto al riesgo de hemorragia grave, se observó una probabilidad a los 5 años del 11,7% en los pacientes con PV frente al 8,1% en el grupo control ($p = 0,198$). Los pacientes del sexo masculino presentaron una probabilidad de hemorragia a los 5 años del 13,3% significativamente superior al 3,7% en el sexo femenino ($p = 0,048$). La presencia de tratamiento antiagregante concomitante no se asoció a mayor riesgo de hemorragia ($p = 0,390$).

Conclusiones: Los pacientes en tratamiento anticoagulante oral que padecen simultáneamente PV y FA tienen un riesgo de trombosis y hemorragia similar a la población general que sufre FA.

PB-171 Niveles elevados de VAMP 8 y del transportador de la serotonina sugieren una tendencia a la trombosis en población española. Resultados preliminares del proyecto RETROVE

Llobet Lorente D., Vallvé Fornieles C., Tirado García I., Vilalta Setó N., Murillo Escoda J., Millón Caño J., Mateo Arranz J., Fontcuberta Boj J., Souto Andrés J. C.

Unitat d'Hemostàsia i Trombosi. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona

Introducción: La agregabilidad a dosis bajas de Epinefrina y/o de ADP en la población normal se produce de forma bimodal dando lugar a individuos con hiperreactividad plaquetar (agregación > 60%) y individuos con hiporreactividad plaquetar (agregación < 40%). Dicha hiperreactividad plaquetar ha sido asociada a trom-

bosis y está relacionada con los niveles de Serotonina y de su transportador (SERT), se ha relacionado también con niveles elevados de VAMP8 (*human vesicle-associated membrane protein 8*).

Objetivo: Valorar el papel de la serotonina, de SERT y de VAMP8 con la trombosis venosa.

Materiales y métodos: Se obtuvo plasma rico en plaquetas (PRP) para el estudio de SERT, SEROTONINA y VAMP8 de 357 individuos, de los cuales 195 eran controles (108 mujeres y 87 varones) y 162 pacientes con trombosis venosa (82 mujeres y 80 hombres). *VAMP 8:* Se realizó con el kit *Human Vesicle-associated membrane protein 8 (VAMP8) ELISA kit* de CUSABIO. Las plaquetas se aislaron previamente: se lavó el PRP con solución salina y posteriormente se centrifugó a 4500 x g durante 10 minutos. El pellet plaquetar se congeló a -40 °C. Antes de la determinación, el pellet plaquetar se resuspendió con Triton X-100 y se enfrió con hielo durante 1 hora. *SERT:* se realizó con el kit *Enzyme-linked Immunosorbent assay kit para Serotonin Transporter (SERT)* de Uscn. Las plaquetas se aislaron como previamente se ha descrito. *Serotonina:* se realizó con el kit *Serotonin ELISA kit* de IBL international. Las plaquetas se aislaron como se ha descrito previamente pero el pellet plaquetar se resuspendió con agua destilada. *Análisis estadístico:* se realizó el test de Mann-Whitney para comparar el grupo control del grupo paciente. Valores de $p < 0,05$ se consideraron estadísticamente significativos. Se calcularon los intercuartiles (percentil 25 y 75) para cada parámetro y la mediana.

Resultados: Se obtuvieron, de manera estadísticamente significativa, valores más altos en los pacientes que en los controles en el caso de VAMP8 y de SERT. Por el contrario los valores de Serotonina fueron inferiores en los pacientes con respecto a los controles:

- VAMP8 (pg/10⁹ PLT): Mediana: paciente 1502 vs. control 1138; percentil 25: paciente 923 vs. 536 control; percentil 75: paciente 2373 vs. 1930 control ($p = 0,001$).
- SERT (pg/10⁹ PLT): mediana: paciente 650 vs. control 541; percentil 25: paciente 459 vs. 364 control; percentil 75: paciente 989 vs. 776 control ($p = 0,001$).
- Serotonina (ng/10⁹ PLT): mediana: paciente 144 vs. control 171; percentil 25: paciente 69 vs. 110 control; percentil 75: paciente 211 vs. 257 control ($p = 0,002$).

Conclusión: Niveles elevados de VAMP 8 y de SERT podrían estar asociados a trombosis en población española. SERT es una proteína que se encuentra en la membrana plaquetar y que regula los niveles de serotonina permitiendo su reciclaje, niveles elevados de SERT podrían explicar los niveles disminuidos de la Serotonina plaquetar obtenidos en dicho estudio. Posteriores estudios serían necesarios para confirmar estos resultados.

RD12/0042/0032, FIS PI12/00612 y FIS PI 15/0269.

PB-172 Hipoplasminogenemia: a propósito de un caso de conjuntivitis leñosa

Kestler González Kr. (1), García Díez M. (1), Gessa Sorroche M. (2), Domínguez Velasco N. (1), Herruzo Delgado B. (1), Rodríguez Fernández A. (1)

(1) Unidad de Gestión Clínica de Hematología. (2) Unidad de Gestión Clínica de Oftalmología. Hospital Virgen Macarena. Sevilla

Introducción: La hipoplasminogenemia (HP) es una enfermedad sistémica caracterizada por alteración de la fibrinólisis que conduce a la formación de pseudomembranas (PM) ricas en fibrina en las mucosas asociadas a los procesos de cicatrización. La HP grave tiene una prevalencia aproximada de 1.6/1.000.000 y es causada por mutaciones en el gen del plasminógeno (PLG6q26), siendo la mayoría de casos esporádicos. Entre las manifestaciones clínicas se han descrito lesiones periodontales, duodenales, bronquiales, aparato reproductor femenino, piel y sistema nervioso central, pero la más común es la conjuntivitis leñosa (CL) o lignea.

Caso clínico: Mujer de 45 años en seguimiento por Oftalmología por exoftalmos tiroideos que requirió cirugía de ptosis de párpado superior. Al mes, la paciente presenta lagrimeo constante, visión borrosa y aparecen lesiones membranosas, blanquecinas y leñosas en conjuntiva tarsal superior. Se realiza una biopsia con diagnóstico compatible con CL. La paciente presenta evolución tórpida con mejoría transitoria tras diferentes tratamientos. Ante la sospecha de HP, se consulta con Hematología determinándose PLG que mostró una actividad funcional del 22% (VN:75-150). Con el diagnóstico de CL como manifestación clínica de HP, ha recibido varios tratamientos los últimos 2 años: a nivel tópico (heparina sódica, antibioterapia, suero autólogo, ciclosporina), sistémico (corticoides, azatioprina) y quirúrgico (exéresis frecuentes de PM). Actualmente sin mejoría local y con progresiva disminución de la agudeza visual. No ha presentado manifestaciones sistémicas y se encuentra en espera de confirmar la posibilidad de utilizar suero autólogo de donante compatible para aplicación tópica de PLG.

Discusión: Presentamos el caso clínico de una paciente con HP puesta en evidencia tras desarrollar una CL desencadenada por una cirugía ocular. La CL es una forma rara de conjuntivitis crónica, caracterizada por la formación de PM recurrentes en la superficie palpebral que en condiciones normales son degradadas por fibrinólisis mediada por PLG. La CL se describe como una manifestación clínica de HP grave, con una prevalencia entre 0,13 y 0,42% en individuos sanos con HP heterocigota. En los casos leves con afectación exclusiva conjuntival el pronóstico visual es moderado, pero el pronóstico de los casos con afectación multiorgánica es grave, y no existe un tratamiento establecido. Actualmente, los tratamientos para la HP se dirigen al manejo de la CL. En 2008 se autorizó en la Unión Europea el uso de PLG humano como medicamento huérfano para su tratamiento. Con futuro esperanzador existen ensayos con PLG recombinante.

PB-173 La hiperagregabilidad a dosis bajas de ADP y de epinefrina en pacientes con trombosis venosa. Resultados preliminares del proyecto RETROVE

Llobet Lorente D., Vallvé Fornieles C., Tirado García I., Murillo Escoda J., Vilalta Setó N., Carrasco Expósito M., Mateo Arranz J., Fontcuberta Boj J., Souto Andrés J. C.

Unitat d'Hemostàsia i Trombosi. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona

Introducción: La agregabilidad a dosis bajas de epinefrina y/o de ADP en la población normal se produce de forma bimodal dando lugar a individuos con hiperreactividad plaquetar (agregación máxima > 60%) y individuos con hiporeactividad plaquetar (agregación máxima < 40%). Dicha hiperreactividad plaquetar ha sido asociada a trombosis.

Objetivo: Valorar si la hiperagregabilidad a dosis bajas de inductor se asocia a trombosis venosa en población española.

Material y métodos: Se estudiaron 397 controles sanos, distribuidos según la pirámide poblacional española de mayores de 18 años, con una media de edad de 49 ± 18 años (190 hombres y 207 mujeres) y 397 pacientes con trombosis, mayores de 18 años y sin límite superior de edad, con una media de edad de 64 ± 18 años (193 hombres y 204 mujeres) reclutados en el proyecto RETROVE (Riesgo de Enfermedad Tromboembólica Venosa). Ninguno de ellos había recibido aspirina ni AINES en los 10 días anteriores a la extracción sanguínea. *Agregaciones en plasma rico en plaquetas:* se realizaron con una concentración de 250×10^9 plaquetas con los inductores ADPy epinefrina a $0,5 \mu\text{M}$ pues es la concentración de inductor que separa claramente las dos poblaciones (hiper e hiporeactivas). Se valoró el % de agregación máxima y el % de área bajo la curva de agregación para cada inductor. *Análisis estadístico:* se realizó el test de Chi cuadrado para comparar las frecuencias. Valores de $p < 0,05$ se consideraron estadísticamente significativos. Se analiza la variable de percentil 50 del porcentaje de área bajo la curva de agregación.

Resultados: La agregabilidad a $0,5 \mu\text{M}$ de EPI (área bajo la curva) mostró diferencias significativas en el percentil 50 (> 22,83%) observándose un porcentaje superior en los pacientes que en los controles (57,9% vs. 50,0%; diferencia 7,9%; IC95%:1,03-1,83) ($p = 0,03$). Dicho percentil de área bajo la curva corresponde al punto de corte de la hiperagregabilidad plaquetar (% de agregación máxima > 60%). La agregabilidad a $0,5 \mu\text{M}$ de ADP (área bajo la curva) mostró también diferencias significativas en el percentil 50 (> 13,13%) observándose un porcentaje superior en los pacientes que en los controles (62,9% vs. 50,0%; diferencia 12,9%; IC95%:1,27-2,27) ($p = 0,0001$).

Conclusiones: Estos resultados sugieren que el comportamiento de la agregabilidad a dosis bajas de Epinefrina y ADP es diferente significativamente en la población control analizada respecto a la población con trombosis venosa en nuestro medio.

RD12/0042/0032, FIS PI12/00612 y FIS PI 15/0269.

PB-174 Tromboembolismo venoso en el paciente oncológico ambulatorio en un hospital oncológico

Carvalho C., Rosales M., Milheiro M. J., Lopes dos Santos L.

Serviço de Imuno-Hemoterapia. Instituto Português de Oncologia do Porto FG. EPE. Porto, Portugal

Introducción: El tromboembolismo venoso (TEV) es una complicación importante en el paciente oncológico. Varios factores de riesgo contribuyen en su aparición y están relacionados con características del paciente, con la patología oncológica y su trata-

miento. El TEV en el paciente oncológico por sí solo es un factor de mal pronóstico y surge como una de las principales causas de muerte en esta población.

Objetivo: El objetivo del presente trabajo fue caracterizar los episodios de TEV de nuestro hospital en pacientes en régimen ambulatorio entre 2013 y 2015 y conocer el impacto de los factores de riesgo asociados.

Métodos: Se realizó un análisis retrospectivo de los episodios de TEV mediante la consulta de los procesos clínicos informáticos. Se analizaron varios parámetros:

- Los factores de riesgo: edad, antecedentes de TEV, localización tumoral, estadio de la enfermedad, tiempo desde el diagnóstico, terapéutica con quimioterapia (QT), hormonoterapia (HT) y antiangiogénicos (AA) en el mes anterior, cirugía (Cx) en los 3 meses previos y la presencia de catéter venoso central (CVC).
- El tipo de diagnóstico de TEV (clínico/incidental) (en todos los casos el diagnóstico fue confirmado por pruebas complementarias de imagen), su localización (tromboembolia pulmonar (TEP), trombosis venosa profunda (TVP) del miembro inferior o en localizaciones no usuales y TVP asociada a CVC) y la evolución.

Resultados: Durante este período se diagnosticaron 733 episodios de TEV, de los cuales 610 fueron en pacientes ambulatorios (83%).

1. En relación a los factores de riesgo individual: la mediana de edad fue 63 años (rango 4-88); existían antecedentes de TEV en 8%; la patología oncológica más frecuente fue el tumor digestivo (37,5%), carcinoma de mama (17,5%), pulmón (13,8%), ginecológico (9,5%), hematológico (7,8%), urológico (4,8%), otros (9%); cerca de 79% de los pacientes se encontraban en estadio avanzado (III o IV); la mediana de tiempo entre el diagnóstico de la patología oncológica y el de TEV fue de 1 año (mínimo 0 días - máximo de 22 años); 58% de los pacientes habían realizado QT en el último mes, 6% HT y 2% AA; 18% habían sido sometidos a Cx en los 3 meses previos; 45% eran portadores de CVC.
2. Cerca de 56% de los pacientes presentaron clínica, con diagnóstico confirmado por TC/angio-TC en 57%, eco-doppler en 38% y otras técnicas en los 5% restantes; la localización más frecuente fue TEP en 26,6%, seguida de TVP del miembro inferior en 25%, TVP asociada a CVC en 21%, TVP en localizaciones no usuales en 23,6% y 3,8% otros; en la fecha de análisis de los datos, 6 meses después de finalizar el año anterior, el resultado fue de supervivencia en el 48% de los pacientes diagnosticados en 2013, 37% en 2014 y 45% en 2015.

Conclusión: El perfil de nuestros pacientes con TEV, con múltiples factores de riesgo y en estadio avanzado de la enfermedad, es semejante al descrito en la literatura. Nuestro estudio apunta a que el TEV es una complicación de mal pronóstico que condiciona la morbimortalidad.

PB-175 Propuesta de protocolo de estudio de trombofilia: ¿qué?, ¿cuándo? y ¿a quién?

Fernández-Mosteirín N. (1), Calvo Villas J. M. (1), Gavín Sebastián O. (2), Cornudella Lacasa R. (2), Franco E. (3), González Gómez N. (4), Malo Yagüe M (5), Marco Amigot J. (6), Pérez Layo Á. (7), Sancho Val I. (8), Paul Vitaller P. (9), **Comisión de Coagulación. Sociedad Aragonesa de Hematología y Hemoterapia**

(1) Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza. (2) Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. Zaragoza. (3) Hospital Nuestra Señora de Gracia. Zaragoza. (4) Hospital Obispo Polanco. Teruel. (5) Hospital Ernest Lluch. Calatayud, Zaragoza. (6) Hospital San Jorge. Huesca. (7) Hospital Royo Villanova. Zaragoza. (8) Hospital de Alcañiz. Alcañiz, Teruel. (9) Hospital de Barbastro. Barbastro, Huesca

Introducción: El término trombofilia hace referencia a la existencia de un estado protrombótico de origen congénito o adquirido, que predispone al desarrollo principalmente de enfermedad tromboembólica venosa (ETE). Su origen multifactorial es el resultado de interacciones entre diferentes genes y con otros factores ambientales. Afecta entre 1-2 de cada 1000 personas en el mundo occidental con un riesgo de recurrencia en torno al 30%. La

utilidad clínica del estudio de trombofilia radica en la valoración de la duración indefinida del tratamiento anticoagulante en casos de alto riesgo de recurrencia y valoración de medidas de profilaxis específicas en el caso de portadores asintomáticos de trombofilia de alto riesgo.

Objetivos: Elaborar un protocolo consensuado dentro de nuestra comunidad autónoma de estudio de trombofilia que defina qué parámetros de laboratorio analizar, cuándo realizar el estudio y a qué tipo de pacientes y situaciones clínicas estudiar.

Material y métodos: Se ha llevado a cabo una revisión de las guías de práctica clínica, revisiones sistemáticas y documentos de consenso elaboradas en los últimos 10 años. Se han analizado aspectos relacionados con las determinaciones analíticas, momento de realización, población diana e indicaciones del estudio de trombofilia.

Resultados: Se han incluido parámetros de laboratorio implicados en el riesgo de ETE, tanto desde el punto de vista de trombofilia congénita como adquirida (Figura 1). En determinadas situaciones (trombosis abdominal y casos seleccionados de trombosis de otras localizaciones inusuales, ambos sin factor desencadenante conocido) y estudio negativo y/o datos sugestivos de neoplasia mieloproliferativa crónica, se valorará la realización del estudio de mutaciones de JAK2 y estudio inmunofenotípico diagnósti-

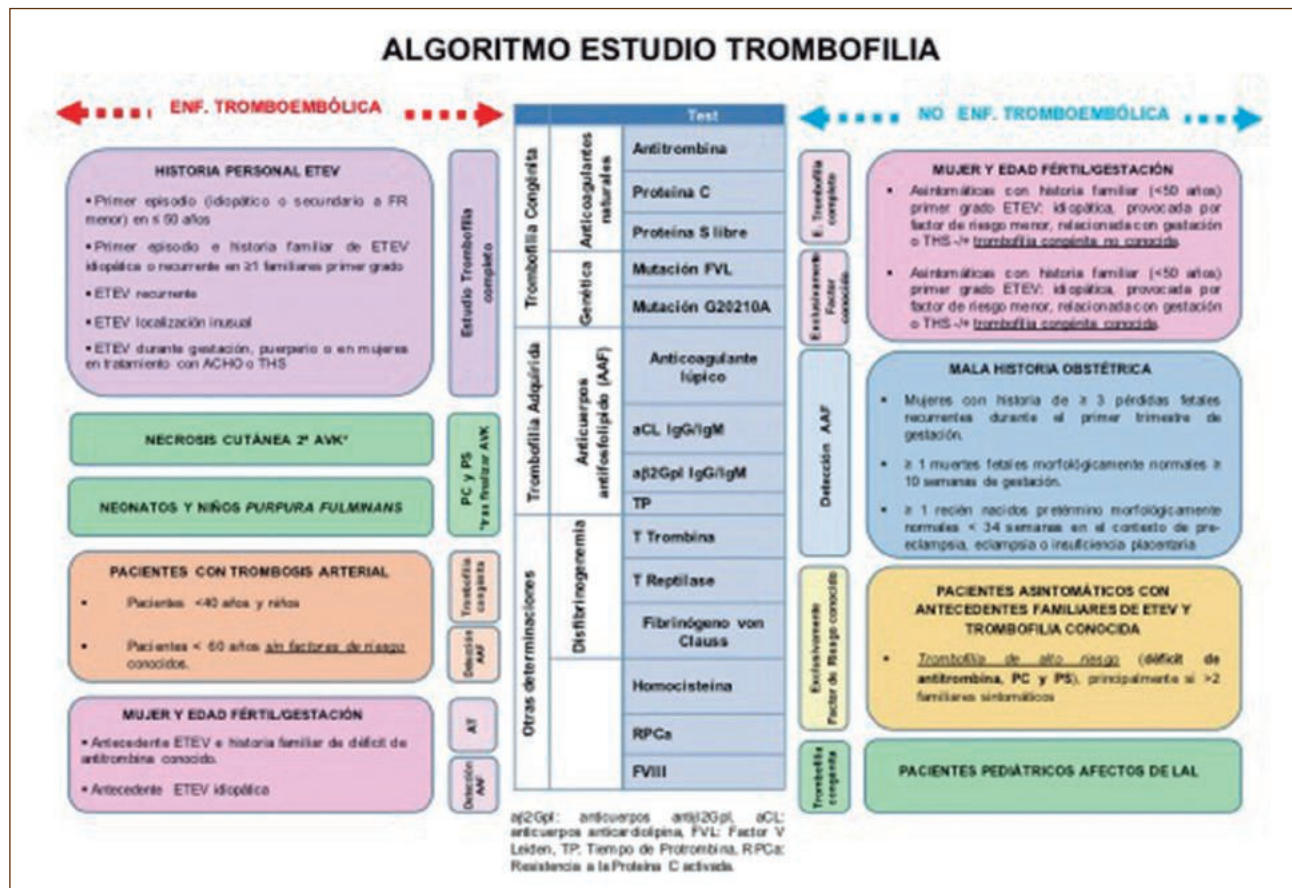


Figura 1.

co de hemoglobinuria paroxística nocturna. No se recomienda la determinación del polimorfismo C677T de la MTHFR, ni la determinación de anomalías del sistema fibrinolítico. En general el estudio no debe ser realizado durante la fase aguda de la trombosis, ni en mujeres en tratamiento anticonceptivo hormonal o durante la gestación, ni de manera habitual, durante el tratamiento anticoagulante oral y parenteral. Las situaciones generalmente aceptadas en las que se recomienda la realización del estudio se observan en la **Figura 1**. Además, en la actualidad existen herramientas diagnósticas que permitirían establecer una predicción del riesgo individualizado de ETEV en función del perfil genético resultante del estudio de más de diez variantes. Las situaciones en las estarían indicadas son: algunos pacientes con patrón de ETEV sugestivo de trombofilia congénita y estudio de trombofilia negativo y pacientes con historia familiar de ETEV (familiares primer grado < 50 años) y estudio de trombofilia negativo que se someten a situaciones de alto riesgo trombótico.

Conclusiones: La prevalencia de cualquiera de los factores de riesgo de ETEV no es suficiente para justificar el cribaje indiscriminado en la población general, por lo que el estudio de trombofilia debe ser realizado en pacientes seleccionados. Además este estudio conlleva un importante consumo de recursos económicos y de personal de laboratorio. Una importante limitación de estos estudios es que un resultado negativo no excluye la existencia de una predisposición genética, sobre todo en aquellos pacientes con historia familiar de ETEV.

PB-176 Síndrome de Paget-Schroetter: cuando el ejercicio intenso puede tener graves consecuencias

Acedo Domínguez N., Arriero García Á., Jiménez Barral E., Lorenzo Jambrina A., Pérez Calle G., Figuera Álvarez Á., Alegre Amor A.

Hospital Universitario La Princesa. Madrid

Introducción: El síndrome de Paget-Schroetter consiste en la trombosis venosa profunda (TVP) a nivel de la vena axilar y/o subclavia, normalmente tras la realización de ejercicio intenso, si bien puede suceder de manera espontánea. El término fue acuñado en la década de 1940 en honor a James Paget y Leopold von Schroetter. Se trata de una entidad rara, con una incidencia de 2 por 100.000 y supone el 10-20% de las TVP de miembro superior. Afecta principalmente a pacientes jóvenes (media de 32 años), es más frecuente en varones (2:1) y suele ocurrir en la extremidad dominante. En este trabajo se presenta un caso de esta entidad clínica infrecuente.

Métodos: Varón de 21 años sin antecedentes médico-quirúrgicos de interés, que acude a urgencias por dolor en miembro superior derecho (MSD) de un mes y medio de evolución, que relaciona con la realización de ejercicio intenso con ambos miembros superiores las dos semanas previas. Describe el dolor a nivel axilar, acompañado de edema y rubor en mano y antebrazo derechos durante el ejercicio, con mejoría en reposo. Niega traumatismos. A la exploración física se palpa vena basililar y cordón venoso en región interna de brazo. En la analítica no presenta alteraciones en

el hemograma ni en la bioquímica. En la coagulación el valor del D-Dímero es de 0,59 µg/ml (VN 0,15 - 0,5). Se realiza ecografía Doppler de MSD, donde se observa TVP en tercio proximal de vena basililar, de la vena axilar y de subclavia derechas. Se inicia anticoagulación con HBPM a dosis de 1 mg/kg/12 h y se remite a Unidad de Coagulación para estudio. Se solicita TAC cervico-tóraco-abdominal para descartar causa tumoral y RMN torácica para valorar posible lesión anatómica en la zona.

Resultados: El estudio de hipercoagulabilidad resultó sin alteraciones (a). En el control con ecografía Doppler a los tres meses persistía TVP axilar, pero no basililar subclavia. El TAC no objetivó masas ni adenopatías a ningún nivel. La RMN torácica descartó alteraciones en la morfología del patrón de señal de estructuras óseas que condicionasen una compresión vascular ni nerviosa. El control a los cinco meses con ecografía Doppler la trombosis se había resuelto definitivamente. El paciente recibió tratamiento anticoagulante con HBPM 1,5 mg/kg/24 h durante los tres primeros meses y posteriormente rivaroxabán 20 mg/24 h, habiendo cumplido hasta la fecha nueve meses de tratamiento sin nuevos datos de TVP y haciendo vida normal (**Tabla 1**).

Conclusiones: Este caso ilustra una entidad que probablemente esté infradiagnosticada y que debe sospecharse en pacientes con eventos de TVP a nivel de miembro superior sin aparentes factores de riesgo, pero que parecen cumplir un determinado perfil: varón, joven, que presenta una TVP de miembro superior tras la realización de ejercicio físico intenso. Además del estudio de hipercoagulabilidad, conviene realizar una RMN para descartar variantes anatómicas que puedan condicionar una compresión vascular a nivel de miembro superior (síndrome del opérculo

Tabla 1

Resultado	Valores de referencia
I.N.R. 1.07	0,90 - 1,30
Actividad de protrombina 89%	70 - 130
Tiempo de cefalina 34,4 segundos	25,0 - 38,0
Fibrinógeno 255 mg/dl	150 - 400
Homocisteína 8,69 umoles/l	≤ 11,1 umol/l
Antitrombina III 93%	
Fibrinógeno Clauss 229 mg/dl	150 - 400
Fac. V Leyden no detecta	
Protrombina 20210 no detecta	
Anticoagulante lúpico negativo	
Protrombina 20210 no detecta	
Proteína C cromogénica 97%	> 70%
Proteína S: Ag libre 100,4%	> 60%
Ac. anticardiolipinas negativo	
* ACA (IgG) 3 GPL	< 15 negativo
* ACA (IgM) 6 MLP	< 13 negativo
Ac. antibeta 2 negativo	
* Antic. antibeta 2 IgG 1 UI/ml	> 20 positivo
* Antic. anti antibeta 2 IgM 1 UI/ml	> 20 positivo

torácico). Se necesitan más trabajos para lograr definir las variables que puedan predecir con mayor exactitud el riesgo de padecer este síndrome.

Bibliografía recomendada

1. Venkata M. Alla, Nagendra Natarajan, Manu Kaushik, Rugmini Warriar, Chandra K. Nair. Paget-Schroetter Syndrome: Review of Pathogenesis and Treatment of Effort Thrombosis. *West J Emerg Med* 2010;11(4):358-62.
2. Nils Kucher, M.D. Deep-Vein Thrombosis of the Upper Extremities. *N Engl J Med* 2011;364:861-9. 10.1056/NEJMc1008740

PB-177 Valoración del uso del concentrado de complejo protrombínico (CCP) en un hospital comarcal

De Brabandere Cassandra C., Sánchez Argüello D., Sarasa Valdés M., Guerrero Fernández L., Antuña Santurio C., Fernández Canal C., Robles Marinas V., Fernández Álvarez C. R.

Hospital de Cabueñes. Gijón, Asturias

Introducción: El Prothromplex® (CCP) es un preparado comercial obtenido del plasma humano, contiene 600 U.I de Factor II, IX, y X y 500 U.I de factor VII, con al menos 400 UI de proteína C. Está indicado en: a) tratamiento y profilaxis perioperatoria de hemorragias en deficiencias congénitas y/o adquiridas de los factores de coagulación Vitamina-K dependientes (del complejo de protrombina); como en la deficiencia derivada del tratamiento con antagonistas de la vitamina-K; y b) en caso de requerir una reversión inmediata de la acción de los antagonistas de la vitamina-K por hemorragia grave o cirugía urgente. En 2011, el Comité de Transfusión de nuestro centro concluyó que el uso de CCP se adecuaba a estas indicaciones.

Objetivo: Nuestro objetivo es determinar si actualmente el uso del CCP sigue ajustándose a las indicaciones establecidas en la guía nacional de componentes sanguíneos y derivados plasmáticos.

Métodos/pacientes: Creamos una base de datos con listados de pacientes tratados con CCP durante el 2015, proporcionados por el Servicio de Farmacia. Las variables estudiadas fueron: edad, sexo, diagnóstico, servicio prescriptor, dosis, hepatopatía, anticoagulación oral, INR basal y postratamiento, administración de vitamina-K, transfusión de componentes y evolución.

Resultados: Se analizaron 87 pacientes cuyas características fueron:

- Edad: media 70, rango 31-93.
- Sexo: 59-varones (67,81%), 28-mujeres (32,18%).
- Diagnósticos principales: hemorragia activa/intención terapéutica: 37(42,52%), cirugía o pruebas invasivas urgente/intención profiláctica: 50 (57,47%).
- Dosis: media 1.46 viales, rango 0,5-5.
- Anticoagulación: sí 43 (49,42%).
- Hepatopatía crónica: sí 20 (22,98%).
- INR basal: media 3,23 rango (1,11-13,98), INR postratamiento: media 1,51, rango (1,11-3,66) (Figura 1).

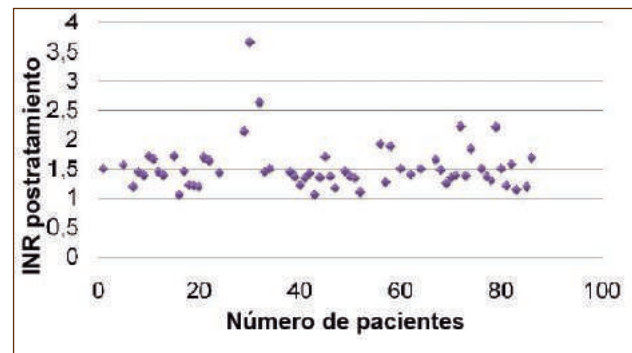


Figura 1.

- Servicios prescriptores: Med. Interna-24 (27,58%), Cirugía General-21 (24,13%), Hematología-10 (11,94%), Neurología-9 (10,34%), UVI-6 (6,89%), Nefrología-4 (4,59%), Anestesia-4 (4,59%), Traumatología-3 (3,44%), Digestivo-3 (3,44%), Urología-3 (3,44%).
- Vitamina K: 80 (91,95%).
- Evolución: exitus 22 (25,28%), Favorable 65 (74,71%).

Conclusiones: Hubo una adecuada recogida de datos gracias a la implementación sistema informático a finales de 2014. La mayoría de los pacientes recibían antivitaminas-K y acudieron a urgencias por sangrado activo o patologías que requerían tratamiento quirúrgico urgente. Casi todos recibieron vitamina-K simultáneamente. El 70,49% de los pacientes alcanzaron niveles hemostáticos con INR = 1.5 tras dosis medias de 900UI, evolucionando favorablemente. Actualmente el CCP en su mayoría se utiliza según lo establecido en las guías de uso, pero con dosis menores a las recomendadas.

PB-178 Recuento absoluto de monocitos y riesgo de tromboembolismo venoso. Resultados del proyecto RETROVE

Vázquez-Santiago M. (1), Remacha Á. (2), Ziyatdinov A. (3), Cuevas B. (1), Macho R. (1), Vilalta N (1), Carrasco M. (1), Mateo J. (1), Pujol-Moix N. (4), Soria J. M. (3), Souto J. C. (1)

(1) Unitat d' Hemostàsia i Trombosis. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. (2) Servei de Laboratori d' Hematologia. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. (3) Unitat de Genòmica de Malalties Complexes. IIB-Sant Pau. Barcelona. (4) Departament de Medicina. Universitat Autònoma de Barcelona (UAB). Barcelona

Introducción: Los leucocitos, especialmente los neutrófilos y los monocitos, muestran un efecto reconocido sobre la coagulación. Recientemente, se ha relacionado el aumento en la cifra de monocitos y la generación de trampas extracelulares de neutrófilos (NETs) con la enfermedad tromboembólica venosa (ETE). Los monocitos expresan factor tisular en su membrana citoplasmática y esto les convierte en candidatos obvios a ejercer un efecto protrombótico.

Objetivo: Evaluar la asociación entre el recuento de leucocitos totales y de los recuentos absolutos de sus subpoblaciones y el riesgo de ETEV.

Métodos: El proyecto RETROVE (Riesgo de Enfermedad TROMboembólica VENosa) ha estudiado 400 individuos con ETEV y 400 controles sanos (distribuidos según la pirámide poblacional española por edades y sexos). Los recuentos de leucocitos totales y las subpoblaciones de neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monocitos y linfocitos se han medido con el analizador Sysmex XE-2100® (Sysmex Corporation). El test de *Mann-Whitney* y la χ^2 de *Pearson* estiman las diferencias entre casos y controles. Las *odds ratios* (OR), ajustadas por edad y sexo, con intervalos de confianza del 95% se han calculado mediante una regresión lineal binaria, en el grupo de recuentos aumentados (> percentil 90) para leucocitos, neutrófilos y monocitos.

Resultados: Los pacientes presentaron recuentos de leucocitos totales, neutrófilos y monocitos significativamente ($p < 0,05$) mayores que los controles (Tabla 1).

Tabla 1. Medias y desviaciones estándar para la fórmula leucocitaria en el estudio RETROVE

	Pacientes†	Controles†	p-valores*
Número†	400 (2)	400 (3)	-
Sexo (varón:mujer)	196:204	194:206	n.s.
Edad (años)	63,5 ± 18,4	48,7 ± 18,2	3,27·10 ⁻²⁶
Leucocitos	6,8 ± 1,9	6,5 ± 2,0	0,0082
Neutrófilos	4,1 ± 1,5	3,8 ± 1,6	0,0020
Eosinófilos	0,18 ± 0,14	0,19 ± 0,15	n.s.
Basófilos	0,030 ± 0,017	0,032 ± 0,019	n.s.
Monocitos	0,57 ± 0,2	0,51 ± 0,18	3,52·10 ⁻⁶
Linfocitos	1,9 ± 0,64	2,0 ± 0,59	n.s.

†Todos los recuentos se han expresado x10⁹/l. †Individuos excluidos del estudio entre paréntesis. *n.s.: p-valor no significativo.

En comparación con el grupo de referencia, el grupo con elevado recuento de monocitos presentó un riesgo de ETEV (OR) 2,18 (IC 1,42-3,36) veces mayor, mientras que los grupos con elevado recuento absoluto de leucocitos y neutrófilos mostraron un riesgo de 1,22 (IC 0,75-1,97) y 1,19 (IC 0,75-1,89) veces mayor (Tabla 2).

Conclusiones: Los recuento de leucocitos totales, neutrófilos y monocitos son significativamente más elevados en pacientes con ETEV que en controles. Esto sugiere una posible relación con el riesgo trombótico. El aumento en el recuento de monocitos circulantes en sangre periférica por encima de 0,55 x10⁹/l (> percentil 90) se asocia con un aumento significativo del riesgo de ETEV de 2,18 veces superior, en comparación con el nivel de referencia (< percentil 90). No parece existir una relación similar entre la cifra de neutrófilos y el riesgo de ETEV.

Agradecimientos: FIS PII2/00612, RIC RD12/0042/0032 y FIS PI 15/0269.

Tabla 2. Riesgo de ETEV, expresado como OR, en función del recuento absoluto de leucocitos, neutrófilos y monocitos

Percentil 90 [†]	Pacientes	Controles	OR (95% CI)	p-valor*
LEU				
(0-9,0)	349	357	1	-
[9,0-17,0)	49	40	1,22 (0,75-1,97)	n.s.
NEU				
(0-0,7)	343	355	1	-
(0,7-1,6)	55	42	1,19 (0,75-1,89)	n.s.
MON				
(0-5,5)	312	354	1	-
(5,5-13,0)	86	43	2,18 (1,42-3,36)	< 0,05

[†]Odds ratios ajustadas por edad y sexo. Los intervalos de confianza (IC) han sido indicados entre paréntesis. *Diferencias significativas ($p < 0,05$) establecidas mediante el test de *Wald*. n.s.: p-valor no significativo.

PB-179 Síndrome antifosfolípídico catastrófico, en paciente con LMC, en posparto inmediato

Ávila Idrovo L. F., Bernardo Gutiérrez Á., Fonseca Mourelle A., Soto Ortega I., Morais Bras L. R.

Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo, Asturias

Introducción: El síndrome antifosfolípídico (SAF) catastrófico es una variante inusual pero potencialmente letal del SAF. Representan en torno al 1% de todos los pacientes con SAF, con un curso clínico trombótico muy agresivo y una mortalidad cercana al 50%. Dicha variante fue descrita hace 22 años por primera vez por Ronald Asherson. Se reporta algún factor desencadenante en el 53% de los casos, los más frecuentes incluyen: infecciones (30-60%), cirugías o traumatismos (14%), suspensión de los anticoagulantes orales (7%), malignidad (5%), complicaciones obstétricas (6%), drogas como anticonceptivos orales, diuréticos tiazídicos o captopril y sin causa identificable (40%).

Caso clínico: Se trata de una mujer de 40 años, primigesta. Hidrocefalia a los 2 meses de edad, portadora de derivación ventrículo peritoneal, HTA, gestación por FIV (ovodonación), como complicaciones durante el embarazo presentó preeclampsia leve (proteinuria max 0,52 g/24 h). Síndrome mieloproliferativo crónico tipo leucemia mieloide crónica diagnosticada en el tercer mes de embarazo, en tratamiento con interferón alfa con buen control de cifras hemoperiféricas. Tras 24 horas de cesárea urgente por compromiso del bienestar fetal, se nos solicita consulta por fallo multiorgánico, coagulopatía intravascular diseminada, y hallazgos de múltiples lesiones isquémicas en hígado, páncreas y bazo en estudios de imagen (Figuras 1-3). Se solicitaron pruebas complementarias donde destacan unos anticuerpos antifosfolípido tipo anticoagulante lúpico positivos así como unos ACAs (anticuerpos anticardiolipina) > 86 ua/ml, con el diagnóstico de SAF catastrófico se inició tratamiento con esteroides, antiagregación y gammaglobulinas, con mala evolución clínica, por lo que se

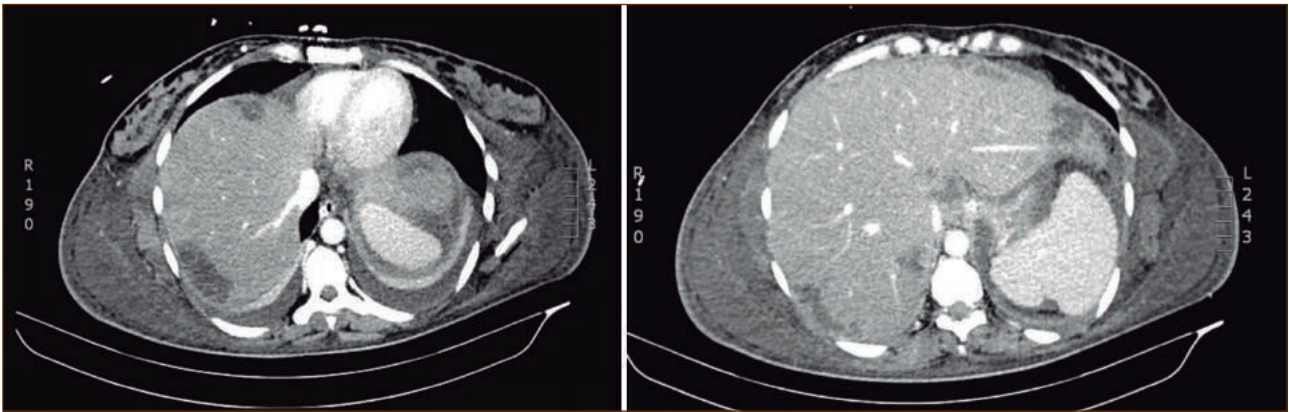


Figura 1. TC abdominal 16/11/2015.

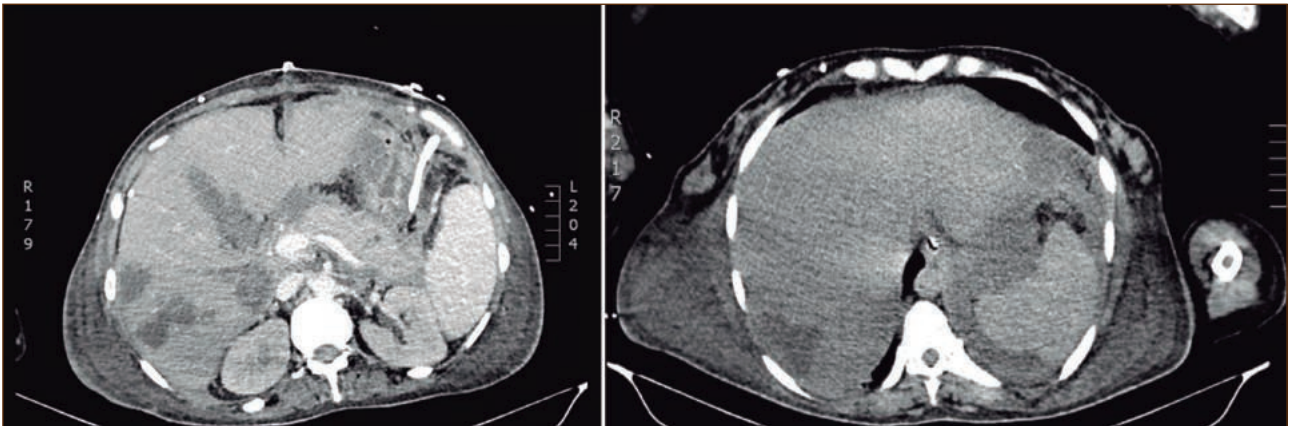


Figura 2. TC abdominal 22/11/2015.

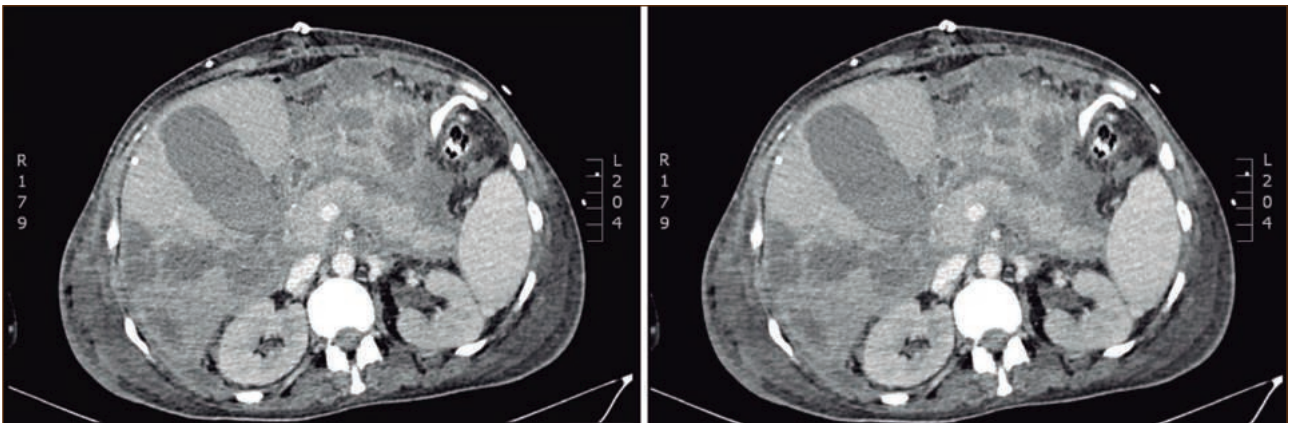


Figura 3. TC abdominal 07/12/2015.

añadió al tratamiento rituximab (4 dosis de 375 mg/m²). Después de 4 semanas de tratamiento se negativizaron los anticuerpos antifosfolípidos, y no se produjeron nuevos eventos trombóticos.

Desgraciadamente tras mes y medio del diagnóstico la paciente falleció como consecuencia de una sepsis de origen abdominal (infección de la herida quirúrgica).

Discusión: El síndrome antifosfolípido catastrófico (SAFc) se caracteriza por la presencia de anticuerpos dirigidos contra fosfolípidos que utilizan proteínas plasmáticas como cofactores para ser inmunogénicos. El AL es una inmunoglobulina que es capaz de prolongar los tiempos de coagulación dependientes de fosfolípidos, sin embargo *in vivo* se asocia a fenómenos trombóticos venosos y arteriales. En este caso, el diagnóstico de SAFc se sustenta en la presencia de AL positivo asociado a fenómenos trombóticos microvasculares y a isquemia de diversos órganos que puede desembocar en un fallo multiorgánico. A diferencia del caso presentado, la mayoría de los pacientes que presentan esta variante del SAF tienen antecedentes de lupus eritematoso sistémico (LES) o patología autoinmune. En este caso encontramos como factor desencadenante del SAFc el embarazo asociado a preeclampsia y una cesárea de urgencia. El tratamiento es complejo se usan terapias conjuntas como corticoides, inmunosupresores, gammaglobulina e incluso rituximab demostrando en un grupo pequeño de pacientes resolvieron el episodio agudo de SAFc y algunos incluso negativizaron los Ac.

Conclusiones: Ante las situaciones de riesgo antes mencionadas se debe sospechar, este cuadro, dado que su agresividad y alta mortalidad precisan de un tratamiento muy precoz basado en tres objetivos: tratar cualquier factor desencadenante, tratarlos los fenómenos trombóticos y suprimir el exceso de la “cascada” de citocinas.

Bibliografía recomendada

1. Síndrome Antifosfolípido Catastrófico (SAFC). Catastrophic antiphospholipid syndrome Rossi Andrea Medica Hematóloga, Hospital Universitario Fundación Falvalor. arossi@ffavaloro.org. Fecha de recepción: 27/11/2013. Fecha de aprobación: 05/12/2013.
2. Síndrome antifosfolípido catastrófico: síndrome de Asherson. Revista de los estudiantes de la universidad industrial de Santander. méd.uis 2008;21:183-91.
3. Quince años del síndrome antifosfolípido catastrófico. ¿Qué hemos aprendido? Revista Colombiana De Reumatología VOL. 14 No. 2, Junio 2007, pp. 129-134© 2007, Asociación Colombiana de Reumatología.
4. Actualización del síndrome antifosfolípido. Juan Antonio Orta, Ángel Zúñiga y María Orerac a Unidad de Autoinmunidad. Área de Diagnóstico Biológico. Hospital de la Ribera. Alzira. Valencia. Unidad de Biología Molecular. Área de Diagnóstico Biológico. Hospital de la Ribera. Alzira. Valencia. España. Unidad de Genética. Hospital Universitario Gregorio Marañón. Madrid. España. Med Clin (Barc) 2003;121(12):459-71.
5. Disclosures: Peter H Schur, MD Nothing to disclose. Andre A Kaplan, MD Grant/Research/Clinical Trial Support: Vital Therapies [Liver assist device (Liver assist device)]. Consultant/Advisory Boards: Gambro [Therapeutic plasma exchange (Dialysis machine)]; Alexion [Therapeutic plasma exchange (Eculizumab)]. David S Pisetsky, MD, PhD Consultant/Advisory Boards: Merck [Autoimmunity (Xelgan, Enbrel)]; Lilly [Lupus]; Celgene [Psoriatic arthritis (apremilast)]; Immunoarray [Lupus (SLE test)]. Monica Ramirez Curtis, MD, MPH Nothing to disclose.
6. Disclosures: Doruk Erkan, MD, MPH Grant/Research Support: Lupus Clinical Trials Consortium [SLE]; New York Community Trust [APS]; Alexion [APS]; EMD Serono [SLE]. Consultant/Advisory Boards: Alexion [APS]. Bonnie L Bermas, MD Nothing to disclose. Peter H Schur, MD Nothing to disclose. David S Pisetsky, MD, PhD Consultant/Advisory Boards: Merck [Autoimmunity (Xelgan, Enbrel)]; Lilly [Lupus]; Celgene [Psoriatic arthritis (apremilast)]; Immunoarray [Lupus (SLE test)]. Monica Ramirez Curtis, MD, MPH Nothing to disclose.
7. Síndrome antifosfolípido Catastrófico. A Case Report. Catastrophic Antiphospholipid Syndrome. Reporte de caso. Síndrome antifosfolípido catastrófico. 25 de febrero de 2013.
8. Estrategias terapéuticas en el síndrome antifosfolípido. Med Clin (Barc) 2003;121(12):459-71

PB-180 Análisis de la incidencia de hiperhomocisteinemia y eventos trombóticos en una serie de casos obtenida de la consulta de hematología de un hospital comarcal

García Cabrera I., Clavero Sánchez E., Moatassim de la Torre Y.
Hospital Básico Santa Ana. Motril, Granada

Introducción: La trombosis venosa es una importante causa de morbilidad y mortalidad en países occidentales, encontrándose asociada a factores genéticos y ambientales. La homocisteína es un aminoácido producto intermediario del metabolismo de la metionina. Varios estudios epidemiológicos han demostrado que el aumento de los niveles de homocisteína es un factor de riesgo independiente para aterosclerosis y trombosis. La hiperhomocisteinemia leve (16-24 mmol/l) o moderada (25-100 mmol/l) no es rara en la población general y está asociada a una variedad de factores genéticos o adquiridos que incluyen la edad, tabaquismo, insuficiencia renal, déficit de folato, vitamina B6 o B12 y deficiencias heterocigotas de enzimas que participan en su metabolismo. Entre ellas nos encontramos la mutación C677T o variante termolábil de la metil-tetrahidrofolato reductasa (MTHFR), siendo esta la causa genética más común de hiperhomocisteinemia leve-moderada. Aunque la presencia del alelo T del polimorfismo C677T de la MTHFR se asocia con unos niveles más altos de homocisteína, tanto en la población sana como en la población con enfermedad tromboembólica venosa (ETEVE), no existe una asociación sólida entre este polimorfismo y la ETEVE.

Objetivo: Con el presente estudio se pretende describir la presencia y distribución de las alteraciones en el gen C677T de la MTHFR tanto en su forma heterocigota como homocigota, hiperhomocisteinemia y clínica de ETEVE en la consulta de hematología general de un hospital comarcal.

Material y métodos: Se realizó un estudio descriptivo no aleatorizado de serie de casos retrospectivo. Se obtiene la muestra de los pacientes que acudieron a la consulta de hematología de nuestro hospital comarcal entre diciembre de 2015 y mayo de 2016. Se seleccionaron para el estudio los pacientes que presentaron la mutación C677T de la MTHFR, tanto en su forma heterocigota como

homocigota. Se evaluó la presencia de hiperhomocisteinemia así como la presencia de algún evento clínico relacionado con la ETEV. Se realiza el análisis de datos con el software de analítica predictiva SPSS. Sobre los datos obtenidos se estudia la posible asociación entre las variables niveles de homocisteína y la presencia de eventos trombóticos a través del test de Chi-cuadrado de independencia.

Resultados: Se recogieron los datos de 34 pacientes cuyo estudio de trombofilia había resultado positivo para la presencia de la mutación C677T de la MTFHR. De estos pacientes, a 24 de ellos el estudio se solicita por clínica reaccionada con la ETEV o detectarse hiperhomocisteinemia en control analítico. En los 10 pacientes restantes el estudio se practica en el contexto de estudio familiar. El 67% de los pacientes (n = 23) presentaron heterocigosis para dicha mutación frente a un 32% (n = 11) que se presentó en su forma homocigota. Entre los dos grupos encontramos 7 pacientes que presentaron asociación con otras alteraciones genéticas relacionadas con aumento del riesgo trombótico como la mutación la mutación factor V Leiden y la mutación G20210A del gen de la protrombina. La hiperhomocisteinemia la presentaron 21 de los pacientes, entre los cuales había 12 pacientes que habían presentado clínica trombótica. El total de pacientes con historia de ETEV fueron 16. Estos datos se describen en la **Tabla 1**. Se realiza una tabla de contingencias para estudiar la asociación entre la hiperhomocisteinemia y la presencia o no de ETEV. Se aplica el test de χ^2 de independencia y se obtiene una asociación muy baja. Se hace un análisis de los datos separando por sexo y por rangos de edad (los datos se detallan en las **Tablas 2 y 3**). En nuestra muestra encontramos mayoría de mujeres con una relación hombre: mujer de 12:22. Existe un

predominio en los dos sexos de pacientes con edad inferior a los 45 años, representando este rango de edad el 56% de la muestra. En los pacientes mayores de 65 años encontramos una tasa de eventos trombóticos del 100%. Con respecto a los grupos de edad y la presencia o no de trombosis, el segundo grupo que presenta mayor frecuencia es el de los menores de 45 años. No presenta la misma distribución en ambos sexos, a pesar de que los dos grupos presentan una tasa de eventos trombóticos en los mayores de 65 años del 100%. Con respecto a la hiperhomocisteinemia el más frecuente entre los pacientes con edad comprendida entre los 56-65 años. Presenta diferencias importantes entre los dos grupos siendo más frecuente en hombre con una presencia del 92% frente a un 45% de frecuencia en mujeres. Así mismo presenta una distribución diferente en ambos grupos. Se realiza una tabla de contingencias para estudiar la relación entre la hiperhomocisteinemia y la presencia o no de ETEV separando la muestra entre hombres y mujeres. En este caso no se aplica el test de la Chi-cuadrado de independencia para valorar la asociación ya que las muestras son pequeñas. Se aplica el test exacto de Fisher con resultado en ambos grupos de asociación no estadísticamente significativa. No obstante es necesario confirmar esta hipótesis con un tamaño de muestra mayor.

Conclusiones:

1. Las tasas de pacientes que presentan la alteración en su forma homocigota como heterocigota, presentan similitud con la prevalencia general en los diferentes estudios consultados.
2. El hecho de observar con mayor frecuencia hiperhomocisteinemia entre el grupo de pacientes heterocigotos va a favor de la etiopatogenia conocida hasta la fecha sobre las multicausa-

Tabla 1.

Pacientes con mutación en el gen C677T de la MTFHR	Hiperhomocisteinemia (n = 21)	ETEV (n = 16)	Asociación a otras alteraciones genéticas (n = 7)	n = 34
Heterocigotos	71% (15)	63% (10)*	6	68% (23)
Homocigotos	29% (6)	37% (6)	1	32% (11)

*1 paciente presentaba asociación con heterocigosis del factor V Leiden.

Tabla 2. Distribución de la muestra de hombres

Grupos de edad	Heterocigoto	Homocigosis	Hiperhomocisteinemia	Episodios de ETEV	Total
≤ 45 a	5	0	5	4	5
46-55 a	1	1	2	1	2
56-65 a	1	3	4	2	4
> 65 a	0	1	0	1	1

Tabla 3. Distribución de la muestra de mujeres

Grupos de edad	Heterocigoto	Homocigosis	Hiperhomocisteinemia	Episodios de ETEV	Total
≤ 45 a	8	6	5	4	14
46-55 a	4	0	2	1	4
56-65 a	1	0	1	0	1
> 65 a	3	0	2	3	3

lidad de la misma. No sólo influye en componente genético sino que existen otras causas que lo justifican.

3. Tras aplicar el test de independencia de la Chi² nos encontramos una asociación muy baja entre la las variables hiperhomocisteinemia y la presencia de trombosis, a diferencia de los estudios publicados hasta la fecha. Probablemente alcancemos resultados estadísticamente significativos en el caso de aumentar en número de muestra.
4. Nuestra muestra está constituida por población joven (< 45 años) y con casi el doble de presencia de mujeres. Este hecho puede estar justificado por la atención, cada vez en aumento, de mujeres derivadas a consulta para estudio por historia ginecológica de abortos de repetición y/o historia de infertilidad.
5. A mayor edad la incidencia de eventos trombóticos alcanza el 100% de los pacientes, sin diferencia entre ambos sexos.
6. No se pueden obtener conclusiones poblacionales al tratarse de un estudio descriptivo sobre una muestra pequeña, sin controles poblacionales. Esta muestra se obtiene bajo el sesgo de los pacientes que acuden a consulta para realizarse

dicho estudio ya sea por AP de ETEV o por estudio familiar. No obstante este registro puede ser de utilidad una vez se obtenga mayo número de muestra, para el planteamiento de un estudio de casos y controles donde se pueda realizar un análisis estadístico del cual se puedan obtener conclusiones con significación estadística.

Bibliografía recomendada

1. González-Porras JR, Pérez-López E, Alberca I, et al. Influencia de la mutación C677T del gen de la metilentetrahidrofolato reductasa en la enfermedad tromboembólica venosa. *Angiología* 2010;62(6):225-31.
2. Sørensen JT, Gaustadnes M, Stabler SP, et al. Molecular and biochemical investigations of patients with intermediate or severe hyperhomocysteinemia. *Mol Genet Metab* 2016;117(3):344-50.
3. Park WC, Chang JH. Clinical Implications of Methylene tetrahydrofolate Reductase Mutations and Plasma Homocysteine Levels in Patients with Thromboembolic Occlusion. *Vasc Specialist Int* 2014;30(4):113-9.
4. Mingot Castellano ME. Homocisteína y riesgo cardiovascular. IX Curso de Formación Continuada Trombosis y Hemostasia.

