

Thrombosis and Haemostasis

International Journal for Vascular Biology and Medicine

*XXXV Congreso Nacional
de la Sociedad Española
de Trombosis y
Hemostasia*

*Ponencias y
Comunicaciones*

*Sociedad Española
de Trombosis y
Hemostasia*

*Valencia, 24-26
de octubre de 2019*

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

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, temas, etc., y la posibilidad de imprimir.



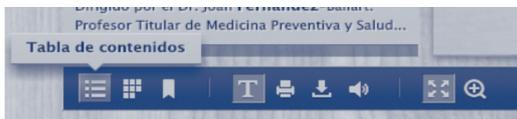
Buscador

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 clic. 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.

MENÚ DE LA PARTE INFERIOR IZQUIERDA

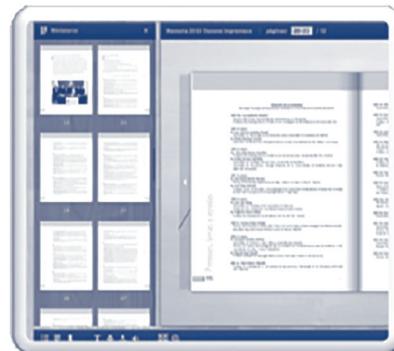
Tabla de contenidos

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



Miniaturas

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



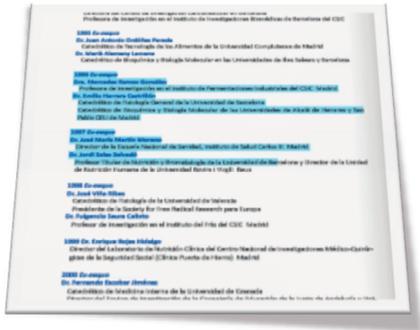
Marcadores

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.

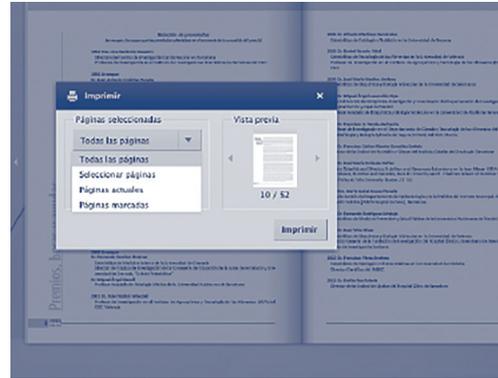


Impresión

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 clic en la página en la que estemos situados y automáticamente se ampliará. Si queremos minimizar, repetiremos el mismo proceso.



MENÚ DE LA 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

© 2019. Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia.

Spanish handout produced for and distributed in Spain with the kind permission of Georg Thieme Verlag KG, Rüdigerstrasse 14, 70469 Stuttgart, Germany. Neither Thieme, 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. Approved product information should be reviewed before prescribing

Depósito legal: M-34026-2012

Comités

Comité Organizador

Presidente

Carlos Solano Vercet

Vicepresidenta

Pilar Medina Badenes

Vocales

Cristina Arbona Castaño
Santiago Bonanad Boix
Marisa Calabuig Muñoz
Guillermo Cañigral Ferrando
Ana Rosa Cid Haro
Javier de la Rubia Comos
Francisco España Furió
María Guinot Martínez
Juan Carlos Hernández Boluda
Francisca López Chuliá
Pascual Marco Vera
Manuel Miralles Hernández
Blanca Navarro Cubells
Silvia Navarro Rosales
Ana Julia Oto Martínez
Jaime Sanz Caballer
Guillermo Sanz Santillana
M.^a José Terol Casterá
Anabel Teruel Casasús
Mar Tormo Díaz

Comité Científico de la SEHH

Presidente

José Antonio Pérez Simón

Vocales

Beatriz Arrizabalaga Amuchástegui
José Luis Arroyo Rodríguez
Gemma Azaceta Reinales
Valentín García Gutiérrez
Juan Carlos Hernández Boluda
Miguel Teodoro Hernández García
Concepción Herrera Arroyo
Lucía López Corral
Joaquín Martínez López
Pau Montesinos Fernández
Guillermo Rodríguez García
Francesc Solé Ristol
Álvaro Urbano Ispizua
(coordinador del programa educacional)
Lucrecia Yáñez San Segundo

Comité Científico de la SETH

Presidenta

María Eva Mingot Castellano

Vocales

M.^a Teresa Álvarez Román
Ángel Bernardo Gutiérrez
Ana Rosa Cid Haro
(coordinadora del Programa Educativo)
Jorge Cuesta Tovar
Antonio Moscardó Martínez
Elena Pina Pascual

Índice SETH

Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia

XVIII LECCIÓN CONMEMORATIVA RICARDO CASTILLO-ANTONIO LÓPEZ BORRASCA.	1
• Pasado, presente y futuro del tratamiento de la hemofilia M. ^a F. López Fernández	3
PROGRAMA EDUCACIONAL.....	9
• Hemostatic biomarkers in patients with cancer A. Falanga, M. Marchetti	11
• Manejo de las mujeres con alteraciones de la hemostasia durante el embarazo y el parto N. Fernández Moisterín, J.M. Calvo Villas.....	13
• Complicaciones perinatales en el recién nacido con diátesis hemorrágica M. Falcón Rodríguez	26
PONENCIAS.....	31
• Enfermedad tromboembólica venosa y arterial.....	33
• Anticoagulación en ictus isquémico y tras hemorragia cerebral.....	34
• Tratamiento de la trombosis asociada al cáncer. ¿Son los ACOD una Alternativa a la HBPM? De la evidencia clínica a la vida real	39
• Triple terapia antitrombótica en pacientes con fibrilación auricular sometidos a revascularización coronaria con ICP.....	41
• Tratamiento actual de la hemofilia.....	48
• Manejo del paciente con hemofilia e inhibidor en 2019	49
• Cambios en el tratamiento profiláctico del paciente con hemofilia en la era de los EHL.	53
• Development and access to gene therapy in haemophilia: what is the status in 2019? ..	56
• Terapia génica y celular en hematología	60
• Gene therapy for hemophilia	61
• CAR-T en mieloma múltiple	62
• Aspectos éticos y jurídicos de la terapia génica	64
• Plaquetas y metabolismo, tan lejos tan cerca.....	68
• Glucose metabolism and platelet activation	69
• Envejecimiento, metabolismo y enfermedad cardiovascular.....	74
• Características especiales de los tratamientos antiplaquetarios en diabetes, obesidad y edad avanzada.....	77
• Aspectos prácticos del tratamiento antitrombótico	82
• Papel global del hematólogo en el proceso del tratamiento antitrombótico.....	83
• Necesidades y cambios en el laboratorio de hemostasia	91
• Nuevas terapias en hemofilia y su impacto en el laboratorio de hemostasia.....	93
• Diagnóstico y monitorización de los inhibidores adquiridos de la coagulación.....	100
• El diagnóstico de las alteraciones de la coagulación en el ámbito materno-infantil	105
SESIÓN PLENARIA	113

COMUNICACIONES ORALES	123
• Conceptos básicos en trombosis	125
• Plaquetas	129
• Métodos de diagnóstico	135
• Diátesis hemorrágicas	141
• Coagulopatías congénitas	150
• Tratamiento antitrombótico	163
• Trombosis	171
• Miscelánea	187
PÓSTERES (CON PRESENTACIÓN ORAL)	191
• Conceptos básicos en hemostasia	193
• Diátesis hemorrágica	200
• Tratamiento antitrombótico	207
PÓSTERES (SIN PRESENTACIÓN ORAL)	223
• Conceptos básicos en hemostasia	225
• Diátesis hemorrágica	228
• Métodos de diagnóstico y marcadores	235
• Plaquetas	242
• Tratamiento antitrombótico	254
• Trombosis	266
• Coagulopatías congénitas	283
• Miscelánea	294
PUBLICACIÓN	305
• Coagulopatías congénitas	307
• Diátesis hemorrágica	308
• Métodos de diagnóstico y marcadores	311
• Plaquetas/biología vascular	315
• Tratamiento antitrombótico	316
• Trombosis	318
• Miscelánea	326

XVIII LECCIÓN CONMEMORATIVA
RICARDO CASTILLO -
ANTONIO LÓPEZ BORRASCA

Pasado, presente y futuro del tratamiento de la hemofilia

María Fernanda López Fernández

Servicios de Hematología y Transfusión. Instituto de Investigación Biomédica (INIBIC). Organización de Gestión Integrada. Hospital Universitario A Coruña. A Coruña

Introducción

Las hemofilias A y B son enfermedades monogénicas ligadas al cromosoma X y que se deben a mutaciones que condicionan un defecto de los factores VIII y IX, respectivamente. Las formas graves se manifiestan como una diátesis hemorrágica espontánea típicamente localizada en articulaciones o intramusculares que sin tratamiento condicionan una alta morbimortalidad.

Pasado

Aunque existen descripciones clínicas de la enfermedad en la era precristiana, no se reconoce como una entidad clínica hereditaria con alta mortalidad hasta 1803 por el Dr. John Conrad Otto. En 1893 se describe el primer criterio de laboratorio al observarse un alargamiento del tiempo de coagulación en estos pacientes. En 1937, Pateck y Taylor aíslan la globulina antihemofílica (AHG) y en 1947 Pavlovsky observa que la sangre de unos pacientes hemofílicos puede corregir el defecto de otros (1).

En la década de los cincuenta y hasta mediados de los sesenta, los hemofílicos solo podían ser tratados con sangre o plasma fresco. Estos preparados no contenían la cantidad suficiente de factores VIII (FVIII) o IX (FIX), y los hemofílicos graves fallecían en la infancia o en la adolescencia de hemorragias en órganos vitales (especialmente, intracraneales), traumatismos o hemorragias después de las intervenciones (2). En 1964, Pool y Shannon descubren que el precipitado obtenido tras la descongelación del plasma congelado contenía grandes cantidades de FVIII (3). Este primer y gran avance en el tratamiento permitía obtener y almacenar grandes cantidades de crioprecipitado en pequeños volúmenes para el control de los episodios hemorrágicos graves, e hizo posible las cirugías urgentes y electivas.

En 1970 se introducen los concentrados plasmáticos desecados y congelados con FVIII y FIX, que permitían su fabricación a gran escala (4). Este segundo avance revoluciona el tratamiento al incrementar la eficacia y facilitar el tratamiento domiciliario, con reducción de las complicaciones musculoesqueléticas y las visitas al hospital; asimismo, fue la base para la puesta en marcha de los programas de profilaxis. Pionera en este acercamiento terapéutico fue Inga Marie Nilsson en Malmö (Suecia) (5), al administrar la proteína deficitaria de forma precoz y continuada con el fin de convertir una hemofilia grave en moderada. Desgraciadamente, estos concentrados obtenidos a partir de miles de donantes de sangre estaban contaminados con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y hepatitis: miles de pacientes fueron infectados y en las décadas de los ochenta y de los

noventa padecieron las secuelas con una alta morbimortalidad (6). Además, incidió negativamente en los programas de profilaxis. La introducción de métodos de inactivación viral (pasteurización, calor o solventes detergentes) en la preparación de los concentrados plasmáticos y la adopción de métodos de despistaje de virus en las donaciones sanguíneas aumentaron la seguridad y se retomaron los programas de profilaxis y las cirugías electivas.

La clonación de los genes del FIX y FVIII humanos en 1982 y 1984, respectivamente, y la caracterización de sus estructuras moleculares constituye el tercer gran avance en el tratamiento de la hemofilia (7,8). Se constató que la secuencia de aminoácidos de factor VIII, deducida de la secuenciación del ADN, estaba constituida por 6 dominios, 2332 aminoácidos y un peso molecular de 156 kDa (Fig. 1). La detección de los sitios de acción de la trombina en el FVIII plasmático permitía predecir los dominios implicados en su activación e inactivación. El gen del factor IX tiene un peso molecular significativamente inferior (34 kDa). Estos descubrimientos permitieron conocer mejor la función de ambas proteínas en la hemostasia, avanzar en las implicaciones de las diferentes mutaciones y facilitar el consejo genético. Además, permitieron el desarrollo de productos recombinantes obtenidos mediante tecnología ADN en cultivos de células de mamíferos, lo que facilitó su producción industrial, y fueron poco a poco sustituyendo a los productos plasmáticos en la práctica clínica habitual. Investigaciones farmacológicas posteriores culminaron con la obtención de productos recombinantes completamente desprovistos de proteínas humanas, tanto en los cultivos como en la formulación final.

Aunque inicialmente estos productos fueron diseñados para asemejarse al FVIII plasmático (lo que se conoce como concentrados de cadena completa), en 1986 se observa que la depleción del dominio B, una región de aproximadamente 95 kDa en el FVIII, localizada entre las cadenas pesadas y ligeras, no afectaba a su actividad procoagulante y que cuando se infundía su farmacocinética era similar a los productos de cadena completa (9) (Fig. 1). La depleción de este dominio es clave para el desarrollo posterior de la terapia génica en la hemofilia A. Todos estos avances facilitaron, en las dos últimas décadas, mejoras significativas en el tratamiento integral de los pacientes, en la reducción de las comorbilidades, en la adopción de la profilaxis como primera línea de tratamiento y en la equiparación de la esperanza de vida a la de la población general.

Otros importantes avances en las décadas de los ochenta y de los noventa fueron la introducción de los agentes baipás (concentrado del complejo protrombínico activado, FEIBA y del factor VII activado recombinante) para el tratamiento de los episodios hemorrágicos, e incluso en programas de profilaxis para los pacientes

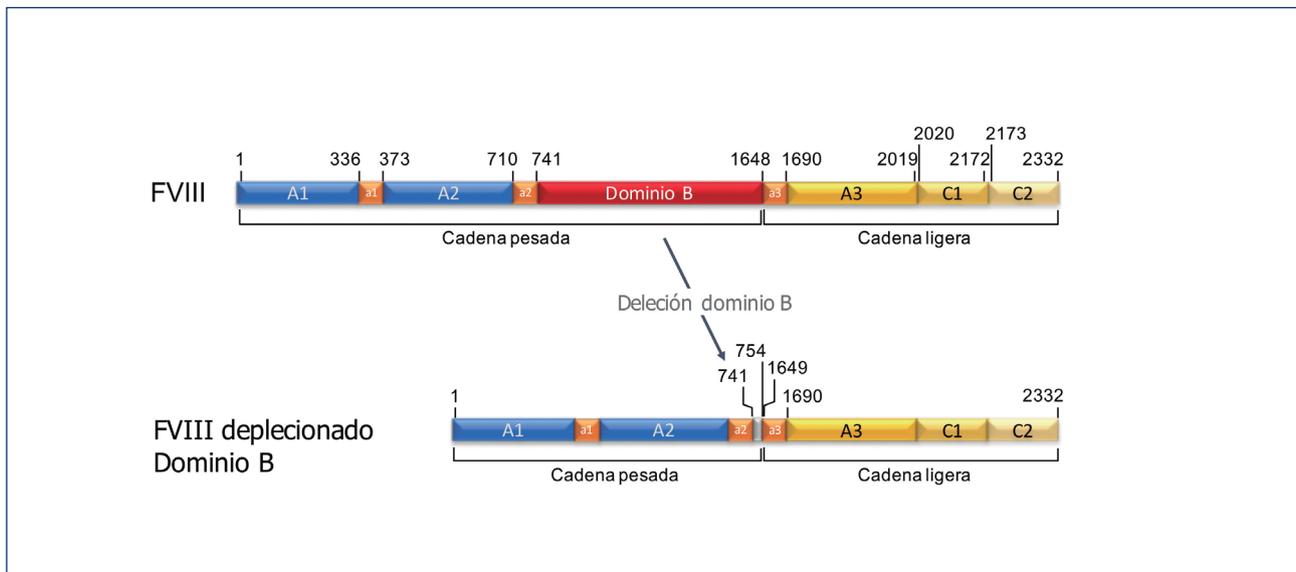


Figura 1. Estructura del Factor VIII. La secuencia de aminoácidos de factor VIII, deducida de la secuenciación del ADN, estaba constituida por 6 dominios, 2332 aminoácidos y un peso molecular de 156 KDa. En la parte superior se muestra la secuencia completa del FVIII y en la inferior, la secuencia tras la depleción del dominio B. El dominio B es una región de aproximadamente 95 kDa en el FVIII localizada entre las cadenas pesadas y ligeras. No afectaba su actividad procoagulante.

que desarrollan aloanticuerpos neutralizantes dirigidos contra ambos factores. Paralelamente se instauraron programas de inmunotolerancia dirigidos a la erradicación del inhibidor. Por último, en la segunda mitad de la década de los noventa se introdujeron acercamientos terapéuticos para la infección por VIH y la hepatitis C.

Presente

Tradicionalmente, el objetivo de la profilaxis era incrementar los niveles del FIX circulante por encima del 1% el mayor tiempo posible (5). Aunque este objetivo representa una ventaja sustancial sobre el tratamiento a demanda, no previene todas las hemorragias y, además, existen evidencias que sugieren que se producen hemorragias subclínicas que favorecen la progresión de la artropatía. Por ello, actualmente el objetivo es conseguir erradicar los episodios hemorrágicos para eliminar el daño articular; es decir, una tasa anual de hemorragias (ABR, de sus singlas en inglés) espontáneas de cero. Para alcanzar este objetivo es necesario incrementar los niveles valle a rangos comprendidos entre 3-5% o superiores, según el estilo de vida del paciente. La relativa vida media corta de los factores VIII y IX en los concentrados plasmáticos y recombinantes estándares, las grandes variaciones farmacocinéticas individuales que hacen necesario administrar un importante número de infusiones anuales y la dificultad para su infusión en niños con malos accesos venosos limitaban alcanzar este objetivo.

La modificación de los factores VIII y IX por diferentes metodologías, como la pegilación, su fusión a albumina recombinante o la unión al fragmento Fc de las inmunoglobulinas, ha permitido alargar la vida media de ambos factores. Los productos con vida media extendida (EHL, de sus siglas en inglés) son, por tanto,

otro importante avance en el tratamiento de los pacientes. Los concentrados de EHL incrementan la vida media del FVIII 1,5 veces en comparación con los concentrados estándar (Tabla I) (10). Esto sugiere que el factor Von Willebrand sigue siendo la principal limitación para prolongar su farmacocinética. Aun así, se consigue una reducción del número de infusiones y permite incrementar los niveles valle a un 3%, sobre todo en pacientes adultos.

El incremento de la vida media del FIX-EHL es de 4,5 a 5 veces el del FIX recombinante (Tabla I). Con estos preparados se consigue distanciar las infusiones, y se pasa de administrar 2 dosis semanales a infusiones semanales cada 14 días o incluso cada 21 días, en algunos casos (11-13). La eficacia global de estos productos en la prevención de las hemorragias está comprendida entre 96,7% y 97,2%, con una media de ABR próxima a 0 (11-13).

Los concentrados con vida media extendida mejoran la eficacia y permiten mantener niveles valle más elevados con un menor número de infusiones, lo que se traduce en una mejor cobertura hemostática de los pacientes, una mejora en su calidad de vida y probablemente ayuden a mejorar la adherencia al tratamiento.

Se han diseñado varios tratamientos que no están basados en la administración de la proteína deficitaria con la finalidad de restaurar la hemostasia con un baipás a la proteína deficitaria. Por su mecanismo de acción y la posibilidad de ser administrados por vía subcutánea, se considera a estos nuevos acercamientos terapéuticos tratamientos disruptivos. Dos de estos productos, concizumab y fitusiran, inhiben proteínas que actúan inhibiendo la hemostasia y pueden utilizarse en hemofilia A y B. El tercero (emicizumab) incrementa la generación de trombina y solo está indicado en la hemofilia A. Todos ellos parecen ser eficaces, independientemente de si el paciente tiene o no inhibidor (Tabla II).

Tabla I Concentrados de factor VIII y IX con vida media extendida (10)					
Nombre del concentrado	Nombre genérico	Compañía	Mecanismo para prolongar la vida media	Línea celular	Vida media (horas)
FVIII					
Elocta	Efralotocog alfa	Biogen/Sobi	FVIII deplecionado del dominio B fusionado al fragmento FC de la IgG1	HEK	19
Adynovi	Octocog alfa-pegol.	Takeda	FVIII cadena completa pegilado	CHO	14,3
Jivi (Bay 94-9027)	Damoctocog alfa pegol	Bayer	FVIII deplecionado de dominio B pegilado (PEG 60 kDa)	BKH	18,7
N8-GP	Turoctocog alfa pegol	Novo Nordisk	FVIII deplecionado de dominio B pegilado (PEG 40 kDa)	CHO	19
FIX					
Alprolix	rFIXFc Efrtronacog alfa	Biogen/Sobi	FIX fusionado al fragmento FC de la IgG1	HEK	82,1
Idelvión	Albutrepenacog alfa	CSL Behring	FIX unido a albumina recombinante	CHO	102
Refixia	Nonacog beta-pegol.	Novo Nordisk	FIX pegilado (PEG 40kDa)	CHO	96,3

Aunque la evidencia disponible es muy alentadora, deben usarse con precaución, ya que en los estudios clínicos se han producido efectos adversos. Con el emicizumad se han descrito púrpura trombótica trombocitopénica y trombosis venosa cuando se administraron conjuntamente con CCPA en 5 pacientes, y con el fitusiran, trombosis de los senos venosos en un paciente recibiendo FVIII. La hemostasia normal depende de un delicado equilibrio entre mecanismos procoagulantes y anticoagulantes. Los nuevos agentes con dianas terapéuticas en anticoagulantes naturales (antitrombina), dirigidos contra el inhibidor de la vía del factor tisular (TFPI) o potenciadores de la activación del FX, se han desarrollado con el fin de reequilibrar el defecto hemostático existente en la hemofilia, pero en presencia de otros efectos adversos o potenciadores de la hemostasia pueden causar episodios trombóticos o microangiopatías.

El emicizumab (AC910, Hemlimbra®) ya está disponible en nuestro país. Es un anticuerpo IgG4/k, bifenotípico, que reconoce con uno de sus brazos el dominio 1 del factor de crecimiento epidérmico (FCE), localizado en el FIX/FIXa, y, con el otro brazo, el dominio 2 del FCE en el FX/FXa, simulando la función del FVIII como coenzima en el complejo tenasa de la coagulación. Su perfil farmacocinético es muy bueno, con una biodisponibilidad por vía subcutánea del 100% y una vida media de 3 a 4 semanas. En los resultados del estudio clínico en fase 3 en el que se incluyeron 109 pacientes adultos con inhibidor se observó una reducción de los ABR del 87% (2,9 episodios en el grupo de profilaxis frente a 23,3 episodios en el grupo sin el anticuerpo, $p < 0,001$). Un 63% de los pacientes en profilaxis no tuvieron ningún episodio hemorrágico (14). En hemofilia sin inhibidor, en los pacientes que recibieron profilaxis con 1,5 mg/kg quincenal o 3 mg/kg mensual el ABR fue 1,5 y 1,3, respectivamente, mientras que en el grupo

sin profilaxis fue de 38,2 episodios anuales. La reducción de los episodios fue del 96% y 97%, respectivamente ($p < 0,001$) (15).

Fitusiran (ALN-AT3) es una molécula pequeña de interferencia del RNA (siRNA) que inhibe y degrada la SERPIN C1 mRNA en el hepatocito, reduciendo los niveles de antitrombina (AT). En el estudio en fase 1 y 2 se observaron reducciones del ABR de 9,7 a 5,4 en 39-56 días y de los niveles de AT del 79 al 89% (16).

Concizumab (mAb 2021) es un anticuerpo monoclonal diseñado para inhibir el dominio 2 KPI en el TFPI que se une al FXa. La inhibición del TFPI impide el freno que controla la activación del FT/FVIIa (factor tisular/factor VII activado), que activa el FXa en las fases iniciales de la coagulación. Actualmente se encuentran en marcha estudios con este producto en pacientes con hemofilias A y B con y sin inhibidor (17).

Futuro

El interés por la terapia génica ha resurgido con fuerza, paralelamente al avance de diferentes innovaciones tecnológicas, al tratarse de un acercamiento potencialmente curativo. Las hemofilias A y B son candidatos ideales para la terapia génica por: a) ser enfermedades monogénicas; b) ambos genes han sido clonados y se conoce su estructura; c) incrementos leves o moderados de los niveles de ambos factores reducen significativamente el fenotipo hemorrágico; y d) la eficacia de la terapia puede ser fácilmente determinada midiendo los niveles de la proteína en plasma.

La forma más eficaz de introducir genes terapéuticos en células somáticas diana –proceso denominado *transducción*– es el uso de virus que actúan como vectores por su capacidad de transferir su propio ADN en los ciclos celulares. Las células diana pueden transferirse en cultivos *ex vivo* o *in vivo* en el interior

Tabla II. Terapias modificadoras de la hemostasia (no concentrados de las proteínas deficitarias) (10)				
Tipo	Fármaco	Mecanismo de acción	Ventajas	Desventajas
Inhibición de la antitrombina	Fitusirán	siRNA de interferencia contra la antitrombina	Dosis subcutánea mensual. Eficaz en hemofilias A y B. Eficaz en pacientes con inhibidor	Niveles variables de antitrombina posinyección. 1 trombosis fatal con uso simultáneo del fármaco con FVIII
	En desarrollo			
Anticuerpo monoclonal contra el TFPI	Concizumab	Unión al dominio K del TFPI	Subcutáneo. Eficaz en pacientes con inhibidor. Eficaz en hemofilias A y B	Farmacocinética no lineal en modelos animales
	En desarrollo			
FVIII mimético	Emicizumab (Hemlibra)	Anticuerpo IgG4 con actividad similar a la del FVIII como coenzima	Inyección semanal subcutánea. Eficaz paciente con hemofilia A ± inhibidor	No para pacientes con hemofilia B. Efectos adversos: PTT y trombosis en combinación con CCPa

siRNA: molécula de interferencia en el RNA; TFPI: inhibidor de la vía del factor tisular; PTT: púrpura trombótica trombocitopénica; CCPa: concentrado del complejo protrombínico activado.

de los órganos. En estudios iniciales con vectores no virales, retrovirus o adenovirus no se consiguió una expresión del gen suficiente para alcanzar niveles terapéuticos. Los vectores de adenovirus asociados (AAV) recombinantes son los más prometedores en hemofilia. Estos vectores tienen un buen perfil de seguridad, ya que no son patógenos en humanos y porque se integran en el endosoma y no en el genoma de la célula. Además, carecen de secuencias codificantes virales completas, lo que reduce la respuesta inmune frente a proteínas virales extrañas (18).

En los primeros estudios se infundió un vector AAV2, conteniendo el gen del FIX mediante infusiones intramusculares múltiples o dispensación directa en la arteria hepática. Se alcanzó una expresión transitoria de aproximadamente el 4%. Además, se observó que la presencia de anticuerpos neutralizantes anti-AAV2 presentes antes de la transferencia bloqueaba la transducción, lo que se traducía en una baja expresión. También se constató que la expresión declinaba a las 4 semanas coincidiendo con un incremento transitorio de las transaminasas, que relacionaron como una consecuencia de un efecto de los linfocitos T citotóxicos frente a la cápsula del vector. Las conclusiones de estos estudios sugerían que tanto la respuesta inmune humoral como celular limitaban la expresión del gen (18).

Con el objeto de incrementar la expresión génica se han llevado a cabo investigaciones posteriores, como:

- La investigación de nuevos subtipos de AAV.
- El uso del FVIII deplecionado del dominio B, que reduce el tamaño en un 30% y permite su introducción en AAV con una capacidad limitada a 4680 kDa.
- La inclusión de un promotor híbrido hepático (HLP) o codón de optimización asociado al gen terapéutico que incrementa la expresión en el hígado.
- El uso de mutaciones con ganancia de función, como es la R338L, conocida como Padua, en el FIX.
- Empleo de esteroides para limitar la respuesta inmune celular.

Gracias a estos avances, en 2017 se publicaron los resultados de dos estudios con terapia génica, uno en hemofilia A y otro en hemofilia B, que han sido la base para la aprobación por las agencias FDA y EMA de los respectivos estudios clínicos de fase 3 (19,20).

En el primero, a 7 hemofílicos graves se infundió una dosis única de 6×10^{13} vector genes (vg)/kg de un codón optimizado de AAV5 codificado con el gen del FVIII deplecionado del dominio B. La actividad del FVIII después de la transferencia génica fue > 5 UI/dL en los 7 pacientes. En 6 de ellos, el incremento fue superior al valor normal (> 50 UI/dL), y se mantuvo la respuesta durante el año de seguimiento. El ABR medio fue 1, con un cese de los episodios hemorrágicos a partir de la semana 22. El principal efecto adverso fue el incremento de la alanina aminotransferasa 1,5 veces por encima del valor normal (19).

En el segundo estudio se infundieron 5×10^{11} vg/kg a 10 pacientes con hemofilia B en niveles de FIX $< 2\%$ de AAV con un promotor con especificidad hepática y la variante Padua (FIX-R338L) del gen del FIX. La media de FIX obtenido tras la transferencia fue $33,78 \pm 18,5\%$ (rango de 14-81). Durante el seguimiento (492 semanas) el ABR medio fue 0,4 y el uso de concentrados se redujo de 2908 UI/kg utilizados previamente a la infusión a 49,3 UI/kg tras la terapia génica. 8 de los 10 pacientes no precisaron la administración de FIX por no presentar episodios hemorrágicos. En dos participantes también se objetivó un incremento asintomático de las enzimas hepáticas (20).

La edición de genes es una técnica molecular reciente que corrige el defecto endógeno o integra directamente el gen terapéutico. La corrección del gen defectuoso sin tocar el resto del genoma se basa en el sistema de reparación genética existente en el organismo humano, y emplea enzimas CRISP-CAS de bacterias de forma que una nucleasa escinde de forma guiada el ADN alterado retirándolo y ofreciendo a la célula un segmento nuevo sano. Este novedoso acercamiento está siendo ya investigado para corregir mutaciones endógenas en el gen *F9*.

Conclusiones

Los avances claves en el tratamiento de la hemofilia que han permitido en los 30 últimos años alcanzar la posible cura de esta enfermedad hereditaria han sido:

1. El crioprecipitado, por ser el primer acercamiento terapéutico disponible para el tratamiento de los episodios hemorrágicos, permitir las cirugías y reducir la mortalidad.
2. Los concentrados plasmáticos, que permitieron la fabricación a gran escala, mejoraban la eficacia, permitían el tratamiento domiciliario y fueron la base para los programas de profilaxis.
3. La clonación de los genes del *FVIII* y *FIX*, que permitió la fabricación de productos recombinantes altamente seguros y que facilitaron la expansión de la profilaxis.
4. La obtención de concentrados de *FVIII* con depleción del dominio B, por ser la base para la posterior terapia génica.
5. La introducción de agentes baipás para el tratamiento de pacientes con inhibidores.
6. Los concentrados con vida media extendida, que permiten reducir el número de infusiones e incrementar los niveles valle mejorando la eficacia y la calidad de vida.
7. Los productos modificadores de la hemostasia, anticuerpos monoclonales y moléculas de interferencia del RNA (siRNA), que permiten incrementar la generación de trombina en ausencia de *FVIII* o *FIX* y se administran por vía subcutánea.
8. La terapia génica, posible cura de la enfermedad.

Bibliografía

1. Martín Villar J, Ortega F, Magallón M. Clinical aspects and therapy of hemophilia. Introduction. *Sangre (Barc)* 1979;24(5-C):906-10.
2. Biggs R. Thirty years of Haemophilia treatment in Oxford. *Br J Hematol* 1967;13(4):452-63.
3. Pool JG, Shannon AE. Production of high-potency concentrates of antihemophilic globulin in a close-bag system. *N Engl J Med* 1965;273(27):1443-7.
4. Franchini M. The modern treatment of haemophilia: a narrative review. *J Thromb Haemost* 2013;11(3):178-82.
5. Nilsson IM. Experience with prophylaxis in Sweden. *Semin Hematol* 1993;30(3,Suppl.1):16-9.
6. Mannucci PM. Hemophilia and related bleeding disorders: a story of dismay and success. *Hematology (Am Soc Hematol Educ Program)* 2002;1-9.
7. Gitschier J, Wood WWJ, Goralka TM, et al. Characterization of human factor VIII gene. *Nature* 1954;312:326-30.
8. Vehar Ga, Keyt B, Eaton D, et al. Structure of human factor VIII. *Nature* 1954;312:337-42.
9. Toole JJ, Pittmann DD, Orr EC, et al. A large region (\approx 95 KDa) of human factor VIII is dispensable for in vitro procoagulant activity. *Proc Natl Acad USA* 1986;83(16):5939-42.
10. Ling G, Nathwani AC, Tuddenham GD. Recent advances in developing specific therapies for haemophilia. *Br J Hematol* 2018;181:162-72.
11. Powell JS, Pasi KJ, Ragni MV, et al. Phase 3 study of recombinant factor IX product, trenonacog alfa in previously treated haemophilia B patients. *N Engl J Med* 2013;369:3213-23.
12. Santagostino E, Martinowitz U, Lissitchkov T, et al. Long-acting recombinant coagulation factor IX albumin fusion protein (rIX-FP) in haemophilia B: results of a phase 3 trial. *Blood* 2016;127:1761-9.
13. Collins PW, Young G, Knobe K, et al. Recombinant long-acting glycoPEGylated factor IX in haemophilia B: a multinational randomized phase 3 trial. *Blood* 2014;124:3880-6.
14. Oldenburg J, Mahlangu JN, Kim B, et al. Efficacy of emicizumab prophylaxis in hemophilia A with inhibitor. *N Engl J Med* 2017;377(9):809-18.
15. Mahlangu J, Oldenburg JN, Paz-Priatel, et al. Efficacy of emicizumab prophylaxis in patients who have hemophilia A without inhibitors. *N Engl J Med* 2018;379(9):811-22.
16. Pasi KJ, Rangarajan S, Georgiev P, et al. Targeting of antithrombin in hemophilia A or B with RNAi therapy. *N Engl J Med* 2017;377:819-28.
17. Chowdhury P, Lethagen S, Friederich U, et al. Safety and pharmacokinetics in healthy volunteers and patients with hemophilia: a randomized first human dose trial. *J Thromb Haemost* 2015;13:743-54.
18. Nathwani AC, Davidoff AM, Tuddenham EGD. Gene therapy for hemophilia 2017;31:853-68.
19. Rangarajan S, Walsh L, Lester W, et al. AAV5-factor VIII gene transfer in severe hemophilia A. *N Engl J Med* 2017;377(26):2519-30.
20. George CA, Sullivan SK, Giermasz A, et al. Hemophilia B gene therapy with a high-specific-activity factor IX variant. *N Engl J Med* 2017;377(23):2215-27.

Programa Educacional

Hemostatic biomarkers in patients with cancer

Anna Falanga^{1,2}, Marina Marchetti¹

¹Department of Immunohematology and Transfusion Medicine. Hospital Papa Giovanni XXIII. Bergamo, Italy. ²School of Medicine. University of Milan Bicocca. Milan, Italy

Hypercoagulability and cancer

Patients with cancer frequently present with abnormalities of laboratory coagulation tests, namely a subclinical hypercoagulable condition, and a high incidence of thrombotic complications. The interaction between tumor cells with the different constituents of hemostatic system is responsible for the conversion of the intravascular milieu into a prothrombotic, proinflammatory, and pro-adhesive environment in a patient with cancer (1,2). Hypercoagulability in cancer increases the risk of thromboembolic complications, which actually occur at high rate compared to non-cancer population (3). Consequently, a number of hemostatic biomarkers have been investigated, either singularly or in combination with other variables, for their capacity to predict venous thromboembolism in cancer patients (4,5).

Nevertheless, the mechanisms of hemostasis that are critically involved in thrombosis are also implicated in tumor progression, angiogenesis, and metastatic spread (2). Notably, the laboratory abnormalities of hemostasis described in these patients worsen with cancer progression, which is consistent with a tight relation between tumor burden and clotting deregulation. This cross-talk existing between cancer and the hemostatic system has stimulated the assessment of hemostatic parameters as predictive factors of cancer disease outcomes. Specifically, in the last few decades, several studies have been performed in cancer patients with the goal of evaluating hemostatic markers in relation to overall survival, disease-specific survival, disease-free survival, progression-free survival, and tumor response to therapies (6).

Role of hemostatic biomarkers in cancer outcomes

Many hemostatic biomarkers have been studied in relation to cancer outcomes, ranging from standard clotting test to more sophisticated hemostatic assays, assessed alone or in combination of two or more variables. Among these, fibrinogen and D-dimer can be certainly considered as the most evaluated, probably due to the availability of these assays in most hospitals, their low cost, and their use in pre-operative routine laboratory screening. Overall, data agree on a significant association between elevated D-dimer and/or fibrinogen levels with poor prognosis in patients with different types of cancer. Furthermore, most of these studies point to a strong association of these biomarkers with cancer outcome, even independently from venous thromboembolism.

The plasminogen activator system includes urokinase-type plasminogen activator (u-PA) and its receptor (u-PAR), tissue PA (t-PA) and type 1 and 2 inhibitors (PAI-1 and PAI-2). These proteins have a role in tumor invasion and metastasis (7), and have

been studied as potential tumor biomarkers both in cancer tissue specimens and in plasma (8). Currently, tumor tissue u-PA and PAI-1 are among the best-validated prognostic biomarkers in lymph node negative breast cancer. Although no significant correlation for uPA, uPAR and PAI-1 between plasma/serum and tumor tissue could be demonstrated, several studies found that pre-operative plasma levels uPAR and PAI-1 can predict poor prognosis in colorectal, ovarian, or breast cancer.

Tissue factor (TF), the main initiator of the blood coagulation cascade, is constitutively expressed by different tumor cells (9). Expression of TF by tumor tissues was an independent prognostic indicator for overall survival in breast cancer (10) and for disease-free survival in osteosarcoma (11). Under pathological conditions, plasma TF can be detected at increased concentration in association to cellular derived microparticles (MP) expressing also the procoagulant phosphatidylserine (12). A potential diagnostic value of MP-TF activity has been suggested in women with suspected ovarian cancer (13), whereas in pancreatic cancer, MP-TF activity is a biomarker for a poorly differentiated and invasive cancer and poor survival (14,15). Among the soluble forms of TF, alternatively spliced TF in plasma of pancreatic cancer patients may predict aggressive tumor phenotype (16). TFPI, the main inhibitor of TF, exhibits antiangiogenic and antimetastatic effects (17). The expression of TFPI-2 by tumor tissues inversely related to an increasing degree of malignancy. Low TFPI-2 protein expression in tumor tissues is an independent prognostic factor for poor disease-free survival and overall survival in pancreatic carcinoma, and of cancer progression, recurrence and poor overall survival after surgery in breast cancer.

Less investigated thrombotic biomarkers for cancer outcomes include antithrombin, Protein C and endothelial protein C receptor (EPCR), as well as coagulation gene polymorphisms (18). In a large case-control study, carriers of the antithrombotic FXIII Val34Leu polymorphism had a 15% reduced risk of developing colorectal cancer compared to non-carriers (OR = 0.85; 95% CI, 0.74-0.97), while no risk were associated with PAI-1 4G/5G, MTHFR 677C>T, and fibrinogen gamma 10034C>T. In another case-control study SNPs in FV, FX and EPCR were associated to breast cancer susceptibility. In colorectal cancer, the inherited homozygous CC polymorphism of TFPI (-33T --> C) predicted for improved disease-free survival.

The HYPERCAN study

The HYPERCAN (“HYPERcoagulation and CANcer”) is an ongoing prospective, multicenter, observational study specifically designed to evaluate whether hypercoagulation might be an inno-

vative tool for risk assessment, early diagnosis and prognosis in cancer (ClinicalTrials.gov # NCT0262281) (19). Started on January 2012, it includes two main projects. In project 1, thrombotic markers are assessed for cancer risk prediction in healthy subjects, while, in project 2, thrombotic markers are assessed in patients with breast, NSCLC, CRC, or gastric cancer to predict for OS, PFS, RFS, response to therapy, and occurrence of VTE. Different thrombotic biomarkers are evaluated, including D-dimer, fibrinogen, thrombin generation, TF, prothrombin fragment 1 + 2 (F1 + 2), MP procoagulant activity, coagulation factor polymorphisms, t-PA, PAI-1, FVIII and FXIII. In project 1, 9,000 healthy blood donors have been enrolled so far, and the enrollment is ongoing to reach the 10,000 subjects 'accrual. In project 2, a total of 3,970 cancer patients has been enrolled, including subjects with limited resected tumors, locally advanced tumors, and metastatic disease. Preliminary data show, for the first time, that measurement of thrombin generation may help in identifying patients at high risk of early disease recurrence in women with limited resected tumors, candidate to systemic chemotherapy. Further studies are worth to validate the prognostic role of thrombin generation (20).

Conclusions

Clotting-fibrinolytic system activation in cancer is common and represents an unfavorable clinical sign. A substantial amount of data suggests that hemostatic biomarkers might be of potential utility in predicting cancer outcomes. However, most of these studies are retrospective in nature and not specifically designed to address the role of hemostatic biomarkers in cancer disease, recruitment is often mono-institutional, and includes small heterogeneous cohorts of patients with different local and systemic treatments, and, in most of the cases, the study design includes a single time point measurement, and cut-off values are derived from specific study populations and, therefore, not easily extrapolated. In conclusion, except from tumor-tissue uPA and PAI-1, that have achieved a high level of validation in breast cancer, all biomarkers' evaluations need to be standardized at analytical levels, rely on well-established cut-off values, and clinically validated by means of prospective clinical trials.

Acknowledgements

The HYPERCAN project is funded by AIRC "5xMILLE" n. 12237 grant from the "Italian Association for Cancer Research (AIRC)".

References

- Shoji M, Hancock WW, Abe K, et al. Activation of coagulation and angiogenesis in cancer: immunohistochemical localization in situ of clotting proteins and vascular endothelial growth factor in human cancer. *Am J Pathol* 1998;152(2):399-411.
- Falanga A, Marchetti M, Russo L. The mechanisms of cancer-associated thrombosis. *Thrombosis Research* 2015;135(Suppl.1):S8-S11.
- Timp JF, Braekkan SK, Versteeg HH, et al. Epidemiology of cancer-associated venous thrombosis. *Blood* 2013;122(10):1712-23.
- Khorana AA, McCrae KR. Risk stratification strategies for cancer-associated thrombosis: an update. *Thrombosis Research* 2014;133(Suppl.2):S35-8.
- Falanga A, Russo L. Epidemiology, risk and outcomes of venous thromboembolism in cancer. *Hamostaseologie* 2012;32(2):115-25.
- Falanga A, Marchetti M. Hemostatic biomarkers in cancer progression. *Thrombosis Research* 2018;164(Suppl.1):S54-S61.
- Mengele K, Napieralski R, Magdolen V, et al. Characteristics of the level-of-evidence-1 disease forecast cancer biomarkers uPA and its inhibitor PAI-1. *Expert Rev Mol Diagn* 2010;10(7):947-62.
- Duffy MJ, Harbeck N, Nap M, et al. Clinical use of biomarkers in breast cancer: Updated guidelines from the European Group on Tumor Markers (EGTM). *Eur J Cancer* 2017;75:284-98.
- Marchetti M, Diani E, ten Cate H, et al. Characterization of the thrombin generation potential of leukemic and solid tumor cells by calibrated automated thrombography. *Haematologica* 2012;97(8):1173-80.
- Ueno T, Toi M, Koike M, et al. Tissue factor expression in breast cancer tissues: its correlation with prognosis and plasma concentration. *British J Can* 2000 Jul;83(2):164-70.
- Tieken C, Verboom MC, Ruf W, et al. Tissue factor associates with survival and regulates tumour progression in osteosarcoma. *J Thromb Haemost* 2016;115(5):1025-33.
- Falanga A, Tartari CJ, Marchetti M. Microparticles in tumor progression. *Thrombosis Research* 2012;129(Suppl.1):S132-6.
- Claussen C, Rausch AV, Lezius S, et al. Microvesicle-associated tissue factor procoagulant activity for the preoperative diagnosis of ovarian cancer. *Thrombosis Research* 2016;141:39-48.
- Bharthuar A, Khorana AA, Hutson A, et al. Circulating microparticle tissue factor, thromboembolism and survival in pancreaticobiliary cancers. *Thrombosis Research* 2013;132(2):180-4.
- Thaler J, Ay C, Mackman N, et al. Microparticle-associated tissue factor activity in patients with pancreatic cancer: correlation with clinicopathological features. *Eur J Clin Invest* 2013;43(3):277-85.
- Unruh D, Sagin F, Adam M, et al. Levels of Alternatively Spliced Tissue Factor in the Plasma of Patients with Pancreatic Cancer May Help Predict Aggressive Tumor Phenotype. *Ann Surg Oncol* 2015;22(Suppl.3):S1206-11.
- Amirkhosravi A, Meyer T, Amaya M, et al. The role of tissue factor pathway inhibitor in tumor growth and metastasis. *Semin Thromb Hemost* 2007;33(7):643-52.
- Tinholt M, Sandset PM, Iversen N. Polymorphisms of the coagulation system and risk of cancer. *Thrombosis Research* 2016;140(Suppl.1):S49-54.
- Falanga A, Santoro A, Labianca R, et al. Hypercoagulation screening as an innovative tool for risk assessment, early diagnosis and prognosis in cancer: the HYPERCAN study. *Thrombosis Research* 2016;140(Suppl.1):S55-9.
- Marchetti M, Masci G, Verzeroli C, et al. OC-1a: A prospective study of hemostatic biomarkers to predict early recurrence in high-risk breast cancer women undergoing post-surgical adjuvant systemic therapy. *Thrombosis Research* 2017;151(Suppl.1):S103.

Manejo de las mujeres con alteraciones de la hemostasia durante el embarazo y el parto

Nuria Fernández Mosteirín, José Manuel Calvo Villas

Sección de Trombosis y Hemostasia. Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza

Introducción

Durante el embarazo se producen una serie de cambios en el sistema hemostático de la mujer con dos objetivos fundamentales: mantener la función placentaria durante la gestación y evitar un sangrado excesivo en el momento del parto (1).

Estos cambios, consistentes en un incremento de algunos factores de coagulación, descenso de algunos de los anticoagulantes naturales, reducción de la fibrinólisis y un incremento de la reactividad plaquetaria, tienen como resultado un estado de hipercoagulabilidad. La actividad procoagulante es máxima en el momento del expulsivo y el alumbramiento debido a la liberación de sustancias con actividad trombolítica. Si los mecanismos hemostáticos en el tercer estadio del parto no son eficientes, el riesgo de hemorragia materna grave es elevado dado el alto flujo placentario al final de la gestación (1,2).

La presencia de una coagulopatía subyacente puede marcar el curso de la gestación y del puerperio, lo que afecta al modo de finalización de la gestación y al manejo de la analgesia y de la anestesia, así como a la prevención de la enfermedad tromboembólica en mujeres con trombofilia congénita o adquirida asociada (3).

Cambios fisiológicos de la hemostasia durante el embarazo

Durante la gestación se altera el equilibrio dinámico entre coagulación y fibrinólisis, y predomina el efecto procoagulante.

En la fase de alumbramiento, durante el proceso de desprendimiento de la placenta, un flujo de sangre materna de aproximadamente 700 ml/min debe ser controlado por el efecto combinado de la contracción del miometrio placentario, *miotaponamiento* y el *trombotaponamiento*, a nivel de las ligaduras de Pinard (3).

Los cambios en la hemostasia que se producen durante el embarazo se resumen en la [tabla I](#). La cifra de plaquetas se encuentra dentro de los límites de normalidad durante el embarazo no complicado, aunque suele ser ligeramente inferior a la de la mujer no embarazada. Las causas por las que se produce este descenso no están bien establecidas: puede deberse a la hemodilución fisiológica que ocurre durante el embarazo, a la destrucción temprana por inmunocomplejos y al consumo en la unidad fetoplacentaria (1). Durante la gestación aumentan la mayoría de los factores procoagulantes; en algún caso, alcanzan niveles superiores al 100%, otros disminuyen o no varían y, en el caso del FXIII, presentan una distribución bimodal. Paralelamente, se produce el descenso de algunos de los anticoagulantes naturales. Se observa una resistencia a la proteína C activada en torno a la mitad de las mujeres durante la gestación (1,4). Asimismo, la actividad fibrinolítica está disminuida durante el embarazo y el parto. A pesar de ello, los niveles de dímero-D se encuentran elevados, sobre todo en la fase final de la gestación (1). Habitualmente los cambios observados en los parámetros de hemostasia se normalizan en torno a la sexta-octava semanas después del parto (2).

Factor	Cambio	Tiempo de normalización
Fibrinógeno, FII, FVII, FVIII, FvW, FX, FXII	Incremento (incremento inicial FII y normalización posterior)	6-8 semanas posparto. FvW 4 semanas postparto
FXI, FXIII	Reducción 40-50 % (incremento inicial FXIII)	6-8 semanas posparto
Antitrombina	Reducción de un 20-30 % (nadir 12 h posparto)	72 horas posparto
Proteína S	Reducción (total, libre y actividad)	6-8 semanas posparto
Plaquetas	Reducción (habitualmente > 100 000/microL)	3-4 semanas posparto
Fibrinólisis	Reducción actividad fibrinolítica Aumento PAI-1 (placenta y decidua) Aumento PAI-2 Reducción tPA	6-8 semanas posparto
Dímero-D	Incremento	6-8 semanas potparto
Proteína C, FV y FIX	Sin cambios	

FvW: factor de Von Willebrand; PAI: inhibidor del plasminógeno; tPA: activador tisular del plasminógeno.

Trastornos de la hemostasia durante la gestación

Las pacientes con trastornos hemorrágicos (TH) congénitos y/o adquiridos pueden presentar durante la gestación, el parto y el puerperio un incremento de las complicaciones hemorrágicas (5). Por otro lado, las mujeres con trombofilia congénita y/o adquirida subyacente presentan un mayor riesgo de desarrollar complicaciones tromboembólicas (6) (Fig. 1).

Trastornos hemorrágicos

Hereditarios

En muchos casos, este tipo de alteraciones se diagnostican con anterioridad a la gestación, con frecuencia en el contexto de un sangrado menstrual abundante. En pacientes con un TH congénito subyacente, el sangrado gestacional precoz puede aparecer con frecuencia en el contexto de pérdidas fetales antes de la semana 20, embarazo ectópico, enfermedad trofoblástica gestacional, placentación anómala y hemorragia anteparto (sangrado vaginal desde la semana 20 hasta el parto). La hemorragia durante la fase más avanzada de la gestación puede deberse a la presencia de placenta previa o *abruptio*. La hemorragia posparto (HPP) puede tener lugar en las primeras 24 horas posparto (HPP primaria) o entre las 24 horas y las 12 semanas posparto (HPP secundaria) (7). La HPP en mujeres con y sin TH es la causa de mortalidad materna más frecuente (7,8). Tras el parto, los factores de coa-

gulación descienden rápidamente a niveles basales previos a la gestación; por ello, estas pacientes presentan un mayor riesgo de HPP primaria y secundaria (8). Además, estas mujeres presentan un mayor riesgo de sangrado en el contexto de procedimientos invasivos, como biopsia de vellosidades coriónicas, amniocentesis, anestesia neuroaxial y cesárea (7).

Debido a la baja frecuencia de los TH congénitos, las recomendaciones de las distintas guías de consenso muestran un nivel bajo de evidencia (8,9).

Portadoras de hemofilia

Los niveles de factor VIII o factor IX en mujeres portadoras de hemofilia son variables. Esto se debe a un fenómeno fisiológico de inactivación del cromosoma X (lionización) que tiene lugar de manera precoz durante la fase embrionaria de la gestación. Si uno de los cromosomas tiene un gen anómalo (*F8* o *F9*), en el caso de que en la mayoría de las células el inactivado sea el cromosoma X con el gen normal, el nivel de factor estará descendido (< 50%) y la mujer podrá presentar sintomatología hemorrágica similar, a la de un varón hemofílico leve. Las portadoras de hemofilia A con niveles de FVIII < 60% pueden mostrar una mayor tendencia hemorrágica (9).

Hay momentos durante la gestación en los que puede existir un mayor riesgo de hemorragia, lo que requiere un abordaje multidisciplinar y un manejo específico de estas pacientes (9,10) (Tabla II).

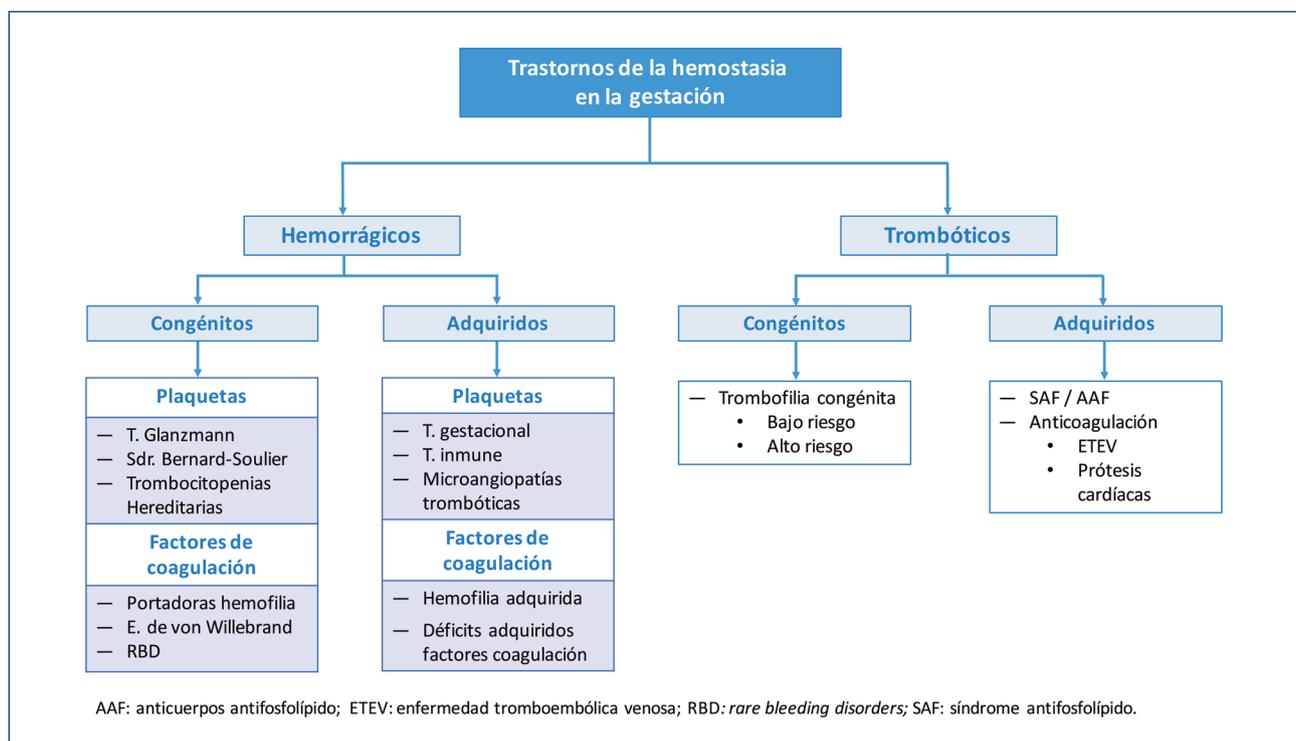


Figura 1. Trastornos de la hemostasia durante la gestación.

Tabla II. Riesgo hemorrágico y manejo de portadoras durante la gestación

Riesgo hemorrágico			
Primer trimestre	2.º-3.º trimestres	Final de la gestación	Puerperio
Abortos, legrados Diagnóstico prenatal (amniocentesis, biopsia vellosidades)	Placenta previa Desprendimiento de la placenta Cordocentesis	Tipo de anestesia • Neuroaxial • General Vía de finalización • Vaginal • Cesárea	Hemorragia posparto cuando los niveles revierten a valores basales
Recomendaciones generales			
Documentar durante la pubertad condición de portadora			
Documentar niveles de FVIII y FIX al realizar estudio de condición de portadora			
Ofrecer asesoramiento genético antes de la gestación			
Recomendaciones específicas			
Abordaje multidisciplinar durante la gestación			
Determinación de sexo fetal prenatal o preimplantacional*			
<ul style="list-style-type: none"> • Diagnóstico preimplantacional (estudio de células embrionarias tras fecundación <i>in vitro</i>) • Diagnóstico prenatal: <ul style="list-style-type: none"> – Sexo fetal en sangre materna (semana 9) – Biopsia de vellosidades coriales (semanas 11-14) – Amniocentesis (semana 15 o > 34 semanas para manejo clínico en fetos varones) 			
Determinación de niveles de factor en el 1.º trimestre, semanas 28 y 34, previo a procedimientos invasivos			
*Se ofrecerá la posibilidad de realizar diagnóstico prenatal/preimplantacional principalmente en portadoras de hemofilia grave			
Mantener niveles de FVIII/FIX > 50% ante procedimientos invasivos o pérdidas fetales espontáneas			
<ul style="list-style-type: none"> • DDAVP 0,3 µg/kg iv cada 12-24 h para incrementar niveles de FVIII (vigilar hiponatremia y taquiflaxia) • FVIII recombinante si ausencia de respuesta conocida a DDAVP o niveles de FVIII insuficientes • FIX recombinante si niveles < 50% • Ácido tranexámico coadyuvante o en monoterapia si niveles de factor > 50% 			
Mantener niveles objetivo de FVIII/FIX en torno al 100% durante el trabajo de parto			
Elaborar un plan de parto conjunto (obstetras, anestesistas y neonatólogos) disponible a partir de la semana 37			
No contraindicación para anestesia neuroaxial garantizando niveles de factor > 50%			
Cesárea si indicación obstétrica, evitando trabajo de parto prolongado			
Evitar monitorización fetal invasiva y parto instrumentado			
Mantener durante el puerperio niveles de FVIII/FIX > 50% un mínimo de 3 días tras parto vía vaginal o 5 días si parto instrumentado o cesárea. Asociar ácido tranexámico hasta disminución de loquios			
Desde el punto de vista del manejo neonatal, si feto varón no estudiado, se actuará como si se tratase de varón afecto hasta confirmación			
*Se ofrecerá la posibilidad de realizar diagnóstico prenatal/preimplantacional principalmente en portadoras de hemofilia grave. Desde el punto de vista del manejo neonatal, si feto varón no estudiado, se actuará como si se tratase de varón afecto hasta confirmación.			

Enfermedad de von Willebrand

La enfermedad de Von Willebrand (EvW) es el trastorno hemorrágico más frecuente. Clínicamente existe una amplia variabilidad dependiendo del subtipo de EvW (11). En mujeres, el síntoma de presentación más frecuente es el sangrado menstrual abundante, con una prevalencia en torno al 5-20%. La presencia de hipermenorrea en estas pacientes es un síntoma predictor de complicaciones hemorrágicas (12).

Los niveles de factor Von Willebrand (FvW) se incrementan de manera fisiológica durante la gestación en pacientes con y sin EvW y experimentan un rápido descenso en torno al tercer día posparto, con un nadir entre la primera y la tercera semana después del parto, aunque existe una importante heterogeneidad entre pacientes (11). Alrededor del tercer trimestre de gestación más de la mitad normalizan la actividad del FvW y los niveles de FVIII. Sin embargo, en pacientes con EvW tipo 2B puede observarse un incremento de la trombocitopenia secundaria al aumento del FvW disfuncional, al igual que en el tipo 2N, en el que los niveles de FVIII no se incrementan. Las pacientes con EvW tipo 3 mantienen niveles descendidos de FvW y FVIII durante la gestación (9,11).

Datos retrospectivos indican que la probabilidad de sangrado anteparto es mayor en mujeres con EvW, aunque este hallazgo no se ha asociado a un incremento de recién nacidos pretérmino ni al número de muertes fetales intraútero (9,11). Asimismo, la HPP primaria aparece en un 15-30% de mujeres con EvW y la secundaria, en un 25% (9). El riesgo de HPP parece asociarse más estrechamente a la actividad de FVIII que a la de FvW. Se observa también una mayor incidencia de hematoma perineal (11,12).

En general, las mujeres con niveles basales de FvW y FVIII superiores al 30% alcanzarán cifras normales al finalizar la gestación. Niveles de cofactor de ristocetina (FvW:RCO) superiores al 50% permiten la finalización de la gestación vía vaginal y la administración de anestesia neuroaxial (11). Las recomendaciones acerca del manejo en estas pacientes se detallan en la [tabla III](#).

Trastornos hemorrágicos hereditarios poco frecuentes

Los TH hereditarios poco frecuentes, conocidos por su término anglosajón, *rare bleeding disorders (RBD)*, afectan a menos 1 de cada 500 000 individuos y presentan un patrón de herencia autosómica recesiva, aunque en algunos casos de déficit de FXI y disfibrinogenemia su herencia puede ser autosómica dominante.

Tabla III. Recomendaciones sobre el manejo de la gestación en mujeres con EvW

Aspectos relacionados	Actividad FvW deseada	Recomendaciones
Manejo seguro de la gestación	-	Establecer fenotipo hemorrágico previo Determinar respuesta a DDAVP previo a gestación Manejo multidisciplinar
Niveles hemostáticos FvW:Rco y FVIII	> 50%	Monitorizar niveles basales en el tercer trimestre y previo a procedimientos invasivos
Procedimientos invasivos prenatales	> 50%	Administrar <i>DDAVP</i> o <i>concentrados de FvW</i> (pico de actividad FvW 100%) previo a procedimiento. Repetir dosis a las 12-24 h si alto riesgo hemorrágico Evitar DDAVP en caso de preeclampsia y mantener restricción hídrica (1 l durante las 24 h posadministración) No recomendado DDAVP si tipo 2B (trombocitopenia secundaria) DDAVP y fenómeno de taquifilaxia
Manejo intraparto	> 50%	Finalización vía vaginal espontánea salvo indicación obstétrica <i>ATX</i> : (dosis 1 g) monoterapia si actividad FvW > 50% previo expulsivo ± <i>DDAVP</i> o <i>concentrados de FvW</i> : si actividad FvW < 50% y lo más próximo posible al expulsivo. Monitorización pretratamiento y postratamiento <i>Transfusión de plaquetas</i> : ocasionalmente en tipo 2B
Anestesia neuroaxial	> 50%	<i>Tipo 1</i> : sí, si actividad FvW normalizada en el tercer trimestre o tras recibir tratamiento <i>Tipo 2</i> : sí, solo si actividad FvW > 50% <i>Tipo 2N</i> : sí, solo si niveles FVIII > 50% <i>Tipo 3</i> : evitar Catéter epidural: monitorizar niveles y administrar tratamiento si precisa previo a retirada
Posparto	> 50%	Mantener niveles de actividad de FvW y FVIII > 50% durante 3 días posparto vaginal no complicado o 5 días poscesárea <i>ATX</i> : dosis 1 g/6-8 h durante 7-14 días <i>Concentrados de FvW</i> : tipo 3 mantener 2-3 semanas posparto Control de hemoglobina y hematocrito Si indicación de tromboprofilaxis: HBPM solo si adecuada corrección de actividad de FvW y FVIII. Métodos mecánicos si contraindicación

Su prevalencia es variable, aunque es mayor en aquellas poblaciones en las que la consanguinidad es más elevada (8,13).

Desde el punto de vista clínico, los pacientes homocigotos o doble heterocigotos pueden presentar tendencia hemorrágica. El sangrado menstrual abundante, las pérdidas fetales espontáneas y el sangrado durante el parto se ha observado en aproximadamente un 20% de estas mujeres (13).

La escasa frecuencia de los RBD ha derivado en un escaso conocimiento acerca de su etiopatogenia y su historia natural. Además de la amplia variabilidad clínica, en algunas deficiencias, como el déficit de FV, FVII y FXI, existe una débil asociación entre la actividad coagulante residual y la clínica hemorrágica, por lo que el nivel de factor no predice de forma consistente el riesgo hemorrágico en estas pacientes. En algún caso, como el déficit de FXI, otros parámetros que permiten determinar el fenotipo hemorrágico son los antecedentes hemorrágicos personales y/o familiares, la mutación genética y el perfil de generación de trombina (9). Asimismo, el nivel hemostático mínimo de factor de coagulación difiere en cada una de las deficiencias, por lo que los RBD no pueden considerarse como un único tipo de trastorno. Los aspectos específicos de cada déficit de factor deben evaluarse individualmente (13,14).

Existen pocos datos publicados acerca del manejo prenatal y en el periparto en pacientes afectadas por estos trastornos. Ade-

más, en el caso de deficiencias leves de algunos factores (FVII, FVIII y FX), el incremento fisiológico durante la gestación puede dar lugar a la normalización de sus niveles (8). Las características clínicas y medidas terapéuticas de este tipo de trastornos se describen en las [tablas IVa y IVb](#) (9).

Trastornos plaquetarios hereditarios

Existen otras coagulopatías congénitas poco frecuentes con impacto clínico en mujeres durante la gestación y el puerperio. Entre ellas, se incluyen las trombocitopatías congénitas. Las más características son la trombostenia de Glanzmann (TG), el síndrome de Bernard-Soulier (SBS) y las trombocitopenias hereditarias. El manejo terapéutico de estas situaciones se resume en la [tabla V](#).

Trombostenia de Glanzmann

Es un trastorno autosómico recesivo que resulta en el déficit de la glicoproteína de membrana GpIIb/IIIa, asociada a una tendencia hemorrágica aumentada. Puede complicarse con el desarrollo de aloanticuerpos tras la exposición a plaquetas de donante en el 25-80% de los pacientes (8). La TG se ha asociado a sangrado antenatal, a HPP primaria y secundaria (9).

Tabla IVa. Características clínicas de las gestantes con RBD

Tipo de déficit	Herencia/ Frecuencia	Características clínicas
FXI	ar 1 de cada 10 ⁶ individuos (superior en judíos askenazis)	Según estudios retrospectivos, los antecedentes hemorrágicos maternos son el mejor predictor de HPP independientemente del nivel de factor Riesgo de HPP incrementado en homocigotas y doble heterocigotas. Superior en pacientes con fenotipo hemorrágico previo Según un estudio reciente, las pacientes con grupo sanguíneo 0 presentan un riesgo superior de HPP Sin incremento del riesgo de pérdidas fetales. Sí mayor cuantía del sangrado tras finalización de gestación o aborto en mujeres con fenotipo hemorrágico
FII	1 de cada 2 × 10 ⁶ individuos	Dos casos publicados Presencia de hemorragia anteparto, pérdidas fetales y HPP a pesar de tratamiento profiláctico
FV	1 de cada 10 ⁶ individuos	Déficit grave: mayor riesgo de sangrado en el momento del parto y HPP, así como pérdidas fetales recurrentes. Déficit combinado de FV y FVIII asociado con la presencia de HPP
FVII	ar 1 de cada 500 000 individuos	Presencia de sangrado antenatal, HPP y pérdidas fetales Las mujeres con ausencia de antecedentes hemorrágicos no parecen presentar un mayor riesgo de sangrado
FX	-	Presencia de hemorragia antenatal, HPP y mala historia obstétrica
FXIII	1 de cada 2 × 10 ⁶ individuos	Mayor incidencia de pérdidas fetales y HPP Escasez de datos en la literatura acerca del empleo de anestesia neuroaxial en estos casos
Fibrinógeno	Afibrinogenemia: ar Disfibrinogenemia: AD	Clínica hemorrágica (afibrinogenemia); hemorrágica o trombótica (disfibrinogenemia) Ambas presentan mayor riesgo de desarrollar patología placentaria Sangrado anteparto, HPP, trombosis venosa y pérdidas fetales. Múltiples casos de desprendimiento de placenta en el segundo y tercer trimestre (disfibrinogenemia)

Tabla IVb. Recomendaciones sobre el manejo de la gestación en mujeres con RBD

Tipo de déficit	Niveles patológicos	Nivel deseado	Tratamiento	Recomendaciones
Fibrinógeno	< 0,5 g/L	1-1,5 g/L	ATX: dosis 1 g/6 h. Monoterapia si sangrado menor <i>Concentrado de fibrinógeno plasmático</i> : dosis óptima 15-25 mL/kg HBPM: profilaxis de ETEV antenatal y posparto, en caso de bajo riesgo hemorrágico y alto riesgo trombótico	<i>Anteparto</i> . Realizar profilaxis antenatal con fibrinógeno 50-100 mg/kg 2 veces por semana si < 0,5 g/L para mantener niveles > 1 g/L. <i>Parto</i> . Administrar dosis adicional de fibrinógeno para niveles > 1,5 g/L tras inicio de trabajo de parto <i>Puerperio</i> . Valorar administrar fibrinógeno para niveles > 1,5 g/L durante 3 días <i>Anestesia neuroaxial</i> . No debe realizarse procedimiento en mujeres con antecedentes hemorrágicos personales y/o familiares. En el resto de pacientes solo si administración previa de tratamiento sustitutivo y confirmación de normalización de niveles
FII	< 20%	20-40%	ATX: dosis 1 g/6 h. Monoterapia si sangrado menor o en combinación con CCP	<i>Anteparto</i> . Realizar profilaxis antenatal si FII < 10% <i>Parto</i> . Administrar CCP 20-40 UI/kg si niveles FII < 20% y trabajo de parto, previo a cesárea o sangrado activo <i>Puerperio</i> . Valorar administrar CCP e 10-20 UI/kg durante 3 días para mantener niveles de FII > 20% <i>Anestesia neuroaxial</i> . No debe realizarse procedimiento salvo administración previa de tratamiento sustitutivo y confirmación de normalización de niveles
FV	< 20%	20-40%	ATX: dosis 1 g/6 h. Monoterapia si sangrado menor o en combinación con PFC PFC: dosis óptima 15-25 mL/kg <i>Plaquetas</i> : fuente adicional de FV y asociada a PFC <i>rFVIIa</i> : en caso de reacción alérgica a PFC	<i>Antenatal/parto</i> . Administrar PFC 15-25 mL/kg si FV < 20% y trabajo de parto, previo a cesárea o sangrado activo. Valorar transfusión de plaquetas si sangrado grave y previo a cesárea <i>Puerperio</i> . Valorar administrar PFC 10 mL/kg 12 h durante 3 días para mantener niveles de FV > 20% <i>Anestesia neuroaxial</i> . No debe realizarse procedimiento salvo administración previa de tratamiento sustitutivo y confirmación de normalización de niveles
FVII	< 20%	Tratamiento sustitutivo si déficit grave (FVII < 10%) o historia de sangrado	ATX: dosis 1 g/6 h. Monoterapia si sangrado menor <i>rFVIIa</i>	<i>Antenatal/parto</i> . Administrar rFVIIa 15-30 µg/kg si FVII < 20% y antecedentes de historia hemorrágica previo a cesárea o sangrado activo <i>Puerperio</i> . Valorar administrar rFVIIa 15-30 µg/kg / 4-6 h durante 3-5 días poscesárea <i>Anestesia neuroaxial</i> . No debe realizarse procedimiento salvo administración previa de tratamiento sustitutivo y confirmación de normalización de niveles
FX	< 30%	> 40%	CCP <i>Concentrado de FX</i>	<i>Anteparto</i> . Realizar profilaxis antenatal con CCP o concentrado de FX 20-30 UI/kg 2-3 veces por semana si FX < 10% y antecedentes de mala historia obstétrica y/o antecedentes de clínica hemorrágica recurrente <i>Parto</i> . Administrar CCP o concentrado de FX 20-40 UI/kg si FX < 30% y antecedentes hemorrágicos y/o previo a cesárea <i>Puerperio</i> . Valorar administrar CCP o concentrado de FX 10-20 UI/kg/24 h durante 3 días para mantener niveles de FX > 30% <i>Anestesia neuroaxial</i> . No debe realizarse procedimiento salvo administración previa de tratamiento sustitutivo y confirmación de normalización de niveles

FXI + FVIII	FV < 20%		ATX: dosis 1 g/6 h. Monoterapia si sangrado menor o en combinación con PFC PFC: dosis óptima 15-25 mL/kg FVIII recombinante	Antenatal/parto. Administrar PFC 15-25 mL/kg si FV < 20% y trabajo de parto, previo a cesárea o sangrado activo. Administrar FVIII: si FVIII < 50% en tercer trimestre Puerperio. Valorar administrar PFC 10 mL/kg/12 h durante 3 días para mantener niveles de FV > 20% Anestesia neuroaxial. No debe realizarse procedimiento salvo administración previa de tratamiento sustitutivo y confirmación de normalización de niveles
FXI	< 15-20%	Pobre correlación Niveles y hemorragia	ATX: monoterapia sangrado menor Debe evitarse su uso concomitante con concentrados de FXI debido al teórico riesgo trombótico PFC: contiene cantidades variables de FXI. Efectos adversos: reacciones alérgicas, transmisión de agentes infecciosos, riesgo trombótico y desarrollo de inhibidores en pacientes homocigotos Concentrado de FXI: evitar superar FXI > 70% (riesgo trombótico) rFVIIa: dosis óptima desconocida. Aislados casos reportados	Anteparto. No suele ser necesario administrar tratamiento hemostático salvo cirugía o sangrado activo tras pérdida fetal o procedimiento quirúrgico Parto y puerperio. Profilaxis en caso de homocigotas o doble heterocigotas, historia previa de HPP o fenotipo hemorrágico previo. En el resto de situaciones la actitud puede ser expectante, con ATX en monoterapia y tratamiento sustitutivo con FXI en caso de clínica hemorrágica Anestesia neuroaxial. No debe realizarse dicho procedimiento salvo administración previa de tratamiento profiláctico en caso de FXI < 10-20% e historia hemorrágica previa o fenotipo hemorrágico desconocido
FXIII	< 30%		Concentrado FXIII plasmático Concentrado FXIII recombinante (subunidad A)	Anteparto. Realizar profilaxis antenatal si déficit grave, con concentrado de FXIII 20-40 UI/kg 21-28 días para mantener FXIII > 20% y antecedentes de mala historia obstétrica y/o antecedentes de clínica hemorrágica personal y/o familiar Parto. Administrar concentrado de FXIII 10-40 UI/kg dosis única previo a cesárea o trabajo de parto Anestesia neuroaxial. Escasez de datos en la literatura

Tabla V. Recomendaciones sobre el manejo de la gestación en mujeres con TG y SBS

Tipo de trastorno	Tratamiento	Recomendaciones
TG	<ul style="list-style-type: none"> • ATX: dosis 1 g/6 h • Plaquetas HLA compatibles • rFVIIa: dosis 90 µg/kg/2 h durante 3 dosis. En pacientes con anticuerpos anti GpIIb/IIIa y/o HLA, o antecedentes de refractariedad plaquetar	Anteparto/parto. Administrar plaquetas HLA compatibles tras inicio de trabajo de parto o rFVIIa si refractariedad plaquetar o anticuerpos anti GpIIb/IIIa o HLA Puerperio. Administrar ATX hasta resolución de loquios. Transfusión de plaquetas en caso de sangrado. Anestesia neuroaxial. No debe realizarse procedimiento dada respuesta no predecible a la transfusión de plaquetas
SBS	<ul style="list-style-type: none"> • ATX: dosis 1 g/6 h • Plaquetas HLA compatibles • rFVIIa: dosis 90 µg/kg/2 h durante 3 dosis. En pacientes con anticuerpos anti Gplb y/o HLA, o antecedentes de refractariedad plaquetar	Anteparto/parto. Administrar plaquetas HLA compatibles tras inicio de trabajo de parto o rFVIIa si refractariedad plaquetar o anticuerpos anti Gplb o HLA Puerperio. Administrar ATX hasta resolución de loquios. Transfusión de plaquetas en caso de sangrado Anestesia neuroaxial. No debe realizarse procedimiento dada respuesta no predecible a la transfusión de plaquetas

Síndrome de Bernard-Soulier

Es un trastorno autosómico recesivo caracterizado por una adhesión plaquetaria anómala secundaria al déficit del complejo de membrana GpIb-IX-V que se asocia a una expresión hemorrágica variable. Se ha reportado la presencia de HPP primaria y secundaria en un tercio de las gestaciones, así como episodios de sangrado a pesar de soporte transfusional de plaquetas (9).

Trombocitopenias hereditarias

A pesar del avance en el diagnóstico molecular de entidades como los trastornos relacionados con la mutación del gen *MYH9*, la trombocitopenia relacionada con mutación de *ANKRD26*, las macrotrombocitopenias con disminución de la expresión de *ITGB3* y la macrotrombocitopenia familiar asociada a mutaciones en el gen *ACTN1*, entre otras, su prevalencia sigue siendo baja. El grado de trombocitopenia y los antecedentes hemorrágicos maternos predicen el riesgo de HPP y la necesidad de soporte transfusional. La transfusión profiláctica de plaquetas principalmente en formas graves parece ser efectiva en reducir la incidencia de hemorragia (15).

Adquiridos

Trombocitopenia adquirida

La presencia de trombocitopenia (recuento plaquetario $< 150 \times 10^9/L$) se observa en un 5-10% de mujeres durante la gestación o el posparto inmediato. La identificación de la etiología es fundamental dado que, incluso en ausencia de clínica hemorrágica, la cifra de plaquetas es crítica a la hora de decidir tanto el tipo de anestesia como el modo y la vía de finalización de la gestación (16). La frecuencia y las características generales de las causas de trombocitopenia durante el embarazo se observan en la *figura 2* y en la *tabla VI* (17).

Trombocitopenia gestacional

Es la causa más frecuente de trombocitopenia en el embarazo. A pesar de su elevada prevalencia, se trata de un diagnóstico de exclusión y su mecanismo fisiopatológico no está claro (efecto dilucional secundario al aumento del volumen plasmático gestacional, respuesta insuficiente a la eritropoyetina, incremento del aclaramiento plaquetario, aumento del consumo plaquetario a nivel placentario y cambios en la expresión del FvW y en la actividad ADAMTS13). No suele requerir tratamiento dado que, solo de manera excepcional, la cifra de plaquetas desciende por debajo de niveles considerados hemostáticos para la administración de anestesia neuroaxial y en el momento del parto (16).

Trombocitopenia inmune

Es la causa más frecuente de cifra de plaquetas $< 50 \times 10^9/L$ en el segundo y el tercer trimestre, aunque puede detectarse en cualquier momento de la gestación. La incidencia de esta entidad es de un caso por cada 1000-10000 gestaciones. En torno al 35% de las pacientes son diagnosticadas por primera vez durante

Tabla VI. Causas de trombocitopenia durante la gestación	
Relacionadas con la gestación	
Trombocitopenia gestacional	Trombocitopenia leve ($> 100 \times 10^9/L$) Más frecuente al final de la gestación No trombocitopenia fetal Recurrencia en gestaciones futuras
CID	Presencia de patología de base (desprendimiento de placenta, embolismo líquido amniótico, placenta accreta, etc.) Asocia alteraciones de la hemostasia y otras citopenias
Microangiopatías asociadas a la gestación	Preeclampsia/HELLP Hígado graso agudo del embarazo Microangiopatía trombótica mediada por complemento (SHU atípico) PTT hereditaria
No relacionadas con la gestación	
PTI	Si trombocitopenia leve diagnóstico diferencial con trombocitopenia gestacional
Trombocitopenia hereditaria	Posible alteración de la morfología plaquetaria Ocasional asociación posibles malformaciones (radio)
Infección	VIH, VHC, VEB y otros agentes infecciosos
LES / SAF	Mayor riesgo de brotes durante la gestación
Inducida por fármacos	Heparina, quinina, valproico, etc.
SHU o PTT adquirida	Antecedente de cuadro diarreico en el SHU
Otras causas	Hiperesplenismo Déficit vitamina B ₁₂ o folatos

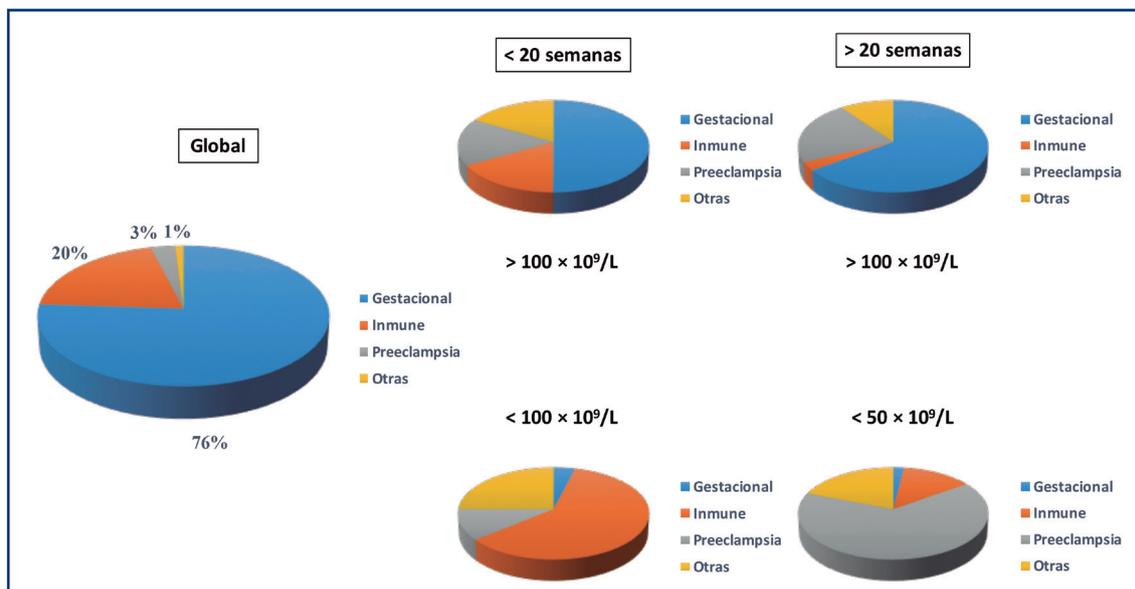


Figura 2. Prevalencia de las distintas causas de trombocitopenia durante la gestación.

el embarazo. El diagnóstico es de exclusión y no se recomienda la determinación de anticuerpos antiplaquetarios de rutina (16). La morbilidad materna y las complicaciones hemorrágicas son bajas y no se correlacionan con la cifra de plaquetas. Solo un tercio de las pacientes requiere medidas terapéuticas (16,17) (Fig. 3).

Microangiopatías trombóticas

Las microangiopatías trombóticas en el embarazo se asocian con frecuencia a un súbito y rápido deterioro del estado clínico materno y fetal. Es necesario un adecuado diagnóstico diferencial, ya que el manejo difiere según las distintas situaciones (17) (Tabla VII).

Déficits adquiridos de factores de coagulación

Están mediados por autoanticuerpos, son poco frecuentes y pueden presentarse a lo largo de todo el embarazo. Generalmente el déficit es grave y se asocia a clínica hemorrágica. Un claro ejemplo es la hemofilia adquirida, que puede aparecer al finalizar la gestación o en los primeros 3 meses posparto. No existe correlación entre las manifestaciones clínicas y los niveles de FVIII o el título de inhibidor del FVIII. El tratamiento se basa en la erradicación del inhibidor (inmunosupresión) y el control de los sangrados empleando agentes hemostáticos baipás (17).

Trastornos trombóticos

El riesgo de enfermedad tromboembólica venosa (ETE) aumenta durante la gestación debido a los cambios fisiológicos de

la hemostasia, unido a otros cambios físicos (estasis venosa de extremidades inferiores debido a compresión uterina, compresión de vena ilíaca izquierda, menor movilidad y finalización de la gestación mediante cesárea) (6).

Hereditarios

El principal factor de riesgo de ETE en mujeres con trombofilia hereditaria es la historia personal o familiar en primer grado de ETE. Este riesgo es superior en mujeres portadoras de determinadas trombofilias congénitas (o adquiridas), sobre todo en casos de defectos combinados (6) (Tabla VIII). El objetivo del manejo de estas mujeres es la prevención de la ETE (Tabla IX). En caso de indicación de tratamiento anticoagulante, este debe iniciarse en el primer trimestre de la gestación y suspenderse al comienzo del trabajo de parto o antes de la inducción o de la cesárea programada para minimizar el riesgo de complicaciones hemorrágicas. En el posparto, si está indicado, el tratamiento con heparina debe iniciarse en el puerperio inmediato (4-6 horas posparto), aunque este intervalo es superior en casos de mayor riesgo hemorrágico (cesárea o tras retirada de catéter epidural) (18).

Adquiridos

Síndrome antifosfolípido

El síndrome antifosfolípido (SAF) es un trastorno autoinmune sistémico caracterizado por el antecedente de trombosis venosa y/o arterial y pérdidas fetales en el contexto de la presencia de anticuerpos antifosfolípidos (Tabla X). El riesgo trombótico es superior en pacientes con positividad para anticoagulante lúpico, título

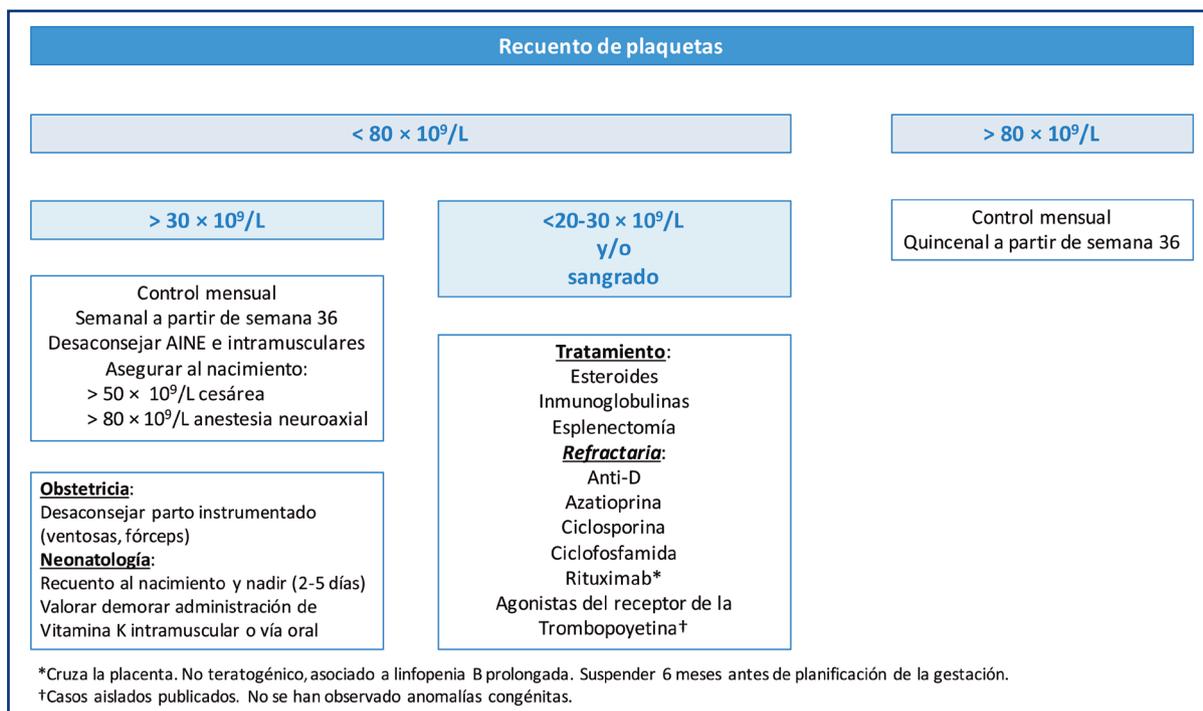


Figura 3. Seguimiento y tratamiento de la trombocitopenia inmune durante el embarazo.

Tabla VII. Características y manejo de las microangiopatías trombóticas en el embarazo				
	Preeclampsia / HELLP	PTT	SHU	HGAE
Tensión arterial elevada	+++	+	+	++ (50% de los casos)
Clínica neurológica	+ / ++	+++	+	+
Fiebre	-	- / +	- / +	-
Tendencia hemorrágica	-	- / +	-	-
Trombocitopenia	+ / ++ (> 50 × 10 ⁹ /L)	+++ (< 20 × 10 ⁹ /L)	+ (< 100 × 10 ⁹ /L)	+
Daño renal	+ / ++	+ / ++	+++	++ / +++
Disfunción hepática	+	- / +	- / +	+++
Coagulopatía	- / +	-	-	+++
LDH	+	+ / +++	+ / ++	+++
Anemia hemolítica microangiopática	+	+ / +++	+ / ++	+
Hipoglucemia	-	-	-	+
Actividad ADAMTS13	Normal	< 10%	> 20-30%	> 30%
Comienzo	3.º trimestre	2º-3.º trimestres	Posparto	3.º trimestre
Tratamiento	Finalizar gestación	PTTc: PFC PTTa: plasmaféresis TIS 2.ª línea	SHUa: eculizumab PFC (55-80% respuestas) Diálisis 80% SHU-TS: soporte	Finalizar gestación Soporte transfusional
Recurrencia	Sí Profilaxis AAS	> 50% Profilaxis PFC Plasmaféresis si ADAMTS13 < 5-10% (datos limitados)	10-30% (depende de mutación subyacente)	Sí (25%) ar; alteración oxidación mitocondrial de ácidos grasos

Tabla VIII. Estratificación del riesgo de ETV	
Riesgo trombótico	
Bajo riesgo	Heterocigoto FV Leiden Heterocigoto mutación G20210A de la protrombina Déficit de proteína C Déficit de proteína S
Alto riesgo	Homocigoto FV Leiden Homocigoto mutación G20210A de la Protrombina Doble heterocigoto FV Leiden/G20210A Protrombina Déficit de antitrombina
Factores de riesgo asociados	Antecedente ETV en familiar primer grado Otros factores de riesgo trombótico (obesidad, inmovilización prolongada y cesárea)

medio-alto de anticuerpos anticardiolipina y triple positividad de anticuerpos antifosfolípido. El enfoque terapéutico del SAF en las gestantes dependerá de la existencia de trombosis previa y de la necesidad de anticoagulación oral indefinida (19,20) (Fig. 4).

Anticoagulación durante la gestación

Un subgrupo de gestantes puede precisar tratamiento anticoagulante durante la gestación, incluyendo, entre otras, mujeres con alto riesgo de ETEV y portadoras de prótesis valvulares.

Los potenciales efectos teratogénicos, la complejidad en el ajuste de dosis, así como el manejo de la anticoagulación de cara al parto, hacen de la gestación una situación clínica altamente compleja. A esto hay que añadir la necesidad de asesoramiento preconcepcional en aquellas mujeres con deseo gestacional que precisan anticoagulación crónica. En general, el anticoagulante de elección es la heparina de bajo peso molecular (HBPM). Se desaconsejan los anticoagulantes orales de acción directa (ACOD) durante la gestación y la lactancia. Los fármacos antivitamina K atraviesan la placenta y son teratogénicos, por lo que están desaconsejados principalmente entre las 6 y las 12 semanas y en el momento del parto, dado que incrementan el riesgo hemorrágico (18,21). Los aspectos generales acerca del manejo del tratamiento anticoagulante durante la gestación se resumen en la tabla XI.

Conclusiones

1. Durante la gestación se producen una serie de cambios fisiológicos en el sistema hemostático de la mujer, entre los que predomina el efecto procoagulante. El objetivo fundamental es mantener la función placentaria durante la gestación y evitar un sangrado excesivo en el momento del parto.
2. Las pacientes con TH congénitos y/o adquiridos pueden presentar un incremento de las complicaciones hemorrá-

Tabla IX. Profilaxis de ETEV en gestantes con trombofilia hereditaria		
Riesgo trombótico	Manejo anteparto	Manejo posparto
Trombofilia de bajo riesgo y ausencia de historia personal de ETEV	Vigilancia clínica estrecha Anticoagulación profiláctica si factores de riesgo asociados (inmovilización, antecedente familiar, ETEV no provocada en < 50 años)	Tratamiento anticoagulante (dosis profiláctica) si cesárea
Trombofilia de bajo riesgo con historia personal de ETEV o Trombofilia de alto riesgo sin historia personal de ETEV	Tratamiento anticoagulante (dosis intermedias)	Tratamiento anticoagulante (dosis intermedias)
Trombofilia de alto riesgo* con historia personal de ETEV y tratamiento anticoagulante oral crónico	Tratamiento anticoagulante (dosis terapéuticas)	Tratamiento anticoagulante (dosis terapéuticas)

Tabla X. Criterios de clasificación de SAF (19)	
SAF será considerado si al menos un criterio clínico y un criterio de laboratorio están presentes	
Criterios clínicos	
1. Afectación vascular trombótica	
Uno o más episodios de trombosis arterial, venosa o de pequeño vaso, en cualquier órgano o tejido. Confirmada mediante criterios objetivos (histopatológicos o pruebas de imagen)	
2. Morbilidad obstétrica	
(a) Una o más muertes fetales inexplicadas de fetos morfológicamente normales más allá de la semana 1, o	
(b) Uno o más nacimientos prematuros de neonatos morfológicamente normales antes de la semana 34 de gestación debido a: i) eclampsia o preeclampsia grave, o ii) hallazgos concordantes o insuficiencia placentaria, o	
(c) Tres o más abortos consecutivos inexplicados antes de la semana 10 de gestación, en ausencia tanto de anomalías anatómicas u hormonales maternas y anomalías cromosómicas paternas o maternas	
Criterios de laboratorio:	
1. Anticoagulante lúpico:	
Presente en plasma en dos o más ocasiones, con un intervalo mínimo de 12 semanas, detectado acorde a las recomendaciones de la ISTH	
2. Anticuerpos anticardiolipina:	
IgG y/o IgM en suero o plasma, presente en título medio o alto (> 40 GPL o MPL, o > percentil 99), en dos o más ocasiones, con un intervalo mínimo de 12 semanas, cuantificados mediante un ELISA estandarizado	
3. Anticuerpos anti- 2 glicoproteína I:	
IgG y/o IgM en suero o plasma (en título > percentil 99), presente en dos o más ocasiones, con un intervalo mínimo de 12 semanas, cuantificados mediante un ELISA, acorde a los procedimientos recomendados	

- gicas durante el embarazo, el parto y el puerperio en el contexto de placentación anómala, hemorragia anteparto y/o HPP.
- El riesgo de ETEV también aumenta durante la gestación debido a los cambios fisiológicos de la hemostasia, unido a otros cambios físicos (estasis venoso, compresión de vena ilíaca izquierda, inmovilización, cesárea...).
 - Es necesaria una monitorización clínica y analítica estrecha durante la gestación, así como una adecuada estratificación del riesgo hemorrágico y/o trombótico.
 - El abordaje multidisciplinar (hematólogo, obstetra, anestesiólogo, etc.) de la gestación en estas pacientes es necesario para elaborar un plan de parto y un manejo terapéutico más adecuado.

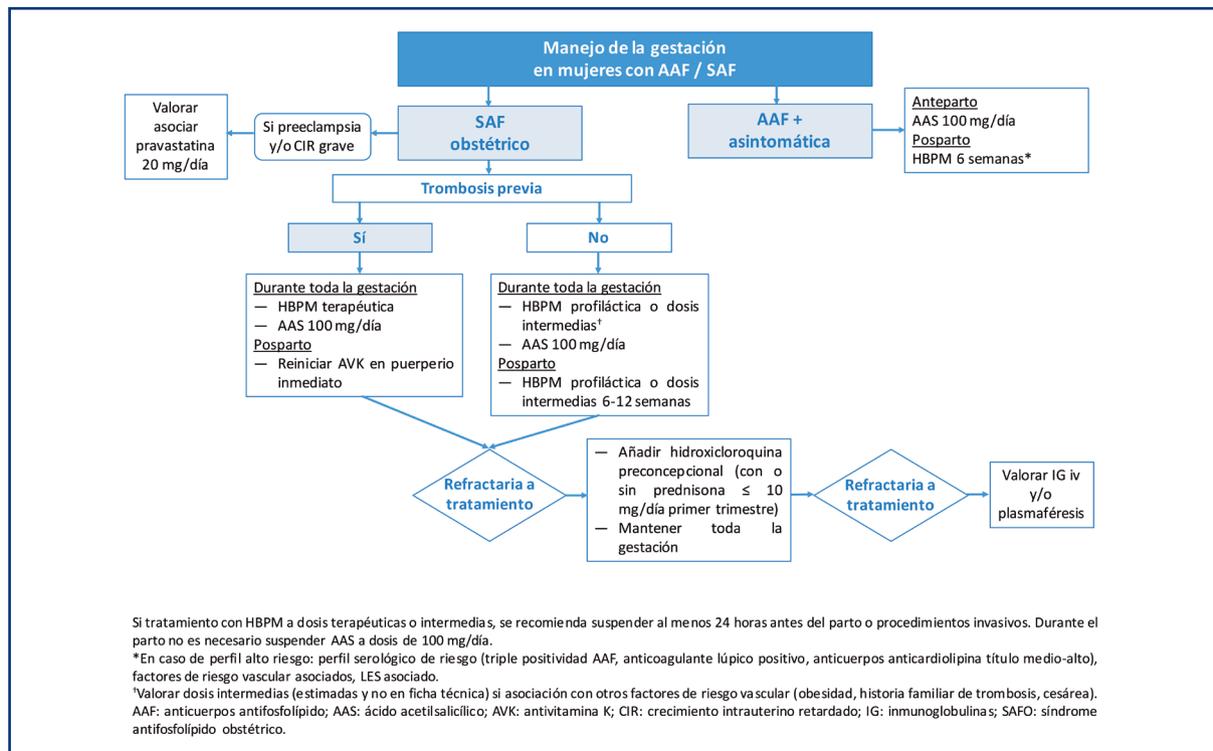


Figura 4. Manejo de las gestantes con anticuerpos antifosfolípido y SAF.

Bibliografía

- Prisco D, Ciuti G, Falciani M. Hemostatic changes in normal pregnancy. *Haematologica* 2005;1:1-5.
- Thornton P, Douglas J. Coagulation in pregnancy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2010;24:339-52.
- O'Riordan MN, Higgins JR. Haemostasis in normal and abnormal pregnancy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2003;17:385-96.
- Brenner B. Haemostatic changes in pregnancy. *Thromb Res* 2004;114(5-6):409-14.
- Huq FY, Kadir RA. Management of pregnancy, labour and delivery in women with inherited bleeding disorders. *Haemophilia* 2011;17(S1):20-30.
- ACOG Practice Bulletin N° 197: Inherited Thrombophilias in Pregnancy. *Obstet Gynecol* 2018;132:e18-e34.
- Hermans C, Kulkarni R. Women with bleeding disorders. *Haemophilia* 2018;24(Suppl.6):29-36.
- Halimeh S. Menorrhagia and postpartum haemorrhage in women with rare bleeding disorder. *Thrombosis Research* 2015;135(Suppl.1):S34-S37.
- Pavord S, Rayment R, Madan B, et al; on behalf the Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Management of inherited bleeding disorders in pregnancy. Green-top Guideline No. 71. *BJOG* 2017;124:e193-263.
- Chi C, Lee CA, Shiltagh N, et al. Pregnancy in carriers of haemophilia. *Haemophilia* 2008;14:56-64.
- Samuelson Bannow B, Konkle BA. Inherited bleeding disorders in the obstetric patient. *Transfusion Medicine Reviews* 2018;32:237-43.
- Reynen E, James P. Von Willebrand disease and pregnancy: A Review of evidence and expert opinion. *Semin Thromb Hemost* 2016;42:717-23.
- Palla R, Peyvandi F, Shapiro A. Rare bleeding disorders: diagnosis and treatment. *Blood* 2015;125:2052-61.
- Peyvandi F, Palla R, Menegatti M, et al. European Network of Rare Bleeding Disorders Group. Coagulation factor activity and clinical bleeding severity in rare bleeding disorders: results from the European Network of Rare Bleeding Disorders. *J Thromb Haemost* 2012;10:615-21.
- Noris P, Schlegel N, Klersy C, et al. Analysis of 339 pregnancies in 181 women with 13 different forms of inherited thrombocytopenia. *Haematologica* 2014;99:1387-94.
- Fogerty AE. Thrombocytopenia in pregnancy. *Transfusion Medicine Reviews* 2018;32:225-9.
- Cines DB, Levine LD. Thrombocytopenia in pregnancy. *Blood* 2017;130(21):2271-7.
- ACOG Practice Bulletin. No. 196: Thromboembolism in Pregnancy. *Obstet Gynecol* 2018;132:e1.
- Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost* 2006;4:295.
- Cáliz Cáliz R, Díaz del Campo Fontecha P, Galindo Izquierdo M, et al. Recomendaciones de la Sociedad Española de Reumatología sobre síndrome antifosfolípido primario. Parte II: síndrome antifosfolípido obstétrico y situaciones especiales. *Reumatol Clin* 2019;pii:S1699-258X(18)30255-9. DOI: 10.1016/j.reuma.2018.11.004
- Bates SM, Greer IA, Middeldorp S, et al. VTE, thrombophilia, antithrombotic therapy, and pregnancy: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis. 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest* 2012;141:e691S.

Tabla XI. Manejo del tratamiento anticoagulante durante el embarazo y puerperio

	ETE ^V	Prótesis valvulares cardíacas	
		Biológicas	Mecánicas
Preconcepcional y hasta confirmación de gestación	<ul style="list-style-type: none"> Asesoramiento preconcepcional (riesgos maternos y fetales) Realización frecuente de test de embarazo e inicio de HBPM tras confirmación si: <ul style="list-style-type: none"> Pacientes con ciclos menstruales regulares Posibilidad de realización de test de embarazo en sangre en los primeros 7 días tras primera falta Inicio de HBPM tras positividad de test de embarazo en sangre Insistir en el riesgo de teratogenicidad si anticoagulación oral > 6.ª semana de gestación 		
Anteparto	HBPM terapéutica cada 12 horas	<ul style="list-style-type: none"> AAS 75-100 mg/día* 	<ul style="list-style-type: none"> AAS 75-100 mg/día + Si riesgo de trombosis valvular: <ul style="list-style-type: none"> Primer trimestre: HBPM terapéutica cada 12 horas Semana 12-36: AVK con controles estrechos de INR NO riesgo de trombosis valvular: <ul style="list-style-type: none"> HBPM terapéutica cada 12 horas durante toda la gestación o Primer trimestre: HBPM terapéutica cada 12 horas Semana 12-36: AVK con controles estrechos de INR
Periparto	<ul style="list-style-type: none"> Recomendado abordaje multidisciplinar Se prefiere parto vía vaginal salvo indicación obstétrica de cesárea Anestesia neuroaxial: <ul style="list-style-type: none"> Última dosis de HBPM terapéutica 24 horas antes de procedimiento Última dosis de HBPM profiláctica 12 horas antes de procedimiento 	<ul style="list-style-type: none"> AAS 75-100 mg/día hasta finalización de la gestación 	<ul style="list-style-type: none"> AAS 75-100 mg/día hasta finalización de la gestación[§] HBPM terapéutica cada 12 horas desde la semana 36 hasta 24 h antes de trabajo de parto, cesárea o inducción o Si cesárea o parto inducido: <ul style="list-style-type: none"> HBPM terapéutica cada 12 horas hasta 24 h antes de cesárea/inducción Inicio de HNF a las 12 horas de última dosis de HBPM y suspender al inicio de trabajo de parto (4-6 horas antes de anestesia neuroaxial)
	<ul style="list-style-type: none"> HBPM terapéutica cada 12 horas hasta 24 h antes de trabajo de parto, cesárea o inducción[‡] o Si complicaciones obstétricas o amenaza de parto: <ul style="list-style-type: none"> HBPM terapéutica cada 12 horas hasta la semana 36-37 Inicio de HNF a las 12 horas de última dosis de HBPM y suspender al inicio de trabajo de parto (4-6 horas antes de anestesia neuroaxial) 		
Posparto	<ul style="list-style-type: none"> Retirada de catéter epidural tras 10-12 horas de última dosis de HBPM y 4-6 horas antes de reinicio de anticoagulación 	<ul style="list-style-type: none"> AAS 75-100 mg/día 	<ul style="list-style-type: none"> Reiniciar HBPM o HNF[¶] 4-6 h tras parto vaginal o 6-12 h poscesárea si no sangrado y hasta alcanzar dosis terapéuticas 24-48 h posparto vagina y 48-72 h poscesárea Reiniciar AVK al menos 48-72 h postparto y mantener HBPM/HNF hasta INR en rango
	<ul style="list-style-type: none"> Reiniciar HBPM o HNF[¶] 4-6 h tras parto vaginal o 6-12 h poscesárea si no sangrado Reiniciar AVK 24-48 h posparto y mantener HBPM/HNF hasta INR en rango 		
Monitorización antiXa	<ul style="list-style-type: none"> No indicada en dosis profilácticas o intermedias Intervalo: 1-2 semanas Objetivo: niveles 1,0-1,2 U/mL (prótesis mitral) o 0,8-1,0 U/mL (prótesis aórtica) a las 4-6 horas de administrada HBPM y niveles valle de 0,6 U/mL 		
Lactancia	<ul style="list-style-type: none"> Compatible con la toma de AVK y la administración de HBPM Desaconsejada en el caso de ACOD 		

*Si asocian factores de riesgo y necesidad de anticoagulación oral: actuación igual a prótesis mecánicas.

[†]Riesgo de trombosis valvular (≥ 1 de los siguientes factores): Fibrilación auricular o flutter asociado, complicaciones tromboembólicas previas, prótesis mecánicas valvulares múltiples y/o prótesis mitrales antiguas o de pequeño tamaño.

[‡]Pacientes sin riesgo de prematuridad o ausencia de complicaciones obstétricas.

[§]Valoración junto con anestesia de riesgo hemorrágico.

[¶]Reiniciar a dosis profiláctica las primeras 12-24 horas.

AAS: ácido acetilsalicílico; ACOD: anticoagulantes orales de acción directa; AVK: antivitamina K; HNF: heparina no fraccionada.

Complicaciones perinatales en el recién nacido con diátesis hemorrágica

María Falcón Rodríguez

Servicio de Hematología. Complejo Hospitalario Universitario Insular-Materno Infantil. Las Palmas de Gran Canaria

Introducción

En la evaluación de un neonato con sintomatología hemorrágica hay que tener en cuenta las diferencias fisiológicas del sistema hemostático del feto y del recién nacido respecto al niño mayor y al adulto. Para entender la patología hemorrágica perinatal y realizar un diagnóstico correcto de las coagulopatías congénitas, hay que conocer el concepto *developmental hemostasia*, que podemos traducir como *hemostasia en desarrollo*. Este término fue acuñado en los ochenta por Maureen Andrews para describir los cambios fisiológicos del sistema de la coagulación que ocurren desde el periodo fetal hasta la edad adulta (1,2).

Hemostasia en el neonato

La síntesis de las proteínas de la coagulación comienza entre la cuarta y la quinta semana de la gestación y aumenta gradualmente de forma paralela a la edad gestacional. Aunque todos los factores de coagulación están presentes en el neonato, la mayoría de ellos no alcanza los valores del adulto hasta los seis meses de vida, y algunos hasta la adolescencia (3).

Los niveles de los factores cambian de forma predecible con la edad (Tabla I). Los factores vitamina K dependientes, los factores de contacto y la mayoría de los inhibidores (antitrombina, cofactor II de la heparina, α -1-antitripsina, inhibidor de la vía

Tabla I. Evolución de las proteínas de la coagulación desde el nacimiento hasta la vida adulta (3)

Edad	RN	1 mes	6 meses	1-5 años	11-16 años	Adulto
Procoagulantes						
FII	Disminuido	Disminuido	Disminuido*	Disminuido*	Disminuido*	Adulto
FV	Disminuido*	Disminuido*	Disminuido*	Disminuido*	Disminuido*	Adulto
FVII	Disminuido	Disminuido*	Disminuido*	Disminuido*	Disminuido*	Adulto
FVIII	Adulto	▶				
FIX	Disminuido	Disminuido	Disminuido*	Disminuido*	Disminuido*	Adulto
FX	Disminuido	Disminuido	Disminuido*	Disminuido*	Disminuido*	Adulto
FXI	Disminuido	Disminuido	Disminuido*	Adulto	Disminuido*	Adulto
FXII	Disminuido	Disminuido	Disminuido*	Adulto	Disminuido*	Adulto
FXIII	Disminuido	Adulto	▶			
Precalcreína	Disminuido	Disminuido	Disminuido*	Adulto	▶	
HMWK	Disminuido	Adulto	▶			
Fibrinógeno	Adulto	▶				
Anticoagulantes						
Antitrombina	Disminuida	Disminuida	Adulto			
α 2 macroglobulina	Aumentada	Aumentada	Aumentada	Aumentada	Aumentada	Adulto
HCII	Disminuido	Disminuido	Aumentado	Disminuido*	Disminuido*	Adulto
Proteína C	Disminuido	Disminuido	Disminuido	Disminuido*	Disminuido*	Adulto
Proteína S	Disminuido	Disminuido	Disminuido*	Adulto†	▶	

HMWK: cininógeno de alto peso molecular; HCII: cofactor II de la heparina.

*Valores en el límite bajo de la normalidad del adulto, inferiores a la media del adulto.

†Valores en la media del adulto; un 15% de los valores son inferiores al límite bajo de la normalidad del adulto.

del factor tisular, inhibidor de la C1-esterasa, proteína C y proteína S) tienen niveles bajos al nacimiento. La mayoría de ellos alcanza niveles que se solapan con los del adulto a los seis meses de vida, aunque la media de sus valores está un 20% por debajo de los niveles de un adulto hasta la adolescencia (3).

En el momento del nacimiento, los únicos factores procoagulantes que tienen valores similares a los del adulto son el fibrinógeno, el factor (F) V y el FXIII. Los niveles de FVIII y de factor Von Willebrand (FvW) están aumentados respecto a los valores de un adulto hasta los tres meses de vida.

El principal inhibidor de la coagulación durante la infancia es la α 2-macroglobulina, cuyos valores son el doble de los del adulto y permanecen elevados hasta la tercera década de vida.

Las diferencias entre los factores de los niños y los del adulto no son solo cuantitativas: algunos factores como el fibrinógeno y la proteína C también presentan diferencias cualitativas que afectan a su función (4).

La capacidad del sistema fibrinolítico del recién nacido para generar plasmina está disminuida en comparación con la del adulto (5).

A pesar de todas estas diferencias en la concentración de las proteínas de la coagulación, la hemostasia en el niño está equilibrada y el niño sano no presenta una tendencia aumentada al sangrado ni a la trombosis (1,4).

Manifestaciones hemorrágicas en el neonato con una coagulopatía congénita hemorrágica

Nacer es el primer reto hemostático de nuestra vida. El contexto clínico en el que se producen las manifestaciones hemorrágicas del recién nacido es de gran importancia para realizar una correcta orientación diagnóstica. El sangrado de un neonato sano es sugestivo de una coagulopatía congénita hemorrágica, de déficit de vitamina K o de trombopenia inmune. En el neonato con patología es más probable que la sintomatología hemorrágica sea la consecuencia de una coagulopatía adquirida. Estas últimas son la causa más frecuente de sangrado en el periodo neonatal (6).

El sangrado de los recién nacidos con hemofilia u otras coagulopatías congénitas es una causa de morbimortalidad evitable si se realiza un diagnóstico precoz y se administra el tratamiento adecuado. Algunos estudios sugieren que entre un 15 y un 33% de las coagulopatías congénitas hemorrágicas presentan sintomatología en el periodo neonatal (7). La hemofilia, por su mayor prevalencia, es el déficit congénito de factores que con mayor

frecuencia causa clínica hemorrágica en el periodo perinatal; los déficits graves de FVII, FX, FXIII y fibrinógeno también pueden presentarse en el periodo neonatal (8).

La sintomatología hemorrágica que debe hacernos sospechar una coagulopatía congénita hemorrágica, sobre todo en los neonatos sanos a término, es (6-12):

- Sangrado extracraneal e intracraneal.
- Sangrado cutáneo generalizado o máscara equimótica.
- Sangrado persistente tras la caída del cordón umbilical.
- Sangrado excesivo después de procedimientos invasivos (venopunción, punción de talón, circuncisión...).
- Sangrado continuo en los puntos de punción.
- Hematomas tras la administración de la vitamina K, vacunas u otros fármacos intramusculares.
- Retraso en la caída del cordón umbilical.

El sangrado gastrointestinal, pulmonar o genitourinario es raro como síntoma de presentación de una diátesis hemorrágica congénita.

Hemofilia

Las hemofilias A y B son las diátesis hemorrágicas hereditarias más frecuentes después de la enfermedad de Von Willebrand (EvW) y son las que con mayor frecuencia pueden producir sintomatología en el periodo neonatal. Se han realizado varios estudios de cohortes para determinar la forma de presentación y la incidencia del sangrado en el primer mes de vida con resultados que varían desde un 10% en los estudios iniciales a un 50% en las últimas series analizadas (12) (Tabla II).

Las manifestaciones hemorrágicas del neonato con hemofilia son diferentes de las manifestaciones típicas de la hemofilia en el niño mayor, en el que predominan las manifestaciones osteoarticulares y musculares. Muchas de las manifestaciones en el periodo neonatal son iatrogénicas en su origen, secundarias a venopunciones, punción del talón para la realización del cribado neonatal o administración intramuscular de vitamina K, vacunas u otros fármacos. En la figura 1 quedan reflejadas las localizaciones más frecuentes de sangrado en el neonato con hemofilia. La manifestación más frecuente en algunas de las series analizadas es la circuncisión, ya que en algunas poblaciones aún se sigue realizando por motivos culturales en la segunda semana de vida. Donde no se realiza esta práctica la manifestación que se reporta con mayor frecuencia es el sangrado craneal.

Tabla II. Hemofílicos diagnosticados o con clínica hemorrágica durante el periodo neonatal (12)

Autor	Año	Número	Diagnóstico (%)	Sangrado (%)
Baehner and Strauss	1952-1966	192	< 10	5
Ljung, et al.	1960-1987	140	52	20
Conway and Hilgartner	1974-1989	56	68	33
Chambost, et al.	1980-1994	599	58	15*

*Solo casos de novo.

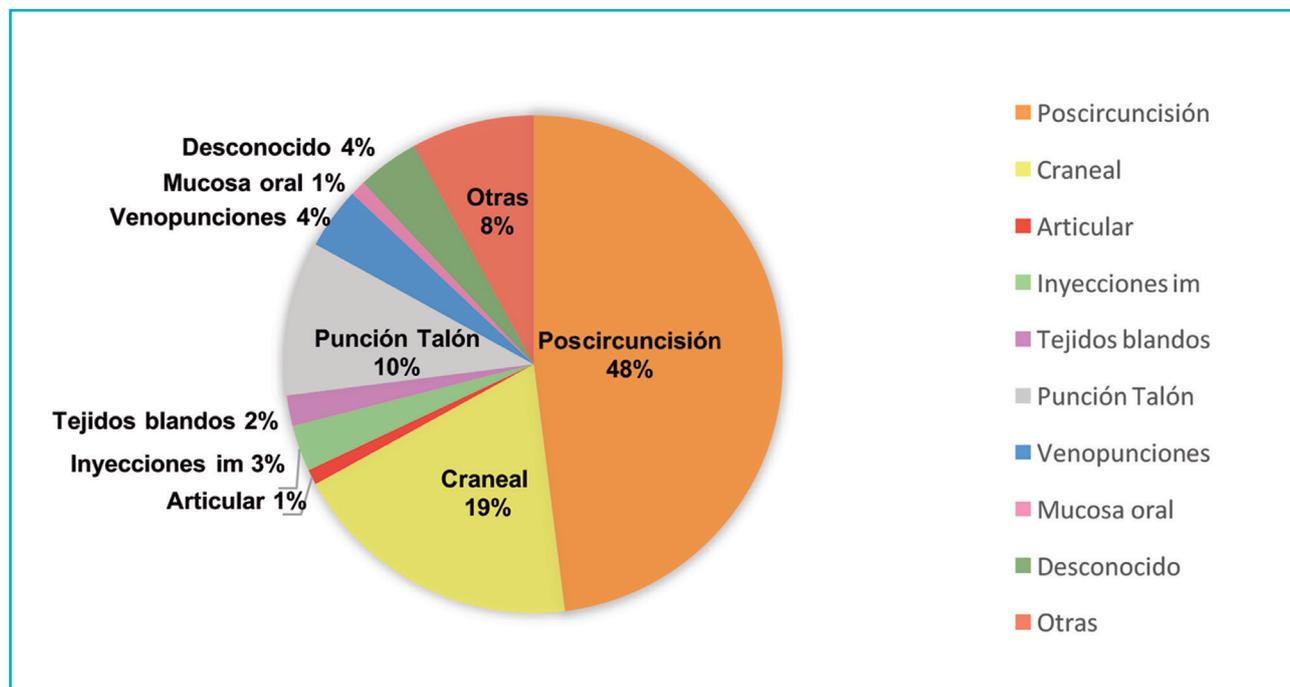


Figura 1. Localización de los episodios de sangrado en 207 neonatos con hemofilia (10).

El sangrado umbilical característico del déficit de factor XIII y fibrinógeno es raro en los niños con hemofilia (12).

Hemorragia craneal

En los neonatos con hemofilia, la hemorragia intracraneal es la principal causa de morbilidad (7). Un 3,5-4% de los neonatos con hemofilia se diagnostican de hemorragia intracraneal, una incidencia 40-80 veces superior a la de la población sana (13). Esta incidencia podría ser incluso mayor si se realizaran pruebas de imagen y se detectaran los sangrados asintomáticos (8). La edad media al diagnóstico del sangrado es de 4,5 días.

La hemorragia intracraneal es más frecuente que la extracraneal. Dentro de las hemorragias intracraneales, la localización más frecuente es la subdural (68,2%), seguida de la intracerebral (13,6%), cerebelosa (9%), subaracnoidea (4,6%) y ventricular (4,6%) (8,12).

Enfermedad de Von Willebrand

La mayoría de las formas de la enfermedad de Von Willebrand no suelen diagnosticarse en el periodo neonatal. Los pacientes con EvW tipo 3, déficit casi completo de FvW y algunas formas graves de EvW tipo 2 pueden producir sangrado mucocutáneo. Se han descrito casos aislados de hemorragia intracraneal (11).

Otros déficits de factores de coagulación

Las hemofilias A y B junto a la EvW constituyen el 95% de las deficiencias congénitas de los factores de coagulación. Exis-

ten otros déficits de factores de coagulación conocidos como trastornos raros de la coagulación, o *rare bleeding disorders*, que representan entre el 3 y el 5% de todas las deficiencias hereditarias de factor. Se incluyen en este apartado las deficiencias congénitas de fibrinógeno, FII, FV, FVII, FX, FXI, FXIII, la deficiencia combinada de FV + VIII y el déficit de factores vitamina K dependientes. Estos déficits se transmiten en su mayoría con una herencia autosómica recesiva. Globalmente tienen una prevalencia variable que oscila entre 1 de cada 500000 habitantes para el déficit de FVII, que es el más frecuente, y 1 de cada 2-3 millones para la deficiencia de FII y FXIII (13).

De estos déficits poco frecuentes de los factores de la coagulación, los déficits graves de FVII, FX, FXIII y fibrinógeno son los que con mayor frecuencia producen sintomatología hemorrágica en el periodo neonatal. Además, son los que con mayor frecuencia se asocian a hemorragia del sistema nervioso central. Los pacientes con déficit grave de factor XIII son los que presentan un mayor riesgo de sufrir esta complicación. En la deficiencia combinada hereditaria de factores vitamina K dependientes también se ha descrito la hemorragia intracraneal en etapas tempranas de la vida; por el contrario, es una complicación rara en el déficit de FII y en el de FV, y no está descrita, hasta ahora, en el déficit de XI ni en el déficit combinado de FV-FVIII (13).

Déficit congénito de fibrinógeno

La afibrinogenemia en el periodo neonatal puede presentarse como sangrado del cordón umbilical hasta en un 85% de los casos, sangrado poscircuncisión, hemorragia intracraneal o sangrado mucocutáneo (14,15).

Déficit de FII, FV, FVII, FX y FXI

El déficit de factor XI es una coagulopatía que no se asocia a sangrado grave incluso en sus formas más severas. No se ha descrito sangrado espontáneo en el periodo neonatal. Puede presentarse como un sangrado excesivo tras procedimientos invasivos e intervenciones quirúrgicas. La complicación hemorrágica más frecuente en el periodo neonatal es el sangrado tras la circuncisión (6).

Como se ha mencionado previamente, la hemorragia intracranial es una complicación grave en el déficit de FVII y FX.

Otras manifestaciones hemorrágicas asociadas a estos déficits de factores son el sangrado mucocutáneo, el sangrado tras traumatismos o los procedimientos invasivos y el sangrado del cordón umbilical.

Déficit de factor XIII.

El síntoma más característico del déficit de FXIII en el periodo neonatal es el sangrado del cordón umbilical, que ocurre en un 50-70% de los pacientes. Otros sangrados frecuentes son los sangrados cutáneo-mucosos, tras procedimientos invasivos o tras traumatismos y la hemorragia intracranial (esta última es la mayor causa de mortalidad y morbilidad a lo largo de la vida de los pacientes con este déficit) (11,16).

Diagnóstico

Ante un recién nacido sano con un sangrado patológico o cuando la clínica hemorrágica es desproporcionada a la patología del neonato debemos sospechar una coagulopatía congénita hemorrágica.

La evaluación del sistema hemostático debe realizarse de la misma forma que el resto de las patologías. El primer paso es realizar una historia clínica completa en la que se reflejarán los antecedentes obstétricos maternos, los antecedentes familiares de sangrado, origen étnico y consanguinidad (8).

En nuestra práctica diaria para realizar una correcta interpretación de los estudios de coagulación en neonatología tenemos que tener en cuenta:

Factores dependientes de la muestra: dificultad en la extracción de muestras por punción venosa, volumen adecuado a la proporción de anticoagulante o posible contaminación por anti-coagulantes.

Valores de referencia en la población pediátrica: los valores de referencia de los factores de coagulación varían con la edad y, además, son analizador y reactivo dependientes (17).

Las dificultades preanalíticas en el neonato nos obligan con frecuencia a repetir los estudios con el objetivo de confirmar los resultados, y estos siempre deben ser interpretados teniendo en cuenta los valores de referencia ajustados a la edad gestacional del neonato y a sus días de vida, así como al analizador y a los reactivos utilizados.

Cuando los estudios básicos de coagulación están alterados, el estudio debe continuarse con el objetivo de caracterizar el déficit específico de factor (8) (Tablas III y IV).

Tabla III. Orientación diagnóstica del neonato con sangrado y cifra de plaquetas normal

Estudio básico de coagulación		Factores a determinar
PT normal	aPTT alargado	HMWK, precalicreina, FXII, FXI, FIX, FVIII y FvW
PT alargado	aPTT normal	FVII
PT alargado	aPTT alargado	FX, FV, FII y fibrinógeno
PT normal	aPTT normal	FXIII, α2-antiplasmina y trombocitopatías

HMWK: cininógeno de alto peso molecular.

Tabla IV. Déficit congénitos de factores de coagulación

	FVIII	FIX	vWD	Fibrinógeno	FII	FV	FVII	FX	FXI	FXIII	FV + FVIII
Prevalencia	1/5000-10 000	1/25 000-30 000	1% de la población general	1/10 ⁶	½ × 10 ⁶	1/10 ⁶	1/500 000	1/10 ⁶	1/10 ⁶	½ × 10 ⁶	1/10 ⁶
Herencia	XR	XR	AD AR	AR AD	AR	AR	AR	AR	AR	AR	AR
Pruebas diagnósticas											
PT	N	N	N	↑↑	↑	↑	↑	↑	N	N	↑
aPTT	↑↑↑	↑↑↑	N o ↑	↑↑	↑	↑	N	↑	↑	N	↑
Niveles en neonatos*	Igual o aumentado	Disminuido	Igual o aumentado	Igual	Disminuido	Igual	Disminuido	Disminuido	Disminuido	Normal	FV Igual FVIII Igual o ↑
Correlación clínico-analítica	Alta	Alta	Alta	Alta	Débil	Débil	Débil	Alta	No	Alta	Alta

*Niveles esperados en el neonato comparados con los niveles del adulto. vWD: enfermedad de Von Willebrand; XR: recesiva ligada a X; AD: autosómica dominante; AR: autosómica recesiva. Tabla modificada de Hanmod SS, Jesudas R, Kulkarni R, et al (10).

Conclusiones

La “hemostasia en desarrollo” es un hecho relevante durante la infancia, especialmente durante el periodo neonatal y los primeros meses de la vida. Conocer los cambios que ocurren durante este periodo de la vida y tener valores de referencia adecuados a la edad, a los analizadores y reactivos de cada laboratorio es fundamental para un diagnóstico correcto de las diferentes patologías de la hemostasia en la infancia.

Aunque las coagulopatías congénitas hemorrágicas son enfermedades poco prevalentes, su diagnóstico precoz y su tratamiento adecuado son de extrema importancia para prevenir la morbilidad y la mortalidad secundaria al sangrado y a la administración de tratamientos inapropiados.

Relativo a esta presentación no hay potenciales conflictos de intereses que declarar.

Bibliografía

1. Monagle P, Massicotte P. Developmental haemostasis: Secondary haemostasis. *Semin Fetal Neonatal Med* 2011;16(6):294-300.
2. Ignjatovic V, Kenet G, Monagle P. Developmental haemostasis: recommendations for laboratories reporting paediatric samples. *J Thromb Haemost* 2012;10(2):298-300.
3. Jaffray J, Young G. Developmental Hemostasis. Clinical Implications from the Fetus to the Adolescent. *Pediatr Clin North Am* 2013;60(6):1407-17.
4. Ignjatovic V, Mertyn E, Mongale P. The coagulation system in children: developmental and pathophysiological considerations. *Semin Thromb Hemost* 2011;37(7):723-9.
5. Andrews M. The relevance of developmental Hemostasis to Hemorrhagic Disorders of Newborns. *Semin Perinatol* 1997;21(1):70-85.
6. Campbell SE, Bolton-Maggs PH. Congenital and acquired bleeding disorders in infancy. *Early Hum Dev* 2015;91(11):637-42.
7. Kulkarni R, Ponder KP, James AH, et al. Unresolved issues in diagnosis and management of inherited bleeding disorders in the perinatal period: a White Paper of the Perinatal Task Force of the Medical and Scientific Advisory Council of the National Hemophilia Foundation, USA. *Haemophilia* 2006;12(3):205-11.
8. Kenet G, Chan AK, Soucie JM, et al. Bleeding disorders in neonates. *Haemophilia* 2010;16(Suppl.5):168-75.
9. Nowak-Göttl U, Limperger V, Bauer A, et al. Bleeding issues in neonates and infants - update 2015. *Thromb Res* 2015;135(Suppl.1):S41-3.
10. Hanmod SS, Jesudas R, Kulkarni R, et al. Neonatal Hemostatic Disorders: Issues and Challenges. *Semin Thromb Hemost* 2016;42(7):741-51.
11. Jaffray J, Young G, Ko RH. The bleeding newborn: A review of presentation, diagnosis, and management. *Semin Fetal Neonatal Med* 2016;21(1):44-9.
12. Chalmers EA. Haemophilia and the newborn. *Blood Rev* 2004;18(2):85-92.
13. Tabibian S, Motlagh H, Naderi M, et al. Intracranial hemorrhage in congenital bleeding disorders. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2018;29(1):1-11.
15. Acharya SS, Dimichele DM. Rare inherited disorders of fibrinogen. *Haemophilia* 2008;14(6):1151-8.
16. Casini A, de Moerloose P, Neerman-Arbez M. Clinical Features and Management of Congenital Fibrinogen Deficiencies. *Semin Thromb Hemost* 2016 ;42(4):366-74.
17. Schroeder V, Kohler HP. Factor XIII deficiency: an update. *Semin Thromb Hemost* 2013;39(6):632-41.
18. Monagle P, Ignjatovic V, Savoia H. Hemostasis in neonates and children: pitfalls and dilemmas. *Blood Rev* 2010;24(2):63-8.s

Ponencias

Enfermedad tromboembólica venosa y arterial

COORDINADORAS: Dra. Elena Pina Pascual. Hospital Universitari de Bellvitge. Barcelona
Dra. Isabel Caparrós Miranda. Hospital Universitario Virgen de la Victoria. Málaga

En este simposio se discutirá de una manera práctica el tratamiento antitrombótico en tres escenarios complejos. Todos ellos tienen en común la dificultad en el manejo del tratamiento anticoagulante debido al frágil equilibrio entre el riesgo isquémico y el hemorrágico de estos pacientes. En este sentido, está siendo crucial disponer de datos de los anticoagulantes orales de acción directa (ACOD) para conocer si pueden aportar alguna ventaja frente al tratamiento estándar con HBPM o dicumarínicos.

Alrededor del 5-10% de los pacientes con fibrilación auricular (FA) presentan una enfermedad coronaria concomitante y requieren de procedimientos de intervención coronaria percutánea (ICP), por lo que deben ser tratados conjuntamente con un tratamiento antiagregante y anticoagulante. Aunque este tratamiento reduce claramente el riesgo de eventos tromboembólicos, puede asociarse a un incremento importante de complicaciones hemorrágicas.

La primera ponencia abordará el tema del manejo antitrombótico después de una hemorragia cerebral. El Dr. Cardona revisará los datos de los que disponemos sobre el riesgo embólico y de resangrado y su relación con el momento de reinicio del tratamiento anticoagulante. Se expondrán también qué situaciones predisponen a un mayor riesgo de hemorragia y se discutirá si los ACOD mantienen el mismo perfil de seguridad frente a los fármacos antiVitamina K que en los estudios pivotales.

En la segunda ponencia, el Dr. Trujillo analizará los resultados de los ACOD en los pacientes con trombosis asociada a cáncer de los recientes ensayos clínicos publicados que comparan rivaroxabán y edoxabán frente a dalteparina en pacientes con cáncer activo y TEV agudo. Por otro lado, se comparará con los resultados de los principales registros y series de pacientes con cáncer tratados con ACOD, teniendo en cuenta que las características de los pacientes en la vida real son diferentes de las que se incluyen en los ensayos clínicos.

En la última ponencia, el Dr. Gómez Doblado revisará la utilización de los anticoagulantes junto a la doble antiagregación en los pacientes sometidos a ICP, con especial atención a los resultados de los más recientes estudios con los ACOD.

Anticoagulación en ictus isquémico y tras hemorragia cerebral

Cardona Portela P.

Servicio de Neurología. Hospital Universitari de Bellvitge. L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona. Universitat de Barcelona. Barcelona

Anticoagulación tras un ictus isquémico en fase aguda

Los hematomas cerebrales representan el 15% de todos los ictus. La principal etiología es la hipertensión; la segunda, los antitrombóticos (ya sean anticoagulantes, antiagregantes o fármacos fibrinolíticos) y, más infrecuentemente, las malformaciones vasculares.

De los pacientes bajo tratamiento anticoagulante crónico, un 0,5-1% presentarán un sangrado cerebral con independencia del motivo por el que se anticoagularon.

El control de los factores de riesgo asociados al sangrado cerebral, como la hipertensión, el consumo de alcohol o el uso de otros fármacos, como los antiagregantes, los antiinflamatorios no esteroideos o reológicos, son importantes para minimizar el posible riesgo de sangrado atribuido a los anticoagulantes; asimismo, otros factores, como la presencia de válvula mecánica, enfermedades malignas, manipulaciones o pruebas invasivas, pueden condicionar el inicio o el retraso de la anticoagulación.

Otro factor que se relaciona con el sangrado cerebral es el inicio o el reinicio de tratamientos anticoagulantes de forma precoz en pacientes que ya han presentado un ictus isquémico extenso (definido como tal un infarto extenso de más de un tercio de la arteria cerebral media [ACM] o puntuación de < 7 en la escala de ASPECTS). Este es un marcador radiológico a tener en cuenta en el inicio de la anticoagulación en la fase aguda del ictus (primeros 7 días).

Otros signos radiológicos descritos en la RM craneal en secuencias FFE (*Fast Field Echo*), como microsangrados (*microbleeds*), que manifiestan restos de hemosiderina (subcortical en hipertensión y subcortical en angiopatía amiloide), podrían servir de marcador para evaluar el riesgo de sangrado cerebral tras prescribir un anticoagulante de forma crónica en un paciente con ictus isquémico ya establecido. El hallazgo de más de 6 microsangrados se ha relacionado con incremento de hasta 5 veces el riesgo de sangrado con anticoagulantes.

Si bien los anticoagulantes de acción directa (ACOD) parecen demostrar de forma significativa un menor número de complicaciones hemorrágicas cerebrales en los estudios pivotaes (0,2-0,3% al año), desconocemos si esta seguridad de los ACOD es extensiva a la prescripción precoz en los primeros días tras un ictus isquémico. De esta forma se han diferenciado tres escenarios para el inicio de estos fármacos: AIT (en las primeras 24 horas), ictus isquémico *minor* (a partir de las 72 horas), ictus moderado (a partir de 6 días) e ictus extenso y muy sintomático (a partir 10-14 días). A estos dos últimos subgrupos se les exige un TAC

craneal inmediatamente previo a su prescripción con el objetivo de descartar cualquier transformación hemorrágica del ictus isquémico, lo que retrasaría su administración.

Anticoagulación tras hemorragia cerebral

Motivos para su indicación

La anticoagulación ha demostrado su efectividad en diferentes ensayos clínicos a la hora de evitar procesos isquémicos en pacientes con fibrilación auricular (nivel de evidencia clase I). Sin embargo, en estos estudios aleatorizados se descartaba la participación de pacientes con hemorragia cerebral previa y, sobre todo, reciente (1,2).

De la misma manera, una quinta parte de los pacientes que sobreviven a una hemorragia cerebral pueden tener una fibrilación auricular con riesgo de embolismo isquémico y, consecuentemente, un ictus. En los pacientes, según se describe en revisiones de pacientes no anticoagulados, la probabilidad de resangrado cerebral tras un primer hematoma es del 0-8% y del 2,5-8,6% en los que reiniciamos anticoagulación (3,4). Sobre estos porcentajes hay diferentes factores etiológicos y manejos terapéuticos que pueden intervenir en estos intervalos. Diferentes estudios remarcan el escaso efecto deletéreo del uso de la anticoagulación tras un hematoma, y si existe alguna diferencia en el riesgo de aparición de nuevas hemorragias, no consigue un nivel de significación estadística. Un gran registro danés remarca la escasa diferencia de hemorragia en el reinicio de anticoagulación con warfarina respecto de los que no se reiniciaba. Sin embargo, al revisar estudios retrospectivos suele demostrarse un cierto incremento de la tasa de hemorragias en los grupos en los que se reinició la anticoagulación (5). Posiblemente existen diferentes sesgos en la indicación de anticoagulación, con predilección por la anticoagulación de aquellos hematomas más pequeños, claro diagnóstico etiológico del sangrado u óptimo control de los factores de riesgo vascular (6).

La probabilidad de presentar un evento isquémico si no se reinicia la anticoagulación en pacientes con válvula mecánica es del 4 al 10% al año y se multiplica si existen diversas válvulas mecánicas; por ello, es un grupo de pacientes en los que se valora el reinicio de la anticoagulación de forma precoz. En un gran metaanálisis con 5306 pacientes, el número de eventos isquémicos fue notablemente mayor en aquellos en los que no se reiniciaba la anticoagulación tras un sangrado (6,7% frente a 17,6%); por el contrario, el número de eventos hemorrágicos no fue significativamente diferente entre los anticoagulados respecto a los que no

se iniciaba la anticoagulación (8,7% frente a 7,8%). Sin embargo, estos resangrados muestran una gran heterogeneidad, hasta el punto de que los pacientes no anticoagulados presentaban una recurrencia del 2% con los hematomas parenquimatosos y del 12% con los subdurales, por lo que la toma de decisiones sobre estos datos debería individualizarse (7,8).

Reiniciar el tratamiento antitrombótico con antiagregantes tras una hemorragia cerebral en pacientes con fibrilación auricular no parece modificar el riesgo hemorrágico, pero incrementa el número de eventos isquémicos. Sin embargo, es necesario esperar los resultados de ensayos clínicos en fase de reclutamiento (RESTART y RESTART-Fr).

Momento de inicio de la anticoagulación

El momento del reinicio de la anticoagulación es una decisión en la que debe equilibrarse el riesgo de una isquemia embólica y el del sangrado sistémico, en especial el cerebral. No parece existir evidencia del beneficio de anticoagulación dentro de las primeras dos semanas tras un hematoma cerebral y, en este caso, debería ser individualizado y justificado por un riesgo inminente de embolismo (9,10).

La anticoagulación suele diferirse entre 14 y 21 días según el tipo de sangrado, y solo la presencia de valvulopatía u otra patología asociada a la fibrilación auricular condicionaría la premura en su prescripción dentro de las primeras dos semanas. De todas formas, es difícil encontrar otras indicaciones de anticoagulación dentro de las dos primeras semanas tras la hemorragia cerebral. Situaciones como la coexistencia de otra complicación trombótica, como un trombosis venosa profunda o tromboembolismo pulmonar, podría requerir acortar los tiempos de inicio de la anticoagulación en las dos primeras semanas. Asimismo, con una puntuación de CHADS-VASC elevada podría valorarse iniciar la anticoagulación precozmente, asumiendo los riesgos de un posible resangrado (11). Aun así, muchas publicaciones citan recomendaciones más generales y conservadoras e indican el inicio de la anticoagulación a partir de la cuarta u octava semana tras la hemorragia cerebral.

Momento del inicio en función del tipo y de la localización del hematoma

Para individualizar esta decisión debería evaluarse el tipo y la localización del sangrado espontáneo que presenta el paciente: lobar, profundo, subaracnoideo o subdural. El riesgo de sangrado tras el inicio de la anticoagulación se ha descrito claramente diferenciado según la localización del hematoma, lobares (22%), los profundos o los ganglios basales que presentan un menor riesgo (4%) (12).

Los sangrados lobares o de gran tamaño suelen sugerir una posible enfermedad de base como la angiopatía congófila, que predispone a la recurrencia (Fig. 1). Por otra parte, estos sangrados extensos conllevarían, en caso de resangrado, que pequeños incrementos en su volumen aumentarían severamente la presión intracraneal, lo que podría precipitar una disminución del nivel de conciencia y del estado del paciente, por lo que la anticoagulación suele posponerse varias semanas (> 4 semanas). Otros sangrados, como subaracnoideos, pueden asociarse a pequeñas malformacio-

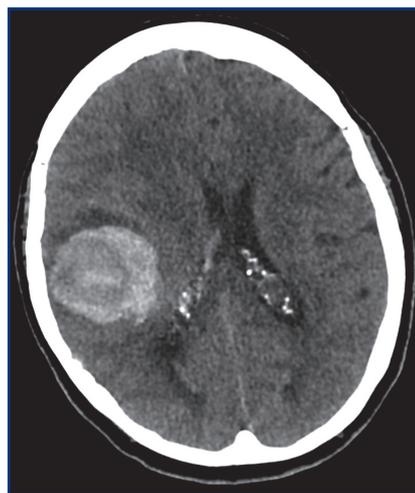


Figura 1. TAC craneal: hematoma lobar parietal derecho.

nes o fístulas arteriovenosas cerebrales no identificadas en estudios de imagen de urgencias, por lo que deberá valorarse el inicio de anticoagulación tras un exhaustivo estudio antes de indicar la anticoagulación de forma muy precoz. Por el contrario, hematomas de pequeño tamaño en ganglios basales sugieren etiología hipertensiva en la que podría reiniciarse la anticoagulación de forma precoz (> 2 semanas), siempre que se controlen las cifras de presión arterial en límites de prevención secundaria (Figs. 2,3).

En los hematomas subdurales agudos debería diferirse la anticoagulación hasta su resolución en el caso que no sean quirúrgicos. Especialmente los hematomas subdurales espontáneos suelen suponer una espera de 3-4 semanas antes de iniciar la anticoagulación debido en muchas ocasiones a la ausencia de factores de riesgo participantes y controlables. Asimismo, en sangrados cerebelosos o del tronco cerebral se sugieren tiempos de espera tan elevados como de 6-8 semanas antes de iniciar la anticoagulación (13).



Figura 2. TAC craneal: hematoma lenticular hipertensivo izquierdo.

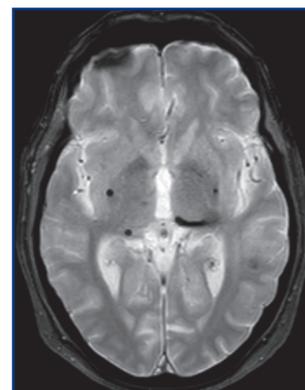


Figura 3. RM craneal: hematoma en ganglios basales izquierdos en secuencias FFE (demostración de restos de hemosiderina perihematoma en fase ya de degradación).

Momento del inicio de la anticoagulación en función de los datos radiológicos

Datos radiológicos que podrían influir en la decisión del inicio de la anticoagulación, además del tamaño y de la localización del hematoma, sería la presencia de hematomas múltiples cerebrales tanto agudos como antiguos en forma de restos de hemosiderina (microsangrados detectados en RM craneal). Suelen indicar una predisposición al sangrado por angiopatía amiloide o afectación del cerebro como órgano diana por la hipertensión arterial (Fig. 4).

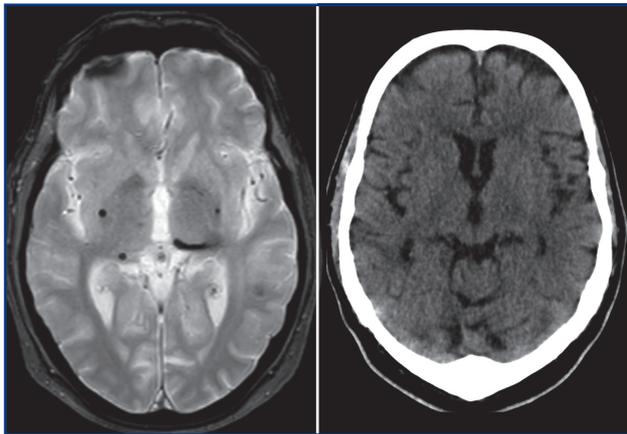


Figura 4. RM craneal en secuencia FFE con microsangrados crónicos en ganglios basales (no visible en TAC simple adjunto) sugestivos de etiología hipertensiva.

En un registro de anticoagulación, la ausencia de microsangrados se asociaba a un riesgo anual de sangrado de tan solo el 0,3%, pero alcanzaba el 2,5% ante la presencia de un número > 5 de microsangrados. Otro dato radiológico asociado al resangrado es la presencia de leucoaraiosis o rarefacción de la sustancia blanca, que indicaría lesión de pequeño vaso por hipertensión, sobre todo los grados elevados de leucoaraiosis en la calificación Fazekas II-IV (14).

Sin embargo, a pesar de las dudas sobre la seguridad de iniciar la anticoagulación tras una hemorragia cerebral en paciente con CHADS-VASC elevado, últimas publicaciones sobre diferentes cohortes y registros recalcan el hecho de que es más probable la aparición de un evento cerebral en caso de no anticoagular al paciente, esta vez en forma de proceso isquémico, que una complicación nueva hemorrágica en el caso de haber iniciado la anticoagulación. Si bien podría recomendarse la utilización de alguna escala para evaluar el riesgo de sangrado, no suelen presentar un uso habitual. La única escala validada sobre el riesgo de recurrencia de hemorragia cerebral es la de HAS-BLED, en la que oscila el riesgo del 1% en puntuaciones de 1 punto al 2,9% por año si la puntuación es de 4. La combinación de la escala HAS-BLED junto a la presencia de microsangrados en RM craneal pueden ser buenos marcadores de riesgo de resangrado antes del inicio de anticoagulación y permitir establecer estrategias de prevención secundaria.

Tipo de anticoagulantes a utilizar

Sobre el tipo de anticoagulante que debería utilizarse tras un hematoma cerebral para conseguir una prevención vascular de eventos isquémicos arteriales, debería ser aquel que presente una mayor seguridad, al tiempo que se le debería exigir que se ajuste mejor a la situación del paciente en el cumplimiento terapéutico, así como a otras limitaciones, como a la disfagia, a la necesidad de nutrición enteral y a la posibilidad de mantener buenos niveles, a pesar fórmulas de nutrición o dispensación. Si bien los ACOD deberían ser más seguros en un paciente con hematoma cerebrales, por el momento no se dispone de ensayos aleatorizados finalizados para poder extraer conclusiones. Diferentes publicaciones citan en caso de sangrado cerebral bajo tratamiento con ACOD el mejor pronóstico y el menor volumen del hematoma respecto a los anticoagulantes cumarínicos.

Si bien el reinicio inmediato con ACOD es de difícil consecución, datos como el REVERSE-AD de reversión de anticoagulación con idarucizumab demuestra que aquellos pacientes en los que se retrasa más la anticoagulación son los que presentan nuevos eventos embólicos en los primeros 30 días. El reinicio de la anticoagulación según los diferentes registros no solo disminuye los eventos vasculares isquémicos, sino que también disminuye la mortalidad (15,16).

Actualmente, ensayos clínicos en marcha como PRESTIGE-AF o SoSTART intentan dar respuesta a cuál es el mejor tratamiento antitrombótico en un paciente con un hematoma cerebral en el que es preciso reiniciar una medida de prevención isquémica. El uso de ACOD, warfarina o antiagregantes deberá evaluarse en este grupo de pacientes en los que en ocasiones la anticoagulación con ACOD podría ser poco fundamentada en los datos clínicos de los que disponemos actualmente (Fig. 5).

Otras estrategias, como el cierre percutáneo de orejuela auricular izquierda, podrían estar indicadas en paciente con alto riesgo hemorrágico tras sangrado cerebral extenso, en especial en aquellos en los que sospechamos angiopatía amiloide o que presentan carga hemorrágica notable cerebral (> 5 microsangrados), riesgo permanente y latente de hemorragia cerebral o sangrado recurrente (17).

Conclusión

Los datos de los que disponemos de diferentes registros y metaanálisis concluyen que, en una gran parte de los casos, de ser posible, estaría indicado el tratamiento anticoagulante debido al mayor riesgo de embolismo isquémico que al de recurrencia del hematoma en caso de no iniciar la anticoagulación del paciente. En el momento de iniciar la anticoagulación, deberían considerarse diversas variables para planificar el momento de iniciar la anticoagulación, como el control de los factores de riesgo vascular, el tamaño y la localización de hematoma y otros marcadores radiológicos asociados a un mayor riesgo de sangrado. A los anticoagulantes de acción directa se les presupone un papel privilegiado en este tipo de pacientes con hemorragia cerebral previa dada la escasa tasa de hemorragias y, en el caso de suceder, suelen ser de menor tamaño y con una mejor evolución clínica. Nuevos ensayos clínicos en marcha nos aportarán mayor evidencia sobre estas incógnitas.

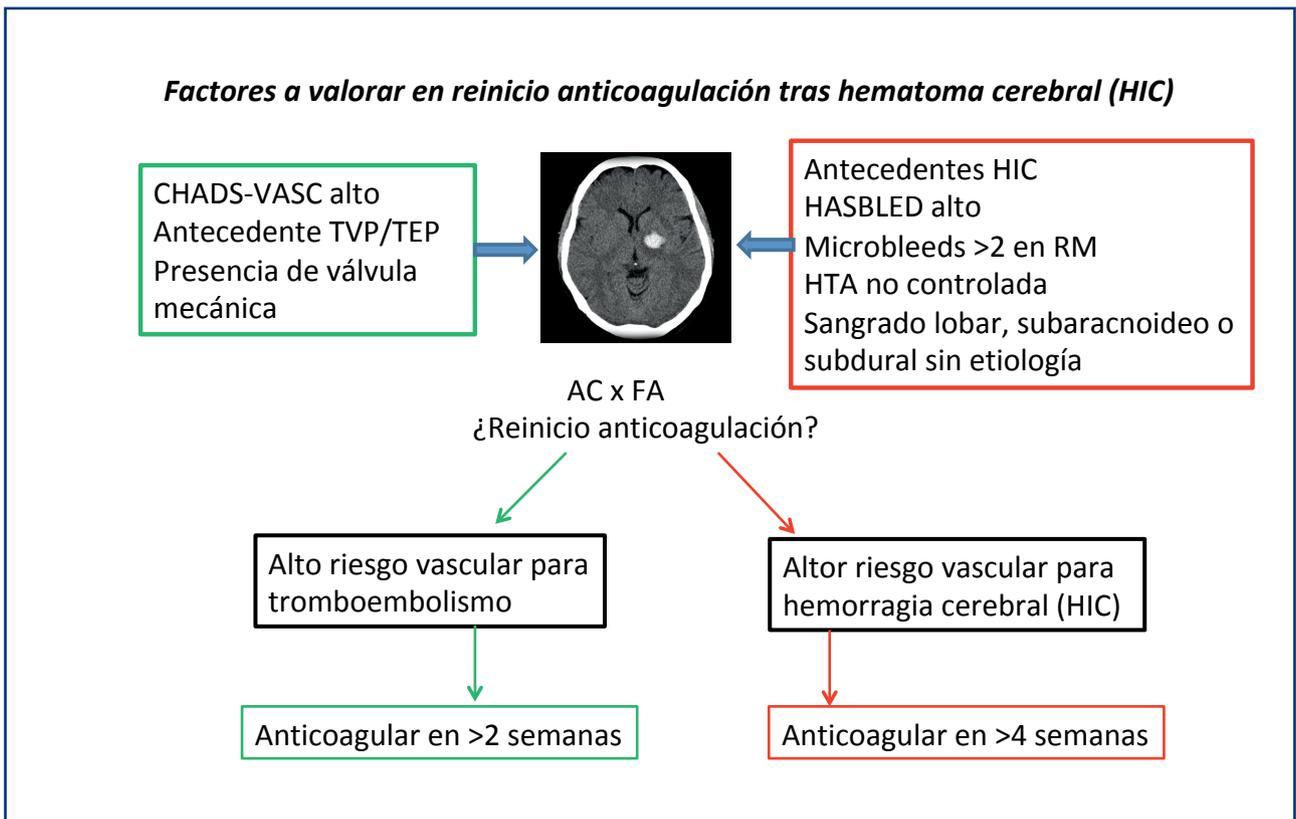
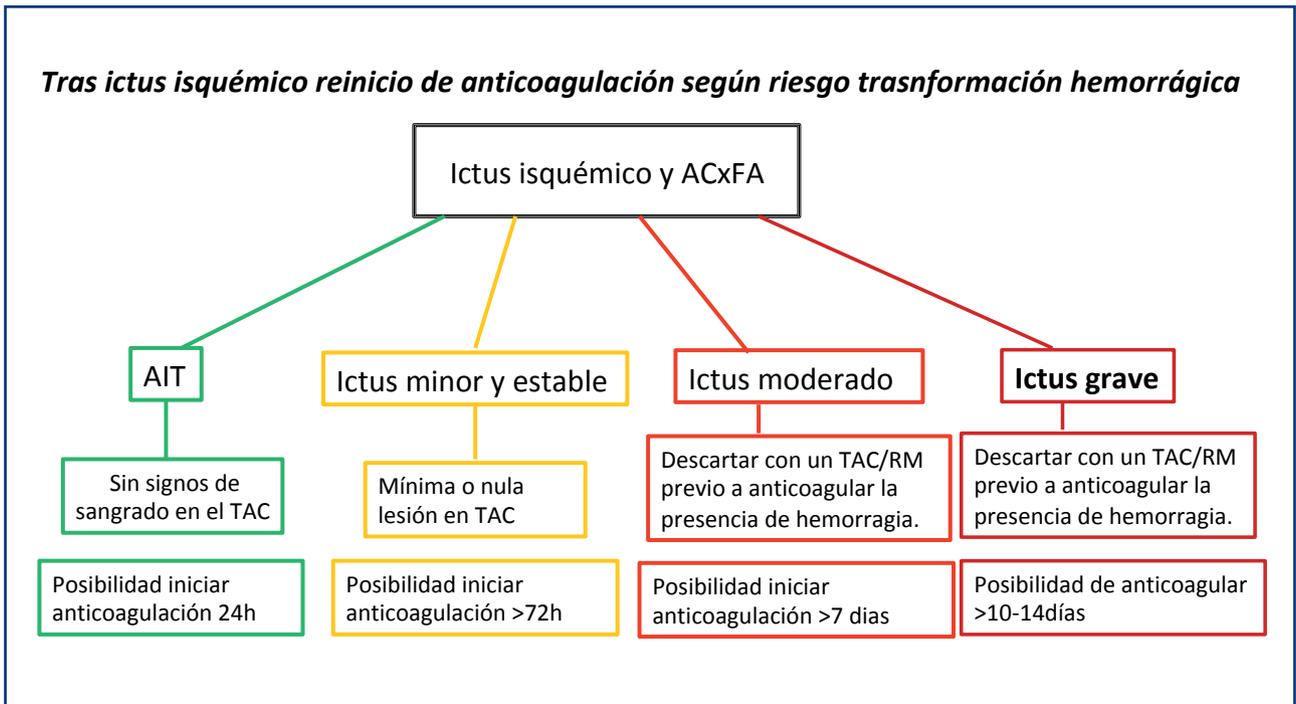


Figura 5. Estrategias de reinicio de anticoagulación tras ictus isquémico y hemorrágico.

Bibliografía

1. Murthy SB, Gupta A, Merkler AE, et al. Restarting Anticoagulant Therapy After Intracranial Hemorrhage A Systematic Review and Meta-Analysis. *Stroke* 2017;48:1594-600. DOI: 10.1161/STROKEAHA.116.016327
2. Giakoumettis D, Alexiou GA, Vrachatis DA, et al. Antithrombotic treatment management in patients with intracerebral hemorrhage: reversal and restart. *Curr Pharm Des* 2017;23(9):1392-405.
3. Witt DM, Clark NP, Martínez K, et al. Risk of thromboembolism, recurrent hemorrhage, and death after warfarin therapy interruption for intracranial hemorrhage. *Thromb Res* 2015;136(5):1040-4.
4. Poon MT, Fonville AF, Al-Shahi Salman R. Long-term prognosis after intracerebral haemorrhage: systematic review and meta-analysis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2014;85(6):660-7.
5. Steiner T, Weitz JI, Veltkamp R. Anticoagulant-Associated Intracranial Hemorrhage in the Era of Reversal Agents. *Int J Stroke* 2017;48:1432-7. DOI: 10.1161/STROKEAHA.116.013343
6. Lopes RD, Guimaraes PO, Kolls BJ, et al. Intracranial hemorrhage in patients with atrial fibrillation receiving anticoagulation therapy. *Blood* 2017;129(22):2980-7.
7. Zhou Z, Yu J, Carcel C, et al. Resuming anticoagulants after anticoagulation-associated intracranial haemorrhage: systematic review and meta-analysis. *BMJ Open* 2018;8.
8. Kuramatsu JB, Sembill JA, Gerner ST, et al. Management of therapeutic anticoagulation in patients with intracerebral haemorrhage and mechanical heart valves. *Eur Heart J* 2018;39:1709-23.
9. Hawkes MA, Rabinstein AA. Anticoagulation for atrial fibrillation after intracranial hemorrhage. A systematic review. *Neurol Clin Pract* 2018(8);1.
10. Kuramatsu JB, Huttner HB. Management of oral anticoagulation after intracerebral hemorrhage. *Int J Stroke* 2019;14(3):238-46.
11. Becattini C, Sembolini A, Paciaroni M. Resuming anticoagulant therapy after intracerebral bleeding. *Vasc Pharmacol* 2016;84:15-24.
12. Poli L, Grassi M, Zedde M, et al. Anticoagulants resumption after warfarin-related intracerebral haemorrhage: the multicenter study on cerebral hemorrhage in Italy (MUCH-Italy). *Thromb Haemost* 2018.
13. Wilson D, Ambler G, Shakeshaft C, et al. Cerebral microbleeds and intracranial haemorrhage risk in patients anticoagulated for atrial fibrillation after acute ischaemic stroke or transient ischaemic attack (CROMIS-2): a multicentre observational cohort study. *Lancet Neurol* 2018;17:539-47.
14. Pennlert J, Overholser R, Asplund K, et al. Optimal Timing of Anticoagulant Treatment After Intracerebral Hemorrhage in Patients with Atrial Fibrillation. *Int J Stroke* 2017;48:314-20.
15. Milling Jr TJ, Spyropoulos AC. Re-initiation of dabigatran and direct factor Xa antagonists after a major bleed. *Am J Emer Med* 2016;34:19-25.
16. Kongbunkiat K, Wilson D, Kasemsap N, et al. Leukoencephalopathy, intracerebral hemorrhage, and functional outcome after acute stroke thrombolysis. *Neurology* 2017;88(7):638-45.
17. Pollack CV Jr, Reilly PA, Weitz JI. Dabigatran reversal with idarucizumab. *N Engl J Med* 2017;377(17):1691-2.

Tratamiento de la trombosis asociada al cáncer. ¿Son los ACOD una alternativa a la HBPM? De la evidencia clínica a la vida real

Trujillo Santos J.

Servicio de Medicina Interna. Hospital General Universitario Santa Lucía. Cartagena, Murcia. Universidad Católica San Antonio de Murcia. Murcia

Durante los últimos años se ha considerado que el tratamiento de la trombosis asociada al cáncer (CAT) debía realizarse con heparinas de bajo peso molecular (HBPM) dado que demostraron en diferentes ensayos clínicos que eran capaces de disminuir aproximadamente a la mitad la incidencia de recidivas tromboembólicas venosas en los pacientes con cáncer activo en los primeros 3-6 meses de tratamiento sin que hubiera una importante diferencia en la tasa de hemorragias mayores y de muertes. De entre todos los ensayos clínicos realizados, los que fueron postulados como determinantes en esta diferencia se encontraban el estudio CLOT (1) y CATCH (2), que habían mostrado una superioridad de dalteparina y tinzaparina, respectivamente, frente a la terapia anti-coagulante estándar hasta ese momento, que consistía en una fase aguda de HBPM y otra a largo plazo con antivitaminas K.

La comercialización de los anticoagulantes orales directos (ACOD) y la demostración de su utilidad en el tratamiento del tromboembolismo venoso (TEV) supuso que se propusieran como el tratamiento de elección durante la fase aguda (apixabán y rivaroxabán) y/o la fase de tratamiento a largo plazo (apixabán, dabigatrán, edoxabán y rivaroxabán), relegando a un segundo escalón la pauta de anticoagulación clásica de tratamiento parenteral con heparinas o fondaparinux seguida de dicumarínicos (3), toda vez que demostraron una eficacia no inferior y una seguridad al menos similar. El bajo porcentaje de pacientes con cáncer activo incluidos en los respectivos ensayos clínicos impedía la extrapolación de sus resultados a los pacientes con CAT. Desde diciembre de 2017 se han publicado los resultados de dos ensayos clínicos que compararon el tratamiento estándar con dos ACOD, edoxabán y rivaroxabán. En ambos casos, el comparador estándar era el tratamiento con dalteparina 200 mg/kg cada 24 h durante 4 semanas y posteriormente 150 mg/kg al día.

En el ensayo Hokusai VTE Cancer (4) con edoxabán a dosis de 60 mg/día (30 mg/día en aquellos pacientes en tratamiento con un aclaramiento de creatinina entre 30-50 ml/min, con un peso corporal inferior a 60 kg o en tratamiento concomitante con inhibidores potentes de la glicoproteína-P), demostró que era no inferior para el evento compuesto de recidivas TEV o hemorragia mayor durante los 12 meses de tratamiento tras la aleatorización, independientemente de la duración del tratamiento. En cambio, cuando se analizaron por separado ambos eventos, la tasa de recidivas TEV era inferior con el régimen con edoxabán que con el de dalteparina, mientras que en el caso de considerar las hemorragias mayores era superior.

El ensayo clínico SELECT-D5 comparó dalteparina a las mismas dosis que en el ensayo CLOT y en el Hokusai VTE Cancer con rivaroxabán a las dosis habituales del tratamiento del TEV:

15 mg cada 12 horas durante 3 semanas y posteriormente 20 mg diarios en toma única. Hubo una menor tasa de recidivas TEV en el grupo de rivaroxabán (HR = 0,43), con una tasa similar de hemorragias mayores, pero una tasa superior de hemorragias no mayores clínicamente relevantes (HR = 3,76).

En los dos ensayos clínicos el exceso de hemorragias fue superior en el grupo tratado con ACOD. Fundamentalmente se centraban en hemorragias gastrointestinales y genitourinarias relacionadas con cánceres asentados en estas localizaciones y, sobre todo, no intervenidos previamente. Por otra parte, en el estudio Hokusai VTE Cancer, el exceso de hemorragias del grupo de edoxabán (32 hemorragias graves frente a 16 en el grupo de dalteparina) no se correlacionó con una mayor frecuencia de hemorragias mortales (hubo dos en el grupo de dalteparina y ninguna en el grupo de edoxabán), e incluso la presentación en forma de hemorragia grave de mayor gravedad (categorías 3 y 4) era similar en ambos grupos de tratamiento (12 en el grupo de edoxabán y 11 en el grupo de dalteparina) (6).

La estrategia de utilizar edoxabán como tratamiento anticoagulante a largo plazo (con un horizonte de 6 meses de tratamiento) en pacientes con CAT en lugar de dalteparina se ha demostrado, además, como coste-efectiva en un modelo simulado de Markov aplicando los costes asociados a cada una de las terapias de acuerdo con los precios estadounidenses (7).

A la espera de conocer los resultados del ensayo clínico Caravaggio, que compara apixabán frente a dalteparina, disponemos de la misma comparación en un menor número de pacientes con CAT en el estudio ADAM VTE, en el que apixabán demostró presentar una menor tasa de recidivas TEV (HR = 0,26) y mejor influencia en la calidad de vida de los pacientes sin que existieran diferencias en la tasa de mortalidad o en el evento compuesto de hemorragias mayores o no mayores clínicamente relevantes (8).

Los resultados de estos ensayos clínicos han llevado a que la ISTH (9) emita un informe de recomendaciones sobre la utilización de los ACOD en pacientes con CAT en el que, como premisa inicial, establece la toma de una decisión compartida con el paciente y sugiere la utilización de edoxabán o rivaroxabán en aquellos pacientes con CAT con bajo riesgo de hemorragia y de interacciones farmacológicas, relegando a un segundo lugar a las HBPM como una alternativa aceptable. En cambio, y en consonancia con los resultados de los ensayos clínicos, recomiendan que las HBPM sean el tratamiento de elección en aquellos pacientes con CAT y alto riesgo de hemorragia, clasificando como tales a los que tienen un cáncer gastrointestinal intacto, cánceres del tracto genitourinario, vejiga o catéteres de nefrostomía con alto riesgo de sangrado, o pacientes con lesiones mucosas gastroin-

testinales activas (como úlceras duodenales, gastritis, esofagitis o colitis).

Al margen de los ensayos clínicos se han publicado algunas series de pacientes con CAT, generalmente de un tamaño reducido y ocasionalmente obtenidas de registros prospectivos. Las características de los pacientes en estas series son muy diversas y, a veces, son diferentes a aquellas de los pacientes con CAT que fueron incluidos en los ensayos clínicos mayores. De hecho, habitualmente se busca un perfil de pacientes con baja probabilidad de complicaciones, sobre todo hemorrágicas, motivo por el que la efectividad y la seguridad de los ACOD puede parecer incluso mejor que en los ensayos clínicos.

En la ponencia del congreso se mostrarán los resultados de los principales registros y series de pacientes con CAT que han sido tratados con ACOD. Asimismo, se aportarán los resultados del análisis del registro internacional RIETE (Registro Informatizado de la Enfermedad Tromboembólica), el mayor registro mundial de TEV, con una vida ya de 18 años y con más de 80000 pacientes incluidos.

Bibliografía

1. Lee AYY, Levine MN, Baker RI, et al. Low-molecular-weight heparin versus a coumarin for the prevention of recurrent venous thromboembolism in patients with cancer. *N Engl J Med* 2003;349:146-53.
2. Lee AYY, Kamphuisen PW, Meyer, G, et al. Tinzaparin vs warfarin for treatment of acute venous thromboembolism in patients with active cancer. A randomized Clinical trial. *JAMA* 2015;314:677-86.
3. Kearon C, Akl EA, Ornelas J, et al. Antithrombotic therapy for VTE disease. CHEST Guideline and Expert Panel Report. *Chest* 2016;149:315-52.
4. Raskob GE, Van Es N, Verhamme P, et al. Edoxaban for the treatment of cancer-associated venous thromboembolism. *N Engl J Med* 2018;378:615-24. DOI: 10.1056/NEJMoa1711948
5. Young AM, Marshall A, Thirlwall J, et al. Comparison of an oral factor Xa inhibitor with low molecular weight heparin in patients with cancer with venous thromboembolism: results of a randomized trial (SELECT-D). *J Clin Oncol* 2018;36(20):2017-23. DOI: doi.org/10.1200/JCO.2018.78.8034
6. Kraaijpoel N, Di Nisio M, Mulder FI, et al. Clinical Impact of Bleeding in Cancer-Associated Venous Thromboembolism: Results from the Hokusai VTE Cancer Study. *Thromb Haemost* 2018;118:1439-49.
7. Connell NT, Connors JM. Cost-effectiveness of edoxaban versus dalteparin for the treatment of cancer-associated thrombosis. *J Thromb Thrombolysis* 2019;48(3):382-6. DOI: 10.1007/s11239-019-01903-z
8. McBane Ii R, Loprinzi CL, Ashrani A, et al. Apixaban and dalteparin in active malignancy associated venous thromboembolism. The ADAM VTE Trial. *Thromb Haemost* 2017;117(10):1952-61. DOI: doi: 10.1160/TH17-03-0193
9. Khorana AA, Noble S, Lee AYY, et al. Role of direct oral anti-coagulants in treatment of cancer-associated venous thromboembolism: guidance from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost* 2018;16(9):1891-4. DOI: 10.1111/jth.14219

Triple terapia antitrombótica en pacientes con fibrilación auricular sometidos a revascularización coronaria con ICP

Gómez Doblas J.J., Guijarro A., Fernández P., Rodríguez Capitán J., Robles A.

Hospital Universitario Virgen de la Victoria. Málaga

Introducción

Los pacientes que están en fibrilación auricular (FA) requieren tratamiento con fármacos anticoagulantes orales (ACO) para reducir su riesgo cardioembólico. Por otra parte, si se someten a intervención coronaria percutánea (ICP), deben recibir tratamiento antiagregante plaquetario doble para disminuir la incidencia de trombosis del *stent*. Por lo tanto, debe tratarse a estos pacientes con un ACO y un tratamiento antiagregante plaquetario conjuntamente. Este régimen reduce de forma marcada el riesgo de eventos tromboembólicos, pero se asocia con un incremento importante de las complicaciones hemorrágicas.

Existe información consistente en relación con los riesgos embólico, hemorrágico e isquémico y el beneficio y las potenciales complicaciones de la anticoagulación y de la antiagregación en diferentes contextos clínicos. Sin embargo, la ICP en estos pacientes introduce unos aspectos muy particulares. Además, la reciente publicación de estudios en los que se han evaluado determinados ACO de acción directa (rivaroxabán, dabigatrán

y apixabán) aporta datos que pueden modificar de manera relevante el tratamiento de estos pacientes. Uno de los principales puntos de discusión está en la necesidad del tratamiento antitrombótico doble, en comparación con el triple: para qué pacientes, durante cuánto tiempo y a qué antiagregante debe añadirse.

Epidemiología

Aproximadamente, un 20-30% de los pacientes diagnosticados de fibrilación auricular (FA) sufrirán enfermedad coronaria (EC) a lo largo de su vida (1). En las últimas décadas se ha producido un incremento de la prevalencia de esta arritmia relacionado con el envejecimiento de la población, y actualmente se presenta en más del 12% de los pacientes sometidos a intervención coronaria percutánea (ICP) (2).

En España, según diferentes registros, un 10 % de los pacientes con angina estable están anticoagulados y con síndromes coronarios agudos varía entre un 9 y un 20%, según el tipo de síndrome coronario agudo (3) (Tabla I). En España se realizaron

Tabla I. Tratamiento al alta en pacientes con síndrome coronario agudo en España. Estudio DIOCLES*

	SCACEST (n = 788)	SCASEST (n = 1602)	SCA inclasificable (n = 167)	p
Ácido acetilsalicílico	97,3	91,7	89,6	< 0,001
Inhibidores P2Y ₁₂	92,1	72,2	64,3	< 0,001
Anticoagulantes	9,4	12,0	20,8	0,002
Bloqueadores beta	88,0	78,1	76,6	< 0,001
Antagonistas del calcio	4,6	21,5	18,2	< 0,001
Nitratos	17,3	33,5	36,4	< 0,001
IECA/ARA-II	79,3	71,8	76,0	0,001
Antialdosterónicos	13,1	6,6	16,2	< 0,001
Estatinas	96,3	91,4	92,2	< 0,001
Otros hipolipemiantes	5,0	8,0	5,8	0,029
Inhibidores de la bomba de protones	79,1	73,4	73,4	0,011

ARA-II: antagonistas del receptor de la angiotensina II; IECA: inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina; SCA: síndrome coronario agudo; SCACEST: síndrome coronario agudo con elevación del segmento ST; SCASEST: síndrome coronario agudo sin elevación del segmento ST. Los datos expresan %.

*Barrabés JA, et al. Rev Esp Cardiol 2015;68(2):98-106.

en 2017 unas 70 000 angioplastias, de lo que podríamos extrapolar que entre unos 7000 y 8000 pacientes están anticoagulados en España cuando se realizan una angioplastia.

Además, la presencia de FA en pacientes con EC se ha relacionado con un peor pronóstico, especialmente en mujeres (4).

Intervención coronaria en pacientes con anticoagulación oral crónica

Ante la necesidad de realizar una ICP en un paciente con anticoagulación oral crónica, nos encontramos con diferentes momentos de actuación que requieren de manejos específicos. Los cambios frecuentes de medicación durante el ingreso y la necesidad de un tratamiento combinado se han relacionado con una mayor incidencia de hemorragias, que empeoran el pronóstico de estos pacientes. Por ello, a efectos prácticos, abordaremos el manejo de la ICP en pacientes con ACO en tres situaciones: antes de la intervención, durante la intervención y después de la intervención.

Manejo de la anticoagulación antes de la intervención

En primer lugar, recordemos que, si no va a realizarse una ICP ante una coronariografía diagnóstica, la terapia puente con heparina frente a un tratamiento ininterrumpido con AVK parece aumentar el riesgo hemorrágico sin afectar a la incidencia de eventos tromboembólicos en pacientes sometidos a procedimientos electivos de bajo riesgo de hemorragia. Si además se realiza un abordaje radial y no femoral, debe considerarse un procedimiento de bajo riesgo y no suspender la anticoagulación (5).

El tratamiento anticoagulante para el paciente con FA e indicación de ICP depende principalmente del contexto clínico (angina estable o SCA), del tratamiento anticoagulante previo a la intervención (ACOD o AVK) y del acceso vascular durante la ICP (radial o femoral).

ICP programada

Con respecto a los pacientes en tratamiento con AVK, se recomienda no interrumpir el tratamiento con AVK a los pacientes programados para ICP electiva por vía radial (especialmente aquellos con alto riesgo tromboembólico [CHA₂DS₂-VASc ≥ 2]) que, por otro lado, son la mayoría (6). Con respecto al uso de antiagregantes, la guía europea de revascularización miocárdica recomienda el tratamiento con clopidogrel una vez conocida la anatomía coronaria para los pacientes con cardiopatía isquémica estable. No existen estudios que analicen el pretratamiento con prasugrel o ticagrelor en este contexto, y su uso solo debería considerarse en el momento de la ICP para pacientes con muy alto riesgo (enfermedad del tronco común, antecedentes de trombosis del *stent*, etc.) (7).

ICP no programada (SCA)

En el contexto del SCA, la estrategia puede diferir en función del momento del procedimiento. En pacientes con SCACEST

de muy alto riesgo con indicación de ICP emergente, el procedimiento se realizará independientemente del tratamiento anticoagulante previo o de la hora de toma de la última dosis, y es preferible el acceso radial siempre que sea posible. Para los pacientes con SCACEST sometidos a ICP durante el ingreso, se recomienda mantener el tratamiento con ACOD o AVK periprocedimiento (6).

Manejo de la anticoagulación durante la intervención

ICP programada

El tratamiento de elección durante la ICP para pacientes sin tratamiento anticoagulante previo es la heparina no fraccionada. En pacientes con anticoagulación oral, la evidencia del tratamiento con heparina intraprocedimiento es escasa y su uso podría conllevar un aumento del riesgo hemorrágico.

En el contexto de la ICP electiva en pacientes en tratamiento ininterrumpido con AVK, se recomienda añadir una dosis baja de heparina no fraccionada durante el procedimiento, aunque podrían omitirla los pacientes con razón internacional normalizada (INR) $> 2,5$. Para los pacientes que reciben ACOD y no hay alto riesgo tromboembólico, se recomienda suspender el ACOD entre 12 y 24 h antes del procedimiento para evitar la terapia puente con heparina; asimismo, se recomienda el uso de la dosis estándar de heparina no fraccionada durante la ICP.

ICP no programada (SCA)

Para los pacientes con SCACEST en general, está indicado el uso de fondaparinux o enoxaparina hasta el estudio invasivo y la eventual revascularización, ya que se ha demostrado que reduce la tasa de muerte o infarto.

Para los pacientes con SCA con tratamiento anticoagulante crónico se recomienda realizar la ICP sin interrumpir el tratamiento anticoagulante, ya sea con AVK o con ACOD. Para estos pacientes se recomienda el uso de dosis bajas de heparina independientemente de la administración de la última dosis del anticoagulante. Esta recomendación se extiende también a los pacientes con SCA con elevación del segmento ST.

En general, en un paciente con FA sometido a una ICP se recomienda el uso de *stents* farmacoactivos de última generación por su mejor perfil de seguridad y más evidencia en regímenes de tratamiento cortos. Sin embargo, en la práctica, la generalización de uso de los actuales *stents* farmacoactivos ha hecho que las últimas guías recomienden indicar un régimen antitrombótico u otro en función de los riesgos isquémico y hemorrágico, pero independientemente del tipo de *stent* (7).

Manejo de la anticoagulación tras la intervención

Una vez realizada la ICP necesitamos hacer una evaluación de los riesgos embólicos y hemorrágicos del paciente. En los pacientes con FA, los riesgos embólicos y hemorrágicos no son homogéneos. Es fundamental una evaluación individual de este

frágil equilibrio y seleccionar el tratamiento antitrombótico más adecuado. Hay que considerar que, en los pacientes con FA y cardiopatía isquémica que precisan ICP, debe valorarse además el riesgo isquémico y si estamos en el contexto de un paciente con SCA o estable. Por otro lado, hay que valorar aspectos técnicos, como el tipo de *stent* implantado o la complejidad del procedimiento (Fig. 1).

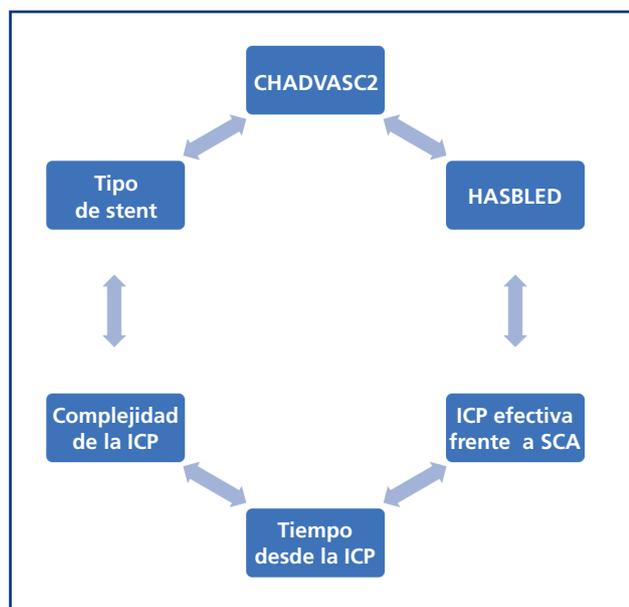


Figura 1. Variables a tener en cuenta al decidir el tratamiento antitrombótico óptimo para los pacientes con fibrilación auricular sometidos a ICP.

Las guías europeas de cardiología no recomiendan el uso de una escala concreta para la valoración del riesgo hemorrágico, pero sí distinguen entre factores de riesgo modificables y no modificables, y remarcan la necesidad de una evaluación dinámica y continua del riesgo hemorrágico y corregir o eliminar los factores que pueden aumentarlo.

Una vez evaluado el riesgo hemorrágico, el embólico y el isquémico, tenemos que responder a varias preguntas:

¿Qué antiagregante tengo que usar tras una ICP en un paciente con FA?

El clopidogrel es el inhibidor de elección cuando se administra conjuntamente con un ACO (dosis de carga de 600 mg; dosis de mantenimiento de 75 mg/día). Los otros inhibidores más potentes (ticagrelor y prasugrel) se han asociado con unas tasas más altas de hemorragia. El ticagrelor ha sido evaluado en un reducido grupo de pacientes en combinación con dabigatrán y apixabán, y ha mostrado unas tasas de seguridad y eficacia similares a las del clopidogrel. Cuando se considere que debe agregarse AAS al anticoagulante, la dosis debe estar entre 75 y 100 mg/día.

¿Qué anticoagulante tengo que usar tras una ICP en un paciente con FA?

Los estudios pivotaes han puesto de manifiesto el beneficio clínico de los ACOD, ya que, al menos, son igual de eficaces que los AVK, pero mucho más seguros. La guía de la ESC recomienda, con base a su eficacia y seguridad, los ACOD como primera opción en FA en general y en especial en el paciente sometido a ICP. Respecto a la elección del ACOD, no hay estudios comparativos que permitan una clara recomendación de un anticoagulante sobre otro (7-9).

¿Qué régimen de antiagregación/anticoagulación debo usar y cuánto tiempo?

Ante un paciente con indicación de ACO sometido a una ICP, tendríamos tres posibles estrategias de tratamiento. La que se usa habitualmente en pacientes sin necesidad de anticoagulación (la doble antiagregación), la triple terapia, que incluye doble antiagregación + ACO, y, por último, la doble terapia con un antiagregante y un anticoagulante. Actualmente, en base a los criterios de riesgo hemorrágico y embólico de cada paciente, se utilizan combinaciones de estas estrategias, especialmente de las dos últimas (Fig. 2).

Para dilucidar cuál de estas estrategias puede ser más beneficiosa para este perfil de paciente, disponemos de los resultados de un estudio con AVK (estudio WOEST) y tres recientemente publicados con ACOD PIONEER AF-PCI con rivaroxabán, REDUAL-PCI con dabigatrán y, recientemente, el AUGUSTUS con apixabán. El ensayo ENTRUST con edoxabán está aún sin publicar. Aunque todos estos estudios tienen limitaciones, como las dosis usadas de ACOD en algunos casos, o la duración inicial de la triple terapia, las más importantes son que cada uno usa un tipo de ACO diferente y, por otro lado, que son estudios de seguridad, pero no de eficacia. Sin embargo, los metaanálisis realizados sobre estos estudios coinciden en documentar que el riesgo de hemorragia mayor o no mayor con la doble terapia se reduce prácticamente a la mitad en comparación con la triple terapia. A pesar de la heterogeneidad de los estudios, estos metaanálisis indican que el riesgo de eventos cardiovasculares adversos no está aumentado en las estrategias de dobles terapias (10).

En pacientes de alto riesgo hemorrágico se recomienda iniciar la doble terapia (con ACOD y clopidogrel) desde el momento inicial de la ICP. Si el paciente tiene un riesgo hemorrágico moderado, se recomienda la triple terapia un mes (ACOD, AAS y clopidogrel) y luego continuar con la doble terapia (ACOD y clopidogrel). En los pacientes de alto riesgo isquémico, se recomienda mantener la triple terapia 6 meses.

La guía de la ESC recomienda usar la dosis mínima del ACOD evaluada en los ensayos fundamentales de FA y con demostrada eficacia para la prevención de ictus.

Por otro lado, es importante conocer cuánto tiempo es necesario mantener el tratamiento. En la mayoría de los casos, debe considerarse la interrupción del antiagregante plaquetario al año, aunque para los pacientes con bajo riesgo trombotico y alto riesgo hemorrágico el tratamiento doble puede limitarse a 6 meses,

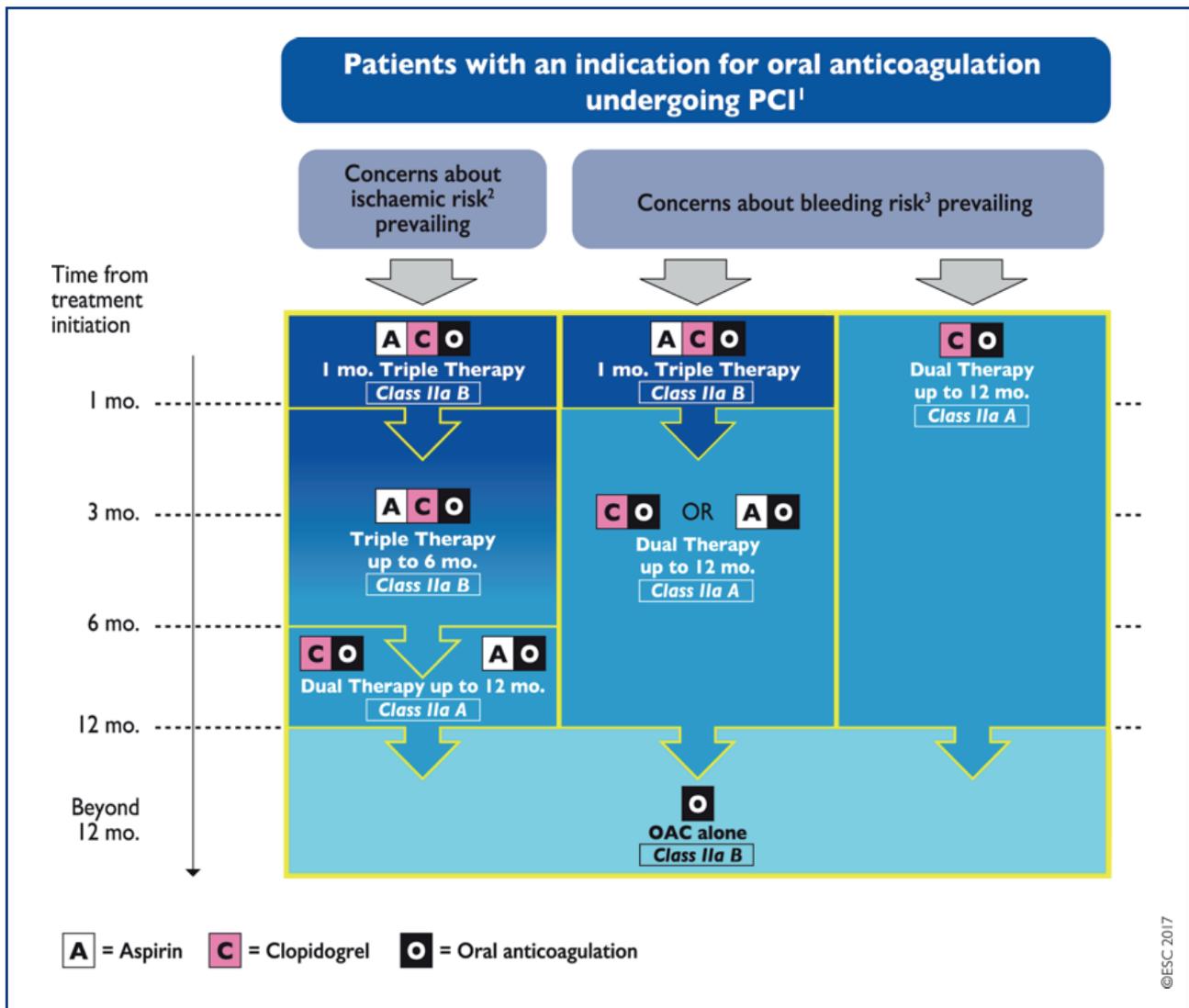


Figura 2. Algoritmo de manejo de la anticoagulación/antiagregación en pacientes con indicación de anticoagulación y realización de ICP.

e interrumpir el antiagregante plaquetario en ese momento. La continuación del antiagregante plaquetario combinado con el ACO a más largo plazo puede ser razonable para pacientes con un alto riesgo aterotrombótico y bajo riesgo hemorrágico; sin embargo, los resultados recientemente publicados del estudio AFIRE demuestran que la combinación de antiagregación y rivaroxabán más allá de un año frente a rivaroxabán únicamente no aporta más eficacia antitrombótica, pero sí más sangrados (11).

Conclusiones

El paciente anticoagulado de forma crónica que se somete a una ICP es un paciente de alta complejidad dado que coexisten riesgos isquémicos/trombóticos y hemorrágicos elevados. El uso de fármacos antitrombóticos potentes y en combinación aumen-

ta el riesgo hemorrágico de esta población. Hemos llegado a la paradoja de tener fármacos muy potentes, pero que intentamos usar el menor tiempo posible. La evidencia actual tiende a usar en esta población fundamentalmente ACO y clopidogrel en doble terapia, reservando las triples terapias para pacientes de alto riesgo isquémico.

Bibliografía

1. D'Angelo RG, McGinness T, Waite LH. Antithrombotic therapy in patients with atrial fibrillation undergoing percutaneous coronary intervention: where are we now? *Ann Pharmacother* 2018;52(9):884-97.
2. Sutton NR, Seth M, Ruwende C, et al. Outcomes of patients with atrial fibrillation undergoing percutaneous coronary intervention. *J Am Coll Cardiol* 2016;68(9):895-904.

3. Barrabés JA, Bardají A, Jiménez-Candil J, et al. Prognosis and management of acute coronary syndrome in Spain in 2012: the DIOCLES study. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)* 2015;68(2):98-106.
4. Sambola A, Bueno H, Gordon B, et al. Worse 12-month prognosis in women with non-valvular atrial fibrillation undergoing percutaneous coronary intervention. *Thromb Res* 2019;178:20-5.
5. Vivas D, Roldán I, Ferrandis R, et al. Perioperative and periprocedural management of antithrombotic therapy: consensus document of SEC, SEDAR, SEACV, SECTCV, AEC, SECPRE, SEPD, SEGO, SEHH, SETH, SEMERGEN, SEMFYC, SEMG, SEMICYUC, SEMI, SEMES, SEPAR, SENECA, SEO, SEPA, SERVEI, SECOT and AEU. *Rev Esp Cardiol* 2018;71(7):553-64.
6. Lip GYH, Collet J-P, Haude M, et al. Joint European consensus document on the management of antithrombotic therapy in atrial fibrillation patients presenting with acute coronary syndrome and/or undergoing percutaneous cardiovascular interventions: a joint consensus document of the European Heart Rhythm Association (EHRA), European Society of Cardiology Working Group on Thrombosis, European Association of Percutaneous Cardiovascular Interventions (EAPCI), and European Association of Acute Cardiac Care (ACCA) endorsed by the Heart Rhythm Society (HRS), Asia-Pacific Heart Rhythm Society (APHRS), Latin America Heart Rhythm Society (LAHRS), and Cardiac Arrhythmia Society of Southern Africa (CASSA). *Europace* 2018.
7. Neumann F-J, Sousa-Uva M, Ahlsson A, et al. 2018 ESC/EACTS Guidelines on myocardial revascularization. *Eur Heart J* 2019;40:87-165.
8. Kirchhof P, Benussi S, Kotecha D, et al. 2016 ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation developed in collaboration with EACTS. *Eur Heart J* 2016;37:2893-962.
9. Valgimigli M, Bueno H, Byrne R, et al. 2017 ESC focused update on dual antiplatelet therapy in coronary artery disease developed in collaboration with EACTS. *Eur Heart J* 2018;39:213-54.
10. Golwala HB, Cannon CP, Steg PG, et al. Safety and efficacy of dual vs. triple antithrombotic therapy in patients with atrial fibrillation following percutaneous coronary intervention: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Eur Heart J* 2018;39:1726-35.
11. Yasuda S, Kaikita K, Akao M, et al, on behalf of the AFIRE Investigators. Antithrombotic Therapy for Atrial Fibrillation with Stable Coronary Disease. *N Engl J Med* 2019; 381:1103-13.

CS-2. Caracterización del perfil proteico en trombos de pacientes con accidente cerebrovascular isquémico mediante SWATH-MS e identificación de biomarcadores de estratificación y predicción de evolución clínica*

López Pedrera R¹, Ibáñez-Costa A¹, Pérez-Sánchez C², Patiño Trives AM¹, Luque Tevar M¹, Ábalos Aguilera MC¹, Barbarroja Puerto N¹, Ochoa Sepúlveda JJ³, Valverde Moyano R³, Delgado Acosta F³, Oteros Fernández R³, Velasco Gimena F⁴

¹UGC Reumatología. Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (IMIBIC). Hospital Universitario Reina Sofía. Universidad de Córdoba. Córdoba. ²Department of Medicine. Cambridge Institute for Medical Research. Cambridge, Inglaterra. ³Servicio de Neuroradiología. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba. ⁴UGC Hematología. Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (IMIBIC). Hospital Universitario Reina Sofía. Universidad de Córdoba. Córdoba

Introducción

Las unidades de ictus tienen como objetivos prioritarios obtener un mejor conocimiento de la composición de dichos trombos y buscar tratamientos eficaces que permitan la reperfusión del tejido cerebral isquémico para prevenir el daño irreversible (infarto) y las recaídas. El objetivo general del presente estudio es el análisis del perfil proteómico de trombos obtenidos por trombectomía en pacientes con accidente cerebrovascular isquémico (ACVI), así como su asociación con la presencia de factores específicos de riesgo CV y la evolución clínica tras la trombectomía.

Métodos

Cincuenta trombos de pacientes con ictus de origen embólico o aterotrombótico obtenidos mediante trombectomía fueron analizados por SWATH-MS (Sequential Window Acquisition of all Theoretical Mass Spectra). En paralelo, se evaluaron parámetros asociados al ACVI: hipertensión, dislipidemia, obesidad, diabetes, fibrilación auricular y cardiopatía isquémica. Asimismo, se evaluó la función neurológica (NIHSS) y la afectación cerebral (ASPECTS) antes de la trombectomía y el estado clínico de los pacientes a los 3 meses, utilizando la escala modificada de Rankin (mRS). Las proteínas identificadas se clasificaron en relación a procesos y funciones biológicas (IPA, STRING y Reactome). Se realizaron análisis estadísticos de asociación y tipificación clínica.

Resultados

El análisis permitió la identificación y la cuantificación de 585 proteínas. Un alto porcentaje se halló relacionado con hemostasia primaria, señalización de integrinas y quinasas ligadas a integrinas, glicolisis y reactantes de fase aguda. Análisis comparativos realizados considerando factores de riesgo de ACVI iden-

tificaron firmas proteicas en base a factores predisponentes: 11 proteínas relacionadas con la oxidación de ácidos grasos y la homeostasis del hierro clasificaron los pacientes con hipertensión; 11 proteínas, relacionadas con hemostasia y metabolismo lipídico, diferenciaron pacientes con dislipemia; 11 proteínas, implicadas en el metabolismo de las porfirinas o de la señalización de citoquinas, distinguieron pacientes con obesidad; 8 proteínas, implicadas en glucolisis y gluconeogénesis, se hallaron alteradas en diabéticos. Asimismo, se han caracterizado perfiles proteicos específicos asociados a la ocurrencia previa de fibrilación auricular o cardiopatía isquémica. Finalmente, 15 proteínas, relacionadas con respuesta inmune o metabolismo celular e involucradas en enfermedades vasculares, correlacionaron con las escalas NIHSS y ASPECTS. Por último, identificamos 10 proteínas alteradas en pacientes con evolución negativa a 3 meses (mRS>2) (Fig. 1): SLC2A1, CTSC, VASP, PRDX4, S100A11 y USP14, asociadas al desarrollo de ictus o daños cerebrales; TLN1 y F13A1, asociadas a agregación plaquetaria; GSN, marcador de mortalidad en pacientes con ictus; e ILK, proteína plaquetaria alterada en pacientes con trombosis arterial.

Conclusiones

En suma, la utilización de la técnica SWATH-MS ha permitido la identificación de un elevado número de proteínas en los trombos, así como la caracterización de firmas proteicas como posibles biomarcadores para determinar su origen y/o definir una estrategia terapéutica tras un ACVI.

Financiado por Junta de Andalucía (PAIDI CTS620).

***Comunicación oral seleccionada para simposio.**

Proteínas presentes en el tejido infartado, cuyos niveles correlacionan con la evolución clínica del paciente con ACVI a los tres meses de la trombectomía, utilizando el score mRS

	Proteína	Gen	Nombre	Función	AUC	P value	Especificidad (%)	Sensibilidad (%)	Punto de corte
Incrementadas en pacientes con mala evolución (mRS>2)	P11166	SLC2A1	Solute Carrier Family 2 Member 1	Transportador de glucosa	0,815	0,024	77,78	66,67	257468
	P54578	USP14	Ubiquitin Specific Peptidase 14	De-ubiquitinasa asociada al proteasoma	0,778	0,046	77,78	66,67	56384
Reducidas en pacientes con mala evolución (mRS>2)	Q9Y490	TLN1	Talin 1	Adhesión célula-célula	0,79	0,038	88,89	77,78	8709344
	P53634	CTSC	Cathepsin C	Tiol-proteasa lisosomal	0,79	0,038	88,89	77,78	65162
	Q13162	PRDX4	Peroxiredoxin 4	Reduce peróxido de hidrógeno y hidroperóxidos orgánicos	0,803	0,031	88,89	66,67	40752
	P00488	F13A1	Coagulation Factor XIII A Chain	Subunidad catalítica del Factor XIII. Formación del coágulo de fibrina	0,815	0,024	88,89	66,67	2781131
	P06396	GSN	Gelsolin	Proteína del citoesqueleto	0,852	0,012	77,78	88,89	5149390
	P50552	VASP	Vasodilator Stimulated Phosphoprotein	Remodelación del citoesqueleto. Agregación plaquetaria	0,864	0,009	88,89	66,67	337398
	P31949	S100A11	S100 Calcium Binding Protein A11	Proteína de unión a calcio. Regulación del ciclo celular y adhesión	0,864	0,009	88,89	77,78	111933
	Q13418	ILK	Integrin Linked Kinase	Kinasa que regula la señalización por integrinas	0,889	0,005	88,89	77,78	788541

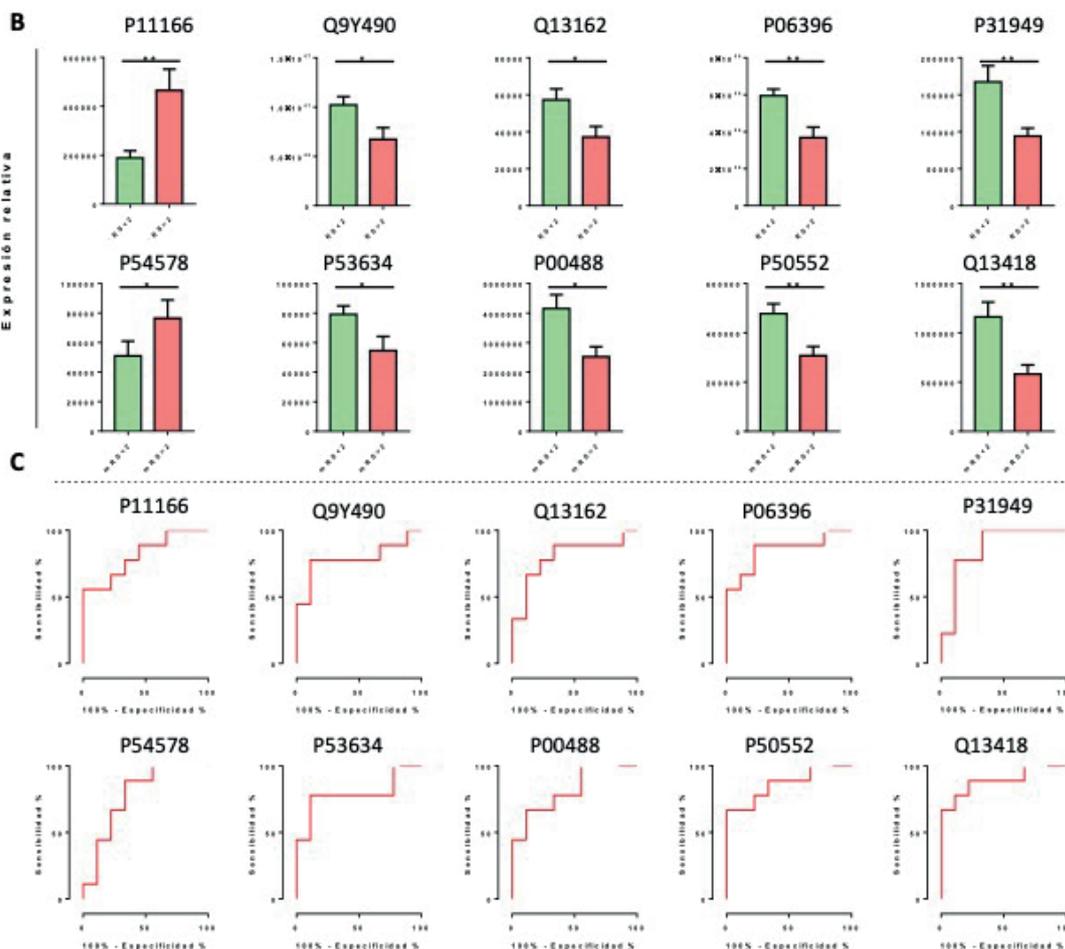


Figura 1.

Tratamiento actual de la hemofilia

COORDINADORAS: Dra. M.^a Teresa Álvarez Román. Hospital Universitario La Paz. Madrid
Dra. Amparo Santamaría Ortiz. Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona

Estamos, sin duda, ante un nuevo horizonte en la historia de la Hemofilia, tanto a nivel científico como asistencial. Una época apasionante en la que, por fin, las personas con hemofilia y los hematólogos veremos un cambio radical en el manejo y en la comprensión de esta patología.

En este simposio, el Dr. Víctor Jiménez Yuste nos hablará del manejo actual del paciente con hemofilia e inhibidor. La introducción de tratamientos disruptivos, con una alta eficacia, ha cambiado por completo la enfermedad en este grupo de pacientes. En la ponencia se revisarán los resultados de tratamientos ya aprobados por la EMA, así como otros que están aún en fase de desarrollo clínico.

En la segunda ponencia, el Dr. Ramiro Núñez Vázquez nos comentará cómo los concentrados de factor de vida media extendida han variado los regímenes de profilaxis y los retos a los que nos enfrentaremos en los próximos años, cómo manejarnos en situaciones como cirugías y sangrados y cómo estos nuevos concentrados mejorarán la salud articular y la calidad de vida de los pacientes con hemofilia.

La Dra. Marijke van den Berg, que lleva el importante registro internacional PedNet, revisará la situación actual de la terapia génica, así como las expectativas que tenemos hoy tanto en países desarrollados como en los que están en vías de desarrollo. Nos presentará cuáles son las barreras a la hora de ofrecer estos tratamientos en diferentes situaciones y cuál es la perspectiva del paciente frente a estos tratamientos innovadores.

El futuro en la hemofilia ya está aquí y, sin duda, acabamos de empezar. Este simposio nos dará los conceptos del nuevo abordaje terapéutico de estos pacientes, pero también nos abrirá muchos interrogantes que aún quedan por resolver.

Manejo del paciente con hemofilia e inhibidor en 2019

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

Introducción

El desarrollo de inhibidor frente al factor deficitario continúa siendo la mayor complicación del tratamiento sustitutivo de la hemofilia, que acontece entre el 25-40% de los pacientes con hemofilia A grave y menos del 5% en los pacientes con hemofilia B grave. La consecuencia fundamental es la ineffectividad de la terapia sustitutiva, con un aumento del riesgo de los sangrados incontrolados, la morbilidad, la mortalidad y el coste (1). El tratamiento de los pacientes con inhibidor ha permanecido estable, sin grandes avances terapéuticos en los últimos 20 años. La aparición de nuevas moléculas con diferentes mecanismos de acción está suponiendo y supondrá un gran avance en el manejo de los pacientes con hemofilia e inhibidor.

El abordaje clásico en el caso de los pacientes con hemofilia A que desarrollan inhibidor se basa en la erradicación del inhibidor mediante inmunotolerancia (ITI) y en el control de los episodios hemorrágicos. Ambos pilares del tratamiento tal y como hoy en día los concebimos se verán sin lugar a duda modificados con la llegada de los nuevos tratamientos, con lo que se abrirán diferentes abordajes y posibilidades terapéuticas.

Nuevos agentes

Los nuevos tratamientos varían en su mecanismo de acción frente al efecto clásico de los agentes *bypass* (factor VII recombinante activado [rFVIIa; NovoSeven®, Novo Nordisk, Bagsværd, Dinamarca]) y el concentrado del complejo protrombínico activado (CCPa; FEIBA®, Takeda Pharmaceutical Company, Osaka, Japón) y han venido denominándose *terapias no sustitutivas*, incluyendo la tecnología que produce anticuerpos biespecíficos, que restauran las funciones del FVIII y la inhibición de proteínas anticoagulantes (inhibidor de la vía del factor tisular [TFPI] y antitrombina [AT] utilizando anticuerpos, aptámeros o tecnologías basadas en RNA de interferencia [RNAi]).

Emicizumab es un anticuerpo monoclonal biespecífico humanizado que es capaz de restaurar las funciones del factor VIII activado (FVIIIa), uniendo al factor X (FX) con el factor IX activado (FIXa) (2). Basado en los resultados de cuatros ensayos en fase 3 (HAVEN 1-4) (3), emicizumab ha sido aprobado por la FDA y la EMA para la profilaxis de los episodios hemorrágicos en pacientes con hemofilia A con y sin inhibidor en todos los grupos de edad. Los datos que se desprenden de los estudios en pacientes con inhibidor es que se produce una disminución de los episodios hemorrágicos del 87% en los pacientes en profilaxis con emicizumab respecto al tratamiento con agentes *bypass* a la demanda. Estos datos suponen un gran avance en la prevención de los epi-

sodios hemorrágicos en pacientes con hemofilia A e inhibidor, y permiten su utilización vía subcutánea semanal, bisemanal y cada cuatro semanas. Se han descrito casos de complicaciones trombóticas y microangiopatía trombótica cuando se asociaba el uso de CCPa. Es importante destacar que, por el mecanismo de acción, su utilidad y autorización se limita a pacientes con hemofilia A e inhibidor (Fig. 1).

El resto de las moléculas con potencial tanto en la profilaxis como en el tratamiento de las complicaciones hemorrágicas en pacientes con hemofilia A y hemofilia B se resumen en la [tabla I](#) (se encuentran en diferentes fases de desarrollo). Los resultados más recientes y prometedores se desprenden de la publicación del estudio de fase II, en el cual, si bien el objetivo fundamental era el estudio de la seguridad y de los datos de farmacocinética (PK) y farmacodinamia (PD) de la administración diaria de diferentes niveles de dosis de concizumab, un anticuerpo frente al TFPI, se observa una disminución importante de las tasas de sangrados anualizadas de los pacientes con hemofilia A y B con inhibidor (4).

Nueva visión del ITI

La mayoría de los pacientes con hemofilia A e inhibidor responde de forma favorable tras la ITI con tasas de éxito en los registros internacionales entre el 51-79% (5). Sin embargo,

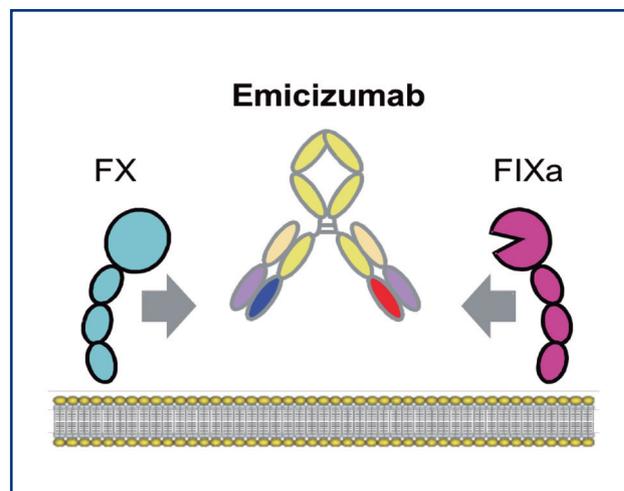


Figura 1. Mecanismo de acción de emicizumab.

Tabla I. Moléculas en desarrollo para el tratamiento y la prevención de los episodios hemorrágicos en pacientes con hemofilia e inhibidor		
Molécula	Laboratorio farmacéutico	Fase de desarrollo
Fitusirán (inhibidor AT, RNA de interferencia [RNAi])	Anylam/Sanofi	Fase III
LR 769 (<i>Coagulation factor VIIa replacement [recombinant]; agente bypass</i>)	rEVO Biologics/LFB	Fase III
<i>Marzeptacog alfa (Coagulation factor VIIa replacement [recombinant]; agente bypass)</i>	Catalyst BioSciences	Fase II
Concizumab (anti-TFPI, <i>monoclonal antibody</i> [mAb])	Novo Nordisk	Fase II
BAY1093884 (anti-TFPI, <i>monoclonal antibody</i> [mAb])	Bayer	Fase II
Marstacimab (PF-06741086) (anti-TFPI, <i>monoclonal antibody</i> [mAb])	Pfizer	Fase II

en algunos pacientes es difícil conseguir esta tolerancia y/o no responden a la primera línea de ITI (de forma general, son los pacientes más difíciles de manejar). Las recomendaciones vigentes en la mayoría de los centros a nivel internacional en relación al manejo de la ITI se sustentan en los datos derivados de los registros internacionales y conferencias de consenso, incluyendo nuevas consideraciones en relación a los nuevos tratamientos no sustitutivos (6-9).

En la mayoría de los casos, las dudas relacionadas con la ITI son similares, basadas en quién debía recibir ITI, cuándo debe iniciarse, qué tipo de producto de FVIII debe ser utilizado, qué tipo de esquema es el más adecuado, cómo monitorizar la ITI, cuál es la definición de éxito o respuesta parcial, si es preciso o no añadir inmunosupresión al tratamiento con FVIII y hasta cuándo debemos continuar la ITI si no hay respuesta. Un dato a tener en cuenta es que la mayoría de los inhibidores en hemofilia A grave

acontecen en las primeras exposiciones (20-30 días de exposición), lo que supone que los candidatos a recibir ITI son niños menores de 2 años con accesos venosos muy complicados y que, en la mayoría de los casos, requieren accesos venosos centrales con las complicaciones asociadas a su utilización, fundamentalmente de origen infeccioso.

Todas estas cuestiones han sido abordadas a lo largo del tiempo, pero algunas de ellas seguirán abiertas a lo largo de los próximos años. Sin embargo, se intuye en el panorama futuro inmediato un cambio radical a la hora de interpretar muchos de los conceptos actuales con la llegada de los nuevos tratamientos.

Siguiendo el esquema general representado en la [figura 2](#), en el cual puede valorarse de forma temporal desde el desarrollo del inhibidor hasta la culminación con éxito o fracaso de la ITI, podemos entender muchos de los cambios que se avecinan. La comercialización de emicizumab ha sido el punto de partida para

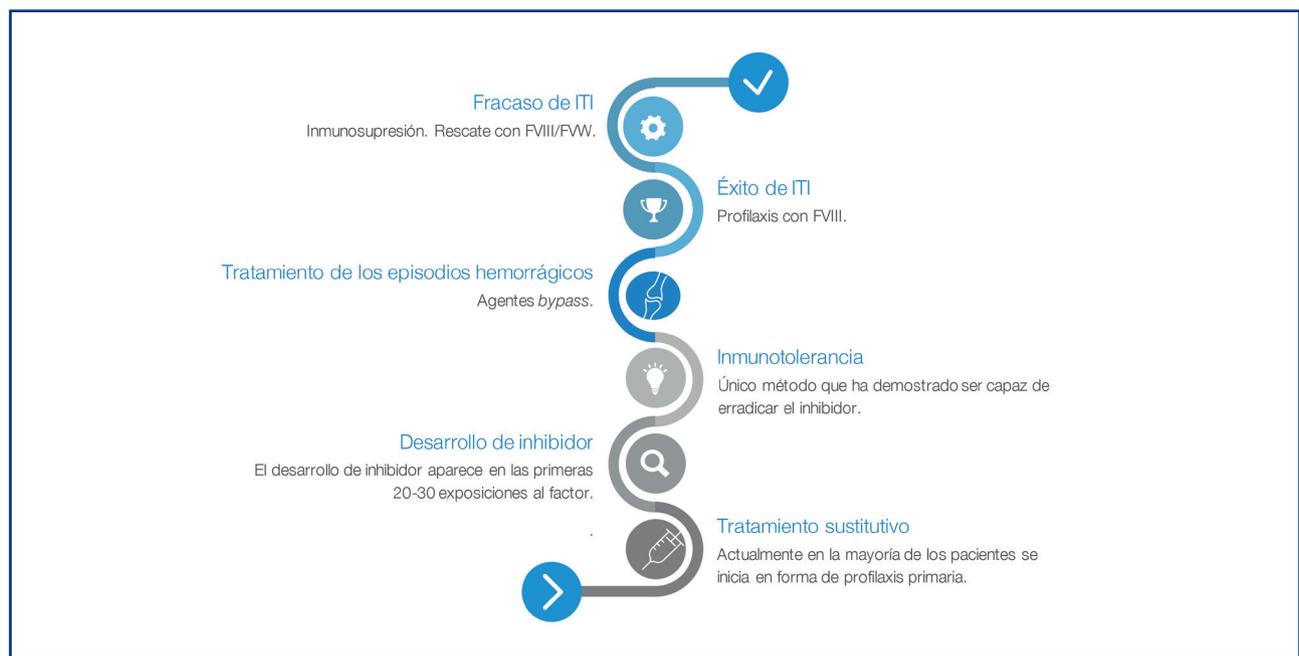


Figura 2. Desarrollo de inhibidor e inmunotolerancia.

este cambio de paradigma, y probablemente puedan seguir otras moléculas en el futuro.

La posible utilización de una profilaxis con emicizumab tras el diagnóstico de hemofilia A y una tolerancia posterior es una de las posibilidades que está estudiándose. Obviamente queda por estudiar cómo se realizaría esta tolerancia al FVIII en términos de dosis, esquema y consideración de éxito en la ausencia de desarrollo de inhibidor.

Un punto importante, como ha quedado reflejado previamente, es el hecho de que el desarrollo de inhibidor sucede muy pronto, tras las primeras exposiciones al factor en niños que generalmente presentan accesos venosos muy complicados. La gran duda generada en la literatura médica radica en si es necesario realizar ITI o no en este grupo de edad. La mayoría de los autores y algunos grupos preconizan que, dado que emicizumab y las nuevas moléculas no son monoterapia, es decir, que la protección frente a los episodios hemorrágicos no es total, la ITI debe ser realizada en todos los niños que desarrollen inhibidor, ya que pueden enfrentarse en un futuro a una cirugía mayor o a un episodio hemorrágico que puede comprometerle la vida (7).

Un tema en estudio que está en marcha es la asociación de emicizumab e ITI con el objeto de prevenir los episodios hemorrágicos durante el proceso de tolerancia inmune. Así, diferentes grupos, como Motivate, o los recientes publicados de la experiencia del grupo de Atlanta (10), avalan la exploración de esta asociación. Sin embargo, surgen de nuevo diferentes dudas que quedan por despejar en un futuro, como qué hacer si conseguimos la tolerancia inmune, si mantener emicizumab solo en el tratamiento puede provocar la pérdida de la tolerancia al FVIII, el coste elevado de utilizar ambas terapias o si concentrados que han demostrado una mayor tasa de éxito a la hora de obtener tolerancia, como el FVIII con contenido en factor Von Willebrand (FVIII/FvW), pueden tener un papel al respecto (11). Todas estas respuestas están actualmente en análisis por diferentes estudios cooperativos a nivel internacional.

En definitiva, dentro de este proceso, que conlleva el desarrollo de inhibidor y la realización de inmunotolerancia, se han abierto nuevas posibilidades con la llegada de emicizumab y, probablemente, con las moléculas futuras, que cambiarán de forma radical la visión actual de la ITI. Concepciones clásicas, como segundas y sucesivas ITI y la asociación de inmunosupresores a ITI en caso de fracaso, muy probablemente dejarán de considerarse alternativas en pacientes que fracasen a un intento inicial de ITI.

Control de las hemorragias

Para el control de las hemorragias se utilizan los agentes *bypass* como el factor VII recombinante activado (rFVIIa; NovoSeven®) y el concentrado del complejo protrombínico activado (CCPa; FEIBA®). Ambos fármacos han demostrado a lo largo de los últimos años ser capaces de prevenir y controlar el sangrado en pacientes con hemofilia e inhibidor, aunque sin la efectividad de la terapia sustitutiva con el factor deficitario como en los pacientes sin inhibidor; asimismo, han demostrado durante décadas eficacia y seguridad en su uso aislado en pacientes con hemofilia e inhibidor (12).

La llegada de emicizumab con datos tan elevados de protección ha condicionado una disminución en la utilización de los agentes *bypass*. Sin embargo, durante el desarrollo clínico en los diferentes ensayos se observaron eventos de trombosis y microangiopatía trombótica cuando se utilizaba CCPa para el control de las hemorragias en pacientes con emicizumab. Este hecho hizo que se establecieran unas recomendaciones en las que el agente de elección en caso de sangrado intercurrente en pacientes con inhibidor y profilaxis con emicizumab fuera el rFVIIa, o en caso de no disponer del agente *bypass* (o, debido a su fracaso, se utilizaron dosis bajas de CCPa). Recientemente, una revisión de los datos provenientes de los estudios en adultos y niños en profilaxis con emicizumab ha demostrado la seguridad de utilizar dosis estándar de rFVIIa (13). Por otro lado, están en marcha diferentes estudios a nivel de laboratorio para explorar la utilización de dosis bajas de CCPa con la misma seguridad.

Una necesidad no cubierta es la monitorización de la asociación entre emicizumab y agentes *bypass* en caso de sangrado y, especialmente, en cirugía. Están en marcha diferentes estudios, fundamentalmente basados en técnicas viscoelásticas o de generación de trombina.

Hemofilia B

A pesar de la baja frecuencia de aparición de inhibidor en el caso de la hemofilia B, las opciones terapéuticas son mucho menores que el caso de la hemofilia A. El desarrollo de reacciones anafilácticas tras la infusión de FIX, el síndrome nefrótico asociado a las altas dosis de FIX y la baja tasa de éxito en la ITI hacen que la mayoría de los pacientes con hemofilia B no recibieran o hayan fracasado a ITI (14). Muchos de ellos se encuentran en tratamiento a la demanda o en profilaxis con agentes *bypass*, en la mayoría de los casos con rFVIIa, ya que muchos de ellos presentan reacciones adversas al CCPa por el FIX que se encuentra en el concentrado. Aún no existen muchos datos en la literatura, pero los de las fases iniciales de estudios de moléculas con inhibición de proteínas anticoagulantes (inhibidor de la vía del factor tisular [TFPI] y antitrombina [AT] utilizando anticuerpos, aptámeros o tecnologías basadas en RNA de interferencia [RNAi]) fundamentan su utilización en pacientes con hemofilia B e inhibidor.

Consideraciones finales

El panorama actual del manejo de los pacientes con inhibidor ha cambiado radicalmente con la llegada de emicizumab y seguirá evolucionado con la llegada de los nuevos agentes de terapia no sustitutiva. Una población de pacientes que, aunque reducida en número, suponía el grupo más vulnerable, con mayores tasas de sangrado, menor calidad de vida, mayor mortalidad y mayor necesidad de recursos, ha hecho realidad muchas de sus necesidades no cubiertas en las últimas décadas, bien a través de ensayos clínicos, muchos aún en marcha, o tras la comercialización de la primera molécula de este grupo. Si el panorama de la hemofilia actual en general es prometedor y cambiante, en particular los pacientes con inhibidor son los que se han beneficiado de los mayores avances terapéuticos acaecidos hasta el momento.

Bibliografía

1. Ljung R, Auerswald G, Benson G, et al. Inhibitors in haemophilia A and B: Management of bleeds, inhibitor eradication and strategies for difficult-to-treat patients. *Eur J Haematol* 2019;102(2):111-22.
2. Kitazawa T, Esaki K, Tachibana T, et al. Factor VIIIa-mimetic cofactor activity of a bispecific antibody to factors IX/IXa and X/Xa, emicizumab, depends on its ability to bridge the antigens. *Thromb Haemost* 2017;117(7):1348-57.
3. Mahlangu J. Emicizumab for the prevention of bleeds in hemophilia A. *Expert Opin Biol Ther* 2019;19(8):753-61.
4. Shapiro AD, Angchaisuksiri P, Astermark J, et al. Subcutaneous concizumab prophylaxis in hemophilia A and hemophilia A/B with inhibitors: Phase 2 trial results. *Blood* 2019 Aug 23. pii: blood.2019001542.
5. Peyvandi F, Ettingshausen CE, Goudemand J, et al. New findings on inhibitor development: from registries to clinical studies. *Haemophilia* 2017;23(Suppl.1):4-13.
6. DiMichele DM, Hoots WK, Pipe S, et al. International workshop on immune tolerance induction: consensus recommendations. *Haemophilia* 2007;13(s1):1-22.
7. Carcao M, Escuriola-Ettingshausen C, Santagostino E, et al. The changing face of immune tolerance induction in haemophilia A with the advent of emicizumab. *Haemophilia* 2019;25(4):676-84.
8. Valentino LA, Kempton CL, Kruse-Jarres R, et al. US Guidelines for immune tolerance induction in patients with haemophilia A and inhibitors. *Haemophilia* 2015;21(5):559-67.
9. Santagostino E, Young G, Escuriola Ettingshausen C, et al. Inhibitors: A Need for Eradication? *Acta Haematol* 2019;141(3):151-5.
10. Batsuli G, Zimowski KL, Tickle K, et al. Immune tolerance induction in paediatric patients with haemophilia A and inhibitors receiving emicizumab prophylaxis. *Haemophilia* 2019 Aug 2;
11. Santagostino E, Rangarajan S, Oldenburg J, et al. Rapid and sustained immune tolerance to inhibitors induced by a plasma-derived, VWF-containing FVIII concentrate. *Haemophilia* 2019;25(2):e110-3.
12. Walsh CE, Jiménez-Yuste V, Auerswald G, et al. The burden of inhibitors in haemophilia patients. *Thromb Haemost* 2016;116(Suppl.1):S10-17.
13. Levy GG, Asikanius E, Kuebler P, et al. Safety analysis of rFVIIa with emicizumab dosing in congenital hemophilia A with inhibitors: Experience from the HAVEN clinical program. *J Thromb Haemost* 2019;17(9):1470-7.
14. Dolan G, Benson G, Duffy A, et al. Haemophilia B: Where are we now and what does the future hold? *Blood Rev* 2018;32(1):52-60.

Cambios en el tratamiento profiláctico del paciente con hemofilia en la era de los EHL

Núñez Vázquez P.

Unidad de Hemofilia. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla

La administración regular de concentrados de factor 2-3 veces por semana, conocido como tratamiento profiláctico, es el estándar de tratamiento para niños y, cada vez más extendido, también en pacientes adultos con hemofilia grave, algunas formas moderadas e incluso leves con fenotipo hemorrágico grave (1). La experiencia sueca publicada en 1991 mostró cómo el inicio temprano de la profilaxis tiene un efecto primordial a largo plazo, con mejores resultados en los niños que comenzaron la profilaxis a la edad de 3 años que en aquellos que lo hicieron a partir de los 5 años (2).

Varios estudios prospectivos han confirmado que la profilaxis reduce el número de hemartros y de otros sangrados graves, lo que favorece la integración de los pacientes en su vida laboral y escolar, permitiendo la práctica de actividades deportivas y de ocio, que suponen una mejora en su calidad de vida. En el año 2007, Manco-Johnson y cols. publicaron los resultados del primer estudio aleatorizado, prospectivo y multicéntrico (*Joint Outcome Study*) en el que se estableció evidencia científica de la eficacia del tratamiento profiláctico frente al tratamiento a demanda en niños con hemofilia grave tras cinco años de seguimiento en cuanto a reducción de las hemorragias y del daño articular (3).

Otros motivos para una instauración de la profilaxis temprana son la prevención de la aparición de hemorragias graves que pueden comprometer la vida del paciente, así como su posible participación en la prevención del desarrollo de inhibidores (4).

También en pacientes que comienzan la profilaxis en edades más tardías, la profilaxis con concentrados de factor ha demostrado su efecto beneficioso, como quedó comprobado en estudios como el SPINART, que han mostrado que, si bien la artropatía ya establecida puede ser irreversible a pesar de una profilaxis tardía, la interrupción mantenida de los episodios hemorrágicos mejora la salud de las articulaciones, la actividad, la satisfacción del tratamiento y la reducción del dolor (5).

Teniendo en cuenta el momento de inicio de la profilaxis, la ISTH distingue tres tipos:

1. Profilaxis primaria: tratamiento periódico continuo, iniciado precozmente en la infancia antes de los tres años de vida y antes de la aparición del segundo hemartros, en ausencia de enfermedad articular documentada, mediante exploración física o técnicas de imagen.
2. Profilaxis secundaria: tratamiento periódico continuo, iniciado después de dos o más hemorragias articulares, pero antes de la aparición de la enfermedad articular.
3. Profilaxis terciaria: tratamiento periódico continuo, iniciado después de la aparición de la enfermedad articular.

Con frecuencia encontramos barreras para la implantación de la profilaxis. El acceso venoso periférico puede ser un problema

y requerir el uso de dispositivos de acceso venoso permanentes, no exentos de riesgos concomitantes de infección y trombosis (6). El comienzo en la infancia temprana hace que los niños se adapten mejor al tratamiento y lo asuman como parte normal de su vida. Sin embargo, los esquemas de infusión frecuentes pueden condicionar la calidad de vida del paciente, especialmente de niños y adolescentes en los que, a veces, la adherencia es difícil. Paradójicamente, la ausencia de sintomatología también puede ser una importante barrera para la administración de una profilaxis regular (7).

La corta vida media tanto del FVIII (8-12 horas) como del FIX (18-24 horas) condiciona los esquemas “clásicos” de profilaxis basados en la administración de concentrados cada 2-3 días para la hemofilia A (Tabla I) y 1-2 veces por semana para la hemofilia B (8).

En la última década se han desarrollado nuevas moléculas cuyo objetivo era solventar las necesidades no cubiertas con los concentrados de vida media estándar disponibles. Esta nueva generación de factores se denomina, de forma genérica, *concentrados de vida media larga* (EHL, del inglés *Extended Half-Life*), y han supuesto un incremento en la vida media del FVIII de 1,5 veces y entre 4 y 5 veces para el FIX gracias a diferentes estrategias (Tablas II y III). De forma muy resumida, los mecanismos utilizados para aumentar la vida media de los concentrados han sido la unión a la fracción Fc de la inmunoglobulina subclase 1 (IgG1) o a la albúmina, la adición de moléculas de polietilenglicol (PEG) o la modificación de la molécula de FVIII mediante la unión covalente de las cadenas pesada y ligera del FVIII en una única cadena polipeptídica (9).

Tabla I. Regímenes profilácticos con concentrados de factor de vida media estándar

Protocolo	Dosis
Malmö (altas dosis)	25-40 UI/kg tres veces a la semana, comenzando a la edad de 1-2 años
Holandés (dosis intermedias)	15-25 UI/kg 2-3 veces a la semana, comenzando habitualmente después del primer hemartros
Canadiense (dosis escalonadas)	50 UI/kg por semana, ajustando a 30 UI/kg dos veces a la semana, o a 25 UI/kg cada 48 h, dependiendo del fenotipo hemorrágico

Tabla II. Productos de vida media extendida en hemofilia A

Nombre	Tecnología	Línea celular	Vida media	Aumento de vida media	Situación
Efmoroctocog alfa Elocta®	Fusión con el fragmento Fc de la IgG1	HEK293H	19,7 ± 2,3	1,5 veces	Comercializado
Rurioctocog Adynovi®	Pegilación específicas (PEG de 20 kDa)	CHO	14,7 ± 3,8	1,4 veces	Comercializado
Lonooctocog alfa Afstyla®	Unión covalente de las cadenas pesada y ligera del FVIII en una única cadena polipeptídica	CHO	14,2 ± 3,7	1,4 veces	Comercializado
Turoctocog alfa pegol Esperoct	Glicopegilación dirigida con PEG modificada ácido siálico de 40 kDa en el dominio B	CHO	19	1,5-1,6 veces	Aprobado. Pendiente de comercialización
Damooctocog Jivi®	Pegilación dirigida con PEG de 60 kDa en el dominio A3	BHK	19	1,5-1,6 veces	Comercializado

HEK: human embryonic kidney; CHO: chinese hamster ovary; BHK: baby hamster kidney.

Tabla III. Productos de vida media extendida en hemofilia B

Nombre	Tecnología	Línea celular	Vida media (h)	Situación
Eftrenonacog alfa Alprolix®	Fusión con el fragmento Fc de la IgG1	HEK293H	82	Comercializado. No reembolsable
Albutrepenonacog alfa Idelvion®	Proteína de fusión con albúmina	CHO	105	Comercializado. No reembolsable
Nonacog beta pegol Refixia®	Glicopegilación selectiva con PEG de 40 kDa	CHO	70-93	Comercializado. No reembolsable

HEK: human embryonic kidney; CHO: chinese hamster ovary; BHK: baby hamster kidney.

Estos nuevos concentrados presentan un perfil farmacocinético diferente que aumenta la vida media del factor administrado, con lo que se reduce así el número de infusiones requeridas, con un intervalo de administración que puede prolongarse, en general, a 2-5 días (10-13). Existen distintos escenarios en los que según el perfil y las necesidades de los pacientes el esquema de profilaxis puede ser readaptado. Así, pacientes estables y bien controlados son los que se beneficiarían principalmente de esta reducción en el número de infusiones y, por tanto, de un menor consumo que, según las series, se sitúa entre el 18 y el 38% (14). Existe otro perfil de pacientes en los que puede ser necesario un aumento de los niveles valles de actividad de factor, ya sea por un mal control con su pauta actual o por una vida muy activa que requiera de un mayor umbral de seguridad (15).

Sabemos que la respuesta entre individuos es muy variable. Por este motivo se ha desarrollado la aplicación de modelos predictivos de farmacocinética (PK): para el mejor ajuste del tratamiento con el consiguiente impacto positivo en los objetivos clínicos (16). La dificultad en la aplicación de modelos de PK se ha intentado subsanar utilizando modelos poblacionales

que, mediante la aplicación de algoritmos bayesianos, nos permiten conocer los parámetros de PK del factor infundido con solo 2 o 3 muestras. En este sentido, programas como el WAPPS (www.wappshemo.org) o aplicaciones web como MyPKFiT® (específica para Advate® y Adinovy®) permiten ajustar la profilaxis a la PK del factor infundido utilizando modelos poblacionales que nos permiten calcular las curvas farmacocinéticas y personalizar la dosis y la infusión en los regímenes de profilaxis (17).

Las expectativas respecto a la profilaxis y a la reducción del número de infusiones con productos EHL son especialmente prometedoras en la hemofilia B. La extensión de la vida media de 3-5 veces permite a los pacientes recibir factor una vez cada 7-14 días manteniendo niveles de FIX del 10 al 20% (18). Se han desarrollado y aprobado tres productos: eftrenonacog alfa (rFIX-Fc; Alprolix®), albutrepenonacog alfa (rIX-FP; Idelvion®) y Nonacog beta pegol (rIX-GP; Refixia®). En el caso de estos productos, a diferencia de los productos EHL aprobados para la hemofilia A, en nuestro país por ahora no existe la posibilidad del reembolso por parte del sistema sanitario público.

Los nuevos concentrados EHL abren nuevas expectativas en el tratamiento profiláctico de la hemofilia. Carcao M. y cols. proponen en un interesante artículo recientemente publicado una nueva definición de profilaxis: administración regular de un agente/agentes hemostáticos que previenen de forma segura, eficaz y convenientemente el sangrado, al mismo tiempo que permiten que los pacientes con hemofilia desarrollen vidas activas (15).

Bibliografía

- Berntorp E. History of prophylaxis. *Haemophilia* 2013;19:163-5.
- Petrini P, Lindvall N, Egberg N, et al. Prophylaxis with factor concentrates in preventing hemophilic arthropathy. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1991;13:280-7.
- Manco-Johnson MJ, Abshire TC, Shapiro AD, et al. Prophylaxis versus episodic treatment to prevent joint disease in boys with severe hemophilia. *N Engl J Med* 2007;357(6):535-44.
- Coppola A, Tagliaferri A, Di Capua M, et al. Prophylaxis in children with hemophilia: evidence-based achievements, old and new challenges. *Semin Thromb Hemost* 2012;38(1):79-94.
- Manco-Johnson MJ, Kempton CL, Reding MT, et al. Effect of late prophylaxis in hemophilia on joint status: a randomized trial. *J Thromb Haemost* 2017;15(11):2115-24.
- Santagostino E, Mancuso ME. Venous access in haemophilic children: choice and management. *Haemophilia* 2010;16(Suppl. 1):20-4.
- Schrijvers LH, Uitslager N, Schuurmans MJ, et al. Barriers and motivators of adherence to prophylactic treatment in haemophilia: a systematic review. *Haemophilia* 2013;19(3):355-61.
- Schwarz R, Ljung R, Tedgård U. Various regimens for prophylactic treatment of patients with haemophilia. *Eur J Haematol* 2015;94(Suppl.77):11-6.
- Lieuw K. Many factor VIII products available in the treatment of hemophilia A: an embarrassment of riches? *J Blood Med* 2017;8:67-73.
- Mahlangu J, Powell JS, Ragni MV, et al.; A-LONG Investigators. Phase 3 study of recombinant factor VIII Fc fusion protein in severe hemophilia A. *Blood* 2014;123(3):317-25.
- Brand B, Gruppo R, Wynn TT, et al. Efficacy and safety of pegylated full-length recombinant factor VIII with extended half-life for perioperative haemostasis in haemophilia A patients. *Haemophilia* 2016;22(4):e251-8.
- Giangrande P, Andreeva T, Chowdary P, et al. Clinical evaluation of glycoPEGylated recombinant FVIII: Efficacy and safety in severe haemophilia A. *Thromb Haemost* 2017;117(2):252-61.
- Mahlangu J, Kuliczowski K, Karim FA, et al.; AFFINITY Investigators. Efficacy and safety of rVIISingleChain: results of a phase 1/3 multicenter clinical trial in severe hemophilia A. *Blood* 2016;128(5):630-7.
- Iorio A, Krishnan S, Myrén KJ, et al. Indirect comparisons of efficacy and weekly factor consumption during continuous prophylaxis with recombinant factor VIII Fc fusion protein and conventional recombinant factor VIII products. *Haemophilia* 2017;23(3):408-16.
- Carcao M, Lambert T, Leissing C, et al.; International Prophylaxis Study Group (IPSG). Prophylaxis re-visited: The potential impact of novel factor and non-factor therapies on prophylaxis. *Haemophilia* 2018;24(6):845-8.
- Pasca S, Milan M, Sarolo L, et al. PK-driven prophylaxis versus standard prophylaxis: When a tailored treatment may be a real and achievable cost-saving approach in children with severe hemophilia A. *Thromb Res* 2017;157:58-63.
- Álvarez-Román MT, Fernández-Bello I, de la Corte-Rodríguez H, et al. Experience of tailoring prophylaxis using factor VIII pharmacokinetic parameters estimated with myPKFiT(R) in patients with severe haemophilia A without inhibitors. *Haemophilia* 2017;23(1):e50-e54.
- Collins PW, Young G, Knobe K, et al. Recombinant long-acting glycoPEGylated factor IX in hemophilia B: a multinational randomized phase 3 trial. *Blood* 2014;124:3880-6.

Development and access to gene therapy in haemophilia: what is the status in 2019?

Van den Berg M.

PedNet Haemophilia Research Foundation. Baarn, The Netherlands

Introduction

The isolation and characterization of the genes coding for factor VIII and factor IX, some 30 years ago, was an important first step in the development of gene therapy for hemophilia. Hemophilia as a single-gene inherited disease was now well characterized and curing the disease became a possibility. Hemophilia was directly recognized as an ideal model for gene therapy. The large clinical differences between severe and moderate hemophilia proved that even a modest increase in factor level could have a great effect on bleeding and phenotype. The target range for factors VIII and IX can be as wide as > 5% and < 150%, before any negative effect on the coagulation system will appear.

This difference between severe and moderate hemophilia was also the reason for the initiation of prophylaxis, the classic therapy with frequent infusions of factor VIII or IX to increase the pre-infusion level to > 1%, thus preventing spontaneous bleedings. Beyond the feasibility as a model for gene therapy, the cost of current therapy is very high and the burden with life-long frequent infusions is cumbersome. Although much progress has been made with new agents that need less frequent subcutaneous infusions (1).

In the early nineties the first vector-based gene therapy trials were initiated. However, unexpected severe liver toxicity and the development of leukemia in a child with severe combined immune deficiency has led to a ban on gene therapy for a long time. This has changed now completely and gene therapy for hemophilia A and B is able to provide normal levels of factor VIII and IX (2-5).

In a landmark study published in 2011, Nathwani et al. demonstrated successful conversion of severe hemophilia B into mild or moderate disease in 6 adult males who underwent intravenous infusion of an adeno-associated viral (AAV) vector expressing factor IX (6).

Rationale for gene therapy

Viral vectors derived from mammalian viruses have been manipulated to deliver their genetic cargo into cells and tissues. The vectors contain structural viral genes, which are replaced with the therapeutic gene cassette. Over the years, hepatic *in vivo* gene transfer with AAV vectors has shown to be most successful in preclinical and clinical hemophilia studies (7,8). Many different AAV vector subtypes have been used in clinical gene therapy trials. A major problem for AAV-based gene therapy is the size of the factor VIII protein. Therefore, most studies started with hemophilia B, as factor IX is a much smaller protein.

Another breakthrough in hemophilia B gene therapy came with the discovery of the FIX Padua mutation, that has a 6-8 times greater specific activity and is used in the most recent trials (9).

The major balance to consider for gene therapy is the vector dose needed for successful integration of factor VIII or IX into the liver cells versus the risk of high dosing with liver toxicity induced by the viral capsid (10).

Hurdles to be addressed in gene therapy

From phase I to IV studies in humans

Before clinical trials can be carried out in humans, preclinical studies in animals are needed. Based on the positive results of preclinical research, the new drug can be evaluated in humans during the four main phases of clinical development. In particular, phase I–III studies are those that evaluate the efficacy and safety profile of the new drug in humans until the marketing authorization. Different from phase I studies, which involve healthy patients and have a relatively simple study design, phase II and III studies enroll patients affected by the disease for which the new drug is indicated. A problem that has been encountered during the development of gene therapy is that the liver toxicity emerging in the first clinical trials of vector-based therapy in humans has not been seen in the preceding animal studies. It is therefore debated whether animal models are useful at all to evaluate gene therapy toxicity in humans.

AAV positivity in patients

A major problem in vector-based gene therapy is that > 60% of adult patients have previously been infected with AAV viruses. The presence of antibodies against wild-type AAVs in the host is one of the limitations for the successful use of AAV vectors. Current clinical trials include patients that are AAV antibodies negative. In clinical trials different AAV subtypes are used; some of these might be less present in the general population. An interesting study on the mechanism behind capsid immunology was published last year (11). AAV capsid manipulation, by which recombinant vectors lose their ability to interact with neutralizing antibodies (Nabs) can help overcome this obstacle (12,13). When more long-term data will become available supporting sustainable factor levels, it is likely that new clinical trials will include patients with AAV antibodies. For all ongoing trials the focus is to proof that gene therapy can cure patients. It is therefore sensible that the patient's population with the lowest risk is included.

Inhibitor positivity

Another risk that we are well aware of is the formation of alloantibodies to factor VIII in patients. The patients who presently are included into clinical trials are over 18 years and have more than 50 exposure days to factor VIII. In naïve patients, mostly children and some adults with little access to clotting factor product therapy, the relative risk for inhibitor formation after gene transfer has to be assessed (13,14). At the moment these patients are not eligible for gene therapy. An overview of all ongoing clinical trials for gene therapy can be found at ClinicalTrials.Gov.

More challenges to gene therapy

The upscaling of production processes to produce sufficient quantities of clinical grade vectors is a major limitation to enroll gene therapy on a larger scale. Many groups try to establish permanent production systems for vectors.

Although the low change of integrating of AAV vectors in humans is a big safety advantage, at the same time it is a risk that the long-term duration can be affected. This is especially true for gene therapy in children. Hepatic cells are still dividing in children and the number of cells that have received the vector will decrease over life.

A major problem, as yet without explanation, is the wide variation in expression of patients who participate in the same trial and receive exactly the same vector dose. Since the effect of the gene therapy is depending both on the vector and the host, a better understanding of the outcome in gene therapy will need to include both factors. This is much different from classic clotting-based drugs, where the same response can be expected in every patient depending only on the half-life of the patient.

Can gene therapy cause mutagenesis?

Most gene therapy trials now use vectors to integrate the gene into the host cell. Current knowledge of AAV based gene therapy confirms that the therapy is safe without integration into the productive system (11-14).

Increased incidence of hepatocellular carcinoma has been reported in the mucopolysaccharidose type VII mouse model (1). Whether this risk applies to humans is not clear. AAV-based gene therapy is now used in most gene therapy trials, also outside of hemophilia, and appears to be safe with respect to mutagenesis (15-18).

How to measure gene therapy

Since hemophilia is characterized by bleeding the measurements of efficacy in clinical trials still contains the reporting of bleeding. As the primary endpoint Annual bleeding rates (ABR) are the most published outcome tool. Gene therapy aims to reach levels as high as normal, it is therefore debated that the primary

outcome to measure the effectiveness of gene therapy should be FVIII/IX levels and not ABR (19).

Other approaches for gene therapy in hemophilia

With AAV therapy it is likely that not all patients will benefit and other approaches are underway. One of them is gene editing a molecular technique that can correct the endogenous genetic defect through nuclease-targeted double-strand DNA breaks and homology-directed repair. Zinc-finger nucleases and the clustered regularly interspaced short palindromic repeats-Cas systems were developed to induce a double-strand break in DNA, vastly increasing the frequency of homology-directed repair and editing, or for gene disruption (20,21).

How bright is the future for all patients for a cure?

In countries that have fewer resources the treatment of patients with haemophilia is still a large problem. The World Federation of Haemophilia (WFH) publish their results of the global survey among all members that still 70% of the world has no access. In the developing world the number of patients with haemophilia that is diagnosed is far too low. Awareness of the disease and accurate diagnosis are of course prerequisites to increase the number of patients that might later benefit from gene therapy. The WFH was able to increase its donation program through the support of many companies in the last 3 years. The program has become sustainable and children have started low dose prophylaxis. We hope that this will lead to a higher life expectancy and that more patients will be diagnosed that now are dying very young.

When will gene therapy become available on a large scale? Both EMA and FDA request 5-year data on the current clinical trials to support the duration of effect.

What will the costs be of gene therapy? In the US the cost for gene therapy might be based on the lifelong treatment with coagulation proteins. In the EU lower costs are expected depending on the length of sustainable levels.

In summary

Therapy for haemophilia patients has become very safe and patients are reluctant to consider gene therapy that might bring unexpected hazards. However, the benefits of gene therapy are large; a single infusion that can cure and correct hemostasis is a life changer. Gene therapy based on AAV vectors is now available for both haemophilia A and B. It is safe and has expression levels into the “normal” range. The major limitation is pre-existing AAV antibodies, which excludes up to 60% of all patients with haemophilia. Long term duration of responses is expected but needs confirmation. Alternative methods for gene therapy are underway. Costs for gene therapy based on costs of clotting products will be high and it will be many years before all patients can benefit.

References

1. Weyand AC, Pipe SW. New therapies for hemophilia. *Blood* 2019;133(5):389-98.
2. Rangarajan S, Walsh L, Lester W, et al. AAV5-Factor VIII Gene Transfer in Severe Hemophilia A. *N Engl J Med* 2017;377(26):2519-30.
3. George LA, Sullivan SK, Giermasz A, et al. Hemophilia B Gene Therapy with a High-Specific-Activity Factor IX Variant. *N Engl J Med* 2017;377(23):2215-27.
4. Van den Berg HM. A Cure for Hemophilia within Reach. *N Engl J Med* 2017;377(26):2592-3.
5. Nathwani AC, Tuddenham EG, Rangarajan S, et al. Adenovirus-associated virus vector-mediated gene transfer in hemophilia B. *N Engl J Med* 2011;365(25):2357-65.
6. Nienhuis AW, Nathwani AC, Davidoff AM. Gene Therapy for Hemophilia. *Mol Ther* 2017;25(5):1163-7.
7. Dunbar CE, High KA, Joung JK, et al. Gene therapy comes of age. *Science* 2018;359(6372).
8. Lozier JN. Gene therapy. Factor IX Padua: them that have, give. *Blood* 2012;120(23):4452-3.
9. Mingozzi F, High KA. Immune responses to AAV vectors: overcoming barriers to successful gene therapy. *Blood* 2013;122(1):23-36.
10. Perrin GQ, Herzog RW, Markusic DM. Update on clinical gene therapy for hemophilia. *Blood* 2019;133(5):407-14.
11. Kuranda K, Jean-Alphonse P, Leborgne C, et al. Exposure to wild-type AAV drives distinct capsid immunity profiles in humans. *J Clin Invest* 2018;128(12):5267-79.
12. Lotfinia M, Abdollahpour-Alitappeh M, Hatami B, et al. Adeno-associated virus as a gene therapy vector: strategies to neutralize the neutralizing antibodies. *Clin Exp Med* 2019. DOI: 10.1007/s10238-019-00557-8
13. Borsotti C, Follenzi A. New technologies in gene therapy for inducing immune tolerance in hemophilia A. *Expert Rev Clin Immunol* 2018;14(12):1013-9.
14. Kay MA. AAV vectors and tumorigenicity. *Nat Biotechnol* 2007;25(10):1111-3.
15. Nowrouzi A, Penaud-Budloo M, Kaepffel C, et al. Integration frequency and intermolecular recombination of rAAV vectors in non-human primate skeletal muscle and liver. *Mol Ther* 2012;20(6):1177-86.
16. Donsante A, Miller DG, Li Y, et al. AAV vector integration sites in mouse hepatocellular carcinoma. *Science* 2007;317(5837):477.
17. Colella P, Ronzitti G, Mingozzi F. Emerging issues in AAV-mediated in vivo gene therapy. *Mol Ther Methods Clin Dev* 2017;8:87-104.
18. Pierce GF, Iorio A. Past, present and future of haemophilia gene therapy: from vectors and transgenes to known and unknown outcomes. *Haemophilia* 2018;24(Suppl.6):60-6.
19. Van den Driessche T, Chuah MK. Hemophilia Gene Therapy: Ready for Prime Time? *Hum Gene Ther* 2017;28(11):1013-23.
20. Li H, Haurigot V, Doyon Y, et al. In vivo genome editing restores haemostasis in a mouse model of haemophilia. *Nature* 2011;475:217-21.
21. Anguela XM, Sharma R, Doyon Y, et al. Robust ZFN-mediated genome editing in adult hemophilic mice. *Blood* 2013;122:3283-7.

CS-7. Registro español de hemofilia adquirida, 5 años de actividad*

Mingot Castellano ME¹, Pardos Gea J², Muñoz Gama A³, Lluch García R⁴, Fernández Sánchez de la Mora MC⁵, Bernardo Gutiérrez Á⁶, Carrasco Expósito M⁷, Rodríguez Alén JA⁸, Martín Antorán JM⁹, Uribe Barrientos M¹⁰, Aguinaco Culebras R¹¹, Martínez Badás MP¹², García Candel F¹³, Roselló Palmer E¹⁴, Alonso Escobar MN¹⁵, Fernández Mosteirín N¹⁶, Rodríguez González R¹⁷, Cervero Santiago C¹⁸, Perez Sánchez M¹⁹, Bastida Bermejo JM²⁰, Sebrango Sadia A²¹, Pérez Montes R²², Iglesias Fernández M²³, Marco Vera P²⁴. Miembros Registro Español HA

¹Hospital Regional Universitario de Málaga. Málaga. ²Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona. ³Hospital Universitario La Paz. Madrid. ⁴Hospital Universitario de la Ribera. Alcira, Valencia. ⁵Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba. ⁶Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo. ⁷Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. ⁸Hospital Virgen de la Salud. Toledo. ⁹Hospital Río Carrión. Palencia. ¹⁰Hospital General Universitario de Valencia. Valencia. ¹¹Hospital Universitari Joan XXIII. Tarragona. ¹²Hospital Nuestra Señora de Sonsoles. Ávila. ¹³Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia. ¹⁴Hospital Universitari de Bellvitge. L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona. ¹⁵Hospital Infanta Cristina. Badajoz. ¹⁶Hospital Miguel Servet. Zaragoza. ¹⁷Hospital Universitario Severo Ochoa. Leganés, Madrid. ¹⁸Hospital Virgen de la Luz. Cuenca. ¹⁹Hospital Virgen de la Concha. Zamora. ²⁰Hospital Universitario de Salamanca. Salamanca. ²¹Hospital Universitario de Torrejón. Torrejón de Ardoz, Madrid. ²²Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander. ²³Complejo Hospitalario Universitario de Ourense. Ourense. ²⁴Hospital General de Alicante. Alicante

Introducción

La hemofilia adquirida (HA) es una enfermedad originada por autoanticuerpos frente a factores de la coagulación, especialmente el factor VIII (FVIII). Estos inducen episodios hemorrágicos, especialmente mucocutáneo, muscular y de tejidos blandos, que obligan a instaurar tratamiento hemostático y a eliminar el inhibidor con el uso de inmunosupresores. La información disponible sobre epidemiología, clínica y respuesta al tratamiento erradicador proviene de registros y de series de casos. Esta es la primera comunicación al respecto representativa del global del territorio nacional español.

Objetivo

Nuestro objetivo es definir las características clínicas y de respuesta al tratamiento de la serie de casos de HA del registro español y definir nuevas líneas de conocimiento y de trabajo en esta patología

Metodología

En 2014 se inicia el registro español de hemofilia adquirida, localizado en la web de la SETH.

Análisis estadístico descriptivo. Media, mediana y desviación estándar para variables cuantitativas y frecuencias absolutas y relativas para cualitativas, construyendo intervalos de confianza del 95%. Comparación entre los dos grupos de tratamiento con *t-student*. Ha sido puesto en marcha cumpliendo todos los requisitos de la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal y de acuerdo con la Declaración de Helsinki.

Resultados

Se han registrado un total de 66 pacientes. El 56% de los sujetos son varones; la edad media de la serie, 71 ± 15 años. La mediana de inhibidor fue 24 UB (RIQ, 7,9 a 63 UB) y de FVIII

(método coagulativo) de 3% (RIQ, 1 a 8%). El 46% de los pacientes tiene una patología condicionante de la aparición de la HA (50% autoinmunes, 13% posparto, 13% neoplasias). En tres pacientes se detectó un anticoagulante lúpico circulante. El 90% de los pacientes presenta clínica hemorrágica al diagnóstico. El 45% de los sangrados fueron mucocutáneos; el 30%, muscular y el 10%, urinarios. Respecto a la erradicación del inhibidor, el 44% fue tratado con esteroides y ciclofosfamida; el 23%, con esteroides; el 21%, con rituximab asociado a inmunosupresores, y el 12%, con esteroides y ciclosporina. La mediana de seguimiento de los pacientes ha sido de 13,5 meses (RIQ, 2 a 25 meses) y la mediana de tiempo para la erradicación del inhibidor, de 1,35 meses (RIQ, 0,7 a 2 meses). No encontramos diferencias en el tiempo hasta la erradicación entre sujetos tratados o no tratados con rituximab (mediana y RIQ, 1,5, 0,7 a 2 meses frente a 1,3, 0,7 a 1,5 meses, respectivamente). El 90,6% de los sujetos tratados con inmunosupresores logran respuesta completa. Recayeron 2 pacientes en los 2 meses siguientes a la suspensión del tratamiento. La mortalidad ligada a la HA fue del 14%: 9 fallecidos (5 por infecciones/sepsis, 2 por enfermedad de base, 1 por hemorragia y 1 por angor). Los fallecidos por infecciones fueron tratados con esteroides en monoterapia en 4 casos y con esteroides y rituximab en un solo caso. La mediana de tiempo del diagnóstico al *exitus*, de 3 meses (RIQ, 1,5 a 6 meses).

Conclusiones

La hemofilia adquirida es una enfermedad rara, pero cuya incidencia está infraestimada o infracomunicada, ya que, en los 5 años de trabajo del registro, la incidencia estimada debería ser unos 200 casos y no los 66 comunicados. Al igual que en el registro alemán, la primera causa de muerte son los cuadros infecciosos. Iniciativas que ayuden a definir el tratamiento inmunosupresor óptimo y medidas de profilaxis infecciosa resultan del máximo interés. No encontramos diferencias en las tasas de respuesta entre los distintos esquemas de tratamiento erradicador.

*Comunicación oral seleccionada para simposio.

Terapia génica y celular en hematología

COORDINADORES: Dr. José Antonio Páramo Fernández. Clínica Universidad de Navarra. Pamplona
Dr. Jorge Sierra Gil. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona

La terapia génica representa una opción terapéutica para diversas enfermedades, fundamentalmente monogénicas, más allá de las aproximaciones tradicionales. El objetivo es conseguir una expresión duradera del gen a un nivel suficiente para mejorar o curar los síntomas de la enfermedad con mínimos efectos adversos. La terapia génica está convirtiéndose rápidamente en una nueva estrategia terapéutica en la hemofilia y en diversas hemoglobinopatías.

En la década de los noventa se demostró experimentalmente una expresión eficiente de factor IX empleando vectores adenovirales, sentando las bases para un ensayo clínico en pacientes con hemofilia B con tasas aceptables de factor, pero durante cortos periodos de tiempo. Mejoras en el empleo de estos vectores resultaron en niveles de factor IX entre 2 y 5% durante periodos prolongados. Estos progresos se han extendido a los pacientes con hemofilia A en los que la expresión del gen conlleva niveles circulantes de factor VIII de más del 50%, que pueden persistir hasta tres años y, lo que es más importante, con mejoría significativa del cuadro hemorrágico. El Dr. Pasi (London School of Medicine, Londres) revisa los principales ensayos clínicos empleando terapia génica en hemofilia que pueden suponer un cambio de paradigma terapéutico al permitir una expresión duradera del gen, si bien existen temas sin resolver en relación a selección de pacientes, respuesta inmune y otros efectos secundarios; asimismo, es importante el aspecto económico.

La terapia génica también se ha aplicado exitosamente en diversas hemoglobinopatías, tales como anemia de células falciformes (anemia drepanocítica) y β -talasemia. Importantes descubrimientos recientes, como el conocimiento exacto de la región que controla el locus de la globina β , así como diversos factores de transcripción que determinan cambios en la hemoglobina, han permitido diseñar diversas aproximaciones génicas. Se ha demostrado la eficacia de vectores lentivirales para insertar ADN en células madre hematopoyéticas, así como la edición génica para restaurar la expresión de hemoglobina fetal o la expresión normal del gen de la globina β . Los trabajos clínicos más recientes en el ámbito de la β -talasemia y anemia drepanocítica muestran resultados prometedores en dos direcciones: posibilidad de interrumpir las transfusiones o de reducir los requerimientos transfusionales. La Dra L. Joseph (Hospital Necker, París), con experiencia en terapia génica de hemoglobinopatías, revisa el papel de esta nueva estrategia y discute las principales barreras para su adopción de manera generalizada.

La modificación del genoma ha generado un intenso debate sobre sus condicionantes éticos. En el presente simposio, se analizarán en profundidad los aspectos filosóficos y la regulación española y la europea sobre terapia génica y sus límites. En síntesis, debe prevalecer el “principio de precaución”, teniendo muy en cuenta los posibles efectos a medio y largo plazo, que el objetivo de la terapia sea corregir un defecto genético que sin duda condicione una enfermedad grave sin alternativa de tratamiento satisfactoria y que, por tanto, se trate de una manipulación con fines terapéuticos, y, finalmente, que se garantice la seguridad en todos los pasos del proceso. Un aspecto de gran relevancia también, recogido en la regulación, es que no podrán realizarse ensayos de terapia génica que produzcan modificaciones en la identidad genética germinal del sujeto.

También en el simposio se aborda el tema de una modalidad de tratamiento que incluye en uno de sus pasos la modificación genética de células humanas, la terapia CAR (*chimeric antigen receptor*) con linfocitos T (CAR-T), que expresan esos receptores en su membrana. Esta terapia disruptiva ofrece perspectivas de respuesta y supervivencia prolongada, probablemente curaciones, a pacientes cuyo tumor se ha mostrado resistente a múltiples líneas de tratamiento. Los resultados en niños y adolescentes con leucemia linfoblástica aguda B sin otras opciones son, en muchos casos, espectaculares, y en pacientes adultos con linfoma de células grandes de línea B se obtiene una respuesta completa mantenida en aproximadamente el 40-50% de los casos. Esta terapia se extiende ya a otras neoplasias hematológicas; entre otras, el mieloma múltiple, que se aborda en este simposio. Los resultados en esta enfermedad han comenzado a publicarse y existen numerosos ensayos en marcha que aportarán información adicional sobre toxicidad y eficacia. Cabe esperar que haya disponibilidad de CART comerciales frente a mieloma en España en un período de aproximadamente un año y medio.

Los ponentes del simposio aquí introducido son todos grandes expertos en las materias que van a tratar, lo que garantiza un gran nivel científico y educativo.

Gene therapy for hemophilia

Pasi J.

Haemostasis and Thrombosis. Barts and The London School of Medicine and Dentistry, London, England

Gene therapy in hemophilia has had a chequered history with many apparent false starts. However, with the progressive development of robust AAV based technologies since the initial reports of the first-generation approach in 2011, the latest AAV gene therapies have allowed the field to be increasingly optimistic regarding the potential for gene therapy in hemophilia. Early safety data released over the last two to three years from these studies are very encouraging, albeit in a small number of patients. In addition, the levels of factor VIII and factor IX that have been demonstrated in these latest studies have been impressive and way above the early targets of low single figure improvements with the initial programs. The improvement in outcome with reduced bleeding and treatment burden has, across all programs, been profound. However, the relatively large variation among patients needs to be more fully understood. There are now multiple gene therapy programs being studied and the field is very crowded - this presentation will cover and review the recent published and emerging data from the clinical trials now being undertaken.

However, aside from consolidating current data in phase 3 programs in the next few years, there remain many questions we need to address in parallel. One can also see that many patients with hemophilia fall outside the relatively narrow selection criteria – the need to open access to wider groups of patients, including children, and understanding the impact of associated comorbidities will be an ongoing challenge. Scientific questions also remain, particularly in relation to immune response to vectors and liver function abnormalities. Given that durability remains uncertain at this stage, one must continue to see the need for long term follow up of patients as essential and registers will need to be established to ensure that the appropriate data is collected. These questions represent but a few of the scientific and clinical issues in gene therapy that we need to address. Aside the science, a considerable and obvious unanswered question to consider remains – cost and how can we address the inevitable substantial initial costs of gene therapy in order to make it available to our patients.

CAR-T en mieloma múltiple

Briones Meijide J.

Servicio de Hematología. Hospital Santa Creu i Sant Pau. Barcelona

La inmunoterapia adoptiva con células T modificadas con receptores quiméricos antígeno-específicos (CAR) ha revolucionado el campo de la inmunoterapia del cáncer, en especial en las neoplasias hematológicas B. Los estudios clínicos con un CAR dirigido frente al antígeno 19 (CAR19) han mostrado resultados excelentes en pacientes con leucemia aguda linfoblástica B y linfoma no-Hodgkin B en situación de refractariedad o después de múltiples líneas de tratamiento. Estos resultados han promovido el desarrollo de CAR para otras neoplasias hematológicas, como el mieloma múltiple.

En los últimos años se han desarrollado CAR dirigidos frente a diversos antígenos expresados en las células de mieloma: BCMA, CD38, CD138, CD19, GPRD5C o CD44v6. Como en todas las situaciones de inmunoterapia celular, el antígeno ideal es aquel que presenta una alta expresión específicamente en células plasmáticas tumorales, con expresión muy restringida en tejidos normales. Una de las dianas que cumple este requisito es el antígeno de maduración de células B (BCMA).

BCMA pertenece a la familia de receptores del factor de necrosis tumoral (TNF) y, a través de la unión a ligandos como BLyS/BAFF o APRIL, interviene de forma importante en la regulación de la maduración y diferenciación de las células B (1). La expresión de BCMA aumenta durante la diferenciación a células plasmáticas y se encuentra elevada en la mayoría (60-100%) de los mielomas, mientras que su expresión es mínima o ausente en tejidos normales no hematopoyéticos.

El primer estudio de terapia CART-BCMA lo realizaron investigadores del National Cancer Institute de Estados Unidos, en un reducido grupo de pacientes con MM refractario (mediana de 7 líneas de tratamiento). En este ensayo de fase I se obtuvieron respuestas completas (RC) en aquellos casos que recibieron la dosis más alta de CART-BCMA (2). Estos datos constituyeron la base para el desarrollo de un ensayo con un CAR-BCMA de segunda generación (coestimulación 4-1BB) en pacientes con MM refractario, cuyos resultados acaban de ser presentados (3). En este estudio se trataron 33 pacientes (21 en la fase I y 12 en la fase de expansión). La mediana de tratamientos recibidos fue de 7 y más del 90% había recibido un TASP. La dosis de CART-BCMA osciló entre 50 y 800 millones de células CAR+, administradas tras un acondicionamiento linfodeplecionante que incluyó ciclofosfamida y fludarabina. Un 85% de los pacientes respondieron, con una tasa de respuestas completas (RC) del 45% y una duración de la respuesta de 11 meses. El síndrome de liberación de citoquinas (SLC) ocurrió en un 76% de pacientes, mayoritariamente de grados 1 o 2, y las complicaciones neurológicas ocurrieron en un 42%, prácticamente todos de grados 1-2. Estos resultados,

en un grupo de pacientes altamente tratados, han estimulado el desarrollo de numerosos ensayos con CAR-BCMA, con ciertas diferencias, como el uso de vector retroviral frente a lentiviral o la utilización de un CAR con un anticuerpo anti-BCMA humano. Esta última estrategia tiene el objetivo de evitar la respuesta inmune frente a la región murina, que puede ocurrir en algunos pacientes que reciben un CAR con una secuencia del anticuerpo derivado de ratón. En este sentido, los resultados preliminares de dos ensayos con un CAR-BCMA humano (UPenn y Bluebirdbio) muestran una tasa de respuestas globales (RG) similar en una población de pacientes con MM parecida a la anteriormente descrita (64%-96%, respectivamente), por lo que está por demostrar si esta estrategia se traduce en resultados clínicamente mejores. En concreto, en el estudio desarrollado en la UPenn (4), se trataron 25 pacientes (mediana de tratamientos previos de 7), distribuidos en 3 cohortes distintas según la dosis, la cual, a su vez, se administró repartida en 3 días (10% de la dosis total el día 1, 30% el día 2 y 60% el día 3), en función de la existencia de complicaciones como SLC. Teniendo en cuenta que con este esquema un 16% de los pacientes solo recibieron las dos dosis más bajas, la tasa global de respuestas fue del 64% con 2 pacientes en RC (una de ellas astringente). La duración mediana de la respuesta y de la supervivencia libre de progresión fue de aproximadamente 4 meses, de forma que solo 3 pacientes en total permanecían sin progresión en el momento de la presentación de los resultados. Es de destacar que, si bien no se ha observado recidivas o progresión del mieloma sin expresión del BCMA, las células de MM residuales tras el tratamiento en la mayoría de pacientes mostraban una clara disminución de la expresión de BCMA. En este estudio la mayoría de los pacientes (88%) tuvo SLC, que fue severo (grado 3-4) en un tercio de ellos. Complicaciones neurológicas (ICANS) se observaron en 8 (32%) de los pacientes, las cuales fueron severas en 3, incluyendo un paciente con edema cerebral que requirió altas dosis de prednisona.

En resumen, los resultados clínicos de la terapia CART-BCMA en pacientes con MM muestran en general una tasa de respuestas muy alta, pero con una duración relativamente corta, pues la mayoría de los pacientes presentan una progresión de su enfermedad en el primer año postratamiento. Por este motivo, están desarrollándose nuevas estrategias con el objetivo de aumentar la eficacia clínica: administración del CAR-BCMA conjuntamente con inhibidores de gamma-secretasa para aumentar la expresión del BCMA en las células tumorales, o el uso de un CAR-BCA en el que el anticuerpo esté dirigido hacia 2 epítopos distintos en la molécula BCMA. En cualquier caso, todas estas estrategias, aunque novedosas y muy interesantes desde el punto de vista biológico, deben de validarse en ensayos clínicos adecuados. Así,

un estudio preliminar en 17 pacientes tratados con un CAR-BCMA con doble especificidad antigénica mostró una elevada tasa de respuestas (88% RG y 74% RC), si bien solo un 20% de los pacientes estaba libre de progresión a los 2 años (5).

Si bien BCMA es la diana más utilizada actualmente en la inmunoterapia CART del MM, existen otras para las cuales empiezan a desarrollarse nuevos CAR.

CS1/SLAMF7 es una molécula expresada en células del sistema inmune (NK, T, B células dendríticas) con funciones activadoras o supresoras, según la célula donde se exprese. Es también el ligando del anticuerpo elotuzumab, lo que ha facilitado el diseño de CAR dirigidos hacia CS1/SLAMF7 (6). Esta molécula presenta una alta expresión en prácticamente el 100% de los MM.

Estudios preclínicos han demostrado que células T-CAR anti-CS1/SLAMF7 tienen citotoxicidad *in vitro* e *in vivo* en modelos de mieloma (7), por lo que podría ser una interesante opción para terapia CART del mieloma.

CD138 (sindicán-1) se expresa en células plasmáticas (benigna y en mieloma), por lo que es una diana interesante para terapia CAR en MM. Sin embargo, su desarrollo clínico ha sido restringido a un pequeño ensayo en China, con 5 pacientes. La escasa actividad clínica (ninguna respuesta) y el hecho de que CD138 se expresa en múltiples tipos de células epiteliales hacen que esta diana haya perdido actualmente interés para el desarrollo clínico de terapia CAR.

Otros CAR diseñados frente a CD19 y la cadena ligera κ de la inmunoglobulina se han utilizado en estudios piloto, en pacientes con MM, si bien con escasa actividad terapéutica.

Recientemente se ha descrito el desarrollo de CAR frente a dos moléculas novedosas que ha suscitado gran interés:

GPRD5C es una molécula receptor acoplado a proteína G con expresión en MM similar a la de BCMA. Estudios preclínicos recientes han demostrado que un CAR anti-GPRD5C tiene actividad frente a MM en modelos *in vivo*, comparable a la de un CAR BCMA (8), por lo que un CAR GPRD5C podría ensayarse en pacientes con MM en recidiva tras inmunoterapia con CAR BCMA o cuyos tumores posean una baja expresión de BCMA. Por otra parte, la expresión de GPRD5C es independiente de BCMA en MM, lo que sugiere que el diseño de un CAR biespecífico dirigido simultáneamente a ambos antígenos podría tener relevancia clínica. Es de esperar próximamente el inicio de ensayos clínicos con un CAR GPRD5C en pacientes con MM.

Por último, CD44 es una glicoproteína expresada en numerosos tejidos, tumores incluidos. Una característica que la hace atractiva para la inmunoterapia es su alta heterogeneidad, debida a modificaciones postranscripcionales, incluyendo patrones de glicosilación, las cuales puede tener un comportamiento diferencial

en tumores. Así, la isoforma variante 6 de CD44 (CD44v6) se expresa preferentemente en monocitos y queratinocitos, y en un alto porcentaje (80%) de MM. Recientemente se ha demostrado que un CAR de segunda generación (CD28) dirigido frente a CD44v6 tiene efectividad antitumoral en modelos de mieloma (9). Esto ha llevado al desarrollo de un ensayo clínico de un CARCD44v6 en pacientes con MM refractarios (EureCART), que se iniciará próximamente en varios países europeos, entre ellos España.

En resumen, BCMA representa actualmente la principal diana para terapia CART, con el que se obtiene una alta tasa de respuestas en pacientes con MM en recidiva tras múltiples líneas de tratamiento. Sin embargo, la mayoría de pacientes no tiene respuestas duraderas, y la progresión ocurre muy frecuentemente. Es necesario, por tanto, explorar nuevas estrategias, como utilizar CAR dirigidos hacia nuevas dianas, el desarrollo de CAR biespecíficos dirigidos simultáneamente frente a dos antígenos expresados en MM o la combinación de CAR con agentes inmunomoduladores que incrementen su actividad citotóxica, como lenalidomida.

Bibliografía

1. Cho SF, Anderson KC, Tai YT. Targeting B Cell Maturation Antigen (BCMA) in Multiple Myeloma: Potential Uses of BCMA-Based Immunotherapy. *Front Immunol* 2018;10;9:1821-36.
2. Ali SA, Shi V, Maric I, et al. T cells expressing an anti-B-cell maturation antigen chimeric antigen receptor cause remission of multiple myeloma. *Blood* 2016;128(13):1688-70.
3. Raje N, Berdeja J, Lin Y, et al. Anti-BCMA CAR T-Cell Therapy bb2121 in Relapsed or Refractory Multiple Myeloma. *N Engl J Med* 2019;380(18):1726-37.
4. Cohen AD, Garfall AL, Stadtmauer EA, et al. B cell maturation antigen-specific CAR T cells are clinically active in multiple myeloma. *J Clin Invest* 2019;129(6):130-42.
5. Xu J, Chen LJ, Yang SS, et al. Exploratory trial of a biepitopic CAR T-targeting B cell maturation antigen in relapsed/refractory multiple myeloma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2019;116(19):9543-51.
6. Chu J, He S, Deng Y, et al. Genetic modification of T cells redirected toward CS1 enhances eradication of myeloma cells. *Clin Cancer Res* 2014;20(15):3989-400.
7. Gogishvili T, Danhof S, Prommersberger S, et al. SLAMF7-CAR T cells eliminate myeloma and confer selective fratricide of SLAMF7+ normal lymphocytes. *Blood* 2017;130(26):2838-84.
8. Smith EL, Harrington K, Staehr M, et al. GPRC5D is a target for the immunotherapy of multiple myeloma with rationally designed CAR T cells. *Sci Transl Med* 2019;11(485).
9. Casucci M, Nicolis di Robilant B, Falcone L, et al. CD44v6-targeted T cells mediate potent antitumor effects against acute myeloid leukemia and multiple myeloma. *Blood* 2013;122(20):3461-72.

Aspectos éticos y jurídicos de la terapia génica

Nicolás Jiménez P.

Cátedra de Derecho y Genoma Humano. Departamento de Derecho Público. Facultad de Derecho. Universidad del País Vasco. Leioa, Vizcaya

Introducción

Las implicaciones éticas y jurídicas de la terapia génica coinciden en parte con las que presentan otras terapias innovadoras o, en general, novedosas, pero, además, la terapia génica supone la modificación del ADN a través de diferentes tecnologías y en distintos niveles, lo que justifica una reflexión más particular.

Como ocurre con la experimentación de cualquier nueva terapia, es imprescindible evaluar los riesgos que representan para los sujetos, que pueden ser conocidos o no –lo que es más problemático–, para su traslación a la práctica clínica; por otra parte, deben analizarse otras cuestiones, como la relación coste/beneficio en su ofrecimiento.

En cuanto a la primera de las cuestiones –la evaluación de los riesgos para los sujetos de los ensayos o los pacientes–, la autorización de la terapia génica es objeto de unos procedimientos particulares como consecuencia de su elevada complejidad (1), según se verá, y más allá de estas cautelas se adoptan otras, ya que sus efectos pueden incidir en terceros. Este factor relativo a la seguridad de la técnica es, para algunos, el único determinante para admitirla o no (2). En relación al análisis de otros factores, se tiene en cuenta no solo el componente económico más inmediato o evidente, sino también las consecuencias más generales y a más largo plazo que su implantación puede acarrear.

La terapia génica está regulada en el marco de la UE como medicamento de terapia avanzada: “a. incluye un principio activo que contiene un ácido nucleico recombinante, o está constituido por él, utilizado en seres humanos, o administrado a los mismos, con objeto de regular, reparar, sustituir, añadir o eliminar una secuencia génica; b. su efecto terapéutico, profiláctico o diagnóstico depende directamente de la secuencia del ácido nucleico recombinante que contenga, o del producto de la expresión génica de dicha secuencia”. Reglamento (CE) n.º 1394/2007 del Parlamento Europeo y del Consejo de 13 de noviembre de 2007 sobre medicamentos de terapia avanzada (capítulo 1, artículo 2) y Directiva 2001/83/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 6 de noviembre de 2001 por la que se establece un código comunitario sobre medicamentos para uso humano (anexo I, parte IV, según su última modificación).

El uso experimental de estos medicamentos presenta algunas particularidades tanto en la posibilidad de solicitar autorización para su fabricación no industrial (Real Decreto 477/2014, de 13 de junio, por el que se regula la autorización de medicamentos de terapia avanzada de fabricación no industrial) como en la evaluación y autorización de los ensayos clínicos, que prevé la intervención del Comité de Terapias Avanzadas y procedimientos centralizados en el nivel europeo. En la página web de la Agencia

Española de Medicamentos y Productos Sanitarios está disponible toda la información relativa a esta cuestión, incluyendo lo previsto en el Real Decreto Legislativo 1/2015, de 24 de julio, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios y en el Real Decreto 1090/2015, de 4 de diciembre, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos, los Comités de Ética de la Investigación con Medicamentos y el Registro Español de Estudios Clínicos.

La terapia génica a través de otros procedimientos no incluidos en la anterior definición estará sujeta a lo previsto en el Título II de Ley 14/2007 de Investigación Biomédica que establece las reglas generales para las investigaciones que implican procedimientos invasivos en seres humanos. El procedimiento invasivo está definido como “toda intervención realizada con fines de investigación que implique un riesgo físico o psíquico para el sujeto afectado”.

Cuando los efectos de la terapia se limitan a un cambio en las instrucciones de funcionamiento de los mecanismos biológicos del paciente, la evaluación de los riesgos se focaliza en él. Si el cambio se produce en otro nivel y afecta a la línea genética germinal, la situación es cualitativamente diferente y las implicaciones son radicalmente distintas en el plano ético y jurídico. El procedimiento en este caso puede tener consecuencias irreversibles más allá de un individuo.

Junto con las implicaciones y dificultades de la evaluación de riesgos, otra de las cuestiones que se ha discutido con profusión, en relación con la alteración del ADN en línea germinal, es la relativa al objetivo de la modificación, que marca también diferencias para su aceptación: el propósito “terapéutico” es más aceptado que el propósito “de mejora” (*enhancement*, que algunos, como Savulescu, también defienden) (3).

Recientemente, el Comité de Bioética de España ha publicado un “Declaración sobre la edición genómica a propósito de la modificación genética embrionaria”, llevada a cabo por el investigador He Jiankui empleando la técnica del CRISPR/Cas9 con el objetivo de conseguir la inmunidad al virus del VIH mediante la edición del gen *CCR5* en los siguientes términos: “El estado actual de tales técnicas, más allá de las dudas éticas que plantean, no ha superado el nivel de seguridad necesario para su uso clínico en humanos, por la posibilidad, entre otras, de alterar secuencias similares en el genoma fuera de los objetivos marcados. Si bien el empleo de dichas técnicas en el ámbito estrictamente curativo no está exento de problemas éticos, su uso con fines directos o indirectos de mejoramiento (la mera biología o ingeniería perfectiva), como ha ocurrido en el caso de las dos niñas nacidas en China, es absolutamente rechazable e inadmisibles” (4).

Intereses y derechos afectados

La identificación de los intereses y de los derechos implicados en la manipulación genética ha sido un asunto al que se ha prestado mucha atención desde el plano filosófico y jurídico. La discusión sobre la presencia de unos u otros, su entidad, límites o preeminencia ha conducido a tomar posturas sobre la aceptabilidad de estas técnicas y sobre la extensión de su licitud o de su prohibición.

En España, en el plano jurídico, la discusión se ha desarrollado sobre todo a la hora de analizar el bien jurídico protegido en el delito de manipulación genética, que recogió el Código Penal de 1995, como se verá (5). En el plano filosófico se han publicado recientemente dos completas revisiones de las diferentes corrientes y posturas, a la vista de las posibilidades que ofrecen las más novedosas técnicas de edición genética (del Nuffield Council of Bioethics [6] y del Comité de Ética de Alemania [7]).

Según diferentes autores, los intereses y derechos que podrían verse afectados por la aplicación de estas técnicas son, de forma resumida y esquemática, los siguientes:

- Intereses y derechos reproductivos:
 - Libertad reproductiva, que supone que las personas pueden decidir sobre las características de su descendencia.
 - Protección de la salud reproductiva, que supone que las personas tienen derecho a una atención médica con el objetivo de evitar enfermedades en su descendencia.
- Intereses de la descendencia y/o de las generaciones futuras:
 - Intimidad de los sujetos con ADN manipulado, cuya información genética se conocerá.
 - Libertad del sujeto con ADN manipulado, que está determinado genéticamente por el carácter seleccionado intencionadamente.
 - Salud/bienestar del futuro individuo y/o grupos de individuos, lo que potencialmente supone la afectación a la salud/bienestar de la especie humana (en un doble sentido: posible perjuicio por los efectos nocivos de la manipulación o posible beneficio por los efectos positivos).
 - Integridad genética del futuro individuo y/o grupos de individuos, lo que potencialmente supone la afectación a la integridad genética de la especie humana.
 - Diversidad genética, que podría verse limitada.
 - No discriminación para quienes no se hayan sometido a una manipulación genética.
 - No discriminación para quienes no dispongan de medios para acceder a terapias innovadoras.

En general, como base fundamental para tomar decisiones en relación a las nuevas tecnologías y a su aplicación en la salud humana, es imprescindible el respeto al principio de precaución (8), recogido en la Ley 14/2007 de Investigación Biomédica (artículo 2 f). “Puede invocarse el principio de precaución cuando un fenómeno, un producto o un proceso puede tener efectos potencialmente peligrosos identificados por una evaluación científica y objetiva, si dicha evaluación no permite determinar el riesgo con suficiente certeza”. En virtud de este principio, “las autoridades

encargadas de la gestión del riesgo pueden decidir actuar o de no actuar en función del nivel de riesgo. Si el riesgo es elevado, se pueden adoptar varias categorías de medidas. Se puede tratar de actos jurídicos proporcionados, de la financiación de programas de investigación, de medidas de información al público, etc.” (9).

La normativa internacional

En los años noventa del siglo pasado comienza a plasmarse en normas de distinta naturaleza la preocupación sobre las implicaciones de la terapia génica. Destaca, como uno de los primeros documentos que abordan este tema, la Declaración Universal de la Unesco sobre el Genoma Humano y los Derechos Humanos del año 1997, cuyo artículo 24 prevé: “El Comité Internacional de Bioética de la Unesco [...] presentará, de conformidad con los procedimientos reglamentarios de la Unesco, recomendaciones a la Conferencia General y prestará asesoramiento en lo referente al seguimiento de la presente Declaración, en particular por lo que se refiere a la identificación de prácticas que pueden ir en contra de la dignidad humana, como las intervenciones en línea germinal”.

Ese mismo año, en el marco del Consejo de Europa, se adoptó el “Convenio para la protección de los derechos humanos y la dignidad del ser humano con respecto a las aplicaciones de la biología y la medicina” (convenio relativo a los derechos humanos y la biomedicina), que entró en vigor en España el 1 de enero del año 2000. Su artículo 13 establece que “únicamente podrá efectuarse una intervención que tenga por objeto modificar el genoma humano por razones preventivas, diagnósticas o terapéuticas y solo cuando no tenga por finalidad la introducción de una modificación en el genoma de la descendencia”.

El informe explicativo al convenio justifica esta prohibición como respuesta a “los temores” que suscita la intervención en el genoma en relación a los peligros que puede suponer no solo para el individuo, sino para la especie humana. El mayor “miedo”, señala el informe, “es la modificación intencionada del genoma para producir individuos o grupos con ciertas características o cualidades seleccionadas” (10). Se alude así a los dos argumentos más recurrentes en el debate: el peligro para los sujetos y la selección de caracteres (este segundo menos evidente en cuanto a su valoración).

Por otra parte, el informe advierte que no quedan prohibidas las intervenciones somáticas que puedan tener efectos secundarios no deseados en línea germinal, como, por ejemplo, un tratamiento de cáncer por quimioterapia que pueda afectar al sistema reproductor del paciente. La prohibición de la manipulación en línea germinal se limita, entonces, a procedimientos que la provoquen directamente, sin perjuicio de que sus efectos deban valorarse en el análisis de riesgos que se lleva a cabo con carácter general en cualquier procedimiento experimental o clínico.

Desde entonces se han sucedido numerosos pronunciamientos de distintas instituciones en relación a esta materia (comités de ética, asociaciones profesionales, etc.), que, en su gran mayoría, han seguido este mismo criterio. Menos homogénea se ha mostrado la doctrina científica, que ha mantenido diferentes argumentos y posturas en la discusión.

En paralelo, y como consecuencia de esta postura, la patente de procedimientos de modificación de la identidad genética germinal del ser humano quedó prohibida en la UE en el año 1998 (Directiva 98/44/CE, relativa a la protección jurídica de las invenciones biotecnológicas). Posteriormente, el Reglamento 536/2014 sobre ensayos clínicos de medicamentos de uso humano estableció que “no podrán realizarse ensayos de terapia génica que produzcan modificaciones en la identidad genética germinal del sujeto”.

Sin embargo, parece que recientemente está abriéndose la puerta a un debate sobre nuevos enfoques también en el plano institucional, aunque de manera muy incipiente.

La Recomendación 2115 del año 2017 de la Asamblea Parlamentaria del Consejo de Europa sobre el uso de nuevas tecnologías en el ser humano (*Recommendation 2115 (2017) concerning the use of new genetic technologies in human beings*) señala lo siguiente en relación a la prohibición del artículo 13 del Convenio de Derechos Humanos y Biomedicina: “*The convention does, however, also establish a specific procedure for its amendment (Article 32), which should be read in conjunction with Article 28, which imposes on States parties to ensure that the fundamental questions raised by the developments of biology and medicine are the subject of appropriate public discussion in the light, in particular, of relevant medical, social, economic, ethical and legal implications, and that their possible application is made the subject of appropriate consultation*”.

En este mismo sentido, el Grupo Europeo sobre Ética, Ciencia y Nuevas Tecnologías (European Group on Ethics in Science and New Technologies) ha publicado el *Statement on Gene Editing*, en el que se reconoce la existencia de diferentes posturas y la necesidad de promover el debate: “*As is the case in the scientific community at large, diverse views are represented in the group. We call for a broad public debate on these issues and are convinced that the EGE will make a useful contribution to these deliberations*” (11).

Normativa en España (regulación nacional)

España es uno de los 40 países que, en su legislación nacional, ha regulado la manipulación genética. En la mayoría de estos países se ha seguido un criterio restrictivo dependiendo, con frecuencia, de que el propósito sea la terapia o “la mejora” (12).

La primera vez que en nuestro ordenamiento jurídico se planteó la prohibición fue en la Ley 35/1988 sobre técnicas de reproducción asistida (el artículo 15 permitía la investigación en preembriones *in vitro* viables si, entre otras condiciones, no se modificaba el patrimonio genético no patológico. Este criterio se mantiene en el artículo 13 de la actual Ley 14/2006 sobre técnicas de reproducción humana asistida).

Por otra parte, el Código Penal del año 1995 introdujo el delito de manipulación genética en los siguientes términos:

1. Serán castigados con la pena de prisión de dos a seis años e inhabilitación especial para empleo o cargo público, profesión u oficio de siete a diez años los que, con finalidad distinta a la eliminación o disminución de taras o enfermedades graves, manipulen genes humanos de manera que se altere el genotipo.

2. Si la alteración del genotipo fuere realizada por imprudencia grave, la pena será de multa de seis a quince meses e inhabilitación especial para empleo o cargo público, profesión u oficio de uno a tres años (artículo 159).

Como acaba de verse, este artículo castiga como delito la manipulación genética no terapéutica, sea somática o germinal. No obstante, la manipulación genética germinal, aunque se lleve a cabo con un propósito terapéutico, es una conducta prohibida en nuestro ordenamiento por el Convenio de Biomedicina y por la Ley 14/2007, de Investigación Biomédica, que la recoge como infracción muy grave: “La realización de cualquier intervención dirigida a la introducción de una modificación en el genoma de la descendencia” (artículo 74.2 C.a).

Conclusiones

La discusión sobre los intereses y derechos implicados en la manipulación genética se ha abordado desde un plano filosófico y jurídico, y se enfrenta a cuestiones conceptuales muy complejas, como la noción de salud o naturaleza de la especie humana.

Más allá de la discusión doctrinal, las posturas institucionales son prácticamente unánimes en relación a la prohibición de la manipulación genética no terapéutica.

Recientemente se ha planteado abrir un debate sobre la permisibilidad de la manipulación genética, incluso en línea germinal, si el objetivo es terapéutico, si bien no debería perderse de vista la relevancia que en este campo tiene la aplicación del principio de precaución.

Este trabajo se ha realizado en el marco del proyecto PMP15/00007 Functional and Clinical Impact of Genomic Analysis in CLL, integrado en el Plan Estatal de I+D+I y cofinanciado por el ISCIII-Subdirección General de Evaluación y el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER-“Una manera de Hacer Europa”)

Bibliografía

1. Macip S. ¿Debemos poner límites a la edición genética? El estado de la cuestión en el ámbito científico. En: CRISPR... ¿Debemos poner límites a la edición genética? Barcelona: Cuadernos de la Fundació Víctor Grífols i Lucas; 2017. pp. 35-45. Disponible en: www.fundaciogrifols.org/documents/4662337/36081334/q45/3d242db9-f9b4-42ac-8827-1fb9d46d8860
2. De Miguel Beriain I, Armaza Armaza E. Un análisis ético de las nuevas tecnologías de edición genética: el CRIS PR-Cas9 a debate. *Anales de la Cátedra Francisco Suárez* 2018;52:179-200.
3. Savulescu J, Singer P. An ethical pathway for gene editing. *Bioethics* 2019; 33(2):221-2.
4. Comité de Bioética de España. Declaración sobre la edición genómica en humanos, de 16 enero 2019. Disponible en <http://assets.comitedebioetica.es/files/documentacion/es/CBE%20Declaracion%20sobre%20edicion%20genomica%20en%20humanos.pdf>
5. Romeo Malanda S. Intervenciones genéticas sobre el ser humano y Derecho Penal. Granada: Comares; 2006.

6. Nuffield Council of Bioethics. Genome editing and human reproduction: social and ethical issues. 2018. Disponible en: <http://nuffield-bioethics.org/project/genome-editing-human-reproduction>
7. German Ethics Council. Opinion Intervening in the Human Germline. 2019. Disponible en: www.ethikrat.org/fileadmin/Publikationen/Stellungnahmen/englisch/opinion-intervening-in-the-human-germline-summary.pdf
8. Romeo Casabona C. El principio de precaución en las actividades de riesgo. Cuadernos de derecho judicial 2002;3:13-60.
9. Comunicación [COM(2000) 1 final] sobre el recurso al principio de precaución. Disponible en: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/?uri=LEGISSUM:132042>
10. Explanatory Report to the Convention for the protection of Human Rights and Dignity of the Human Being with regard to the Application of Biology and Medicine: Convention on Human Rights and Biomedicine. 1997. Disponible en: <https://rm.coe.int/16800ccde5>.
11. European Group on Ethics in Science and New Technologies. Statement on Gene Editing. 2019. Disponible en: https://ec.europa.eu/research/ege/pdf/gene_editing_ege_statement.pdf
12. So D, Kleiderman E, Touré SB, Joly Y. Disease resistance and the definition of genetic enhancement. Front Genet 2017;8(40). DOI: 10.3389/fgene.2017.00040

Plaquetas y metabolismo, tan lejos tan cerca

COORDINADORES: Dr. Antonio Moscardó Martínez. Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia
Dr. Juan Antonio Rosado Dionisio. Universidad de Extremadura. Cáceres

Entre los diversos factores de riesgo que influyen en la aparición y en el desarrollo de patologías cardiovasculares, es evidente que los trastornos metabólicos, como la diabetes, la obesidad o la hiperlipidemia, juegan un papel crucial. Por otra parte, y en el marco de una población cada vez más envejecida, la edad, como factor de riesgo en la enfermedad cardiovascular, cobra cada vez una mayor importancia. Sin embargo, nuestro conocimiento sobre los mecanismos responsables del incremento del riesgo cardiovascular debido a estos factores está lejos de ser completo. Adicionalmente, y para complicar aún más el escenario, los tratamientos antiagregantes más frecuentemente empleados en los pacientes con eventos isquémicos ven comprometida su eficacia al emplearse en pacientes diabéticos, obesos o envejecidos. Por tanto, los objetivos de esta mesa van a ser, por una parte, conocer los últimos y excitantes avances que relacionan desorden metabólico y envejecimiento con enfermedad cardiovascular y, por otra, entender cómo las patologías metabólicas y el envejecimiento condicionan el empleo de los tratamientos antiagregantes.

Aunque es bien conocido el papel central que juegan las plaquetas en la hemostasia y la trombosis (además de en muchos otros aspectos de la fisiopatología) y que su función se encuentra alterada en diversos trastornos metabólicos y varía con la edad, es sorprendentemente poco lo que sabemos sobre el metabolismo energético de las plaquetas. En este sentido, el Dr. Abel nos presenta en su ponencia nuevos avances en la relación entre el metabolismo de la glucosa y la función plaquetaria, centrados en varios aspectos: 1) los transportadores empleados por la glucosa para entrar en la plaqueta, haciendo especial énfasis en el transportador GLUT3; 2) cómo la glucosa emplea la plaqueta para sus diversas funciones; 3) la relación entre el metabolismo de la glucosa y la vida media de las plaquetas, y 4) algunas respuestas bioquímicas a la hiperfunción plaquetaria presente en la diabetes *mellitus*.

El envejecimiento progresivo de nuestra población lleva asociado una serie de problemas de salud que, evidentemente, también incluyen complicaciones cardiovasculares. La Dra. Vilahur nos presenta en su ponencia nuevos avances en el campo de la senescencia celular (acumulación de células con una reducida capacidad de división y, por tanto, de regeneración) y su contribución a la patología cardiovascular. Veremos cómo este efecto tiene lugar a diversos niveles: 1) el envejecimiento vascular, que va a relacionarse con la aterosclerosis a través de mecanismos, que incluyen la oxidación o la inflamación, y su responsabilidad en el desarrollo de un perfil metabólico adverso debido a la mala irrigación de distintos órganos y tejidos; 2) el desarrollo de insuficiencia cardíaca debido a la falta de recambio de cardiomiocitos; 3) la senescencia de células inmunes, y 4) las alteraciones en los niveles plasmáticos de proteínas implicadas en la coagulación o la fibrinólisis.

Un tema controvertido en los últimos años ha sido la variabilidad en la eficacia, en distintos grupos de pacientes, de los diversos tratamientos antiplaquetarios (aspirina y bloqueantes del receptor P2Y₁₂ del ADP). El Dr. Ferreiro, en su ponencia, nos mostrará evidencias de cómo la diabetes, la obesidad o la edad avanzada pueden condicionar el efecto protector de los fármacos antiplaquetarios y algunos de los posibles mecanismos que pueden explicar esta variabilidad. Igualmente veremos distintas aproximaciones para evitar este problema que incluyen desde el incremento de la dosis pasando por el empleo de fármacos más potentes o incluso variando la forma de administración a dos veces al día. Sin embargo, no podemos olvidar que, en todos los casos, debe haber un equilibrio entre una mayor inhibición de la función plaquetaria y la posibilidad asociada de incrementar el riesgo hemorrágico.

Glucose metabolism and platelet activation

Fidler T.P., Abel E.D.

Fraternal Order of Eagles Diabetes. Research Center and Division of Endocrinology and Metabolism. Carver College of Medicine University of Iowa, USA

Abstract

Upon activation, platelets increase glucose uptake, glucose oxidation, glycogen utilization, and lactate release. Although this increase in metabolism has been well characterized, the mechanisms regulating glucose metabolism in platelets are not well understood. Recent analyses of mice lacking glucose transporters 1 & 3 have directly linked glucose metabolism to platelet function *in vitro* and *in vivo*. These studies have also demonstrated a multifaceted requirement of glucose metabolism for platelet activation, and suggest that alterations in the metabolic milieu can lead to changes in platelet function. These data are particularly of interest because patients with diabetes have increased platelet activation and thrombosis. Together these new insights underscore the need to better understand how the extracellular milieu can regulate glucose metabolism, and how this may lead to dysfunctional platelets in disease states like diabetes.

Introduction

In platelets, metabolism-derived cycling of ATP is highly dynamic, occurring at a rate similar to neutrophils and leukocytes and 150-times higher than that in erythrocytes (1). In addition, platelet activation and clot formation lead to rapid energy production and utilization, as demonstrated by increased glucose uptake, glucose oxidation, glycogen utilization, lactate acid production and mitochondrial respiration (2). Although a correlation between glucose metabolism and platelet function has been long recognized, few studies have investigated the mechanisms by which glucose metabolism contributes to platelet function (Fig. 1). Recent studies of mice lacking glucose transporters specifically in platelets have demonstrated that glucose metabolism can regulate calcium signaling, degranulation, activation of the glycoprotein IIb/IIIa (GPIIb/IIIa) complex, exposure of phosphatidylserine (PS) to the outer leaflet of the plasma membrane, platelet circulating half-life, and *in vivo* thrombosis (2,3). These studies establish that decreased glucose metabolism impairs platelet function through multiple mechanisms, and raise questions that are integral to understanding platelet biology.

Platelet metabolism can be regulated by the extracellular milieu; importantly insulin does not elicit metabolic activation in platelets. *In vivo* and *in vitro* hyperglycemia increases platelet glucose metabolism, activation, and thrombosis (4,5). *In vitro* studies of platelets using inhibitors of glucose uptake

and metabolism have demonstrated that glucose utilization is essential for platelet activation (2,6). In the absence of glucose transport, platelets display marked metabolic plasticity, resulting in increased utilization of alternative mitochondrial substrates (2). This plasticity may be of particular importance in disease states such as type 1 diabetes *mellitus* (T1DM) and type 2 diabetes *mellitus* (T2DM) given the increased availability of other substrates such as fatty acids or ketones. Diabetic patients exhibit increased platelet activation and thrombosis (5,7), but the consequence of alternate substrate utilization in diabetes is incompletely understood.

Glucose transporters in platelets

Glucose transporter 1 (GLUT1) and glucose transporter 3 (GLUT3) are the only class 1 glucose transporters present in platelets (2,8). Studies of mice lacking GLUT1 and GLUT3 specifically in platelets demonstrate that these transporters maintain redundant functions while also exhibiting unique functions based on their localization (2,3). These studies also demonstrated that GLUT1 and GLUT3 are the sole glucose-transporting proteins in platelets.

GLUT1 mediated glucose uptake may account for ~80% of basal glucose uptake (2). In platelets lacking GLUT3, basal glucose uptake decreased by 20%. Surprisingly, GLUT1-deficient platelets display no alteration in glucose uptake, presumably due to a post-translational compensatory increase in GLUT3 activity. The specific contribution of GLUT1-mediated metabolism to platelet function is unknown. Deletion of GLUT1 specifically from platelets does not alter the circulating platelet concentrations. Future studies will be required to determine the contribution of GLUT1-mediated glucose metabolism to platelet function.

GLUT3 mRNA is highly expressed in humans and murine platelets and ranks in the top 94th percentile of all transcripts in human platelets (9,10). GLUT3 function is regulated by its subcellular localization (3). Immunogold labeling of GLUT3 in resting platelets indicates that 85% of GLUT3 is expressed in α -granule membranes and roughly 15% is expressed in the plasma membrane. Under basal conditions, GLUT3 was responsible for at least 20% of glucose uptake into platelets. However, upon stimulation, platelets degranulate and the α -granule membranes fuse with the plasma membrane, leading to GLUT3 incorporation into the plasma membrane (8). This incorporation of GLUT3 into the plasma membrane leads to a 2-fold increase in glucose uptake (3). In addition, GLUT3 can facilitate glucose uptake

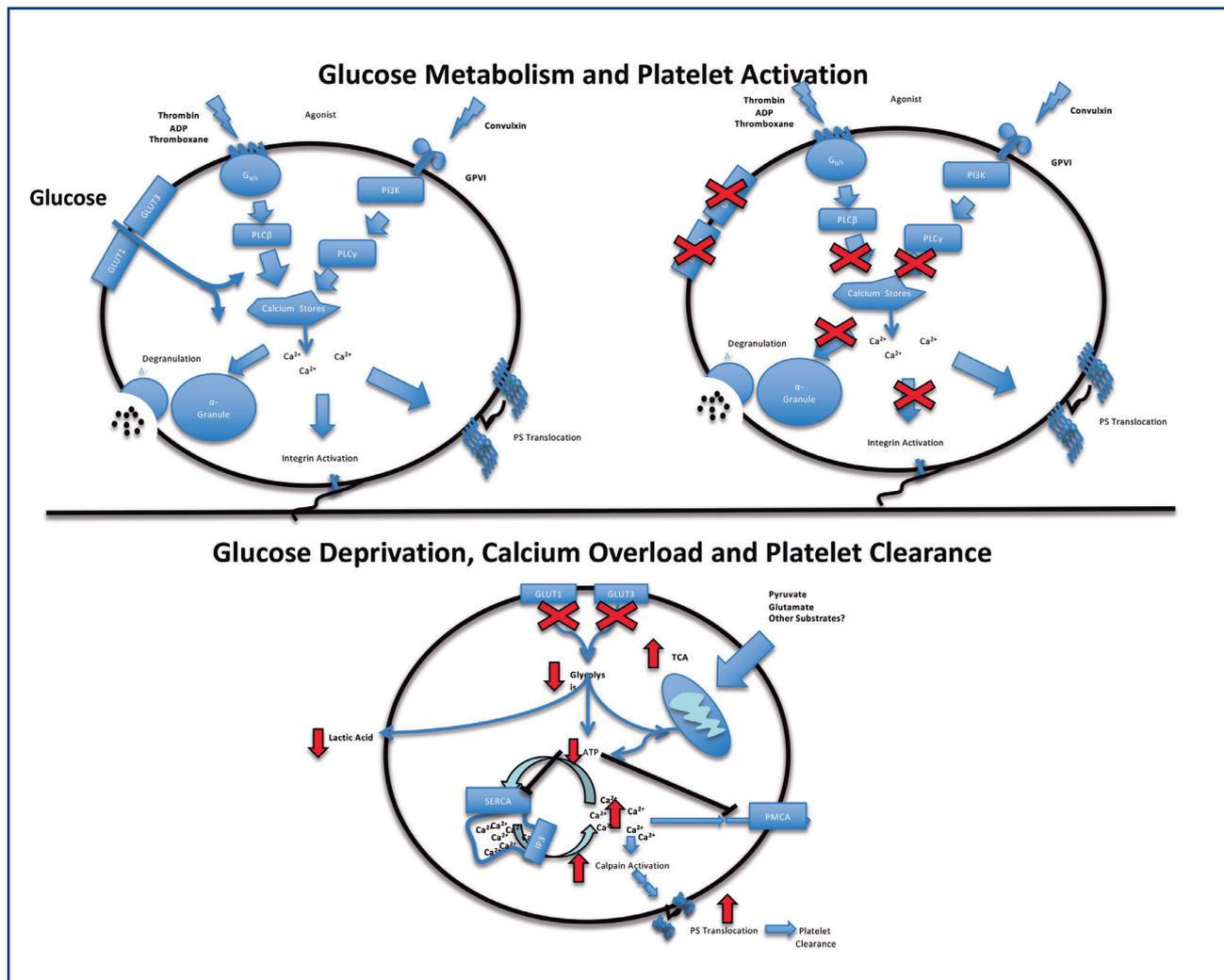


Figura 1. Schematic representation of multiple mechanisms by which glucose metabolism regulates platelet activation and survival.

into α -granules for intragranular glycolysis (3). Thus, GLUT3 function is regulated in part by its subcellular localization.

Studies of mice with a platelet-specific knockout of GLUT3 revealed that loss of GLUT3 leads to decreased platelet function in vitro and in vivo. Deletion of GLUT3 impairs α -granule release. This finding was surprising because the majority of GLUT3 is localized on α -granule membranes, and it was believed the primary function of GLUT3 was import of glucose into the platelet following translocation to the plasma membrane. Coupled to the recent discoveries that platelets release their α -granules in a biphasic manner we demonstrated that glycogenolysis is initially responsible for release of α -granules, however as the first phase of α -granules translocate to the plasma membrane, GLUT3 increases glucose import, resulting in increased glycolysis which generates the energy required for degranulation of the remaining α -granules (3). Our studies also raise the possibility

that intragranular glycolysis may generate the ATP required for α -granule degranulation. This compartmentalization of glycolysis raises the intriguing possibility that platelets require ATP in the lumen of α -granules to fuel ATP-dependent proteins that are required for degranulation. For example, it is possible that ATP derived from glycolysis is utilized by N-ethylmaleimide-sensitive factor (NSF), an ATPase essential for α -granule release. In addition to NSF, multiple ATP-dependent proteins have been identified through α -granule proteomic analyses (11).

Glucose metabolic pathways in platelets

Once glucose enters the platelet, it can be utilized for multiple functions. Platelets contain all of the enzymes required for metabolizing glucose through glycolysis, the pentose phosphate pathway, the polyol pathway, and the hexose biosynthetic pathway.

Under normal conditions platelets rely on glucose metabolism, predominantly glycolysis to maintain a highly dynamic cycling of ATP (12-14), which might be important for priming platelets for rapid activation. We recently showed that calcium signaling was disrupted in platelets lacking glucose uptake, defining an important role for glucose metabolism in calcium cycling, possibly by supplying ATP to sarco/endoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase (SERCA) and/or the plasma membrane Ca^{2+} -ATPase (PMCA) (2). In mice with genetic deletion of GLUT1 and GLUT3 in platelets, energy metabolism is exclusively dependent on mitochondrial metabolism of other substrates, demonstrating metabolic flexibility (2). Despite this, platelets that lack GLUT1 and GLUT3 still exhibit reduced activation *in vivo* and *in vitro*.

Platelets contain large quantities of glycogen, which are easily visible by transmission electron microscopy at a density similar to skeletal muscle (3). Indeed, in the presence of glucose deprivation and mitochondrial inhibition with cyanide, glycogen stores can maintain platelet ATP levels for up to 40 minutes (15). It is not clear whether platelet glycogen stores are generated *de novo* once in the circulation or if megakaryocytes package glycogen into nascent platelets prior to platelet budding. Megakaryocytes contain large concentrations of glycogen that fluctuate throughout development, with the largest concentration present just prior to pro-platelet formation. Following platelet formation, megakaryocyte glycogen is absent however, it is unclear whether megakaryocytes consume the glycogen stores for energy to generate platelets or if the glycogen is packaged into the nascent platelets. Murine platelets lacking GLUT3 display markedly reduced glycogen; however, megakaryocytes from these mice appear to have normal glycogen content (3). This finding indicates that impaired glucose uptake in the circulating platelet may either increase glycogen utilization, or decreased glycogen synthesis.

In addition to metabolism, glucose will fuel other metabolic pathways such as the hexosamine biosynthetic and the polyol pathways, although the physiological significance of these pathways are incompletely understood. Metabolomics analysis of GLUT3-deficient platelets under basal conditions revealed a marked reduction in the polyol pathway intermediates sorbitol and fructose. Although under basal conditions GLUT3-KO platelets have ~20% reduced glucose uptake, this decrease in polyol pathway intermediates in GLUT3 platelets was not accompanied by large changes in other glycolytic pathways. Thus, GLUT3 may selectively facilitate polyol pathway flux; however, the mechanism by which this relationship is facilitated is unknown.

Glucose metabolism and platelet activation

Thrombin-stimulated platelets increase lactate release and glucose oxidation by 2-fold (3). Following activation, there is a rapid increase in glucose metabolism that is thought to fuel the estimated 3-fold increase in ATP utilization, occurring within the first 60 seconds of activation (1). Upon activation, platelets increase actin polymerization, leading to dramatic cytoskeletal rearrangement, protein synthesis, granule release, and integrin

complex activation, all of which require substantial amounts of energy.

Platelets incubated in the absence of glucose or presence of 2-Deoxyglucose have greater than 50% decrease in aggregation (16) and addition of the mitochondrial respiration inhibitor antimycin completely prevents thrombin mediated activation (17); however, antimycin A alone does not affect platelet aggregation. This phenomenon underscores the metabolic flexibility of platelets to utilize diverse substrates and metabolic pathways to produce ATP. Mice lacking both GLUT1 and GLUT3 in platelets (DKO) have complete absence of glucose metabolism platelets, but increase their utilization of alternative substrates like pyruvate and glutamate to maintain the bioenergetic state (2). However certain pathways that lead to platelet activation appear to specifically require glucose.

DKO platelets fail to increase cytoplasmic calcium flux and demonstrate impaired store-operated calcium entry (SOCE) following stimulation *in vitro*. Agonist-mediated signal transduction converges on increasing calcium concentrations in the cytoplasm through the release of stored calcium and influx of calcium from the extracellular environment. It is unclear how decreased glucose metabolism leads to decreased SOCE. Ca^{2+} flux is impaired in DKO platelets that lack glucose metabolism, and even when Ca^{2+} flux is rescued, using a Ca^{2+} ionophore, α -granule release, and GPIIb/IIIa activation remains impaired. This impaired activation may be caused by decreased ATP generation, which is required for cytoskeletal remodeling and anchoring of the GPIIb/IIIa complex to the cytoskeleton. In order for GPIIb/IIIa to move to its activated conformation, Arp2/3 is required to polymerize actin in an ATP-dependent manner. It is also possible that the decrease in GPIIb/IIIa complex activation is due to the loss of DAG-mediated PKC activation, which can result in complex activation as well. Following administration of thrombin plus convulxin to induce phosphatidylserine (PS) exposure to the outer leaflet of the plasma membrane, DKO platelets demonstrated impaired PS exposure. However, when Ca^{2+} flux was restored, PS exposure was restored, indicating PS exposure does not require glucose metabolism downstream of Ca^{2+} flux. Together these data demonstrate that glucose metabolism is essential for multiple activation-dependent functions of platelets.

Glucose metabolism for platelet functions following activation

In addition to platelet activation, it is possible that glucose uptake may contribute to post-activation platelet physiology. Platelets are known to facilitate clot retraction (3,18) and microparticle formation. Clot retraction is a platelet-dependent mechanism, which occurs following activation. *In vitro* studies indicate that in the absence of glucose, clot retraction does not occur (18). GLUT3-KO platelets also exhibited decreased *in vitro* clot retraction. It is not clear if there is an obligatory role of glucose in clot retraction or if this effect is due to decreased platelet bioenergetics. Following activation, mitochondrial respiration initially increases, therefore if this were solely

a consequence of decreased bioenergetics, it would be expected that mitochondrial respiration could compensate. Therefore, it is possible that glucose plays an obligatory role in clot retraction through a non-bioenergetic pathway.

Following activation, platelets can produce microparticles that lead to the systemic dissemination of proteins, RNA and other signaling molecules (19). Platelet-derived microparticles account for ~80% of microparticles in the circulation, however a large fraction of these microparticles may be derived from megakaryocytes (19). Platelet-derived microparticles can play essential roles in rheumatoid arthritis disease progression as well other immune responses (19,20). Additionally, microparticle formation may require large amounts of energy for membrane-cytoskeleton adhesion and membrane remodeling. This is accentuated by the observation that *in vitro* stimulation of platelets with collagen plus thrombin leads to mitochondrial depolarization, which inhibits mitochondria-derived ATP production, yet microparticles are subsequently formed. Because this stimulus abolishes mitochondrial respiration, glucose metabolism may act as the sole pathway for ATP production in this system. Therefore, it is plausible that post-activation glucose uptake aids in microparticle formation. However, we were surprised to find that microparticle formation was unchanged in GLUT3-KO platelets stimulated with agonists (3). Thus basal glucose uptake via GLUT1 may maintain the bioenergetic requirements of microparticle formation. Further investigation of these mechanisms may advance the understanding of post-activation platelet functions.

Glucose metabolism and platelet survival

DKO mice lacking GLUT1 and GLUT3 in the megakaryocytes and platelets displayed an ~30% reduction in circulating platelet counts. This decrease in platelet counts was attributed to a reduction in platelet circulating half-life and impaired megakaryocyte-mediated platelet production. The mechanisms linking metabolism and platelet survival are incompletely understood. However, it is known that platelet apoptosis generates an “eat me” signal to phagocytic cells, which facilitates clearance of platelets (21), additionally protein sialylation has been demonstrated to regulate platelet clearance (22). In the absence of glucose metabolism, platelets undergo a necrosis like cell death and clearance. This cell death is bioenergetically linked because when substrates for mitochondrial metabolism are present death is partially impaired, and addition of oligomycin, an ATP synthase inhibitor, exacerbates this death in DKO platelets. This cell death was demonstrated to be due to impaired SERCA and PMCA activity, which results in increased cytoplasmic Ca²⁺ concentrations, resulting in calpain activation, proteolysis and PS exposure to the outer leaflet of the plasma membrane (2). *In vivo* even in the presence of mitochondrial substrates, which would be found in the plasma, DKO platelets displayed a marked decreased circulating half-life. The idea that metabolism can regulate lifespan is not new, however, these studies are the first ones to demonstrate that a reduction in platelet glucose metabolism can lead to decreased circulating half-life. Studies of human platelets,

where platelet density was used to distinguish platelet age, indicated that dense (young) platelets contained larger quantities of glycogen, and had increased respiration and glycolysis rates compared to light (old) platelets (23). These studies demonstrate that metabolism may regulate platelet-circulating lifespan and if relevant to disease states calpain inhibitors may be therapeutically beneficial.

Platelet dysfunction in diabetes

Patients with T1DM and T2DM have increased thrombosis and microvascular and macrovascular disease (24), the pathophysiology of which is multi-faceted. Patients with T1DM and T2DM (25,26) display increased urinary secretion of 11-dehydro-thromboxane B₂, an *in vivo* marker of thromboxane A₂ production, which is a surrogate marker of platelet activation. In addition, whole blood isolated from patients with T1DM contains increased platelet-monocyte aggregates, indicative of increased *in vivo* platelet activation and degranulation (26). We recently reported in a mouse model of T1DM that diabetes increased platelet glucose metabolism that correlated directly with increased platelet activation. In DKO mice the diabetes associated increase in platelet activation was completely abrogated and using a collagen phenylephrine model of lethal pulmonary embolism, diabetic DKO mice exhibited a significant increase in survival (5). Intriguingly, the defect in platelet circulating half-life in DKO mice was ameliorated by diabetes, likely on the basis of the availability of other metabolic substrates such as fatty acids.

Conclusions

Many questions remain regarding the contribution of glucose metabolism to platelet function. The extent to which diabetes or metabolic syndrome alters glucose metabolism in human platelets needs to be determined. Additionally, basic questions remain as to why platelets increase glucose metabolism following degranulation. Understanding these post-activation consequences of metabolism may aid in our understanding of thrombus clearance, wound healing, and other partially understood platelet functions. In addition, the contribution of glucose metabolism to platelet ROS formation and lipoxygenase activity could represent interesting mechanisms by which the extracellular milieu may regulate platelet function and thrombosis. Moreover, understanding if α -granule glucose flux is altered in disease states may be important for the generation of biomarkers. Creation of GLUT1 and GLUT3-deficient platelets has allowed these questions and others to be tested and will aid in a better understanding of how the fundamental process of glucose metabolism can lead to alterations in platelet function *in vivo*.

Acknowledgements

Studies in the Abel lab were supported by NIH grant U54 HL112311.

The authors have no conflict of interests to declare.

References

1. Akkerman JW, Gorter G, Schrama L, et al. A novel technique for rapid determination of energy consumption in platelets. Demonstration of different energy consumption associated with three secretory responses. *Biochem J* 1983;210(1):145-55.
2. Fidler TP, Campbell RA, Funari T, et al. Deletion of GLUT1 and GLUT3 Reveals Multiple Roles for Glucose Metabolism in Platelet and Megakaryocyte Function. *Cell Rep* 2017;20(4):881-94.
3. Fidler TP, Middleton EA, Rowley JW, et al. Glucose Transporter 3 Potentiates Degranulation and Is Required for Platelet Activation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2017;37(9):1628-39.
4. El Haouari M, Rosado JA. Platelet signalling abnormalities in patients with type 2 diabetes mellitus: a review. *Blood Cells Mol Dis* 2008;41(1):119-23.
5. Fidler TP, Marti A, Gerth K, et al. Glucose Metabolism Is Required for Platelet Hyperactivation in a Murine Model of Type 1 Diabetes. *Diabetes* 2019;68(5):932-8.
6. Detwiler TC. Effects of deoxyglucose on platelet metabolism. *Biochim Biophys Acta* 1971;244(2):303-10.
7. Bern MM. Platelet functions in diabetes mellitus. *Diabetes* 1978;27(3):342-50.
8. Heijnen HF, Oorschot V, Sixma JJ, et al. Thrombin stimulates glucose transport in human platelets via the translocation of the glucose transporter GLUT-3 from alpha-granules to the cell surface. *J Cell Biol* 1997;138(2):323-30.
9. Rowley JW, Oler AJ, Tolley ND, et al. Genome-wide RNA-seq analysis of human and mouse platelet transcriptomes. *Blood* 2011;118(14):e101-11.
10. Simon LM, Edelstein LC, Nagalla S, et al. Human platelet microRNA-mRNA networks associated with age and gender revealed by integrated plateletomics. *Blood* 2014;123(16):e37-45.
11. Maynard DM, Heijnen HF, Horne MK, et al. Proteomic analysis of platelet alpha-granules using mass spectrometry. *J Thromb Haemost* 2007;5(9):1945-55.
12. Andrie JM, Verhoeven MEM, Akkerman JW. Kinetics of Energy Consumption in Human Platelets with Blocked ATP Regeneration. *Int J Biochem* 1986;18(11):985-90.
13. Akkerman JW, Gorter G, Schrama L, et al. A novel technique for rapid determination of energy consumption in platelets: Demonstration of different energy consumption associated with three secretory responses. *Biochem J* 1983;210(1):145-55.
14. Andrie JM, Verhoeven MEM, Akkerman JW. Metabolic Energy is required in Human Platelets at any Stage During Optical Aggregation and Secretion. *Biochim Biophys Acta* 1984;800(3):242-50.
15. Karpatkin S, Charmatz A, Langer RM. Glycogenesis and glyconeogenesis in human platelets. Incorporation of glucose, pyruvate, and citrate into platelet glycogen; glycogen synthetase and fructose-1,6-diphosphatase activity. *J Clin Invest* 1970;49(1):140-9.
16. Akkerman JW, Holmsen H, Driver HA. Platelet aggregation and Ca²⁺ secretion are independent of simultaneous ATP production. *FEBS Lett* 1979;100(2):286-90.
17. Akkerman JW, Holmsen H. Interrelationships among platelet responses: studies on the burst in proton liberation, lactate production, and oxygen uptake during platelet aggregation and Ca²⁺ secretion. *Blood* 1981;57(5):956-66.
18. Murer EH. Clot retraction and energy metabolism of platelets. Effect and mechanism of inhibitors. *Biochim Biophys Acta* 1969;172(2):266-76.
19. Italiano JE Jr, Mairuhu AT, Flaumenhaft R. Clinical relevance of microparticles from platelets and megakaryocytes. *Curr Opin Hematol* 2010;17(6):578-84.
20. Boilard E, Nigrovic PA, Larabee K, et al. Platelets amplify inflammation in arthritis via collagen-dependent microparticle production. *Science* 2010;327(5965):580-3.
21. Kile BT. The role of the intrinsic apoptosis pathway in platelet life and death. *J Thromb Haemost* 2009;7(Suppl.1):214-7.
22. Li J, van der Wal DE, Zhu G, et al. Desialylation is a mechanism of Fc-independent platelet clearance and a therapeutic target in immune thrombocytopenia. *Nat Commun* 2015;6:7737.
23. Karpatkin S. Heterogeneity of human platelets. I. Metabolic and kinetic evidence suggestive of young and old platelets. *J Clin Invest* 1969;48(6):1073-82.
24. Vazzana N, Ranalli P, Cucurullo C, et al. Diabetes mellitus and thrombosis. *Thromb Res* 2012;129(3):371-7.
25. Davi G, Catalano I, Averna M, et al. Thromboxane biosynthesis and platelet function in type II diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1990;322(25):1769-74.
26. Harding SA, Sommerfield AJ, Sarma J, et al. Increased CD40 ligand and platelet-monocyte aggregates in patients with type 1 diabetes mellitus. *Atherosclerosis* 2004;176(2):321-5.

Envejecimiento, metabolismo y enfermedad cardiovascular

Vilahur G.

Programa ICCC. Institut de Recerca. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. IIB-Sant Pau. Barcelona. CIBERCV. Instituto de Salud Carlos III. Madrid

Introducción

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), las enfermedades cardiovasculares son responsables del 30% de las muertes que ocurren en todo el mundo. Los factores de riesgo para el desarrollo de ECV son la hipertensión, el tabaquismo, la dislipemia, la obesidad y la diabetes, pero también hay factores de riesgo no modificables como el sexo, algunas condiciones genéticas y el envejecimiento. De hecho, el envejecimiento es el principal factor de riesgo no modificable asociado a la enfermedad cardiovascular. El envejecimiento es *per se* un proceso fisiológico que, sin embargo, se asocia a varios aspectos indeseables y nos predispone a enfermedades relacionadas con la edad, como son cardiovasculares y el síndrome metabólico. En las sociedades que envejecen, la discrepancia entre la vida útil total (incrementada por los avances en los tratamientos) y la vida saludable está convirtiéndose en un serio problema. En los últimos años se ha incrementado de manera notable la proporción de población mayor de 65 años de edad, de la mano de un incremento de las enfermedades cardiovasculares, específicamente la enfermedad coronaria (1). Prueba de ello es que la prevalencia de infarto agudo de miocardio aumenta con la edad, y es 7 veces mayor entre los 65-74 años de edad (2), pero más preocupante aún es que las Naciones Unidas ha calculado que la proporción de la población mayor de 65 años de edad en el mundo se duplicará para el año 2050 (3).

El remodelado de la pared arterial debido a su constante distensión cíclica se considera un pilar clave para explicar el envejecimiento cardiovascular. Esta alteración estructural, sin embargo, no descarta la ocurrencia en paralelo de otras alteraciones en el aparato cardiovascular que contribuyan a su deterioro y envejecimiento, como la senescencia. Cada vez existen más documentos que sostienen un papel primordial de la senescencia celular que acompaña al envejecimiento en la patogenia y en la progresión de la aterosclerosis o la insuficiencia cardíaca.

A continuación nos centraremos en delinear el papel de la senescencia en las enfermedades asociadas con el envejecimiento, como los trastornos cardiovasculares y metabólicos.

Papel de la senescencia celular en el envejecimiento

El envejecimiento cronológico está asociado al desarrollo de enfermedades relacionadas con la edad, incluida la insuficiencia cardíaca, la diabetes y la enfermedad aterosclerótica, y diversos estudios han demostrado que la acumulación de células senescentes (es decir, que han perdido su capacidad de dividirse)

se asocia con el envejecimiento y tiene un papel causal en la patología de estos trastornos relacionados con la edad. A pesar de que aún no haya marcadores biológicos que reflejen directamente senescencia celular, existen varios marcadores que permiten detectarla indirectamente, entre los que cabría destacar la actividad beta-galactosidasa asociada a la senescencia (SA- β -gal) y la proteína p53. Otros marcadores establecidos de senescencia celular incluyen alta expresión de p16, p21, p38 proteína activada por el mitógeno quinasa (p38MAPK) y γ H2AX, que refleja el daño al ADN. La proteína p53 es un factor transcripcional con un papel crucial en la senescencia celular al regular el ciclo celular y la apoptosis. Además, varios estudios han indicado que la proteína p53 contribuye a un amplio espectro de procesos biológicos, como el metabolismo celular, la autofagia, las defensas antioxidantes y la angiogénesis (4,5).

La senescencia celular no solo se expresa a través de un arresto en el crecimiento de la célula, sino que también, y estrechamente vinculado a este, se manifiesta a través de cambios funcionales que incluyen el acortamiento de los telómeros y la senescencia prematura inducida por estrés. Los telómeros son secuencias de nucleótidos repetitivas ubicadas en los terminales de los cromosomas de los mamíferos que experimentan una replicación incompleta durante la división celular, lo que resulta en el acortamiento de los telómeros. Debido a que los telómeros son esenciales para la estabilidad cromosómica y la replicación del ADN, cuando el acortamiento del telómero supera el rango fisiológico se desencadena la senescencia celular, principalmente a través de las vías de señalización p53 o p16. Otro tipo de senescencia celular llamada "prematura" es aquella que se desencadena por estrés oxidativo o metabólico y se asocia a un daño en el ADN y también está mediada por p53 o p16.

El envejecimiento vascular favorece el desarrollo de aterosclerosis

Existe evidencia científica que refuerza que la senescencia celular en la vasculatura, denominada "senescencia vascular", está involucrada de manera crucial en la patogénesis de los trastornos cardiovasculares y metabólicos. Se ha descrito que la senescencia vascular promueve la aterosclerosis (6), la disfunción cardíaca sistólica (7) y la disfunción metabólica sistémica (8). Las células senescentes se acumulan en las arterias con el envejecimiento, independientemente de si una persona tiene o no trastornos vasculares relacionados con la edad. De hecho, las arterias envejecidas se caracterizan por la acumulación de células endoteliales vasculares senescentes, células musculares

lisas vasculares senescentes (CMVL) y células inflamatorias senescentes. La senescencia de estas células promueve la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) e induce un estado de inflamación estéril crónico, ya que las células senescentes adquieren un fenotipo secretor que se caracteriza por la producción de citocinas proinflamatorias (interleucina-6, el factor de necrosis tumoral alfa y la proteína-1 quimioatrayente de monocitos). Ambos factores contribuyen a la progresión de la disfunción vascular relacionada con la edad y al desarrollo de aterosclerosis y desórdenes metabólicos (9). Así, diversos estudios han demostrado que las células senescentes se acumulan en los vasos sanguíneos de pacientes con aterosclerosis y/o diabetes y se asocian con un aumento de ROS, una mayor respuesta inflamatoria, expresión de p53/p21, p16 y SA-β-Gal, un mayor desgaste del telómero y un nivel reducido en la disponibilidad de óxido nítrico (ON) (10). Curiosamente, la actividad de SA-β-gal aumenta en las arterias coronarias de los pacientes con cardiopatía isquémica, pero no en las arterias mamarias internas, y especialmente en las células ubicadas en la superficie luminal (probablemente células endoteliales). En general, el endotelio senescente se vuelve disfuncional, con el consiguiente deterioro de la dilatación dependiente del endotelio, que es un marcador pronóstico de futuros eventos cardiovasculares (11). Es más, las células endoteliales disfuncionales desarrollan propiedades prooxidantes, vasoconstrictoras, protrombóticas y proinflamatorias que agravan el desarrollo de una enfermedad aterosclerótica y predisponen a la aparición de eventos trombóticos.

Diversos hallazgos indican que la senescencia de células endoteliales juega un papel primordial en el mantenimiento de la salud metabólica sistémica (12). En este aspecto, la formación de redes capilares es de suma importancia para el mantenimiento de la homeostasis celular/tisular, de modo que la disfunción vascular conlleva un mal funcionamiento de los órganos, con los consiguientes trastornos metabólicos sistémicos (13). De hecho, cada vez hay más evidencia que sostiene que el envejecimiento puede desembocar en un perfil metabólico adverso. En este aspecto, condiciones metabólicas como la obesidad, la diabetes y la resistencia a la insulina se asocian con características prematuras de senescencia cardiovascular. Ese más, estudios con animales han evidenciado que tanto la diabetes (hiperglucemia) como la obesidad inducen senescencia vascular (14). En conjunto, estas observaciones refuerzan la existencia de una interacción dinámica entre el envejecimiento, las enfermedades cardiovasculares y el metabolismo.

A nivel de las CMVL, el estrés oxidativo induce senescencia celular, lo que acelera el desarrollo de la placa aterosclerótica. De hecho, los telómeros son más cortos en las CMVL de la cubierta fibrosa de las placas de ateroma en comparación con las CMVL de vasos sanos, y estas células también son positivas para la tinción de SA-β-gal y presentan una expresión elevada de p16 y p21. Es más, con el envejecimiento, las CMVL sufren cambios funcionales, condicionados en gran parte por la desregulación de la vía de señalización del factor de crecimiento tisular (TGF)-β, que inducen una transformación de las CMVL de un fenotipo “contráctil” a uno “sintético”. De hecho, el engrosamiento intimal que se desarrolla con el envejecimiento y es característico de las lesiones ateroscleróticas se debe, parcialmente, al incremento

en la producción de colágeno por parte de las CMVL y a la disminución correspondiente de la elastina (15).

El envejecimiento cardíaco predispone a la insuficiencia cardíaca

En un corazón normal, cada día mueren 3 millones de cardiomiocitos por apoptosis y son reemplazados por células madres cardíacas, que se duplican y se diferencian, lo que permite el recambio celular; durante este proceso se presenta progresivamente un acortamiento del telómero relacionado con la edad. En el proceso de envejecimiento normal de un corazón hay pérdida global de los cardiomiocitos por declinación en la habilidad de duplicación de células madre, con un aumento compensatorio en el volumen celular de los cardiomiocitos restantes, disminución de la capacidad contráctil cardíaca, agrandamiento cardíaco e hiperplasia de fibroblastos y depósito de colágeno en el intersticio. Esto conduce a la dilatación de las cámaras cardíacas y, a pesar de una atrofia por la disminución en el número de las células, el corazón se torna morfológicamente hipertrófico. La insuficiencia cardíaca relacionada con la edad se desarrolla en personas sin factores de riesgo establecidos (por ejemplo, hipertensión, obesidad, diabetes o enfermedades ateroscleróticas) (16) y conlleva una disfunción sistólica que se clasifica como insuficiencia cardíaca con una fracción de eyección preservada (HFpEF). La HFpEF prevalece entre los ancianos y ocurre en aproximadamente la mitad de todos los pacientes con insuficiencia cardíaca. El mecanismo de la HFpEF aún no se comprende completamente, aunque hay evidencia reciente que sugiere que la senescencia de las células endoteliales cardíacas asociadas al envejecimiento está involucrada en su inicio y progresión (17,18). De hecho, pacientes con insuficiencia cardíaca terminal, cardiomiopatía hipertrófica o cardiomiopatía dilatada expresan mayores niveles de p53 y apoptosis a nivel cardíaco respecto a corazones sanos.

Envejecimiento en las células inmunes y su contribución a la enfermedad cardiovascular

Varios estudios han sugerido que la senescencia de los leucocitos también está involucrada en la progresión de las lesiones ateroscleróticas. Por un lado, se ha evidenciado que la senescencia celular promueve cambios fenotípicos proinflamatorios en macrófagos, lo que fomenta el desarrollo de la placa (19). Por otro lado, se ha descrito que las células espumosas senescentes presentes en la íntima se acumulan en las lesiones ateroscleróticas y actúan como los principales impulsores de la formación de ateromas. De hecho, la eliminación específica de estas células mediante enfoques genéticos o farmacológicos ha demostrado revertir la aterosclerosis en ratones (20).

Impacto del envejecimiento en la trombosis y en la hemostasia

El envejecimiento también se asocia con cambios hemostáticos y trombóticos. De hecho, niveles plasmáticos de proteínas

de coagulación tales como el fibrinógeno y los factores V, VII, VIII, IX, XI y XII se encuentran aumentados con la edad (21). Estudios recientes en nuestro grupo han identificado proteínas que se expresan de manera diferencial en octogenarios sanos sin antecedentes de ECV y que conservan el estado funcional y cognitivo respecto a octogenarios con antecedentes de ECV y deterioro cognitivo. Entre ellas, se ha detectado un incremento de dos proteínas antifibrinolíticas (A2AP y FXIIIB) en octogenarios con antecedentes de ECV y deterioro cognitivo, lo que se asocia como una menor actividad fibrinolítica (22); es más, en un estudio posterior llevado a cabo en la misma cohorte de pacientes octogenarios hemos observado que aquellos sujetos con antecedentes de ECV y deterioro cognitivo muestran un incremento de diversas proteínas relacionadas con la inflamación y la coagulación que, a su vez, se asocian a un mayor riesgo de mortalidad cardiovascular a los 5 años (20).

Cabe remarcar, además, que los ancianos se ven afectados por enfermedades crónicas asociadas a la edad con alto riesgo trombótico, como la enfermedad pulmonar obstructiva, la insuficiencia cardíaca, la diabetes o el cáncer. Estas comorbilidades contribuyen sustancialmente al riesgo de trombosis durante el envejecimiento.

Conclusiones y perspectivas futuras

Los trastornos relacionados con el envejecimiento o la edad, como la insuficiencia cardíaca, las enfermedades metabólicas y la aterosclerosis, se relacionan con una acumulación de células, tanto a nivel cardíaco como vascular, que experimentan senescencia celular. Estudios experimentales han evidenciado que la supresión de la senescencia de las células vasculares mejora las características fenotípicas del envejecimiento en varios modelos animales. En este último aspecto, ha ganado interés el concepto de la senólisis, que implica la eliminación específica de células senescentes o la capacidad de revertir el fenotipo del envejecimiento. Sin embargo, queda aún por investigar si el desarrollo de terapias dirigidas a la supresión o eliminación de células senescentes será capaz de inhibir la progresión de aspectos indeseables del envejecimiento y, por consiguiente, reducirá el riesgo de sufrir enfermedad cardiovascular y metabólica o bien privará al ser humano de funciones básicas como la reparación y cicatrización.

Bibliografía

- Kovacic JC, Moreno P, Hachinski V, et al. Cellular senescence, vascular disease, and aging: Part 1 of a 2-part review. *Circulation* 2011;123(15):1650-60.
- Yazdanyar A, Newman AB. The burden of cardiovascular disease in the elderly: morbidity, mortality, and costs. *Clin Geriatr Med* 2009;25(4):563-77, vii.
- Laslett LJ, Alagona P Jr, Clark BA 3rd, et al. The worldwide environment of cardiovascular disease: prevalence, diagnosis, therapy, and policy issues: a report from the American College of Cardiology. *J Am Coll Cardiol* 2012;60(Suppl.25):S1-49.
- Lane DP. Cancer. p53, guardian of the genome. *Nature* 1992;358(6381):15-6.
- Sano M, Minamino T, Toko H, et al. p53-induced inhibition of Hif-1 causes cardiac dysfunction during pressure overload. *Nature* 2007;446(7134):444-8.
- Wang JC, Bennett M. Aging and atherosclerosis: mechanisms, functional consequences, and potential therapeutics for cellular senescence. *Circulation Research* 2012;111(2):245-59.
- Gogiraju R, Xu X, Bochenek ML, et al. Endothelial p53 deletion improves angiogenesis and prevents cardiac fibrosis and heart failure induced by pressure overload in mice. *J Am Heart Assoc* 2015;4(2). pii:e001770.
- Yokoyama M, Okada S, Nakagomi A, et al. Inhibition of endothelial p53 improves metabolic abnormalities related to dietary obesity. *Cell Reports* 2014;7(5):1691-703.
- Ungvari Z, Kaley G, de Cabo R, et al. Mechanisms of vascular aging: new perspectives. *The Journals of Gerontology. Series A* 2010;65A(10):1028-41.
- Morgan RG, Ives SJ, Lesniewski LA, et al. Age-related telomere uncapping is associated with cellular senescence and inflammation independent of telomere shortening in human arteries. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2013;305(2):H251-8.
- Inaba Y, Chen JA, Bergmann SR. Prediction of future cardiovascular outcomes by flow-mediated vasodilatation of brachial artery: a meta-analysis. *Int J Card Imaging* 2010;26(6):631-40.
- Campisi J. Senescent cells, tumor suppression, and organismal aging: good citizens, bad neighbors. *Cell* 2005;120(4):513-22.
- Shimizu I, Aprahamian T, Kikuchi R, et al. Vascular rarefaction mediates whitening of brown fat in obesity. *J Clin Invest* 2014;124(5):2099-112.
- Yokoi T, Fukuo K, Yasuda O, et al. Apoptosis signal-regulating kinase 1 mediates cellular senescence induced by high glucose in endothelial cells. *Diabetes* 2006;55(6):1660-5.
- Mauriello A, Orlandi A, Palmieri G, et al. Age-related modification of average volume and anisotropy of vascular smooth muscle cells. *Pathol Res Pract* 1992;188(4-5):630-6.
- Shih H, Lee B, Lee RJ, et al. The aging heart and post-infarction left ventricular remodeling. *J Am Coll Cardiol* 2011;57(1):9-17.
- Mohammed SF, Hussain S, Mirzoyev SA, et al. Coronary microvascular rarefaction and myocardial fibrosis in heart failure with preserved ejection fraction. *Circulation* 2015;131(6):550-9.
- Gevaert AB, Shakeri H, Leloup AJ, et al. Endothelial Senescence Contributes to Heart Failure with Preserved Ejection Fraction in an Aging Mouse Model. *Circ Heart Fail* 2017;10(6).pii: e003806.
- Cudejko C, Wouters K, Fuentes L, et al. p16INK4a deficiency promotes IL-4-induced polarization and inhibits proinflammatory signaling in macrophages. *Blood* 2011;118(9):2556-66.
- Childs BG, Baker DJ, Wijshake T, et al. Senescent intimal foam cells are deleterious at all stages of atherosclerosis. *Science* 2016;354(6311):472-7.
- Toffer GH, Massaro J, Levy D, et al. Relation of the prothrombotic state to increasing age (from the Framingham Offspring Study). *Am J Cardiol* 2005;96(9):1280-3.
- Cubedo J, Padro T, Pena E, et al. High Levels of Antifibrinolytic Proteins Are Found in Plasma of Older Octogenarians with Cardiovascular Disease and Cognitive Decline. *J Am Coll Cardiol* 2015;65(24):2667-9.

Características especiales de los tratamientos antiplaquetarios en diabetes, obesidad y edad avanzada

Besteiro Vázquez A.¹, Ferreiro Gutiérrez J.L.²

¹Área de Enfermedades del Corazón. Hospital Universitari de Bellvitge. Instituto de Investigación Biomédica de Bellvitge (Idibell). L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona.

²Laboratorio de Investigación Cardiovascular. Área de Enfermedades del Corazón. Hospital Universitari de Bellvitge. Instituto de Investigación Biomédica de Bellvitge (Idibell). CIBER-CV. L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona

Conflictos de interés: José Luis Ferreiro: a) honorarios por ponencias: Eli Lilly Co, Daiichi Sankyo, Inc., AstraZeneca, Roche Diagnostics, Pfizer, Abbott, Boehringer Ingelheim y Bristol-Myers Squibb; b) honorarios por consultoría: AstraZeneca, Eli Lilly Co., Ferrer, Boston Scientific y Pfizer; c) becas de investigación: AstraZeneca.

Adrián Besteiro: sin conflictos de interés.

Introducción

Las plaquetas juegan un papel esencial en el desarrollo de la arteriosclerosis y en las complicaciones aterotrombóticas derivadas, fundamentalmente en los eventos tromboticos agudos (1). Por ello, el uso de fármacos antiagregantes plaquetarios es de una importancia capital para el tratamiento y la prevención de eventos recurrentes isquémicos en distintos escenarios clínicos, como en la cardiopatía isquémica, en la enfermedad arterial periférica o en la patología cerebrovascular. Actualmente existen 2 grupos principales de fármacos antiagregantes orales cuyo uso se recomienda en las guías de práctica clínica en pacientes con cardiopatía isquémica: a) un inhibidor de la ciclooxigenasa (COX)-1, el ácido acetilsalicílico (AAS); y b) antagonistas del receptor plaquetario P2Y₁₂ de adenosín difosfato (ADP): ticlopidina, clopidogrel, prasugrel y ticagrelor (2).

Es importante resaltar que, desde un punto de vista farmacodinámico, no todos los pacientes presentan la misma respuesta a una determinada dosis de un antiagregante oral. Esta variabilidad de respuesta puede condicionar una asociación entre la respuesta subóptima al fármaco y eventos cardiovasculares isquémicos (ampliamente demostrado en el caso del clopidogrel), lo que refleja la trascendencia de este fenómeno. Se han identificado diferentes mecanismos que pueden influir en la variabilidad de respuestas a los antiagregantes, que pueden agruparse en factores genéticos, celulares y clínicos (3).

El objetivo del presente documento es repasar de manera somera cómo se ve afectada la eficacia farmacológica y clínica de los fármacos antiagregantes más usados (AAS e inhibidores P2Y₁₂) por ciertas características clínicas, como la presencia de diabetes mellitus (DM), la obesidad o la edad avanzada. Además de repasar la evidencia existente, se aportarán una serie de recomendaciones eminentemente prácticas para el manejo clínico del tratamiento antiagregante en estos pacientes. Por motivos de extensión, no se comentarán otros fármacos orales con acción antiagregante como los inhibidores de fosfodiesterasas, sin indicación formal en cardiopatía isquémica, o el vorapaxar, un inhibidor selectivo del receptor de trombina PAR-1 que no se usa en nuestro medio.

Antiagregantes plaquetarios orales y diabetes mellitus

La DM se asocia a un aumento importante del riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares debido a una arteriosclerosis acelerada. Además, en pacientes con enfermedad arteriosclerótica establecida, como es el caso de la cardiopatía isquémica, la presencia de DM es un factor pronóstico importante. Es un predictor independiente de eventos isquémicos recurrentes a corto y largo plazo, incluyendo la mortalidad (4). Las plaquetas en la DM (“la plaqueta diabética”) se caracterizan por ser hiperreactivas, con una intensificación de los procesos de adhesión, activación y agregación. Múltiples mecanismos –varios de ellos estrechamente relacionados entre sí– contribuyen a esta disfunción plaquetar característica de los pacientes diabéticos y pueden ser agrupados como debidos principalmente a una de las siguientes condiciones: hiperglucemia, deficiencia de acción de la insulina, condiciones metabólicas asociadas y anomalías celulares (plaquetas y células endoteliales) (4) (Fig. 1). En conjunto, las alteraciones metabólicas y celulares características de la DM conducen a un fenotipo de hiperreactividad o hiperagregabilidad plaquetar y a una peor respuesta a los fármacos antiagregantes orales, lo que contribuye al impacto pronóstico de la DM en los pacientes con enfermedad cardiovascular arteriosclerótica.

El AAS inhibe la formación de tromboxano A₂, un mediador potente de la fase de activación plaquetar, al bloquear de manera irreversible la enzima COX-1 mediante la acetilación selectiva de un residuo de serina (2). AAS es todavía el fármaco más usado en prevención secundaria de eventos isquémicos para cualquier escenario de pacientes con enfermedad arteriosclerótica, incluyendo a los sujetos con DM. Aunque el fenómeno de “resistencia” o respuesta subóptima a AAS es infrecuente (< 5%), cuando se usan pruebas de función plaquetar específicas para COX-1 sí se ha evidenciado en repetidas ocasiones que los pacientes con DM presentan una peor respuesta al fármaco comparados con los no diabéticos, fundamentalmente cuando se usan test no específicos para COX-1, lo que podría reflejar un impacto sobre los efectos del AAS independientes de la vía COX-1 (5). Los mecanismos que pueden contribuir de forma más directa a una menor respuesta a AAS en pacientes diabéticos son: disminución de la acetilación mediada por AAS debido a hiperglucemia, aumento de la síntesis de tromboxano A₂ y un recambio plaquetar acelerado (4). Esto último provocaría un aumento del número de plaquetas jóvenes generadas diariamente sin haber sido inhibidas por AAS (administrada una vez al día). Este aspecto es la base para la hipótesis de que la administración de AAS cada 12 horas per-

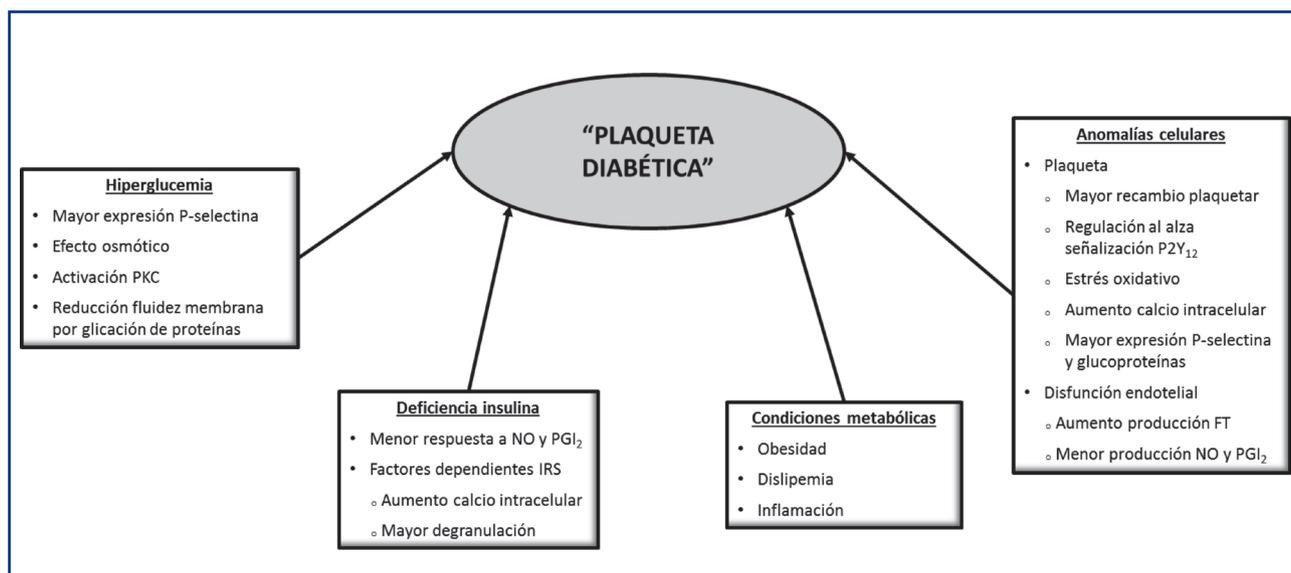


Figura 1. Mecanismos implicados en la hiperreactividad plaquetar en pacientes con diabetes *mellitus* (FT: factor tisular; IRS: sustrato del receptor de insulina; NO: óxido nítrico; PGI₂: prostaciclina; PKC: proteína quinasa C).

mitiría optimizar su eficacia en pacientes con DM. Esta estrategia parece más recomendable que aumentar la dosis de AAS, ya que en cardiopatía isquémica se aconseja el uso de dosis bajas de AAS (75-150 mg/día), puesto que el empleo de dosis altas no parece aumentar el beneficio y sí el riesgo de sangrado (6). La administración cada 12 horas de AAS mejora la respuesta al fármaco en pacientes con DM (7), aunque esta estrategia, pese a ser atractiva conceptualmente, no se ha implementado en la práctica al no haber estudios clínicos a gran escala que demuestren su eficacia. A este respecto, en la actualidad está en marcha el estudio AN-DAMAN (NCT02520921), que evaluará en pacientes con DM y un síndrome coronario agudo (SCA) el beneficio de administrar

AAS 100 mg / 12 h y que aportará una evidencia importante para determinar la posible utilidad futura de esta estrategia.

La doble antiagregación plaquetaria (DAP), que consiste en la asociación de AAS y un antagonista del receptor plaquetario P2Y₁₂, es el tratamiento antitrombótico de elección tras un SCA o un intervencionismo coronario percutáneo (ICP). Los inhibidores del receptor P2Y₁₂ más empleados en la actualidad son clopidogrel, prasugrel y ticagrelor. Las características farmacológicas de estos agentes se resumen en la [tabla 1](#). Las tienopiridinas (clopidogrel y prasugrel) requieren metabolización hepática para convertirse en un metabolito activo, que es el que inhibe de manera irreversible el receptor P2Y₁₂, involucrado en la am-

Tabla 1. Antagonistas orales del receptor P2Y₁₂

	Clodogrel	Prasugrel	Ticagrelor
Grupo farmacológico	Tienopiridina	Tienopiridina	Ciclopentiltriazolopirimidina
Dosis	DC: 300-600 mg DM: 75 mg/día	DC: 60 mg DM: 10 mg/día*	DC: 180 mg DM: 90 o 60 mg / 12 ht
Biodisponibilidad	Profármaco	Profármaco	Acción directa
Unión al receptor	Irreversible	Irreversible	Reversible
Inicio de acción tras la dosis de carga	2-6 horas	30 min – 2 horas	30 min – 2 horas
Duración del efecto	3-10 días	7-10 días	3-5 días

DC: dosis de carga; DM: dosis de mantenimiento,

*La dosis de mantenimiento reducida de 5 mg/día se utiliza en pacientes de bajo peso (60 kg) o edad avanzada (≥ 75 años).

†Según indicación: se utiliza la dosis de 90 mg / 12 h tras un síndrome coronario agudo y la de 60 mg / 12 h para tratamiento ampliado (continuación después del tratamiento inicial de un año con ticagrelor 90 mg u otro inhibidor P2Y₁₂) en pacientes con antecedente de infarto de miocardio y alto riesgo de evento aterotrombótico.

plificación de la agregación plaquetar y en la estabilización del agregado plaquetario (3). Clopidogrel tiene un inicio de acción relativamente lento y una importante variabilidad interindividual de respuesta, lo que condiciona un porcentaje importante de pacientes con respuesta inadecuada al fármaco (10-40%, según el test empleado). Desde el punto de vista farmacodinámico, prasugrel y ticagrelor presentan un inicio de acción más rápido y son fármacos más potentes, con una menor variabilidad de respuesta, y cuentan además con la ventaja de tener un cese de acción más rápido debido a su unión reversible al receptor. Sin embargo, clopidogrel es todavía el inhibidor P2Y12 más usado en nuestro país: es empleado en más indicaciones clínicas que los otros miembros del grupo.

La presencia de DM es uno de los factores clínicos más relevantes que influye negativamente en la respuesta farmacodinámica a clopidogrel. De hecho, numerosos estudios mecanísticos han demostrado una disminución de la respuesta a clopidogrel en pacientes con DM respecto a individuos no diabéticos. En los sujetos con DM, la respuesta a clopidogrel es peor que en los que requieren insulina o en los que presentan un peor control metabólico (4). Cabe recordar que una respuesta inadecuada a clopidogrel (usado en combinación con AAS) se asocia con un aumento de eventos isquémicos en el seguimiento. De hecho, en los ensayos clínicos que han demostrado el beneficio de la DAP en pacientes con SCA o ICP, el subgrupo de pacientes con DM, además de un riesgo aumentado de eventos, tiene un beneficio relativo de la DAP inferior (4). Los mecanismos relacionados con la “plaqueta diabética” que pueden contribuir de forma más específica a una respuesta inadecuada a clopidogrel son: disminución de la respuesta plaquetar a la acción de la insulina, polimorfismos genéticos (como el del IRS-1) que regulan vías de señalización plaquetaria, desregulación del metabolismo del calcio, regulación al alza de la señalización del receptor P2Y12, aumento de la exposición al ADP y un recambio plaquetar acelerado (4).

Debido a las limitaciones del tratamiento con clopidogrel, se han intentado diversas estrategias para conseguir una eficacia farmacodinámica y clínica superior a la conseguida con la DAP (AAS + clopidogrel), entre las que podemos destacar: el uso de una dosis más alta de clopidogrel o la utilización un antagonista P2Y12 más potente. El aumento de la dosis de clopidogrel consigue únicamente una mejoría muy discreta del efecto antiagregante en pacientes diabéticos (4). Además, no se ha demostrado beneficio al usar una dosis más alta de clopidogrel (600 mg de carga y 150 mg/día de mantenimiento durante 1 semana) en pacientes con SCA en los que se realizaba manejo invasivo (8).

La estrategia exitosa, en cambio, ha resultado ser el desarrollo de nuevos fármacos bloqueadores del receptor P2Y12 como prasugrel y ticagrelor, que tienen en común poseer una más rápida y mayor capacidad inhibitoria de la agregación plaquetar y con una menor variabilidad de respuesta que clopidogrel. Este beneficio farmacodinámico se traduce en una mayor eficacia de estos fármacos en cuanto a prevención de eventos isquémicos en el contexto del SCA a costa de un ligero aumento del riesgo hemorrágico (9,10). En los subgrupos de pacientes con DM de estos ensayos se ha objetivado también un beneficio claro del uso de los inhibidores P2Y12 potentes comparados con clopido-

grel, por lo que puede concluirse que prasugrel y ticagrelor consiguen un beneficio clínico superior en los pacientes con SCA y DM, aunque siempre se ha de considerar el equilibrio entre beneficio y riesgo. No parece haber diferencias farmacodinámicas relevantes entre ambos fármacos en pacientes con DM sin tener estudios clínicos a gran escala que los hayan comparado directamente. Sin embargo, en la práctica clínica se usa bastante más ticagrelor por poseer una indicación más amplia y no presentar la limitación de tener que conocer la anatomía coronaria para ser administrado (11).

Antiagregantes plaquetarios orales y obesidad

La epidemia global de obesidad es un problema importante de salud; en concreto, empeora claramente el perfil de riesgo cardiovascular de los pacientes, en parte también por las comorbilidades asociadas (hipertensión, DM, etc.) (12). La obesidad se ha asociado con una peor respuesta a los antiagregantes, con varios mecanismos (algunos compartidos con la DM) implicados, como puede ser la resistencia a la acción de la insulina, la reducción de la biodisponibilidad de los fármacos o un recambio plaquetar acelerado (3). En lo que se refiere al AAS, la obesidad se asocia con una reducción de la inhibición de COX-1 cuando se usan las dosis bajas habituales de AAS (13). En este sentido, un análisis reciente de ensayos aleatorizados de AAS en prevención primaria ha proporcionado datos muy interesantes, y ha mostrado que dosis bajas de AAS (70-100 mg) podrían no tener beneficio en pacientes con peso superior a 70 kg, mientras que dosis altas (325 mg) sí resultarían beneficiosas en pacientes de más peso, aunque con la contrapartida de aumentar el riesgo de sangrado. Estos datos parecen sugerir que una aproximación del uso de AAS más individualizada según el peso podría ser de utilidad, valorando nuevamente la posibilidad de una administración 2 veces al día de AAS en pacientes obesos. Sin embargo, se necesitan estudios clínicos especialmente diseñados para evaluar estas hipótesis antes de cambiar nuestra práctica habitual (dosis baja de AAS en prevención secundaria).

En cuanto a los inhibidores P2Y12, numerosos estudios han demostrado una menor inhibición plaquetaria mediada por clopidogrel en pacientes con peso o índice de masa corporal elevados y, en algún caso, se ha observado que un IMC elevado era un predictor independiente de eventos en pacientes con DAP tras un ICP (14). No existe evidencia suficiente para recomendar aumentar la dosis o la frecuencia de administración de clopidogrel en pacientes obesos, por lo que es preferible utilizar un antagonista P2Y12 potente siempre que sea en una indicación aceptada y cuando el equilibrio entre beneficio y riesgo (hemorrágico) así lo aconseje. Algunos estudios han mostrado una discreta reducción de la inhibición plaquetaria mediada por prasugrel en pacientes obesos, aunque este aspecto no ha sido confirmado en otras investigaciones y no se ha apreciado una reducción de la eficacia del fármaco en estudios clínicos. En cuanto a ticagrelor, no hay evidencia de que el peso corporal modifique de manera relevante su efecto farmacodinámico o clínico (15), a lo que puede contribuir que su administración sea cada 12 horas, lo que podría ser beneficioso en este escenario.

Antiagregantes plaquetarios orales y edad avanzada

El colectivo de pacientes de edad avanzada es de especial interés por su difícil manejo, ya que presenta un elevado riesgo de padecer tanto eventos isquémicos como hemorrágicos (16). En pacientes de edad avanzada, la eficacia antiagregante de AAS parece no verse comprometida (17). Sin embargo, sí hay indicios que apuntan a un aumento de los eventos hemorrágicos en pacientes ≥ 75 años que reciben AAS como prevención secundaria; estos sangrados serían mayoritariamente de origen gastrointestinal, por lo que sería aconsejable asociar un inhibidor de la bomba de protones en pacientes añosos (18).

La eficacia farmacológica de clopidogrel está disminuida en pacientes de edad avanzada (19), lo que puede contribuir al aumento de complicaciones isquémicas en estos pacientes, aunque hay que tener en cuenta también la asociación de comorbilidades y de un posible componente de fragilidad que empeoran el pronóstico. Dado que también presentan un riesgo hemorrágico elevado, la utilización de antagonistas P2Y12 potentes debe valorarse cuidadosamente. De hecho, no se ha demostrado un beneficio neto con el uso de prasugrel a la dosis de mantenimiento habitual (10 mg/día) en pacientes de edad avanzada (≥ 75 años) con SCA (9). Pese a haberse postulado el uso de una dosis reducida de prasugrel (5 mg/día) en pacientes ≥ 75 años, basado en resultados de estudios farmacodinámicos, esta estrategia no ha sido validada en estudios clínicos (20). En cuanto a ticagrelor, no se ha observado ninguna modificación en la eficacia y en la seguridad del fármaco causada por la edad (16). Por tanto, en caso de querer usar un antagonista P2Y12 potente en un paciente de edad avanzada (≥ 75 años), ticagrelor parece la opción más razonable, aunque siempre tras una evaluación concienzuda de los riesgos de padecer eventos isquémicos y hemorrágicos en cada sujeto.

Conclusiones

La presencia de DM, obesidad o edad avanzada puede disminuir la eficacia farmacodinámica y clínica de los fármacos antiagregantes orales. Una valoración cuidadosa e individualizada de las características clínicas y de los riesgos de eventos isquémicos y hemorrágicos en cada paciente es absolutamente imprescindible para poder elegir y personalizar el tratamiento antiagregante óptimo en cada caso.

Bibliografía

- Davì G, Patrono C. Platelet activation and atherothrombosis. *N Engl J Med* 2007;357:2482-894.
- Ferreiro JL, Angiolillo DJ. New directions in antiplatelet therapy. *Circ Cardiovasc Interv* 2012;5:433-45.
- Angiolillo DJ, Ferreiro JL. Platelet adenosine diphosphate P2Y12 receptor antagonism: benefits and limitations of current treatment strategies and future directions. *Rev Esp Cardiol* 2010;63:60-76.
- Ferreiro JL, Angiolillo DJ. Diabetes and antiplatelet therapy in acute coronary syndrome. *Circulation* 2011;123:798-813.
- Angiolillo DJ, Fernández-Ortiz A, Bernardo E, et al. Platelet function profiles in patients with type 2 diabetes and coronary artery disease on combined aspirin and clopidogrel treatment. *Diabetes* 2005;54:2430-5.
- Antithrombotic Trialists' Collaboration. Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. *BMJ* 2002;324:71-86.
- Capodanno D, Patel A, Dharmashankar K, et al. Pharmacodynamic effects of different aspirin dosing regimens in type 2 diabetes mellitus patients with coronary artery disease. *Circ Cardiovasc Interv* 2011;4:180-7.
- Mehta SR, Bassand JP, Chrolavicius S, et al. Dose comparisons of clopidogrel and aspirin in acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2010;363:930-42.
- Wiviott SD, Braunwald E, McCabe CH, et al.; TRITON-TIMI 38 Investigators. Prasugrel versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2007;357:2001-15.
- Wallentin L, Becker RC, Budaj A, et al. for the PLATO Investigators. Ticagrelor versus Clopidogrel in Patients with Acute Coronary Syndromes. *N Engl J Med* 2009; 361:1-13.
- Montalescot G, Bolognese L, Dudek D, et al. Pretreatment with prasugrel in non-ST-segment elevation acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2013;369:999-1010.
- Rocca B, Fox KAA, Ajjan RA, et al. Antithrombotic therapy and body mass: an expert position paper of the ESC Working Group on Thrombosis. *Eur Heart J* 2018;39:1672-86f.
- Patrono C, Rocca B. Type 2 Diabetes, Obesity, and Aspirin Responsiveness. *J Am Coll Cardiol* 2017;69:613-5.
- Sarno G, Garg S, Onuma Y, et al. The impact of body mass index on the one year outcomes of patients treated by percutaneous coronary intervention with Biolimus- and Sirolimus-eluting stents (from the LEADERS Trial). *Am J Cardiol* 2010;105:475-9.
- Deharo P, Pankert M, Bonnet G, et al. Body mass index has no impact on platelet inhibition induced by ticagrelor after acute coronary syndrome, conversely to prasugrel. *Int J Cardiol* 2014;176:1200-2.
- Husted S, James S, Becker RC, et al. Ticagrelor versus clopidogrel in elderly patients with acute coronary syndromes: a substudy from the prospective randomized PLATElet inhibition and patient Outcomes (PLATO) trial. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes* 2012;5:680-8.
- Andreotti F, Rocca B, Husted S, et al. Antithrombotic therapy in the elderly: expert position paper of the European Society of Cardiology Working Group on Thrombosis. *Eur Heart J* 2015;36:3238-49.
- Li L, Geraghty OC, Mehta Z, et al. Age-specific risks, severity, time course, and outcome of bleeding on long-term antiplatelet treatment after vascular events: a population-based cohort study. *Lancet* 2017;390:490-9.
- Cuisset T, Quilici J, Grosdidier C, et al. Comparison of platelet reactivity and clopidogrel response in patients ≤ 75 Years Versus > 75 years undergoing percutaneous coronary intervention for non-ST-segment elevation acute coronary syndrome. *Am J Cardiol* 2011;108:1411-6.
- Savonitto S, Ferri LA, Piatti L, et al. Comparison of Reduced-Dose Prasugrel and Standard-Dose Clopidogrel in Elderly Patients with Acute Coronary Syndromes Undergoing Early Percutaneous Revascularization. *Circulation* 2018;137:2435-45.

CS-012. La relación neutrófilo/linfocito y mmp-12 como biomarcadores inflamatorios de riesgo cardiovascular*

Marcos Jubilar M.¹, Pastrana J.C.¹, Orbe J.², Rodríguez J.A.², Roncal C.², Fernández-Montero A.¹, Rodil R.³, Colina I.¹, Montori L., Páramo J.A.⁴

¹Clínica Universidad de Navarra. Pamplona. ²Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA). Centro de Investigación Biomédica en Red (CIBERCV). Instituto de Investigación Sanitaria de Navarra (IdisNa). Pamplona. ³Clínica San Miguel. Pamplona. ⁴Clínica Universidad de Navarra. Centro de Investigación Biomédica en Red (CIBERCV). Instituto de Investigación Sanitaria de Navarra (IdisNa). Pamplona

Introducción

La aterosclerosis se caracteriza por una inflamación crónica vascular con participación leucocitaria. Se ha demostrado que una alteración en la relación de neutrófilos y linfocitos secundaria a la inflamación crónica se asocia con la presencia de enfermedad aterosclerótica. Asimismo, se ha detectado un papel central de la MMP-12 en procesos inflamatorios agudos y crónicos. El objetivo es evaluar ambos marcadores y su relación con la enfermedad aterotrombótica.

Material y métodos

Estudio transversal en el que se incluyeron 240 pacientes; edad media: 67 años (rango 45-90 años), 71,2% varones. En todos ellos se recogieron parámetros de riesgo cardiovascular y eventos clínicos aterotrombóticos (infarto de miocardio, ictus isquémico y enfermedad arterial periférica). Un 70,5% de los sujetos estaban asintomáticos y 29,5% de los sujetos tenían antecedentes de evento aterotrombótico. En todos ellos se determinaron los niveles circulantes de cociente neutrófilo/linfocito y la PCR mediante autoanalizadores, la MMP-12 mediante técnica ELISA y la presencia de placas ateroscleróticas mediante ecografía. El estudio se realizó a través de muestras de Biobanco (Universidad de Navarra) y contó con la aprobación del comité ético. Se anali-

zó estadísticamente la asociación de los diversos marcadores con la presencia de placas y evento clínico.

Resultados

Se observaron diferencias en la ratio neutrófilo/linfocito (NLR) entre los pacientes con y sin eventos clínicos (2,58 frente a 2, $p = 0,016$), así como diferencias en la concentración de MMP-12 entre ambos grupos (510 pg/ml frente a 387 pg/ml, $p = 0,019$). Existe una correlación positiva entre NLR y los niveles de MMP-12 ($r = 0,34$; $p < 0,001$). Aunque no se observaron diferencias del NLR según el número de placas presentes, aquellos pacientes con un espesor de IMT $> 0,9$ en carótida izquierda presentaban un incremento en el NLR (2,36 frente a 2, $p = 0,048$), sin variaciones en los niveles de MMP12 (459 pg/ml frente a 414 pg/ml). Asimismo, se observó una correlación positiva entre la PCR y la NLR ($r = 0,3$, $p < 0,001$), así como con la MMP-12 ($r = 0,23$, $r < 0,001$).

Conclusiones

El cociente neutrófilos/linfocitos, así como la concentración de MMP12 sérica, pueden ser biomarcadores sencillos y útiles para valorar la inflamación crónica presente en pacientes con aterotrombosis y con significado pronóstico.

*Comunicación oral seleccionada para simposio.

Aspectos prácticos del tratamiento antitrombótico

COORDINADORES: Dr. Jorge Cuesta Tovar. Complejo Hospitalario de Toledo. Toledo
Dr. Santiago Bonanad Boix. Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia

El tratamiento antitrombótico es un proceso multidisciplinar con varias vías de trabajo en las que el hematólogo está implicado; unas, inherentes al manejo diagnóstico terapéutico, en el que es una referencia a la hora de decidir el tipo de anticoagulante a elegir en función de la patología tromboembólica y del “factor paciente”, con determinadas características que hacen de la individualización un factor concluyente en el éxito del tratamiento antitrombótico. Por otro lado, el hematólogo también tiene valor en el seguimiento del tratamiento específico del paciente, unos con fármacos anti vitamina k con controles frecuentes, en los que tiene un papel clave en la formación de los pacientes, inicios, atención a complicaciones y situaciones especiales, y otros, los derivados del tratamiento con HBPM o ACOD, con formación, controles y complicaciones que precisan ajustes.

En este simposio se abordan preguntas habituales del hematólogo en la consulta. En primer lugar, se valorará la evidencia científica del protocolo periprocedimiento consensuado por la SEHH y la SETH con muchas sociedades científicas, clave para el manejo habitual del paciente anticoagulado.

Otra de las preguntas habituales en consulta es la duración del tratamiento y su intensidad. Para eso es necesario conocer el riesgo de recurrencia del evento tromboembólico en cada paciente, en cada patología y en cada situación especial. Por eso, conocer la epidemiología, los metaanálisis y, en general, la evidencia, es clave para tomar esas decisiones que conllevan riesgos y beneficios en los pacientes.

El proceso del tratamiento antitrombótico ha ido cambiando en los últimos años, con nuevos tratamientos implicados –como los ACOD–, un uso más extenso de la profilaxis antitrombótica en la mujer y en el embarazo y un aumento de pacientes anticoagulados por realizar profilaxis antitrombótica en pacientes cada vez más mayores y con más complicaciones médicas.

El papel del hematólogo debe acoplarse a los cambios y prepararse para el futuro, como para la creación de las unidades de tratamiento antitrombótico, que asuman decisiones clínicas, el manejo de situaciones especiales y se conviertan en la referencia hospitalaria y del área de salud. Para eso, el trabajo coordinado con otras especialidades médicas y quirúrgicas y la coordinación con atención primaria son claves estratégicas en el manejo de los pacientes en tratamiento antitrombótico. El papel de los comités-comisiones de trombosis puede jugar un papel clave en esa coordinación.

En ese manejo especial que comentábamos previamente destacan los pacientes mayores, los frágiles, con aumento del riesgo trombótico y hemorrágico. Revisaremos la experiencia de uso de ACOD en cuanto efectividad y seguridad en fibrilación auricular no valvular. Ha sido la comunicación elegida para ser presentada este simposio. Caben destacar los datos de seguridad del uso de ACOD y la incidencia de complicaciones trombóticas solo en el subgrupo de pacientes con dosis reducidas que en este estudio era el mayoritario, dadas las características de los pacientes.

Papel global del hematólogo en el proceso del tratamiento antitrombótico

Cuesta Tovar J, Rodríguez Alén A

Servicio Hematología. Complejo Hospitalario de Toledo. Toledo

Introducción

Dentro de las funciones del hematólogo (laboratorio de hematología, patología clínica y hemoterapia) existe actividad transversal, como la derivada de la patología trombótica y, en especial, del tratamiento antitrombótico.

Siendo estrictos con la actividad del hematólogo en relación al tratamiento antitrombótico, en nuestro programa formativo de la especialidad de hematología y hemoterapia (elaborado por la Comisión Nacional de la Especialidad y publicado en el Boletín Oficial del Estado, orden SCO/3254/2006, de 2 de octubre) figuran actividades asistenciales y contenidos específicos. Desde el año 2006 se han observado cambios y avances que deben ser incorporados a la formación del hematólogo.

Con los cambios sucedidos en los últimos años parece que dentro de las actividades asistenciales y de los contenidos deberían añadirse los derivados del uso de nuevos anticoagulantes de acción directa (ACOD) (1), con nuevos test de laboratorio y nuevas indicaciones de anticoagulación y combinación con antiagregantes. Asimismo, han ido incorporándose nuevos modelos de gestión del tratamiento anticoagulante oral, saliendo de los grandes centros hospitalarios y acercándose al paciente a través de la atención primaria (2). Hay que tener en cuenta nuevos test globales de coagulación, nuevas técnicas genómicas: Next Generation Sequencing (NGS) en la tipificación de trombopatías y trombopenias hereditarias, el estudio de la enfermedad de Von Willebrand y en hemofilia.

El hematólogo desempeña en nuestro país funciones transversales relacionadas con el tratamiento antitrombótico:

En el nivel hospitalario

- *Laboratorio de coagulación* con la valoración de estudios basales. Coordinación de pruebas especiales, filtrado de indicación de estudios de trombofilia, anticoagulante lúpico o dosificación factorial.
- *Consulta externa de anticoagulación:*

Dosificación de controles de anticoagulantes intravenosos u orales

La situación actual en España del manejo de los pacientes anticoagulados es variada según las áreas de salud, desde un punto de vista histórico y según comunidades autónomas. Se han adoptado diversas formas de descentralización del control del tratamiento anticoagulante oral con antivitaminas K (AVK) desde los centros hospitalarios a atención primaria, coexistiendo en este momento diversos tipos (Tabla I).

Tabla I. Tipos de control y dosificación en terapia anticoagulante con AVK

1. Control digital en atención primaria y dosificación por atención primaria
2. Control digital en atención primaria con dosificación por atención primaria y por atención especializada dependiendo del perfil trombótico y hemorrágico del paciente
3. Control digital en atención primaria y dosificación por especializada
4. Control venoso en atención especializada por determinadas características del paciente (pacientes anticoagulados con síndrome antifosfolípido [SAF], trombopenia) con dosificación en especializada
5. Control digital por el propio paciente con dosificación por atención primaria o especializada (autoanálisis)
6. Control digital y dosificación por el propio paciente con supervisión periódica por especializada (tras un periodo de formación) con posibilidad de comunicación bidireccional (autocontrol)

Así, se estima que, en España, atención Primaria controla un 75% de las dosificaciones de anticoagulación de los 800 000 pacientes anticoagulados (3,4). Los estudios de calidad de anticoagulación realizados en pacientes con fibrilación auricular reflejan pacientes anticoagulados con AVK con un tiempo en rango terapéutico (TRT) en torno al 55-65% (5,6). Los estudios de calidad varían según el país de realización o, incluso dentro de España, según las áreas, los hospitales o los centros de salud.

Valoración de inicios de anticoagulación, complicaciones hemorrágicas y trombóticas

- Consulta externa clínica: valoración de pacientes con tromboembolismo pulmonar (TEP) y trombosis venosa profunda (TVP) para diagnóstico, tipo y duración de tratamiento.
- Asistencia clínica hospitalaria: valoración de pacientes ingresados con problemática hemorrágica, trombótica, de diagnóstico o de manejo terapéutico.

En el nivel de atención primaria

- Derivación de pacientes a la consulta externa.
- Derivación de controles de anticoagulación.

- Coordinación de protocolos: de manejo clínico de pacientes con TEP o TVP, de anticoagulación y antiagregación (incluyendo perioperatorio o periprocedimiento y situaciones especiales) y protocolos con servicios clínicos específicos como Digestivo, Ginecología y Obstetricia, etc.

Habitualmente en esa vorágine de trabajo falta tiempo para poder valorar la efectividad del trabajo realizado:

- En la actividad derivada de los controles de anticoagulación con AVK (número de pacientes con controles en rango terapéutico, número y tipo de complicaciones hemorrágicas o trombóticas).
- En los resultados clínicos de las decisiones tomadas en el manejo diagnóstico terapéutico de pacientes.
- En la coordinación de determinadas patologías o procesos con otros servicios hospitalarios y con atención primaria.

Muchos frentes de trabajo, que según el tipo de servicio de hematología y del centro hospitalario, se han ido “liberando” a otras especialidades, abandonando el papel de liderazgo del manejo de los pacientes con tratamiento anticoagulante o antiagregante, el papel de control sobre el laboratorio de hemostasia y de las pruebas correspondientes o el papel de seguimiento clínico tanto diagnóstico y terapéutico de pacientes con patología trombótica.

La aparición de nuevos tratamientos antitrombóticos con cambios en el paradigma de anticoagulación clásica con AVK ha llevado a que las consultas de anticoagulación de pacientes tengan actualmente que jugar una nueva función como unidades de tratamiento antitrombótico (UTA). Ese cambio debe reforzarse en todos los centros hospitalarios.

Situación ideal del hematólogo respecto al tratamiento antitrombótico

Trabajo en unidades de tratamiento antitrombótico

- Valoración del paciente que precisa anticoagulación. Según indicación propia o de otro facultativo, según características específicas del paciente (situaciones de alto riesgo trombótico o hemorrágico con aplicación de escalas de valoración CHA₂DS₂VASc en fibrilación auricular (Tabla II) o HAS-BLED (Tabla III)), insuficiencia renal, anemia, episodios previos de sangrado o episodios previos trombóticos, embarazo, cáncer), según los fármacos con los que podría interaccionar (de los que el paciente está o podría estar bajo tratamiento).
- Valoración del tipo de anticoagulante a recibir según el perfil del paciente, patología, complicaciones previas y ajuste de dosis necesario según ficha técnica. La revisión de los pacientes derivados de otros especialistas en el inicio de tratamiento con ACOD (Tabla IV) es clave para que el tratamiento se realice de forma adecuada por el paciente y cuidadores, con adecuado cumplimiento y adherencia, y que se revise periódicamente al paciente, ya que las interacciones medicamentosas, la función renal o hepática y los

Tabla II. Escala CHA₂DS₂VASc

Factor de riesgo	Puntuación	CHA ₂ DS ₂ VASc Puntuación	Riesgo anual de ACVA (%)
Insuficiencia cardíaca	1	0	0
HTA	1	1	1,3
Edad ≥ 75	2	2	2,2
Diabetes	1	3	3,2
ACVA	2	4	4,0
Patología vascular (IAM, enfermedad vascular periférica, placa aórtica)	1	5	6,7
Edad 65-74	1	6	9,8
Sexo (mujer)	1	7	9,6
		8	6,7
		9	15,2

Lip GY, Nieuwlaar R, Pisters R, et al. Refining clinical risk stratification for predicting stroke and thromboembolism in atrial fibrillation using a novel risk factor-based approach: the Euro Heart Survey on atrial fibrillation. Chest 2010;137:263-72.

posibles efectos adversos de la medicación anticoagulante oral son claves para el correcto ajuste, el cumplimiento y el éxito del tratamiento.

- Información y formación del paciente y de sus cuidadores. Implementación de rol de enfermería: tipo de anticoagulante, posología, monitorización si se precisa, procedimientos invasivos, dieta, posibles complicaciones y efectos adversos. Documentación al paciente por escrito. Existen recomendaciones claras por la European Heart Rate Association (EHRA) (7) y por la American Society of Hematology (ASH) (8) sobre el tipo de seguimiento del tratamiento anticoagulante con ACOD con visitas regladas, con refuerzos sobre la adherencia, investigación de posibles efectos adversos y revisión de la medicación concomitante. Enfermería es clave en la UTA y en atención primaria y debe “especializarse” en conocimientos sobre los diferentes tratamientos, controles, interacciones, procedimientos invasivos/cirugía y en la formación del paciente.
- Control posterior al inicio de la anticoagulación con valoración por enfermería o por el médico si se precisa de complicaciones hemorrágicas, interacciones y confirmación de adherencia.
- Coordinación con atención primaria para el control y la dosificación de determinados pacientes con alto riesgo trombótico o hemorrágico (Tabla V). Los controles pueden ser directa-

Tabla III. Escala Hasbled	
Hipertensión (TAS > 160 mmHg)	1 punto
Anormal funcionamiento renal/hepático	1-2 puntos
ACVA (Stroke)	1 punto
Historia hemorrágica (<i>bleeding history</i>)	1 punto
INR lábil (Labil INR)	1 punto
Mayor de 65 años (Elderly)	1 punto
Medicamentos (<i>drugs</i>): AAS, AINES, alcohol	1-2 puntos

Número de puntos en la escala HASBLED

Número de sangrados por cada 100 pacientes/año

Score	Color	Relative Risk Level
0	Blue	Lowest
1	Orange	Low
2	Grey	Low-Medium
3	Yellow	Medium
4	Dark Blue	High
5	Green	Highest

Pisters R, Lane DA, Nieuwlaat R, et al. A novel user-friendly score (HAS-BLED) to assess one-year risk of major bleeding in atrial fibrillation patients: the Euro Heart Survey. *Chest* 2010;138(5):1093-100.

mente con el paciente o descentralizados con derivación telemática de resultados analíticos de análisis capilar con datos informativos de incidentes, medicación o efectos adversos.

Tras los periodos en atención en la UTA, el control debe transferirse a atención primaria en aquellos pacientes sin factores de riesgo con instrucciones de manejo y control.

- Existe un amplio grupo de pacientes en los que la mejora de la gestión de su anticoagulación con AVK es claramente mejorable y debe ser abordada con acciones específicas. Formación del personal que atiende al paciente y del propio paciente, pautas de seguimiento, ajuste de la dosificación, revisión de interacciones, implicación de los cuidadores del paciente o plantear el paso a ACOD. El hematólogo no debe asistir a controles inadecuados con el único objetivo de la dosificación puntual sin toma de decisiones sobre la correcta anticoagulación del paciente y valorar otras posibilidades de manejo terapéutico. Debe “capturar” a ese paciente mal anticoagulado con AVK y revertir la situación y/o valorar paso a ACOD si lo precisa.

- Implantación de autocontrol en la mayor parte de pacientes posible en tratamiento con AVK, con lo que supone de cursos de formación, circuito de consultas y posibilidad de autodosificación. El *patient self management* (PSM) en anticoagulación se ha contemplado en diferentes estudios como el manejo con mejor tiempo en rango terapéutico (9-11) y el que menos complicaciones hemorrágicas y trombóticas ha presentado, aunque no ha podido demostrarse aumento de la supervivencia en comparativas con otros sistemas de gestión de la anticoagulación. Además, ha demostrado eficiencia, y desde el punto de vista del paciente, mejora de su calidad de vida y satisfacción.

Es una apuesta de futuro en nuestro sistema nacional de salud limitado por su financiación, al que ha ido accediéndose de manera casi investigacional al principio, luego asistencial, a pequeña escala en diferentes áreas y que, en la actualidad, se trata de un problema que debe ser abordado de forma estratégica por las diferentes comunidades autónomas.

Tabla IV. Indicaciones de uso de anticoagulantes orales directos en FA**Situaciones en pacientes con fibrilación auricular no valvular en las que los ACOD pueden considerarse una opción terapéutica en el marco del SNS**

- Pacientes con hipersensibilidad conocida o con contraindicación específica al uso de acenocumarol o warfarina
- Pacientes con antecedentes de hemorragia intracraneal (HIC)
- Pacientes con ictus isquémico que presenten criterios clínicos y de neuroimagen de alto riesgo de HIC
- Pacientes en tratamiento con AVK que sufren episodios tromboembólicos arteriales graves a pesar de un buen control de INR
- Pacientes que han iniciado tratamiento con AVK en los que no es posible mantener un control de INR dentro de rango (2-3), a pesar de un buen cumplimiento terapéutico. Se considerará que el control de INR es subóptimo cuando el porcentaje de tiempo en rango terapéutico (TRT) sea inferior al 65%, calculado por el método de Rosendaal o el porcentaje de valores de INR dentro de rango terapéutico (TRT directo) sea inferior al 60%.
- Imposibilidad de acceso al control de INR convencional

Criterios para el uso de anticoagulantes orales

1. Presencia de fibrilación auricular no valvular con indicación de tratamiento anticoagulante (ver sección 3)
2. Ausencia de contraindicaciones generales para anticoagulación (ver sección 4.3)
3. Presencia de al menos una de las situaciones clínicas que se detallan en las secciones 4.2.1 o 4.2.2
4. Ausencia de contraindicaciones específicas para los anticoagulantes orales directos (tabla I, referencias 4, 6, 8 y 10)
5. Capacidad para entender el riesgo-beneficio de la anticoagulación y/o con atención familiar/social que lo entienda
6. Historia de buen cumplimiento terapéutico previo que permita prever de forma razonable la buena adaptación a las instrucciones del nuevo tratamiento (ver secciones 5.1 y 5.2)
7. Posibilidad fiable de seguimiento periódico de los controles que sean necesarios (clínicos, seguimiento de la función renal; ver sección 5.2)

Informe de posicionamiento terapéutico UT ACOD/V5/21112016.

Criterios y recomendaciones generales para el uso de los anticoagulantes orales directos (ACOD) en la prevención del ictus y la embolia sistémica en pacientes con fibrilación auricular no valvular. Fecha de publicación: 21 de noviembre de 2016.

Fuente: Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMS).

Tabla V. Criterios de dosificación por especializada de pacientes en tratamiento con AVK

Inicio de pauta hasta estabilización y separación/estabilidad de controles

Durante determinado tiempo debido a interacciones medicamentosas o periodos periprocedimiento o pericirugía complejos

Incapacidad de alcanzar controles en rango terapéutico

Procedimientos de cambio del tipo de anticoagulante oral

Valoración y seguimiento del paciente "complejo":

- Con patologías asociadas que dificulten la anticoagulación por el aumento del riesgo hemorrágico: insuficiencia renal, trombopenia, hipertensión portal, embarazo, combinación de tratamiento antiagregante y anticoagulante, reinicio tras complicaciones hemorrágicas.
- Con patologías de alto riesgo trombótico: trombofilia, embarazo, cáncer, patología médica de alto riesgo como el SAF, trombosis de repetición, trombosis en lugares inusuales.

Tabla VI. Funciones del comité/comisión de trombosis

Organización de procesos: TVP, TEP

Estudio y propuesta hospitalaria de profilaxis antitrombótica con auditoría del mismo

Protocolización de la anticoagulación y antiagregación del centro. Protocolización de la reversión urgente con determinados fármacos específicos como el idarucizumab (reversión de dabigatrán)

Protocolo perioperatorio o periprocedimiento en pacientes antiagregados o anticoagulados

Protocolos específicos de tratamiento antitrombótico en poblaciones especiales como embarazo y puerperio, paciente con cáncer, paciente con alto riesgo hemorrágico

Estudio de las indicaciones y uso de los estudios de trombofilia

Revisión de la calidad de los controles de anticoagulación en el centro y área de salud y consecuencias clínicas adversas tromboembólicas y hemorrágicas

Las principales barreras que presenta son:

- Suministro del aparataje necesario.
- Consumo de tiras reactivas, ya que el control se realiza de forma habitual de forma semanal.
- Fase de formación al inicio, con consumo de tiempo por parte del enfermero y del facultativo.
- Limitaciones informáticas y de seguridad de tratamiento de datos personales.

El número total de pacientes subsidiarios de autocontrol estaría en torno al 25-30% de los pacientes anticoagulados (12). Es una gran oportunidad para el "rol del paciente", donde la implicación del paciente recién diagnosticado y propuesto para anticoagular es básica para obtener buenos resultados, reforzado con la necesaria formación y seguimiento de enfermería, la información escrita, las vías de acceso telefónico o presencial a personal especializado (UTA). Hay que implicar al paciente en su propia enfermedad y en la adherencia al método de protección de eventos trombóticos, como la anticoagulación, y en el sistema de mantenimiento de buenos resultados con INR en rango terapéutico.

En España el grado de implantación de pacientes en autocontrol es todavía muy bajo. Se estima que el número de pacientes sea de unos 5000-6000, muy por debajo de otros países de nuestro entorno.

Otra posibilidad que facilita la vida a los pacientes es el autoanálisis (*patient self testing*, PST), en el que el paciente se realiza la medición del INR capilar en su domicilio y deriva el resultado a atención primaria o especializada vía telemática y posteriormente recibe la pauta anticoagulante vía informática o telefónica. La aplicación de las nuevas tecnologías facilitará en el futuro esta variedad de control.

- Evaluación de la eficacia de los tratamientos realizados:
 - Control de calidad de los controles de anticoagulación:
 - > derivados desde atención primaria,
 - > aquellos realizados en el área de salud,
 - > los realizados en la consulta de anticoagulación o en el centro hospitalario.
 - Valoración del número y del tipo de pacientes derivados desde atención primaria por no cumplir correctamente el tratamiento anticoagulante o porque sus tiempos en rango terapéutico sean de baja calidad, lo que posibilita la aparición de efectos adversos tromboembólicos/ hemorrágicos.

Trabajo en la consulta externa de hematología-coagulación

La atención al paciente con enfermedad tromboembólica puede protocolizarse desde su atención en el servicio de urgencias o desde el ingreso hospitalario. Se valorarán:

- Historia clínica, familiar y personal de trombosis.
- Pruebas realizadas.
- Diagnóstico.
- Factores trombofílicos hereditarios y los adquiridos si procede. Medicaciones concomitantes.

- Programación de pruebas a realizar, el tipo de anticoagulación y su duración.

Son de especial interés para el seguimiento por el hematólogo:

- Pacientes jóvenes con ETV sin desencadenante.
- Pacientes con trombofilia familiar conocida.
- Pacientes con trombofilia adquirida de alta incidencia trombótica como es el SAF y las relacionadas con el embarazo.
- Pacientes con cáncer. Suponen un especial manejo terapéutico por las interacciones medicamentosas, la intolerancia oral, los efectos hepáticos de la enfermedad en sí o del tratamiento y la posible toxicidad en forma de trombopenia.
- - Pacientes con trombosis de repetición o trombosis en lugares inusuales

En caso de ser una ETV secundaria a un factor conocido o con escaso riesgo trombótico puede protocolizarse otro circuito del paciente con intervención de otros especialistas.

Trabajo en el laboratorio de hemostasia

La gestión del laboratorio, junto a la valiosa y necesaria interpretación de resultados para el resto de médicos solicitantes, sigue ofreciendo al hematólogo un campo de trabajo que no puede ser derivado o liberado.

- Elección de técnicas, reactivos, valoración de controles de calidad internos y externos y recomendaciones o ampliación de pruebas sobre estudios basales alterados. Asimismo, en las pruebas especiales de coagulación existirá un informe valorativo de las mismas en base a criterios de la ISTH, sus subcomités o de la SETH. El valor de la interpretación de las pruebas en función de la edad, el sexo, la patología, el momento de realización del test y la medicación concomitante son fundamentales para un correcto diagnóstico, no realizar pruebas no indicadas, evitar repetición innecesaria de test e interpretación por el resto de facultativos solicitantes.
- Controles de anticoagulación oral con AVK o de medicación intravenosa o subcutánea con heparina.

Trabajo en la asistencia de pacientes ingresados

- Atención al paciente con enfermedad tromboembólica compleja (alto riesgo trombótico, alto riesgo hemorrágico). Inicios de tratamiento anticoagulante intravenoso, subcutáneo u oral.
- Valoración de complicaciones hemorrágicas o trombóticas.
- Pacientes con patología trombótica con características especiales, como insuficiencia renal o hepática, trombopenia o anemia, pacientes con cáncer, pacientes con medicación concomitante con alto riesgo de interacciones, mujeres embarazadas o puérperas.

Trabajo en la coordinación del tratamiento antitrombótico

- En el centro hospitalario debe participar o dirigir el comité de trombosis. Debe constituirse desde la dirección del centro con la participación de varios servicios implicados donde pueden trabajarse protocolos de manejo de patología tromboembólica (Tabla VI):
- Valoración del circuito de los controles de anticoagulación del centro. Es un proceso que afecta a la enfermería de hospitalización, al laboratorio de hematología, a los técnicos de laboratorio, al programa informático de anticoagulación y al hematólogo.
- Establecimiento de circuitos de pacientes con patología tromboembólica con otros servicios hospitalarios desde el diagnóstico hasta su revisión en consulta externa y posterior seguimiento tras haber sido manejados por diferentes servicios del centro.
- Debe colaborar de forma periódica con atención primaria para la valoración del tiempo en rango terapéutico de los pacientes anticoagulados con AVK, tanto los realizados por el servicio de hematología como los controles del área, las complicaciones hemorrágicas y las complicaciones trombóticas (13).

Otras actividades del hematólogo en el proceso tratamiento antitrombótico

- Formación de residentes, tanto de futuros hematólogos como de residentes de otros servicios:
 - Proceso de laboratorio. Gestión de pruebas y controles.
 - Organización de circuitos de atención al paciente y los controles de anticoagulación.
 - Proceso clínico de diagnóstico, manejo terapéutico, dosificación de controles de anticoagulación oral, decisión de la duración del tratamiento anticoagulante o de las interacciones de la anticoagulación con la antiagregación.

Conclusiones

El hematólogo es el médico más indicado para liderar el proceso del tratamiento antitrombótico desde la UTA (1), estudiar desde el punto de vista del laboratorio al paciente, tratarlo según diagnóstico y alteraciones, informar y formar al paciente sobre el tratamiento y las posibles complicaciones, coordinar a los diferentes intervinientes en el proceso y controlar resultados clínicos sobre la dosificación y sobre la propia enfermedad.

Es clave la coordinación con enfermería, tanto hospitalaria como de atención primaria, para la formación del paciente, la protocolización de actuaciones ante diferentes eventos clínicos y con el médico de atención primaria para la derivación de determinados perfiles de pacientes y situaciones clínicas para atención en la UTA.

La coordinación de actuaciones a nivel hospitalario debe realizarse de forma transversal, interservicios mediante un comité/comisión de trombosis.

Conflicto de intereses

El Dr. Cuesta ha trabajado como asesor de Boehringer Ingelheim y ha sido ponente en sesiones organizadas por Bayer, Boehringer Ingelheim, Daichii Sankyo, Pfizer y Bristol-Myers Squibb, Rovi y Sanofi.

El Dr. Rodríguez Alén ha sido ponente en sesiones científicas organizadas por Boehringer Ingelheim, Daichii Sankyo, Pfizer y Bristol-Myers Squibb, Rovi y Sanofi.

Bibliografía

1. Barnes GD, Kline-Rogers E, Graves C, et al. Structure and function of anticoagulation clinics in the United States: an AC forum membership survey. *J Thromb Thrombolysis* 2018;46:7-11.
2. Proietti M, Laroche C, Opolski G, et al; AFGen Pilot Investigators. "Real-world" atrial fibrillation management in Europe: observations from the 2-year follow-up of the EURObservational Research Programme-Atrial Fibrillation General Registry Pilot Phase. *Europace* 2017;19:722-33.
3. Lobos-Bejarano JM, del Castillo-Rodríguez JC, Mena-González A, et al. Características de los pacientes y abordaje terapéutico de la fibrilación auricular en atención primaria en España. Estudio FIATE. *Med Clin (Barc)* 2013;141:279-86.
4. González-Rojas N, Giménez E, Fernández MA, et al. Preferencias por los tratamientos anticoagulantes orales para la prevención a medio y largo plazo del ictus en la fibrilación auricular no valvular. *Rev Neurol* 2012;55(1):11-9.
5. Anguita M, Bertomeu V, Cequier A; Investigadores del estudio CALIFA. Calidad de la anticoagulación con antagonistas de la vitamina K en España: prevalencia de mal control y factores asociados. *Rev Esp Cardiol* 2015;68:761-8.
6. Bertomeu-González V, Anguita M, Moreno-Arribas J, et al; FANTA-SIIA Study Investigators. Quality of anticoagulation with vitamin K antagonists. *Clin Cardiol* 2015;38:357-64.
7. Steffel J, Verhamme P, Potpara TS, et al. The 2018 European Heart Rhythm Association practical guide on the use of non-vitamin K antagonist oral anticoagulants in patients with atrial fibrillation. *Eur Heart J* 2018; 39:1330-93.
8. Witt DM, Nieuwlaat R, Clark NP, et al. American Society of Hematology 2018 guidelines for management of venous thromboembolism: optimal management of anticoagulation therapy. *Blood Adv* 2018;2:3257.
9. Christensen TD, Johnsen SP, Hjortdal VE, et al. Self-management of oral anticoagulant therapy: a systematic review and meta-analysis. *Int J Cardiol* 2007;118(1):54-61.
10. Sawicki PT. A structured teaching and self-management program for patients receiving oral anticoagulation: a randomized controlled trial. Working group for the study of patient self-management of oral anticoagulation. *JAMA* 1999;281:145-50.
11. Gallagher AM, Setakis E, Plumb JM, et al; Risks of stroke and mortality associated with suboptimal anticoagulation in atrial fibrillation patients. *Thromb Haemost* 2011;106(05):968-77.
12. Fitzmaurice DA, Murray ET, McCahon D, et al. Self-management of oral anticoagulation: randomised trial. *BMJ* 2005;331(7524):1057.

13. Ten Cate V, Ten Cate H, Verheugt FW. The Global Anticoagulant Registry in the FIELD-Atrial Fibrillation (GARFIELD-AF): Exploring the changes in anticoagulant practice in patients with non-valvular atrial fibrillation in the Netherlands. *Neth Heart J* 2016;24:574-80.
14. Lip GY, Nieuwlaat R, Pisters R, et al. Refining clinical risk stratification for predicting stroke and thromboembolism in atrial fibrillation using a novel risk factor-based approach: the Euro Heart Survey on atrial fibrillation. *Chest* 2010;137:263-72.
15. Pisters R, Lane DA, Nieuwlaat R, et al. A novel user-friendly score (HAS-BLED) to assess one-year risk of major bleeding in atrial fibrillation patients: The Euro Heart Survey. *Chest* 2010;138(5):1093-100.
16. Informe de posicionamiento terapéutico UT_ACOD/V5/21112016. Criterios y recomendaciones generales para el uso de los anticoagulantes orales directos (ACOD) en la prevención del ictus y la embolia sistémica en pacientes con fibrilación auricular no valvular. Fecha de publicación: 21 de noviembre de 2016.

CS-016. Práctica clínica de hematogeriátría en el ámbito de la anticoagulación: efectividad y seguridad de los anticoagulantes orales directos en pacientes frágiles y mayores de 80 años con fibrilación auricular*

Olivera Sumie P, Campoy Castaño D, Ruiz de Gracia S, Bastidas Mora G, Subirá Caselles M, Salinas Argente R, Ene GS
Unidad de Hematología Clínica del Banc de Sang i Teixits. Hospital Universitari Sagrat Cor. Barcelona

Introducción

La fragilidad en pacientes mayores de 80 años con fibrilación auricular (FA) es un escenario complejo en el que confluyen tanto el riesgo trombótico como el hemorrágico, además de diferentes comorbilidades, como la enfermedad renal crónica (ERC), la cardiopatía isquémica, la demencia, la anemia, etc. Hay datos limitados en los principales ensayos clínicos, lo que dificulta tomar las decisiones más acertadas respecto a la terapia anticoagulante oral en este grupo de pacientes.

Objetivos

Evaluar la efectividad y la seguridad de los anticoagulantes orales inhibidores directos (ACOD) comparados con el acenocumarol en pacientes frágiles y mayores de 80 años con FA.

Métodos

Entre 2016 y 2018 se incluyeron 820 pacientes, mayores de 80 años, con FA, a los que se administraron ACOD (n = 556) o acenocumarol (n = 264) para la prevención del ictus y la embolia sistémica. El seguimiento mínimo fue de 6 meses y se analizaron los eventos tromboembólicos (ETE), eventos hemorrágicos mayores (EHM) y muerte por todas las causas. Los factores clínicos fueron comparados entre ambas cohortes. Para medir la fragilidad se utilizó la Clinical Frailty Scale (CFS) y se incluyeron pacientes con una puntuación CFS de < 7.

Resultados

En el grupo de ACOD (edad: $87,4 \pm 5,2$ años; mujeres: 57,2%; puntuación: CHA₂DS₂-VASc $5,0 \pm 1,8$; HASBLED: $5,0 \pm 2,3$ y ERC [grado III-IV] 93,5%) se incluyeron 81 pacientes con dabigatrán, 103 rivaroxabán, 158 apixabán y 214 edoxabán. El 75 % de los pacientes con ACOD recibió una dosis reducida y el grupo de apixabán fue el que presentó más pacientes con dosis plenas (64,5%; n = 102). Con una mediana de seguimiento de $14 \pm 8,9$ meses, se evidenciaron 21 ETE (ACOD: 6; AVK: 15) y 29 EHM (ACOD: 9; AVK: 20). En la cohorte de ACOD, todos los ETE ocurrieron en pacientes con dosis reducidas. Los pacientes con ACOD mostraron un riesgo menor de ETE (1,72 frente a 2,91 por cada 100 personas-año; HR: 0,174; intervalo de confianza [IC] del 95%, 0,051-0,573, p = 0,002), sangrado mayor (1,34 frente a 3,92 por 100 personas-año; HR: 0,110; IC 95%: 0,068 a 0,563, p = 0,001) y muerte por todas las causas (2,37 frente a 3,60 por 100 personas-año; HR: 0,29; IC 95%: 0,10 a 0,029, p = 0,030). La hemorragia digestiva fue el tipo de EHM más frecuente para ambas cohortes (25 eventos) y común para los pacientes con acenocumarol (11 eventos) rivaroxabán (4 eventos) y edoxabán (4 eventos).

Conclusiones

En pacientes frágiles y mayores de 80 años con FA, los ACOD podrían estar asociados con un menor riesgo de ETE, sangrado grave y muerte por todas las causas que el acenocumarol. Es necesario estudios prospectivos y aleatorizados para esta población.

***Comunicación oral seleccionada para simposio.**

Necesidades y cambios en el laboratorio de hemostasia

COORDINADORES: Dr. Ángel Bernardo Gutiérrez. Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo
Dr. Ihosvany Fernández Bello. Hospital Universitario La Paz. Madrid

Los laboratorios de hemostasia constituyen el eje vertebrador sobre el que se articulan aproximadamente el 70-80% de nuestras decisiones clínicas con los pacientes. Al mismo tiempo que la terapéutica hemostática, los laboratorios de hemostasia están sufriendo una auténtica revolución para adaptarse a las nuevas necesidades y cambios que está sufriendo la hemostasia en los últimos años. Están implementándose técnicas cada vez más sofisticadas, precisas y fiables, pero que conllevan un mayor grado de complejidad a la hora de su interpretación, así como de su manejo.

Resulta, por tanto, fundamental una formación y actualización adecuadas en este ámbito, que van a ser determinantes para poder realizar un diagnóstico, abordaje, tratamiento y monitorización de los pacientes con coagulopatías tanto congénitas como adquiridas. Además, la importancia del laboratorio de hemostasia radica en su gran impacto en la asistencia, no solo en el ámbito de la hemostasia, sino en casi todas las especialidades médicas y quirúrgicas, desde atención primaria a especializada. De todo lo anterior se deduce que los especialistas en hematología deben tener un conocimiento y un dominio de esta área de diagnóstico que se antoja fundamental para poder desarrollar una eficiente actividad clínica en cualquiera de los ámbitos en los que se vean abocados a ejercer su actividad.

La incorporación de nuevas moléculas al arsenal terapéutico para el tratamiento de la hemofilia va a implicar profundos cambios en el laboratorio de hemostasia. La Dra. Inmaculada Soto Ortega nos aporta en la primera ponencia una valiosa revisión de las metodologías actuales de laboratorio y de los cambios requeridos para realizar una correcta valoración de la actividad de los factores de vida media extendida en función de sus modificaciones. En el campo de las terapias no sustitutivas, también nos brinda un resumen exhaustivo de las propiedades biológicas del emicizumab (Hemlibra®, Hoffmann-La Roche), del fitusirán (Alynlam®, Pharmaceuticals) y el concizumab (Novo Nordisk®), haciendo hincapié en elementos claves para la monitorización de estas moléculas en el laboratorio. La terapia génica para el tratamiento de la hemofilia se vislumbra como uno de los éxitos más rotundos de la ciencia moderna. Sin embargo, los factores VIII o FIX secretados por las células transducidas podrían presentar estructuras modificadas que obligarían a realizar cambios en las técnicas actuales de laboratorio para su correcta determinación. Esta problemática también se aborda en esta ponencia.

El desarrollo de inhibidores adquiridos de la coagulación es habitual en los laboratorios de hemostasia, pero solo aquellos con riesgo hemorrágico o trombotico confirmado pueden presentar una morbimortalidad significativa. Por este motivo, su rápida detección es de suma importancia. Los Dres. Nino Haya Guaita y Andrés Moret Peiró nos brindan en la segunda ponencia una revisión sobre la clasificación y las características clínicas de los inhibidores adquiridos de la coagulación, haciendo referencia a las técnicas de laboratorio más utilizadas para el diagnóstico de inhibidores dirigidos contra FVIII, FvW, FI, FII, FIIa, FV, FX, FXI, FVII y FXIII. También profundizan en la piedra angular del laboratorio en este campo, el test de mezclas de gran utilidad para orientar el diagnóstico en situaciones de urgencia que pueden presentarse en cualquier laboratorio de respuesta rápida. El inhibidor inespecífico o de interferencia más común en la práctica clínica, el anticoagulante lúpico, también se aborda en profundidad.

Asimismo, se exponen de forma clara y precisa los puntos claves a tener en cuenta en el momento de la cuantificación de los inhibidores mediante pruebas funcionales (Bethesda y Nijmegen-Bethesda), especificando el significado y la fiabilidad de los resultados obtenidos por estas técnicas. Finalmente se describe la clasificación de inhibidores de tipo 1 y 2, así como la técnica ELISA para la cuantificación no funcional de los inhibidores.

El ámbito materno-infantil comporta condiciones especiales que trasladan dificultades adicionales al laboratorio de hemostasia. En estas situaciones, los rangos de referencia son distintos y la interpretación, así como su trascendencia clínica, no puede traducirse siguiendo las mismas líneas interpretativas que en un paciente adulto de referencia.

El Dr. Rubén Berrueco Moreno expone en la tercera ponencia las características especiales de la hemostasia del recién nacido, y brinda pautas claras para la correcta interpretación de los resultados del laboratorio. También presenta la problemática del laboratorio en el caso del prematuro y nos brinda guías para facilitar su abordaje. Otras situaciones de especial manejo en la infancia –como el valor de la vitamina K, los tiempos de obturación usados en función plaquetaria

o los métodos coagulométricos mecánicos, el valor del dímero D y el manejo del anticoagulante lúpico en estas edades infantiles– también se tratan en profundidad. Por último, aborda las diferentes peculiaridades que acontecen en el embarazo, como la hipercoagulabilidad por el incremento de estrógenos, la trombopenia gestacional del último trimestre, la disminución de la proteína S, que origina resistencia a la proteína C en más de la mitad de las embarazadas, el consumo de plaquetas y factores de la coagulación durante el parto o el incremento después de los niveles de dímero D por un aumento de la función fibrinolítica.

En conclusión, este simposio pretende abordar temas de diagnóstico de hemostasia que están sufriendo una auténtica revolución y contribuir a la actualización formativa de nuestros compañeros en este campo de conocimiento que en muchas ocasiones es poco conocido, pero que tiene una importancia trascendental para poder manejar de forma eficaz, segura y óptima a nuestros pacientes.

Nuevas terapias en hemofilia y su impacto en el laboratorio de hemostasia

Soto Ortega I.

Sección de Hemostasia y Trombosis. Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo

Introducción

El papel del laboratorio clínico en el paciente hemofílico es crucial no solo para el diagnóstico y la clasificación de la gravedad de la enfermedad mediante la medida del factor deficiente, sino también para la monitorización del tratamiento mediante la medida de la recuperación alcanzada por el factor sustituido tras su infusión.

Hasta hace poco, los laboratorios clínicos han monitorizado el tratamiento de la hemofilia midiendo los factores de coagulación antes/después de la infusión de los correspondientes concentrados de factores de coagulación (CFC) de origen humano o recombinante; sin embargo, la incorporación de los nuevos tratamientos que han sido o están siendo desarrollados en la actualidad va a implicar cambios sustanciales en la práctica habitual del laboratorio de hemostasia (1).

En la [tabla I](#) se describen los CF EHL, así como los agentes no sustitutivos.

Monitorización del tratamiento

Concentrados de FVIII/FIX de vida media extendida

La monitorización del concentrado de factor infundido es crucial tanto en la profilaxis para conocer el comportamiento farmacocinético del factor infundido como durante la cirugía, en la que puede surgir una hemorragia de distinta gravedad en caso de que el CF infundido no alcance las concentraciones eficaces para lograr la hemostasia (1).

La medida de la actividad del FVIII o del FIX se realiza por lo general mediante dos tipos de ensayos funcionales: coagulométrico y cromogénico. El primero es el más ampliamente utilizado y mide la capacidad del plasma del paciente para acortar el tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPA) de un plasma deficiente en FVIII o en FIX (1,2). El método cromogénico, a su vez, se basa en el uso de sustratos cromogénicos que mimetizan el sustrato natural de las enzimas de la coagulación y que tienen

Tabla I. Características de los concentrados de factor de vida media extendida y de los nuevos fármacos no basados en factores de coagulación para el tratamiento de la hemofilia

Factores de coagulación de vida media extendida		
No modificados (promedio de vida media)	Modificación	Promedio de vida media tras modificación
FVIII (8-12 h)	Conjugación con polietilenglicol o fracción Fc de la IgG	Aproximadamente 2 días
FIX (18-24 h)	Conjugación con albúmina, polietilenglicol o fracción Fc de la IgG	Aproximadamente 5 días
Nuevos fármacos no basados en factores de coagulación		
Producto	Características	Mecanismo de acción
Emicizumab	Anticuerpo monoclonal biespecífico que mimetiza la acción del FVIII	Unión del FIXa al FX, conduciendo a la activación del FX
Fitusirán	RNA de interferencia de la síntesis de antitrombina	Reducción de la expresión de antitrombina, incrementando así la generación de trombina
Concizumab	Anticuerpo monoclonal frente al TFPI	Antagoniza el TFPI, incrementando así la generación de trombina

Modificado de: Tripodi A, Chantarangkul V, Novembrino C, et al. Advances in the Treatment of Hemophilia: Implications for Laboratory Testing. Clinical Chemistry 2019;65(2):254-62.

fijado un marcador cromógeno. El FXa se encuentra anclado al sustrato cromogénico. Por la acción enzimática inespecífica de aquellas enzimas, se libera la sustancia cromógena, cuya intensidad puede ser medida por un espectrofotómetro. La intensidad de color es proporcional a la cantidad de FXa generado, a su vez proporcional a la cantidad de FVII/IX de la muestra. Así, el resultado final de la técnica coagulométrica es la formación de un coágulo, mientras que el de la cromogénica es el cambio de color en un sustrato cromogénico (3-5). Pros y contras de ambos métodos se resumen en la [tabla II](#) (1).

La variable más importante en la técnica coagulométrica es la composición de los reactivos del TTPA, que pueden diferir en términos de los activadores de los factores de contacto (cuatro clases: sílica, ácido eláxico, caolín y ácido polifenólico, con variaciones a su vez entre los reactivos que contienen sílica y ácido eláxico) o de los fosfolípidos. Otra fuente de variabilidad es el plasma deficiente. La técnica cromogénica es menos variable, no requiere plasma deficiente y es poco sensible a interferencias por la presencia de anticoagulante lúpico. Existen distintos tipos de ensayos cromogénicos, con proteínas humanas y con proteínas bovinas, por lo que podría haber diferencias entre ellos en la medida del CF infundido. El coste por prueba es superior al de la técnica coagulométrica, pero puede reducirse realizando análisis por lotes y alicuotando y congelando los reactivos tras su reconstitución (1,5).

Históricamente ambos ensayos se han realizado satisfactoriamente tanto con FVIII/IX nativo de origen plasmático o como recombinante; no obstante, los CF recombinantes de vida media extendida (EHL) recientemente introducidos plantean retos en la monitorización de laboratorio de los niveles posinfusión, pues contienen modificaciones moleculares como delección

del dominio B (BDD), truncamiento, fusión con el fragmento Fc de la IgG o con albúmina y unión a polietilenglicol (PEG), con el objetivo de alargar su vida media y reducir así la frecuencia de infusiones. Muchos de ellos muestran una notable discrepancia en su determinación entre los dos tipos de técnicas de medida, así como también entre distintos ensayos coagulométricos, probablemente relacionado con el tipo de activador del TTPA utilizado, así como por un reconocimiento diferente de las moléculas de FVIII y/o IX modificadas (2,3,5). La transcendencia de esta variabilidad estriba en que los pacientes pueden recibir un tratamiento excesivo o insuficiente dependiendo del ensayo utilizado para su monitorización.

Para la técnica coagulométrica, los datos más significativos para los CFVIII/IX EHL se detallan en las [tablas III y IV](#). En el caso del rFVIII-SC, aunque la FDA permite una multiplicación del factor para compensar el resultado, esta estrategia no se recomienda de forma general (5,8,9). BAY-94 y N8-GP han presentado problemas con algunos reactivos, pero no con otros. rFVIII-Fc y rFVIII-PEG no parecen comportar serios problemas de medida (5,6).

En cuanto a la técnica cromogénica, se aprecia mucha menor variabilidad y mayor precisión, aunque, especialmente en el caso del FIX, los datos disponibles son limitados; no obstante, N9-GP puede ser determinado con los dos ensayos cromogénicos comercializados disponibles, mientras que para el rFIX-Fc debe usarse el de Biophen. No hay datos para el rFIX FP (5). En las [tablas V y VI](#) se detallan las recomendaciones para determinados CFIX EHL (8).

Considerando las numerosas variables que afectan al método coagulométrico, el cromogénico parece de elección y los laboratorios que prefieran el uso de ensayos coagulométricos deben saber

Tabla II. Pros y contras de las técnicas coagulométricas y cromogénicas

Pros	Contras
Técnica coagulométrica	
Ampliamente disponible	Necesita plasma deficiente
Relativamente barata	Reproductibilidad relativamente pobre
Adecuada para uso en situaciones de emergencia	Relativamente amplia variabilidad entre reactivos
Estabilidad de los reactivos reconstituidos	
Experiencia clínica	
Familiaridad	
Técnica cromogénica	
Relativamente simple de realizar	Falta de familiaridad
Fácil de configurar en coagulómetros ordinarios	Falta de estabilidad de los reactivos reconstituidos
Adecuada para uso en situaciones de emergencia	Coste elevado
Reproductibilidad aceptable	Experiencia clínica relativamente escasa
No precisa plasma deficiente	
Relativamente insensible a interferencias por anticoagulante lúpico	
Modificada de: Tripodi A, Chantarangkul V, Novembrino C, et al. Advances in the Treatment of Hemophilia: Implications for Laboratory Testing. <i>Clinical Chemistry</i> 2019;65(2):254-62.	

Tabla III. Resultados del test coagulométrico según el concentrado de FVIII y reactivo de TTPA utilizado expresado cualitativamente

Reactivo	rFVIII Fc	rFVIII-PEG	rFVIII-SC	N8-GP	BAY-94
Silica					
SynthaSIL	Correcto	Correcto	Infraestimado	Correcto	Correcto
STA-PTT Automate	Correcto	Correcto	Infraestimado	Infraestimado	Infraestimado
PTT-SP	Desconocido	Desconocido	Infraestimado	Infraestimado	Infraestimado
Pathrombin SL	Correcto	Correcto	Infraestimado	Correcto	Correcto
Triniclot Auto	Correcto	Correcto	Infraestimado	Desconocido	Desconocido
Triniclot HS	Correcto	Correcto	Infraestimado	Desconocido	Desconocido
Ácido elálgico					
Actin FS	Correcto	Correcto	Infraestimado	Correcto	Correcto
Actin FSL	Correcto	Correcto	Infraestimado	Correcto	Correcto
Synthafax	Desconocido	Correcto	Infraestimado	Descendido	Correcto
DG Synth	Desconocido	Desconocido	Desconocido	Correcto	Desconocido
Caolín					
CK Prest	Correcto	Correcto	Infraestimado	Correcto	Desconocido
Ácido polifenólico					
Cephascreen	Correcto	Correcto	Infraestimado	Correcto	Correcto

Modificado de: Young GA, Perry DJ, for the International Prophylaxis Study Group (IPSG). Laboratory assay measurement of modified clotting factor concentrates: a review of the literature and recommendations for practice. J Thromb Hemost 2019;17:567-73.

Tabla IV. Resultados del test coagulométrico según el concentrado de FIX y reactivo de TTPA utilizado expresado cualitativamente

Reactivo	rFIX Fc	rFIX FP	N9-GP
Silica			
SynthaSIL	Correcto	Correcto	Infraestimado
STA-PTT Automate	Desconocido	Correcto	Sobreestimado
PTT-SP	Desconocido	Desconocido	Sobreestimado
Pathrombin SL	Correcto	Correcto	Sobreestimado
Triniclot Auto	Correcto	Desconocido	Sobreestimado
Triniclot HS	Correcto	Correcto	Sobreestimado
Ácido elálgico			
Actin FS	Correcto a niveles normales, pero demasiado alto a niveles de FIX de 5-20%	Infraestimado	Infraestimado
Actin FSL	Correcto		
Synthafax	Correcto	Desconocido	Infraestimado
DG Synth		Desconocido	Correcto
Caolín			
CK Prest	Infraestimado	Infraestimado	Infraestimado
Ácido polifenólico			
Cephascreen	Correcto	Desconocido	Correcto

Modificado de: Young GA, Perry DJ, for the International Prophylaxis Study Group (IPSG). Laboratory assay measurement of modified clotting factor concentrates: a review of the literature and recommendations for practice. J Thromb Hemost 2019;17:567-73.

Tabla V. Ensayos sugeridos para la determinación de determinados concentrados FVIII EHL

	N8 GP	Bay 94-9027	rFVIIIc
Cromogénicos	Sí	Sí	Sí
Coagulométricos			
STA-PTT A	No	No	Sí
STA-C.K. Prest	Sí	¿?	Sí
Actin FS	Sí	¿?	Sí
Actin FSL	Sí	¿?	Sí
Pathtombin SL	¿?	¿?	Sí
SynthASil	¿?	¿?	Sí
SynthAFax	No	Sí	¿?
DG Synth	Sí	¿?	¿?
Cephascreen	Sí	Sí	Sí
APTT Sp	No	No	¿?

Modificado de: Kitchen S, Tiefenbacher S, Gosselin R. Factor Activity Assays for Monitoring Extended Half-Life FVIII and Factor IX Replacement Therapies. Semin Thromb Hemost 2017;43:331-7.

Tabla VI. Ensayos sugeridos para la determinación de determinados concentrados FIX EHL

	N8 GP	Bay 94-9027	rFVIIIc
Cromogénicos	Sí	Sí	¿?
Coagulométricos			
STA-PTT A	No	Sí	Sí
STA-C.K. Prest	No	No	No
Actin	No	¿?	¿?
Actin FS	No	Sí	No
Actin FSL	No	Sí	¿?
Pathtombin SL	No	Sí	Sí
SynthASil	No	Sí	Sí
SynthAFax	Sí	¿?	¿?
DG Synth	Sí	¿?	¿?
Cephascreen	Sí	Sí	¿?
APTT Sp	No	¿?	¿?
Auto APTT	¿?	Sí	¿?
Platelin L	¿?	Sí	¿?
DAPTIN	Sí	¿?	¿?

Modificado de: Kitchen S, Tiefenbacher S, Gosselin R. Factor Activity Assays for Monitoring Extended Half-Life FVIII and Factor IX Replacement Therapies. Semin Thromb Hemost 2017;43:331-7.

que la recuperación de CF infundido puede ser diferente de la esperada por la potencia etiquetada (1). Así, con independencia del tipo de CF, cada laboratorio debe seleccionar un ensayo que ofrezca resultados similares a los del usado para asignar la potencia al producto en cuestión, como recomienda la Haemophilia Centers Doctors' Organization británica (6-8).

Agentes sorteadores o baipás

Otro problema a considerar es la monitorización de pacientes con alto título de inhibidor frente al FVIII o FIX y que precisan de agentes baipás (concentrados de complejo protrombínico activado (CCPa) o factor VII activado recombinante [FVIIar]) para control o prevención de los sangrados. En estos casos, los test globales de coagulación (test de generación de trombina [TGT] y/o tromboelastografía [TEG]) han demostrado su utilidad en la valoración de la respuesta hemostática al tratamiento aplicado y, de hecho, pueden considerarse complementarios, ya que cada uno estudia diferentes marcadores de la hemostasia. No obstante, la experiencia en este ámbito es muy escasa y ni el TGT ni la TEG han sido aprobados por las agencias reguladoras con este fin (1,10).

Terapia no sustitutiva

En los últimos años, para la profilaxis de pacientes hemofílicos, están introduciéndose productos que no requieren infusión de CFC (Tabla II). Actualmente se desconoce si estos fármacos deben ser monitorizados durante el tratamiento, pero es posible que ocasionalmente se requiera algún tipo de evaluación de laboratorio. Su impacto sobre las pruebas de coagulación es poco conocido (1).

Emicizumab (Hoffmann-La Roche)

Es un anticuerpo monoclonal humanizado biespecífico que realiza la función del FVIII uniéndose simultáneamente a la enzima (FIXa) y al sustrato (FX), lo que permite la activación del FX sin la contribución del cofactor FVIII (1,11,12). Emicizumab, administrado a una dosis fija con inyecciones semanales, bisemanales o mensuales subcutáneas, mostró eficacia en los ensayos clínicos en fase III de pacientes con hemofilia con y sin inhibidor. Emicizumab ha sido aprobado por las agencias estadounidense y europea FDA y EMA (12).

La capacidad de los ensayos clínicos actuales para cuantificar la potencia hemostática de emicizumab en un sujeto en profilaxis es limitada. Basándose en estudios en monos *cynomolgus*, se ha sugerido un factor de conversión para emicizumab ($\mu\text{g/ml}$) a su "equivalente" FVIII:C de 0,3, de forma que una concentración de 33 $\mu\text{g/ml}$ correspondería a un FVIII:C de aproximadamente un 10% (11).

Emicizumab interacciona con todas las pruebas de coagulación basadas en la vía intrínseca (en la tabla VII se detallan las pruebas afectadas y no afectadas por emicizumab) (11,12). Las características de su unión hacen que incluso bajas concentraciones normalicen el TTPA, aboliendo así la típica relación entre la actividad del FVIII y el TTPA usado para monitorizar su efecto hemostático. Al no requerir activación por trombina, emicizumab origina un acortamiento suprafisiológico del tiempo de coagulación y, por lo tanto, la técnica coagulométrica realizada en su presencia sobreestimaré el nivel de FVIII:C (11). Cuando se mide la "actividad similar" al FVIII mediante la técnica cromogénica con reactivos de origen humano, esta se relaciona de manera lineal y dependiente de la dosis con las concentraciones de emicizumab, mientras que los reactivos de origen bovino son totalmente insensibles y, por lo tanto, pueden ser utilizados para monitorizar la actividad del FVIII endógeno o del CFVIII

Tabla VII. Pruebas de coagulación afectadas y no afectadas por emicizumab

Resultados afectados por emicizumab*
Tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPA) (falso acortamiento)
Pruebas coagulométricas (basadas en TTPA) (falso aumento)
Pruebas cromogénicas (reactivos humanos)
Pruebas Bethesda o Nijmegen-Bethesda (basadas en TTPA) (falsos negativos)
Tiempo de coagulación activado (TCA)
Prueba para la resistencia a la proteína C activada (R-PCA) basada en TTPA
Resultados no afectados por emicizumab
Tiempo de trombina (TT)
Prueba de factor simple basada en el tiempo de protrombina (TP) de una etapa
Test cromogénicos de un solo factor distinto del FVIII
Test inmunológicos (por ejemplo, ELISA, métodos turbidométricos)
Test de Bethesda (cromogénico bovino) para títulos de inhibidor del FVIII
Pruebas genéticas de factores de la coagulación
*Estos efectos pueden persistir hasta 6 meses después de la última dosis de emicizumab. Modificado de: 11. Al-Samkari H, Croteau SE. Shifting landscape of hemophilia therapy: Implications for current clinical laboratory coagulation assays. Am J Hematol 2018;93:1082-1082. 12. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/hemlibra-epar-product-information_es.pdf

infundido en las situaciones que eventualmente lo precisen (sangrados intercurrentes, cirugías, etc.), así como para titular a los inhibidores del FVIII (1,2,11). Cuando se administran simultáneamente emicizumab y CFVIII, la hemostasia a corto plazo probablemente sea conducida por el CFVIII, pues a altas concentraciones compite con emicizumab por la unión al FIXa para el que tiene una afinidad muy superior (11). No se dispone de información acerca de si la “actividad similar” al FVIII o la concentración del fármaco medida después de la inyección de emicizumab está o no correlacionada con su eficacia hemostática (1).

Una alternativa para la monitorización del efecto del emicizumab son los test globales de hemostasia: TGT y TEG. El tratamiento con emicizumab produce una corrección completa del TEG al mes y a los 2 meses de su administración, resultados comparables a los de los voluntarios sanos. El TGT muestra una marcada mejoría y se parece al de los pacientes diagnosticados de hemofilia leve, aunque el pico de trombina es de un tercio respecto al de los voluntarios sanos. También se ha descrito una notable mejoría del ETP (parámetro que describe la cantidad total de trombina que puede generar una muestra) que resulta similar al de un hemofílico leve, (11,13). La utilidad clínica de estas pruebas es variable debido en parte a la escasa estandarización y a la dependencia individual en la realización del test. Las agencias reguladoras aún no han autorizado ninguna de las pruebas anteriores para este efecto (1).

Con el objetivo último de alcanzar hemostasia, se ha desarrollado un enfoque alternativo con la elaboración de productos que interfieren con los anticoagulantes naturales, como la antitrombina (AT) y el inhibidor de la vía del factor tisular (TFPI).

Fitusirán (Alnylam Pharmaceutical)

Pequeña molécula ARN de interferencia que se une al ARNm de la AT en el hígado y bloquea la traducción de AT. En administración mensual subcutánea, fitusirán condujo a una mejor generación de trombina y a una reducción de la tasa anualizada de sangrado. Su monitorización se realizó mediante determinación de los niveles de AT con test cromogénico y de la generación de trombina mediante un trombograma automatizado (2).

Concizumab (Novo Nordisk)

Es un anticuerpo anti-TFPI monoclonal humanizado que persigue la modulación del complejo FVIIa-factor tisular y, en consecuencia, aumenta la generación de trombina en pacientes con hemofilia. Los experimentos preliminares en individuos sanos que recibieron inyección subcutánea de concizumab y los experimentos *in vitro* en plasma de hemofílicos mostraron un aumento en la generación de trombina dependiente de la dosis (2).

Fitusirán y concizumab aún no han completado los ensayos clínicos de fase III y, por lo tanto, aún no están aprobados por las agencias reguladoras. Todavía se desconoce si los pacientes en tratamiento requerirán eventualmente monitorización de laboratorio. Se sabe muy poco sobre cómo monitorizar estos fármacos, pero puede especularse que la medida de las concentraciones de antitrombina o TFPI (respectivamente) podría ser útil. Además, debe tenerse en cuenta que el fitusirán podría complicar el trata-

miento y la monitorización de los pacientes que desarrollan trombosis intercurrente y precisan anticoagulación podría afectar, por ejemplo, a los ensayos anti-factor Xa de heparina que dependen de forma variable de la AT del paciente (1).

Terapia génica

Durante la última década se ha logrado un gran progreso en la terapia génica para la hemofilia. Usando FVIII o FIX de tipo salvaje o modificado en vectores de virus adenoasociados para lograr expresión estable de FIX o FVIII, se han obtenido buenos resultados en ensayos clínicos de fase III con pacientes que alcanzaron concentraciones del factor deficitario suficientes para mejorar su fenotipo hemorrágico. Sin embargo, la terapia génica puede plantear retos en la monitorización de laboratorio, ya que las discrepancias observadas hasta el momento entre los test en la posinfusión de CFC convencionales o modificados descritos previamente probablemente se apliquen también al factor o a los factores derivados de la terapia génica, pues los factores de coagulación (tanto FIX como FVIII) que se segregan en respuesta a la misma pueden tener una estructura/características variables y ser así reconocidas de forma distinta por los diferentes ensayos de laboratorio (1).

Conclusiones

1. La aparición de nuevos y modificados CFC ha permitido a los pacientes continuar recibiendo tratamientos altamente efectivos y seguros a la vez que alcanzar niveles valle superiores, así como reducir el intervalo entre dosis y mejorar su calidad de vida. Sin embargo, al mismo tiempo surge el problema de medir el nivel “real” del CFC infundido, particularmente con los CFC EHL.
2. Se han observado diferencias en los niveles posinfusión de los CFC EHL con los distintos tipos de test (coagulométricos o cromogénicos). Como posibles soluciones estarían: cambiar del método coagulométrico a cromogénico, usar estándares específicos del CF para calcular y expresar resultados o emplear el mismo método que se haya empleado para su etiquetado.
3. En este complejo escenario, organizaciones como el Subcomité Científico y de Estandarización de la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia (ISTH) deben desarrollar alguna forma de estandarización.
4. Las terapias no sustitutivas suponen nuevos retos para el laboratorio y hacen necesarias nuevas estrategias que determinen la capacidad hemostática en el contexto del microambiente vascular e incorporen la complejidad de las interacciones entre células endoteliales, plaquetas y factores de coagulación.
5. En los próximos años se prevén cambios sustanciales en el laboratorio de hemostasia.

Bibliografía

1. Tripodi A, Chantarangkul V, Novembrino C, et al. Advances in the Treatment of Hemophilia: Implications for Laboratory Testing. *Clinical Chemistry* 2019;65(2):254-62.

2. Teichman J, Chaudhry HR, Sholzberg M. Novel assays in the coagulation laboratory: a clinical and laboratory perspective. *Transfus Apher Sci* 2018;57:480-4.
3. Young GA, Perry DJ, for the International Prophylaxis Study Group (IPSG). Laboratory assay measurement of modified clotting factor concentrates: a review of the literatura and recommendations for practice. *J Thromb Haemost* 2019;17:567-73.
4. Pruthi RK. Laboratory monitoring of new hemostatic agents for hemophilia. *Seminars in Hematology* 2016;53:28-34
5. Young GA, Perry DJ, for the International Prophylaxis Study Group (IPSG). Laboratory assay measurement of modified clotting factor concentrates: a review of the literature and recommendatios for practice. *J Thromb Heamost* 2019;17:567-73.
6. Kitchen S, Kershaw G, Tiefenbacher S. Recombinant to modified factor VIII and Factor IX – chromogenic and one-stage assays issues. *Haemophilia* 2016;22(Suppl.5):72-7.
7. Collins P, Chamlers E, Chowdary P, et al. The use of enhanced half-life coagulation factor concentrates in routine clinical practice: guidance from UKHCDO. *Haemophilia* 2016;22:487-98.
8. Kitchen S, Tiefenbacher S, Gosselin R. Factor Activity Assays for Monitoring Extended Half-Life FVIII and Factor IX Replacement Therapies. *Semin Thromb Hemost* 2017;43:331-7.
9. Van den Bossche D, Peerlink K, Jacquemin M. New challenges and best practices for the laboratory monitoring of factor VIII and factor IX replacement. *Int J Lab Hem* 2018;40(Suppl.1):21-9.
10. Chitlur M, Young G. Global assays in hemophilia. *Seminars in Hematology* 2016;53:40-5.
11. Al-Samkari H, Croteau SE. Shifting landscape of hemophilia therapy: Implications for current clinical laboratory coagulation assays. *Am J Hematol* 2018;93:1082-1082.
12. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/hemlibra-epar-product-information_es.pdf
13. Brophy DF, Martin EJ, Kuhn J. Use of global assays to monitor emicizumab prophylactic therapy in patients with haemophilia A with inhibitors. *Haemophilia* 2019;25(2):e121-e123. DOI: 10.1111/hae.13689.

Diagnóstico y monitorización de los inhibidores adquiridos de la coagulación

Haya Guaita N., Moret Peiró A.

Unidad de Hemostasia y Trombosis. Servicio de Hematología. Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia

Introducción

Los inhibidores adquiridos de la coagulación son alteraciones infrecuentes. Podemos clasificarlos en dos grandes grupos: inhibidores no específicos o de interferencia –el más típico es el anticoagulante lúpico– y los inhibidores específicos frente a un factor de la coagulación. Dentro de los últimos podemos considerar dos subtipos: a) los que se dan en individuos con déficit congénito del factor frente al que va dirigido el inhibidor –los más típicos son los inhibidores frente al factor VIII (FVIII)–, que se producen en los hemofílicos A graves tras la exposición a los concentrados de FVIII: estos son aloanticuerpos, y; b) los que se desarrollan en un individuo que previamente tiene una hemostasia normal y no tiene ningún déficit de factor de la coagulación: estos son autoanticuerpos. Dentro de lo infrecuente de estos últimos, los más frecuentes son los que van dirigidos al FVIII, aunque están descritos frente a todos los factores de la coagulación. Es muy importante diferenciar entre uno y otro tipo de inhibidor (el comportamiento clínico puede ser incluso antagónico). Un correcto diagnóstico es fundamental para poder aplicar los tratamientos adecuados.

En los laboratorios ordinarios se detectarán con más frecuencia los inhibidores de la población general. En estos, el estudio de los inhibidores se realizará bien porque un paciente tiene clínica hemorrágica que previamente no presentaba o bien porque se detecte una alteración en las pruebas de coagulación. Lo más frecuente es que esté el tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPa) prolongado y se llegue al diagnóstico de un anticoagulante lúpico (AL).

Los inhibidores específicos frente a un factor en pacientes hemofílicos se detectarán habitualmente en laboratorios de centros de tratamiento de hemofilia; en este caso, se detectarán tras realizar búsquedas periódicas rutinarias en estos pacientes o por una detección dirigida al apreciar una falta de respuesta a los tratamientos aplicados.

Los laboratorios deben tener la capacidad de poder discriminar entre deficiencia de factor, la presencia de un inhibidor específico, inhibidores inespecíficos como AL y anticoagulantes como la heparina, que puede simular el efecto de los inhibidores en algunas pruebas de laboratorio (1).

Inhibidores inespecíficos o de interferencia

Los inhibidores inespecíficos o de interferencia son anticuerpos u otras sustancias que por diversos mecanismos “interfieren” en el proceso de la coagulación *in vitro*. Pueden afectar a la terminación de la actividad coagulante de los factores implicados

en la vía alterada (1). Ejercen su efecto en una o varias etapas de coagulación y se asocian a diferentes situaciones clínicas. Pueden detectarse en individuos asintomáticos y dar manifestaciones hemorrágicas o ser factor de riesgo de trombosis y/o complicaciones obstétricas.

Inhibidores específicos

Son inmunoglobulinas dirigidas contra epítopes funcionales de un factor de la coagulación en particular. Se los denomina anticuerpos neutralizantes. Hay, además, anticuerpos no neutralizantes.

Anticuerpos neutralizantes

Actúan de modo específico sobre la actividad coagulante de un factor al bloquear sus sitios funcionales y se manifiestan alterando las pruebas de coagulación correspondientes. Pueden desarrollarse en pacientes deficitarios, de modo secundario a la terapia de reemplazo; como ejemplo, se citan el desarrollo de inhibidores anti-factor VIII (a-FVIII) o anti-factor IX (a-FIX) en pacientes hemofílicos (aloanticuerpos o isoanticuerpos) (2). Asimismo, pueden presentarse en individuos con un mecanismo hemostático previo normal (autoanticuerpos), asociados a enfermedades autoinmunes, neoplasias, ingesta de drogas, cirugía, posparto e idiopáticos (3). Los inhibidores más frecuentes son los que van dirigidos al FVIII, aunque hay descritos contra los diferentes factores de la coagulación, incluido el factor Von Willebrand (FVW) (4). Las pruebas de laboratorio para detectar los inhibidores neutralizantes están basadas en test de mezclas con plasma normal. Se aprecia un descenso de un factor determinado y el test de mezcla específico no produce corrección. Puede estimarse el título de inhibidor con un ensayo Bethesda.

Inhibidores al fibrinógeno. Se sospechan cuando el TTPa, el tiempo de protrombina (TP), el tiempo de trombina (TT) y el tiempo de reptilasa están alargados, la medición del fibrinógeno de Clauss está reducida y los estudios de mezclas con el TT muestran un alargamiento del tiempo de coagulación.

Inhibidores al protrombina y trombina. Se espera que un anticuerpo contra la protrombina cause alargamiento del TTPa y del TP y un TT normal. Un anticuerpo contra la trombina daría un TT muy prolongado y un tiempo de reptilasa normal. Los anticuerpos antiprotrombina suelen estar asociados con el síndrome antifosfolípido y esto debería estudiarse apropiadamente (5). Un ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) para anticuerpos antiprotrombina podría ser útil.

Inhibidores al FV y FX. El TTPa y TP están alargados. El TT y el fibrinógeno serán normales. El tiempo de veneno de víbora de Russell diluido (dRVVT) puede estar prolongado, pero, a diferencia del AL, no se observa corrección al añadir fosfolípidos en exceso. La contaminación de la muestra con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) mimetiza los resultados de un inhibidor del FV.

El principal diagnóstico diferencial será la deficiencia de FX asociada a una absorción aumentada por amiloidosis sistémica. En esta situación, el TP y el TTPa se corrigen con el test de mezclas al tratarse de un déficit, no se evidencia un inhibidor. En la amiloidosis otros factores como el FVII, FIX, FV y FVW también pueden estar reducidos (6).

Los inhibidores al FVII con TP prolongado.

Los inhibidores al FXI con TTPa muy prolongado a menudo son asintomáticos y se detectan al estudiar la coagulación por otras razones.

Inhibidores al FXIII. Los test de coagulación generales, como TTPa, TP, TT y fibrinógeno, suelen ser normales. Los ensayos de actividad del FXIII normalmente dan resultados < 3%. Los anticuerpos neutralizantes pueden detectarse con el test de mezclas (midiendo el FXIII), pero para detectar anticuerpos no neutralizantes se requieren ensayos de unión. Los ensayos inmunológicos pueden dar resultados variables (7).

Anticuerpos no neutralizantes

Reconocen específicamente epítopes no funcionales, por lo que no inhiben la actividad del factor ni las pruebas de coagulación globales correspondientes (3). Su presencia puede implicar disminución de la concentración por formación de complejos antígeno-anticuerpo que pudiesen modificar el aclaramiento del factor, disminuyendo su vida media y provocando un déficit mediado por anticuerpos. La expresión clínica de estos anticuerpos es variable. En la mayoría de los individuos no se observa alteración de la coagulación, a pesar de que el anticuerpo pueda modificar la vida media del factor. En otros casos los pacientes tienen disminución de la actividad del factor y pueden presentar manifestaciones hemorrágicas. La hipoprotrombinemia mediada por anticuerpos anti-factor II (a-FII), asociada a la presencia de inhibidor lúpico, es un ejemplo de anticuerpos no neutralizantes (8). Hay descritos otros que reconocen FVIII(9), FXIII o VWF(1), con diferente efecto clínico.

Test de mezclas

El test de mezclas suele ser el primer paso que se realiza en el laboratorio tras un tiempo de coagulación alargado y una sospecha de presencia de un inhibidor de la coagulación. Permite discriminar entre una deficiencia de factor y un inhibidor de la coagulación.

En el test mezclas típico se mezcla plasma del paciente y plasma normal a razón de 1:1 y se incuba 2 horas a 37 °C (mezcla problema). Los plasmas también se incuban por separado el mismo tiempo y se realiza una segunda mezcla justo antes de recalificar la muestra (mezcla control). Tras la incubación se realiza un TTPa de la mezcla control y la mezcla problema. Los posibles resultados son:

Las dos mezclas corrigen el tiempo de coagulación del paciente, indicativo de déficit de factor. El plasma normal aporta el factor deficitario en el paciente, corrigiendo los tiempos de coagulación.

La mezcla control corrige el tiempo de coagulación, pero la mezcla problema, no. Indicativo de inhibidor de factor de la coagulación. En la mezcla control, el plasma normal aporta el factor que el paciente tiene inhibido. Como están poco tiempo juntos, no es suficiente para que el inhibidor actúe y neutralice el factor (esto sucede fundamentalmente con el FVIII). En la mezcla problema, durante la incubación, el inhibidor presente en el plasma del paciente neutraliza el plasma normal y el tiempo vuelve a salir alargado.

Ninguna mezcla corrige el tiempo de coagulación. Indicativo de AL o inhibidores de factor de acción rápida. Los inhibidores rápidos, como suelen ser los lúpicos y en ocasiones también de factores, son capaces de neutralizar el plasma normal en un tiempo muy breve y la mezcla control aparece ya alargada. Hay que tener en cuenta que si se utiliza un activador que no es sensible a AL, el tiempo se corregirá, a pesar de la presencia de inhibidores lúpicos.

El test de mezclas puede realizarse para pacientes con un TTPa o un TP alargado. Un TTPa alargado que no se corrige con el test de mezclas es indicativo de inhibidores del FVIII, FIX, FXI o FXII, también del FVW o AL. Mientras que un TP alargado que no se corrige con el test de mezclas denota inhibidores del FVII. Si tanto el TTPa como el TP están alargados y no se corrigen, es indicativo de inhibidores del FII, FV o FX.

Aparte de los inhibidores de acción rápida, otro de los problemas que tiene el test de mezclas es la falta de consenso para determinar cuándo se considera que un TTPa o un TP se ha corregido. En este sentido, existe el índice de Rosner, o índice de anticoagulante circulante (ICA), definido con la siguiente fórmula:

$$ICA = \frac{(TTPa \text{ mezcla} - TTPa \text{ plasma normal})}{(TTPa \text{ plasma paciente})} \times 100$$

Generalmente se considera que valores inferiores a 12% indican una no corrección, valores superiores al 15% se consideran corrección y un valor entre 12 y 15% se define como intervalo de incertidumbre. Es recomendable que cada laboratorio establezca su valor de corte. Estos pueden variar según el test que se realice.

Otro índice propuesto por Chang y cols. (10) es el porcentaje de corrección (PC):

$$PC = \frac{(TTPa \text{ plasma paciente} - TTPa \text{ mezcla})}{(TTPa \text{ plasma paciente} - TTPa \text{ plasma normal})} \times 100$$

En este caso, establecieron que valores de corrección tras 2 horas a 37 °C superiores a 70% sugieren la deficiencia de un factor, menores a 58% sugieren la presencia de un anticoagulante circulante y un valor entre 58% y 70% es el intervalo de incertidumbre. También establecen sus valores de corte para el TP

que difieren del TTPA: mayores del 75% indican deficiencia de factor; menores de 70%, un anticoagulante circulante y entre 70 y 75%, un intervalo de incertidumbre.

La interpretación de los resultados de los test de mezclas puede ser especialmente problemática con inhibidores débiles y TTPA solo ligeramente alargados. Para potenciar la sensibilidad del test, se ha propuesto realizar mezclas 4:1 de plasma del paciente con plasma normal, respectivamente (11), realizando el resto del test de la misma manera. También hay voces en contra de esta proporción de mezcla que alegan que la corrección de los tiempos puede ser inefectiva, lo que da lugar a una clasificación errónea del paciente (12) En la mezcla 4:1, Chang propone calcular el PC de la misma forma que la ya explicada, pero estableciendo el punto de corte en 50%, y obtiene una buena sensibilidad y especificidad a la hora de discriminar anticoagulantes y deficiencias de factor.

Aunque en ocasiones el test de mezclas orienta a inhibidores lúpicos, es necesario realizar un test de detección específico de AL, normalmente un dRVVT y ensayos con bajas concentraciones de fosfolípidos, con posteriores test confirmatorios.

En una serie de trabajos, Kumano y cols. (13) explican la utilidad del ICA para discriminar anticoagulante lúpico, déficit de factor, heparina e inhibidores al FVIII. Con un ICA inmediato permite diferenciar AL, de acción rápida, del resto, y con la diferencia entre un ICA inmediato y un ICA incubado 2 horas, discrimina los inhibidores del FVIII de acción lenta del resto.

La heparina puede alargar los tiempos de las pruebas generales de coagulación, especialmente el TTPA. Aunque muchos reactivos de TP y del FVIII cromogénico llevan algún bloqueador de la heparina, concentraciones de heparina mayores de 1 U/ml pueden dar tiempos alargados (14). Para discriminar la presencia de heparina se realiza un TT, que saldrá alargado, y un tiempo de reptilasa, que no se ve afectado. Si no se dispone de un tiempo de reptilasa, puede medirse la actividad de anti-Xa, que será positiva en presencia de heparina.

La presencia de AL puede dar lugar a falsos valores bajos de los factores de vía intrínseca. Para soslayar esta interferencia, pueden realizarse diluciones crecientes del plasma del paciente con tampón. Después, cuando se mide el factor, hay que multiplicar por el factor de dilución; si hay AL con las diluciones, se aprecia un incremento o normalización del factor de coagulación medido y, si hay déficit, no se aprecia este incremento.

Cuantificación

Ensayo Bethesda

Una vez se detecta un inhibidor de la coagulación, puede confirmarse y cuantificarse mediante el ensayo Bethesda. Tomando como ejemplos inhibidores del FVIII, en el ensayo Bethesda el plasma del paciente se diluye en serie con tampón imidazol. Cada dilución se mezcla con plasma normal en proporción 1:1 y se incuba 2 horas a 37 °C. Como control se diluye el plasma normal con tampón imidazol en proporción 1:1 y se incuba el mismo tiempo. Tras la incubación, se realiza una determinación de FVIII de las muestras y del control. De cada muestra se calcula la actividad residual (AR) respecto al control:

$$AR = \frac{FVIII:C \text{ muestra}}{FVIII:C \text{ control}} \times 100$$

Posteriormente se calcula la potencia del inhibidor en unidades Bethesda (UB/ml) siguiendo la fórmula:

$$UB = \frac{(2 - \log_{10} AR)}{\log_{10} 2} \times \text{factor de dilución}$$

Se define como 1 UB/ml la cantidad de inhibidor que, tras una incubación de 2 horas a 37 °C, da un AR del 50%.

Para AR inferiores a 25% o superiores a 75%, esta estimación deja de ser precisa y es necesario testar una dilución mayor o inferior, respectivamente. Para los resultados con AR entre 25 y 75%, el valor que se considera más preciso es aquel con una AR más cercana a 50%. Por definición, el límite para un inhibidor positivo es de 0,4 UB/ml, que es igual a una AR del 75%. Sin embargo, la comunidad internacional ha consensuado el umbral para un inhibidor de 0,6 UB/mL para reducir el número de falsos positivos.

El ensayo Bethesda puede aplicarse con pocas modificaciones a otros factores realizando un test funcional específico del factor estudiado. En estos casos, puede disminuirse el tiempo de incubación, pero no existe un consenso, y en la literatura podemos encontrar tiempos de incubación de una hora, 30 minutos o incluso 15 minutos. En el caso del FVW, al tener diversas funciones, puede ser necesario realizar un ensayo Bethesda para cada función.

Nijmegen-Bethesda

En algunos casos se han observado falsos positivos débiles en el rango de 0,4-1,0 UB/ml. Para solucionar esto, se desarrolló la modificación Nijmegen al ensayo Bethesda, que introduce dos cambios respecto al Bethesda original: tampona el plasma normal y sustituye el tampón de dilución por plasma deficiente en FVIII (15). Con esto se consigue, por una parte, evitar un incremento de pH en las muestras durante la incubación, que puede llegar a producir inactivación del FVIII, y, por otra parte, asemejar entre sí la concentración proteica total en todas las muestras. Posteriormente, se comprobó que sustituir el plasma deficiente por albúmina bovina diluida al 4% en tampón imidazol daba los mismos resultados abaratando el test (16). Con el Nijmegen-Bethesda, no solo se consigue evitar falsos positivos, sino también mejorar la variabilidad interlaboratorio (uno de los mayores problemas del ensayo Bethesda, aunque sigue lejos de ser satisfactoria).

Tratamiento previo por calor

Otra modificación que puede reducir la variabilidad consiste en calentar las muestras de plasma de paciente a 56 °C durante 1 hora antes de realizar las diluciones. Este tratamiento degrada

el factor endógeno residual sin afectar a los inhibidores. De otro modo, en muestras con niveles de FVIII > 5 UI/dL puede infraestimarse la cantidad de inhibidor presente, y es necesario tenerlo en cuenta a la hora de calcular los resultados.

Otros factores a tener en cuenta

La variabilidad de los ensayos Bethesda también está influenciada por el origen del plasma deficiente utilizado. Si bien pueden utilizarse tanto plasmas congénito deficientes, inmunodeplecionados o deplecionados, es esencial que el plasma sea realmente deficiente en el factor (< 1 UI/dL). No debería haber anticuerpos inhibidores en el plasma, y el contenido de FVW debe ser normal. Otro elemento influyente puede ser el contenido de FVIII del plasma normal, que debe ser tan cercano como sea posible a 100 UI/dl de FVIII.

Para la determinación del FVIII, puede utilizarse tanto el ensayo coagulante en un tiempo como el ensayo cromogénico. Sin embargo, se han descrito discrepancias en el rango de títulos de inhibidor bajos (17,18).

El método cromogénico es menos sensible al AL y a anticoagulantes orales directos. Sin embargo, como el método coagulativo se basa en el TTPA y es el más utilizado en los laboratorios, este es, generalmente, el método de preferencia.

El método de elección tiene especial relevancia en los pacientes tratados con emicizumab. El emicizumab es un anticuerpo recombinante biespecífico de FIXa y FX humanos. Poniendo ambos factores en contacto, se simula la acción del FVIIIa. En pacientes tratados con emicizumab, el ensayo Bethesda coagulativo no obtiene valores deficientes del FVIII y no se detecta el inhibidor. Sin embargo, en estos pacientes pueden utilizarse ensayos cromogénicos que utilicen FIXa y FX bovinos, ya que el emicizumab está dirigido específicamente contra factores humanos.

Inhibidores tipo 1 y tipo 2

En los inhibidores de tipo 1 hay una unión irreversible del anticuerpo con el factor, no coexiste inhibidor y factor circulante. En los inhibidores tipo 2 la unión es reversible. Puede coexistir inhibidor y factor. Esto hace que los resultados de la técnica sean más difíciles de interpretar. Los tipo 1 son típicos de la hemofilia congénita y los tipo 2, de la adquirida (19).

Interferencia de AL en ensayos Bethesda

La presencia de AL puede provocar una sobrestimación del título de inhibidor o un falso positivo. Para eliminar esta interferencia, puede utilizarse un TTPa con reactivos insensible al AL. El cromogénico, menos sensible al AL, también puede ser útil.

ELISA

También puede medirse la cantidad de inhibidores mediante un inmunoensayo de tipo ELISA. Las ventajas de este método sobre el Bethesda son que requiere un menor número de diluciones y tiene una mayor sensibilidad para detectar inhibidores de

bajo título (20). Sin embargo, esta sensibilidad está en entredicho porque puede dar lugar a falsos positivos que requieren una confirmación posterior por el ensayo Bethesda. Se ha visto que la sensibilidad del ELISA puede variar dependiendo del FVIII adherido al fondo del pocillo y de la presencia o no de FVW. El método ELISA detecta solo inmunoglobulinas de tipo G. Aunque la gran mayoría de los inhibidores de factor son de este tipo, la acción de otras inmunoglobulinas puede quedar sin detectar. Por último, cabe destacar que el ELISA detecta anticuerpos capaces de unirse al factor estudiado, pero no determina si estos tienen función inhibitoria o no (no neutralizantes). En el caso particular del FVW, el ELISA se considera poco fiable por la alta tasa de falsos positivos (1).

En la población general los inhibidores más frecuentes son los inespecíficos o de interferencia, como el AL; en los laboratorios ordinarios es recomendable disponer de técnicas sensibles para poder diagnosticarlos. La aparición de inhibidores específicos frente a un factor de coagulación es sumamente infrecuente, aunque suelen ser de gran trascendencia clínica por la gravedad de las manifestaciones hemorrágicas. Es importante tener a punto las diferentes técnicas, habitualmente basadas en test de mezclas, para poder diferenciar entre los dos tipos de inhibidor y, de esta forma, ofrecer un correcto tratamiento. En todos los casos, la clínica del paciente nos ayudará a enfocar y mejorar el diagnóstico. En el caso de pacientes con coagulopatías congénitas, los laboratorios suelen estar más especializados para la detección y cuantificación de los inhibidores específicos.

Bibliografía

1. Kershaw G, Favaloro EJ. Laboratory identification of factor inhibitors: an update. *Pathology* 2012;44(4):293-302.
2. Ehrenforth S, Kreuz W, Scharer I, et al. Incidence of development of factor VIII and factor IX inhibitors in haemophiliacs. *Lancet* 1992;339(8793):594-8.
3. Franchini M, Castaman G, Coppola A, et al. Acquired inhibitors of clotting factors: AICE recommendations for diagnosis and management. *Blood Transfus* 2015;13(3):498-513.
4. Collins W, Chalmers E, Hart D, et al. Diagnosis and management of acquired coagulation inhibitors: a guideline from UKHCDO. *Br J Haematol* 2013;162(6):758-73.
5. Keeling D, Mackie I, Moore GW, et al. Guidelines on the investigation and management of antiphospholipid syndrome. *Br J Haematol* 2012;157(1):47-58.
6. Mumford AD, O'Donnell J, Gillmore JD, et al. Bleeding symptoms and coagulation abnormalities in 337 patients with AL-amyloidosis. *Br J Haematol* 2000;110(2):454-60.
7. Boehlen F, Casini A, Chizzolini C, et al. Acquired factor XIII deficiency: a therapeutic challenge. *Thromb Haemost* 2013;109(3):479-87.
8. Mazodier K, Arnaud L, Mathian A, et al. Lupus anticoagulant-hypoprothrombinemia syndrome: report of 8 cases and review of the literature. *Medicine (Baltimore)* 2012;91(5):251-60.
9. Whelan SF, Hofbauer CJ, Horling FM, et al. Distinct characteristics of antibody responses against factor VIII in healthy individuals and in different cohorts of hemophilia A patients. *Blood* 2013;121(6):1039-48.
10. Chang SH, Tillema V, Scherr D. A "percent correction" formula for evaluation of mixing studies. *Am J Clin Pathol* 2002;117(1):62-73.

11. Ewing NP, Kasper CK. In vitro detection of mild inhibitors to factor VIII in hemophilia. *Am J Clin Pathol* 1982;77(6):749-52.
12. Brandt JT, Triplett DA, Alving B, et al. Criteria for the diagnosis of lupus anticoagulants: an update. On behalf of the Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibody of the Scientific and Standardisation Committee of the ISTH. *Thromb Haemost* 1995;74(4):1185-90.
13. Kumano O, Ieko M, Naito S, et al. New formulas for mixing test to discriminate between lupus anticoagulant and acquired hemophilia A. *Thromb Res* 2016;143:53-7. DOI: 10.1016/j.thromres.2016.05.004.
14. Funk DM. Coagulation assays and anticoagulant monitoring. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2012;2012:460-5. DOI: 10.1182/asheducation-2012.1.460.460-5
15. Verbruggen B, Novakova I, Wessels H, et al. The Nijmegen modification of the Bethesda assay for factor VIII:C inhibitors: improved specificity and reliability. *Thromb Haemost* 1995;73(2):247-51.
16. Verbruggen B, van Heerde W, Novakova I, et al. A 4% solution of bovine serum albumin may be used in place of factor VIII:C deficient plasma in the control sample in the Nijmegen modification of the Bethesda factor VIII:C inhibitor assay. *Thromb Haemost* 2002;88:362-4.
17. Favaloro EJ, Verbruggen B, Miller CH. Laboratory testing for factor inhibitors. *Haemophilia* 2014;20(Suppl.4):94-8. DOI: 10.1111/hae.12408.:94-8
18. Potgieter JJ, Damgaard M, Hillarp A. One-stage vs. chromogenic assays in haemophilia A. *Eur J Haematol* 2015;94(Suppl.77):38-44. DOI: 10.1111/ejh.12500.:38-44
19. Tiede A, Werwitzke S, Scharf RE. Laboratory diagnosis of acquired hemophilia A: limitations, consequences, and challenges. *Semin Thromb Hemost* 2014;40(7):803-11.
20. Siaka C, Rugeri L, Caron C, et al. A new ELISA assay for diagnosis of acquired von Willebrand syndrome. *Haemophilia* 2003;9(3):303-8.

El diagnóstico de las alteraciones de la coagulación en el ámbito materno-infantil

Berrueco Moreno R.

Servicio de Hematología Pediátrica. Hospital Sant Joan de Déu. Barcelona

Introducción

La correcta obtención y el procesamiento de las pruebas analíticas del laboratorio de hemostasia tienen una importancia crucial para el manejo de los pacientes. Además, existen situaciones fisiológicas, tanto en la infancia como durante la gestación, que deben conocerse de cara a evitar confusiones diagnósticas y tratamientos innecesarios.

El laboratorio de hemostasia en la infancia

La fase preanalítica

Al igual que en otras épocas de la vida, la fase preanalítica tiene una gran importancia en la edad pediátrica. La peculiaridad de pinchar a niños de corta edad obliga a que deba prestarse atención a pequeños detalles que favorezcan una punción venosa limpia y eviten situaciones de estrés que podrían afectar al resultado analítico: personal experimentado, un ambiente adecuado, la colaboración activa de los cuidadores o de los propios pacientes, sistemas de distracción... Por ejemplo, no es infrecuente que, especialmente en la época neonatal, se reciban muestras obtenidas de catéteres centrales (en los que la contaminación con heparina podría conllevar errores de interpretación). También debe evitarse la práctica de ejercicio físico intenso en los días previos a la realización de la analítica (1,2).

El lugar de la punción depende de la experiencia del personal, pero ante la sospecha clínica de una coagulopatía, deben evitarse aquellos lugares de difícil compresión postpunción. El tamaño mínimo de la aguja es de 25 G y está permitido el uso de palomitas (siempre que se descarte la parte inicial para asegurar que no se recoge ni el aire presente en el dispositivo ni el suero utilizado para purgarlo) (1).

En cuanto a los tubos de recolección de la muestra, existen tubos de menor tamaño (1-2 ml) útiles para la realización de pruebas de coagulación. Su limitación es que apenas se obtiene plasma sobrante para ampliar el estudio en caso de ser necesario. La proporción de anticoagulante es similar a la del adulto, pero debe adaptarse al hematocrito del paciente: < 25% - > 60%; situaciones frecuentes en hospitales con grandes unidades neonatales (anemia de la prematuridad, pseudopoliglobulia, poliglobulia secundaria a cardiopatías cianósicas y otros) (3).

La fisiología de la hemostasia en el recién nacido

La "hemostasia del desarrollo" explica el balance fisiológico que acontece a lo largo de la infancia entre proteínas procoagu-

lantes, los inhibidores naturales, la fibrinólisis y las plaquetas (4). Algunos de los puntos principales a tener en cuenta son (Fig. 1):

La cifra de plaquetas al nacimiento está en un rango normal o elevado.

- Los factores de la coagulación no atraviesan la placenta, son sintetizados por el feto a partir de la semana 10 de gestación. Los factores vitamina K dependientes (II, VII, IX y X), el FXII, FXI, precalicreína y el cininógeno de alto peso molecular están disminuidos al nacimiento (aproximadamente al 50% de la normalidad), pero aumentan hasta normalizarse a los 6 meses de edad. El FVIII, FV, fibrinógeno y FXIII presentan valores normales al nacimiento.
- La deficiencia de los factores de la coagulación conlleva una menor capacidad de producción de trombina que queda compensada, a su vez, por una menor concentración de los mecanismos de inhibición natural: antitrombina (AT), proteína C (PC) y proteína S (PS).
- Para compensar la menor producción de trombina, la capacidad fibrinolítica del recién nacido es menor que la del adulto.
- Por último, la menor producción de plasmina está equilibrada por una menor inhibición.

La comprensión de estas diferencias es esencial para interpretar correctamente los estudios analíticos realizados en este periodo. Por ejemplo, un recién nacido presenta un alargamiento del TTPa fisiológico a esta edad que, tan solo unos meses más tarde, puede estar poniendo en evidencia algún tipo de patología subyacente. Otro ejemplo a recordar es que un nivel disminuido de FIX en la época neonatal no necesariamente supone el diagnóstico de una hemofilia B leve (incluso aún si hay antecedentes familiares); deberá comprobarse más adelante.

Durante años se ha postulado que estos cambios se debían a inmadurez hepática, pero el estudio de pacientes pediátricos sometidos a un trasplante hepático de donante adulto puso de manifiesto que estos niños presentaban un perfil hemostático similar a lo esperable para su edad, por lo que el hígado no parece estar involucrado en la regulación de la hemostasia durante el desarrollo (5). De hecho, se sabe que el sistema hemostático está involucrado en la respuesta inmune, la respuesta inflamatoria, la angiogénesis y la cicatrización. Así, es probable que las diferencias en la fisiología se expliquen, en parte, por este motivo: por ejemplo, dado que la antitrombina es un potente antiangiogénico, unos valores bajos durante la época fetal favorecerían el correcto desarrollo del feto (7).

La Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia (ISTH) recomienda que cada laboratorio defina sus propios ran-

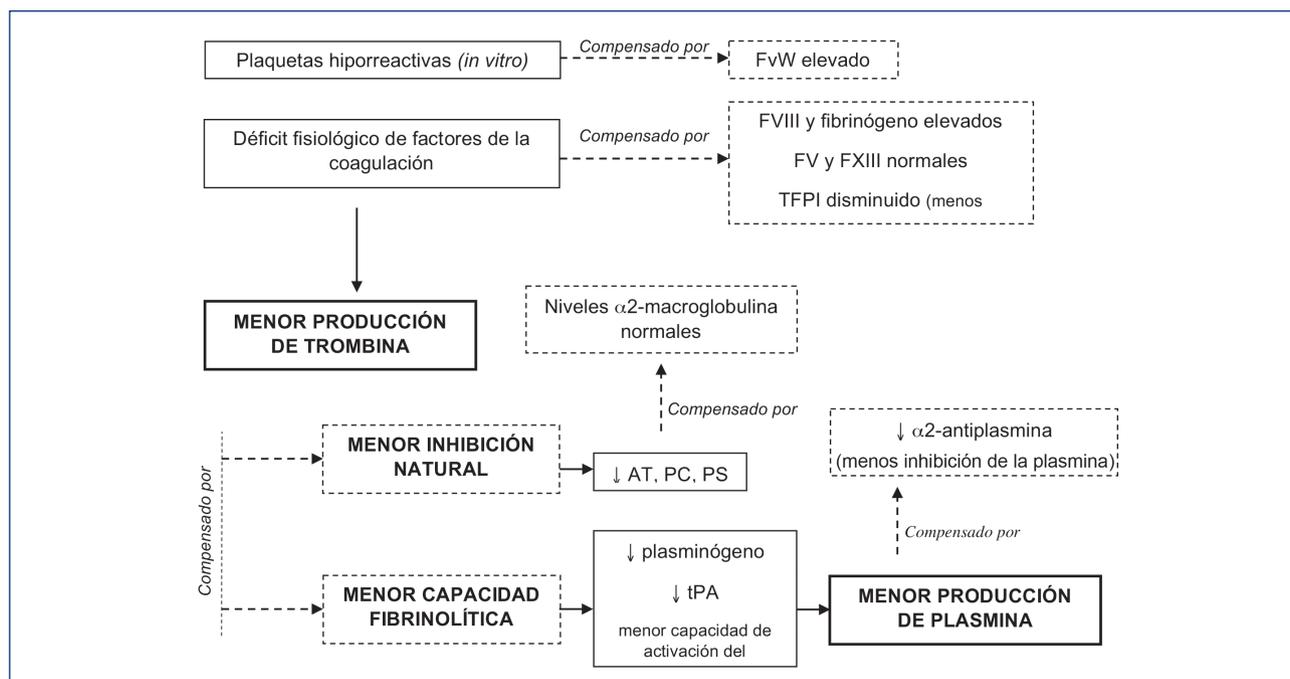


Figura 1. Esquema del balance hemostático del recién nacido.

gos de normalidad ajustados a la edad del paciente, utilizando sus propias condiciones técnicas. La [tabla I](#) muestra los principales valores de referencia para los estudios de coagulación en la edad pediátrica (4,6).

La fisiología de la hemostasia en el prematuro

La evaluación de las pruebas de coagulación en el prematuro conlleva dificultades añadidas: la obtención de la muestra, que debe ser extraída de catéteres venosos centrales y es posible que se vea afectada por la presencia de heparina, la necesidad de una cantidad elevada de sangre o la falta de valores de referencia que, además, se complica todavía más si se tiene en cuenta la dificultad para establecer cuándo un recién nacido pretérmino es “sano”. La [tabla II](#) muestra los resultados de dos estudios realizados en esta población que podrían ser utilizados para orientarnos a este respecto (8,9).

La correcta valoración de las pruebas de coagulación, además, ha de basarse en la existencia de clínica, pues el riesgo potencial de hemorragias graves en esta población (en especial la hemorragia intraventricular) favorece la tendencia, no justificada en muchos casos, de administrar plasma tras la valoración de un estudio de rutina (8-10).

La vitamina K durante la infancia

La vitamina K es una vitamina liposoluble necesaria para la síntesis de factores II, VII, IX, X e inhibidores de la coagula-

ción (proteína C y proteína S). Como ya se ha comentado, existe una disminución fisiológica de los valores de estas proteínas en el periodo neonatal. Sin embargo, un déficit grave de vitamina K genera una alteración de la hemostasia con presencia de clínica (desde hematomas hasta hemorragias graves). A nivel analítico, el paciente presenta un alargamiento del TP aislado en el momento inicial, que asociará un alargamiento del TTPa en los casos más graves (4). En el recién nacido, su déficit comprende tres formas clínicas ([Tabla III](#)).

Durante el resto de la edad pediátrica, las proteínas dependientes de vitamina K están disminuidas hasta en un 20% de manera fisiológica. Este hecho se prolonga hasta la adolescencia, por lo que no es infrecuente el hallazgo de pequeños alargamientos del TP en la práctica clínica habitual. Este déficit puede exacerbarse, además, tras la administración de antibióticos, infecciones gastrointestinales de repetición, disfunción hepática, por la falta de aporte, administración de tratamiento anticoagulante oral y la ingesta accidental de raticidas, entre otros motivos.

El diagnóstico diferencial del déficit de vitamina K incluye el déficit congénito de factor VII de la coagulación y la hepatopatía, entidad en la que la coagulopatía se explica por el papel del hígado en la síntesis de la mayoría de las proteínas implicadas en la coagulación. La ausencia de respuesta a la vitamina K, junto con una deficiencia de factores no vitamina K dependientes (especialmente el factor V), apoyará este diagnóstico.

En los casos leves (la gran mayoría), antes de ampliar el estudio con estudios de mezclas o dosificación de factores, la actitud recomendada es la administración de vitamina K (0,3 mg/kg cada

Tabla I. Rangos de referencia ajustados a la edad del paciente para las pruebas básicas de coagulación, factores de la coagulación y principales anticoagulantes naturales (2)

	Día 1	Día 3	1 mes - 1 año	1-5 años	6-10 años	11-16 años
TTPa (seg)	38,7 (34,3-44,8)	36,3 (29,5-42,2)	39,3 (35,1-46,3)	37,7 (33,6-43,8)	37,3 (31,8-43,7)	39,5 (33,9-46,3)
TP (seg)	15,6 (14,4-16,4)	14,9 (13,5-16,4)	13,1 (11,5-15,3)	13,3 (12,1-14,5)	13,4 (11,7-15,1)	13,8 (12,7-16,1)
INR	1,26 (1,15-1,35)	1,20 (1,05-1,35)	1,00 (0,86-1,22)	1,03 (0,92-1,14)	1,04 (0,87-1,20)	1,08 (0,97-1,30)
Fibrinógeno (g/l)	2,80 (1,92-3,74)	3,30 (2,83-4,01)	2,42 (0,82-3,83)	2,82 (1,62-4,01)	3,04 (1,99-4,09)	3,15 (2,12-4,33)
FII (%)	54 (41-69)	62 (50-73)	90 (62-103)	89 (70-109)	89 (67-110)	90 (61-107)
FV (%)	81 (64-103)	122 (92-154)	113 (94-141)	97 (67-127)	99 (56-141)	89 (67-141)
FVII (%)	70 (52-88)	86 (67-107)	128 (83-160)	111 (72-150)	113 (70-156)	118 (69-200)
FVIII (%)	182 (105-329)	159 (83-274)	94 (54-144)	110 (36-185)	117 (52-182)	120 (50-200)
FIX (%)	48 (35-56)	72 (44-97)	71 (43-121)	85 (44-127)	96 (48-145)	111 (64-216)
FX (%)	55 (46-67)	60 (46-75)	95 (77-122)	98 (72-125)	97 (68-125)	91 (53-122)
FXI (%)	30 (7-41)	57 (24-79)	87 (62-125)	113 (65-162)	113 (65-162)	111 (65-139)
FXII (%)	58 (43-80)	53 (14-80)	79 (20-135)	85 (36-135)	81 (26-139)	75 (14-117)
AT (%)	76 (58-90)	74 (60-89)	109 (72-134)	116 (101-131)	114 (95-134)	111 (96-126)
PC (%)	36 (24-44)	44 (28-54)	71 (31-112)	96 (65-127)	100 (71-129)	94 (66-118)
PS (%)	36 (28-47)	49 (33-67)	102 (29-162)	101 (67-136)	109 (64-154)	103 (65-140)

Tabla II. Resultados de las pruebas de coagulación en recién nacidos pretérmino obtenidos en los estudios de Neary y cols. y Christensen y cols.

Neary y cols. (8) Sangre obtenida de catéter venoso no heparinizado		Christensen y cols. (9) Sangre obtenida de cordón umbilical			
	23-24 semanas	25-26 semanas		< 28 semanas (n = 24)	28-34 semanas (n = 144)
TP (seg)	n = 49	n = 95	TP (seg)		
Media ± DE	22,63 ± 7,0	20,96 ± 0,42	Percentil 5	14,5	13,9
Mediana (rango)	22,25 (13,9-39)	22,3 (13,3-31,4)	Percentil 95	20,9	20,6
TPPa (seg)	n = 45	n = 91	TPPa (seg)		
Media ± DE	82,62 ± 37,2	71,59 ± 21,0	Percentil 5	27	30
Mediana (rango)	79,45 (34,9-191,6)	79,7 (40,2-131,3)	Percentil 95	64	57
Fibrinógeno (g/l)	n = 25	n = 55	Fibrinógeno (mg/dl)		
Media ± DE	1,99 ± 1,37	1,79 ± 1,02	Percentil 5	71	87
Mediana (rango)	1,3 (0,5-4,8)	1,37 (0,7-4,8)	Percentil 95	535	470

Tabla III. Formas clínicas de la enfermedad hemorrágica del recién nacido			
	Precoz	Clásica	Tardía
Clínica	Primeras 24 horas	2-7 días vida	4-12 semanas
Antecedente	Madre en tratamiento con anticomiciales, warfarina, cefalosporinas, rifampicina, isoniacida	Lactancia materna exclusiva. Ingesta pobre. No administración de profilaxis	Malabsorción intestinal, enfermedad hepática subyacente, tratamiento antibiótico de amplio espectro
Profilaxis		Vitamina K, 1 mg intramuscular tras el parto*	
Tratamiento	Vitamina K ev 1 mg En caso de hemorragia grave: complejo protombínico 20-25 UI/kg		

*También existe pauta por vía oral: 2 mg al nacimiento, repetir dosis a la semana y al mes de vida. Algunos autores apoyan la administración subcutánea ante la sospecha de coagulopatía.

dosis, con un máximo de 10 mg) por vía intramuscular u oral (esta última si no hay problema de absorción). La respuesta se obtiene en torno a las 12-24 horas. En los casos más graves en los que el paciente presenta clínica hemorrágica grave o si precisa de una cirugía urgente, puede administrarse plasma fresco (15 ml/kg), aunque la recomendación más actual aboga por la administración de complejo protombínico (25-50 UI/kg/dosis) (11).

La utilidad de los tiempos de obturación en la infancia

Los tiempos de obturación se realizan mediante el PFA-100® o el más moderno PFA-200®. Estos instrumentos utilizan cartuchos que contienen una membrana revestida de colágeno/ADP o colágeno/epinefrina, con una pequeña apertura central. La sangre citratada es aspirada hasta membrana, monitorizando el flujo de sangre a través de la apertura. Las plaquetas comienzan a adherirse y a agregarse hasta que se produce la oclusión total de la apertura (entre 1 y 3 minutos desde que se inicia el test).

Su realización es relativamente simple, rápida y fácil de aprender. Además, precisa de un volumen de sangre muy inferior (1,6 ml) al necesario para la realización de un estudio de agregación plaquetaria (10-20 ml), por lo que algunos autores entienden que puede ser útil en el cribado en niños con sospecha de enfermedad de Von Willebrand o plaquetopatías. Sin embargo, no hay datos concluyentes acerca de su utilidad en la edad pediátrica (12).

En la edad neonatal, los tiempos de obturación son más cortos que en otras edades (que parece correlacionar con el hematocrito elevado y los valores más altos de factor Von Willebrand). Durante el resto de la infancia, los valores de normalidad son similares a los del adulto, por lo que podrían utilizarse como cribado de la enfermedad de Von Willebrand y algunos defectos plaquetarios graves, como una trombostenia de Glanzmann o una enfermedad de Bernard-Soulier. No obstante, este test no es útil para descartar la presencia de trombopatías leves o moderadas, así como para algunos pacientes afectados de enfermedad de Von Willebrand. Ade-

más, en ningún caso sería diagnóstico por sí solo ni es específico de ninguna alteración en concreto. Su uso correcto precisa de una historia clínica completa y de un estudio analítico que incluya un hemograma, el estudio de la enfermedad de Von Willebrand u otros test de funcionalismo plaquetar (12,13).

El valor del dímero D en la edad pediátrica

El dímero D es un producto de la degradación de la fibrina. Si bien su utilidad para el diagnóstico del embolismo pulmonar en la edad adulta está bien establecida (14), esto no ocurre en la edad pediátrica. De hecho, su interpretación en niños puede confundir al clínico, pues puede encontrarse elevado en procesos víricos, inflamatorios, en la sepsis, picaduras y reacciones urticariales. Así, el único escenario en el que podría ser útil, de acuerdo con varias publicaciones recientes, sería el cribado de embolismo pulmonar en adolescentes, si bien el punto de corte debería establecerse en 750 ng/ml (14,15).

El anticoagulante lúpico en la infancia

Los anticuerpos antifosfolípidos comprenden un grupo heterogéneo de inmunoglobulinas dirigidas frente a diferentes complejos fosfolípidos que, además, se caracterizan por prolongar los tiempos de las pruebas de coagulación *in vitro* (aunque este hallazgo es más sensible con unos reactivos que con otros). Su presencia se ha relacionado con trombosis venosa y arterial, pérdidas fetales, trombocitopenia y anemia autoinmunes.

La relevancia de un resultado positivo para el anticoagulante lúpico en niños no está clara, puesto que en la mayoría de casos se trata de hallazgos incidentales, transitorios y sin repercusión clínica (16).

En caso de sospechar un síndrome antifosfolípido, es importante solicitar un estudio completo que incluya: anticoagulante lúpico, anticardiolipinas IgG e IgM y beta2-glicoproteínas IgG e IgM. El manejo de estos pacientes se resume en la [tabla IV](#).

Tabla IV. Actitud ante el hallazgo de anticoagulante lúpico positivo en pediatría

Situación clínica	Actitud
Paciente asintomático	Seguimiento sin tratamiento. Repetir el estudio a las 6-12 semanas para demostrar que es un problema transitorio
Episodio trombótico	Prolongar el tratamiento durante 6 meses con heparina de bajo peso molecular o antagonistas de la vitamina K. Repetir el estudio a las 6-12 semanas para demostrar que no es un problema transitorio
Trombosis de repetición	Tratamiento anticoagulante indefinido con antagonistas de la vitamina K. Repetir el estudio a las 6-12 semanas para demostrar que no es un problema transitorio
Trombopenia inmune	Tratamiento similar a los pacientes con anticoagulante lúpico negativo. Repetir el estudio a las 6-12 semanas para demostrar que no es un problema transitorio
Anemia hemolítica inmune	Tratamiento similar a los pacientes con anticoagulante lúpico negativo. Repetir el estudio a las 6-12 semanas para demostrar que no es un problema transitorio

El laboratorio de hemostasia durante el embarazo

La hemostasia durante el embarazo también sufre cambios fisiológicos que han de conocerse. En este caso, el aumento del nivel de estrógenos conlleva una situación de hipercoagulabilidad orientada a prevenir el sangrado posparto (17,18).

Por lo general, una embarazada tendrá una cifra de plaquetas entre $150-450 \times 10^9/l$. Un recuento de plaquetas inferior a $150 \times 10^9/l$ es relativamente frecuente durante el embarazo (7-12%). Sin embargo, en la mayoría de las ocasiones esto no comportará ningún tipo de patología.

Por otra parte, los tiempos de coagulación están discretamente acortados debido a un aumento de la mayoría de los factores de la coagulación. Los factores II, V y IX no se modifican durante el embarazo, el factor XI tiende a disminuir, según refieren algunos autores, y el factor XIII aumenta durante el primer trimestre, aunque posteriormente disminuye hasta el 50%.

El factor Von Willebrand también aumenta a lo largo del embarazo, por lo que pacientes afectas de una enfermedad de Von Willebrand (especialmente en el tipo 1) deben ser valoradas en el tercer trimestre para establecer las recomendaciones de cara al parto.

El aumento de los factores procoagulantes se acompaña de una disminución de la PS (no así de la PC y la AT), de modo que algo más de la mitad de las embarazadas desarrollan una resistencia a la proteína C activada.

Por último, también se ha descrito una activación mantenida de la coagulación que se acompaña de un incremento simultáneo de la fibrinólisis, aunque sin que esto produzca patología.

Todos estos cambios aumentan conforme progresa el embarazo hasta el parto, momento en el que se produce un consumo de plaquetas y de factores de la coagulación. El incremento de la fibrinólisis tras el nacimiento y la expulsión de la placenta produce un aumento de los niveles de dímero D que no tendrán repercusión clínica. Todos estos cambios son autolimitados y se normalizan entre 4 y 6 semanas tras el parto. Así, no se recomendaría evaluar la hemostasia hasta más allá de los 3 meses tras el parto.

Consideraciones finales

Conocer las peculiaridades marcadas por la hemostasia del desarrollo es importante no solo a la hora de interpretar los resultados, sino también a la hora de establecer nuestra conducta. Esto nos ayudará a responder no solo a qué pacientes habremos de tratar, sino también de qué manera, estableciendo como objetivos del tratamiento aquellos que se adecuen a la situación fisiológica en cada momento de la vida.

Bibliografía

- Lippi G, Favaloro EJ. Preanalytical issues in hemostasis and thrombosis testing. *Methods Mol Biol* 2017;1646:29-42.
- McCraw A, Hillarp A, Echenagucia M. Considerations in the laboratory assessment of haemostasis. *Haemophilia* 2010;16:74-8.
- Monagle P, Ignjatovic V, Savoia H. Hemostasis in neonates and children: pitfalls and dilemmas. *Blood Rev* 2010;24:63-8.
- Hanmod SS, Jesudas R, Kulkarni R, et al. Neonatal hemostatic disorders: issues and challenges. *Semin Thromb Hemost* 2016;42:741-51.
- Lisman T, Platto M, Meijers JC, et al. The hemostatic status of pediatric recipients of adult liver grafts suggest that plasma levels of hemostatic proteins are not regulated by the liver. *Blood* 2011;117:2070-2.
- Monagle P, Barnes C, Ignjatovic V, et al. Developmental haemostasis. Impact for clinical haemostasis laboratories. *Thromb Haemost* 2006;95:362-72.
- Monagle P, Massicotte P. Developmental haemostasis: secondary haemostasis. *Semin Fetal Neonatal Med* 2011;16:294:300.
- Neary E, Okafor I, Al-Awaysheh F, et al. Laboratory coagulation parameters in extremely premature infants born earlier than 27 gestational weeks upon admission to a neonatal intensive care unit. *Neonatology* 2013;104:222-7.
- Christensen RD, Baer VL, Lambert DK, et al. Reference intervals for common coagulation tests of preterm infants (CME). *Transfusion* 2014;54:627-32.
- Neary E, Ni Ainle F, Cotter M, et al. Coagulation values in extreme premature infants. *Transfusion* 2014;54:2134.
- Liesner R. Management of coagulation disorders in children. *Pediatrics and Child Health* 2007;17:322-7.

12. Harrison P. The role of PFA-100® testing in the investigation and management of haemostatic defects in children and adults. *Br J Haematol* 2005;130:3-10.
13. O'Brien SH. An update on pediatric bleeding disorders: bleeding scores, benign joint hypermobility, and platelet function testing in the evaluation of the child with bleeding symptoms. *Am J Hematol* 2012;87:S40-S4.
14. Kanis J, Pike J, Hall CL, et al. Clinical characteristics of children evaluated for suspected pulmonary embolism with D-dimer testing. *Arch Dis Child* 2018;103:835-40.
15. Sharaf N, Sharaf VB, Mace SE, et al. D-dimer in adolescent pulmonary embolism. *Acad Emerg Med* 2018. [Epub ahead of print].
16. Briones M, Abshire T. Lupus anticoagulants in children. *Curr Opin Hematol* 2003;10:375-9.
17. Katz D, Beilin Y. Disorders of coagulation in pregnancy. *Br J Anaesth* 2015;115:ii75-88.
18. Thornton P, Douglas J. Coagulation in pregnancy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2010;24:252-339.

CS-017. Diferencias en la generación de trombina en pacientes con anticoagulante lúpico sin antecedente trombótico en función de su grado de positividad y de la presencia o no de anticuerpos anti-beta2 glicoproteína*

Velasco Rodríguez D, García Raso A, Vidal Laso R, Martín Herrero S, Jiménez Barral E, Alonso Domínguez JM, Blas López C, López Romero L, de la Plaza Rodríguez R, Mínguez Mínguez D, García López A, Martínez Becerra MJ, Vegas Sánchez MC, Guzmán López K, Téllez Pérez R, Llamas Sillero P

Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz, Madrid

*Comunicación oral seleccionada para simposio.

Introducción

El anticoagulante lúpico (AL) es la interferencia producida *in vitro* por un grupo heterogéneo de autoanticuerpos que prolongan uno o varios tiempos de coagulación dependientes de fosfolípidos. A pesar de alargar dichos tiempos, no se asocian a complicaciones hemorrágicas. Al contrario, pueden asociarse de forma significativa a eventos tromboembólicos y/o complicaciones gestacionales recurrentes. Estos anticuerpos se dirigen directa y específicamente contra una variedad de proteínas de unión a fosfolípidos o a sus cofactores; su principal diana es la β 2-glicoproteína I (β 2GPI). Los AL con Ac anti- β 2GPI tienen mayor riesgo trombótico que los AL sin anti- β 2GPI. Se ha estudiado el test de generación de trombina en pacientes con síndrome antifosfolípido, pero apenas hay datos en AL sin antecedente trombótico.

Métodos

Estudio caso-control, prospectivo, comparativo y transversal de 109 individuos con anticoagulante lúpico sin antecedente trombótico no anticoagulados ni antiagregados. Se incluyeron, además, 25 controles sanos, sin AL, sin enfermedades crónicas o inflamatorias, con estudio básico de coagulación normal, sin tratamiento antitrombótico. En todos ellos se realizó un estudio de trombofilia hereditaria, que fue negativo. El estudio de AL se llevó a cabo mediante 2 test: dRVVT (*cut-off* 1,2) y *Silica clotting time* (*cut-off* 1,3). En cuanto a la intensidad del AL, consideramos la positividad débil, moderada o fuerte si el ratio de dRVVT y/o Silica fue < 1,5, 1,5-1,9 o = 2, respectivamente. Se estudiaron los Ac. Anti- β 2GPI y anticardioplipina mediante quimioluminiscencia. A todos ellos se les realizó un TGT en el analizador STG-Genesisii (Stago), utilizando el reactivo ThromboScreen sin trombomodulina (TM) y con TM. Parámetros analizados: *lag time* (tiempo que tardan en empezar a formarse las primeras

trazas de trombina); *peak height* (cantidad máxima de trombina generada en un momento dado); *time to peak* (tiempo en alcanzar el pico máximo); *Vel.index* (velocidad máxima de producción); *ETP* (potencial endógeno de trombina, cantidad neta, área bajo la curva); *start tail* (tiempo en el que se acaba de inhibir toda la trombina generada) y *ETP%inh* (porcentaje de inhibición del ETP al añadir TM). Las variables con distribución normal se describen con media y desviación típica y se comparan con la prueba ANOVA de un factor. Las variables con distribución no normal se describen con mediana y rango intercuartil y se comparan con la prueba de Kruskal-Wallis. La normalidad se ha contrastado con la prueba de Kolomogorov-Smirnov. Se consideraron estadísticamente significativos valores de $p < 0,05$. El estudio estadístico se llevó a cabo utilizando el programa SPSS versión 19.0 para Windows (SPSS, Chicago, IL, Estados Unidos).

Resultados

Las diferencias en parámetros del TGT en función del grado de positividad del AL se resumen en la tabla I. Las diferencias en parámetros del TGT en función de si el AL se asocia o no a la presencia de anti- β 2GPI se resumen en la tabla II.

Conclusiones

A medida que aumenta la intensidad del AL se observa un tiempo de latencia significativamente mayor, se tarda más en alcanzar el pico máximo de trombina y hay un menor *ETP%inh* (es decir, una mayor resistencia al sistema de la TM/proteína C activada). Las mismas diferencias y en los mismos parámetros se han observado en pacientes con AL y anti- β 2GPI. El riesgo trombótico de los pacientes con AL no parece estar producido por una mayor cantidad de trombina generada sino por un aumento de la resistencia a la proteína C activada.

*Comunicación oral seleccionada para simposio.

Sesión Plenaria

Coordinadores: **Dr. Jorge Sierra Gil**

Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona

Dr. José A. Páramo Fernández

Clínica Universidad de Navarra. Pamplona

Dr. José A. Pérez Simón

Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla

Dra. M.^a Eva Mingot Castellano

Hospital Regional Universitario de Málaga. Málaga

SP 001 Predisposición germinal en síndromes mielodisplásicos en adulto joven sin disfunción orgánica previa: nuevo hallazgo de variantes deletéreas en genes responsables de la inestabilidad de microsatélites

Chen-Liang TH¹, Hurtado AM¹, Zurdo M¹, Such E², Palomo L³, Jiménez-Lorenzo MJ⁴, del Orbe R⁵, Navarro B⁶, López-Cadenas F⁷, Salido E⁸, Benet C⁹, Muiña B¹⁰, Oña R¹¹, de Haro N¹², Ramos F¹², Hernández F¹³, Ortuño FJ¹, Senent L², Vicente A², Díez-Campelo M⁷, Hermosín L¹⁴, Bernal T¹⁵, Tormo M⁶, Arrizabalaga B⁵, Xicoy B⁴, Solé F³, Sanz G², Jerez A¹, en representación del GESMD

¹Hospital Morales Meseguer. IMIB Murcia. ²Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia. ³Josep Carreras Leukaemia- Research Institute. ICO-Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona, Barcelona. ⁴Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona, Barcelona. ⁵Hospital Universitario Cruces. Barakaldo, Vizcaya. ⁶Hospital Clínico Universitario. Instituto de Investigación INCLIVA. Valencia. ⁷Hospital Clínico Universitario de Salamanca. Salamanca. ⁸Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia. ⁹Hospital Universitari Arnau de Vilanova. Valencia. ¹⁰Hospital Rafael Méndez. Lorca, Murcia. ¹¹MD Anderson Cancer Center. Madrid. ¹²Hospital de León. León. ¹³Hospital Virgen de las Nieves. Granada. ¹⁴Hospital Universitario de Jerez. Jerez de la Frontera, Cádiz. ¹⁵Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo

Introducción: La entidad definida por la OMS2017 como neoplasias mieloides con predisposición germinal sin disfunción orgánica previa es particularmente interesante dentro de los síndromes mielodisplásicos (SMD) por dos razones principales: i) en la enfermedad mieloides derivada de insuficiencias medulares congénitas, algunas estrategias terapéuticas (tipo de régimen de acondicionamiento, por ejemplo) están definidas; no así en el grupo de pacientes jóvenes con SMD portadores de variantes germinales que son, precisamente, candidatos a trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos, ii) es un grupo de pacientes relativamente importante en número, que supera a los casos secundarios a insuficiencia medular congénita y en el que las implicaciones de consejo genético a pacientes y familiares están por definir y no se han abordado en el momento del diagnóstico del SMD.

Métodos: Se realizó exoma completo mediante Hi-Seq4000-NovaSeq6000-Illumina en muestras pareadas tumor-germinal de 102 pacientes de 15 centros del GESMD, con diagnóstico de novo de SMD entre 16-60 años, sin disfunción orgánica previa (profundidad media 100x, 150 millones de lecturas por muestra, calidad Q30a > 95%). El análisis de las variantes se llevó a cabo mediante pipeline propio: eliminando intrónicas, sinónimas y aquellas con frecuencia en la población > 1%. Para determinar patogenicidad se utilizaron 5 algoritmos (CADD, SIFT, Polyphen2, GAVIN, FATHMM).

Resultados: En 102 pacientes, la edad mediana al diagnóstico fue de 49 años (16-60) con los diagnósticos OMS2017: 10% SMD-displasia unilínea (DU), 9% SMD-sideroblastos en anillo (SA), 34,3% SMD con displasia multilínea (DM), 29,8% SMD-exceso de blastos (EB), 3% SMD-delección aislada-5q, 1,3% SMD-inclasificable, 11,9% leucemia mielomonocítica crónica (LMMC). Para determinar el carácter deletéreo/patogénico de la variante adoptamos criterios conservadores: ser considerada deletérea en la mayoría de los algoritmos y presentar un score CADD > 20. Encontramos variantes germinales deletéreas/patogénicas en 42 de 102 pacientes. Las fre-

cuencias en genes no descritos como predisponentes de SMD fueron: MSH6 (n = 4; 3,9%), ATR (n = 2; 1,9%), PMS2 (n = 2; 1,9%), MLH1 (n = 2; 1,9%), HCLS1 (n = 2; 1,9%), ITGB3 (n = 2; 1,9%), LYST (n = 2; 1,9%). En genes ya descritos como predisponentes de SMD las frecuencias fueron: ERCC6L2 (n = 3; 2,9%), SAMD9 (n = 1; 0,9%), MPL (n = 1; 0,9%), DDX41 (n = 1; 0,9%), CTC1 (n = 1; 0,9%) y 4 casos en genes relacionas con la anemia de Fanconi (FANCC, FANCD2, FANCG y FANCM). Nos centramos en la caracterización de las variantes halladas en cuatro genes no descritos hasta la fecha como predisponentes en SMD: ATR, MSH6, MLH1 y PMS2, implicados en la inestabilidad de los microsatélites y cuya alteración determina inestabilidad genómica. La frecuencia de pacientes portadores de estas variantes (9,8%) es muy superior a las variantes ya consideradas por la OMS en este tipo de pacientes: DDX41 (0,9%). Además de las 4 mutaciones en MSH6 consideradas deletéreas, encontramos otras 2 variantes que fueron descritas como benignas. Los diez pacientes portadores de estas mutaciones se caracterizaban por una edad mediana de 45 (16-65) años con los siguientes diagnósticos, 30% SMD-DM, 30% SMD-EB y 40% LMMC, presentando hasta el 50% estudio medular de tipo hipocelular (Figs. 1,2).

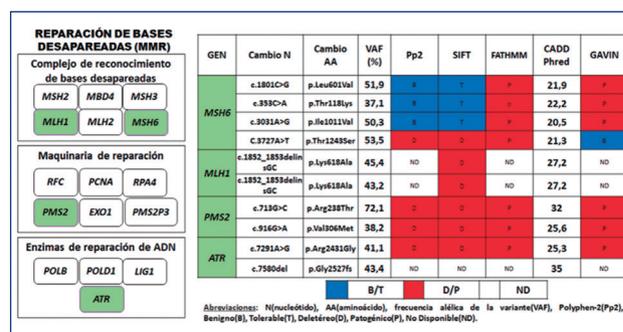


Figura 1. En el panel de la izquierda aparece una representación esquemática de los elementos que componen la vía de reparación de ADN Mismatch (MMR). En verde se muestran los elementos en los que hemos encontrado las variantes germinales deletéreas. En el panel de la derecha, resultados de los distintos algoritmos de patogenicidad de las variantes encontradas en MMR.

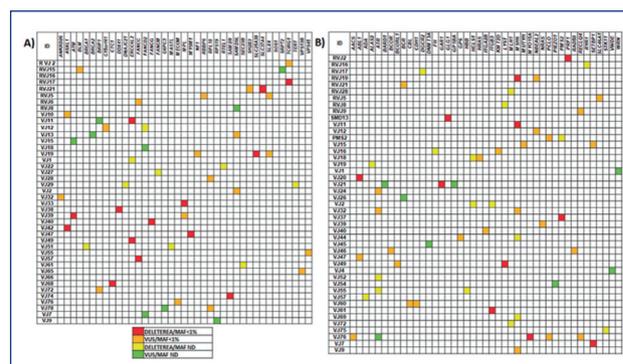


Figura 2. Representación por paciente de las variantes germinales encontradas en genes descritos como predisponentes a neoplasia mieloides (A) y de las variantes germinales encontradas en genes no asociados a neoplasia mieloides (B).

Conclusiones: Describimos, por primera vez, una elevada frecuencia de variantes germinales en genes que dirigen la inestabilidad genómica mediante la modulación del sistema de microsatélites, MSH6, ATR, MLH1 y PMS2, en SMD en adultos jóvenes sin disfunción orgánica previa. Su frecuencia y su elevado índice de patogenicidad en los distintos algoritmos usados, los hacen emerger como potenciales candidatos para ser incluidos en la reciente categoría de la OMS de neoplasias mieloides sin disfunción orgánica previa y a ser considerados en las estrategias clínicas, terapéuticas y de consejo genético.

Financiación: P116/01302 ISCIII, P118/01472 ISCIII, GVA/2018/004, CB16/12/00284 (CIBERONC), P117/0575 ISCIII.

SP 002 El nicho mesenquimal de la médula ósea regula el balance redox en células madre de la leucemia mieloide aguda

Viñado-Solanas AC¹; Calvo-Arnedo I¹; Cenzano-Armendáriz I¹; Rifón JJ²; Prosper F²; Sáez B¹

¹Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA). Pamplona. ²Clinica Universidad de Navarra. Pamplona

A pesar de la creciente evidencia sobre la importancia del nicho de las células madre hematopoyéticas (HSC) en el proceso de transformación neoplásica, la identidad celular del nicho y su contribución al desarrollo y progresión de la leucemia mieloide aguda (LMA) sigue sin resolverse. Al igual que las HSC, las células iniciadoras de leucemia (LICs) residen en el nicho de la médula ósea (MO), que proporciona señales que controlan su mantenimiento y localización. Una molécula de especial relevancia para el mantenimiento de las HSC es Cxcl12. Cxcl12 es una quimioquina producida por múltiples componentes del nicho de la MO, incluidas las células endoteliales, células mesenquimales perivasculares y células del linaje óseo. Si bien los niveles de Cxcl12 en la médula ósea de los pacientes con LMA no han sido evaluados formalmente, la sobreexpresión de Cxcr4 (principal receptor de Cxcl12) en blastos leucémicos se asocia con un pronóstico desfavorable. Asimismo, la inhibición del eje CXCL12-CXCR4 contribuye a la sensibilización de las células leucémicas a la quimioterapia, potencialmente mediante la prevención del efecto protector de la interacción de estas células leucémicas con su estroma. Estas evidencias sugieren que el eje CXCL12-CXCR4 es uno de los factores críticos en la interacción leucemia-estroma y, por consiguiente, su inhibición puede suponer un atractivo tratamiento en la LMA. Sin embargo, muchos de los aspectos fundamentales de la interacción LIC-estroma en la MO a través del eje CXCL12-CXCR4, como son: 1) el mecanismo celular y molecular por el cual CXCL12 ejerce su papel protector en la LMA *in vivo*; 2) la fuente celular de CXCL12 en la MO y 3) si CXCL12 producido por diferentes células del nicho de la MO ejerce diferentes efectos en el mantenimiento de las LIC, permanecen sin resolver. Mediante el uso de modelos de ratón de LMA y herramientas para la depleción específica de Cxcl12 de poblaciones del nicho de la MO *in vivo*, demostramos que Cxcl12 producido por células mesenquimales, pero no por células del linaje óseo, es fun-

damental para el mantenimiento de las LIC. En concreto, la depleción de Cxcl12 de células mesenquimales resulta en una marcada disminución de la infiltración leucémica y de la frecuencia de LIC, así como en un cambio en la composición del clon leucémico que resulta en un aumento significativo de la supervivencia de los animales. Además, estos cambios están asociados a distintos patrones de expresión génica en las LIC, que demuestran un enriquecimiento en genes asociados a estrés oxidativo. En consonancia, las LIC en animales deficientes en Cxcl12 demuestran niveles elevados de especies reactivas de oxígeno y un aumento de la apoptosis, que son revertidos mediante el tratamiento con antioxidantes como la N-acetil cisteína (NAC). En conjunto, nuestros resultados demuestran que las células mesenquimales del nicho de la MO son esenciales para el mantenimiento de las LICs, controlando el balance redox a través del eje Cxcl12-Cxcr4. El presente estudio refuerza la hipótesis de que la combinación de estrategias terapéuticas que modulen la interacción nicho-leucemia puede modificar la evolución de la enfermedad y la respuesta a terapias convencionales.

SP 003 Caracterización molecular, biológica y clínica de variantes patogénicas en el extremo C-terminal de la antitrombina

Bravo-Pérez C; de la Morena-Barrio B; Padilla J; Miñano A; Vicente V; Corral J; de la Morena-Barrio ME

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

Introducción: La antitrombina (AT) es un potente anti-coagulante endógeno que pertenece a la familia de las serpinas. El estudio de casos de deficiencia de antitrombina (DAT) ha permitido profundizar en su conocimiento biológico. El extremo C-terminal de la proteína no constituye un dominio funcional, pero parece jugar un papel clave en su plegamiento, secreción y función. Cabe destacar que se han descrito varias mutaciones en el extremo C-terminal que, produciendo cambio en la fase de lectura (*frameshift*+1), no generan codones stop prematuros, de manera que sus tamaños son muy similares a la AT silvestre.

Objetivos: Caracterización molecular, biológica y clínica de variantes C-terminales de AT.

Métodos: Cohorte de 340 casos no relacionados con DAT reclutados durante 22 años (1998-2019). Se seleccionaron casos con variantes localizadas en el exón 7 que codifica el extremo C-terminal (p.Val432-Lys464). La AT plasmática se caracterizó mediante ensayos funcionales (sustratos cromogénicos) y bioquímicos (western-blot). En casos seleccionados, se generó un modelo recombinante (HEK-EBNA). Además, mediante mutagénesis dirigida se generaron 9 variantes C-terminales diferentes, todas con *frameshift*+1, pero diferente longitud del extremo C-terminal aberrante (según el codón a partir del cual se generaba el *frameshift*).

Resultados: Se identificaron 9 variantes C-terminales (5 missense y 4 pequeñas deleciones) en 14 casos no relaciona-

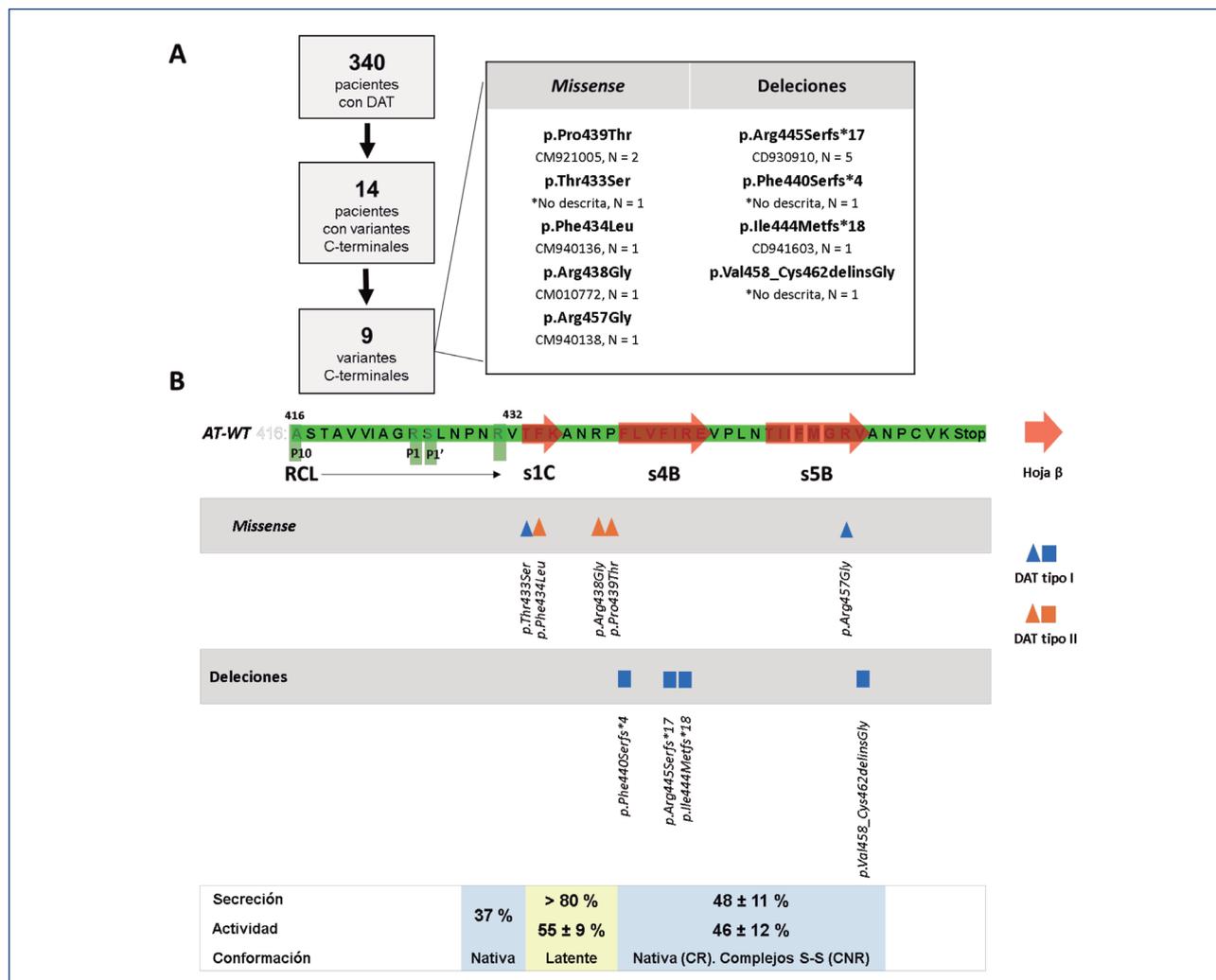


Figura 1. (A) Revisión de la cohorte de 340 casos no relacionados con deficiencia de antitrombina reclutados en nuestro centro (1998-2019). (B) Representación gráfica de las variantes C-terminales identificadas según su localización en la secuencia nativa de la antitrombina (AT-WT), así como el tipo de mutación (missense/deleciones) y el tipo de deficiencia de antitrombina que originan (tipo I / tipo II). AT: antitrombina; DAT: deficiencia de antitrombina; WT: antitrombina nativa; RCL: centro reactivo (Ala416-Arg431); s1C, s4B, s5B: hojas beta; Stop: codón de parada. Secuencia verde: antitrombina nativa. Rectángulos verdes: residuos del RCL. Flecha negra: extensión del RCL. Flechas rojas: extensión de las hojas beta. Formas azules: deficiencias tipo I. Formas naranjas: deficiencias tipo II.

dos (14/340;4,1%) (Fig. 1). Dos mutaciones eran recurrentes: p.Arg445Serfs*17 (n = 5) y p.Pro439Thr (n = 2). Seis ocasionaban DAT tipo I (anti-Xa:45,4 ± 11,7%) con clínica trombótica grave o muy grave; mientras que 3, todas missense, generaban DAT tipo II pleiotrópicas (anti-Xa:55,0 ± 11,6%) con aumento de forma latente, uno DAT transitoria y clínica moderada y (p.Pro439Thr).

En modelo recombinante, las variantes frameshift+1 que afectaban a la zona Val432-Phe440 causaban deficiencias cualitativas, con leve alteración en la secreción (50-100%), formas no inhibitorias y aumento de los niveles de la AT latente; mientras que las localizadas tras Phe440 causaban deficiencias cuantitativas, con marcada disminución en la secreción (< 30%),

y en algunos casos con formación de complejos unidos por puentes disulfuro y efecto dominante negativo (Fig. 2). Mediante mutagénesis dirigida, el cambio p.Leu441Pro rescató la secreción de la variante p.Arg445Lysfs*19, sin evitar su transformación a latente (Figs. 2,3).

Conclusiones: Las variantes de AT que afectan al extremo C-terminal, relativamente frecuentes, generan una notable heterogeneidad biológica y clínica, que guarda a su vez una estrecha relación con su localización en la secuencia y estructura de la molécula. Variantes que generan un extremo C-terminal aberrante pueden provocar DAT tipo II pleiotrópicas (con paso a forma latente), cuando están localizadas entre los codones Val432-Phe440, y tipo I (polimerización intracelular), tras

Secuencia del extremo C-terminal		Secreción	Actividad	Conformación
WT	A S T A V V I A G R S L N P N R V T F K A N R P F L V F I R E V P L N T I F F G S R V A N P C V K Stop 416 440 ▲	100 %	100 %	Nativa
Serie de variantes recombinantes con marco de lectura +1				
p.Ser417Lysfs*47	A K Y R C C D C W P F A K P Q Q G D F Q G Q Q A F P G F Y K R S S S E H Y Y L H G Q S S Q P L C Stop	0 %	ND	ND
p.Arg431Lysfs*33	A S T A V V I A G R S L N P N K G D F Q G Q Q A F P G F Y K R S S S E H Y Y L H G Q S S Q P L C Stop			
p.Val432Glyfs*32	A S T A V V I A G R S L N P N R G D F Q G Q Q A F P G F Y K R S S S E H Y Y L H G Q S S Q P L C Stop			
p.Asn437Glnfs*27	A S T A V V I A G R S L N P N R V T F K A Q Q A F P G F Y K R S S S E H Y Y L H G Q S S Q P L C Stop	50-100 %	0 %	Latente
p.Leu441Profs*23	A S T A V V I A G R S L N P N R V T F K A N R P F P G F Y K R S S S E H Y Y L H G Q S S Q P L C Stop			
p.Arg445Lysfs*19 p.Leu441Pro	A S T A V V I A G R S L N P N R V T F K A N R P F V F I K R S S S E H Y Y L H G Q S S Q P L C Stop	90 %	0 %	Latente
p.Arg445Lysfs*19	A S T A V V I A G R S L N P N R V T F K A N R P F L V F I K R S S S E H Y Y L H G Q S S Q P L C Stop			
p.Val447Serfs*17	A S T A V V I A G R S L N P N R V T F K A N R P F L V F I R E S S S E H Y Y L H G Q S S Q P L C Stop			
p.Arg445Serfs*17	A S T A V V I A G R S L N P N R V T F K A N R P F L V F I S S S E H Y Y L H G Q S S Q P L C Stop	< 30 %	0 %	Nativa (CR) Complejos por unión S-S (CNR)
p.Arg457Glyfs*8	A S T A V V I A G R S L N P N R V T F K A N R P F L V F I R E V P L N T I F F G S G Q S S Q P L C Stop			

Figura 2. Representación gráfica del estudio en modelo recombinante de las 9 variantes C-terminales de antitrombina frameshift+1 generadas mediante mutagénesis dirigida (HEK-EBNA). Las variantes que afectaban a la zona Val432-Phe440 (triángulo negro) causaban deficiencia cualitativa, con leve alteración en la secreción (50-100%), formas no inhibitorias y aumento de los niveles de la antitrombina latente; mientras que las localizadas tras Phe440 causaban deficiencia cuantitativa, con marcada disminución en la secreción (< 30%), y en algunos casos con formación de complejos unidos por puentes disulfuro y efecto dominante negativo. Mediante mutagénesis dirigida, el cambio p.Leu441Pro (en rojo) rescató la secreción de la variante p.Arg445Lysfs*19, sin evitar su transformación a latente. AT: antitrombina; DAT: deficiencia de antitrombina; ND: no determinado; CR: condiciones reductoras; CNR: condiciones no reductoras; S-S: puentes disulfuro. Secuencia verde: secuencia nativa. Secuencia amarilla: secuencia aberrante frameshift+1. Triángulo negro: Pro439_Phe440.Stop: codón de parada.

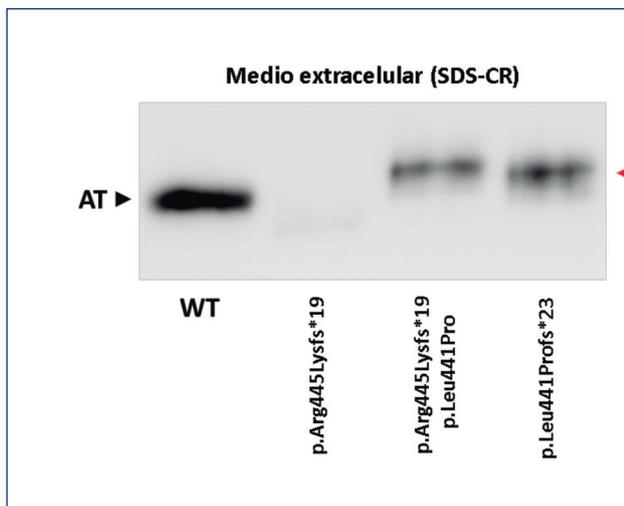


Figura 3. Análisis de la secreción de antitrombina recombinante (western-blot) de variantes C-terminales generados mediante mutagénesis dirigida (HEK-EBNA). Se objetiva que el cambio p.Leu441Pro rescató la secreción de la variante p.Arg445Lysfs*19, también con transformación a latente (flecha roja), indicando que la Pro441 parece ser clave para el plegamiento y secreción de las variantes frameshift+1. AT: antitrombina; WT: antitrombina nativa; SDS-CR: condiciones reductoras.

la Phe440. Estas variantes además tienen un potencial efecto dominante negativo. Sin embargo, si las variantes con frameshift+1 se generan antes de Phe440, la prolina que aparece en posición 441 provoca una torsión estructural que permitiría el plegamiento a conformación latente, dando lugar a una variante no inhibitoria que puede ser secretada al plasma. En todos los casos, se objetiva la relevancia conformacional de la región C-terminal de la AT, aplicable posiblemente a otras serpinas.

Financiación: P118/00598 (ISCIII y FEDER); 19873/GERM/15 (Fundación Séneca).

SP 004 La infusión de linfocitos efectores autólogos en combinación con rituximab de mantenimiento es segura y eficaz. Resultados del ensayo clínico de fase II LFNK

Pena Carbó E¹; García Muñoz R²; López Díez de Cerio A¹; Panizo A³; Feliu J²; Giraldo P⁴; Rodríguez Calvillo M⁵; Grande C⁶; Olave T⁷; Andrade M⁸; Bandrés E⁹; Núñez J¹⁰; Martínez Calle N¹¹; Inogés S¹; Panizo C¹

¹Servicio de Hematología. Clínica Universidad de Navarra. Pamplona. ²Hospital San Pedro. Logroño. ³Servicio de Anatomía Patológica. Complejo Hospitalario de

Navarra. Pamplona. ⁴Servicio de Hematología. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud. CIBERER. Zaragoza. ⁵Servicio de Hematología. Complejo Hospitalario de Navarra. Pamplona. ⁶Servicio de Hematología. Hospital 12 de Octubre. Madrid. ⁷Servicio de Hematología. Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. Zaragoza. ⁸Servicio de Hematología. Hospital Miguel Servet. Zaragoza. ⁹Servicio de Hematología. Complejo Hospitalario de Navarra. Pamplona. 10. Servicio de apoyo a la investigación UCEC. Clínica Universidad de Navarra. Pamplona. ¹¹Hematology. Nottingham University. Hospitals NHS Trust. Nottingham, Inglaterra

Introducción: La combinación de anticuerpos monoclonales anti CD20 con varios regímenes de quimioterapia se considera el tratamiento estándar en pacientes con linfoma folicular (LF). A pesar de los buenos resultados de este tratamiento, un porcentaje importante de los pacientes no se beneficia de esta terapia ensombreciendo de manera considerable su pronóstico. Nuestra hipótesis es que el tratamiento con una suspensión de linfocitos efectores autólogos expandidos ex vivo (células LAK) podría potenciar el efecto biológico del tratamiento con rituximab (R) mediante el incremento de la actividad ADCC. Investigamos la toxicidad y eficacia de dicho tratamiento con un ensayo clínico fase II.

Métodos: Entre de 2010 y 2012 se reclutaron 20 pacientes con LF en respuesta tras una primera línea de tratamiento con R-CHOP.

Objetivo: El objetivo primario de este ensayo, multicéntrico, prospectivo y de un solo brazo fue evaluar la seguridad y eficacia de la infusión de células LAK (administradas cuatrimestralmente en los ciclos pares de R) en combinación con la pauta estándar de R de mantenimiento bimestral durante 2 años. La producción de células LAK se realizó a partir de células de sangre periférica extraídas en los ciclos impares de R para aislar células mononucleadas y estimularlas y expandirlas en cultivo con interleukina-2 durante 8 semanas. Uno de los objetivos secundarios del ensayo fue la evaluación de los fenotipos celulares y de la potencia biológica de las células LAK midiendo su actividad citotóxica. Este ensayo está registrado en ClinicalTrials.gov con número NCT01329354.

Resultados: Se registraron 29 eventos adversos (EA) relacionados con la infusión de las células LAK. Las artralgias y las infecciones fueron los EA más frecuentes con un 24,1% y un 20,6%, respectivamente (Tabla I). La mayoría de los EA (89,6%) fueron de grado 1 y 2. No se produjo ningún EA grave relacionado con la infusión de las células LAK y ningún paciente fue discontinuado. Se registraron 3 EA grado 3 que sucedieron en el mismo paciente. La calidad de vida, evaluada a través de cuestionarios EORTC QLQ-C30, tendió a mejorar a lo largo del estudio. Con una mediana de seguimiento de 59,4 (43,8-71) meses, la supervivencia libre de progresión (SLP) fue del 85% (Fig. 1). El estudio biológico del producto celular administrado demostró un aumento significativo de la actividad ADCC en todos los ciclos (Fig. 2).

Conclusiones: La infusión de células LAK, en combinación con R de mantenimiento, en pacientes con LF es segura y eficaz en términos de mejoría de la SLP respecto a lo publicado en la literatura. El efecto biológico se consigue a través del incremento de la actividad ADCC de las células infundidas.

Tabla I. Eventos adversos (EA) y eventos adversos graves (EAG)

AA	n (%)	
Todos	219 (100)	
Grado 0	141 (64,4)	
Grado 1	46 (21,0)	
Grado 2	25 (11,4)	
Grado 3	5 (2,3)	
desconocido	2 (0,9)	
AA relacionado, n (%)	Todos	Grado ≥ 3
Todos	29 (100)	3 (100)
Diarrea	4 (13,8)	0 (0)
Neutropenia	3 (10,3)	3 (100)
Infección	6 (20,6)	0 (0)
Artralgia	7 (24,1)	0 (0)
Astenia	4 (13,8)	0 (0)
Eritema	1 (3,4)	0 (0)
Ansiedad/depresión	1 (3,4)	0 (0)
Fiebre	1 (3,4)	0 (0)
Parestesias	1 (3,4)	0 (0)
Anorexia	1 (3,4)	
AAG, n (%)	8 (3,7)	
Relacionado, n (%)	Sí	No
Todos	0 (0)	8 (100)
Urosepsis	0 (0)	2 (25,0)
Prostatitis	0 (0)	3 (37,5)
Esterilización femenina	0 (0)	1 (12,5)
IAM	0 (0)	1 (12,5)
Prostatectomía	0 (0)	1 (12,5)

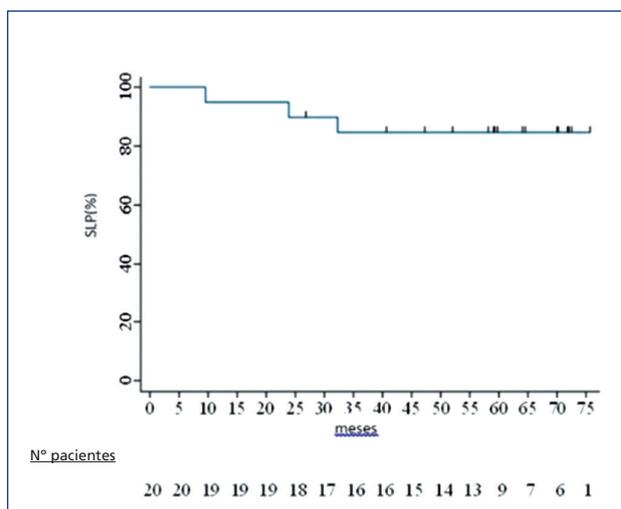


Figura 1. Supervivencia libre de progresión.

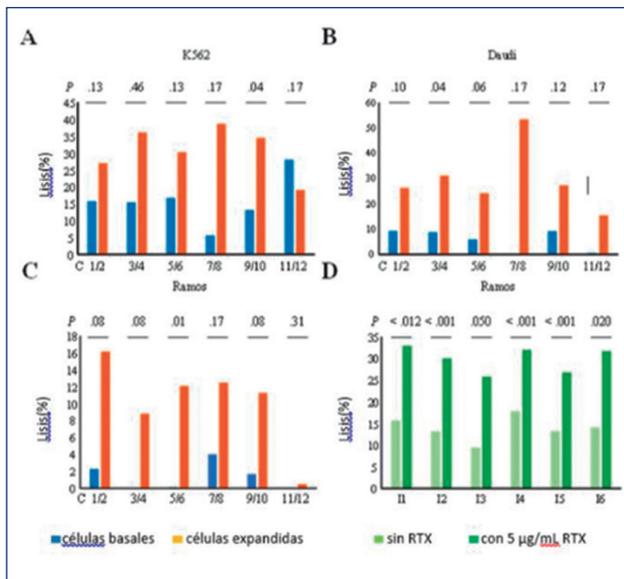


Figura 2. Actividad citotóxica basal y tras la expansión *ex vivo* con IL-2 en cada uno de los 6 ciclos en los que se infundieron células LAK en varias líneas celulares: A. K562, B. Duadi, C. Ramos células CD20, D. Células expandidas con/sin RTX.

SP 005 Regulación de la función plaquetaria por miR-146a como nexa entre inmunidad y trombosis

Arroyo Rodríguez AB¹; Águila S¹; Fernández-Pérez MP¹; de los Reyes-García AM¹; García-Barberá N¹; García-Hernández R¹; Rivera J²; Hernández-Antolín R¹; Vicente V²; González Conejero R¹; Martínez C¹

¹Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Centro Regional de Hemodonación. Universidad de Murcia. IMIB-Arrixaca. Murcia. ²Servicio de Hematología y Oncología Médica, Hospital Universitario Morales Meseguer. Centro Regional de Hemodonación. Universidad de Murcia. IMIB-Arrixaca. Murcia. CIBER enfermedades raras (CIBERER). Madrid

Introducción: Las plaquetas, más allá de su papel crítico en la hemostasia primaria, se consideran elementos inmunomoduladores cruciales al vincular procesos inflamatorios y trombóticos. NF-κB es un mediador central de inflamación involucrado en los mecanismos moleculares que conectan inflamación y trombosis. Las vías de señalización de NF-κB participan en la activación plaquetaria inducida por receptores clásicos, como PAR4 y en otros circuitos de retroalimentación secundaria. miR-146a, que se expresa principalmente en células hematopoyéticas, actúa como un importante freno de reacciones inflamatorias e inmunológicas, bloqueando la vía NF-κB. Nuestro grupo ha identificado previamente que miR-146a se asocia con enfermedad trombo-inflamatoria (sepsis y aterosclerosis) regulando la formación de trampas extracelulares de neutrófilos (NET).

Objetivo: Evaluar el papel de miR-146a en la funcionalidad plaquetaria y su implicación en trombosis.

Material y métodos: El estudio se realizó en ratones silvestres (WT) y miR-146a^{-/-} (KO) en los que se evaluó: 1) Sangrado de cola

(n = 12/grupo); 2) Unión de fibrinógeno (Fg) y expresión de selectina P (SelP) mediante citometría de flujo en sangre total diluida, obtenida del seno retroorbital, que se activó con distintas dosis de agonistas plaquetarios (PAR4, CRP, ADP+U46619 y PMA) (n = 7/grupo); 3) Inducción de tromboembolismo pulmonar (TEP) por inyección retroorbital (60 µg/kg epinefrina + 0,4mg/kg colágeno) y monitorización del tiempo hasta la muerte (< 30 min) (n = 27 WT y 30 KO). La obstrucción del pulmón se evaluó inyectando 500 µl de azul de Evans 1% en el ventrículo derecho. 4) Inducción de trombosis arterial (TA) con FeCl₃, y monitorización del tiempo de oclusión del flujo sanguíneo carotideo (n = 17 WT y 24 KO). Se cuantificó la formación de NET (DNA e histona 3 citrulinada (H3cit)) en los trombos arteriales por inmunofluorescencia (IF) (n = 10/grupo).

Resultados: Los ratones KO presentaron un tiempo y volumen de sangrado significativamente inferior que los WT (p = 0,02). La unión de Fg y la secreción de SelP en plaquetas KO activadas con distintas dosis de PAR4 y PMA fueron significativamente mayores que en WT (p < 0,05). No se encontraron diferencias en esas respuestas tras activar con CRP o ADP + U46619. Los ratones KO sucumbieron antes que los WT tras la inducción de TEP (p = 0,04). La obstrucción de la circulación pulmonar, evaluada mediante la exclusión de azul de Evans, fue significativamente mayor en ratones KO (p = 0,01). Finalmente, en el modelo de trombosis con FeCl₃, el tiempo de oclusión del flujo carotideo fue inferior en ratones KO vs WT (p < 0,05). Además, los trombos extraídos de ratones KO presentaron significativamente más células DNA-H3cit positivas que los WT (p < 0,01).

Conclusiones: Nuestros resultados *in vitro* e *in vivo* sugieren una hiperreactividad plaquetaria en ratones deficientes en miR-146a. Esta alteración condiciona un fenotipo protrombótico reflejado en los modelos de TEP y TA en estos ratones. La reactividad plaquetaria incrementada en los ratones KO podría contribuir a una mayor formación de NET, apoyando la participación de miR-146a en inmunotrombosis. Desentrañar los mecanismos de acción de miR-146a, podría ayudar al mejor manejo de eventos trombóticos en distintos escenarios clínicos.

Financiación: P117/0051, PFI518/0045, CD18/00044 (ISCIII y FEDER), 19873/GERM/15 (Fundación Séneca), Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia (SETH), Premio Lopez-Borrasca (SETH).

SP 006 Estudio de la relevancia clínica y del perfil genómico de la enfermedad mínima residual del mieloma múltiple en pacientes con riesgo estándar y con alto riesgo citogenético

Goicoechea I¹; Puig N²; Cedena MT³; Cordón L⁴; Vidriales MB⁵; Burgos L¹; Flores-Montero J⁶; Gutiérrez NC; Calasanz MJ¹; Martín-Ramos ML³; Lara-Astiaso D¹; Botta C⁷; García-Sanz R⁵; Martínez-López J³; Oriol A⁸; Ríos R⁹; Martín J¹⁰; Martínez R¹¹; Orfao A⁶; Rosiñol L²; Mateos MV⁸; Lahuerta JJ¹³; Bladé J¹⁴; San-Miguel JF¹⁵; Paiva B¹

¹Centro de Investigación Médica Aplicada. Pamplona. ²Departamento de Hematología. Hospital Universitario de Salamanca. Salamanca. ³Hospital

Universitario 12 de Octubre. Madrid. ⁴Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia. ⁵Hospital Universitario de Salamanca. Salamanca. ⁶Cancer Research Center (IBMCC, USAL-CSIC). Madrid. ⁷Università Magna Graecia di Catanzaro. Catanzaro, Italia. ⁸Hospital Universitario de Salamanca. Salamanca. ⁹Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona, Barcelona. ¹⁰Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada. ¹¹Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. ¹²Hospital Clínico San Carlos. Madrid. ¹³Hospital Clínic. Barcelona. ¹⁴Departamento de Hematología. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid. ¹⁵Servei d'Hematologia. Hospital Clínic. Barcelona. ¹⁶Clínica Universidad de Navarra. Pamplona

Introducción: Hoy en día continúa siendo limitado el conocimiento del impacto de la enfermedad mínima residual (EMR) en pacientes con citogenética de alto riesgo (HR) y riesgo estándar (SR) tratados con terapias modernas y monitorizados mediante técnicas de última generación. Tampoco tenemos datos de los mecanismos de resistencia in vivo en pacientes de HR y SR. Por lo tanto, estudiar el perfil de las células de EMR podría ayudarnos a encontrar cuales son los mecanismos de resistencia en los pacientes de SR y HR.

Métodos: Este estudio se realizó en un total de 390 pacientes provenientes del ensayo clínico PETHEMA/GEM2012 (6 ciclos de inducción con VRD seguidos de trasplante autólogo y 2 ciclos de consolidación con VRD) en los que se analizó la EMR por citometría de nueva generación (NGF). En 40 pacientes (26 con SR y 14 con citogenética HR ej., t[4;14], t[14;16] y/o del[17p]), se sortearon por FACS las células plasmáticas patológicas al diagnóstico y tras la inducción con VRD. Se analizó el transcriptoma de las células sorteadas mediante MARSeq y, además, en 14 de esos pacientes (7 con SR y 7 con HR) se analizó su exoma mediante CHROMIUM Exome Solution.

Resultados: Los ratios de EMR fueron superiores ($p < 0,01$) en los pacientes con del(17p) (29/38, 76%) en comparación con los pacientes con t(4;14) (24/42, 57%) y pacientes con SR (148/300, 49%). También observamos niveles superiores de

EMR ($p < 0,01$) en pacientes con del(17p) (0,02%) en comparación con pacientes SR (0,004%) y con t(4;14) (0,004%). A pesar de ello, los pacientes con del(17p) y EMR negativa presentaron una supervivencia libre de progresión (SLP) a 3 años similar a la de pacientes con t(4;14) e incluso a la de pacientes SR. Por el contrario, en pacientes con EMR positiva, la SLP decreció progresivamente desde pacientes SR a pacientes con t(4;14) y pacientes con del(17p) (59%, 46% y 24%, respectivamente), siendo las diferencias significativas entre el primer y último grupo ($p < 0,001$). Posteriormente, estudiamos el perfil transcripcional de las células de EMR tras la inducción con VRD y se comparó con muestras pareadas al diagnóstico ($n = 40$). Identificamos 763 genes significativamente alterados ($\text{Padj} < 0,05$) entre los que se encontraban genes relacionados con el proteasoma. Al estudiar las vías responsables de la resistencia de la EMR en pacientes con citogenética HR mediante GSEA, encontramos la vía de ROS significativamente alterada ($\text{FDR} < 0,01$). Estudios in vitro confirmaron este hallazgo, encontrando niveles basales de ROS significativamente inferiores en células resistentes a bortezomib en comparación con células parentales. Por último, se estudió el perfil genómico de las células de EMR ($n = 14$) y el de sus correspondientes diagnósticos. En general se encontraron perfiles similares, siendo los pacientes con SR los que mostraron mayores diferencias entre las muestras al diagnóstico y la EMR, resultados que fueron corroborados por NGF.

Conclusiones: Este es uno de los mayores estudios que integran citogenética y EMR. Nuestros resultados indican que la adquisición de la EMR negativa contrarresta el mal pronóstico de la citogenética, mientras que la EMR positiva reduce la SLP, sobre todo en los pacientes con del(17p). Los estudios genómicos demostraron más cambios en la EMR de pacientes con SR, tanto a nivel transcripcional como genético, mientras que en pacientes con HR la citogenética per se, junto con la vía de ROS parecen tener un papel en la resistencia frente a VRD.

Comunicaciones orales

Conceptos básicos en trombosis

CO-139 El DNA plasmático estimula la generación de trombina *in vitro* incluso en ausencia de factor tisular extrínseco, y puede revertirse con DNasa

Fernández-Pardo A¹; Oto J¹; Solmoirago MJ¹; Plana E²; Hervás D³; Herranz R¹; Enrique T¹; Yelo M¹; Navarro S¹; España F¹; Medina P¹

¹Grupo de Investigación en Hemostasia, Trombosis, Arteriosclerosis y Biología Vascular. Instituto de Investigación Sanitaria La Fe. Valencia. ²Grupo de Investigación en Hemostasia, Trombosis, Arteriosclerosis y Biología Vascular. Instituto de Investigación Sanitaria La Fe. Servicio de Angiología y Cirugía Vascular. Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia. ³Unidad de Bioestadística. Instituto de Investigación Sanitaria La Fe. Valencia

Introducción: El DNA libre circulante en plasma está aumentado en pacientes con patologías como la trombosis venosa o arterial, y se asocia con un aumento del riesgo trombótico. Las cargas negativas del DNA podrían activar la vía intrínseca de la coagulación, concretamente al factor XII, y con ello aumentar el riesgo trombótico.

Objetivo: Evaluar la capacidad del DNA de generar trombina *in vitro* y analizar la capacidad de la DNasa de neutralizar su efecto protrombótico.

Métodos: Realizamos el test de generación de trombina (TGT) automatizado (CAT, Thrombinoscope) en un pool de plasmas de 19 individuos sanos al que añadimos concentraciones crecientes de DNA (0 ng/ml, DNA0; 1123 ng/ml, DNA1; 3369 ng/ml, DNA2; 5617 ng/ml, DNA3; 7864 ng/ml, DNA4). Realizamos el TGT en ausencia de factor tisular (FT) para evaluar el efecto procoagulante del DNA y en presencia de 0,1 y 0,5 pM FT para favorecer mínimamente el inicio de la coagulación.

Seguidamente, repetimos el TGT en estas condiciones añadiendo 4U DNasa (TURBO DNA-free, Ambion) para degradar y revertir el efecto del DNA, y añadiendo 400 µg/ml popcorn inhibitor (PCI), un inhibidor del FXIIa, para bloquear el efecto del DNA. Como referencia realizamos el TGT en el pool de plasmas con 4pM FT.

Resultados: En ausencia de FT, el DNA aumenta progresivamente la generación de trombina (GT) (Fig. 1), llegando a superar la del control (pool+4 pM FT) (aumento ETP 3% y aumento pico 7% con DNA4), aunque la reacción tarda más en iniciarse (Fig. 1). Al añadir FT 0,1 o 0,5 pM, la reacción se estabiliza y el DNA induce una mayor GT (Fig. 1) (FT 0,5 pM: alcanza un aumento máximo del ETP del 36% y un aumento máximo del pico 45%), llegando a superar la GT del control que contiene 8 veces más FT (aumento ETP 25% y aumento pico 32%). La DNasa inhibe completamente la GT a concentraciones bajas de DNA (Fig. 2) y reduce drásticamente la GT a cualquier concentración de DNA al compararla con el ensayo en ausencia de DNasa (Fig. 1 vs. Fig. 2). El PCI no inhibe con tanta fuerza el efecto del DNA (Fig. 2) y desaparece su efecto a concentraciones más altas de DNA.

Conclusiones: Con este estudio *in vitro* hemos demostrado que el DNA aumenta muy notablemente la GT, posiblemente por la vía intrínseca, llegando a suplir el efecto del FT en la reacción y a superar la GT en condiciones habituales de FT (4pM). La DNasa puede inhibir totalmente la GT en ausencia de DNA exógeno o a bajas concentraciones y la reduce extremadamente a concentraciones más altas de DNA. El PCI solo inhibe el efecto procoagulante del DNA a concentraciones bajas. Nuestros resultados revelan que el DNA del plasma puede afectar los resultados del TGT y apoyarían el uso terapéutico de la DNasa en estados protrombóticos.

Financiación: ISCIII-FEDER (P114/00079, P114/00512, F114/00269, CP115/00002, P117/00495), Generalitat Valenciana (ACIF/2017/138) y Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia.

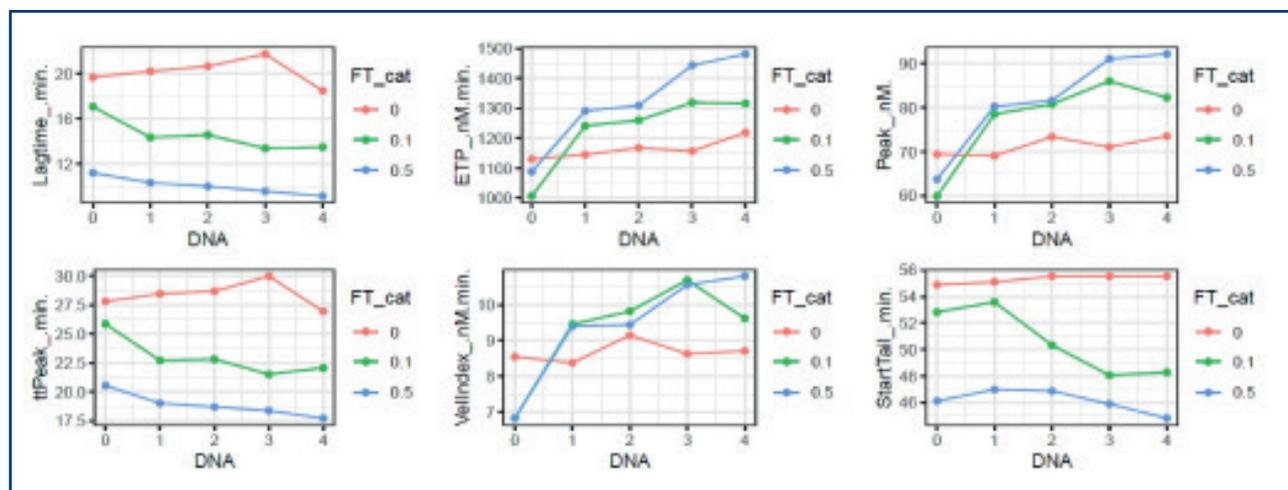


Figura 1. Parámetros del TGT en un pool de plasmas en presencia de concentraciones crecientes de DNA y en presencia de 0, 0,1 o 0,5 pM de factor tisular (FT).

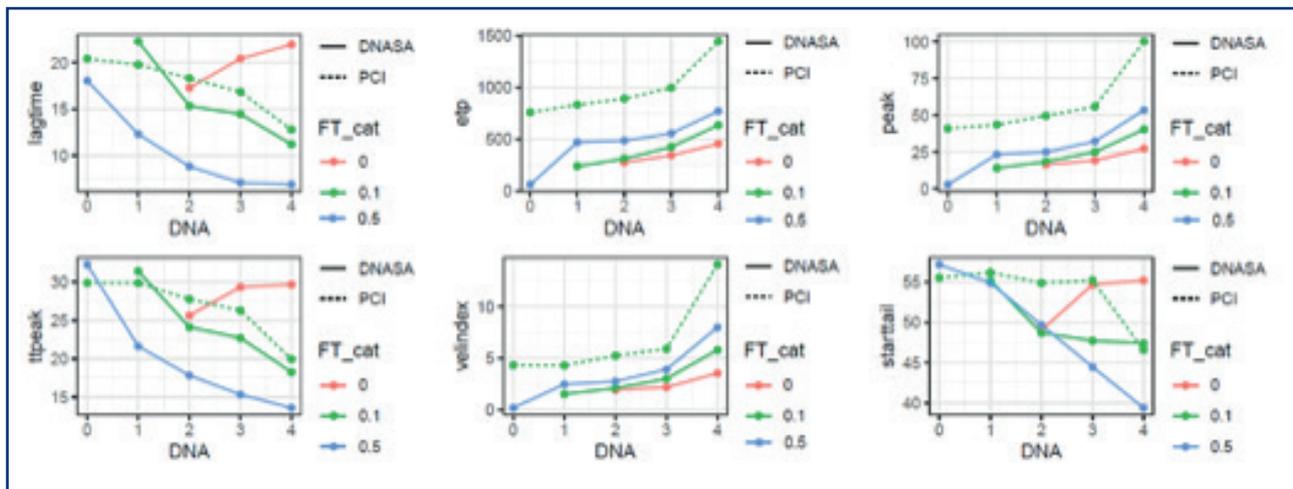


Figura 2. Parámetros del TGT en un pool de plasmas en presencia de concentraciones crecientes de DNA, en presencia de 0, 0,1 o 0,5 pM de factor tisular (FT) y en presencia de DNasa o popcorn inhibitor (PCI).

CO-140 Secuencias repetitivas en el genoma y su papel en la deficiencia de antitrombina

De la Morena-Barrio B¹; de la Morena-Barrio ME¹; Martínez E²; Sanchís-Juan A³; García-Hernández JL⁴; Padilla J⁵; Abad-Navarro F⁶; Miñano A¹; Bernabé-Díaz JA²; Bravo C¹; Esteban-Gil A⁵; Fernández-Breis JT²; Velasco F⁶; Rodríguez-Alen A⁷; Ouwenhand WH³; Vidal F⁸; Hernández-Rivas JM⁴; Vicente V¹; Corral J¹

¹Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital General Universitario Morales Meseguer. Centro Regional de Hemodonación. Universidad de Murcia. IMIB-Arrixaca. Murcia. ²Departamento de Informática y Sistemas. Universidad de Murcia. IMIB-Arrixaca. Murcia. ³Department of Haematology. University of Cambridge. NIHR BioResource. Cambridge University Hospitals NHS Foundation Trust. Cambridge Biomedical Campus. NHS Blood and Transplant Centre. Cambridge, Reino Unido. ⁴Instituto de Biología Molecular y Celular del Cáncer. Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). Universidad de Salamanca. Salamanca. ⁵Biomedical Informatic and Bioinformatics Platform. IMIB-Arrixaca. Murcia. ⁶Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba. ⁷Hospital Virgen de la Salud. Toledo. ⁸Banc de Sang i Teixits. Barcelona. Vall d'Hebron Research Institute. Universitat Autònoma de Barcelona (VHIR-UAB). Barcelona

Introducción: Las secuencias repetitivas no codificantes, LINE, SINE y HERV constituyen el 40% del genoma humano. Se trata de elementos móviles del ADN que pueden ser transposónicos (no activos) o retrotransposónicos (activos). Su movilidad y homología hace que estos elementos puedan mediar reordenamientos genéticos patológicos, como se ha visto en la enfermedad de Duchenne, talasemia, o cáncer (Haig H. Mobile DNA in Health and Disease. NEJM 2017; 377:361-70). La alta proporción de secuencias LINE y SINE entorno, y dentro del gen SERPINC1 que codifica la antitrombina (AT), y el hecho que hasta un 5% de los casos con deficiencia de AT se deben a grandes alteraciones, hace pensar que los reordenamientos de estas secuencias podrían estar implicados en las alteraciones estructurales de SERPINC1.

Objetivo: Caracterizar la extensión y secuencia del punto de corte de las alteraciones estructurales de SERPINC1 para determinar el papel de secuencias repetitivas en estas alteraciones.

Métodos: El estudio se realizó en 16 pacientes con deficiencia de AT causada por variantes estructurales de SERPINC1 identificadas mayoritariamente por MLPA. La caracterización de la variante estructural se realizó mediante Long Range-PCR (LR-PCR) y secuenciación masiva (Illumina); array de CGH (aCGH) (CytoScan[®] HD) y/o secuenciación por nanoporos (MinION; ONT).

Resultados: Cinco pacientes presentaron delección completa (una de ellas *de novo*), ocho delecciones parciales y tres duplicaciones parciales de SERPINC1. La LR-PCR permitió conocer la secuencia del punto de corte en 6 casos. En 4 de ellos, el punto de corte implicaba secuencias SINE (Tabla I). Realizamos un aCGH en los 8 casos en los que la LR-PCR no fue informativa. La extensión de la delección oscilaba entre 2 y 30 genes. La posición aproximada de los puntos de corte proporcionada por el aCGH sugiere la implicación de secuencias LINE. Para validar estos resultados y conocer la secuencia exacta, se realizó una secuenciación por nanoporos en 3 casos, validando la presencia de secuencias LINE y SINE en el punto de corte (Tabla I). El aCGH mostró un resultado sorprendente: los 8 pacientes con grandes alteraciones compartían 3 Copy Number Variants (CNV). El análisis de estos CNV en 13,000 genomas de la población general inglesa, y en el aCGH de pacientes con deficiencia de AT por mutaciones puntuales confirmó que el CNV Gain 22q11.22 era específico de las grandes alteraciones estructurales en SERPINC1 (solo se identificó en 3/13,000 genomas).

Conclusiones: Este estudio, que emplea metodología molecular diversa y novedosa en el análisis de la serie mundial más extensa de variaciones estructurales en SERPINC1 asociada con deficiencia de AT, demuestra la importancia funcional de elementos repetitivos móviles (LINE o SINE). Las secuencias LINE y SINE se revelan como "hot spots" para la pérdida/duplicación de material genético generando deficiencia de AT con el consiguien-

Tabla I. Características de 16 casos con deficiencia de antitrombina causada por variaciones estructurales					
	Analizado por MLPA (exón implicado)	LR-PCR & NGS (exón implicado)	aCGH (genes implicados)	Predicción aCGH LINE/SINE	Elemento repetitivo en PC
	Deleción completa SERPINC1				
P1	SI (1-7)	ND	SI (30 genes)	SI (LINE)	LINE*
P2	SI (1-7)	ND	SI (20 genes)	SI (LINE)	ND
P3	SI (1-7)	ND	SI (5 genes)	SI (LINE)	ND
P4	SI (1-7)	ND	SI (2 genes)	SI (SINE)	ND
P5	SI (1-7)	ND	ND	ND	ND
	Deleción parcial SERPINC1				
P6	SI (1-6)	SI (no amplifica)	SI (3 genes)	SI (SINE/LINE)	ND
P7	SI (1-4)	SI (no amplifica)	SI (2 genes hasta exón 5 de SERPINC1)	SI (SINE)	SINE [†]
P8	SI (2-7)	SI (no amplifica)	SI (2 genes)	SI (SINE)	ND
P9	SI (1-2)	SI (1-2)	ND	ND	SINE [†]
P10	SI (1)	SI (1-2)	ND	ND	NO [†]
P11	SI (2-5)	SI (no amplifica)	ND	ND	ND
P12	SI (4)	ND	ND	ND	ND
P13	SI (no detecta nada)	SI (Intrón 1)	SI (no detecta nada)	ND	NO* [†]
	Duplicación parcial SERPINC1				
P14	SI (2, 3 y 5)	SI (1-5)	ND	ND	SINE [†]
P15	SI (6)	SI (6)	ND	ND	SINE [†]
P16	SI (6)	SI (6)	ND	ND	SINE [†]

*Determinado con nanoporo. [†]Detectado con LR-PCR y NGS. PC: punto de corte. ND: no determinado.

te riesgo trombótico, como comprobamos en un caso con deleción de 2 MB *de novo*. La identificación de un CNV específico de estas alteraciones, localizado en el cromosoma 22 sugiere una posible activación de la actividad retrotrasposónica, que podría producir reordenamientos no homólogos en secuencias LINE o SINE de distintas localizaciones cromosómicas. Estos reordenamientos afectarían con mayor probabilidad a SERPINC1 por la alta concentración de secuencias LINE y SINE en su entorno genómico.

Financiación: P118/00598 (ISCIII y FEDER); 19873/GERM/15 (Fundación Séneca).

CO-141 Generación de alteraciones genéticas en SERPINC1 asociadas con deficiencia de antitrombina. Resultado del estudio de mutaciones espontáneas y recurrentes

De la Morena-Barrio ME; de la Morena-Barrio B; Miñano A; Teruel R; Padilla J; Bravo-Pérez C; Vicente V; Corral J

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

Introducción: Las mutaciones espontáneas, resultado de errores en la reparación y otros mecanismos implicados en la variabilidad genética, son la base de la evolución, pero el coste a pagar es que algunas son patogénicas. La deficiencia de antitrombina (AT), la trombofilia más grave con herencia mendeliana autosómica dominante, es causada por alteraciones genéticas en SERPINC1. En la literatura solo hay descritos 8 casos con mutaciones espontáneas, y se ha identificado un efecto fundador para dos mutaciones recurrentes, pero no existe un estudio sistemático de dichas mutaciones.

Objetivo: Estudio de la base molecular y mecanismo subyacente al desarrollo de mutaciones en el gen SERPINC1.

Métodos: De la cohorte de 340 pacientes no relacionados con deficiencia de AT (caracterizada funcional, bioquímica y genéticamente) se seleccionaron los casos con mutaciones espontáneas (padres sin deficiencia) y recurrentes (presentes en un mínimo

de 4 portadores no relacionados). En los casos con mutación espontánea, se verificó la paternidad mediante genotipado de 12 STRs por electroforesis capilar. El potencial mosaicismo parental se evaluó en cada trío mediante secuenciación profunda del amplicón que contenía la mutación (PGM). Para los casos con mutaciones recurrentes, se secuenció el gen SERPINC1 completo (48 amplicones, 13.810 pb) (PGM), analizando haplotipos intra-genómicos.

Resultados: Identificamos 6 casos con mutaciones espontáneas. En 5 casos la mutación fue puntual y 1 presentó una alteración estructural. La actividad AT fue ~50% en todos los casos, y los resultados de NGS que cuantifican el número de alelos silvestres y mutados en los pacientes, descartó un mosaicismo en el paciente (Tabla I). El estudio de STRs en los padres confirmó la paternidad. La secuenciación profunda del amplicón donde se localiza la mutación (con análisis de hasta 6.000 lecturas en cada

Tabla I. Características de los casos con deficiencia de antitrombina causados por mutaciones espontáneas

		Edad	Trombosis (edad 1.º evento)	Anti-FXa (%)	Variante	Procedencia alelo mutado
P1		54	TVP (--)	52	p.His401Tyr	Paterna
	Padre	--	No	112	--	
	Madre	--	No	111	--	
P2		26	TVP (15)	26	p.Pro112Leu	--
	Padre	56	No	86	--	
	Madre	53	No	83	--	
P3		28	TVP y TEP (14)	59	p.Ser381Pro	Paterna
	Padre	--	No	101	--	
	Madre	--	No	99	--	
P4		33	TVP (19)	39	p.Pro439Thr	--
	Padre	--	No	130	--	
	Madre	63	No	114	--	
P5		24	TVP, TEP y T cerebral (13)	60	Delección 2MB	Paterna
	Padre	63	No	91	--	
	Madre	59	No	101	--	
P6		54	TVP (36)	50	p.Lys273Glu	Paterna
	Padre	--	No	98	--	
	Madre	--	No	97	--	

TVP: trombosis venosa profunda; TEP: tromboembolismo pulmonar; T: trombosis.

caso) descartó mosaïcismo parental en los casos con mutación puntual. El estudio del haplotipo asociado con la mutación realizado en 4 de los 6 casos demostró que la mutación surgió en el alelo paterno en los cuatro casos. Ninguna de las mutaciones espontáneas puntuales se encuentra en un dinucleótido CpG, y la variante estructural implica secuencias LINE. Identificamos 9 mutaciones recurrentes, todas tipo II, excepto la primera deficiencia recurrente causada por una mutación *nonsense* que provoca una deficiencia tipo I (p.Arg161Ter) (Tabla II). El estudio de los haplotipos asociados mostró un origen fundador común para p.Ala416Ser. Sin embargo, los portadores de las 8 alteraciones restantes, incluidas dos que tenían efecto fundador en otras poblaciones (p.Leu131Phe y p.Pro73Leu) no compartían haplotipo, lo que sugería distinto origen y apuntaba a estas zonas como calientes mutacionales. De hecho, 5/8 afectan a dinucleótidos CpG (Tabla II).

Tabla II. Haplotipos identificados en portadores de mutaciones recurrentes en SERPINC1

Mutación	Portadores	Efecto fundador	N.º haplotipos	CpG
p.Ala416Ser	14	Sí	1	No
p.Arg79Cys	17	No	3	Sí
p.Arg161Ter	8	No	2	Sí
p.Arg425His	6	No	3	Sí
c.1154-14G>A	4	No	2	Sí
p.Leu131Phe	25	No	3	No
p.Phe155del	4	No	2	No
p.Pro73Leu	4	No	2	Sí
p.Val30Glu	12	No	2	No

Conclusión: Este es el primer estudio que evalúa sistemáticamente mutaciones espontáneas en SERPINC1, un gen con escasa tasa de mutaciones, especialmente en regiones codificantes por la sensibilidad estructural y funcional de la AT. Demostramos que las mutaciones *de novo* se generaron en el padre durante la gametogénesis. El estudio de mutaciones recurrentes permitió identificar 8 puntos calientes en SERPINC1. En algunos casos la adquisición de la mutación podría ser la desaminación oxidativa espontánea de metil-citosinas (CpG), en otros, mecanismos como el reordenamiento no homólogo de secuencias repetitivas estarían implicados en la aparición de mutaciones que causan deficiencia de AT.

Financiación: P118/00598 (ISCIII y FEDER); y 19873/GERM/15 (Fundación Séneca).

Plaquetas

CO-142 Plaquetopatía asociada a la delección 22q11.2 y al síndrome de Noonan en la infancia

Berruoco Moreno R¹; Isola I²; Gassiot Riu S²; Ruiz Llobet A¹; Català Temprano A¹; Díaz Ricart M³; Martínez Montseny AF⁴; Serrano Guimare M⁴

¹Hematología Pediátrica y ²Laboratorio de Hematología. Hospital Sant Joan de Déu. Barcelona. ³Anatomía Patológica. CDB. Hospital Clínic de Barcelona. Barcelona. ⁴Medicina Genética y Molecular. Instituto Pediátrico de Enfermedades Raras. Hospital Sant Joan de Déu. Barcelona

Introducción: La presencia de una plaquetopatía subyacente ha sido previamente descrita en pacientes afectados de delección 22q11.2 (22q11.2DS) y síndrome de Noonan (SN). Mientras que en el primer caso se debe a un déficit del complejo de glicoproteínas Ib-V-IX, se desconoce la causa en el segundo.

Objetivo: Valorar la incidencia de plaquetopatía en pacientes pediátricos afectados de 22q11.2DS y SN. Valorar la utilidad de las escalas clínicas y de diferentes técnicas de laboratorio para realizar un diagnóstico correcto.

Material y métodos: Estudio prospectivo realizado entre marzo y octubre de 2018 en niños de entre 2 y 18 años de edad diagnosticados de 22q11.2DS o SN. Además del diagnóstico, se recogieron los datos relacionados con la cardiopatía subyacente y se valoró la clínica hemorrágica mediante la escala ISTH-BAT (considerada positiva si el valor final > 3), así como las cirugías a las que habían sido sometidos. A cada paciente se realizó: hemograma, tiempos de obturación (PFA-200®) y agregaciones plaquetarias. En el 22q11.2DS también se analizó la expresión de glicoproteínas (GP) de membrana mediante citometría de flujo.

Resultados: Cinco de los 29 pacientes diagnosticados con 22q11.2DS presentaron macrotrombocitopenia, un hecho que fue más relevante en los adolescentes. Todos los pacientes salvo tres presentaron un defecto de agregación a la ristocetina, resultado que correlacionó de manera inversa con el valor de las PFA (Fig. 1). En estos pacientes también se demostró una relación estadísticamente significativa entre un valor > 3 del ISTH-BAT tanto con las PFA (p = 0,022 para colágeno/epinefrina y p = 0,002 para colágeno/ADP) como con el defecto de agregación a la ristocetina (p = 0,043). No se encontró relación significativa entre una menor expresión de GP de membrana y el resto de parámetros clínicos o analíticos. Los pacientes con SN (n = 22) no presentaron plaquetopenia, pero un 70% mostró algún tipo de defecto de la agregación plaquetaria. El patrón más frecuente consistió en una disminución de la agregación con ADP y epinefrina. Las PFA mostraron una correlación inversa significativa con la agregación plaquetaria con ácido araquidónico, epinefrina y ADP (Fig. 1).

Conclusiones: La mayoría de pacientes de nuestra serie mostró un defecto de la agregación plaquetaria que, además, correlacionó de manera significativa con las PFA. En los pacientes con 22q11.2DS el resultado de las agregaciones plaquetarias y las PFA se relacionó de manera estadísticamente significativa con la sintomatología hemorrágica. En el SN la asociación con la clínica

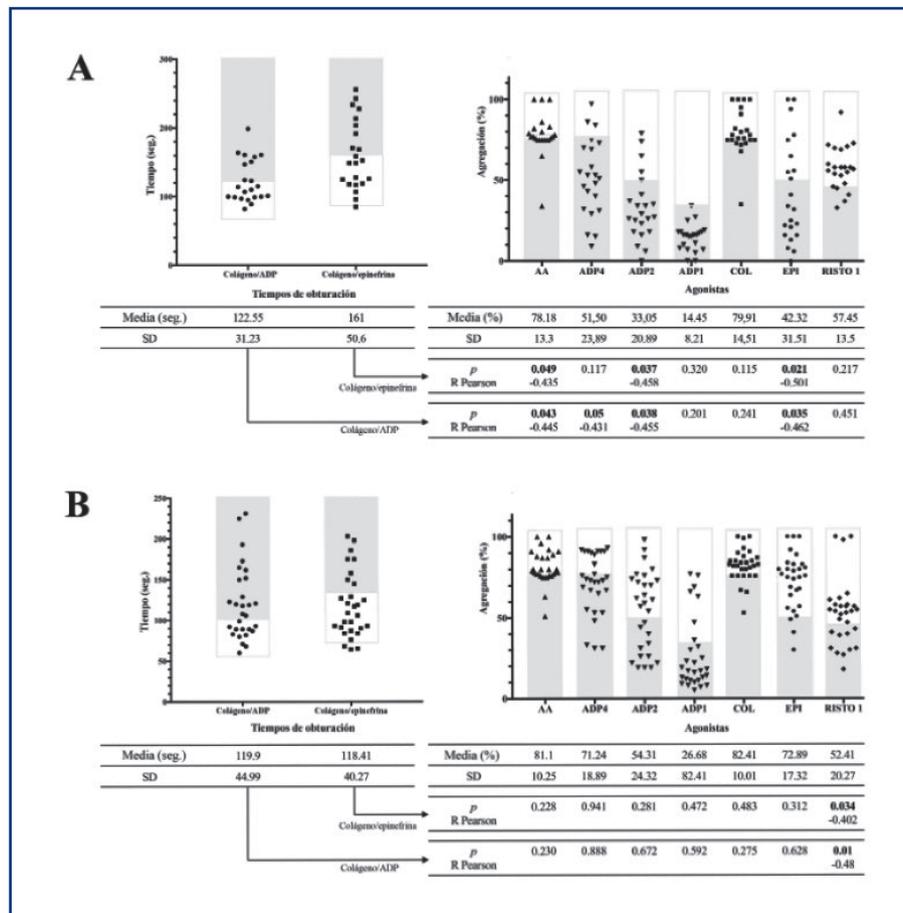


Figura 1.

hemorrágica únicamente se objetivó con el resultado de las agregaciones plaquetarias. Es importante que los facultativos implicados en el tratamiento de estos pacientes conozcan esta posible alteración de cara a evitar complicaciones hemorrágicas. Sería interesante, además, realizar estudios que ayudaran a dilucidar si las PFA podrían servir como cribado de la plaquetopatía, sobre todo en niños de corta edad.

CO-143 Estrategias de análisis del efecto funcional deletéreo de nuevas variantes moleculares en el gen *RUNX1* como causa de trastorno plaquetario familiar con predisposición a leucemia mieloide aguda (FPD/AML)

Palma-Barqueros V¹; Ruiz-Pividal JF¹; Bastida JM²; Bohdan N¹; López Andreu MJ³; Teruel-Montoya R¹; Antón AI⁴; Ferrer-Marín F⁵; Padilla J¹; Cifuentes R¹; Marín-Quilez A²; Martín-Izquierdo M²; Benito R²; Vicente V¹; Hernández-Rivas JM⁶; González-Porras JR²; Lozano ML¹; Rivera J⁷

¹Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital General Universitario Morales Meseguer. Centro Regional de Hemodonación. Universidad de Murcia. IMIB-Arrixaca. CB15/00055-CIBERER. Murcia. ²Unidad de Trombosis y Hemostasia. Hospital Universitario de Salamanca-IBSAL. Salamanca. ³Sección de Biología Molecular. Área Científica y Técnica de Investigación. Universidad de Murcia. Plataforma de Biología Molecular. IMIB-Arrixaca. Murcia. ⁴Plataforma de Genómica. IMIB-Arrixaca. Murcia. ⁵Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital General Universitario Morales Meseguer. Centro Regional de Hemodonación. Universidad de Murcia. IMIB-Arrixaca. CB15/00055-CIBERER. UCAM. Murcia. ⁶Unidad de Trombosis y Hemostasia. Hospital Universitario de Salamanca-IBSAL. IBMCC, CIC. Universidad de Salamanca-CSIC. Salamanca. ⁷Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital General Universitario Morales Meseguer. Centro Regional de Hemodonación. Universidad de Murcia. IMIB-Arrixaca. CB15/00055-CIBERER. Murcia; en representación del proyecto Caracterización funcional y molecular de trastornos plaquetarios congénitos, Grupo de Trabajo de Patología Hemorrágica de la SETH

Introducción: Runx 1 es un factor de transcripción (FT) clave en la hematopoyesis definitiva. Variantes germinales de *RUNX1* (~40 descritas) se asocian a FPD/AML, cuadro caracterizado por trombocitopenia (T_{cp}) moderada, disfunción plaquetaria y alto

riesgo de desarrollar LMA o SMD (40% antes de 35a). Sobreestimar indebidamente la patogenicidad de nuevas variantes moleculares detectadas por secuenciación de alto rendimiento (HTS) en el diagnóstico de las trombocitopenias hereditarias (TPC), aunque afecten a genes conocidos, podría ser más negativo para el manejo y la calidad de vida de los enfermos que carecer de diagnóstico (Lentaigne, Blood 2016). Esto es especialmente relevante para alteraciones en FT como *Runx1*, cuya principal relevancia es el riesgo de desarrollo de cáncer hematológico.

Objetivo: Evaluar la patogenicidad de nuevas variantes en *RUNX1* identificadas en pacientes del proyecto “Caracterización funcional y molecular de pacientes con Trastorno Plaquetario Congénito” (TPC-GT-PH-SETH).

Métodos: Tres mujeres no relacionadas de 27 (P1), 46 (P2) y 50 (P3) años, se incluyeron en TPC-GT-PH-SETH por su historial de Tpc leve ($\sim 10^5$ pl/uL) con VPM normal y sangrado moderado. Una hija y un hermano de P2 fallecieron tras desarrollar LAM y SMD, respectivamente y una hermana de P3 tuvo un cáncer de mama. Solo P1 y P2 mostraron previamente anomalías plaquetarias funcionales moderadas (menor agregación, secreción de selectina P y número de gránulos-d). La HTS (Bastida, Haematologica 2018) identificó nuevas variantes heterocigotas en *RUNX1*: P1, c.802C<>, *de novo*; P2, c.586A>G [p.Thr196Ala], segregó con Tpc y neoplasia en la familia; P3, c.476A>G; [p.Asn159Ser], segregación familiar negativa (4 de 6 portadores con cifras de plaquetas normales). Para este estudio, obtuvimos sangre de las pacientes y de tres controles, y aislamos plaquetas ultrapuradas por filtración+inmunoselección. El ARN plaquetario se analizó mediante Clariom-D Array (~ 540000 transcritos) (Caparrós-Pérez, PLoS One 2017). En P1 aislamos células CD34+ de sangre, las diferenciamos *in vitro* a megacariocitos (Mks), y evaluamos la formación de proplaquetas por inmunofluorescencia.

Resultados: Los transcriptomas mostraron que de los 13 genes reconocidos como diana de *RUNX1* (entre otros *MYL9*, *MYH9*, *ALOX12*), presentan expresión alterada vs. controles, el 69,2% y 61,5% en P1 y P2, respectivamente, y solo el 7,7% en P3. Previamente, se ha descrito el transcriptoma de un único paciente con *RUNX1* variante (deleción de 83aa) (Sun, JTH 2007), reportando 100 genes infraexpresados. De estos, nuestros casos muestran baja expresión del 74,7%, 67,7% y 7,1% (P1, P2 y P3, respectivamente). Un análisis de componentes principales de las señales de intensidad del *array* agrupó separadamente a los controles y el caso P3, de los casos P1 y P2. En la paciente P1 el cultivo *in vitro* de CD34-Mks mostró una disminuida capacidad de formación de proplaquetas.

Conclusión: El fenotipo plaquetar, los estudios de segregación familiar, el transcriptoma plaquetario y la formación de pro-plaquetas *in vitro*, apoyan la patogenicidad de las variantes de *Runx 1* p.Gln268* y p.Thr196Ala, pero no de p.Asn159Ser. El análisis del transcriptoma plaquetario es una herramienta útil en la caracterización patogénica de variantes moleculares nuevas en genes de FT, como *RUNX1*, identificadas en enfermos con TPC, y puede ayudar a identificar nuevos genes diana de estos FT.

Financiación: ISCIII-Feder P117/01311 & P117/01966, F. Séneca 19873/GERM/15, GRS1647A/17, IBSAL, IBY17/00006, GT-Patología Hemorrágica-SETH.

CO-144 Púrpura trombótica trombocitopénica: ¿puedes estar pasando casos por alto?

Martínez Nieto J¹; Fernández González B¹; Trelles R¹; Moreno N¹; Doarta M¹; López García A¹; Cubillas D¹; Alfayate A¹; Menéndez Cuevas M¹; Calo A¹; Colás B¹; Gómez M¹; Papadopoulos P¹; González Fernández FA¹; Villegas A¹; Benavente C¹; González Vallejo I²; Cornago Delgado I²; Pérez Ortega A³; Ropero Gradilla P¹

¹Hospital Clínico San Carlos. Madrid. ²Hospital Universitario de Galdakao. Galdakao, Vizcaya. ³Hospital Universitario de Guadalajara. Guadalajara

Introducción: La púrpura trombótica trombocitopénica adquirida (PTTa) es una de las pocas urgencias hematológicas que existen. La mortalidad sin terapia plasmática es del 90%, por lo que el tratamiento se inicia cuando se establece la sospecha (que se confirma con actividad de ADAMTS13 < 10%). Esto permite diferenciar a esta entidad de otros tipos de microangiopatía trombótica (MAT) que requieren un tratamiento distinto. Hoy en día la mortalidad es del 15-20% y se produce principalmente antes de iniciar el tratamiento o en la etapa inicial de este, por lo que establecer rápidamente la sospecha de PTTa es crucial para evitar muertes.

Objetivo: Hemos seleccionado 6 casos de PTTa anómalos en cuanto a su presentación, con el objetivo de concienciar sobre la variabilidad de esta enfermedad en su debut.

Metodología: Hemos realizado la actividad de ADAMTS13 a 1427 pacientes distintos. 187 corresponden a debuts de PTTa (actividad < 10% con inhibidor o sin inhibidor pero con recuperación posterior de niveles normales de actividad).

Resultados: En la [tabla 1](#) se recopilan los datos de los 6 pacientes seleccionados y también las características típicas o medias del conjunto de casos de PTTa (n = 187). Típicamente, las PTTa debutan con plaquetopenia severa y con anemia. No obstante, algunos casos se presentan inicialmente sin anemia y pueden ser catalogados erróneamente como PTI (caso#1). Hay un pico de casos que se producen en la 4ª década de la vida, pero el debut de PTTa puede darse incluso en octogenarios (#2) o en preadolescentes (#3). Creatininas > 2 mg/dL o la presentación en el posparto se asocian con síndrome hemolítico urémico atípico, pero la PTTa se puede presentar con ambas características (#4). El caso #5 muestra que, en ocasiones, la MAT en pacientes con tumores avanzados puede estar causada por un déficit de actividad de ADAMTS13. Esta enfermedad se puede dar en pacientes complejos a nivel clínico (#6) que presentan varias características a la vez que no suelen asociarse con la PTTa (pancreatitis e insuficiencia renal aguda en paciente cirrótico).

Conclusiones: La actividad de ADAMTS13 se debería medir prácticamente en cualquier paciente con esquistocitos al ser vital para reconocer ciertos casos con PTTa. Es importante que los centros que manejan información clínica de muchos pacientes con enfermedades ultrarraras aporten su experiencia. Estos casos atípicos tienden a ingresar en servicios, distintos al de hematología, que suelen plantear tratamientos alternativos a los recambios plasmáticos. Aquí aportamos evidencias que pueden ayudar a sospechar la PTTa de forma más precoz, lo que se podrá traducir en un inicio anterior de la terapia plasmática en casos similares y, por lo tanto, en una menor mortalidad.

Tabla I. Características de los pacientes con un debut atípico de PTT adquirida										
Paciente	Sexo	Antecedentes	Edad (años)	H (g/dl)	Plaquetas (x 109/L)	Creatinina (mg/dL)	Otras condiciones/hallazgos	Actividad de ADAMTS13	Inhibidor	Actividad de ADAMTS13
#1	F	Sospecha de PTI en los días previos	29	14,3	55	0,97	Sin clínica asociada y sin anemia. Hematomas en MMII	0,4%	++	85%
#2	F	Sin antecedentes de interés	34	7,5	12	2,7	HELLP y parto por cesárea 5 días antes	0%	-	65%
#3	M	Hemoptisis y síndrome constitucional (mes previo)	85	10	9	1,73	Afectación neurológica (vértigo)	0%	++	Nd (pérdida seguimiento)
#4	F	Sin antecedentes de interés	10	6,9	10	0,45	HTA y proteinuria	0,5%	-	95%
#5	M	Adenocarcinoma pulmonar para ahiliar derecho estadio IV	65	7,9	8	2,31	Tratamiento reciente con pemetrexed. Afectación neurológica (inestabilidad de la marcha)	0%	++	Nd (pérdida seguimiento)
#6	M	Cirrosis hepática (enólica y VHC)	61	12,5	7	2,78	Pancreatitis e IRA al llegar a urgencias. Afectación neurológica (somnia)	0%	+	Nd (exitus)
Paciente típico*	F (65%) M (35%)	Idiopática (> 50% de los casos); asociada a enfermedad autoinmune (12%); infecciones (9%); cáncer (5%); etc.	47	9,25	13	1,25	Con o sin clínica neurológica (60% frente a 40%) Con o sin daño renal (35% frente a 65%)	0,4%	+ 0 ++	Variable, un tercio con actividades nulas en RC

*Medias/medianas y frecuencias a partir de datos al debut de 157 pacientes.
 RC: remisión completa; F: femenino; M: masculino; PTI: púrpura trombótica idiopática; IRA: insuficiencia renal aguda; +: inhibidor positivo; ++: inhibidor positivo a alto título.
 En negrita se destacan las características principales de cada caso.

CO-145 Coste del eltrombopag y rituximab por paciente respondedor al tratamiento de la trombocitopenia inmune primaria en España

Anguita E¹; Parrondo-García FJ²; Roldán-Etcheverry JJ³; Gonzalez-Porras JR⁴

¹Servicio de Hematología y Hemoterapia. IML, IdISSC. Hospital Clínico San Carlos. Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid. Madrid.

²JParrondoHEALTH. Coslada, Madrid. ³Servicio de Hematología y Hemoterapia. IML, IdISSC. Hospital Clínico San Carlos. Universidad Complutense de Madrid. Madrid.

⁴Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario de Salamanca-IBSAL. Salamanca

Introducción: En la actualidad las opciones terapéuticas de segunda línea para la trombocitopenia inmune primaria (PTI) del adulto resistente a esteroides son la esplenectomía, los agonistas del receptor de la trombopoyetina (AR-TPO) y el rituximab. El uso de los dos últimos se ha incrementado a nivel mundial con el fin de evitar los efectos indeseables de la extirpación del bazo. No obstante, las guías internacionales no son tajantes acerca de la preferencia de uno de estos tratamientos sobre los demás. Es por ello, que el coste de cada uno debe ser tenido en cuenta a la hora de priorizar la elección del fármaco a emplear.

Objetivo: El propósito de este estudio es determinar el coste por paciente del AR-TPO eltrombopag, respecto al de rituximab en el contexto del Sistema Nacional de Salud de España.

Métodos: Hemos desarrollado un modelo de coste-consecuencia con un horizonte temporal de 26 semanas para comparar los costes directos hospitalarios del tratamiento de la PTI crónica con eltrombopag y rituximab. El modelo acumula los costes de tratamiento (fármacos y administración), de seguimiento y los producidos como consecuencia de los sangrados, para calcular el coste por respondedor para las dos alternativas de tratamiento. No se han tenido en cuenta los sangrados grado 1 que son tratados por el propio paciente o por el nivel de atención primaria. Para determinar la eficacia de los tratamientos se ha realizado una revisión bibliográfica. Para estimar los costes se han utilizado las tarifas oficiales publicadas por las distintas comunidades autónomas, actualizadas a euros de 2018. Dado el horizonte temporal del modelo, no se ha considerado la aplicación de descuento temporal a costes y efectos.

Resultados: El coste medio por paciente tras seis meses de tratamiento fue similar para eltrombopag y rituximab, respectivamente. No obstante, la mayor tasa de respuesta del primero conlleva una reducción de los costes de sangrado. Como consecuencia de esta menor eficacia del tratamiento con el anticuerpo monoclonal el coste medio por respuesta es un 29% superior en este con respecto al de eltrombopag. El único caso en que el coste de eltrombopag es superior al de rituximab es en el análisis en el que se usan dosis de 75 mg de eltrombopag. Sin embargo, en este caso el coste respuesta es solo 48€ superior en el tratamiento con eltrombopag.

Conclusión: El coste del tratamiento con rituximab incluyendo el gasto derivado de la monitorización de los pacientes y el sangrado es superior al de eltrombopag. Este hecho debe ser tenido en cuenta para la elección terapéutica.

CO-146 Papel de los miRNAs de plaquetas en el tejido adiposo epicárdico de pacientes con enfermedad coronaria

Zorio E¹; Montero Argudo JA²; Hornero F²; Torregrosa Puerta S²; Heredia Cambra T²; Pérez Guillem M²; Bel Mínguez AM²; Doñate Bertolín L²; Bueno Codoñez M²; Berbel Bonillo A²; Blanco Herrera OR²; Marco M²; Martínez Dolz L; Llorens S³; Jiménez E; Morillo I; Marí-Alexandre J; Molina P⁴; Braza-Boils A

¹Unidad CaFaMuSME. Instituto de Investigación Sanitaria La Fe. Servicio de Cardiología, y ²Servicio de Cirugía Cardíaca. Hospital Universitari i Politènic La Fe. Valencia. ³Facultad de Medicina. Universidad de Castilla-La Mancha. ⁴Unidad CaFaMuSME. Instituto de Investigación Sanitaria La Fe. Instituto de Medicina Legal de Valencia. Valencia

Introducción: Nuevos factores de riesgo cardiovascular (FRCV) están siendo estudiados como es la enfermedad de hígado graso no alcohólico o un incremento del grosor del tejido adiposo epicárdico (TAE). El TAE se localiza principalmente en el recorrido de las arterias coronarias, se considera tejido adiposo marrón y presenta actividad metabólica sintetizando citocinas

y adipocinas modulando la actividad de adipocitos, macrófagos y células del vaso por vía paracrina y vasocrina que pueden jugar un potencial papel en el proceso aterotrombótico. El objetivo del presente trabajo es evaluar el papel de miRNAs plaquetarios en TAE y su relación con la enfermedad coronaria (EC).

Material y métodos: Se incluyeron 31 pacientes sometidos a cirugía de revascularización programada por EC; y, en el grupo control (CNT) 27 pacientes sometidos a cirugías de recambio valvular sin EC asociada. Se obtuvieron muestras TAE contiguo a arterias coronarias de controles (TAE-CNT, n = 12), contiguo a coronaria con placa ateromatosa (TAE-EC-CON, n = 17) o sin placa (TAE-EC-SIN, n = 14) de pacientes. Tanto los miR-16-5p,-21-5p,-223-5p,-27a-3p,-126-5p,-146a-5p,-191-5p,-150-5p y -155-5p; como los mRNAs de AP-2, adiponectina y resistina se cuantificaron por qRT-PCR. Se evaluaron parámetros analíticos, y los principales FRCV de todos los pacientes incluidos en el estudio.

Resultados: En el grupo de pacientes hubo una mayor presencia de hombres, tabaquismo, diabetes mellitus, hipertensión arterial y dislipemia. Los miRNAs típicamente plaquetarios (miR-16-5p,-223-5p,-21-5p,-27a-3p,-191-5p) se encontraron elevados en el TAE-EC-CON en comparación con TAE-CNT, observándose un incremento no significativo en las muestras de TAE-EC-SIN. Los niveles de miR-223-5p en TAE-EC-SIN y el recuento de plaquetas se correlacionó significativamente ($r = 0,586$; $p = 0,035$). Los miRNAs asociados a células inflamatorias (miR-146a-5p,-150-5p y -155-5p) se encontraron incrementados el TAE de pacientes aunque sin significación estadística. Los niveles de AP-2, adiponectina y resistina se encontraron aumentados en TAE-EC aunque de manera significativa solo en los TAE-EC-SIN de pacientes.

Conclusiones: Este estudio preliminar corrobora la importancia del estudio del papel del TAE y demuestra la necesidad de comprender en mayor profundidad su relevancia en el proceso aterotrombótico. Los miRNAs típicamente plaquetarios aparecen incrementados en el TAE-EC-CON lo que confirma la necesidad de descifrar el papel que juegan las plaquetas como células inflamatorias en la EC.

Financiación: ISCIII-Fondos FEDER "Una forma de hacer Europa" (PI18/01582); Beca Stop Fuga de Cerebros-Roche; Memorial Nacho Barberá.

CO-147 La variante L56S en RUNX1 se relaciona con leve alteración de la función plaquetaria en un modelo de ratón generado por CRISPR/Cas9

Marín-Quílez A¹; Fernández-Infante C¹; Hernández-Cano L¹; García-Tuñón I²; Méndez-Sánchez L³; Herrero-García M³; Ordóñez JL²; González-Briones S²; Palma-Barqueros V⁴; Martín-Izquierdo M²; Quijada-Álamo M²; Pérez-Losada J; Lozano ML⁴; Rivera J⁴; Sánchez-Martín M³; Guerrero C¹; Benito R²; Hernández-Rivas JM⁵; González Porras JR⁶; Bastida JM⁶

¹Grupo de Patología Trombótica y Hemostasia. Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL). Centro de Investigación del Cáncer. IBMCC.

CSIC. Universidad de Salamanca. Salamanca. ²Centro de Investigación del Cáncer. IBMCC. CSIC. Universidad de Salamanca. Grupo Genética Molecular en Oncohematología. Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL). Salamanca. ³Servicio de Transgénesis, Nucleus. Universidad de Salamanca. Salamanca. ⁴Servicio de Hematología y Oncología Médica. Centro Regional de Hemodonación. Universidad de Murcia. Murcia. ⁵Centro de Investigación del Cáncer. IBMCC. CSIC. Universidad de Salamanca. Grupo Genética Molecular en Oncohematología. Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL). Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Salamanca. Salamanca. ⁶Grupo Patología Trombótica y Hemostasia. Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL). Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Salamanca. Salamanca

Introducción: El trastorno plaquetario congénito con predisposición a leucemia aguda (FPD/AML) está causado por variantes germinales en RUNX1. Posee herencia autosómica dominante y suele cursar con trombocitopenia leve/moderada con volumen plaquetario normal y/o aumento de la clínica hemorrágica por disfunción plaquetaria. Además, los pacientes tienen riesgo de desarrollar hemopatía maligna. Dado que no hay un método diagnóstico definitivo, se emplea la secuenciación masiva (NGS) para su diagnóstico genético. Sin embargo, es necesario definir la patogenicidad de las variantes encontradas mediante modelos animales/celulares. Actualmente, hemos generado satisfactoriamente un modelo murino portador de la variante L56S en RUNX1, mediante edición genética con CRISPR/Cas9, detectada por NGS en 4 familias no relacionadas con clínica hemorrágica y antecedentes de leucemia mieloblástica.

Objetivos: Caracterización fenotípica y funcional del trastorno plaquetario causado por la variante L56S en RUNX1 en un modelo murino generado por CRISPR/Cas9.

Métodos: Se generaron 91 ratones: 30 WT, 31 heterocigotos (RUNX1^{L56S}/WT) y 30 homocigotos (RUNX1^{L56S}/L56S). La caracterización fenotípica y funcional se realizó por citometría de flujo: a) recuento de plaquetas CD41+; b) liberación de P-selectina por gránulos α (anti-CD62P); c) activación de la integrina α2bβ3 (JON/A y fibrinógeno marcado); y d) agregación plaquetaria (anti-CD9). Se emplearon los agonistas trombina 1 U/mL, PMA 100 μM y ADP 100 μM. Se evaluó el tiempo de sangrado en cortes de cola y el spreading plaquetario mediante microscopía con TIU durante 5 minutos. Los datos se han representado como media ± SD. La estadística se realizó con el programa SPSS Statistics 23.

Resultados: Se observó: a) menor número de plaquetas en ratones RUNX1^{L56S/L56S} respecto a WT (474 vs. 643 x10³ plaquetas/μL, p = 0,005), mientras que los ratones RUNX1^{L56S/WT} presentan niveles plaquetarios similares al WT; b) la degranulación se ve disminuida, respecto al WT, tanto en ratones RUNX1^{L56S/WT} (25,6% vs. 30,45%, p = 0,022 con trombina; 12,6% vs. 14,7%, p = 0,027 con PMA) como RUNX1^{L56S/L56S} (25,6% vs. 30,45%, p = 0,04 con trombina; 11% vs. 14,7%, p = 0,001, con PMA); c) menor activación de la integrina α2bβ3, respecto al WT, en ratones RUNX1^{L56S/WT} (25,85% vs. 30,9%, p = 0,006 con trombina; 11,43% vs. 15,7%, p < 0,001, con PMA) y RUNX1^{L56S/L56S} (21,7% vs. 30,9%, p < 0,001, con trombina; 8,7% vs. 15,7%, p < 0,001, con PMA). La unión de la integrina α2bβ3 con fibrinógeno tras la activación con ADP mostró una disminución significativa en los ratones RUNX1^{L56S/L56S} respecto a los WT (4,35% vs. 5,85%, p = 0,004). 4) Los ratones RUNX1^{L56S/L56S} mostraron menor agregación a los 10 minutos de incubación con trombina respecto a los WT (83,5% vs. 92%, p = 0,02) mientras que los ratones RUNX1^{L56S/WT} presentaron diferencias significativas a los 15 minutos respecto al WT (88,75% vs. 94,36%, p = 0,016) (Tabla I).

Tabla I. Resultados del estudio funcional en ratones WT, RUNX1 ^{L56S/WT} y RUNX1 ^{L56S/L56S} . Se representa como media de valores absolutos o porcentajes (%) ± SD			
	WT	RUNX1 ^{L56S/WT}	RUNX1 ^{L56S/L56S}
Recuento de plaquetas CD41+	643 ± 145 x10 ³ plaquetas/μL	614 ± 180 x10 ³ plaquetas/μL	474 ± 186 x10 ³ plaquetas/μL
Degranulación (TIU)	30,45% ± 8%	25,6% ± 8,5%	25,6% ± 8,2%
Degranulación (PMA 100 μM)	14,7% ± 3,6%	12,6% ± 4,66%	11% ± 4,97%
Activación integrina α2bβ3 (TIU)	30,9% ± 10,76%	25,85% ± 10%	21,7% ± 7,95%
Activación integrina α2bβ3 (PMA 100 μM)	15,7% ± 6,4%	11,43% ± 5,5%	8,7% ± 3,37%
Unión integrina α2bβ3 activada – fibrinógeno (ADP 100 μM)	5,85% ± 2,48%	5,39% ± 3,6%	4,35% ± 2%
Agregación (10 min)	92% ± 8,66%	86,75% ± 9,48%	83,5% ± 10,5%
Agregación (15 min)	94,36% ± 3,97%	88,75% ± 4,66%	87,23% ± 9,35%
Spreading plaquetario (TIU)	13,32 ± 2,15 μm ²	10,81 ± 2,16 μm ²	10,68 ± 1,77 μm ²
Tiempo de sangrado	66,5 ± 49,4 seg	100 ± 129,74 seg	143 ± 126,9 seg

Por otro lado, los estudios de microscopía muestran una menor capacidad de *spreading*, respecto a plaquetas WT, en los ratones $RUNX1^{L56S/WT}$ ($10,81 \mu m^2$ vs. $13,32 \mu m^2$, $p = 0,028$) y $RUNX1^{L56S/L56S}$ ($10,68 \mu m^2$ vs. $13,32 \mu m^2$, $p = 0,035$). Por último, en el test de sangrado en cola detectamos un incremento del tiempo de sangrado, respecto al WT, en los ratones $RUNX1^{L56S/WT}$ (100 seg vs. 66,5 seg, $p = 0,034$) y $RUNX1^{L56S/L56S}$ (143 vs. 66,5 seg, $p = 0,033$) (Tabla I).

Conclusiones: La variante L56S en *RUNX1* en heterocigosis y homocigosis causa alteraciones en la función plaquetaria a nivel de activación y degranulación en el modelo murino generado por CRISPR/Cas9.

Financiación: P117/01966, IBY17/00006, GRS1647A/17. Beca predoctoral (AMQ) IBSAL.

Métodos de diagnóstico

CO-148 Caracterización clínica y molecular por secuenciación de nueva generación de pacientes afectados por deficiencias congénitas de fibrinógeno

Moret A; Zúñiga Á; Haya S; Cid AR; Ferrando F; Blanquer A; Cervera JV¹; Bonanad S

Hospital Universitar i Politècnic La Fe. Valencia

Tabla I. Fenotipo de los probandos

Paciente	Género	Edad (años)	Clasificación	Ratio lisis	Fenotipo clínico
P1	F	56	Hipofibrinogenemia	2.11	Asintomático
P2	M	32	Afibrinogenemia	NV	Hemorrágico. Sangrado de cordón umbilical, hematomas musculares, epistaxis, hemartros y sangrado tras cirugía
P3	F	40	Disfibrinogenemia	NV	Hemorrágico. Sangrado tras exodoncia y durante posparto
P4	F	39	Afibrinogenemia	NV	Hemorrágico and trombótico. Hematomas musculares, hematuria, epistaxis, gingivorragias y hemartros. Trombosis arterial y vasculitis en el pie
P5	M	44	Afibrinogenemia	NV	Hemorrágico. Cefalohematoma, hematomas de aparición fácil, gingivorragias y sangrado tras exodoncia
P6	F	56	Afibrinogenemia	3.05	Asintomático. Historia familiar de trombosis
P7	F	20	Disfibrinogenemia	NV	Hemorrágico. Hematomas de aparición fácil, hematomas tras traumatismos y menstruación abundante. Historia familiar de sangrado
P8	F	17	Disfibrinogenemia	3.25	Hemorrágico. Epistaxis and menorragia. Historia familiar de sangrado
P9	F	7	Disfibrinogenemia	4.95	Asintomático
P10	F	10	Hipofibrinogenemia	1.32	Asintomático
P11	F	57	Disfibrinogenemia	2.15	Hemorrágico. Gingivorragia. Historia familiar de sangrado
P12	F	19	Hipofibrinogenemia	7.67	Asintomático. Historia familiar de trombosis
P13	F	16	Hipofibrinogenemia	7.12	Asintomático. Historia familiar de trombosis
P14	M	46	Disfibrinogenemia	1.58	Hemorrágico / Asintomático. Un sangrado tras exodoncia
P15	F	20	Hipofibrinogenemia	2.12	Asintomático
P16	F	72	Hipofibrinogenemia	0.53	Hemorrágico. Hematomas de aparición fácil, menorragia abundante y sangrado tras cirugía
P17	M	58	Disfibrinogenemia	3.10	Asintomático

El género F es femenino y M masculino. El ratio de lisis muestra la relación entre la polimerización y la degradación del fibrinógeno, el rango normal es de $1,80 \pm 0,42$. NV significa "no valorable".

Introducción: Las deficiencias congénitas de fibrinógeno (DCF) son trastornos de coagulación caracterizados por una cantidad y/o calidad reducida de fibrinógeno circulante. En la clínica puede estar asociado tanto a eventos hemorrágicos como trombóticos. El fibrinógeno está codificado en genes FGA, FGB y FGG, agrupados en una región de 50 kb en el cromosoma 4q28-31.3. Se han descrito aproximadamente 200 mutaciones missense diferentes dentro del grupo de genes del fibrinógeno. Entre ellos, el 40% causan hipofibrinogenemia, mientras que el 50% disfibrinogenemia. El objetivo de nuestro estudio fue caracterizar a los pacientes de nuestro hospital con DCF a través de la secuenciación completa de los genes FGA, FGB y FGG mediante la secuenciación de Nueva Generación (NGS).

Métodos: El fibrinógeno funcional se midió con el reactivo Multifibren U (Siemens Healthcare). La cantidad de fibrinógeno inmunológico se midió con ELISA utilizando un par de anticuerpos antifibrinógeno humano (Enzyme Research Laboratories). Para los estudios de fibrinólisis se registró una curva de polimerización y de degradación en un espectrofotómetro y se calculó la relación entre las velocidades de formación y de degradación de fibrina. Para la secuenciación de nueva generación (NGS) se empleó la tecnología Illumina (NextSeq 500) y un panel de genes custom de SureSelect con tecnología de captura, Agilent Technologies. Se aplicaron filtros para eliminar del análisis variantes en regiones no codificantes alejadas de los exones, variantes sinónimas, variantes con elevada frecuencia poblacional (MAF > 0.02)

Tabla II. Genotipo de los probandos

Paciente	Gen	Cambio nucleótido	Cambio proteína	Descrita	Clasificación
P1	FGB	c.606G>A	p.Leu202=	No	VOUS
P2	FGA	delE2-E6		Neerman-Arbez M 1999	Patogénica
P3	FGA FGA	c.1441delG c.510+1G>T	Glu481Lysfs*3	No Neerman-Arbez M 2000	Probablemente patogénica Patogénica
P4	FGA	c.510+1G>T		Neerman-Arbez M 2000	Patogénica
P5	FGA	delE2-E6		Neerman-Arbez M 1999	Patogénica
P6	FGG	c.902G>A	p.Arg301His	Kehl M 1984	Probablemente patogénica
P7	FGG	c.1007T>C	p.Met336Thr	Yamazumi K 1989	VOUS
P8	FGG	c.901C>T	p.Arg301Cys	Terukina S 1987	Probablemente patogénica
P9	FGG	c.1201C>T	p.Arg401Trp	Brennan SO 2002	Probablemente patogénica
P10	FGA	c.103C>T	p.Arg35Cys	Soria J 1982	Probablemente patogénica
P11	FGG	c.864T>G	p.Tyr288Ter	No	Patogénica
P12	FGG	c.1121A>G	p.Tyr374Cys	No	Patogénica
P13	FGA	c.341G>A	p.Arg114Lys	No	VOUS
P14	FGG	c.323C>G	p.Ala108Gly	Brennan SO 2000	VOUS*
P15	FGA	c.212A>C	p.Lys71Thr	No	Probablemente patogénica
P16	FGA FGA	c.1002G>T c.1003A>T	p.Trp334Cys p.Asn335Tyr	No No	Probablemente patogénica Probablemente Benign
P17	FGG	c.902G>A	p.Arg301His	Kehl M 1984	Probablemente patogénica

*Variante FGG p.Ala108Gly predicha como VOUS, pero en Clinvar está descrita como patogénica. La referencia FGA es NM_000508.3; la referencia FGB es NM_005141.4; la referencia FGG es NM_021870.2. La clasificación según los criterios del ACMG se obtuvo con el software de predicción VarSome (<http://varsome.com/>) que se basa en DANN, GERP, Mutation Taster, Mutation Assessor FATHMM, LRT, MetaLR, MetaSVM y PROVEAN entre otros programas de predicción.

y variantes encontradas en población sana y descritas como benignas. El análisis de confirmación y los estudios de variantes en pacientes relacionados se realizaron mediante la secuenciación de Sanger.

Resultados: Se han analizado un total de 17 casos índices de familias con disfibrinogenemia (n = 7), hipofibrinogenemia (n = 6) y afibrinogenemia (n = 4), con un rango de edad de 7 a 72 años, siendo 4 hombres y 13 mujeres. El análisis simultáneo de los genes FGA, FGB y FGG permitió en todos los casos, confirmar el diagnóstico clínico y hubo una correlación completa con los resultados del estudio funcional e inmunológico.

Conclusiones: Se han hallado cinco nuevas variantes de *mis-sense* en el gen FGA (p.Arg114Lys; p.Lys71Thr; p.Trp334Cys; p.Asn335Tyr) y en el gen FGG (p.Tyr374Cys). FGA p.Lys71Thr y FGG p.Asn335Tyr resultaron ser hipofibrinogenemias y el resto de variantes causaron disfibrinogenemia. Se ha detectado una pequeña delección novel en el gen FGA (c.1441delG) en heterocigosis compuesta en un probando (P3) con fenotipo sangrante y diagnosticado como disfibrinogenemia (Tablas I y II). Conocer la alteración genética, junto con los estudios funcionales del fibrinógeno y la historia familiar y personal de los pacientes, nos ayuda a establecer la tendencia hemorrágica o trombótica de nuestros pacientes y a considerar un mejor enfoque terapéutico. En este sentido, la NGS ha demostrado ser una herramienta útil y fiable para secuenciar simultáneamente todos los genes potencialmente implicados en la enfermedad.

CO-149 Identificación de un perfil de clases de lípidos circulantes asociados con el tromboembolismo venoso

Fernández-Pardo A¹; Oto J¹; Alcoriza-Balaguer MI²; Martos L¹; Plana E³; Solmoirago MJ¹; Yelo M¹; Ferrando F⁴; Blanquer A⁴; Bonanad S⁴; España F¹; Medina P¹; Roca M; Navarro S¹

¹Grupo de Investigación en Hemostasia, Trombosis, Arteriosclerosis y Biología Vasculare; y ²Unidad de Biomarcadores y Medicina de Precisión. Unidad Analítica. Instituto de Investigación Sanitaria La Fe. Valencia. Valencia.

³Grupo de Investigación en Hemostasia, Trombosis, Arteriosclerosis y Biología Vasculare. Instituto de Investigación Sanitaria La Fe. Servicio de Angiología y Cirugía Vasculare. Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia. ⁴Unidad de Hemostasia. Servicio de Hematología. Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia

Introducción: La membrana celular juega un papel fundamental en las diferentes reacciones que ocurren durante la coagulación, destacando la presencia de fosfolípidos, lípidos y glicolípidos, con acciones pro- y anticoagulantes. Además, se ha descrito una asociación entre ciertas proteínas relacionadas con el metabolismo lipídico y el riesgo trombótico. El objetivo de nuestro estudio fue identificar mediante análisis de lipidómica avanzado, las principales clases de lípidos asociados con la enfermedad tromboembólica venosa (ETV), permitiendo el conocimiento de nuevos factores, que podrían interaccionar con los ya conocidos, e identificando nuevas rutas asociadas con esta patología.

Métodos: Seleccionamos muestras de plasma de 30 pacientes diagnosticados de ETV, sin ningún factor de riesgo conocido, y 30 voluntarios sanos, pareados por edad y sexo. Analizamos los lípidos presentes en el plasma mediante espectrometría de masas no dirigida en cromatografía líquida, con adquisición de datos de forma independiente (LC-MS_DIA). La anotación de los lípidos se realizó mediante el paquete específico de R: LipidMS (v 0.1.0), que nos permite el procesamiento de los datos obtenidos y la identificación de la clase de lípidos a la que pertenecen. Los resultados se analizaron mediante análisis de regresión logística, identificando las clases de lípidos asociados con la ETV.

Resultados: Combinando los modos de ionización positiva y negativa, un total de 379 lípidos fueron identificados en nuestras muestras de plasma tras el análisis de LC-MS_DIA. Estos lípidos fueron agrupados según la clase lipídica a la que pertenecían, identificando un total de 18 clases de lípidos circulantes en plasma, de entre los cuales 11 tenían un perfil lipídico diferente. Obtuvimos niveles disminuidos de CE (p = 0,041), y aumentados de carnitinas (p = 0,010), ceramidas (p < 0,001), DG (p = 0,003), FA (p = 0,001), LPG (p = 0,002), MG (p = 0,001), PC (p = 0,006), PE (p = 0,001), PG (p = 0,007) y SM (p < 0,001) en pacientes con TEV comparado con controles sanos. Incluyendo estas 11 variables en un modelo predictivo, obtuvimos un área bajo la curva ROC multivariante de 0,950 (IC 95%: 0,896-1) (Fig. 1), un valor superior al área estimada para cada clase lipídica por separado (Tabla I).

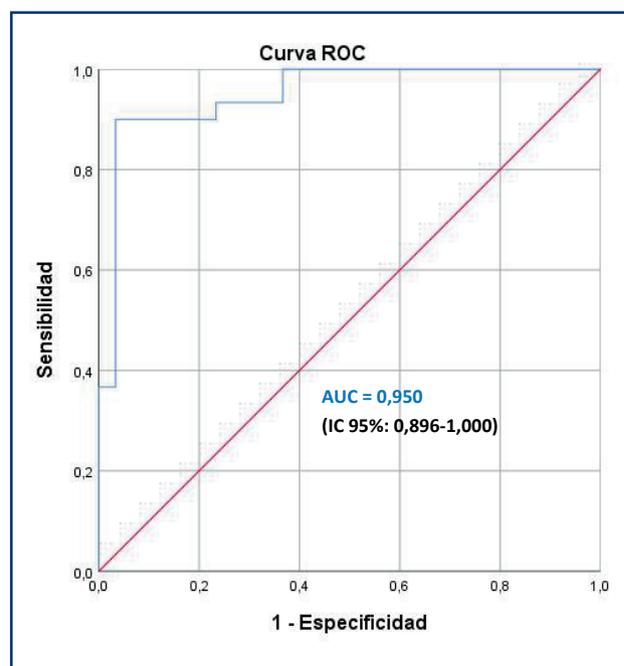


Figura 1. Estimación del área bajo la curva (AUC) correspondiente a la capacidad de predicción del modelo de regresión logística multivariante sobre el que se han ajustado los datos, y que incluye las 11 clases de lípidos con un perfil diferente entre pacientes con TEV y controles sanos.

Tabla I. Estimación del área bajo la curva (AUC) correspondiente a la curva ROC univariante que incluye las 18 clases de lípidos identificados en el plasma de pacientes con TEV y controles sanos

Área bajo la curva					
Variables	Área*	Desv. error	Significación asintótica [†]	95% de intervalo de confianza asintótico	
				Límite inferior	Límite superior
BA	0,463	0,075	0,626	0,316	0,611
Carnitines	0,693	0,072	0,010	0,552	0,834
Ceramides	0,902	0,040	0,000	0,825	0,980
CE	0,347	0,071	0,041	0,208	0,485
DG	0,726	0,069	0,003	0,590	0,861
FAHFAS	0,504	0,077	0,953	0,354	0,655
FA	0,747	0,062	0,001	0,624	0,869
LPC	0,602	0,075	0,174	0,456	0,749
LPE	0,602	0,075	0,174	0,456	0,749
LPG	0,731	0,065	0,002	0,603	0,859
MG	0,760	0,062	0,001	0,639	0,881
PC	0,707	0,067	0,006	0,576	0,837
PE	0,754	0,062	0,001	0,632	0,877
PG	0,701	0,069	0,007	0,566	0,836
PI	0,569	0,075	0,359	0,422	0,716
PS	0,459	0,077	0,584	0,308	0,610
SM	0,827	0,056	0,000	0,717	0,936
TG	0,378	0,073	0,104	0,234	0,521

*Bajo el supuesto no paramétrico. [†]Hipótesis nula: área verdadera = 0,5.

Conclusiones: Hemos identificado 11 clases de lípidos plasmáticos asociados con la ETV. Estos resultados sugieren la existencia de nuevas moléculas y rutas de acción implicadas en el sistema de la coagulación. Sería necesario realizar estudios posteriores para identificar los lípidos específicos para cada clase responsables del efecto sobre el riesgo trombótico, que nos permitieran entender mejor su mecanismo fisiopatológico en esta enfermedad.

Financiación: ISCIII (PI14/00512, FI14/00269, CPII15/00002, PI17/00495), FEDER, Generalitat Valenciana (ACIF/2017/138), IIS La Fe (2014/0718, 2016/0820_VLC-BIO-MED).

CO-150 Comparación de cuatro paneles NGS para neoplasias mieloides: características técnicas y utilidad clínica

Aguilera-Díaz A¹; Vázquez I²; Ariceta B²; Mañú A²; Blasco-Iturri Z²; Larrayoz MJ²; Palomino-Echeverría S²; García-Sanz R³; Prieto-Conde M³; Chillón MC³; Alfonso-Pierola A⁴; Rifón-Roca J⁴; Prosper F⁴; Fernández-Mercado M²; Calasanz MJ²

¹Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA). Universidad de Navarra. Pamplona. ²CIMA LAB Diagnostics. Universidad de Navarra. Pamplona. ³Hospital Universitario de Salamanca. Salamanca. ⁴Clínica Universidad de Navarra (CUN). Pamplona

Introducción: El diagnóstico de las neoplasias mieloides (NM) ha evolucionado significativamente en las últimas décadas. Actualmente, el número de blastos, la citogenética y los análisis moleculares son fundamentales para el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de las NM. La introducción de la medicina personalizada está influyendo en la forma en que actualmente diagnosticamos y monitorizamos las NM, principalmente gracias a la NGS, que gradualmente se está convirtiendo en una herramienta esencial para el manejo de la enfermedad. Con este fin, la mayoría de los laboratorios genéticos especializados han implementado paneles de NGS dirigidos a varios genes relevantes en la patología de las NM. El objetivo del presente estudio es evaluar el rendimiento de cuatro paneles de NGS, en función de sus características técnicas y utilidad clínica.

Métodos: Reclutamos muestras de MO de 32 pacientes con NM. Estas se secuenciaron con cuatro paneles de NGS, tres disponibles comercialmente y uno de diseño propio. Las muestras fueron analizadas de la siguiente manera: 17 con TruSight Myeloid Panel (TSMP, 54 genes, basado en amplicones, Illumina), 16 con SureSeq (23 genes, basado en captura, Oxford Gene Technology), 15 con Myeloid Solutions (MYS, 30 genes, basado en captura, SOPHiA GENETICS), y las 32 con el panel personalizado Pan-Mieloide (PMP, 48 genes, basado en captura, SOPHiA GENETICS). Las librerías se construyeron siguiendo las instrucciones de cada fabricante, y se secuenciaron en un MiSeq (Illumina). El análisis de los datos de secuenciación se realizó tras filtrar por frecuencia de variante alélica (VAF) $\geq 5\%$ y profundidad > 100 . Las variantes fueron clasificadas por dos expertos genetistas

en neoplasias hematológicas. Aquellas variantes clasificadas como “patógenas” o “probablemente patógenas” se categorizaron como clínicamente relevantes.

Resultados: Los cuatro paneles tienen en común 19 genes (*Core Mieloide*): *ASXL1*, *CALR*, *CEBPA*, *DNMT3A*, *ETV6*, *FLT3*, *IDH1*, *JAK2*, *KIT*, *KRAS*, *MPL*, *NPM1*, *NRAS*, *RUNX1*, *TET2*, *TP53*, *U2AF1* y *WT1*. Los cuatro paneles detectaron un total de 50 variantes clínicamente relevantes, 37 de ellas en genes del *Core Mieloide*. Hubo 11 variantes discordantes entre paneles, 3 en genes del *Core Mieloide* que no fueron detectadas con el panel SureSeq (2 *FLT3-ITD* y 1 *CALR*); las otras 8 variantes no fueron detectadas porque los respectivos paneles no incluyen esos genes en su diseño (Tabla I). Cabe destacar que ninguno de los paneles de NGS detectaron 2 mutaciones *FLT3-ITD* adicionales que sí se habían detectado mediante técnicas moleculares convencionales.

Conclusión: Nuestros datos muestran que existe un alto riesgo de encontrar mutaciones diferentes dependiendo del panel de elección, debido tanto al diseño del panel como al método de análisis de datos. Según nuestros datos, la detección de las *ITD* sigue siendo un desafío para la NGS. Además, los tiempos de respuesta de la NGS son difíciles de concordar con el establecido por las guías de la ELN. Por lo tanto, las pruebas moleculares convencionales deben mantenerse para el correcto diagnóstico de las NM.

Financiación: Este trabajo ha sido financiado por el proyecto DIANA, 0011-1411-2017-000028, P116/00159, P117/00701 y AIO2014.

Tabla I. Variantes discordantes entre los paneles de NGS testados

D	D	N	N	FLT3	13	28608271	inframe_36 frameshift	NM_004119 NM_004343	c.1749_1784dup c.1099_1150del	p.Phe594_Arg595ins12 p.Leu367Thrfs*46	Patogénica/ITD patogénica
D	D	ND	NR	CALR	19	13054564					
D	D	ND	NR	FLT3	13	28608286	inframe_36	NM_004119	c.1734_1769dup	p.Tyr589_Phe590ins12	Patogénica/ITD
D	NI	NI	D	GATA2	3	128202767	missense	NM_001145661	c.953C>G	p.Ala318Gly	Patogénica
D	NI	NI	NR	BCORL1	X	129149890	nonsense	NM_021946	c.3142C>T	p.Arg1048*	Probablemente patogénica
D	NI	NI	NR	SH2B3	12	111885286	missense	NM_005475	c.1174C>T	p.Arg392Trp	Probablemente patogénica
D	D	NI	NR	PTPN11	12	112888162	missense	NM_002834	c.178G>T	p.Gly60Cys	Probablemente patogénica
D	NI	NI	NR	GATA2	3	128202767	missense	NM_001145661	c.953C>T	p.Ala318Val	Patogénica
D	D	NI	NR	SRSF2	17	74732959	missense	NM_001195427	c.284C>A	p.Pro95His	Patogénica
D	D	NI	NR	SF3B1	2	198267359	missense	NM_012433	c.1998G>T	p.Lys666Asn	Patogénica
NI	NR	NR	D	GNAS	20	57484421	missense	NM_080425.2	c.2531G>A	p.Arg844His	Patogénica

CO-151 Impacto clínico de los paneles de NGS en patología mieloid: LMA y SMD ¿son realmente útiles?

Riego V¹; Blasco-Iturri Z²; Villar S¹; Marcos M¹; Aguirre-Ruiz P²; Tamariz E¹; Palacios M¹; Urrutia A¹; Viguria M³; Zudaire M³; Mateos M³; Vázquez I⁴; Calasanz M⁵; Larrayoz M⁵; Fernández-Mercado M⁶; Rifón J¹; Prósper F⁷; Alfonso A¹

¹Departamento de Hematología. Clínica Universidad de Navarra. Pamplona. ²CIMA Lab Diagnostics. Universidad de Navarra. Pamplona. ³Departamento de Hematología. Complejo Hospitalario de Navarra. Pamplona. ⁴CIMA Lab Diagnostics. Universidad de Navarra. Instituto de Investigación y Salud Navarra (IdisNA). Pamplona. ⁵CIMA Lab Diagnostics. Universidad de Navarra. Instituto de Investigación y Salud Navarra (IdisNA). Pamplona. ⁶CIMA Lab Diagnostics. Universidad de Navarra. Laboratorio de Genómica Avanzada, Oncohematología. Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA). Universidad de Navarra. Pamplona. ⁷Departamento de Hematología. Clínica Universidad de Navarra. Instituto de Investigación y Salud Navarra (IdisNA). Pamplona. Laboratorio de Genómica Avanzada, Oncohematología. Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA). Universidad de Navarra. Pamplona

Fundamentos/objetivos: La secuenciación de nueva generación (NGS) es una herramienta que se está incorporando a la clínica. A pesar de la amplia literatura sobre el impacto de estos paneles en el pronóstico de pacientes con síndromes mielodisplásicos (SMD) y leucemias mieloblásticas agudas (LMA), en la actualidad todavía no forman parte de la rutina diagnóstica. El objetivo de nuestro trabajo consiste en evaluar el impacto de la incorporación de los paneles NGS en el pronóstico y la elección del tratamiento en estos pacientes.

Métodos y/o pacientes: Estudio retrospectivo descriptivo y unicéntrico que incluyó pacientes diagnosticados de SMD y LMA en los que se había realizado un panel NGS de mutaciones mieloides al diagnóstico. Para el estudio de NGS se empleó un “Custom Panmyeloid Panel”; (Sophia Genetics), que analiza simultáneamente SNV/indels en 48 genes: *ANKRD26, ASXL1, ATRX, BCOR, BCORL1, CALR, CBL, CEBPA, CSF3R, CSNK1A1, CUX1, DDX41, DNMT3A, ETNK1, ETV6, EZH2, FLT3, GATA1, GATA2, IDH1, IDH2, IKZF1, JAK2, KIT, KMT2A, KRAS, MPL, NF1, NPM1, NRAS, PHF6, PPMID, PTPN11, RAD21, RUNX1, SETBP1, SF3B1, SH2B3/LNK, SMC1A, SMC3, SRP72, SRSF2, STAG2, TET2, TP53, U2AF1, WT1* y *ZRSR2*. Para el estudio se seleccionaron las variantes consideradas patogénicas o probablemente patogénicas. Tras revisión de la literatura se consideró *ASXL1, BCORL1, CBL, ETV6, EZH2, RUNX1, SRSF2, STAG2, TP53, U2AF1*, como mutaciones de mal pronóstico para SMD y *ASXL1, FLT3, KIT, RUNX1* y *TP53* para LMA. Se consideraron los genes *DDX41, FLT3, IDH1, IDH2, KIT, SF3B1, SRSF2, TP53* y *U2AF1* como genes candidatos a recibir terapia adaptada (fármacos dirigidos o en ensayos clínicos).

Resultados: Analizamos un total de 46 pacientes, 32 diagnosticados de SMD y 14 de LMA. Las características de los pacientes se reflejan en la tabla I. Del total de los pacientes un 76% presentaron al menos una variante. En el subgrupo de pacientes con SMD un 75% presentaron al menos una variante. La mediana de mutaciones fue de 2 (0-5), siendo las más comunes: *TET2* (21.8%), *ASXL1, SF3B1* y *SRSF2* (18.7%), *U2AF1* (9%)

Tabla I. Características clínicas de los pacientes

Síndromes mielodisplásicos (n = 32)		Leucemia mieloid aguda (n = 14)		
Categoría	n	%	n	%
Sexo				
Hombres	24	75	8	57
Mujeres	8	25	6	43
Edad				
< 45	0	0	2	14
46-65	11	34	4	28.5
66-75	14	43	4	28.5
> 76	6	18	4	28.5
WHO 2016			WHO 2016	
CRDU	14	43	LMA NOS- sin maduración	3 21
CRDM	9	28	LMA NOS- con maduración	1 7
CRDU-SA	1	3	LMA NOS- monoblástica	1 7
CRDM-SA	2	6	LMA NOS- mielomonocítica	2 14
AREB-1	1	3	LMA con cambios displásicos	4 28
AREB-2	3	9	LMA con NPM1 mutado	1 7
SMD- 5q-	1	3	LMA con RUNX1 mutado	1 7
LMMC (sub. SMD)	1	3	LA indiferenciada	1 7
IPSS				
Bajo	14	43		
Intermedio-1	14	43		
Intermedio-2	4	12.5		
Alto	0	0		
IPSS-R				
Muy bajo	18	56		
Bajo	13	40		
Intermedio	3	9		
Alto	4	12.5		
Muy alto	1	3		
Citogenética (según IPSS-R)			Riesgo citogenético ELN	
C. muy buena (-Y, del11 aislada)	3	9	Bajo	0 0
C. buena	24	75	Intermedio	7 50
C. intermedia	4	12.5	Alto	7 50
C. pobre	0	0		
C. muy pobre (c. complejo)	1			

*SMD therapy related: 7/32 (21.8%); LMA therapy related: 3/14 (21.4%).

y *DDX41, ETNK1, IDH1* y *MPL* (6.25%). De los pacientes con bajo riesgo global (n = 28), un 42% tenían variantes de mal pronóstico: *ASXL1* (7/28), *SRSF2* (6/28), *ZRSR2* (2/28), *BCORL1* y *U2AF1* (1/28). De los pacientes con LMA, un 80% presentaron al menos una variante. La mediana de mutaciones fue de 3 (0-4), siendo las más comunes *ASXL1* y *DNMT3A* (28.5%), seguida de *DDX41* (21%), *JAK2* y *TP53* (14%), *FLT3, IDH2, NPM1, PTPN11, SRSF2* y *ZRSR2* (7%). Un 35% presentaron variantes de mal pronóstico: *ASXL1* (21.4%), *FLT3* (7.1%) y *TP53* (7.1%)

De todos los pacientes incluidos en nuestra cohorte el 34.8% tenían variantes susceptibles de recibir tratamiento dirigido: *SRSF2* (15.2%) *DDX41* (10.9%) *IDH1*, *IDH2* y *TP53* (4.3%) y *U2AF1* y *KIT* (2.2%)

Conclusiones: De los pacientes con SMD el 42% de los pacientes de bajo riesgo global pasarían a ser de alto riesgo, lo que podría suponer una re-estratificación del 37.5% del total de pacientes con SMD, que podrían beneficiarse del inicio de tratamiento. Del total de pacientes con LMA, un 35% presentaron mutaciones de mal pronóstico. Del total de pacientes casi el 35% serían susceptibles a un tratamiento adaptado. Nuestros resultados confirman que conocer en mayor profundidad la biología de las neoplasias mieloides tiene un impacto real en el manejo clínico de los pacientes con LMA y SMD, tanto en afinar su riesgo pronóstico como en optimizar el esquema terapéutico.

CO-152 Validación de un modelo con marcadores relacionados con la coagulación para el diagnóstico de infección protésica

Oto J¹; Fernández-Pardo A¹; Fuertes M²; Solmoirago MJ¹; Plana E³; Hervás D⁴; Yelo M¹; Enrique T¹; Herranz R¹; de la Calva C²; Angulo M²; Baixauli I¹; Baixauli F¹; España F¹; Navarro S¹; Amaya JV²; Medina P¹

¹Grupo de Investigación en Hemostasia, Trombosis, Arteriosclerosis y Biología Vascular. Instituto de Investigación Sanitaria La Fe. Valencia. ²Servicio de Cirugía Ortopédica y Traumatología. Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia. ³Grupo de Investigación en Hemostasia, Trombosis, Arteriosclerosis y Biología Vascular. Instituto de Investigación Sanitaria La Fe. Servicio de Angiología y Cirugía Vascular. Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia. ⁴Unidad de Bioestadística. Instituto de Investigación Sanitaria La Fe. Valencia

Introducción: La infección bacteriana activa la coagulación a través de la inmunotrombosis. Los neutrófilos constituyen la primera línea de defensa ante la infección bacteriana, pero se desconoce su mecanismo de acción en las infecciones articulares periprotésicas (IAP). Posiblemente sea a través de la liberación de *neutrophil extracellular traps* (NET), ya que estos se han encontrado en el *biofilm* bacteriano de IAP. Actualmente no existen pruebas diagnósticas de IAP con sensibilidad/especificidad del 100% y frecuentemente el diagnóstico de IAP es dudoso por falta de cumplimiento de algún criterio mayor o menor, dificultando el manejo del paciente. En un estudio previo obtuvimos un modelo para estimar el riesgo quirúrgico de IAP empleando marcadores de NET y parámetros del test de generación de trombina (TGT). El objetivo del presente estudio fue validar la capacidad diagnóstica de IAP de nuestro modelo, que incluye marcadores relacionados con la coagulación.

Métodos: Obtuvimos plasma citratado, en el preoperatorio de la cirugía protésica, de 32 pacientes reclutados prospectivamente. La IAP fue diagnosticada en 9 de estos pacientes, siguiendo los criterios analíticos y microbiológicos del Consenso Internacional sobre infecciones musculoesqueléticas (ICM). El diagnóstico de 9 pacientes fue dudoso, lo cual suele ser frecuente. Validamos nuestro modelo predictivo de IAP que incluye marcadores

de NET (DNA y calprotectina) y variables del TGT (tiempo de latencia e inicio de la cola), con un modelo de regresión logística multivariable con R (v3.5.0).

Resultados: Todos los parámetros de NET y TGT estaban significativamente aumentados en pacientes con IAP y con diagnóstico dudoso comparados con los pacientes sometidos a cirugía protésica por causa no séptica. El área bajo la curva ROC (AUC) de nuestro modelo predictivo fue 0,79 (p = 0,019, IC 95% [0,58, 1]). Con nuestro modelo calculamos la probabilidad quirúrgica de IAP de cada paciente y comprobamos que dicha probabilidad era más alta en pacientes con diagnóstico confirmado de IAP que sin IAP (p = 0,009).

Conclusiones: Los marcadores de NET, DNA y calprotectina, y del TGT, tiempo de latencia e inicio de la cola, parecen tener utilidad diagnóstica de IAP antes de la cirugía. Nuestro modelo diagnóstico podría reforzar los criterios clínicos disponibles con el fin de reducir el número de diagnósticos dudosos y poder así realizar un diagnóstico y tratamiento temprano y eficaz para minimizar efectos colaterales de la IAP como daño tisular, degradación ósea y una cirugía de reemplazo.

Financiación: ISCIII-FEDER (PI14/00079, PI14/00512, FI14/00269, CPII15/00002, PI17/00495), Generalitat Valenciana (ACIF/2017/138) y Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia.

Diátesis hemorrágicas

CO-153 Evaluación del ISTH-BAT en los trastornos plaquetarios congénitos: correlación clínica, laboratorio y molecular

Bastida JM¹; Lozano ML²; Vaquero M¹; Tomás-Menor L³; Sevivas T⁴; Rodríguez-Alén A⁵; Butta N⁶; Fernández-Mosteirín N⁷; Aguilar C⁸; Bermejo N⁹; Sierra C¹⁰; Lozano M¹¹; López-Fernández MF¹²; Velasco F¹³; Varo MJ¹⁴; Alonso MN¹⁵; Marco P¹⁶; González-Porras JR¹; Cid AR¹⁷; Rivera J²

¹Hospital Universitario Salamanca. IBSAL. Salamanca. ²Hospital General Universitario Morales Meseguer. CRH. IMIB. Murcia. ³Hospital General Universitario Alicante. ISABIAL. Alicante. ⁴Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra. Coimbra, Portugal. ⁵Complejo Hospitalario de Toledo. Toledo. ⁶Hospital Universitario La Paz. IDIPAZ. Madrid. ⁷Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza. ⁸Complejo Asistencial de Soria. Soria. ⁹Hospital San Pedro de Alcántara. Cáceres. ¹⁰Hospital Universitario Cruces. Barakaldo, Vizcaya. ¹¹Hospital Clínic de Barcelona. Barcelona. ¹²Centro Hospitalario Universitario A Coruña. A Coruña. ¹³Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba. ¹⁴Hospital Universitario de Albacete. Albacete. ¹⁵Hospital Universitario de Badajoz. Badajoz. ¹⁶Hospital General Universitario Alicante. ISABIA. Alicante. ¹⁷Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia

Introducción: Los trastornos plaquetarios congénitos (TPC) son un grupo heterogéneo de enfermedades raras, que se clasifican en trombocitopenias hereditarias (THs) y en trombocitopatías hereditarias (TFPs). Su identificación inicial y su diagnóstico final son complejos. Este, se basa en la historia clínica, la exploración

física, pruebas de laboratorio fenotípicas y la confirmación de la alteración molecular subyacente. Por otra parte, la valoración de la clínica hemorrágica suele ser subjetiva, por lo que la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia (ISTH) recomienda la utilización de escalas de sangrado (*bleeding assessment tools*, BAT). Los objetivos de nuestros estudios fueron: a) evaluar la clínica hemorrágica con el ISTH-BAT en pacientes diagnosticados de TPC; b) su comparación entre THs y TFPs; y c) su relación con las pruebas funcionales y moleculares.

Métodos: Estudio retrospectivo de 138 pacientes con TPC incluidos en el proyecto nacional "Caracterización funcional y molecular de los TPC" de la SETH. La clínica hemorrágica se evaluó mediante el ISTH-BAT, obteniendo un *score* de sangrado (BS). El diagnóstico fenotípico se realizó mediante hemograma y frotis de sangre periférica, la función plaquetaria mediante agregometría de transmisión de luz (LTA) y citometría de flujo (CMF) y el diagnóstico molecular mediante secuenciación masiva (NGS).

Resultados: La mediana de edad fue de 31 (rango 0-71) años, el 66% eran mujeres, y el 56% tenían historia familiar de TPC. El 62% de los pacientes (n=85) fueron clasificados como THs y el 38% (n = 53) como TFPs. En 69 pacientes (50%), la LTA estaba alterada. El diagnóstico molecular se obtuvo en el 82% (n = 113) de los casos. La mediana del BS de la población total incluida fue 5 (rango, 0-25), siendo la epistaxis la manifestación clínica más frecuente referida. El BS fue significativamente mayor en la población adulta respecto a la pediátrica [6 (rango, 0-18) vs. 0 (rango, 0-6), $p < 0,05$], en las mujeres respecto a varones [5 (rango, 0-25) vs. 3 (rango, 0-21), $p=0,017$] y en los TFPs respecto a THs [7 (rango 2-25) vs. 2 (rango, 0-21), $p < 0,05$]. En los pacientes con THs, el BS fue mayor si la LTA estaba alterada [8 (rango, 0-25) vs. 1 (rango, 0-8), $p < 0,001$]. No hubo diferencias significativas en cuanto a la relación con el diagnóstico molecular (gen afecto).

Conclusiones: Los datos de este trabajo apoyan que el BS obtenido por ISTH-BAT se relaciona con la alteración función plaquetaria y no numérica. Estos resultados podrían ayudar a orientar a los pacientes antes de la realización de estudios biológicos más específicos para caracterizar estos trastornos.

Financiación: ISCIII (PI17/01311 y PI17/01966), GRS (GR-S1647A/17), Fundación Séneca (19873/GERM/15), IBSAL (IBY 17/00006), Grupo Trabajo Patología Hemorrágica-SETH.

CO-154 Estudio de continuación de fase IIIb, abierto y multicéntrico de ruriococog alfa pegol para la profilaxis en pacientes con hemofilia A grave tratados previamente

Álvarez Román MT¹; Mullins E²; Chowdary P³; Stasyshyn O⁴; Zhang J⁵; Engl W⁶; Tangada S⁵

¹Hospital Universitario La Paz, Madrid, España. ²University of Cincinnati. College of Medicine and Cincinnati Children's Hospital Medical Center. Cincinnati, Ohio, EE. UU. ³Katharine Dormandy Haemophilia and Thrombosis Centre. Royal Free Hospital. London, Reino Unido. ⁴Academy of Medical Sciences of Ukraine. Lviv, Ucrania. ⁵Baxalta US Inc., una empresa de Takeda. Cambridge, Massachusetts, EE. UU. ⁶Baxalta Innovations GmbH, una empresa de Takeda. Viena, Austria

Antecedentes: El tratamiento profiláctico para prevenir hemorragias en pacientes con hemofilia A usando productos del factor VIII (FVIII) con semivida estándar requiere infusiones frecuentes por vía intravenosa. El uso de productos con semivida prolongada puede reducir la carga del tratamiento en los pacientes, al reducir el número de infusiones a la vez que mantiene la eficacia terapéutica.

Objetivos: Investigar la seguridad y la eficacia a largo plazo de un FVIII recombinante pegilado con semivida prolongada, ruriococog alfa pegol (BAX 855, TAK-660; Baxalta US Inc. [una empresa de Takeda, Lexington, MA, EE. UU.]), para la profilaxis y el tratamiento de episodios hemorrágicos en pacientes con hemofilia A grave.

Métodos: Los pacientes elegibles de ≤ 75 años provenían de un estudio previo con TAK-660 o no habían recibido anteriormente TAK-660, y habían sido tratados con FVIII derivado de plasma o recombinante. Los pacientes recibieron profilaxis con TAK-660 a una dosis fija (DF) o una pauta posológica ajustada por farmacocinética (FC), y podían cambiar de la pauta de DF a la pauta por FC. Los *endpoint* primarios fueron la incidencia de inhibidores del FVIII confirmados y la tasa anualizada de sangrado (TAS) espontánea, analizados utilizando un modelo lineal generalizado. Los *endpoints* secundarios incluyeron la TAS total (espontánea y traumática) y la aparición de acontecimientos adversos (AA) y AA graves (AAGs). Los resultados aquí comunicados se analizaron por categorías de edad.

Resultados: El estudio (NCT01945593; iniciado en octubre de 2013, finalizado en marzo de 2018) incluyó un total de 216 pacientes. La media total (DE) de edad fue de 22,8 (15,7) años. Los grupos de edad analizados fueron: < 2 años, n = 3; ≥ 2 a < 12 años, n = 62; ≥ 12 a < 17 años, n = 26; ≥ 17 años, n = 125. Doscientos quince pacientes recibieron =1 dosis en la pauta de DF y 25 recibieron, ≥ 1 dosis en la pauta por FC. La media (DE) de la exposición total a TAK-660 por paciente fue de 209,8 (108,4) días a lo largo de un periodo de observación con una media (DE) de 2,20 (1,11) años por paciente. Ninguno de los pacientes desarrolló un inhibidor del FVIII confirmado. Las estimaciones puntuales (IC 95 %) para la TAS espontánea y total por grupo de edad entre los pacientes que recibieron la profilaxis de DF (dos veces por semana) y por FC se muestran en la [tabla I](#). En total, se registraron 838 AAs en 174 (81%) pacientes; 20 de estos AAs fueron evaluados por el investigador como relacionados con TAK-660. Se registraron un total de 52 AAGs en 33 (15%) pacientes, incluido 1 AAG mortal (hemorragia cerebral); ninguno se consideró relacionado con TAK-660. Las frecuencias de AAs y AAGs no mostraron tendencias claras entre los grupos de edad.

Conclusiones: En esta población de pacientes con hemofilia A grave tratados previamente, la profilaxis de TAK-660 con pautas de DF y por FC fue bien tolerada y eficaz en los grupos de edad analizados.

Financiación: El estudio de CONTINUACIÓN fue financiado por Baxalta US Inc. (Lexington, MA [EE. UU.]) y Baxalta Innovations GmbH (Viena, [Austria]), miembros del grupo de empresas de Takeda. El apoyo para la redacción médica de este resumen lo proporcionó Margit Rezabek, DVM, PhD, empleada de Excel Medical Affairs (Southport, CT [EE. UU.]) y fue financiado por Baxalta Inc. (una empresa de Takeda, Lexington, MA [EE. UU.]).

Tabla I. TAS espontánea y total por pauta profiláctica y por categoría de edad					
	< 2 años*	≥ 2 a < 12 años*	≥ 12 a < 17 años	≥ 17 años	Todos los pacientes
Pauta profiláctica de DF dos veces por semana, n	3	59	20	104	186
TAS espontánea, media de la estimación puntual (IC del 95%)	0,61 (0,15-2,45)	0,79 (0,52-1,21)	1,44 (0,94-2,20)	1,29 (0,91-1,83)	1,20 (0,92-1,56)
TAS total, media de la estimación puntual (IC del 95%)	1,84 (0,83-4,10)	1,84 (1,37-2,47)	2,72 (1,93-3,82)	2,26 (1,76-2,90)	2,23 (1,85-2,69)
Pauta profiláctica por FC, n	0	10	4	11	25
TAS espontánea, media de la estimación puntual (IC del 95%)	NP	1,08 (0,45-2,58)	1,60 (0,27-9,49)	0,87 (0,37-2,07)	0,96 (0,54-1,71)
TAS total, media de la estimación puntual (IC del 95%)	NP	4,06 (2,43-6,78)	3,31 (0,77-14,30)	1,36 (0,62-3,01)	2,64 (1,70-4,08)

CO-155 DIGEVAR, “Discovering Genetic Variants”, una nueva plataforma web para el análisis de forma sencilla de datos de secuenciación de alto rendimiento (HTS) en pacientes con trastornos plaquetarios congénitos

Palma-Barqueros V¹; Esteban Gil Á²; Pérez F²; Antón Al³; Legaz-García MC²; Parreño-González M²; Bohdan N¹; Ruiz-Pividal JF¹; Cifuentes R¹; Vicente V¹; Bury L⁴; Bastida JM⁵; Lozano ML¹; Rivera J⁶

¹Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital General Universitario Morales Meseguer. Centro Regional de Hemodonación. Universidad de Murcia. IMIB-Arrixaca, CB15/00055-CIBERER. Murcia. ²Biomedical Informatic and Bioinformatics Platform. IMIB-Arrixaca. Murcia. ³Genomic Platform. IMIB-Arrixaca. Murcia. ⁴Department of Medicine. Section of Internal and Cardiovascular Medicine. University of Perugia. Perugia, Italia. ⁵Unidad de Trombosis y Hemostasia. Hospital Universitario de Salamanca-IBSAL. Salamanca. ⁶Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital General Universitario Morales Meseguer. Centro Regional de Hemodonación. Universidad de Murcia, IMIB-Arrixaca, CB15/00055-CIBERER. Murcia; ⁶en representación del proyecto Caracterización funcional y Molecular de trastornos plaquetarios congénitos, Grupo de Trabajo de Patología Hemorrágica de la SETH

Introducción: Los trastornos plaquetarios congénitos (TPC) son un grupo heterogéneo de enfermedades raras causadas por alteraciones moleculares en genes implicados en la formación/función de las plaquetas. La secuenciación de alto rendimiento (HTS) facilita su diagnóstico. Una importante limitación en este contexto, es el análisis de la gran cantidad de información molecular obtenida, restringido hasta ahora a expertos bioinformáticos.

Objetivo: Desarrollar una plataforma que permita un análisis sencillo de datos de secuenciación por HTS en casos de TPC.

Métodos: El ADN de pacientes con TPC reclutados en el proyecto “Caracterización funcional y molecular de pacientes con TPC” (TPC-GT-PH-SETH), se analizó mediante HTS con un panel de 70-90 genes, en plataformas Illumina o PGM de Ion Torrent, y usando sondas dirigidas a exones, extremos UTR y regiones flanqueantes de los genes diana (≈250.000 pb). Los datos de secuencia cruda obtenidos se formatean en archivos FASTA y se alinean con hg19 en archivos BAM. Posteriormente, se generan archivos VCF (*variant call format*), que enumeran todas las variantes de secuencia identificadas en esos genes, y se cargan en servidores tipo *cluster*. Usando JAVA, diseñamos una plataforma web denominada DIGEVAR (“Discovering Genetic Variants”) (<https://digevar.imib.es>), para acceder a los archivos VCF. El acceso seguro a DIGEVAR, se realiza mediante nombre de usuario y clave personal. DIGEVAR se ha configurado para poder aplicar múltiples estrategias de filtrado de variantes incluyendo entre otras: a) gravedad de la variante; b) ubicación de variante en el gen; c) frecuencia del alelo menor (MAF); d) calidad y cobertura de secuencia; e) gen (único o múltiple); f) transcrito canónico o no; y g) muestra (s) de ADN. Al ejecutar la opción “Filtrar” de DIGEVAR, se obtiene de forma rápida la lista de variantes moleculares que cumplen los criterios de filtrado aplicados.

Resultados: Hasta el momento, están disponibles en la plataforma DIGEVAR 186 archivos VCF con 6098 variantes diferentes. La conexión en línea de DIGEVAR con distintas bases de datos públicas (ENSEMBL, NCBI, CLINVAR, ExAC, etc.), así como con aplicaciones de análisis del efecto de las variantes en las proteínas correspondientes (MutationTaster, Polyphen, Sift, PDB, etc.), permite obtener de forma rápida y sencilla información extensa de las variantes listadas: frecuencia alélica,

número de rs, transcrito, cambio de nucleótido y en su caso de aminoácido en la proteína, consecuencia de variante en el gen y/o proteína, filogenética, significación clínica (valoración en CLINVAR). Otros módulos complementarios en DIGEVAR proporcionan: a) información de la cobertura en cada región de cada gen; b) información sobre las variantes en bases de datos científicas (PubMed, dbSNP, etc.); y c) interpretación de la patogenicidad de las variantes según las guías de la ACMG y AMP (Richards et al. Genet Med 2015).

Conclusión: DIGEVAR es una plataforma web de uso sencillo, que permite a no expertos en bioinformática llevar a cabo un análisis rápido de los datos moleculares obtenidos por análisis de HTS, panel de genes o incluso exoma completo, de los pacientes con TPC y, potencialmente, con otras enfermedades. DIGEVAR pretende facilitar el diagnóstico molecular de enfermedades en la práctica clínica.

Financiación: ISCIII-Feder PI17/01311&PI17/01966, F. Séneca 19873/GERM/15, GRS1647A/17, IBSAL, IBY17/00006, GT-Patología Hemorrágica-SETH.

CO-156 Análisis de sangrados articulares de un estudio en fase III, multicéntrico y abierto de tratamiento a demanda con el FVW en pacientes con EVW grave

Windyga J¹; Chojnowski K²; Pasi J³; Vidal I⁴; Truong Berthoz F⁵; Ewenstein B⁶; Mellgård B⁶

¹Departamento de Trastornos de Hemostasia y Medicina Interna. Instituto de Hematología y Medicina de Transfusiones. Varsovia, Polonia. ²Departamento de Trastornos de Hemostasia. Universidad Médica de Łódź. Łódź, Polonia.

³Centro de Hemofilia, Barts y Escuela de Londres de Medicina y Odontología. Londres, Reino Unido. ⁴Shire, una empresa de Takeda. Madrid, España. ⁵Shire International GmbH, una empresa de Takeda. Zug, Suiza; ⁶Baxalta US Inc., una empresa de Takeda, Cambridge, Massachusetts. EE. UU.

Introducción: La EVW se asocia con frecuencia con sangrado mucocutáneo y menorragia; sin embargo, también se producen sangrados articulares, especialmente en pacientes graves y muy baja actividad coagulante del FVIII. Se ha demostrado la eficacia y la seguridad del FVW recombinante (FVWr; Baxalta, Lexington, MA, EE. UU., una empresa de Takeda) para el tratamiento a demanda de los sangrados en pacientes con EVW grave (Gill et al. Blood 2015). Presentamos un análisis post-hoc de un subgrupo de pacientes con sangrados articulares.

Métodos: Los pacientes elegibles para el estudio en fase III (NCT01410227; EudraCT 2010-024108-84) tenían 18-65 años, diagnosticados con EVW grave. Recibieron tratamiento a demanda para los sangrados (dosis inicial recomendada: 40-80 UI/kg FVWr). Las dosis posteriores de FVWr (20-60 UI/kg hasta un máximo de 24 horas de diferencia) se administraron para mantener niveles de FVW:RCO y FVIII \geq 30 UI/dl según se requiriese. Si la actividad basal del FVIII era $<$ 40%, se administró FVIII recombinante (FVIIIr; 30-45 UI/kg) con la primera infusión de FVWr.

Resultados: Nueve de los 31 pacientes presentaron 59 sangrados articulares tratados con FVWr y todos ellos fueron EVW

tipo 3; 6/9 presentaron sangrados espontáneos y traumáticos, 2/9 tuvieron únicamente espontáneos y 1/9 presentó solo traumáticos. Ocho recibieron FVWr para el tratamiento de 46 sangrados articulares espontáneos (2 mayores, 11 moderados, 33 menores). La eficacia hemostática se calificó como excelente o buena en todos los sangrados articulares espontáneos (44/46 [95,7 %] excelente; 2/46 [4,4 %] buena), después de una mediana de dosis de 48,2 UI/kg de FVWr y 1 (rango 1-2) infusión. Hubo 13 sangrados articulares traumáticos (1 mayor, 3 moderados, 9 menores) en 7 pacientes y la eficacia hemostática se calificó como excelente en todos los casos, después de una mediana de dosis de 52,5 UI/kg y 1 (rango 1-3) infusión. De los 59 sangrados articulares, 58 recibieron concomitantemente FVIIIr (mediana de 34,9 UI/kg [16,6-129,3] para 50 sangrados), 15 sangrados requirieron una segunda infusión de FVWr (8 sangrados con FVIIIr) y solo dos sangrados requirieron una tercera infusión (1 sangrado con FVIIIr).

Conclusiones: Estos resultados demuestran que la hemartrosis es una manifestación común de la EVW grave y la eficacia del FVWr en el tratamiento de los sangrados articulares espontáneos y traumáticos en estos pacientes.

Financiación: Este estudio fue financiado por Baxalta Inc., Lexington, MA, EE. UU., una empresa de Takeda. El apoyo para la redacción médica de este resumen lo proporcionó Isobel Lever PhD, empleada de Excel Medical Affairs (Southport, CT [EE. UU.]) y fue financiado por Baxalta US Inc., una empresa de Takeda.

CO-157 Estudio de los factores genéticos subyacentes al desarrollo de la hemofilia adquirida

Pardos-Gea J¹; García-Martínez I²; Martín-Fernández L³; Enrich E⁴; Ferrero A⁵; Marzo C⁶; Rubio M⁶; Solanich X⁶; Mitjavila F⁶; González-Porras JR⁷; Bastida JM⁷; Corrales I²; Vidal F⁸

¹Unitat de Malalties Autoimmunes Sistèmiques. Departament de Medicina Interna. Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona. ²Coagulopaties Congènites. Banc de Sang i Teixits. Barcelona. Medicina Transfusional. Institut de Recerca Vall d'Hebron. Universitat Autònoma de Barcelona (VHIR-UAB). Barcelona. ³Coagulopaties Congènites. Banc de Sang i Teixits. Barcelona. Medicina Transfusional. Institut de Recerca Vall d'Hebron. Universitat Autònoma de Barcelona (VHIR-UAB). Barcelona. Unitat de Genòmica de Malalties Complexes, Institut d'Investigació Biomèdica Sant Pau (IIB-Sant Pau). Barcelona. Fundació Espanyola de Trombosis y Hemostasia. Madrid. ⁴Medicina Transfusional. Institut de Recerca Vall d'Hebron. Universitat Autònoma de Barcelona (VHIR-UAB). Barcelona. Laboratorio de Inmunogenética e Histocompatibilidad. Banc de Sang i Teixits. Barcelona. ⁵Servicio de Hematología. Hospital Universitario Arnau de Vilanova. Lleida. ⁶Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitari de Bellvitge. Barcelona. ⁷Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Salamanca. Salamanca. ⁸Coagulopaties Congènites. Banc de Sang i Teixits. Barcelona. Medicina Transfusional. Institut de Recerca Vall d'Hebron. Universitat Autònoma de Barcelona (VHIR-UAB). Barcelona. CIBER de Enfermedades Cardiovasculares (CIBERCV). Barcelona

Introducción: La hemofilia A Adquirida (AHA) es una enfermedad rara causada por la formación espontánea de autoanticuerpos contra el Factor VIII de la coagulación. Clínicamente

se caracteriza por eventos hemorrágicos agudos y tiene la misma prevalencia en hombres y en mujeres. Se ha asociado a factores desencadenantes como neoplasias, enfermedades autoinmunes y medicamentos, aunque la mitad de los casos son idiopáticos. Esta patología se considera compleja, participando factores de riesgo genéticos y ambientales. Sin embargo, a pesar de haberse reportado algunas asociaciones, la base genética subyacente se desconoce. El objetivo global de este estudio consiste en analizar la contribución de variantes genéticas identificadas mediante secuenciación del exoma y genotipos de sistemas altamente polimórficos relacionados con la respuesta inmune (HLA y receptores KIR) al desarrollo de la AHA.

Métodos: Se han reclutado 31 pacientes no relacionados diagnosticados como AHA (19 en el Hospital Universitario Vall d’Hebron, 6 en el Hospital Clínico Universitario de Salamanca, 5 en el Hospital de Bellvitge y 1 en el Hospital Universitario Arnau de Vilanova). El genotipado HLA y KIR se ha realizado mediante NGS a alta resolución a partir de la amplificación mediante PCR *in house* múltiple utilizando el kit *SequalPrep Long PCR with dNTPs* (Thermo Fisher Scientific). Las librerías se han preparado utilizando el kit NGSgo (GenDx) y se han secuenciado con el sistema MiSeq (Illumina). Los resultados se han analizado con el programa *NGSengine* (GenDx) y las frecuencias alélicas con la herramienta *HLA-net Gene[rat]* (<https://hla-net.eu/>). Las frecuencias alélicas se han comparado con las publicadas en la *Allele Frequency Net Database* (<http://www.allelefrequencies.net/>), considerando los estudios realizados en población española y europea. La significación nominal y el *odds ratio* para dichas comparaciones se ha obtenido mediante el test exacto de Fisher.

Resultados: Los primeros resultados obtenidos en este estudio corresponden al genotipado HLA de alta resolución de los 31 pacientes AHA reclutados. La comparativa de las frecuencias alélicas ha permitido identificar alelos con una frecuencia significativamente diferente ($p < 0.05$) en pacientes con AHA respecto a la de la población española y europea, como *HLA-A*03:01*, *HLA-A*68:02*, *HLA-B*35:01*, *HLA-B*52:01*, *HLA-C*04:01*, *HLA-DRB1*11:02*, *HLA-DRB1*13:03*, *HLA-DRB1*15:02*, *HLA-DQB1*06:01*, *HLA-DQB1*06:02* y *DQB1*03:09* (Fig. 1 y Tabla I). Cabe destacar el caso del alelo *DQB1*03:09*, presente en un 3,2% ($n = 2$) de la muestra AHA, y no detectado en ninguno de los estudios en población española ($n = 173$) o europea ($n = 3.302$).

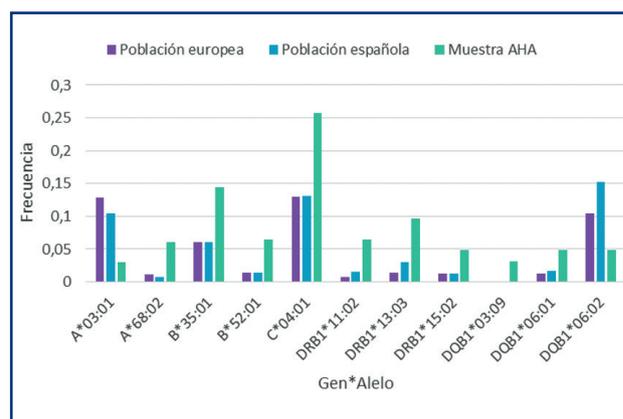


Figura 1. Comparación de las frecuencias entre las distintas poblaciones.

Gen*Alelo	Frecuencia Muestra AHA	Frecuencia Población española (N total)	p	OR (IC)	Frecuencia Población europea (N total)	p	OR (IC)
A*03:01	0,03 (31)	0,104 (1.360)	0,0857	0,287 (0,03-1,09)	0,129 (104.843)	0,0208	0,23 (0,03-0,85)
A*68:02	0,06 (31)	0,0078 (1.737)	1,90E-03	8,79 (2,16-26,4)	0,012 (122.734)	7,40E-03	5,51 (1,45-14,89)
B*35:01	0,145 (31)	0,060 (1.360)	0,0126	2,66 (1,13-5,57)	0,061 (126.215)	0,0131	2,6 (1,13-5,31)
B*52:01	0,065 (31)	0,0146 (1.459)	0,0155	4,61 (1,16-13,30)	0,014 (125.591)	0,0121	4,75 (1,25-12,85)
C*04:01	0,258 (31)	0,1306 (1.737)	7,10E-03	2,31 (1,21-4,21)	0,1296 (122.905)	6,60E-03	2,34 (1,23-4,20)
DRB1*11:02	0,065 (31)	0,0155 (3.202)	0,0174	4,39 (1,13-12,21)	0,00704 (106.198)	9,10E-04	9,71 (2,56-26,29)
DRB1*13:03	0,097 (31)	0,0298 (3.279)	0,0111	3,48 (1,21-8,19)	0,0145 (107.786)	2,90E-04	7,26 (2,56-6,85)
DRB1*15:02	0,0484 (31)	0,0121 (2573)	0,0417	4,17 (0,81-13,36)	0,0128 (107.380)	0,0462	3,89 (0,78-11,96)
DQB1*03:09	0,0323 (31)	0 (173)	0,0687	∞	0 (3.302)	3,30E-04	∞
DQB1*06:01	0,0484 (31)	0,0163 (525)	0,0956	3,08 (0,56-11,10)	0,0123 (43.378)	2,7e-06	128,44 (24,47-428,52)
DQB1*06:02	0,0484 (31)	0,1519 (1.237)	0,0186	0,28 (0,06-0,88)	0,1042 (45.188)	0,2087	0,44 (0,09-1,34)

Se muestran los valores de p según el test de Fisher para cada una de las comparaciones. En negrita se muestran las comparaciones significativas a nivel nominal. OR: *odds ratio*; IC: intervalo de confianza; N: tamaño total de la muestra.

Conclusiones: En esta primera fase, el análisis de asociación de las frecuencias alélicas de HLA ha permitido identificar distintos alelos de riesgo y protectores para AHA. Asimismo, el estudio en mayor profundidad de la distribución de estas frecuencias alélicas, así como de las haplotípicas, podría esclarecer parte de la base genética de la enfermedad. Además, el análisis del exoma permitirá abordar de una manera más amplia la implicación de otros genes en AHA y de los procesos biológicos relacionados. En su conjunto, los hallazgos derivados podrían conducir a la mejora en la precisión diagnóstica y el desarrollo de aplicaciones terapéuticas específicas de gran impacto en el manejo de esta enfermedad de etiología todavía desconocida.

Financiación: Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO)-Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) (PI18/01492). Proyecto Shire (now a part of Takeda) IIR-ESP-002171.

CO-158 Experiencia con ruriotocog alfa pegol (Adynovi®) en vida real en el Hospital Universitario La Paz

Álvarez Román MT; García Barcenilla S; Martín Salces M; Rivas Pollmar MI; Gutiérrez Alvariño M; Justo Sanz R; Jiménez Yuste V

Grupo de Coagulopatías y Alteraciones de la Hemostasia. Unidad de Hematología. Hospital Universitario La Paz-IdiPAZ. Madrid

Introducción: El tratamiento profiláctico en pacientes con hemofilia es el recomendado por todos los Comités Científicos. A pesar de que numerosos estudios han demostrado la superioridad de dicho tratamiento con respecto a la demanda en cuanto a la reducción de episodios hemorrágicos se refiere, la profilaxis no está suficientemente implantada. Esto se debe a que la profilaxis con los concentrados actuales de vida media estándar (SHL del inglés, *standard half life*) no es tan eficaz como se esperaba, es un tratamiento muy demandante para el paciente ya que necesita unas 3 o 4 infusiones a la semana por vía intravenosa y además hasta un 30% de los pacientes desarrollan anticuerpos neutralizantes que hacen que el tratamiento no sea eficaz. Los tratamientos de vida media extendida, EHL (del inglés *Extended Half life*) como el Adynovi® mejoran los parámetros de farmacocinética (PK) y podrían ser más eficaces, con menos infusiones y menos inmunógenos, solucionando las necesidades no cubiertas.

Objetivos: Evaluar el cambio de los parámetros PK en pacientes que cambiaron de un producto de SHL a EHL. Así como la eficacia mediante la tasa anualizada de sangrados y el estado articular, la reducción del número de infusiones y la mejora en la calidad de vida.

Resultados: Desde septiembre de 2018 en nuestro se han cambiado 10 pacientes de octocog alfa (Advate®) a ruriotocog alfa pegol (Adynovi®). Todos los pacientes estaban diagnosticados de Hemofilia A grave y estaban en profilaxis primaria o secundaria.

En la mayoría de los pacientes se ajustó la profilaxis utilizando la herramienta myPKFiT®, la cual basándose en el modelo poblacional de Adynovi® y aplicando un algoritmo bayesiano permite con solo dos muestras obtener los parámetros de PK de

Edad	Tipo hemofilia	Mutación	Profilaxis	Paciente n.º 1		Paciente n.º 2		Paciente n.º 3		Paciente n.º 4		Paciente n.º 5		Paciente n.º 6		Paciente n.º 7		Paciente n.º 8		Paciente n.º 9		Paciente n.º 10	
				ADVATE	ADYNOVI	ADVATE	ADYNOVI																
29 años	HAG	Inv intrón 22	PS	2	1	15	5	29	10	29	10	29	10	29	10	29	10	29	10	29	10	29	10
46 años	HAG	Inv intrón 22	PS	6	1	100	54	46	10	46	10	46	10	46	10	46	10	46	10	46	10	46	10
29 años	HAG	Inv intrón 22	PS	2	1	15	5	29	10	29	10	29	10	29	10	29	10	29	10	29	10	29	10
13 años	HAG	Inv intrón 22	PP	0	0	0	0	13	6	13	6	13	6	13	6	13	6	13	6	13	6	13	6
24 años	HAG	Inv intrón 22	PP	0	0	0	0	24	10	24	10	24	10	24	10	24	10	24	10	24	10	24	10
12 años y 6 meses	HAG	ND	PP	0	0	0	0	12	6	12	6	12	6	12	6	12	6	12	6	12	6	12	6
28 años	HAG	ND	PS	1	20	20	20	28	10	28	10	28	10	28	10	28	10	28	10	28	10	28	10
23 años	HAG	Inv intrón 22	PS	1	0	0	0	23	10	23	10	23	10	23	10	23	10	23	10	23	10	23	10
30 años	HAG	ND	PP	ND	ND	ND	ND	30	10	30	10	30	10	30	10	30	10	30	10	30	10	30	10
13 años	HAG	Sustitución Exón-16 Gln	PP	0	0	0	0	13	6	13	6	13	6	13	6	13	6	13	6	13	6	13	6

cada paciente. El perfil de PK obtenido estaba en concordancia con lo publicado en los ensayos clínicos realizados en su programa de desarrollo de ruriotocog alfa. La dosis total semanal de Adynovi® fue un 30% menos que cuando los pacientes recibían tratamiento con Advate®. Todos los pacientes mejoraron su fenotipo hemorrágico con reducción del AJBR. La salud articular fue evaluada mediante exploración física utilizando el Haemophilia Joint Health Score y mediante ecografía utilizando el HEAD-US. Cabe destacar que el paciente 1, que mantuvo la misma dosis total semanal y el mismo número de infusiones, los niveles valle alcanzados con ruriotocog alfa pegol fueron más altos y esto se tradujo en la resolución de la hipertrofia de la sinovial que presentaba (Tabla I).

Conclusiones: Ruriotocog alfa permite reducir el número de infusiones aumentando la eficacia de SHL. Y dispone de una herramienta (myPKFiT®) que nos permite con solo dos muestras ajustar la profilaxis teniendo en cuenta la PK del factor infundido.

CO-159 Manejo perquirúrgico de una sustitución valvular cardíaca en paciente con síndrome anticoagulante lúpico-hipoprotrombinemia

Gutiérrez López de Ocáriz X; Castro Quismondo N; Rodríguez Rodríguez M; Buendía Ureña B; de Nicolás Sol R; Vera Guerrero E; López Muñoz N; Hidalgo Soto M; Zamanillo Herrero I; Iñiguez García R; Poza Santaella M; Martínez López J

Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid

Introducción: El síndrome de anticoagulante lúpico-hipoprotrombinemia (LA-HPS) es un trastorno adquirido caracterizado por el déficit de factor II (protrombina) asociado a la presencia de anticoagulante lúpico (AL), donde debido a un aclaramiento acelerado de los complejos Ag-Ac circulantes se produce un déficit de factor II (FII). Es más frecuente en edad pediátrica y más prevalente en el sexo femenino. Puede aparecer asociado a trastornos autoinmunes y también a infecciones virales.

Se sospecha esta entidad ante la presencia de sangrado y alargamiento del TP y del TTPa, confirmándose con la determinación del FII y AL.

Métodos: Se describe el manejo perquirúrgico de un paciente con LA-HPS asociado a LES candidato a sustitución valvular cardíaca.

Resultados: Se trata de un varón de 54 años diagnosticado en 1992 de LES con afectación sistémica así como síndrome antifosfolípido. El paciente presentó un ictus isquémico de ACM, por lo que se inició anticoagulación con acenocumarol. A las semanas presentó clínica hemorrágica mucocutánea relevante. Se realizó un estudio de hemostasia tras suspender el acenocumarol objetivándose un déficit de factor II del 8%. El paciente recibió varios tratamientos inmunosupresores: corticoides, azatioprina, ciclofosfamida, rituximab, micofenolato; logrando niveles de FII en torno a 17-29% y presentando a lo largo de los años complicaciones hemorrágicas (hematoma muscular, subdural, suprarrenal, hematuria). A consecuencia de la afectación cardíaca por el LES desarrolló una doble lesión aórtica subsidiaria de sustitución valvular (prótesis biológica). En el preoperatorio presentaba actividad de FII del 25%

con anticoagulante lúpico positivo y leve trombocitopenia (85.000/mm³). En el preoperatorio se decide transfundir 1 pool de plaquetas y aumentar la corticoterapia los 5 días antes. La intervención se realizó sin incidencias pero 5 horas después de la cirugía el paciente comienza con débito hemático por el drenaje mediastínico sin inestabilidad hemodinámica. Se reinterviene al paciente sin objetivar un claro punto sangrante por lo que se decide administración de una dosis puntual de rFVIIa a 30 µg/kg. Se realizó una determinación de factor II que resultó del 38%. Posteriormente el paciente no presentó nueva clínica hemorrágica ni eventos trombóticos. Revisando la literatura destaca que no existe un tratamiento estandarizado, sino que el tratamiento se basa en medidas de soporte si aparece clínica hemorrágica así como terapia anticoagulante si predominan los fenómenos trombóticos. El pilar fundamental del tratamiento es la inmunosupresión para erradicar el inhibidor, aunque este desaparece espontáneamente hasta en un 64% de los casos. Los corticoides en monoterapia son la opción preferida (82%), pudiendo asociar otros agentes inmunosupresores como inmunoglobulinas, ciclofosfamida, rituximab, azatioprina (Fig. 1).

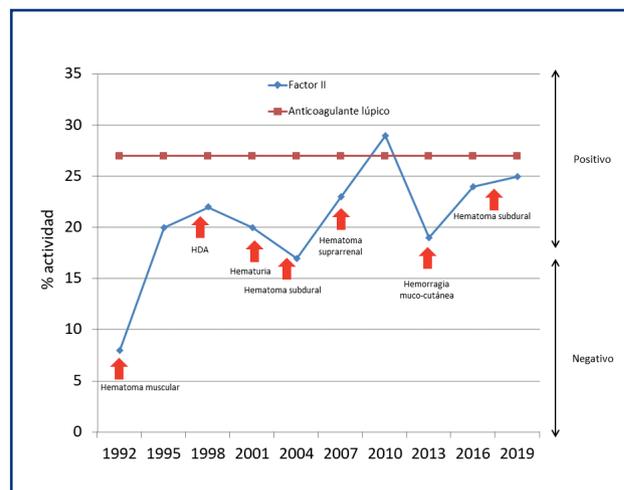


Figura 1. En este gráfico aparece representada la evolución temporal (años) de la actividad del factor II (protrombina) así como la persistencia de positividad constante a lo largo del tiempo del anticoagulante lúpico. Las flechas rojas hacen referencia a los diferentes eventos hemorrágicos experimentados por el paciente.

Conclusión: El LA-HPS es una entidad clínica adquirida e infrecuente que puede originar tanto clínica hemorrágica como eventos trombóticos lo que dificulta el tratamiento y el manejo perquirúrgico y que obliga a establecer terapias individualizadas.

CO-160 Estudio descriptivo sobre la experiencia en hemofilia adquirida en un centro de referencia

De la puerta R¹; Palacios Torres C²; Cid Haro A¹; Bonanat Boix S¹; Haya Guaita S¹

¹Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia. ²Hospital General de Albacete. Albacete

Introducción: La Hemofilia Adquirida (HA) es un trastorno autoinmune grave capaz de producir hemorragias súbitas y graves mediante la producción de un autoanticuerpo dirigido contra proteínas específicas de la coagulación. Hoy en día sigue siendo un reto diagnóstico y terapéutico para los especialistas. La identificación precoz y un manejo adecuado del tratamiento, tanto hemostático como inmunosupresor (IS) puede mejorar el pronóstico de esta enfermedad.

Objetivo: Nuestro objetivo es analizar y describir las características clínico-biológicas, la respuesta obtenida a las diferentes líneas de tratamiento y los efectos adversos de los pacientes diagnosticados de HA en un centro de referencia.

Material y métodos: Estudio observacional, descriptivo y retrospectivo. Se analizaron los casos diagnosticados de HA en una unidad de referencia desde enero de 2007 hasta mayo de 2019. Se revisaron las historias clínicas y variables analíticas, el tratamiento hemostático y erradicador en el diagnóstico y durante su evolución. Asimismo, se cuantificó la respuesta al tratamiento, las recaídas y complicaciones derivadas de los mismos. Para el estudio diagnóstico y de respuesta se incluyó la dosificación de factores de la coagulación y el test Bethesda. Resultados expresados en mediana y rango (R).

Resultados: Se analizaron 12 pacientes (Tabla I) con HA, encontrándose en todos inhibidor contra el FVIII, 8/12 pacientes

Tabla I. Características principales de los pacientes evaluados

Características										
Edad (años)	Sexo	Patología asociada	Tratamiento IS 1L	Título Bethesda al diagnóstico (UB/ml)	Respuesta*	Recaída	Otras líneas de tratamiento IS	Duración total tratamiento IS (días)	Tiempo hasta negativización del inhibidor (días)	Complicaciones postratamiento IS
53	M	Idiopático	CFM + PDN	3,2	RC	No	-	90	22	-
64	H	Idiopático	CFM + PDN	42,8	RC	No	-	271	167	Neumonía
73	H	Penfigoide ampoloso autoinmune	CFM + PDN	6,6	RC	No	-	49	18	-
36	M	Posparto	Rituximab + PDN	57,7	RC	No	-	90	280	-
73	M	AR	Rituximab + PDN	1,9	RC	No	-	20	23	Sepsis respiratoria (muerte)
69	M	AR	Rituximab + PDN	29	RC	No	-	45	43	Descompensación metabólica
73	M	AR	Igs + PDN	17	RP	Sí	2L: rituximab	62	18	Neumonía
45	H	VHI+VHC	PDN	62	RP	Sí	2L: inmunoglobulinas 3L: ciclofosfamida	820	771	Necrosis avascular de cadera y Neumonía
87	M	Sjögren	PDN	ND ¹	RC	No	-	ND	ND	Insuficiencia cardíaca
81	H	idiopático	Rituximab	30,63	Mejoría sin RP ni RC	Sí	2L: MMF 3L: rituximab 4L: azatioprina	Persiste desde el diagnóstico	231 ⁴ 140 ⁵	2 neumonías
36	M	Posparto	-	1.7	RC	No	-	-	163	-
44	M	Idiopático	-	0.8	RC	No	-	-	63	-

Tratamiento inmunosupresor recibido 1L (primera línea): CFM: ciclofosfamida, PDN: prednisona, Igs: inmunoglobulinas, MMF: micofenolato.

*Definiciones según GTH-AH 01/2010 (Tiede A et al. Haemostaseologie 2015). RC: remisión completa. RP: remisión parcial. ¹ND: no se dispone de datos. ⁴Tras segunda línea. ⁵Tras cuarta línea.

eran mujeres. La mediana de edad fue 66,5 años (36-87). Todos debutaron con clínica hemorrágica. Se identificó patología subyacente en 8/12: artritis reumatoide (3), Sjögren (1), postparto (2), VIH+VHC (1), penfigoide ampolloso autoinmune (1) e idiopático (4). La mediana de FVIII y título Bethesda fue del 2,0 UI/dL (0,35-11) y 17,0UB/mL (0,8-62) respectivamente. Recibieron tratamiento hemostático con agentes bypass 9/12 pacientes: de estos 7/9 con factor VIII recombinante (rFVII) y 2/9 con complejo protrombínico (CCPa). La mediana de duración de este fue de 7,5 días (3-20) con buena respuesta, excepto en 2 pacientes: 1 obtuvo buena respuesta al cambiar a CPPa y el otro sin respuesta hasta que se negativizó el título del inhibidor. No precisaron tratamiento IS 2/12 por autorresolución: uno postparto y el otro idiopático. La mediana de tiempo de tratamiento fue de 52,5 días. Los 3 pacientes que recayeron pertenecían al grupo de respuesta parcial (RP). De los pacientes que recibieron una segunda línea de tratamiento: dos consiguieron remisión completa (RC) y uno fue refractario, este recibió una tercera línea con ciclofosfamida y tras 547 días de tratamiento alcanzó RC mantenida. No se observaron complicaciones trombóticas. Tres pacientes fallecieron durante el periodo de seguimiento: uno por hemorragia masiva, otro por sepsis respiratoria y otro sin causa conocida.

Conclusión: Se observó patología subyacente la mayoría de los casos. La mayoría de los pacientes tienen un buen control hemostático con los agentes bypass. Se observa mejor respuesta en los pacientes que asocian al esquema de tratamiento ciclofosfamida asociada a prednisona. Los pacientes que alcanzan RC no recaen. Los pacientes más ancianos y con varias líneas de tratamiento IS desarrollaron complicaciones infecciosas por lo que el uso de profilaxis antibiótica podría plantearse.

CO-161 Experiencia en vida real en el uso de rFVIII Fc en el Hospital Universitario Central de Asturias

Bernardo Gutiérrez Á; Solé Magdalena A; Caro Gómez A; Martínez Carballeira D; Vázquez Aller S; Corte Buelga JR; Rodríguez Lorenzo L; Sarasa Valdés M; Soto Ortega I

Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo.

Introducción: Efmoroctocog alfa es un factor VIII de coagulación recombinante humano, proteína de fusión Fc (rFVIII-Fc) con una vida media prolongada. Es un tratamiento para la hemofilia A que proporciona protección prolongada frente a los episodios de sangrado y microsangrado, con una reducción la frecuencia de las infusiones, sin detrimento en los niveles valle. Todo ello a partir de su administración cada 3 a 5 días en régimen de profilaxis a una dosis recomendada de 50 UI/kg. Se describe la experiencia en el Hospital Universitario Central de Asturias sobre 19 pacientes con hemofilia A tratados con rFVIII Fc en los últimos 14 meses.

Métodos: Diecinueve pacientes realizaron el cambio de tratamiento de FVIII de vida media convencional a rFVIII Fc. Los motivos que suscitaron el cambio a un factor de vida media extendida fueron varios (comodidad, existencia de artropatía

por microsangrados de repetición, estilo de vida, preferencia del paciente). Se analizaron diferentes variables: edad, gravedad, genética, existencia de artropatía y complicaciones infecciosas, nivel basal de FVIII, motivo de cambio, tiempo de tratamiento y posología con rFVIII Fc, consumo anual y ahorro de unidades respecto a tratamiento previo. Todos los pacientes fueron tratados con una dosis aproximada de rFVIII Fc de 50 UI/kg, en régimen de profilaxis, comenzando a lo largo del año 2018. El análisis de consumo de factor se realizó en base a 14 pacientes que se encontraban en régimen de profilaxis previo al cambio a rFVIII Fc comparando el consumo de rFVIII Fc en 2018 frente al consumo de FVIII de vida media convencional en 2017. La calidad de vida fue evaluada aplicándose los cuestionarios EQ5D, el Health Assessment Questionnaire (HAQ) y la escala EVA (escala visual analógica).

Resultados: El 74% de los pacientes presentaban hemofilia A grave, el 21% hemofilia A moderada y el 5% hemofilia A leve. 17 pacientes se encontraban con tratamiento en régimen de profilaxis con infusiones 2-3 veces por semana (41% con Helixate®, 35% con Advate®, 12% con Refacto® y otro 12% con Fandhi®). 1 paciente se encontraba en régimen de tratamiento a demanda. Del paciente restante se desconoce el tratamiento previo. Desde el cambio a rFVIII Fc los pacientes pasaron a recibir tratamiento en profilaxis 2 veces por semana con dosis personalizadas (rango 25 - 65 UI/kg) y una reducción en el número de administraciones en torno a 1/3. Se registraron 2 episodios hemorrágicos autolimitados (gingivorragia y epistaxis) en 2 pacientes. No se ha registrado ningún evento trombótico. Más de la mitad de los pacientes han referido gran mejoría en la calidad de vida (menor número de infusiones y ausencia de dolor) y en la funcionalidad del aparato locomotor (3/4 de los pacientes no tuvo problemas para desarrollar sus actividades diarias y la mitad aproximadamente no refirió ningún problema de movilidad, dolor o malestar). En 10 pacientes se redujo el consumo de factor VIII con un ahorro cercano a las 400.000 unidades. Todos los pacientes continúan recibiendo el tratamiento con rFVIII Fc, sin haber desarrollado inhibidores o padecido ningún evento adverso (Figs. 1 y 2).

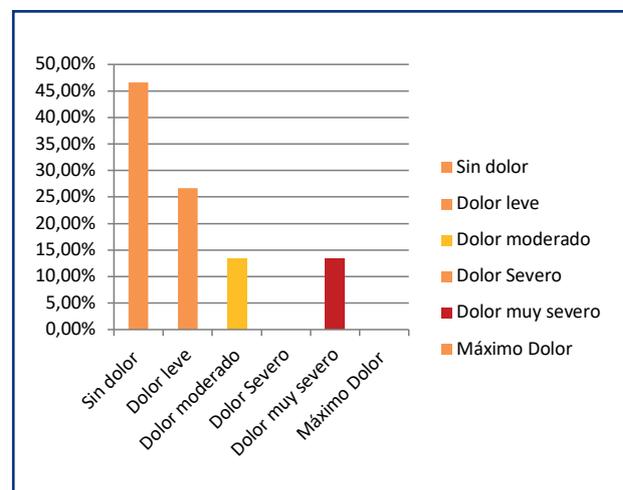


Figura 1. Dolor medido por escala EVA para pacientes con hemofilia que reciben Elocta®.

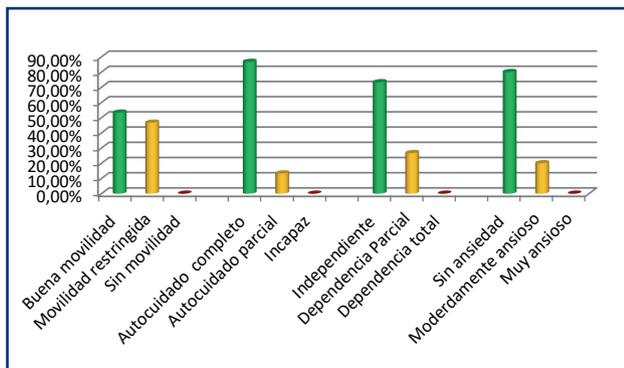


Figura 2. Valoración funcional (escala HAQ adaptada) en pacientes con Elocta®.

Conclusiones: En nuestra experiencia, el cambio de tratamiento a rFVIIIIFc ha supuesto una mejora en la calidad de vida y en la funcionalidad de los pacientes, sin que se haya producido hasta la fecha ningún evento trombótico ni hemorrágico relevante. Tampoco se ha demostrado el desarrollo de inhibidores y ha supuesto una ventaja importante desde el punto de vista económico.

CO-162 Eficacia y seguridad de la profilaxis con FVWr en la enfermedad de von Willebrand grave: estudio en fase III prospectivo, abierto, internacional y multicéntrico

Leebeek FWG¹; Kavakli K²; Genre-Volot F³; Peyvandi F⁴; Miesbach W⁵; Shapiro A⁶; Timofeeva M⁷; Vidal I⁸; Martell L⁹; Abrol S⁹; Özen G⁹; Mellgård B⁹

¹Departamento de Hematología. Centro Médico de la Universidad Erasmus. Róterdam, Países Bajos. ²Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı. Bornova. Izmir, Turquía. ³Centre Hospitalier Universitaire Dijon Bourgogne. Dijon, Francia. ⁴Centro de Hemofilia y Trombosis Angelo Bianchi Bonomi. Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico. Universidad de Milán. Milán, Italia. ⁵Hematología y Oncología. Hospital Universitario Johann Wolfgang Goethe. Fráncfort del Meno, Alemania. ⁶Centro de Hemofilia y Trombosis de Indiana. Indianápolis, EE. UU. ⁷Institución presupuestaria federal estatal de investigación Instituto de Investigación Científica de Kirov de Hematología y Transfusión de Sangre de la FMBA. Kirov, Federación Rusa. ⁸Shire, una empresa de Takeda. Madrid, España. ⁹Baxalta US, Inc., una empresa de Takeda. Cambridge, EE. UU.

Introducción: El FVW recombinante (FVWr; Baxalta, Lexington, MA, EE. UU., una empresa de Takeda) contiene todo el perfil multimérico, incluyendo multímeros extragrandes que no suelen estar presentes en los concentrados de FVW derivados de plasma (FVWdp) expuestos a la proteasa de escisión ADAMTS13. Está descrita la seguridad y eficacia a demanda del FVWr (Gill et al. Blood 2015). Los pacientes con enfermedad de Von Willebrand (EVW) grave podrían beneficiarse del tratamiento profiláctico con FVWr para reducir el número de sangra-

dos espontáneos, como hemartrosis, epistaxis y hemorragia GI. Presentamos el diseño de un estudio para investigar la eficacia y seguridad del tratamiento profiláctico a largo plazo con FVWr.

Métodos: Los pacientes elegibles para este estudio en fase III (Nº EudraCT: 2016-001478-14, NCT02973087) tienen ≥ 18 años y un diagnóstico de EVW grave (FVW:RCo basal < 20 UI/dl) que ha requerido tratamiento con FVW a demanda (brazo OD) o en profilaxis (brazo de switch) para controlar los sangrados en los últimos 12 meses. Los criterios de exclusión del estudio incluyen: historia o presencia de inhibidores de FVW o FVIII; EVW tipo 2N, o EVW plaquetar o trastorno de la coagulación distinto de EVW; tratamiento profiláctico de > 5 infusiones o > 240 UI/kg por semana; nefropatía o hepatopatía significativa; recuento de plaquetas $< 100\ 000$ /ml al reclutamiento. Los pacientes que cambian desde un tratamiento OD o desde una profilaxis con FVWdp recibirán profilaxis con FVWr durante 1 año. El objetivo principal del estudio es evaluar la tasa anualizada de hemorragias (TAH) espontáneas en los pacientes que reciben FVWr en profilaxis y compararla con la TAH histórica de los sangrados espontáneos del paciente. Los objetivos secundarios incluyen evaluar la eficacia adicional en pacientes tratados previamente con FVW OD o profiláctico; TAH espontáneas por localización del sangrado; consumo de FVWr ajustado por peso; número de infusiones; seguridad (evaluada mediante monitorización de acontecimientos adversos, constantes vitales, parámetros de análisis clínicos, inmunogenicidad frente a FVW y FVIII, trombogenicidad e hipersensibilidad); farmacocinética y farmacodinámica del FVWr.

Resultados: El estudio comenzó en diciembre de 2017 y está en curso.

Conclusiones: Los resultados de este estudio en fase III prospectivo aportarán datos sobre la eficacia y seguridad del FVWr en profilaxis frente a hemorragias espontáneas en los pacientes con EVW grave.

Financiación: Este estudio ha sido financiado por Baxalta US Inc., Lexington, MA, EE. UU., y Baxalta Innovations GmbH, Viena, Austria, miembros del grupo de empresas de Takeda. El apoyo para la redacción médica de este resumen lo proporcionó Isobel Lever PhD, empleada de Excel Medical Affairs (Southport, CT [EE. UU.]) y fue financiado por Baxalta US Inc., una empresa de Takeda.

Coagulopatías congénitas

CO-163 Diagnóstico de deficiencias congénitas del fibrinógeno. Experiencia de un centro

Silva Pinto C¹; Martinho P¹; Rodrigues MF²; Oliveira C²; Salvado R³; Costa M⁴; Fidalgo T¹; Ribeiro ML¹

¹Laboratório Hematologia Molecular. Serviço de Hematologia Clínica. Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra. Coimbra, Portugal. ²Serviço de Imunohemoterapia. Hospital Santa Maria. Lisboa, Portugal. ³Serviço de Sangue e Medicina Transfusional. Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra. Coimbra, Portugal. ⁴Serviço de Imunohemoterapia. Hospital de São Teotónio. Viseu, Portugal

Introducción: Los trastornos congénitos del fibrinógeno son muy raros y pueden asociarse con alteraciones de síntesis, ensamblaje, estabilidad de la proteína y/o con moléculas disfuncionales. El fibrinógeno, es un hexámero compuesto por dos conjuntos de tres cadenas polipeptídicas homologas ($A\alpha$, $B\beta$ y γ) que son codificadas por los genes *FGA*, *FGB* y *FGG*. Variantes en heterocigotía o homocigotía en estos genes se asocian con diferentes enfermedades hereditarias, lo que refleja la función pleiotrópica de la proteína del fibrinógeno. Deficiencias congénitas del fibrinógeno son clasificadas en base de la concentración plasmática como cuantitativas (tipo I) o déficits cualitativos (tipo II). El tipo I incluye afibrinogenemia/hipofibrinogenemia severa y hipofibrinogenemia que están asociadas a manifestaciones hemorrágicas, que pueden variar desde muy leves hasta potencialmente mortales. El tipo II comprende disfibrinogenemia e hipo-disfibrinogenemia, y los pacientes con este tipo de deficiencia son asintomáticos o pueden presentar síntomas hemorrágicos, trombosis o incluso ambos.

Objetivo: Aclarar el diagnóstico molecular en pacientes con deficiencia de fibrinógeno por secuenciación masiva (NGS).

Pacientes y métodos: En nuestro centro, entre 2017/19, fueron estudiados 15 pacientes no relacionados y 4 familiares (n = 19), [9 varones y 10 mujeres; mediana edad 42 años (4-86)] con anomalías del fibrinógeno y/o diátesis hemorrágica no esclarecida. El diagnóstico molecular fue realizado con el panel Trombose&Hemostase (TH) que incluye genes asociados a anomalías de factores de la coagulación, trombosis y trastornos plaquetarios (Tabla I). La preparación de librerías y uso del panel fue según el protocolo IonS5 Sequencing System (Thermo Fisher Scientific).

Resultados/discusión: Se identificaron 10 variantes distintas (patogénicas y potencialmente patogénicas) en los genes *FGA* (n = 5), *FGB* (n = 1) y *FGG* (n = 4). Tres variantes no descritas, *FGB* (p.Glu240Lys) y *FGG* (p.Asp63Val y p.Trp360*) (Tabla I). Fueran encontrados los siguientes tipos de deficiencia: 2 pacientes con afibrinogenemia, 12 con hipofibrinogenemia, 4 con hipo-disfibrinogenemia y 1 con disfibrinogenemia. Dos de los pacientes con variantes en homocigotía en *FGA* (delección total y p.Arg181*) presentan hemorragias espontáneas, intracraneales en uno de ellos. En los pacientes con hipofibrinogenemia, apenas 3 presentan fenotipo hemorrágico. Dos pacientes presentarán

Tabla I. Variantes del fibrinógeno detectadas en 19 pacientes con el panel Trombosis y Hemostasis (TH)*

Gen	n/familias	Fibrinógeno (mg/dL)/(min-max)	Exón	Nucleótido	Aminoácido**	Genotipo	In silico/Clasificación	Nueva Sí/No	Fenotipo	Datos clínicos
FGA	1/1	< 30	Delección total			Homocigoto	P	¿Sí?	Afibrinogenemia	Hemorragias espontáneas, hemorragia intracraneal (BS = 9) – en profilaxis
	1/1	< 30	5	c.541C>T	p.Arg181*	Homocigoto	P	No		Hemorragias espontáneas (BS = 11) – en profilaxis
	6/2	(17-65)	2	c.103C>T	p.Arg35Cys	Heterocigoto	P	No (recurrente)	Hipo-fibrinogenemia	Asintomáticos (BS = 0)
	2/2	84; 70	5	c.1543G>A	p.Asp515Asn	Heterocigoto	P	No		Hemorragia/Asintomático (BS = 0; 4)
	4/3	(< 50-87)	3	c.191G>A	p.Cys64Tyr	Heterocigoto	P	No recurrente)		Hemorragia/Asintomático/Trombosis (BS = 0;2;6;6)
FGB	1/1	128	4	c.718G>A	p.Glu240Lys	Heterocigoto	PP	Sí	Hipo-disfibrinogenemia	Hemorragia (BS = 5)
FGG	1/1	200	3	c.140C>T	p.Thr47Ile	Heterocigoto	P	No	Disfibrinogenemia	Hemorragia (BS = 5)
	1/1	¿?	3	c.188A>T	p.Asp63Val	Heterocigoto	PP	Sí	Hipo-disfibrinogenemia	Hemorragia (BS = 5)
	1/1	44	8	c.901C>T	p.Arg301Cys	Heterocigoto	P	No	Hipo-disfibrinogenemia	Asintomático, Trombosis/aborto espontáneo (BS=0)
	1/1	105	8	c.1080C>A	p.Trp360*	Heterocigoto	P	Sí	Hipo-disfibrinogenemia	Asintomático, niño 4 años (BS = 0)

Fibrinógeno - valores normales: 150-400 mg/dL; **Nomenclatura HGVS; P: patogénica; PP: probable patogénica; BS: *bleeding score*.

*Panel TH (43 genes) - Asociados a anomalías de factores de la coagulación: *F2, F3, F5, F7, F8, F9, F10, F11, F13A1, F13B, LMAN1, MCFD2, FGA, FGB, FGG, GGX, VKORC1, VWF*; asociados a trombosis: *PROC, PROS1, SERPINC1, SERPINE1, SERPINF2, THBD, PLAT, PLG, ANXA5, F12*; asociados a trastornos plaquetarios: *GP1BB, GP1BA, GP9, ITGA2B, ITGB3, NBEAL2, NBEA, GP6, TBXA2R, P2RY12, ANKRD26, CYCS, PLA2G4A, TUBB1, PLAU*.

trombosis: a) uno con variante en *FGG* (p.Arg301Cys) que es un hotspot mutacional y se sitúa en una región del gen cuyas variantes están asociadas a trombosis; y b) una paciente con *FGA* (p.Cys64Tyr) con hemorragia y trombosis (Tabla I). En todo, 11 pacientes con anomalías en el fibrinógeno son asintomáticos.

Conclusión: En este grupo de pacientes, aunque reducido fue observada variantes en los tres genes codificantes del fibrinógeno y la gran variabilidad fenotípica característica de esta enfermedad. Fue posible establecer la correlación genotipo-fenotipo asociadas a los fenotipos pleiotrópicos (hemorragia/trombosis) permitiendo así una mejor orientación de estos pacientes con adecuación terapéutica y de vigilancia. El NGS se reveló una herramienta valiosa en nuestra práctica clínica proporcionando mayor rapidez de diagnóstico en las anomalías congénitas del fibrinógeno.

CO-164 Ensayo clínico de fase III, multicéntrico, abierto, para evaluar la seguridad y la tolerabilidad del tratamiento profiláctico de emicizumab en personas con hemofilia A (PcHA) con inhibidores del FVIII (STASEY)

Jiménez Yuste V¹; Klamroth R²; Castaman Go³; Ozelo M⁴; Aout M⁵; Meier O⁵; Santagostino E⁶

¹Hospital Universitario La Paz. Madrid, España. ²Comprehensive Care Haemophilia Treatment Centre. Vivantes Klinikum. Berlín, Alemania. ³Careggi University Hospital. Florencia, Italia. ⁴University of Campinas (UNICAMP). Campinas, Brasil. ⁵F. Hoffmann-La Roche Ltd. Basel, Suiza. ⁶Fondazione IRCCS Ca'Granda. Ospedale Maggiore Policlinico. Milán, Italia

Introducción: Emicizumab es un anticuerpo monoclonal bi-específico administrado por vía subcutánea, que une FIXa y FX, reemplazando así la función de FVIIIa ausente y restaurando la hemostasia en PcHA.

Objetivos: Proporcionar resultados provisionales de seguridad y eficacia preliminar del estudio STASEY del tratamiento profiláctico de emicizumab en PcHA e inhibidores de FVIII.

Métodos: El objetivo principal es evaluar la seguridad (eventos adversos, incluidos los eventos trombóticos e hipersensibilidad). El objetivo secundario es evaluar la eficacia (número de sangrados a lo largo del tiempo y calidad de vida [CdV]). PcHA \geq 12 años con inhibidores de FVIII reciben 3 mg/kg/semana de emicizumab profiláctico durante 4 semanas, seguido de 1,5 mg/kg/semana durante el resto del periodo de tratamiento de 2 años (NCT03191799).

Resultados: En el momento del análisis (15 de octubre de 2018), 88 pacientes habían completado 24 semanas del estudio o habían suspendido su participación, lo que ocurriera primero. Mediana de edad, 28,0 (rango 12-80) años; duración mediana de la exposición, 39,2 (rango 4,4-57,1) semanas. Emicizumab fue bien tolerado, no se informaron eventos trombóticos (Tabla I). Dieciocho (20,5%) pacientes informaron un evento adverso relacionado con emicizumab, de los cuales reacciones en el lugar de la inyección fueron las más comunes (13,6%). Las tasas de sangrados tratados, todos, espontáneos, articulares y en articulaciones diana fueron bajas (Tabla II). Setenta y un pacientes tuvieron

Tabla I. Resumen de seguridad (población evaluable de seguridad)

Eventos adversos, n (%)	Emicizumab 1,5 mh/kg/ semana n = 88
Número total de pacientes con \geq 1 EA Número total de EA	66 (75,0%) 234
Número de pacientes con \geq 1 evento	
EA fatal	1 (1,1%)*
EA serio	10 (11,4%)
EA que provoca la retirada del tratamiento	0
EA que provoca la modificación/interrupción tratamiento	3 (3,4%) 0
EA que provoca la discontinuación del estudio	14 (15,9%)†
EA de grado \geq 3	18 (20,5%)
EA relacionados con el tratamiento de estudio	13 (14,8%)
RSI locales	
EA de interés	
Hipersensibilidad sistémica/anafilaxia/reacción anafiláctica	0
ET	0
MAT	0
Casos de daño hepático potencial inducido por el tratamiento	0
Sospecha de transmisión de agente infeccioso por el tratamiento	0
EA más comunes (\geq 10% de pacientes)	
Artralgias	12 (13,6%)
Dolor de cabeza	10 (11,4%)
Nasofaringitis	10 (11,4%)
Codificado usando Medical Dictionary for REgulatory Activities (MedDRA) version 21.1. *Herida en la Cabeza, no-relacionada con emicizumab. †Incluye un evento adverso de absceso en el lugar del catéter. "Número total de EA" en el que múltiples casos del mismo evento se contaron separados. EA: eventos adversos; RSI: reacción en el sitio de la infección; ET: evento trombótico; MAT: microangiopatía trombótica.	

cero sangrados tratados (80,7%). De los 17 pacientes que recibieron tratamiento para un sangrado espontáneo o traumático, 16 recibieron rFVIIa y uno recibió FVIII; no se observaron eventos trombóticos con agentes baipas concomitantes o FVIII. Se observaron mejoras clínicamente significativas (Wyrwich, Haemophilia 2015; Pickard, Health Qual Life Outcomes 2007) desde basal en la calidad de vida y el estado de salud en múltiples dominios. De los 80 pacientes que completaron la encuesta EmiPref, 76 (95,0%) prefirieron emicizumab a su terapia anterior.

Conclusiones: No se identificaron nuevas señales de seguridad. Las tasas de sangrado en PcHA e inhibidores de FVIII que recibieron emicizumab en el estudio STASEY estuvieron en línea con las observaciones previamente comunicadas de HAVEN 1 (Oldenburg, NEJM 2017).

Financiación: Este estudio ha sido financiado por Hoffmann-La Roche.

Tabla II. Resumen de eficacia (población intención-a-tratar)	
Tasa anualizada de sangrados* [†]	Emicizumab 1,5 mh/kg/semana n = 88
Sangrados tratados [‡]	
TAS media, basado en modelo (95% IC)	0,5 (0,29-1,00)
TAS mediana, calculada (RIC)	0,0 (0,00-0,00)
Pacientes con cero sangrados, n (%)	71 (80,7%)
Todos los sangrados	
TAS media, basado en modelo (95% IC)	1,4 (0,91-2,24)
TAS mediana, calculada (RIC)	0,0 (0,00-1,31)
Pacientes con cero sangrados, n (%)	56 (63,6%)
Sangrados espontáneos tratados	
TAS media, basado en modelo (95% IC)	0,2 (0,08-0,34)
TAS mediana, calculada (RIC)	0,0 (0,00-0,00)
Pacientes con cero sangrados, n (%)	79 (89,8%)
Sangrados articulares tratados [§]	
TAS media, basado en modelo (95% IC)	0,3 (0,10-0,84)
TAS mediana, calculada (RIC)	0,0 (0,00-0,00)
Pacientes con cero sangrados, n (%)	81 (92,0%)
Sangrados tratados en articulaciones diana	
TAS media, basado en modelo (95% IC)	0,1 (0,03-0,18)
TAS mediana, calculada (RIC)	0,0 (0,00-0,00)
Pacientes con cero sangrados, n (%)	83 (94,3%)

*Pacientes y cuidadores completaron un cuestionario de sangrado y medicación a través de un dispositivo electrónico portátil. Las definiciones de sangrado se basan en criterios de la Sociedad de Trombosis y Hemostasia internacional (ISTH) (Blanchette, J Thromb Haemost 2014;12:1935-9).

[†]Calculados usando modelo de regresión binomial negativa.

[‡]Sangrados tratados se definen como una hemorragia seguida directamente por un medicamento para la hemofilia reportado como tratamiento para el sangrado, sin una hemorragia intermedia e independientemente del tiempo entre el tratamiento y la hemorragia precedente. Si se produjeron múltiples hemorragias en el mismo día, se consideró que el tratamiento posterior se aplicaría a cada una de estas hemorragias. Se excluyen las hemorragias por cirugía/procedimientos.

[§]Se definen como sangrados articulares aquellos declarados en las articulaciones, en combinación con al menos uno de los siguientes síntomas: aumento de la hinchazón o el calor de la piel sobre la articulación; dolor creciente; disminución del rango de movimiento o dificultad para usar la articulación en comparación con basal.

TAS: tasa anualizada de sangrados; IC: intervalo de confianza; RIC: rango intercuartílico.

CO-165 Estudio de la contribución de polimorfismos genéticos a la vida media y aclaramiento de factor VIII en pacientes con hemofilia A grave

García-Martínez I¹; Borràs N¹; Martorell M; Parra R¹; Álvarez-Román MT²; Núñez R³; Megías-Vericat JE⁴; Ramírez L Corrales I¹; Vidal F⁵

¹Coagulopatías Congénitas. Banc de Sang i Teixits. Barcelona. Medicina Transfusional. Institut de Recerca Vall d'Hebron. Universitat Autònoma de Barcelona (VHIR-UAB). Barcelona. ²Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario La Paz. Madrid. ³Unidad de Gestión Clínica de Hematología. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. ⁴Servicio de Farmacia y Unidad de Hemostasia y Trombosis. Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia. ⁵Coagulopatías Congénitas. Banc de Sang i Teixits. Barcelona. Medicina Transfusional. Institut de Recerca Vall d'Hebron. Universitat Autònoma de Barcelona (VHIR-UAB). Barcelona. CIBER de Enfermedades Cardiovasculares. Barcelona

Introducción: La hemofilia A (HA) es un trastorno hemorrágico hereditario, causado por una deficiencia (< 1%) de factor VIII (FVIII) y cuyo tratamiento principal comprende la terapia de reemplazo de dicho factor. Existe una notable variabilidad en la respuesta farmacocinética a la infusión de FVIII, donde los niveles de antígeno del factor von Willebrand (VWF), el grupo sanguíneo (ABO) y la edad, juegan un papel importante. El objetivo de este estudio consiste en analizar la contribución de variantes genéticas comunes a la variabilidad de la farmacocinética del FVIII en estos pacientes.

Métodos: 43 pacientes con HA grave, sin inhibidor, VIH o VHC, con la mutación en el *F8* identificada en todos los casos y tratados con FVIII recombinante (Advate) fueron reclutados de forma retrospectiva en cuatro hospitales españoles. Los parámetros farmacocinéticos individuales se estimaron mediante el algoritmo bayesiano implementado en el dispositivo MyPKFiT (Takeda), a partir de 2-3 niveles de FVIII. Se seleccionaron 53 variantes comunes (SNPs) en 15 genes potencialmente implicados en la farmacocinética del FVIII (*FVIII*, *VWF*, *LRPI*, *STXBP5*, *SCARA5*, *STAB2*, *STX2*, *TCN2*, *CLEC4M*, *KNG1*, *TMLHE* y *ABO*), y se analizaron mediante un panel de 30 genes implicados en trastornos hereditarios de la coagulación (Access Array™ System, Fluidigm) y la plataforma MiSeq (Illumina). La contribución de los SNPs a la vida media y aclaramiento del FVIII se analizó mediante modelos de regresión lineal de efectos mixtos, corrigiendo por centro, peso y grupo sanguíneo. Se consideraron significativas aquellas asociaciones que se mantuvieron tras fijar la razón de falsos descubrimientos (FDR) al 5%.

Resultados: La edad media de la muestra de 43 pacientes con HA grave era de 20 años (DE ± 12,8), y el peso medio de 55 kg (DE ± 23,8). El aclaramiento medio del FVIII fue de 3,8 mL/h/kg, la vida media de 11,3h y el volumen de distribución medio de 53,5 mL/kg. El 46,5% de los sujetos presentaban la inversión del intrón 22 en el *F8*, el 30% eran portadores de mutaciones *non-sense* y el 27,5% presentaban mutaciones *missense*. De los 53 SNPs iniciales, finalmente se seleccionaron los 39 que presentaban una frecuencia alélica en la muestra > 5% (Tabla I). Se detectaron asociaciones entre la vida media del FVIII y SNPs en *ABO*, *CLEC4M*, *SIGLEC5* y *STXBP5*; y entre el aclaramiento y *ABO*, *TMLHE* y *VWF*. De ellas, resultaron significativas a un nivel de FDR = 5% (p < 0,035; 302 test) las que implicaban SNPs localizados en los genes *ABO*, *CLEC4M* y *TMLHE*.

Conclusión: Estos resultados aportan evidencias sobre la contribución de los polimorfismos del *ABO*, *CLEC4M*, *SIGLEC5*, *STXBP5*, *TMLHE* y *VWF* en la vida media y el aclaramiento del FVIII infundido en pacientes con HA grave. Ello pone de mani-

Tabla I. MAF, HWE y resultados de los análisis de asociación para la vida media y el aclaramiento del FVIII considerando 39 SNPs, y el centro, el peso y -excepto en el caso del ABO- el grupo sanguíneo como covariables, en 43 sujetos con HA severa

Gen	rs ID	Alelos	MAF	HWE Valor-p	Vida media FVIII (horas)		Aclaramiento FVIII (mL/horas/kg)	
					Regresión β^a	Valor-p (valor-p corregido FDR)	Regresión β^a	Valor-p (valor-p corregido FDR)
ABO	rs7853989	G/C	11,6	1	1,71	2,46E-03 (3,77E-03)*	-0,56	0,022 (0,03)*
ABO	rs8176719	T/TC	34,9	0,19	1,18	1,22E-03 (1,92E-03)*	-0,62	2,32E-05 (4,7E-05)*
ABO	rs8176743	C/T	10,5	1	1,73	3,41E-03 (4,9E-03)*	-0,54	0,033 (0,043)*
ABO	rs8176746	G/T	10,5	1	1,73	3,41E-03 (4,9E-03)*	-0,54	0,033 (0,043)*
ABO	rs8176747	C/G	10,5	1	1,73	3,41E-03 (4,9E-03)*	-0,54	0,033 (0,043)*
CIB1	rs1044813	G/C	24,4	0,69	0,08	0,820	-0,19	0,166
CIB1	rs2073706	C/T	48,8	0,76	6,49E-05	1,000	-0,08	0,530
CIB1	rs34604050	TAGAG/T	46,5	0,36	0,08	0,786	-0,16	0,175
CIB4	rs1148962	C/T	12,8	0,52	-0,23	0,614	0,13	0,483
CIB4	rs1148963	T/C	14	0,17	-0,28	0,481	0,16	0,317
CIB4	rs1276123	C/T	16,3	0,06	-0,11	0,763	0,05	0,718
CIB4	rs935172	T/C	36	0,11	0,31	0,301	-0,17	0,168
CLEC4M	rs868875	A/G	23,3	1	-0,87	0,011 (0,014)*	0,20	0,155
F8	rs1800291	G/C	11,6	0	-0,11	0,765	0,14	0,366
KNG1	rs5030062	A/C	39,5	0,76	-0,25	0,449	0,07	0,577
KNG1	rs698078	A/G	45,3	0,76	-0,29	0,367	0,12	0,343
KNG1	rs710446	T/C	45,3	0,76	-0,29	0,367	0,12	0,343
LRP1	rs10876966	C/T	17,4	0,09	0,22	0,545	-0,03	0,831
LRP1	rs1799986	C/T	22,1	0,39	-0,35	0,313	0,17	0,215
LRP1	rs2306692	C/T	15,1	1	-0,01	0,976	-0,15	0,375
LRP1	rs6581124	G/A	19,8	0,32	0,25	0,487	-0,09	0,537
LRP1	rs7968719	G/C	46,5	0,55	0,20	0,551	-0,05	0,714
SCARA5	rs2726953	G/A	37,2	1	0,36	0,256	-0,16	0,202
SCARA5	rs9644133	C/T	15,1	1	0,08	0,853	-0,10	0,524
SIGLEC5	rs2278833	G/T	32,6	0	-0,29	0,268	0,05	0,609
SIGLEC5	rs3829655	G/C	32,6	1	-0,63	0,050 (0,063)	0,18	0,159
SIGLEC5	rs8107754	C/A	43	0,03	0,27	0,544	-0,21	0,234
STAB2	rs12229292	G/T	34,9	1	0,47	0,131	-0,06	0,632
STAB2	rs4981022	A/G	32,6	0,09	0,15	0,592	-0,10	0,405
STX2	rs7978987	G/A	24,4	1	0,33	0,351	-0,17	0,222
STXBP5	rs9390459	G/A	46,5	1	0,69	0,042 (0,054)	-0,22	0,118
TC2N	rs10133762	G/T	37,2	0,75	-0,13	0,716	0,12	0,399
TMLHE	rs12557310	C/T	30,2	0,57	0,32	0,154	-0,19	0,035 (0,034)*
VWF	rs1063856	T/C	30,2	0,72	-0,07	0,851	-0,05	0,715
VWF	rs1063857	A/G	30,2	0,72	-0,07	0,851	-0,05	0,715
VWF	rs1800380	C/T	23,3	0,41	-0,13	0,752	0,03	0,835
VWF	rs1800383	C/G	9,3	1	-0,63	0,235	0,43	0,039 (0,05)
VWF	rs216321	C/T	12,8	0,52	0,07	0,882	0,00	0,979
VWF	rs7962217	C/T	7	1	-0,37	0,553	-0,09	0,717

En cursiva se indican las asociaciones nominales significativas. ^aLos resultados de la asociación se reportan considerando el alelo alternativo según el recurso GRCh37/hg19, <http://genome.ucsc.edu/> *Indica asociación significativa a un nivel de FDR = 5% ($p < 0,035$; 302 test), reportado únicamente cuando se ha alcanzado la significación nominal. Abreviaciones: MAF, frecuencia alélica mínima; HWE, equilibrio Hardy-Weinberg; FDR, razón de falsos descubrimientos.

fiesto el interés y necesidad de profundizar en el estudio de estos y otros factores genéticos potencialmente implicados en la farmacocinética del FVIII, con el objetivo de mejorar la precisión del pronóstico, adecuar el régimen profiláctico y optimizar el tratamiento de estos pacientes.

Financiación: Proyecto Shire (now a part of Takeda) I.2017.067.

CO-166 Complicaciones trombóticas asociadas a catéteres venosos centrales en pacientes pediátricos con coagulopatías congénitas

Lázaro del Campo P; Rivas Pollmar MI; Ramírez López A; Gutiérrez Alvario M; Martín Salces M; Álvarez Román MT; Jiménez Yuste V

Hospital Universitario La Paz. Madrid

Introducción: El uso de catéteres venosos centrales (CVC) facilita la administración de concentrados de factor en los pacientes pediátricos con coagulopatías congénitas, que presentan malos accesos venosos y precisan profilaxis de forma regular. En general, las complicaciones trombóticas son raras en esta población, sin embargo aumentan de manera exponencial con el uso de dichos dispositivos. Existen publicaciones recientes que relacionan el uso de CVC con un mayor gasto sanitario y complicaciones en los pacientes con hemofilia. El objetivo primario de este estudio es determinar la incidencia de trombosis sintomáticas asociadas a CVC en pacientes pediátricos con coagulopatías congénitas en nuestro centro. Como objetivo secundario estimar la incidencia de otras complicaciones asociadas a los mismos como infecciones, roturas, etc.

Métodos: Se ha realizado un estudio descriptivo y retrospectivo, analizando las complicaciones asociadas al uso de CVC en los pacientes con coagulopatías congénitas menores de 15 años registrados en el Hospital Universitario la Paz. Se han considerado trombosis clínicas aquellas que provocan sintomatología o que precisan retirada o recambio del catéter. De las infecciones del CVC se ha distinguido entre infección local, bacteriemia y las complicaciones asociadas a esta última.

Resultados: Las características clínicas de la cohorte analizada se exponen en la **tabla I**. Consta de 121 pacientes diagnosticados de hemofilia A, hemofilia B, Enfermedad de Von Willebrand, déficit de factor VII y déficit de factor X. De estos son o han sido portadores de CVC 41 (34%), siendo en su mayoría pacientes con HAG (85%). Además un 50% de los eventos registrados ocurrieron durante el tratamiento intensivo de un evento hemorrágico, en concreto de una hemorragia intracraneal. La mayoría de las trombosis se trataron de manera conservadora con retirada del CVC, requiriendo el uso de HBPM únicamente 2 de los 6 pacientes, que fueron monitorizados mediante niveles de antiXa. La complicación más frecuente de los CVC sin embargo fue la infección que sucedió en 1 de cada 4 portadores, siendo la bacteriemia la forma de presentación en el 70% de los casos y la osteomielitis por *S. aureus* en un único caso. No registramos ninguna rotura de CVC (**Tabla II**).

Tabla I. Características clínicas de la cohorte de pacientes pediátricos con coagulopatías congénitas menores de 15 años registrados en el Hospital Universitario La Paz

Características clínicas	Total (n = 121)	Trombosis (n = 6) (5%)
Edad (media)	9	4
Género		
Hombre	114 (94,2%)	6 (100%)
Mujer	7 (5,8%)	0
Patología		
Hemofilia A	85 (68,6%)	4 (66,7%)
HAG	58 (47,9%)	4 (66,7%)
HAM	7 (5,8%)	0
HAL	20 (16,5%)	0
Hemofilia B	12 (10,1%)	1 (16,7%)
HBG	4 (3,3%)	1 (16,7%)
HBM	0	0
HBL	8 (66,7%)	0
Enfermedad de Von Willebrand	15 (12,4%)	0
Déficit de FVII	8 (6,6%)	0
Déficit de FX	1 (0,8%)	1 (16,7%)
Infecciones	10 (8,3%)	2 (33,3%)
Bacteriemias	7 (5,8%)	2 (33,3%)
Osteomielitis	1 (0,8%)	0
Infección local	3 (2,5%)	0
CVC	41 (34%)	6 (100%)
PAC	41 (34%)	3 (50%)
Infección	10 (8,3%)	2 (2,8%)
Tipo de tratamiento		
Profilaxis	59 (48,8%)	4 (57,1%)
A demanda	62 (51,2%)	0

Conclusiones: Tal como se expone en la literatura, en nuestro centro queda patente la baja frecuencia de los eventos trombóticos en pacientes pediátricos con coagulopatías congénitas, siendo prácticamente exclusivas en asociación con CVC. La incidencia de trombosis ha sido ligeramente superior en nuestra cohorte que en otras series publicadas, probablemente por tratarse de un centro de referencia donde se derivan casos más complejos, pacientes con mayor incidencia de inhibidores y con necesidad de tratamiento intensivo con agente *bypass*. Se constata que la infección es la complicación más frecuente de estos dispositivos. Así podemos concluir que, a pesar de su utilidad, los CVC no están exentos de riesgos y ocasionan gran morbilidad, ingresos y aumento del consumo de recursos sanitarios en los pacientes portadores de los mismos.

Tabla II. Características de los pacientes que sufrieron trombosis asociada al catéter

Características clínicas	Profilaxis*	Catéter venoso central	Localización de la trombosis	Clínica	Trombosis asociada a hemorrágico	Tratamiento sustitutivo	Presencia de inhibidor ¹	Niveles de factor ¹	Tratamiento de la trombosis	Numero de unidades de factor acumuladas ²
Varón de 18 m con HAG	Elocta® 50 UI/kg cada 48h	PAC	Yugular interna y tronco braquiocéfálico derechos	Obstrucción de CVC ³ , Circulación colateral	No	rFVII en profilaxis	No	4%	Retirada CVC	238.000
Varón de 2 m con déficit con grave de FX	Ninguna	VVF PAC ⁴	Femoro-iliaca derecha	Edema MID	Hemorragia intracranial tras parto	CCP	No	0%	Retirada HBPM (AntiXa)	79.000 ⁵
Varón de 1 año con HAG	ITI ^{**} Kovaltry® 500 UI/ semana	VVF PAC ⁴	Femoro-iliaca izquierda	Edema MI	Hematoma intracranial tras caída	rFVIIa FVIII altas dosis	Sí	23%- 151% ^{††}	Retirada HBPM (AntiXa)	181.000
Varón de 9 años con HAG	Elocta 50® UI/kg cada 48h	PAC	Yugular interna derecha	Obstrucción de CVC ³ , Infección de CVC	No	rFVIII en profilaxis	No	0%	Retirada PAC	200.000
Varón de 1 m con HBG	Ninguna	VVY	Yugular interna derecha	Oclusión de VVF	Hemorragia intracranial tras parto. Hematoma MSD	rFIX altas dosis (150 UI/kg cada 8 h)	No	45%- 77% ^{††}	Retirada VVF	67.500
Varón de 13 a con HAG	Afistyla® 25 UI/kg cada 48h	PAC	Unión yugulo-subclavia derecha	Oclusión de CVC y tumefacción	No	rFVIII en profilaxis	No	0%- 70% ^{††}	Retirada PAC	67.500

CVC: catéter venoso central; PAC: port-a cath; VVF: vía venosa central femoral; VVY: vía venosa central yugular; CCP: complejo de concentrado protrombínico.

*Tratamiento de base en el momento de la trombosis. ¹En el momento de la trombosis. ²En el momento de la revisión, no de la trombosis. ³Que no se resuelve tras la aplicación de uroquinasa y precisa recambio. ⁴Unidades de FX en nuestro centro. Se desconoce el número de unidades de CCP administrado en otro centro previo al traslado. ⁵La trombosis se desarrolló secundariamente a la vía venosa femoral; no obstante, precisaron colocación de PAC, posteriormente durante el seguimiento. ^{††}Niveles velle y concentración máxima a los 30 minutos.

CO-167 Validación clínica del modelo poblacional específico del factor VIII/FVW plasmático empleando WAPPS-Hemo

Megías Vericat JE; Bonanad S; Haya S; Cid AR; Marqués MR; Monte-Boquet E; Pérez-Alenda S; Bosch P; García Márquez M; Querol F; Poveda Andrés JL

Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia

Introducción: La farmacocinética (PK) individual en pacientes con hemofilia A (HA) se ha convertido en una herramienta fundamental para personalizar la profilaxis empleando modelos PK poblacionales (PopPK). Recientemente hemos participado en el desarrollo PopPK específico del factor VIII/FVW plasmático (pdFVIII/FVW) empleando WAPPS-Hemo (Chelle P et al. J Pharmacokinet Pharmacodyn. 2019). El objetivo de este estudio es realizar la validación clínica de dicho modelo.

Métodos: Estudio prospectivo cruzado en pacientes con HA grave/moderada en profilaxis con pdFVIII/FVW (Fanhdi®) comparando dos periodos de 1 año utilizando un PopPK FVIII genérico (01/05/2017-30/04/2018) o un modelo PopPK específico (01/05/2018-30/04/2019). Se tomaron muestras en la predosis, 2-6, 20-26 y/o 44-52 h. Los parámetros PK analizados con WA-

PPS-Hemo fueron: semivida plasmática ($t_{1/2}$); nivel valle a las 24, 48 y/o 72 h (NV24/NV48/NV72) y tiempo para alcanzar niveles de rFVIII del 1% (T1%), 2% (T2%) y 5% (T5%). Las variables clínicas incluidas fueron: edad, dosis/kg/semana, tasa anual de sangrados articulares (AJBR), causa sangrado (espontáneo/traumático). Además se analizaron las variables que se relacionan con la aparición de sangrados articulares en el periodo que se usó el modelo PopPK específico. Se emplearon las pruebas de Wilcoxon y Kruskal Wallis (SPSS®) para comparar los parámetros PK y las variables clínicas.

Resultados: Se ha analizado un total de 30 pacientes de los que disponíamos de evaluaciones PK en ambos periodos, 28 con HA grave y 2 con HA moderada. La edad media fue 31,2 años (rango = 12,4-50,8). En 11 pacientes se ajustó la profilaxis de acuerdo a la PK y a los cambios en el peso de los pacientes (10 pacientes aumentaron la dosis o frecuencia y 1 paciente redujo la dosis), mostrando una tendencia a una mayor dosis/kg/semana en el segundo periodo (Tabla I). Al comparar cada paciente de forma cruzada entre ambos periodos se observaron diferencias significativas en $t_{1/2}$, TL24 y T1% (Tabla I), probablemente asociadas a que en el segundo periodo aumenta el número de muestras empleadas para el estudio de PK (significativamente mayor, Tabla I) y al empleo de un PopPK específico de pdFVIII/FVW

Tabla I. Comparación cruzada de los parámetros farmacocinéticos y de las variables clínicas entre dos periodos de PK guiada empleando modelos poblacionales genéricos o específicos de pdFVIII/FVW (Fanhdi/Alphanate)

Parámetros PK y variables clínicas	PopPK FVIII genérico		Pop pdFVIII/FVW específico		p-valor
	Mediana	RIC	Mediana	RIC	
$t_{1/2}$ (h)	15,0	10,4-18,9	14,6	10,5-17,3	0,031
TL24 (IU/dL)	14,5	10,2-18,4	15,3	11,8-22,1	0,011
TL48 (IU/dL)	5,0	2,8-8,3	5,2	3,0-8,3	0,347
TL72 (IU/dL)	2,2	1,2-3,8	2,0	1,1-3,2	0,110
T5% (h)	48,0	34-63,6	49	39,8-60,4	0,459
T2%* (h)	73,8	54,6-90,6	69,4	53,4-79,4	0,117
T1%* (h)	122,4	88,3-152,5	91,5	73,8-115,3	< 0,001
N.º puntos empleados PK	3	2-3,3	4	3-5	0,002
Dosis (UI/kg/semana)	62,7	47,5-94,0	76,7	55,6-99,4	0,057
AJBR	0,0	0,0-1,0	0,0	0,0-1,0	0,328
N.º sangrados articulares espontáneos	0,0	0,0-1,0	0,0	0,0-0,0	0,326
N.º sangrados articulares traumáticos	1,0	1,0-1,0	0,0	0,0-1,0	0,100

AJBR: tasa anual de sangrados articulares; FVIII: factor VIII; pdFVIII/FVW plasmático; PK: farmacocinética; PopPK: modelos PK poblacionales; RIC: rango intercuartílico; $t_{1/2}$: semivida plasmática; T5%: tiempo para alcanzar niveles de rFVIII del 5%; T2%: tiempo para alcanzar niveles de rFVIII del 2%; T1%: tiempo para alcanzar niveles de rFVIII del 1%; TL24: nivel de valle de pdFVIII/FVW a las 24 h; TL48: nivel de valle de pdFVIII/FVW a las 48 h; TL72: nivel de valle de pdFVIII/FVW a las 72 h; UI: unidades internacionales.

Los resultados estadísticamente significativos están resaltados en cursiva.

*En 2 pacientes con hemofilia A moderada, el T2% y el T1% no se estimaron porque tienen niveles basales de FVIII más altos o cercanos al 2 o 1%.

Tabla II. Análisis de las causas de sangrado articular en el periodo de empleo del modelo poblacional específico de pdFVIII/FVW

Variables clínicas y parámetros PK	Cero sangrados articulares		Sangrados articulares ≥ 1		p-valor
	Mediana	RIC	Mediana	RIC	
Edad (años)	40,5	20-52,5	8	4-32	0,016
Peso (kg)	62,5	58,5-69	32	23-72	0,134
Dosis (UI/kg/semana)	76,7	58,3-97,7	74,8	46,7-125	0,947
t _{1/2} (h)	15,4	12,8-19,4	10,6	9,0-14,8	0,008
TL24 (IU/dL)	16,3	13,8-24,3	11,6	9,1-20,2	0,061
TL48 (IU/dL)	6,0	4,0-9,9	3,3	2,2-5,3	0,011
TL72 (IU/dL)	2,3	1,5-5,5	1,5	0,7-1,9	0,014
T5% (h)	52,1	43,6-74,8	40,0	33,8-49,5	0,016
T2%* (h)	71,5	57,3-86,0	61,0	49,3-70,0	0,061
T1%* (h)	93,1	90,0-144,0	84,7	63,0-101,5	0,084

pdFVIII/FVW plasmático; PK: farmacocinética; RIC: rango intercuartílico; t_{1/2}: semivida plasmática; T5%: tiempo para alcanzar niveles de rFVIII del 5%; T2%: tiempo para alcanzar niveles de rFVIII del 2%; T1%: tiempo para alcanzar niveles de rFVIII del 1%; TL24: nivel de valle de pdFVIII/FVW a las 24 h; TL48: nivel de valle de pdFVIII/FVW a las 48 h; TL72: nivel de valle de pdFVIII/FVW a las 72 h; UI: unidades internacionales.

Los resultados estadísticamente significativos están resaltados en cursiva.

*En 2 pacientes con hemofilia A moderada, el T2% y el T1% no se estimaron porque tienen niveles basales de FVIII más altos o cercanos al 2 o 1%.

(Fanhdi®/Alphanate®). No se obtuvieron diferencias en AJBR, ni en las tasas de sangrados articulares espontáneas y provocadas entre ambos periodos. Analizando qué pacientes experimentaban sangrados articulares, se asociaron significativamente con menores edades, y menores valores en t_{1/2}, TL48, TL72 y T5% utilizando el PopPK específico de pdFVIII/FVW (Tabla II), poniendo en evidencia que estos pacientes son los más pueden beneficiarse de la profilaxis PK guiada.

Conclusión: La profilaxis PK guiada permite individualizar el tratamiento y mejorar el control de los sangrados, siendo especialmente importante en pacientes jóvenes y con menor t_{1/2}. Los resultados preliminares presentados forman parte de nuestro proyecto del PopPK específico de pdFVIII/FVW (Fanhdi®/Alphanate®), los cuales sugieren una mayor precisión en las estimaciones PK. La obtención de nuevos modelos PopPK a través de modelos colaborativos como WAPPS-Hemo abre la puerta a estos desarrollos dentro de la práctica clínica.

Financiación: Estudio está financiado por Grifols a través de una beca otorgada para dicho proyecto. Agradecemos al equipo de WAPPS-Hemo toda la información PK suministrada.

CO-168 Seguridad y eficacia a largo plazo de la proteína de fusión del factor IX recombinante (rIX-FP) en pacientes con hemofilia B: resultados intermedios de un estudio de extensión de fase 3B en curso

Santagostino E¹; Serrano-Torres P²; Rodrigues JR³; Aznar-Salatti J²; Pabinger I⁴; Brainsky A⁵; Li Y⁵; Seifert W⁶

¹Foundation IRCCS Ca'Granda. Maggiore Hospital Policlinico. Angelo Bianchi Bonomi Hemophilia and Thrombosis Center. Milán, Italia. ²CSL Behring. Barcelona, España. ³CSL Behring. Lisboa, Portugal. ⁴Department of Haematology and Haemostaseology, Medical University of Vienna. Viena, Austria. ⁵CSL Behring. King of Prussia, Pensilvania, EE. UU. ⁶CSL Behring. Marburg, Alemania

Introducción: la rIX-FP es un factor de coagulación IX (FIX) humano recombinante fusionado genéticamente con albúmina humana recombinante mediante un conector escindible. En el programa de ensayos clínicos PROLONG-9FP, la rIX-FP mostró un mejor perfil farmacocinético comparado con el de los productos de FIX estándares, lo que permite unos intervalos de administración prolongados en los pacientes con hemofilia B. En un estudio de extensión de fase 3b se está evaluando la seguridad y la eficacia a largo plazo de la rIX-FP; se dispone de resultados intermedios al cabo de aproximadamente 3 años de tratamiento.

Métodos: Los pacientes recibieron profilaxis con rIX-FP con una pauta de dosificación de 7 días (25-50 UI/kg), 10 o 14 días (50-75 UI/kg); el intervalo de administración se pudo cambiar durante cualquier seguimiento de 6 meses. Los pacientes ≥ 18 años pudieron cambiar a una pauta de 21 días con una dosis de 100 UI/kg si estaban bien controlados con una pauta de 14 días.

Resultados: El resultado principal fue el número de pacientes que desarrolló inhibidores del FIX. Los resultados secundarios incluyeron la tasa de hemorragias espontáneas anualizada (AsBR) y los acontecimientos adversos. Resultados: en la fecha de corte de los datos (marzo de 2017), se habían incluido 59 pacientes adultos/adolescentes (≥ 12 años) tratados previamente y 24 pacientes pediátricos (< 12 años) en el estudio (tiempo medio en el estudio: 29,8 meses). En total, el 79% de los pacientes ≥ 12

años pasaron de un intervalo de 7 días a un intervalo de 10 (n = 12), 14 (n = 26) o 21 días (n = 11). Dos pacientes que iniciaron la pauta de 21 días regresaron a un intervalo de 14 días para reducir la frecuencia de las hemorragias. En la fecha de corte de los datos, el 25% de los pacientes pediátricos presentaban un intervalo de administración más largo de 10 días (n = 1) o 14 días (n = 5). Cuatro pacientes pediátricos que iniciaron intervalos de administración de 10 o 14 días regresaron a intervalos más cortos para mantener bajas las tasas de hemorragias. En los pacientes adultos, la mediana (Q1, Q3) de la AsBR para las pautas de 7, 10, 14 y 21 días fue de 0,33 (0,00, 2,39), 0 (0,00, 0,68), 0,26 (0,00, 1,54) y 0 (0,00, 0,45), respectivamente. En los pacientes pediátricos, la mediana de la AsBR para las pautas de 7, 10 y 14 días fue de 0 (0,00, 0,59), 0 (0,00, 3,06) y 0,75 (0,00, 2,86), respectivamente. Setenta y siete (92,8%) pacientes contaban con al menos 100 días de exposición (DE) a la rIX-FP (mediana de DE: 165). Ningún paciente había desarrollado inhibidores o anticuerpos frente a la rIX-FP.

Conclusión: Estos resultados demuestran la eficacia y la tolerabilidad a largo plazo de la profilaxis con rIX-FP. En algunos pacientes, la rIX-FP permite intervalos de tratamiento más largos de 21 días en los adultos y de 10 y 14 días en los niños.

Declaración de intereses: E. Santagostino, consultora de CSL Behring, Bayer, Shire, Pfizer, NovoNordisk, Roche, Sobi, Biogen Idec, Kedrion, Octapharma y Grifols; I. Pabinger, subvenciones/ayudas a la investigación de CSL Behring, consultora de CSL Behring; A. Brainsky, empleado de CSL Behring; Y. Li, empleado de CSL Behring; W. Seifert, empleado de CSL Behring.

CO-169 Comparación de las estimaciones farmacocinéticas empleando modelos poblacionales genéricos y específicos del factor VIII/FVW plasmático

Megías Vericat JE; Bonanad S; Haya S; Cid AR; Marqués MR; Monte-Boquet E; Pérez-Alenda S; Bosch P; García Márquez M; Querol F; Poveda Andrés JL

Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia

Introducción: La farmacocinética (PK) individual en pacientes con hemofilia A (HA) se ha convertido en una herramienta fundamental para personalizar la profilaxis empleando modelos PK poblacionales (PopPK). Desde mayo de 2018 está disponible en WAPPS-Hemo un PopPK específico del factor VIII/FVW plasmático (pdFVIII/FVW) en cuyo desarrollo hemos participado (Chelle P et al. J Pharmacokinet Pharmacodyn. 2019). El objetivo de este estudio es analizar las estimaciones obtenidas con el modelo PopPK específico de pdFVIII/FVW frente al modelo PopPK factor VIII (FVIII) genérico empleado previamente.

Métodos: Estudio prospectivo en pacientes con HA grave/moderada en profilaxis con pdFVIII/FVW (Fanhdi®) comparando dos periodos de 1 año utilizando un PopPK FVIII genérico (01/05/2017-30/04/2018) o PopPK específico (01/05/2018-30/04/2019). Se tomaron muestras en la predosis, 2-6, 20-26 y/o 44-52 h. Los parámetros PK analizados con WAPPS-Hemo

fueron: semivida plasmática ($t_{1/2}$); aclaramiento plasmático (Cl), volumen de distribución (Vss); área bajo la curva (AUC); y tiempo para alcanzar niveles de pdFVIII/FVW del 1% (T1%), 2% (T2%) y 5% (T5%). Se han comparado las medianas de los parámetros PK antes y después de la implementación del PopPK específico. En cada estimación se ha calculado la diferencia entre los máximos y mínimos del IC95% de los valores de $t_{1/2}$, T1%, T2% y T5% proporcionados por WAPPS-Hemo, y se han comparado ambos periodos. Se empleó la prueba de Kruskal Wallis y los gráficos Box-plot (SPSS®) para comparar los parámetros PK y las variables clínicas entre ambos periodos.

Resultados: En cada uno de los periodos de estudio se han incluido todas las estimaciones realizadas con WAPPS-Hemo en pacientes en profilaxis con Fanhdi®. En el periodo previo en el que se usó el modelo PopPK genérico de FVIII se incluyeron 64 infusiones que correspondían a 34 pacientes, mientras que en el segundo periodo, cuando se usó el modelo PopPK específico de Fanhdi®/Alphanate® se analizaron 29 infusiones que correspondían a 24 pacientes. No se detectaron diferencias significativas ni en la edad ni en la dosis/kg/semana (Tabla I), ambas medidas

Tabla I. Comparación entre los parámetros farmacocinéticos y las variables clínicas empleando un modelo poblacional genérico de FVIII o un modelo poblacional específico de pdFVIII/FVW (Fanhdi/Alphanate)

Parámetros PK y variables clínicas	PopPK FVIII genérico		Pop pdFVIII/FVW específico		p
	Mediana	RIC	Mediana	RIC	
Edad	31,5	12-52	22	8-47	0,391
Dosis (UI/kg/semana)	26,1	21,6-34,5	32,9	21,3-40	0,321
$t_{1/2}$ (h)	16,6	13,5-19,8	13,4	10,9-15,6	0,006
Cl (mL(kg*h))	2,4	1,9-3,8	2,6	2-3,6	0,739
Vss (mL/kg)	54,1	46,6-61,1	46,5	41,2-55,8	0,041
AUC ((IU*h)/L)	10315,9	7951,7-14238,9	11257,2	8642,7-15198,7	0,521
T5% (h)	51,6	40,9-65,5	49	40,4-56,4	0,410
T2%* (h)	81,5	63,9-100,1	69,3	56-76,3	0,012
T1%* (h)	126,5	104,7-163,7	89	68,9-96,2	< 0,001
Diferencial $t_{1/2}$ (h)	6,2	3,9-9,4	4,7	3,4-6,0	0,115
Diferencial T5% (h)	15,2	10,1-29,4	11,7	9,1-13,8	0,052
Diferencial T2%* (h)	25	17,6-37,9	16,8	12,8-21,8	0,010
Diferencial T1%* (h)	28,6	26,1-65,7	22,5	16,3-29,5	< 0,001

Aclaramiento plasmático (Cl); AUC: área bajo la curva; FVIII: factor VIII; pdFVIII/FVW plasmático; PK: farmacocinética; PopPK: modelos PK poblacionales; RIC: rango intercuartílico; $t_{1/2}$: semivida plasmática; T5%: tiempo para alcanzar niveles de rFVIII del 5%; T2%: tiempo para alcanzar niveles de rFVIII del 2%; T1%: tiempo para alcanzar niveles de rFVIII del 1%; UI: unidades internacionales; Vss: volumen de distribución. Los resultados estadísticamente significativos están resaltados en cursiva.

en el momento del estudio PK. Al comparar los valores globales de los parámetros PK antes y después de disponer de un PopPK específico de pdFVIII/FVW obtuvimos diferencias significativas en la $t_{1/2}$, Vss, T1% y T2%, detectando además una menor dispersión en los valores estimados en los gráficos Box-plot (Fig. 1).

Resultados similares se reprodujeron al estudiar los diferenciales entre los máximos y mínimos del IC95% que incluye el informe de WAPPs-Hemo, obteniendo reducciones en todos los diferenciales, aunque solo significativas para T1%, T2% y T5% (Tabla I y Fig. 2).

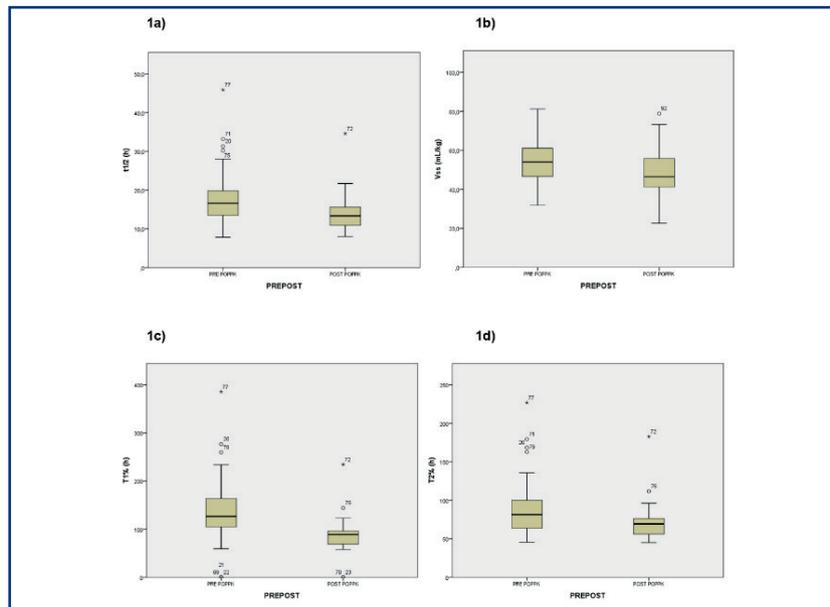


Figura. 1. Gráficos Box-plot comparando los parámetros farmacocinéticos empleando el modelo poblacional genérico de FVIII (PRE POPPK) o el modelo poblacional específico de pdFVIII/FVW (Fanhdi®/Alphanate®) (POST POPPK): A. Semivida plasmática. B. Volumen en el estado estacionario. C. Tiempo para alcanzar niveles de pdFVIII/FVW del 1%. D. Tiempo para alcanzar niveles de pdFVIII/FVW del 2%.

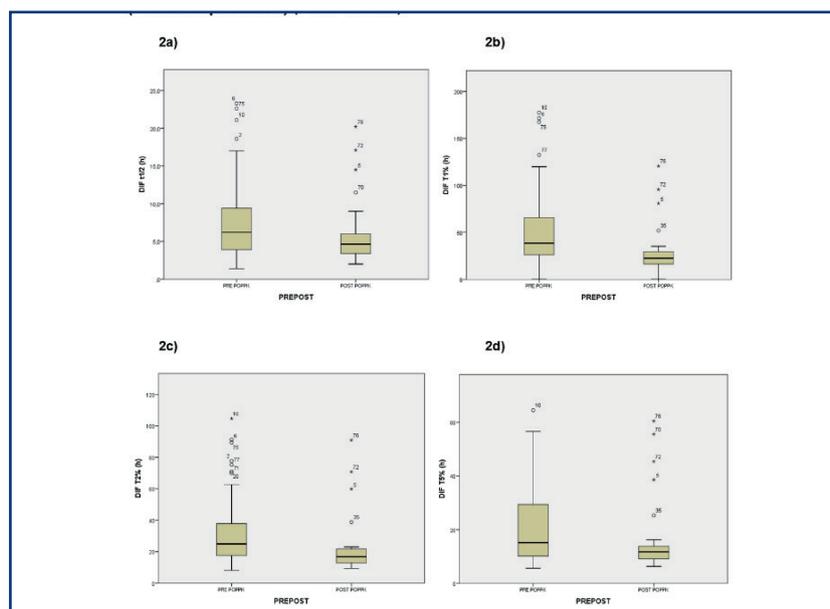


Figura. 2. Gráficos Box-plot comparando los diferenciales entre los máximos y mínimos del IC95% de los valores de $t_{1/2}$ (A), T1% (B), T2% (C) y T5% (D) empleando un modelo poblacional genérico de FVIII (PRE POPPK) o el modelo específico de pdFVIII/FVW (Fanhdi®/Alphanate®) (POST POPPK).

Conclusión: El uso de modelos PopPK específicos ha demostrado aumentar la precisión de las estimaciones PK obtenidas. Una mayor precisión de las estimaciones mejora también los cálculos de dosis e intervalos realizados con la calculadora de WAPPS-Hemo. Los proyectos colaborativos como WAPPS-Hemo permiten el desarrollo de modelos PopPK específicos de concentrados de FVIII de los que no se tenía información previa.

Financiación: Estudio está financiado por Grifols a través de una beca otorgada para dicho proyecto. Agradecemos al equipo de WAPPS-Hemo toda la información PK suministrada.

CO-170 Análisis del switch guiado por farmacocinética de factores VIII de semivida estándar a factores de semivida extendida

Megías Vericat JE¹; Bonanad Boix S; Martínez García F²; Berrueco Moreno R³; Mingot-Castellano ME⁴; Rodríguez López M⁵; Canaro Hirnyk M⁶; Mateo Arranz J⁷; Larrodé Leciñena I⁸; Haya Guaita S¹; Santamaría A²; Mesegué Medea M³; Albo-López C⁵; Palomero-Massanet A⁹; Vilalta Seto N⁷; Calvo Villas JM¹⁰; Cid Haro AR¹¹; Gironella Mesa M²; Poveda Andrés JL¹¹

¹Servicio de Farmacia y Unidad de Hemostasia y Trombosis. Hospital Universitari i Politènic La Fe. Valencia. ²Unidad de Hemostasia y Trombosis. Hospital Vall d'Hebron. Barcelona. ³Servicio de Hematología Pediátrica. Hospital Sant Joan de Déu. Barcelona. ⁴Unidad de Hemostasia y Trombosis. Hospital Regional Universitario de Málaga. Málaga. ⁵Unidad de Hemostasia y Trombosis. Hospital Álvaro Cunqueiro. Vigo, Pontevedra. ⁶Unidad de Hemostasia y Trombosis. Hospital Universitari Son Espases. Mallorca. ⁷Unidad de Hemostasia y Trombosis. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. ⁸Servicio de Farmacia. Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza. ⁹Servicio de Farmacia. Hospital Universitari Son Espases. Mallorca. ¹⁰Unidad de Hemostasia y Trombosis. Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza. ¹¹Servicio de Farmacia. Hospital Universitari i Politènic La Fe. Valencia

Introducción y objetivos: Los factores VIII (FVIII) de semivida extendida (EHL) han mostrado en los ensayos clínicos mejoras de al menos 1,3 veces la semivida plasmática ($t_{1/2}$) y 1,25 veces el área bajo la curva (AUC) respecto a los FVIII estándar (SHL). Herramientas basadas en modelos farmacocinéticos (PK) poblacionales permiten estimar los parámetros PK individuales y ajustar la profilaxis. El objetivo de este estudio es analizar el switch PK-guiado de SHL a EHL en pacientes con hemofilia A (HA).

Métodos: Estudio multicéntrico comparativo, cruzado, prospectivo que analiza las diferencias PK tras el cambio de factores SHL a EHL (Elocta[®] y Adynovi[®]) en pacientes con HA grave/moderada en profilaxis. Se ha empleado el PopPK WAPPS-Hemo[®] con 2-3 muestras para realizar un perfil PK individualizado de los valores de FVIII. Los parámetros PK analizados son: $t_{1/2}$, AUC, nivel pico (NP), nivel valle a las 24, 48 y/o 72 h (NV24/NV48/NV72) y tiempo para alcanzar niveles de FVIII del 5%, 2% y 1% (T5%/T2%/T1%). También analizamos los ratios de $t_{1/2}$ y AUC, el nº dosis semanales y la dosis/kg/semana. Para comparar los parámetros

entre ambos periodos empleamos los test de Wilcoxon y Kruskal-Wallis (SPSS[®]). Los resultados se expresaron con la mediana y el rango o rango intercuartílico (RIC).

Resultados: Se han analizado 64 pacientes procedentes de 8 hospitales españoles (48 switch a Elocta[®] y 16 a Adynovi[®]), 62 con HA grave y 2 con HA moderada, con una mediana de edad de 32 años (rango = 5-64) y sin diferencias en el peso entre ambos periodo [71,0 (rango = 12-116) vs. 72,0 (16,9-116) kg; p = 0,156]. La dosis/kg/semana se redujo tras el switch a EHL [74,5 (RIC: 59,2-108,1) vs. 69,2 (RIC: 46,2-96,7) UI/kg/semana; p < 0,0001], así como una marcada reducción en el nº dosis semanales [3,0 (RIC: 2,0-3,5) vs. 2,0 (RIC: 1,8-2,3); p < 0,0001]. Se obtuvieron mejoras significativas en todos los parámetros PK tras el cambio de SHL a EHL (mediana y RIQ): $t_{1/2}$ [12,5 (9,5-16,0) vs. 17,8 (13,0-22,8) h; p < 0,0001]; AUC [9.358 (6.838-13.372) vs. 15.599 (12.429-21.429); p < 0,0001]; NP [74,0 (57,8-81,0) vs. 80,0 (65,0-109,5); p = 0,001]; NV24 [13,0 (8,8-20,8) vs. 23,7 (20,0-34,3); p < 0,0001]; NV48 [3,9 (2,0-7,5) vs. 9,6 (5,9-16,8); p < 0,0001]; NV72 [1,5 (1,0-3,2) vs. 4,0 (2,0-8,2); p = 0,003]; T5% [44,5 (32,7-60,1) vs. 65,8 (51,5-90,0); p < 0,0001]; T2% [64,4 (48,4-86,4) vs. 94,8 (72,3-125,0); p < 0,0001]; T1% [86,5 (69,6-111,9) vs. 124,0 (93,5-161,8); p < 0,0001]. Se obtuvieron medianas de 1,3 en el ratio $t_{1/2}$ (RIC: 1,2-1,6) y de 1,7 en el ratio de AUC (RIC = 1,3-2,2). Tras el switch se redujeron la frecuencia de dosis (mediana 30%, rango = 0-53,3%) y la dosis/kg/semana (mediana 16,7%, rango = 0-50%), con la excepción de 12 pacientes que aumentaron la dosis/kg/semana una mediana del 25%. No se observaron diferencias en ninguno de los parámetros PK al comparar entre los pacientes con Elocta[®] y Adynovi[®].

Conclusiones: Los EHL de FVIII han demostrado en la práctica clínica mejorar significativamente la PK, permitiendo reducir una infusión semanal y la dosis/kg/semana. También hemos verificado que las mejoras en los ratios de $t_{1/2}$ y AUC que definen a los EHL se cumplen también fuera del ámbito del ensayo clínico. Cuando se complete un año de seguimiento con EHL en todos los pacientes se compararán las tasas de sangrado frente a los SHL. El switch PK-guiado permite individualizar la profilaxis con una potencial reducción del coste del tratamiento.

CO-171 Resultados clínicos de la profilaxis continuada en pacientes con hemofilia A severa tras el cambio a un factor VIII de vida media extendida

Mingot Castellano ME¹; Núñez R²; Martín S¹; Entrena Ureña L³; Fernández C⁴; Palomo Bravo Á⁵; Domínguez JF⁶; GACC Grupo Andaluz de Coagulopatías Congénitas⁷

¹Hospital Regional Universitario de Málaga. Málaga. ²Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. ³Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada. ⁴Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba. ⁵Hospital Materno Infantil de Málaga. Málaga. ⁶Hospital Universitario Juan Ramón Jiménez. Huelva. ⁷Asociación Andaluza de Hematología y Hemoterapia (AAHH)

Introducción: La profilaxis continuada con factor VIII (FVIII) es el tratamiento de elección en pacientes con hemofilia A (HA) severa. Sus resultados clínicos en forma de reducción del número de sangrados y prevención de la artropatía hemofílica dependen de la individualización adecuada del tratamiento en cada paciente y de la consecución de la mejor adherencia. Los productos de vida media extendida pueden reducir el número de infusiones intravenosas de FVIII y/o mejorar la cobertura hemostática dada su farmacocinética modificada.

Objetivos: a) Describir el perfil clínico y de consumo de recursos de la profilaxis continuada en sujetos con HA severa tratados con un FVIII de vida media extendida; b) comparar dichos resultados clínicos con el de la profilaxis previa con FVIII estándar.

Metodología: Se analizan todos pacientes con HA severa tratados hasta marzo de 2019 con rFVIIIc en los centros andaluces. Se analizará el tipo de profilaxis, edad, peso y motivo del cambio a rFVIIIc y farmacocinética (PK). Así mismo, número de visitas al centro y motivo, unidades de FVIII consumidas, frecuencia de dosis, números de sangrados, número de hemartrosis, articulaciones diana (2 sangrados o más en 6 meses en una misma articulación) y cirugías durante los 6 meses de tratamiento inicial con rFVIIIc y los 6 meses previos al cambio con el FVIII estándar (FVIIIst). Análisis estadístico descriptivo: media, mediana y desviación estándar para variables cuantitativas y frecuencias absolutas y relativas para cualitativas, construyendo intervalos de confianza del 95%. La comparación entre los dos grupos de tratamiento se realizará mediante un test de diferencia de medias para muestras independiente (t- Student), al tratarse de variables cuantitativas y Chi cuadrado para cualitativas.

Resultados: Hemos estudiado un total de 20 pacientes varones con HA severa de 5 centros. La mediana de edad de inicio de la profilaxis es 3 años (RIQ, 0,2-49 años) y de peso 55 kg (RIQ, 17-110kg). El 50% tratado en profilaxis primaria, 35% secundaria y 15% terciaria. El 50% de los pacientes tratados con rFVIIIc tienen estudio de Pk con una mediana de vida media de 14,5 horas (RIQ, 9 a 23 horas). De forma previa al cambio el FVIII usado fue plasmático en un solo caso. El motivo del cambio fue reducción de inyecciones en 70% de los casos y aumento del valle en 15%. Los resultados clínicos del tratamiento de 6 meses con rFVIIIc vs los 6 meses previos con FVIII estándar son:

- Consumo FVIII anual UI (mediana, RIQ): rFVIIIc 110.000 UI (25.000-200.000) vs FVIIIst 137.500 (30000-350.000) (p. 0.001).
- Frecuencia 2 infusiones semanales o menos: rFVIIIc 80% vs. FVIII st 15%, (p.0.000).
- Sangrados en 6 meses (mediana y RIQ): rFVIIIc 0 (0-4) vs. FVIII st 1 (0-5) (p.0.383).
- Visitas hospitalarias en 6 meses (mediana y RIQ): rFVIIIc 7 (2-24) vs. FVIII st 7 (2-23) (p.0.545). La mitad de estas visitas es para retirada de medicación. El resto a hematología, rehabilitación y urgencias.

Conclusiones: En nuestra experiencia la profilaxis con rFVIIIc permite optimizar los resultados de la profilaxis continuada en todos los sujetos analizados, reduciendo el número de unidades consumidas y/o la frecuencia de dosis semanales de FVIII,

manteniendo la eficacia clínica y sin incrementar las visitas al centro hospitalario. El uso de este tipo de FVIII podría mejorar la adherencia al tratamiento, la calidad de vida de los pacientes con una reducción de costes.

CO-172 Análisis de la utilización de aplicaciones móviles en pacientes con hemofilia tras dos años de seguimiento

Megías Vericat JE; Jiménez Somoano K; Monte Boquet E; Pérez Huertas P; Cuéllar Monreal MJ; Tarazona Casany MV; de la Puerta R; Poveda Andrés JL; Bonanad Boix S

Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia

Introducción: Disponer de un sistema de registro fiable y fácil de cumplimentar por los pacientes es fundamental en la práctica clínica. Las aplicaciones móviles (apps) nos permiten recoger datos objetivos, así como poder acceder de forma remota y resumida a estos registros. Tras 2 años de utilización de diversas apps en pacientes hemofílicos vamos a analizar la utilización.

Material: Se elaboró una encuesta electrónica mediante un formulario Google® con 14 preguntas cerradas y 2 abiertas para valorar el uso de apps. El cuestionario constó de 4 preguntas dicotómicas y 9 de opción múltiple con única respuesta. La encuesta se distribuyó a través de una asociación de pacientes y se evaluó 3 semanas después (20 marzo al 10 abril de 2019). Cuatro preguntas estaban ya incluidas en una encuesta realizada en enero 2017, se comparó el antes y después del empleo generalizado de apps por parte de los pacientes. También se analizaron los registros actuales obtenidos de las apps empleadas.

Resultados: La encuesta se distribuyó a 61 pacientes y la contestaron 50 (81,9%). La mediana de edad fue 33,5 (rango: 3-55) años y el 96% fueron varones. Comparando la encuesta realizada en enero del 2017 y la actual observamos que antes el método de registro de administraciones del factor de coagulación elegido eran las apps (73,7%) frente al método manual (15,8%) o web (10,5%), y actualmente el 88,5% prefiere utilizar apps, frente al registro manual (9,6%) o web (1,9%). En la actualidad el 70% de los pacientes emplea apps, mientras que antes solo el 15,8% las utilizaba. En 2017, las funciones que considerarían más útiles en una app específica para hemofilia fueron: registro, comunicación directa y estimación niveles de factor. Después de generalizar el empleo de apps, creen que lo más útil de las mismas es el registro (77,5%), fotografiar la lesión (15%) y los recordatorios (5%), y les gustaría incluyera: comunicación directa con médico/farmacéutico (42%), lector código barras (28%) y estimación niveles de factor (12%). Las apps empleadas por los encuestados fueron: Haemoassist (60%), myPKFiT app (6%), myWAPPS (4%) y MicroHealth (4%), ninguna (28%). En cuanto al momento de registro, el 64,3% registra justo tras la administración, el 21,4% el mismo día, el 7,1% una vez por semana y el 7,1% restante 1-2 veces al mes. El tiempo requerido para regis-

trar en la app fue 5 minutos (5,1%), resultando las apps de fácil manejo para el 94,9% de los pacientes. El 82% de los pacientes percibían que el empleo de apps mejoraba la adherencia al tratamiento. Actualmente tenemos 94 pacientes con Haemoassist, 4 con myPKFiT app y 10 con myWAPPS. De los pacientes con Haemoassist, en 2018 se han registrado 5500 infusiones (58,5 infusiones/paciente/año). En 34 pacientes se registraron 106 hemorragias, 48,1% espontáneas y 51,9% traumáticas, afectando principalmente a tobillos (25,3%), codos (15,5%) y rodillas (12,4%).

Conclusiones: La adherencia al tratamiento en hemofilia se mide habitualmente empleando métodos indirectos y retrospectivos (encuestas y registros de dispensación). Las apps permiten disponer de datos reportados directamente por el paciente en tiempo real, información más completa y objetiva. La encuesta realizada en nuestros pacientes muestra que las apps son el método de registro favorito, que resultan sencillas, que proporcionan registros fiables de gran utilidad y que pueden favorecer una mayor adherencia al tratamiento.

CO-173 El factor rVIII-SC de cadena única en la profilaxis quirúrgica: eficacia y seguridad en 43 cirugías

Mahlangu J¹; Riera-Sans L²; Abdul Karim F³; Djambas Khayat C⁴; Ong J⁵; Oldenburg J⁶; Brainsky A⁷; Lucas S⁷; Pabinger I⁸

¹University of the Witwatersrand. NHLS and Charlotte Maxeke Hospital. Johannesburg, Sudáfrica. ²CSL Behring. Barcelona, España. ³National Blood Centre. Kuala Lumpur, Malasia. ⁴Hotel-Dieu de France Hospital. Ashrafieh, Lebanon. Francia. ⁵Brokenshire Integrated. Davao City, Filipinas. ⁶Institute of Experimental Haematology and Transfusion Medicine. University Clinic Bonn. Bonn, Alemania. ⁷CSL Behring. King of Prussia. Pensilvania, EE. UU. ⁸Clinical Division of Haematology and Haemostaseology. Medical Clinic I. Medical University Vienna. Viena, Austria

Introducción: el rVIII-SC de cadena única es un nuevo factor VIII recombinante diseñado con el dominio B truncado y un enlace covalente entre las cadenas pesadas y ligeras que confiere una mayor afinidad de unión al factor de von Willebrand. Los subestudios quirúrgicos del programa Affinity investigan la seguridad y la eficacia del rVIII-SC de cadena única para controlar la hemostasia quirúrgica en niños y adultos con hemofilia A grave.

Métodos: La cirugía se definió como un procedimiento que requiere anestesia general, raquídea o regional. La dosis de rVII-SC de cadena única se determinó según el tipo de cirugía y las recomendaciones de la FMH. El rVIII-SC de cadena única se administró como bolo o perfusión continua. El investigador calificó la eficacia hemostática mediante una escala de calificación de 4 puntos (mala/ninguna, moderada, buena y excelente); el éxito del tratamiento se definió como una calificación de excelente o buena.

Resultados: Se realizaron 43 cirugías en 32 pacientes con edades comprendidas entre los 5 y los 64 años (mediana, 32). 22 de las cirugías fueron ortopédicas: extracción de material quirúrgico del tobillo, artrodesis de la articulación del tobillo, artroplastia (de tobillo y rodilla), artroscopia (de rodilla), sinovectomía

artroscópica, reemplazo de codo, extirpación, curetaje e injerto óseo, fijación del fémur con el método Ilizarov, manipulación de rodilla, reemplazo de rodilla (6), espaciador de rodilla e inmovilización, alargamiento del tendón de Aquiles (3), reducción abierta y fijación interna del tobillo derecho y osteotomía. 21 de las cirugías no fueron ortopédicas: reparación de una hernia abdominal, apendicectomía, colecistectomía, circuncisión (10), desbridamiento (2), extracción dental (4), retirada de un Port-a-Cath, drenaje de heridas e injerto cutáneo. Diecisiete de las cirugías estuvieron relacionadas con la hemofilia o sus complicaciones y 1 cirugía (apendicectomía) se realizó de urgencia. En total, el rVIII-SC de cadena única se administró como bolo en 35 cirugías y como perfusión continua en 8 cirugías. No se observaron AA o AAG relacionados durante el período perioperatorio. La eficacia hemostática fue calificada como excelente o buena en 38 (88%) y 5 (12%) cirugías, respectivamente. Dieciocho (82%) de las cirugías ortopédicas fueron calificadas como excelentes y otras 4 (18%) fueron calificadas como buenas.

Conclusión: El rVIII-SC de cadena única, administrado como bolo o perfusión continua, fue seguro y eficaz para alcanzar la hemostasia quirúrgica y perioperatoria, con una tasa global de éxito del tratamiento del 100%.

Tratamiento antitrombótico

CO-174 Manejo perioperatorio de pacientes en tratamiento con anticoagulantes orales directos: uso de heparina de bajo peso molecular posoperatoria

Campoy Castaño D¹; Flores Aparco K²; Canals Pernas T³; Velásquez Escandon C⁴; Bastidas Mora G⁵; Ruiz de Gracia S⁵; Comai A²; Artaza Miñano G²; Ene G⁵; Subirà Caselles M⁵; Salinas Argente R⁶; Olivera Sumire P⁷

¹Hospital Universitari Sagrat Cor. Barcelona. Banc de Sang i Teixits. Unidad de Tratamiento Antitrombótico. Barcelona. ²Hospital General de Catalunya. Banc de Sang i Teixits. Unidad de Tratamiento Antitrombótico. Barcelona. ³Hospital Universitari Sant Joan de Reus. Banc de Sang i Teixits. Unidad de Tratamiento Antitrombótico. Barcelona. ⁴Hospital de Mollet. Banc de Sang i Teixits. Unidad de Tratamiento Antitrombótico. Barcelona. ⁵Hospital Universitari Sagrat Cor. Banc de Sang i Teixits. Unidad de Tratamiento Antitrombótico. Barcelona. ⁶Hospital Universitari Sagrat Cor. Banc de Sang i Teixits. Unidad de Tratamiento Antitrombótico. Institut de Recerca Hospital de Sant Pau. Barcelona. ⁷Hospital Universitari Sagrat Cor. Banc de Sang i Teixits. Unidad de Tratamiento Antitrombótico. Institut de Recerca Hospital de Sant Pau. Barcelona

Introducción: Los anticoagulantes orales de acción directa (ACODs) se utilizan cada vez más en nuestra práctica habitual en prevención de embolismo sistémico en fibrilación auricular no valvular (FANV) y en tratamiento de enfermedad tromboembólica venosa (ETE). Anualmente, al menos el 10% de estos pacientes se someten a procedimientos diagnósticos y/o terapéuticos. La terapia puente con heparina de bajo peso molecular (HBPM) puede beneficiar a pacientes de alto riesgo con antagonistas de vitamina K (AVK). Sin embargo, en pacientes con ACODs, la