

XXXIV Congreso Nacional de la Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia

Ponencias y Comunicaciones

Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia

Granada, 11-13 de octubre de 2018



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

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

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

La Revista de Ponencias y Comunicaciones del LX Congreso Nacional de la Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia y del XXXIV 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., así como la posibilidad de imprimir.



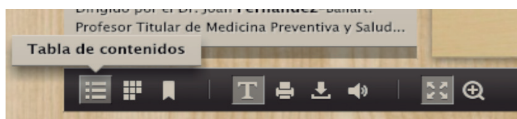
Buscador

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

MENÚ PARTE INFERIOR IZQUIERDA

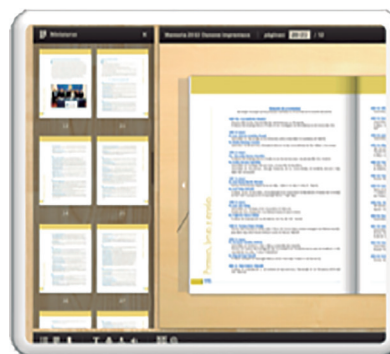
Tabla de contenidos

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



Miniaturas

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



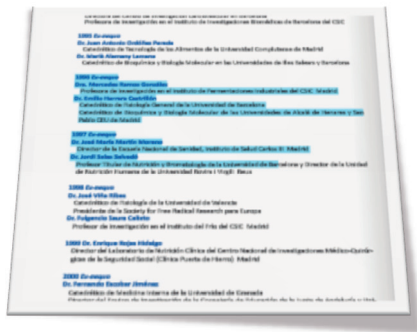
Marcadores

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



Seleccionar texto

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

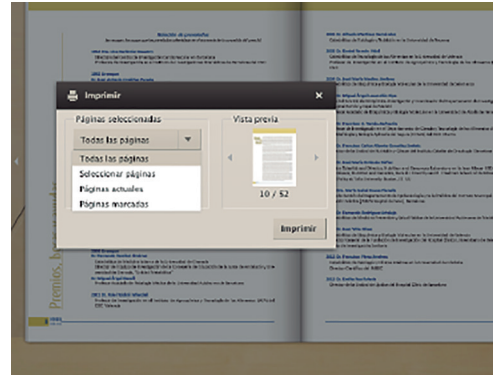


Impresión

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

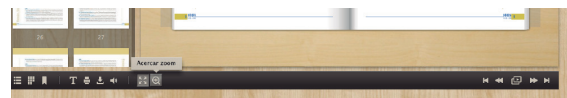
1. Imprimir toda la revista.
2. Imprimir las páginas marcadas.

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



Zoom

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



MENÚ PARTE INFERIOR DERECHA

Pasapáginas

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

Pase con diapositivas

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



ARÁN EDICIONES, S.L.

28006 MADRID - Castelló, 128, 1.º

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

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

Imprint

© 2018. 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

Manuel Jurado Chacón

Vicepresidenta

Laura Entrena Ureña

Vocales

M.^a Dolores Fernández Jiménez

Paloma García Martín

Almudena García Ruiz

Pilar Garrido Collado

Pablo González Navarro

Pedro González Sierra

Francisca Hernández Mohedo

Elisa López Fernández

Pilar López Garrido

Lucía Moratalla López

Zoraida Mesa Morales

Jorge Palacios Rodríguez

Eva M.^a Pérez Gutiérrez

José Manuel Puerta Puerta

Rafael Ríos Tamayo

Ana Beatriz Rivera Ginés

Antonio Romero Aguilar

Comité Científico de la SEHH

Presidente

José Luis Díez Martín

Vocales

Carmen Albo López

Cristina Arbona Castaño

Leonor Arenillas Rocha

Beatriz Arrizabalaga Amuchástegui

Dolores Caballero Barrigón

(coordinadora del Programa Educativo)

Inmaculada de las Heras Fernando

Fátima de la Cruz Vicente

José Luis Díez Martín

Blanca Espinet Solà

Patricia Font López

Isabel Krsnik Castelló

Mi Kwon

Ana Marín Niebla

M.^a Teresa Molero Labarta

Blanca Xicoy Cirici

Comité Científico de la SETH

Presidente

José Mateo Arranz

Vocales

Maribel Díaz Ricart

Jordi Fontcuberta Boj

José Ramón González Porras

Víctor Jiménez Yuste

José Mateo Arranz

Pilar Medina Badenes

Vanessa Roldán Schilling

(coordinadora del Programa Educativo)

Índice SETH

Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia

XVII LECCIÓN CONMEMORATIVA RICARDO CASTILLO-ANTONIO LÓPEZ BORRASCA .. 1

- Patogenia del síndrome antifosfolípido
F. Velasco Gimena..... 3

PROGRAMA EDUCACIONAL 7

- Alteraciones en la hemostasia inducidas por los nuevos tratamientos antineoplásicos dirigidos a la inhibición de tirosina cinasas
J.R. González Porras, F. Sánchez-Guijo, M. González, J.M. Bastida..... 9
- Trombocitopenias congénitas: cuando lo importante no son las plaquetas
M.L. Lozano, J. Rivera..... 21
- Diagnosis and management of dic
A. Squizzato, S. Galliazzo 27

PONENCIAS..... 31

- Nuevas terapias en coagulopatías congénitas. El futuro ya ha llegado..... 33
- Terapia génica y edición genética en coagulopatías congénitas..... 35
- Impacto de las nuevas aproximaciones terapéuticas en hemofilia..... 42
- Nuevos mecanismos patogénicos en la enfermedad tromboembólica arterial y venosa 46
- Proteómica y metabolómica en la identificación de nuevos biomarcadores del riesgo trombótico: más allá del genoma..... 50
- Plaquetas y endotelio 54
- A novel target to prevent microvascular thrombosis and multiple organ dysfunction syndrome in sepsis..... 58
- Diátesis hemorrágica y colágeno: avances en la era de la genómica..... 62
- Plaquetas conservadas en frío para fines transfusionales: “regreso al pasado”..... 68
- Disfunción endotelial y activación del sistema hemostático asociado al uso crónico de cocaína..... 71
- Controversias en el tratamiento antitrombótico 77
- Tratamiento antitrombótico y cáncer 81
- Tratamiento antitrombótico en el síndrome antifosfolípido..... 85
- Monitorización de los anticoagulantes orales directos 88
- *Big data* en hemostasia y trombosis 92
- Retos, preguntas y respuestas de la NGS en trombosis y hemostasia..... 95

SESIÓN PLENARIA 101

COMUNICACIONES ORALES 109

- Trombosis 111
- Diátesis hemorrágica 121
- Conceptos básicos en hemostasia 126
- Tratamientos antitrombóticos 133

- Coagulopatías congénitas 138
- Métodos de diagnóstico y marcadores..... 144

PÓSTERES..... 151

- Diátesis hemorrágica..... 153
- Métodos de diagnóstico y marcadores..... 168
- Plaquetas / Biología vascular / Coagulopatías congénitas 179
- Tratamientos antitrombóticos 187
- Trombosis..... 211

PUBLICACIÓN..... 235

- Coagulopatías congénitas 237
- Conceptos básicos en hemostasia 241
- Diátesis hemorrágica..... 245
- Métodos de diagnóstico y marcadores..... 253
- Plaquetas / Biología molecular 254
- Tratamientos antitrombóticos 254
- Trombosis..... 264

XVII LECCIÓN CONMEMORATIVA
RICARDO CASTILLO -
ANTONIO LÓPEZ BORRASCA

Patogenia del síndrome antifosfolípido

Francisco Velasco Gimena

Servicio de Hematología y Hemoterapia. Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (Imibic). Facultad de Medicina. Universidad de Córdoba. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba

Introducción

El síndrome antifosfolípido (SAF), el más común de los trastornos tromboticos adquiridos, es un proceso autoinmune definido por la presencia persistente de anticuerpos antifosfolípidos (aPL) en pacientes con una historia de trombosis y/o morbilidad durante el embarazo.

En un principio se creía que estos anticuerpos reconocían a la cardiolipina y otros fosfolípidos aniónicos. Sin embargo, este concepto se abandona en 1990 cuando tres grupos independientes describen que estos anticuerpos no van dirigidos contra los fosfolípidos, sino contra aquellas proteínas que tienen capacidad para unirse a los fosfolípidos, de las que la β_2 -glicoproteína (β_2 -GPI) y la protrombina son las más importantes.

La β_2 -GPI es una proteína plasmática con 326 aminoácidos organizados en 5 dominios, designados del I al V desde la región N- a la C- terminal. Entre estos, los cuatro primeros contienen 60 aminoácidos cada uno, mientras que el V es mucho más largo, pues contiene 6-residuos de inserción y un aminoácido adicional 19 C-terminal, que es el sitio de unión a los fosfolípidos (1).

Se ha consensuado que, en base a estos conocimientos, el diagnóstico del SAF requiere la presencia de un criterio clínico y otro de laboratorio (2):

- **Criterios clínicos.** *Trombosis vascular:* arterial, venosa o de los pequeños vasos, en cualquier localización. *Morbilidad en el embarazo:* > de una muerte fetal > 10.º semana de gestación; > de un nacimiento prematuro < de la 34.º semana de gestación; > de 3 pérdidas embrionarias < de la 10.º semana de gestación.
- **Criterios de laboratorio.** Anticoagulante Lúpico (LA) positivo en dos ocasiones separados por 12 semanas. Anticuerpos anticardiolipinas (aCL) IgG/ IgM positivos a título alto o medio. Anticuerpos anti- β_2 -GPI, IgG/IgM positivos a título alto o medio.

El término “anticuerpos antifosfolípidos” se usa indistintamente para referirnos tanto a los detectados por métodos antigénicos (aCL y anti- β_2 -GPI) como a aquellos otros detectados por métodos coagulativos (LA). Y se ha observado que el LA es el factor que se asocia a un mayor riesgo de complicaciones tromboticas y del embarazo.

El SAF ocurre más frecuentemente como síndrome primario, sin estar asociado a patologías autoinmunes. Este SAF primario es el responsable de un 15-20% de todos los episodios de TVP, de un tercio de los *strokes* en pacientes menores de 50 años y de

un 5-15% de las pérdidas fetales recurrentes. No obstante, distintos estudios observacionales también han descrito la presencia de aPL en pacientes con LES, una asociación que se presenta en un 30-40 % de estos enfermos (3,4).

Asimismo, entre personas asintomáticas, que tienen una positividad para LA, aCL y anti- β_2 -GPI (lo que se conoce como “pacientes triple positivos”), el riesgo de un primer episodio trombotico es de 5,3% (5). Unos autoanticuerpos que se caracterizan por tener un título alto y por estar dirigidos frente al dominio I de la β_2 -GPI (6). El potencial trombotico de estos anticuerpos ha sido demostrado en modelos experimentales. En ellos se ha evidenciado que la formación de trombos se ve favorecida tras la infusión de estos anticuerpos, y estas propiedades tromboticas de los aPL desaparecen cuando se elimina la fracción que contiene los Ac dirigidos frente al dominio I de la β_2 -GPI (7).

Mecanismos que pueden contribuir a la trombosis en el SAF

Modificación REDOX postraduccional de la anti- β_2 -GPI

Una serie de hallazgos recientes sugieren que el SAF se caracteriza por un aumento del estrés oxidativo, que juega un papel directo en la estructura y en la función de la β_2 -GPI en pacientes con el síndrome. En personas sanas, la forma tiol libre de β_2 -GPI es la que predomina en el plasma, caracterizada por un puente de disulfuro roto en el dominio I y otro en el dominio V. Los puentes de disulfuro en estas localizaciones se rompen por la tiorredoxina-1-oxidoreductasa y la proteína disulfuro-isomerasa (PDI). Bajo condiciones de estrés oxidativo, los enlaces disulfuro se forman en estos sitios, desenmascarando el epítipo crítico para las células B (8) (Fig. 1).

La proporción de β_2 -GPI oxidada plasmática, en comparación con la forma tiol libre, fue significativamente mayor en pacientes con SAF que en aquellos con enfermedad autoinmune, pero sin dicho síndrome. Además, los aPL presentan una mayor afinidad hacia las formas oxidadas de β_2 -GPI (9).

La relación entre estrés oxidativo y SAF también ha sido puesta de manifiesto por nuestro grupo. En este sentido, hemos observado que monocitos de pacientes con SAF presentaban, junto a marcadores protromboticos, un incremento en la producción de peróxido nuclear Nrt2, actividad enzimática antioxidante, disminución del glutatión intracelular y un potencial de membrana mitocondrial alterado. Una perturbación oxidativa que puede ser prevenida mediante el tratamiento con coenzima Q¹⁰ (CoQ¹⁰) (18).

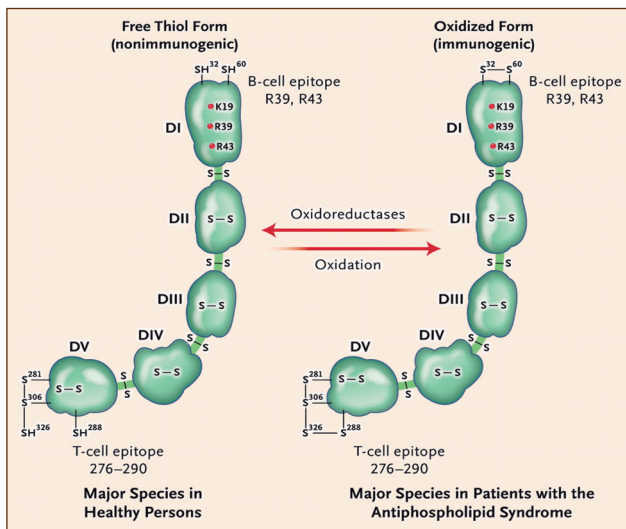


Figura 1. Representación esquemática de la estructura de la β_2 Glicoproteína (β_2 GPI) en sus formas tiol libres y oxidada. Figura tomada de Giannakopoulos B. N Engl J Med 2013.

Conformaciones de la β_2 -GPI

La β_2 -GPI puede existir en una forma circular, con el dominio I interactuando con el dominio V. En esta forma, el epítipo crítico está oculto al sistema inmune. Cuando se une a una superficie fosfolipídica aniónica a través del dominio V, la forma circular se abre presentando una configuración en forma de anzuelo, exponiendo el epítipo del dominio I y permitiendo que los anticuerpos se unan a él (10) (Fig. 2).

Sin embargo, a pesar de estos conocimientos, los aPL de pacientes con SAF que se infunden en ratones no promueven la formación de trombos en ausencia de una lesión endotelial,

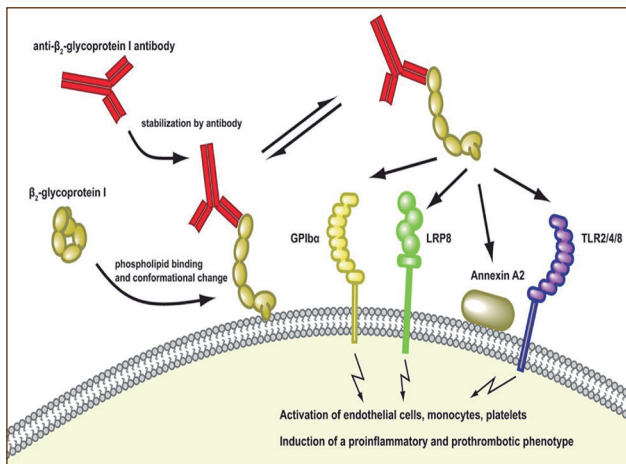


Figura 2. Secuencia de los eventos que conducen a la activación celular mediada por los complejos formados por anticuerpos anti- β_2 Glicoproteína (Ac- β_2 GPI). Figura tomada de Groot PG. Blod 2012.

un hallazgo que sugiere la necesidad de un modelo de “dos hitos” para que se produzcan las complicaciones trombóticas: un “primer hito”, que estaría representado por una lesión celular, y un “segundo hito”, cuyo resultado es una activación celular y formación de trombos. En este sentido, se ha demostrado que los complejos Ac- β_2 -GPI pueden interactuar con varios receptores de las superficies celulares, tales como glicoproteína Ib (GPIb), LRP8, anexina A2 y varios miembros de la familia TLR receptores (TLR2, TLR4, TLR8). Unos resultados biológicos que enriquecen el conocimiento sobre los mecanismos patogénicos responsables de las complicaciones trombóticas de este síndrome (1,11) (Fig. 2).

Sintetasa nitrato oxidasa endotelial

Los pacientes con SAF tienen deteriorada la respuesta vascular dependiente del endotelio, lo que sugiere que la actividad de la sintetasa endotelial de óxido nítrico (NOS) es anormal, y presentan niveles plasmáticos descendidos de nitrato. Todo ello relacionado con los títulos de los aPL. Unos resultados que subraya la implicación de la inflamación y la NOS en las complicaciones trombóticas y arterioscleróticas del síndrome (12).

Factor XI

Se ha descubierto un vínculo entre SAF y la activación dis-regulada del factor XI. Dicho factor puede ser un sustrato de la tioredoxina-1-oxireductasa y de la PID, cuya diana son los enlaces disulfuro intracatenarios (Cys118-Cys147 y Cys362-Cys482), generando tioles libres. En un estudio, los pacientes con SAF tenían niveles significativamente más altos de la forma tiol libre del FXI que en los controles; unos hallazgos que, aunque precisan ser corroborados, abren nuevas perspectivas terapéuticas, pues conocemos que la inhibición del factor XI puede proteger frente a la trombosis sin incrementar el riesgo hemorrágico (13).

Factor tisular

El factor tisular (FT) es la proteína que juega un papel importante en la unión de los procesos proinflamatorios y protrombóticos. Nuestro grupo y otros autores han demostrado cómo los aPL son capaces de inducir una elevada expresión génica y proteica de FT en monocitos de pacientes con SAF (14). Hemos evaluado los mecanismos moleculares implicados en esta sobreexpresión de FT y hemos evidenciado, *ex vivo*, que está mediada a través de la activación simultánea e independiente de las rutas MEK/ERK y p38 MAPK, esta última responsable, a su vez, de la activación de proteína Rel/NF κ B (15).

Otro mecanismo de activación del TF, analizado por nuestro grupo, incluyó la posible participación del VEGF (del inglés Vascular Endothelial Growth Factor), una proteína implicada en el desarrollo vascular y la angiogénesis en procesos de cáncer, reparación tisular e inflamación. El VEGF ejerce su función mediante unión y activación de sus receptores específicos, entre los cuales el FLT1 se expresa en monocitos y células endoteliales. El FLT1 es responsable del reclutamiento de monocitos y la inducción de la expresión de FT. En nuestro laboratorio encontramos que en el SAF existe una expresión génica y proteica de VEGF y FLT1

significativamente aumentada, las cuales se correlacionan con los títulos de aPL y FT. En consecuencia, el VEGF podría jugar un papel regulador de la expresión de TF, contribuyendo así al desarrollo de la actividad protrombótica y proinflamatoria (16).

La existencia de este estado de hipercoagulabilidad nos condujo al estudio de los PAR (receptores activados por proteasas). En este sentido, observamos un incremento en la expresión de PAR-1 y PAR-2 en monocitos de pacientes con SAF y trombosis, lo que sugiere una activación celular mediada por serín-proteasas, que podría ser de gran relevancia en el desarrollo del proceso aterotrombótico (17).

Disfunción mitocondrial

Varios estudios, como señalábamos más arriba, han evidenciado que el estrés oxidativo participa en la patogénesis del SAF y del LES. En este sentido, nuestro grupo ha investigado el papel del estrés oxidativo y la disfunción mitocondrial en el estado protrombótico de pacientes con SAF inducidos por aPL y el efecto de la suplementación con CoQ₁₀. Este estudio demostró la presencia de una perturbación oxidativa en los leucocitos de los pacientes con APS, que estaba íntimamente relacionada con el estado protrombótico e inflamatorio y sustentada en las alteraciones de la dinámica mitocondrial. Por otra parte, observamos que estas alteraciones biológicas podían ser revertidas mediante el tratamiento con CoQ₁₀ (18).

Hallazgos que abren nuevas perspectivas al empleo de fármacos antioxidantes en el SAF. En este sentido, nuestro grupo ha analizado (en un *trial* prospectivo, aleatorizado y controlado con placebo) el efecto del tratamiento con Ubiquinol (Co₁₀ reducida) en los marcadores de inflamación y trombosis en pacientes diagnosticados de SAF. Sus resultados demuestran cómo el tratamiento con Ubiquinol mejora la función endotelial, disminuye el daño mitocondrial y los mediadores protrombóticos en monocitos y modula los genes y microRNA relacionados con la aterosclerosis (19); todo lo cual sugiere que el Ubiquinol podría ser utilizado como un tratamiento adjunto a las terapias estándar empleadas en el SAF.

Otros mecanismos: plaquetas, complemento y neutrófilos y alteración de la inmunidad innata

Distintos autores también han involucrado a las plaquetas, al complemento y a los neutrófilos y a la inmunidad innata en la patogénesis del SAF.

La β_2 -GPI puede interactuar con el receptor plaquetar Ib β y el receptor 2 de la apolipoproteína E. Esto permite a los aPL entrecruzarse con estos receptores, lo que conduce a un aumento de la activación plaquetaria, a la liberación de TXA₂ y al aumento de la adhesividad de las plaquetas.

Otros estudios han descrito cómo los aPL producen una activación del complemento, todo lo cual se traduciría en una activación de los leucocitos acompañada de una inducción en la expresión de factor tisular (11).

Finalmente, se ha demostrado que los aPL son capaces de regular positivamente la expresión de los receptores TLR-7 y TLR-8 en células dendríticas y monocitos, así como su translocación desde el retículo endoplásmico al endosoma, sensibilizando las células

a los ligandos TLR-7 y TLR-8. Unos efectos que dependen de la absorción de los aPL en el endosoma, la activación de la NADPH oxidasa y la generación de iones superóxido (20).

En conclusión, y a la luz de todos estos resultados, podemos decir que en los últimos años se ha producido un gran avance en el conocimiento de este síndrome. Inmunidad, inflamación y componentes celulares están íntimamente relacionados con la activación de la coagulación. El conocimiento de estos mecanismos y de su interrelación está permitiendo el diseño de nuevas estrategias terapéuticas con las que enfrentarnos a las complicaciones clínicas del SAF.

Bibliografía

1. De Groot PG, Urbanus RT. The significance of autoantibodies against β_2 -glycoprotein I. *Blood* 2012;120(2):266-74.
2. Myyakis 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;4:295-306.
3. Ginsburg KS, Liang MH, Newcomer SZ, et al. Anticardiolipin antibodies and the risk for ischemic stroke and venous thrombosis. *Ann Intern Med* 1992;117:997-1002.
4. Love PE, Santoro SA. Antiphospholipid antibodies: anticardiolipin and the lupus anticoagulant in systemic lupus erythematosus (SLE) and in non-SLE disorders. Prevalence and clinical significance. *Ann Intern Med* 1990;112:682-98.
5. Pengo V, Ruffatti A, Legnani C, et al. Incidence of a first thromboembolic event in asymptomatic carriers of high-risk antiphospholipid antibody profile: a multicenter prospective study. *Blood* 2011;118:4714-8.
6. Banzato A, Pozzi N, Frasson R, et al. Antibodies to domain I of β_2 -GPI are in close relation to patients risk categories in antiphospholipid syndrome (APS). *Thromb Res* 2011;128:583-6.
7. Arad A, Proulle V, Furie RA, et al. β_2 -GPI-1 autoantibodies from patients with antiphospholipid syndrome are sufficient to potentiate arterial thrombus formation in a mouse model. *Blood* 2011;117:3453-9.
8. Passam FH, Rahgozar S, Qi IM, et al. Beta-2-glycoprotein I is a substrate of thiol oxidoreductases. *Blood* 2010;116:1995-7.
9. Ioannou Y, Zhang JY, Qi IM, et al. Novel assays of thrombogenic pathogenicity for the antiphospholipid syndrome base on the detection of molecular oxidative modification of the major autoantigen β_2 -GPI. *Arthritis Rheum* 2011;63:2774-82.
10. Agar C, van Os GM, Morgelin M, et al. Beta-2-glycoprotein I can exist in 2 conformations: implications for our understanding of the antiphospholipid syndrome. *Blood* 2010;116:1336-43.
11. Giannakopoulos B, Krilis SA. The pathogenesis of the antiphospholipid syndrome. *N Engl J Med* 2013;368:1033-44.
12. Ames PR, Batuca JR, Ciampa A, et al. Clinical relevance of nitric oxide metabolites and nitrative stress in thrombotic primary antiphospholipid syndrome. *J Rheumatol* 2010;37:2523-30.
13. Giannakopoulos B, Gao L, Qui M, et al. Factor XI is a substrate for oxidoreductases: enhanced activation of reduced FXI and its role in APS thrombosis. *J Autoimmun* 2012;39:121-9.
14. Cuadrado MJ, López-Pedrerá CH, Khamashta M, et al. Thrombosis in primary antiphospholipid syndrome: a pivotal role for monocyte tissue factor expression. *Arthritis and Rheumatism* 1997;40(5):834-41.
15. López-Pedrerá CH, Buendía P, Cuadrado MJ, et al. Antiphospholipid antibodies from patients with the antiphospholipid syndrome induce monocyte tissue factor expression through the simultaneous

- activation of NFκB/Rel protein via the P38 mitogen-activated protein kinase pathway and of the MEK-1/ERK pathway. *Arthritis and Rheumatism* 2006;54(1):301-11.
16. Cuadrado MJ, Buendía P, Velasco F, et al. Vascular endothelial growth factor expression in monocytes from patients with primary antiphospholipid syndrome. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2006;4:2461-9.
 17. López-Pedreira CH, Aguirre MA, Buendía P, et al. Differential expression of protease-activated receptors in monocytes from patients with primary antiphospholipid syndrome. *Arthritis and Rheumatism* 2010;62(3):869-77.
 18. Pérez-Sánchez C, Ruiz-Limón P, Aguirre MA, et al. Mitochondrial dysfunction in antiphospholipid syndrome: implications in the pathogenesis of the disease and effects of coenzyme Q10 treatment. *Blood* 2012;119(24):5859-70.
 19. Pérez-Sánchez C, Aguirre MA, Ruiz-Limón P, et al. Ubiquinol effects on antiphospholipid syndrome prothrombotic profile: a randomized, placebo-controlled trial. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2017;37:1923-32.
 20. Prinz N, Clemons N, Strand D, et al. Antiphospholipid antibodies induce translocation of TLR7 and TLR8 to the endosome in human monocytes and plasmacytoid dendritic cells. *Blood* 2011;118:2322-32.

Programa Educacional

Alteraciones en la hemostasia inducidas por los nuevos tratamientos antineoplásicos dirigidos a la inhibición de tirosina cinasas

José Ramón González Porras, Fermín Sánchez-Guijo, Marcos González, José María Bastida
Unidad de Trombosis y Hemostasia. Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Salamanca-IBSAL-USAL. Salamanca

Introducción

En las últimas décadas han aparecido fármacos antineoplásicos que proponen alternativas diferentes a los clásicos agentes citostáticos empleados en quimioterapia, cuyos efectos secundarios derivados de su acción inespecífica constituyen una limitación. Son terapias más selectivas, que reciben el nombre de tratamientos dirigidos o biológicos, y que normalmente se basan en el uso de moléculas orgánicas pequeñas o anticuerpos monoclonales (Ac Mo). Sus dianas son moléculas con actividad relevantes en mecanismos celulares que, aunque también juegan un papel en condiciones no patológicas, son particularmente activos cuando existe transformación neoplásica. Este hecho motiva que, en general, sus efectos secundarios sean menores.

Los tratamientos dirigidos habitualmente actúan en dos contextos biológicos: la transmisión de señales que, desde el exterior de las células, ponen en marcha una serie de mecanismos de transducción que conducen a su proliferación, y los procesos que estimulan la neoangiogénesis, formación de nuevos vasos que posibilitan la supervivencia de los focos tumorales (1). Algunos fármacos de acción inmunomoduladora también pueden incluirse en la categoría de tratamientos dirigidos (2). De todos modos, estas nuevas terapias poseen todavía una limitación relevante: las células cancerosas pueden transformarse en resistentes a su acción, bien porque las moléculas diana experimenten mutaciones que impidan la interacción, bien porque el tumor consiga emplear mecanismos alternativos que garanticen su crecimiento (1,3,4). Por tal motivo, los tratamientos dirigidos todavía suelen administrarse con, al menos, alguno de los agentes citostáticos habituales.

En el ámbito de la oncohematología, el uso de estas nuevas terapias ha experimentado un auge notable en la última década. Aunque, como se ha mencionado ya, los efectos secundarios de los tratamientos biológicos suelen ser menos agresivos que los derivados del uso de agentes citostáticos, el hecho de que sus moléculas diana participen con frecuencia en más de un proceso celular en tejidos muy diversos motiva que su administración induzca una serie de alteraciones que en ocasiones sí pueden constituir una amenaza grave para el paciente. El sistema hemostático, particularmente la función plaquetaria, se ve afectado con cierta frecuencia por estos nuevos fármacos (5,6). Desde hace unos años se han depositado grandes esperanzas en los inhibidores de las tirosina cinasas (ITC) para tratar cánceres hematológicos, en especial los que cursan con proliferación anómala de células B. Uno de ellos, Ibrutinib, se autorizó en nuestro país a finales de 2014, y a raíz de los prometedores resultados obtenidos en los ensayos iniciales, su uso se ha extendido de manera considerable (7). No obstante, llama la atención la frecuencia con la que se han detectado eventos

adversos de índole hemorrágica asociados a esta terapia, motivados por una disfunción plaquetaria relevante en los pacientes tratados. Ibrutinib no es el único ITC que induce disfunción plaquetaria. Por tal motivo, pensamos que existe la necesidad de realizar una revisión exhaustiva de los efectos secundarios, en el ámbito de la hemostasia, derivados del empleo de los ITC en determinadas neoplasias hematológicas. El trabajo se centra sobre todo en Ibrutinib, al ser el inhibidor del que se dispone de más evidencias en este contexto, pero aborda también, más sucintamente, los trastornos hemostáticos asociados a otros ITC. Al final del artículo, la **tabla I** recoge los principales ITC con los que se ha documentado este tipo de complicaciones y sugiere pautas para su manejo, incluyéndose también algunos cuyas dianas no son cánceres hematológicos, sino tumores sólidos.

Inhibidores de tirosina cinasas

Las tirosina cinasas (TC) son enzimas con capacidad de fosforilar a otras proteínas. Pueden localizarse como receptores en la superficie celular (TCR) o en su interior (TCNR). En ambos casos forman parte de mecanismos de señalización celular que controlan aspectos cruciales relacionados con crecimiento, diferenciación y función. Con frecuencia, las TC son productos de protooncogenes, por lo que su expresión aberrante ha podido relacionarse con diversos tipos de cáncer. Existen 20 subfamilias de TCR y 10 de TCNR (**Tabla II**). Las TC poseen en común un dominio cinasa que cataliza la transferencia de un grupo fosfato a un residuo Tyr desde una molécula de ATP. La interacción con esta se efectúa a través de la región N-terminal del dominio catalítico, mientras que el dominio C-terminal engloba la *loop* de activación, con residuos Tyr, Thr o ser susceptibles de ser fosforilados, requisito indispensable para su correcto funcionamiento. Por lo general, el cambio conformacional que se produce a raíz de la fosforilación estabiliza la actividad cinasa y permite la interacción con proteínas adaptadoras o efectores que, en cualquier caso, ponen en marcha mecanismos de señalización celular que, en último término, alterarán el patrón de expresión génica. Las diferencias entre el resto de dominios, caracterizados por jugar un papel relevante en la interacción con otras moléculas, determinan la pertenencia de cada TC a una u otra subfamilia (8). La **figura 1** muestra la estructura simplificada de las TC de tres subfamilias, Tec, Abl y Src, de la familia TCNR, elegidas porque algunos de sus miembros son las dianas principales de los ITC más empleadas en hemopatías malignas.

Los mecanismos reguladores de la actividad de las TC se encuentran sometidos a un estrecho control. Sin embargo, en ocasiones este puede verse comprometido ante la existencia de mutaciones que originan una sobreexpresión de las propias TC o de otras molé-

Tabla I. Alteraciones hemostáticas asociadas al uso de tratamientos dirigidos frente a cánceres hematológicos

Fármaco	Mecanismo	Indicación	Trastorno (frecuencia)*	Manejo	Prevención
Ibrutinib (9,17)	Inhibidor de BTK/TEC	<ul style="list-style-type: none"> • LCM si ≥ 1 TP • LLC/LLP con delección 17p • MW • LYM si ≥ 1 TP anti-CD20 • EICHc tras ≥ 1 TS 	<ul style="list-style-type: none"> • Disfunción plaquetaria (muy frecuente) • Trombocitopenia (muy frecuente) • Hematomas leves (muy frecuente) • Hemorragias <ul style="list-style-type: none"> – Totales, ~19-22/100 p.a. – Mayores/fatales, $< 10\% / < 1\%$ 	<ul style="list-style-type: none"> • Trombocitopenia: si plaquetas $< 25 \times 10^9/L$, suspender/modificar dosis según FT[†] • Hemorragia mayor: interrumpir temporalmente Ibrutinib y transfundir plaquetas ≥ 3 horas tras última dosis, repitiendo si fuera necesario 	<p>(del sangrado)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Evitar AVK concomitante • Evitar > 1 ACG o/y AP (si irrenunciable, sustituir Ibrutinib por otro antineoplásico) • Considerar interacciones con otros fármacos, especialmente antiarrítmicos • Cirugía mayor: interrumpir Ibrutinib 7 días antes, hasta 1-3 días después; transfundir plaquetas ante procedimientos no programados
Dasatinib (5,27)	Inhibidor de BCR/ABL	<ul style="list-style-type: none"> • LMC Ph+ crónica recién diagnosticada • LMC Ph+ crónica, acelerada o blástica resistente/intolerante a TP, imatinib incluido • LL Ph+ y crisis blástica • Linfoides procedente de LMC resistente/intolerante a TP 	<ul style="list-style-type: none"> • Disfunción plaquetaria (muy frecuente) • Trombocitopenia (muy frecuente) • Hematomas/hemorragias leves (muy frecuente) • Hemorragias Grado ≥ 3 <ul style="list-style-type: none"> – Grado 3/4, 5,8% – Grado 5, 0,4% <p>(localización sobre todo GI; en SNC $< 1\%$)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Trombocitopenia, si LMC crónica y plaquetas $< 50 \times 10^9/L$; si LMC acelerada/crisis blástica o LLA Ph+, y plaquetas $< 10 \times 10^9/L$: suspender/modificar dosis según FT[†] • Hemorragia <ul style="list-style-type: none"> – Si Grado ≥ 3, interrumpir temporalmente Dasatinib y transfundir plaquetas o/y hemafíes 	<p>(del sangrado)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Si plaquetas $< 50 \times 10^9/L$ en fase crónica, $< 10 \times 10^9/L$ en fases acelerada o blástica, interrumpir temporalmente Dasatinib hasta recuperación y considerar reducción de dosis (FT[†]) • Evitar ACG o AP concomitantes • Considerar interacciones con inhibidores de CYP3A4 • Cirugía: interrumpir Dasatinib 7 días antes, reanudar cuando se considere que no existe riesgo
Imatinib (29)	Inhibidor de BCR/ABL	<ul style="list-style-type: none"> • LMC Ph+ en no candidatos a trasplante, en fase crónica sin respuesta a IFN-α o en fases acelerada o blástica • LLA Ph+ recién diagnosticada, refractaria o en recaída • SMD/SMP si gen <i>PDGFR</i> alterado • SHE avanzado o LEC si genes <i>FIP1L1</i> y <i>PDGFRα</i> alterados • GIST: no apto para cirugía, metastásico o en riesgo de recaída tras cirugía • DFSP: no apto para cirugía, en recaída o metastásico 	<ul style="list-style-type: none"> • Disfunción plaquetaria (muy frecuente) • Trombocitopenia (poco frecuente) • Hematomas, hematomas subdurales (poco frecuente) • Hemorragias (frecuente); hemorragias gastrointestinales (poco frecuente), habitualmente en pacientes con GIST, también asociada a EVAG en LMC y LLA (frecuencia desconocida) 	<ul style="list-style-type: none"> • Trombocitopenia, si SHE/LEC, LMC crónica, SMD/SMP, GIST o DFSP, y plaquetas $< 50 \times 10^9/L$; si LMC acelerada/blástica o LLA Ph+, y plaquetas $< 10 \times 10^9/L$: suspender/modificar dosis según FT[†] • Hemorragia GI, incluida la motivada por EVAG: aplicar procedimientos estándar para esta patología como los ya citados; considerar interrupción del tratamiento 	<p>(del sangrado)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Si se produce trombocitopenia, aplicar las pautas expuestas en la sección dedicada a su manejo • Evitar el tratamiento concomitante con antiagregantes o anticoagulantes • Cirugía: interrumpir Imatinib 7 días antes, reanudar cuando se considere que no existe riesgo

(Continúa en la página siguiente)

Tabla I (Cont.). Alteraciones hemostáticas asociadas al uso de tratamientos dirigidos frente a cánceres hematológicos				
Fármaco	Mecanismo	Indicación	Disfunción hemostática	
			Trastorno (frecuencia)*	
			Manejo	
			Prevención	
Ponatinib (30,31)	Inhibidor de BCR/ABL	<ul style="list-style-type: none"> LMC en fase crónica, acelerada o blástica resistente/intolerante a dasatinib o nilotinib y no apta para imatinib LMC en fase crónica, acelerada o blástica con la mutación T315I LLA Ph+ resistente/intolerante a dasatinib y no apta para imatinib LLA Ph+ con la mutación T315I 	<ul style="list-style-type: none"> Disfunción plaquetaria (muy frecuente) Trombocitopenia (muy frecuente) Hemorragias gástricas (frecuente); subdurales (poco frecuente) 	<p>(del sangrado)</p> <ul style="list-style-type: none"> Si se produce trombocitopenia, aplicar las pautas expuestas en la sección dedicada a su manejo Evitar el tratamiento concomitante con antiagregantes o anticoagulantes Cirugía: interrumpir ponatinib 7 días antes, reanudar cuando se considere que no existe riesgo
Nilotinib (29,33)	Inhibidor de BCR/ABL	<ul style="list-style-type: none"> LMC Ph+ en fase crónica recién diagnosticada LMC Ph+ en fases crónica (niños y adultos) o acelerada (adultos) con resistencia/intolerancia a TP, imatinib incluido 	<ul style="list-style-type: none"> Disfunción plaquetaria (controvertida acerca de si el potencial de adhesión/agregación se reduce o se incrementa) Trombocitopenia (frecuente) Hemorragia: ocular (frecuente); intracranial, GI (poco frecuente) AE (frecuente) IAM, EAC (frecuente) EAP (frecuente) ACV, AIT (frecuente) 	<p>(del sangrado)</p> <ul style="list-style-type: none"> Si se produce trombocitopenia, aplicar las pautas expuestas en la sección dedicada a su manejo Cirugía: interrumpir nilotinib 7 días antes, reanudar cuando se considere que no existe riesgo
Bosutinib (35,36)	Inhibidor de BCR/ABL y Src ^t	<ul style="list-style-type: none"> LMC Ph+ en fase crónica recién diagnosticada LMC Ph+ en fases crónica, acelerada o blástica con ≥ 1 TP con ITCs y no apta para dasatinib, imatinib o nilotinib 	<ul style="list-style-type: none"> Trombocitopenia (frecuente) Hemorragia [poco frecuente (Grado < 3)] 	<p>(del sangrado)</p> <ul style="list-style-type: none"> Si se produce trombocitopenia, aplicar las pautas expuestas en la sección dedicada a su manejo
Sunitinib (37,38)	Inhibidor de TCRs de los grupos PDGFR, VEGFR, y de cinasas RAF	<ul style="list-style-type: none"> GIST resistente/intolerante a imatinib en adultos CCRM en adultos pNET en adultos 	<ul style="list-style-type: none"> Disfunción plaquetar (inhibición de degranulación alfa y de expresión de P-selectina; inhibición de la agregación dependiente de colágeno) Trombocitopenia (muy frecuente) Hemorragia^t (especialmente en CCRM): GI, rectal (frecuente); cerebral, pulmonar, tracto urinario, tumoral (poco frecuente, especialmente en GIST) TVP, EP (frecuente) ACV, AIT (poco frecuente) IAM (poco frecuente) MAT (rara) 	<p>(del sangrado)</p> <p>Monitorización periódica si tratamiento concomitante con anticoagulantes</p> <ul style="list-style-type: none"> Considerar diagnóstico de MAT ante anemia hemolítica, trombocitopenia, fatiga, manifestaciones neurológicas variables, alteración renal y fiebre Cirugía: interrumpir sunitinib 7 días antes, reanudar cuando se considere que no existe riesgo

(Continúa en la página siguiente)

Tabla I (Cont.), Alteraciones hemostáticas asociadas al uso de tratamientos dirigidos frente a cánceres hematológicos				
Fármaco	Mecanismo	Indicación	Disfunción hemostática	
			Trastorno (frecuencia)*	Manejo
Sorafenib (37,38)	Inhibidor de TCRs de los grupos PDGFR, VEGFR y Ret	<ul style="list-style-type: none"> • Carcinoma hepatocelular • Carcinoma renal avanzado y refractario o inapropiado para IFN-α o IL-2 • Carcinoma diferenciado de tiroides en progresión, localmente avanzado o metastásico, resistente al yodo radiactivo 	<ul style="list-style-type: none"> • Disfunción plaquetar (inhibición de expresión de P-selectina; inhibición de la agregación dependiente de colágeno) • Trombocitopenia (frecuente) • Anomalías en INR (poco frecuente; asociado a AVK) • Hemorragia[†], incluidas localizaciones GI, respiratoria y cerebral (muy frecuente) • IAM (frecuente) 	<p>(del sangrado)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Monitorización periódica si tratamiento concomitante con anticoagulantes • Cirugía: interrumpir sorafenib 7 días antes, reanudar cuando se considere que no existe riesgo
Gefitinib (39-41)	Inhibidor de EGFR (TCR del grupo ErbB)	<ul style="list-style-type: none"> • CPCNP avanzado o metastásico con mutaciones en EGFR 	<ul style="list-style-type: none"> • Disfunción plaquetar (mayor capacidad de agregación) • Hemorragia leve/moderada (epistaxis, hematuria) (frecuente) • IAM [dos casos clínicos (39,40)] 	<ul style="list-style-type: none"> • IAM, tratar con arreglo a procedimientos estándar • Monitorización estrecha de los pacientes con historia de trombosis venosa/arterial y de los que presentan factores de riesgo clásicos

*Muy frecuente: $\geq 1/10$; frecuente: entre $\geq 1/100$ y $< 1/10$; poco frecuente: entre $\geq 1/1.000$ y $< 1/100$; rara: entre $\geq 1/10.000$ y $< 1/1.000$
[†]FT ibrutinib: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/003791/WC50017775.pdf
 FT dasatinib: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000709/WC500056998.pdf
 FT imatinib: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000406/WC500022207.pdf
 FT ponatinib: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/002695/WC500145646.pdf
 FT nilotinib: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000798/WC500034394.pdf
 FT bosutinib: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/002373/WC500141721.pdf
 FT sunitinib: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000687/WC500057737.pdf
 FT sorafenib: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000690/WC500027704.pdf
 FT gefitinib: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/001016/WC500036358.pdf
[†]Algunas pueden ser severas y potencialmente mortales.

ACG, fármaco anticoagulante; ACV, accidente cerebrovascular; AE, angina estable; AIT, accidente isquémico transitorio; AP, fármaco antiagregante plaquetario; AVK, antagonistas de la vitamina K; BTK, tirosina cinasa de Bruton; CCRM, carcinoma de células renales metastásico; CPCNP, cáncer de pulmón de células no pequeñas; DFSP, *dermatofibrosarcoma protuberans*; EAC, enfermedad arterial coronaria; EAP, enfermedad arterial periférica; EGFR, *epidermal growth factor receptor*; EICHc, enfermedad injerto contra huesped crónica; EP, embolismo pulmonar; EVAG, eciasia vascular antral gástrica; FIP1L1, *factor interacting with PIP2LA and CFS7*; FT, ficha técnica; GI, gastrointestinal; GST, tumores del estroma gastrointestinal; IAM, infarto agudo de miocardio; IFN- α , interferon alfa; IL-2, interleuquina 2; INR, *international normalized ratio*; LCM, linfoma de manto; LEC, leucemia eosinofílica crónica; LLA, leucemia linfoblástica aguda; LLC, leucemia linfocítica crónica; LLP, linfoma de linfocitos pequeños; LMC, leucemia mieloide crónica; LZM, linfoma de zona marginal; MAT, microangiopatía trombótica; MW, macroglobulinemia de Waldenström; p.a., pacientes-años; PDGFR, *platelet derived growth factor receptor*; pNET, tumores neuroendocrinos pancreáticos; RAF, cinasas serina/treonina; RTX, rituximab; SHE, síndrome hipereosinofílico; SMD, síndrome mielodisplásico; SMP, síndrome mieloproliferativo; SNC, sistema nervioso central; TEC, *tyrosine kinase expressed in hepatocellular carcinoma*; TP, tratamiento previo; TYP, trombosis venosa profunda; TS, terapias sistémicas; VEGFR, *vascular endothelial growth factor receptor*.

Tabla II. Familias de tirosina cinasas

TCR	TCNR
ErbB	Src
Ins	Csk
PDGF	Syk
VEGF	Tec
FGF	Jak
PTK7	Fak
Trk	Abl
Ror	Fes
MuSK	Frk
Met	Ack
Axl	
Tie	
Eph	
Ret	
Ryk	
DDR	
Ros	
LMR	
ALK	
STYK1	

TCR, tirosina cinasas localizados como receptores en la superficie celular; TCNR, tirosina cinasas intracelulares.

culas aguas arriba de estas. En esas circunstancias, se produce una transformación neoplásica de las células afectadas, que proliferan a una velocidad anormalmente alta y escapan al control apoptótico. Se ha observado una regulación al alza de la actividad TC en neoplasias como la leucemia mieloide crónica (LMC) o la leucemia linfoblástica aguda (LLA). Algunos ITC son capaces de bloquear con eficacia este tráfico celular anómalo, por lo que están posibilitando grandes avances en los cánceres hematológicos.

Ibrutinib

Nombre químico

1 [(3R)-3-[4-amino-3-(4-fenoxifenil)-1Hpirazol[3,4-d]pirimidin-1-il]-1-piperidinil]-2-propen-1-one.

Mecanismo de acción

Ibrutinib es un inhibidor de la tirosina cinasa de Bruton (BTK). BTK, que pertenece a la familia de cinasas Tec, debe su nombre al pediatra que en 1952 describió la agammaglobulinemia ligada al cromosoma X, una inmunodeficiencia que predispone a infecciones bacterianas recurrentes asociadas a una mutación en esta TC. Esta anomalía genética motivaba la reducción del número

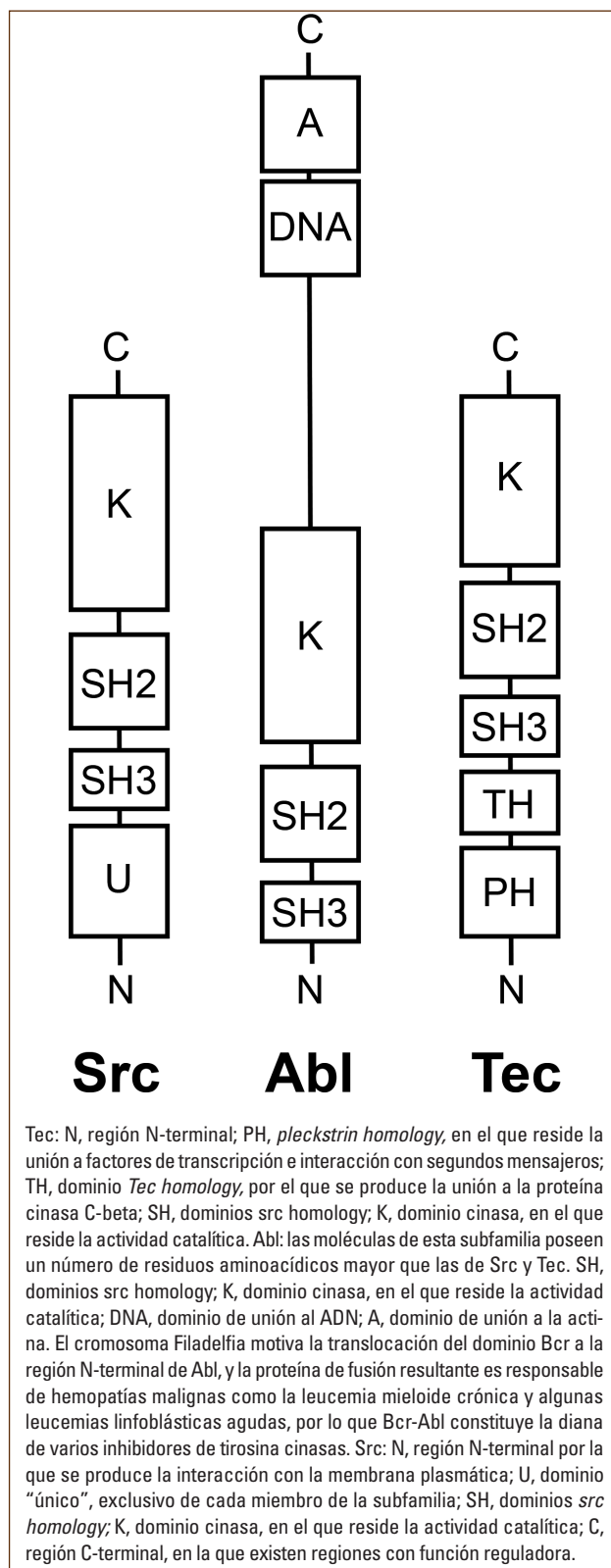


Figura 1. Estructura de las principales subfamilias de tirosina cinasas que son diana de los inhibidores farmacológicos.

de células B y anticuerpos circulantes, observación que permitió concluir que BTK juega un papel esencial en el desarrollo de las células B. No sorprende, por tanto, que también se le atribuya un papel relevante en la supervivencia de las células neoplásicas en una serie de hemopatías malignas de línea linfocito B, lo que la convierte en una diana atractiva para cualquier tratamiento alternativo a la quimioterapia. La acción de Ibrutinib es irreversible porque forma un enlace covalente con el residuo cisteína (Cys) 481 de su centro activo. BTK juega un papel central en la vía de señalización del receptor del antígeno del linfocito B (BCR). Cuando se une a fosfatidilinositol-3,4,5-trisfosfato (PIP3), BTK fosforila a la fosfolipasa C g2 (PLCg2), posibilitando que se ponga en marcha un sistema de transducción de señales que culmina con un incremento de la proliferación de estas células, que además escapan al control apoptótico. Ibrutinib impide estos fenómenos que, cuando se produce una sobreexpresión de BTK o un incremento anormal de su actividad por alteraciones aguas arriba en alguna otra molécula de la vía de BCR, conducen a transformaciones neoplásicas caracterizadas por un incremento anormal de linfocitos B (Fig. 2).

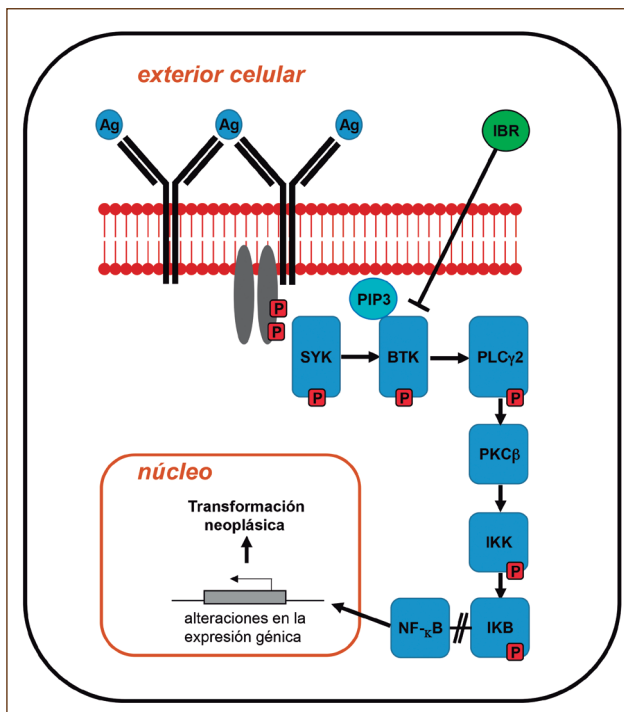


Figura 2. Acción de Ibrutinib sobre la vía del receptor del antígeno del linfocito B. Se representa una visión simplificada de los mecanismos que conducen a la alteración neoplásica del linfocito B. La unión de los antígenos a sus receptores desencadena una serie de activaciones en cascada de tirosina cinasas, en las que la tirosina cinasa de Bruton (BTK) juega un papel central. Una vez que es fosforilada por la tirosina cinasa de bazo (SYK) y en presencia de fosfatidilinositol-3,4,5-trisfosfato (PIP3), la BTK fosforila a la fosfolipasa Cγ2 (PLCγ2). El resultado final es la transformación patológica de la expresión génica como consecuencia de la acción del factor de transcripción nuclear kappa B (NF-κB), que tras liberarse de la inhibición por parte del inhibidor de kappa B (IKB), puede llegar al núcleo. PKCβ, proteína cinasa C β; IKK, cinasa del inhibidor de kappa B.

Indicaciones

- Pacientes adultos con leucemia linfocítica crónica/linfoma de linfocitos pequeños (LLC/LLP).
- Pacientes adultos con linfoma de manto (LCM) que hayan recibido al menos un tratamiento previo.
- Pacientes adultos con LLC/LLP con delección 17p.
- Pacientes adultos con macroglobulinemia de Waldenstrom (MW).
- Pacientes adultos con linfoma de zona marginal (LZM) que requieran terapia sistémica y que hayan recibido al menos un tratamiento anti-CD20 previo.
- Casos de enfermedad injerto contra huésped crónica tras el fracaso de una o más líneas de terapias sistémicas.

Alteraciones hemostáticas

Mecanismos implicados

Ibrutinib induce disfunción plaquetaria (Fig. 3). En consecuencia, puede predisponer al paciente a experimentar eventos hemo-

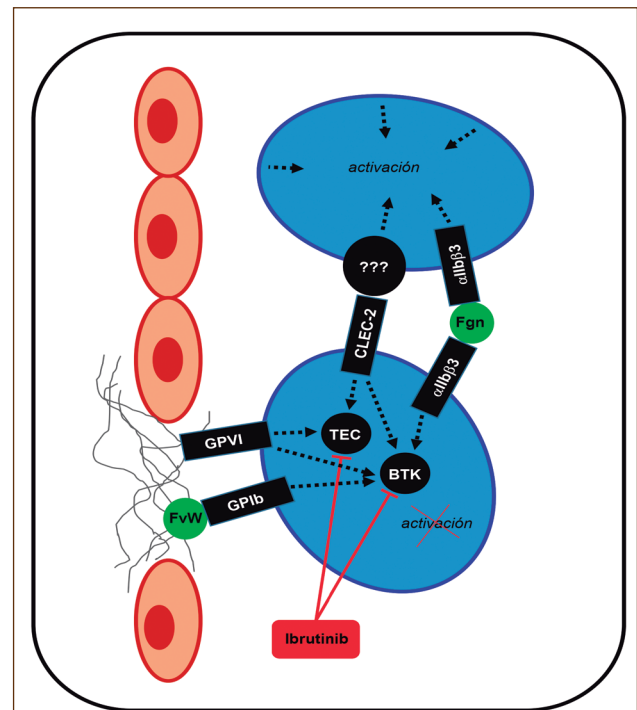


Figura 3. Acciones de Ibrutinib sobre la plaqueta. Se exponen las interacciones entre receptores plaquetarios y sus ligandos cuyos mecanismos de señalización intracelular, por depender de BTK o/ y TEC, son inhibidos por Ibrutinib. A la izquierda de la imagen se representa el endotelio vascular con un área lesionada de la que emergen fibras de colágeno. BTK, tirosina cinasa de Bruton; TEC, tyrosine kinase expressed in hepatocellular carcinoma; GPVI, glicoproteína VI; αIIbβ3, integrina αIIbβ3; GPIb, glicoproteína Ib; CLEC-2, C-type lectin-like receptor 2; FvW, factor von Willebrand; Fgn, fibrinógeno.

rágicos. Además de BTK, Ibrutinib inhibe a otra tirosina cinasa, *tyrosine kinase expressed in hepatocellular carcinoma* (TEC). Esta acción es relevante porque tanto BTK como TEC participan en varios de los procesos que, ante una lesión vascular, conducen a una respuesta plaquetaria adecuada en términos de activación, adhesión y agregación. Varios receptores plaquetarios, una vez que interactúan con los estímulos apropiados, ponen en marcha vías de señalización mediadas por BTK, y en ocasiones por BTK y TEC (revisado en [9]):

- La glicoproteína VI (GPVI) es un receptor del colágeno con un papel protagonista en la adhesión plaquetaria a las superficies lesionadas. A través de una cascada de transducción de señales en la que intervienen BTK y TEC, GPVI media la activación de las plaquetas cuando estas entran en contacto con el colágeno subendotelial. El hecho de que el fenotipo hemorrágico de los sujetos carentes de GPVI funcional sea similar al de algunos pacientes tratados con Ibrutinib, condujo a pensar que el efecto de este sobre la vía colágeno/GPVI es responsable, al menos en parte, de los episodios de sangrado, al facilitar la formación de trombos inestables (10).
- La integrina α IIb β 3 interactúa con el fibrinógeno, promoviendo la agregación plaquetaria y la retracción posterior del coágulo. BTK interviene en la señalización α IIb β 3/fibrinógeno, por lo que se cree que la inhibición de esta vía contribuye a la inestabilidad del trombo.
- La glicoproteína Ib (GPIb) es un componente del complejo GPIb-V-IX que se une al factor Von Willebrand (FvW) en una interacción relevante para la adhesión y agregación plaquetaria. A través de una vía de señalización que requiere la participación de BTK, la interacción GPIb/FvW pone en marcha una serie de procesos, entre los que destacan la colonización por las plaquetas del área lesionada del vaso y la reorganización del citoesqueleto de estas (11). Ibrutinib disminuye en gran medida la capacidad de adhesión de las plaquetas al FvW, contribuyendo a reducir su capacidad para formar un coágulo estable. Esta acción podría ser, en buena medida, responsable de los sangrados observados en la microvasculatura, donde el estrés de cizalladura es elevado.
- El receptor CLEC-2 (*C-type lectin-like receptor 2*) es un receptor lectina de tipo C que también juega un papel importante en la estabilidad del coágulo, aunque su funcionamiento no se conoce con exactitud. Solo se ha identificado a un ligando, la podoplanina, que, sin embargo, no contribuye de modo relevante a la formación del trombo. Sí se conoce que tanto BTK como TEC son mediadores necesarios de CLEC-2 para garantizar la estabilidad del coágulo tras la adhesión de las plaquetas al endotelio lesionado (12).

Los mecanismos que acaban de describirse son, en mayor o menor medida, responsables del fenotipo hemorrágico de los pacientes tratados con Ibrutinib. En cualquier caso, todavía existen aspectos desconocidos sobre las acciones mediadas por este medicamento, como lo prueba el hecho de que los individuos con agammaglobulinemia ligada al cromosoma X no presentan una tendencia al sangrado mayor que las personas no afectadas por esa patología, a pesar de que los primeros carecen de BTK fun-

cional (13). No obstante, sí se acepta que Ibrutinib compromete seriamente la capacidad de generar trombos estables en situaciones de necesidad, por lo que se ha sugerido que la combinación de este fármaco con otros antiplaquetarios (como los antagonistas de P2Y₁₂, receptor que media la activación plaquetaria por ADP), podría colocar al paciente en riesgo de experimentar hemorragias muy severas (14).

Evidencia clínica

Numerosas evidencias clínicas permiten afirmar que el riesgo de hemorragia es una de las dos grandes limitaciones de la terapia con Ibrutinib de los cánceres hematológicos de células B (revisado en [9]). La otra es la fibrilación auricular (FA), que se abordará en la sección dedicada al manejo y la prevención de las complicaciones hemorrágicas, ya que, cuando la FA aparece, es aconsejable la adopción de pautas de profilaxis anticoagulante que, sin embargo, pueden entrar en conflicto con la propia administración de Ibrutinib. Se ha observado una alta tasa de sangrado asociada al uso concomitante de Ibrutinib y antagonistas de la vitamina K, así como en relación con procedimientos invasivos (15,16). Ambas situaciones también se abordarán en la sección dedicada al manejo y la prevención de las hemorragias. Finalmente, cualquier condición que comprometa la función plaquetaria puede motivar un aumento de las complicaciones en los pacientes tratados con Ibrutinib: se han documentado eventos hemorrágicos en presencia de fármacos, o incluso suplementos alimenticios, como el aceite de pescado, que inhiben dicha función, y el propio Ibrutinib puede inducir un estado de trombocitopenia (15). En general, se considera que más de la mitad de los pacientes en tratamiento activo con Ibrutinib habrá experimentado algún evento hemorrágico antes de tres años, aunque la mayor parte de serán de bajo grado. Hasta ahora, las hemorragias mayores no alcanzan el 10% de los sangrados documentados. De ellas, el hematoma subdural es la presentación más habitual. En cualquier caso, las hemorragias fatales no alcanzan el 1% del total (revisado en [9]).

Para concluir esta sección, cabe reseñar un reciente metaanálisis con el que, tras integrar los resultados de una serie de ensayos clínicos independientes en los que se documentaron los eventos hemorrágicos asociados al uso de Ibrutinib, volvió a confirmarse que las hemorragias producidas a consecuencia de anomalías plaquetarias constituyen el principal efecto adverso asociado a su administración (17). Este estudio recogió, por un lado, los resultados de 13 ensayos en los que se analizaba la tasa de incidencia anual acumulada de sangrado, independientemente de su gravedad, asociada al uso de Ibrutinib (nueve ensayos en pacientes con LLC/LLP, dos en LCM y uno en MW y linfoma folicular [LF], respectivamente). El análisis incluyó a más de 1.000 pacientes tratados con Ibrutinib, y mostró una incidencia anual acumulada de cualquier sangrado del 20,8 (intervalo de confianza al 95% [IC 95%]: 19,1-22,1) por 100 pacientes-año. Además, 2 de los 13 ensayos incluidos en este análisis habían comparado el riesgo de sangrado entre pacientes cuyo protocolo de tratamiento incluyera, o no, Ibrutinib. En uno de ellos se administraron Bendamustina y Rituximab, con o sin Ibrutinib, a un grupo de pacientes con LLC o LLP (18). En el otro se comparaba la eficacia de Ibrutinib frente a Ofatumumab, un Ac Mo anti-CD20 (19), en pacientes con LLC. El análisis con-

junto de los dos ensayos, que incluía a 484 pacientes que habían recibido Ibrutinib y 485 que no lo habían hecho, demostró que existía un notable incremento del riesgo hemorrágico asociado a este fármaco (riesgo relativo [RR] acumulado asociado a Ibrutinib: 2,72 [IC 95%: 1,62-4,58; p = 0,0002]).

Por otro lado, los mismos autores realizaron un análisis conjunto de los resultados de hasta 17 ensayos en los que se estudiaban específicamente los sangrados mayores asociados al tratamiento con Ibrutinib (11 LLC/LLP, 3 LCM, 2 MW, 1 linfoma folicular [LF]) en un total de más de 1.200 pacientes. El análisis reveló una tasa de incidencia acumulada de sangrado mayor de 2,76 (IC 95%: 2,07-3,53) por 100 pacientes-año. En este caso, un total de cuatro estudios (3 en LLC/LLP y 1 en LCM) compararon también los sangrados mayores entre pacientes que recibían tratamientos que incluían Ibrutinib y los que no lo hacían (16,18-20). La incidencia acumulada de sangrados mayores en los pacientes que no recibieron Ibrutinib fue 1,9 (IC 95%: 1,1-2,8) por 100 pacientes-años; es decir, inferior a la observada en el conjunto de sujetos que sí fueron tratados con este fármaco. En consecuencia, el riesgo de sangrado mayor asociado a los protocolos que incluían Ibrutinib fue superior, aunque la diferencia no llegara a ser significativa (1,66 [IC 95%: 0,96-2,85; p = 0,07]).

Prevención y tratamiento de las alteraciones hemostáticas

El abanico de situaciones que pueden requerir el uso concomitante de antiagregantes o anticoagulantes es amplio. Sin embargo, como Ibrutinib es un medicamento que se ha autorizado hace poco tiempo, son escasos los datos existentes tanto acerca del riesgo que suponen determinados protocolos terapéuticos que incluyen el uso conjunto de Ibrutinib y otros fármacos como acerca de las pautas idóneas de prevención y manejo de las complicaciones hemorrágicas asociadas al tratamiento. A la espera de que las guías internacionales reflejen medidas de consenso, conviene conocer las evidencias de las que se dispone hasta este momento.

Prevención

- Uso concomitante de Ibrutinib con otros fármacos. Aunque los protocolos iniciales no contemplaban limitaciones relativas al tratamiento concomitante con otros agentes anticoagulantes o antiagregantes, pronto dejó de permitirse el empleo simultáneo de antagonistas de la vitamina K, a la vista de la tasa de sangrados observada en esas condiciones. No se desaconseja el uso de otros anticoagulantes o antiagregantes, aunque conviene no olvidar que los resultados de un estudio que incluía a más de 100 pacientes revelaron la existencia de una frecuencia de sangrado del 69% en los que eran tratados con Ibrutinib más uno de estos fármacos, netamente mayor que el 28% observado en los que no recibieron ese tratamiento adicional (15).

Una terapia que incluya el uso simultáneo de dos o tres antiagregantes y/o anticoagulantes sí expondría al paciente a un riesgo de sangrado inasumible, por lo que en estos casos debe optarse por administrar un tratamiento antineoplásico alternativo (21).

- Cirugía. Las hemorragias posteriores a procedimientos invasivos que comenzaron a observarse al poco tiempo de que se comenzara a emplear Ibrutinib obligaron a modificar sus pautas de uso en este contexto. A día de hoy, los protocolos de trabajo aconsejan suspender su administración desde siete días antes de una cirugía mayor y no reanudarla hasta entre uno y tres días después (9), aunque en algunos casos se aconseja prolongar este periodo hasta siete días (16). Asimismo, debe considerarse el uso de transfusión de plaquetas para evitar episodios de sangrado en el contexto de intervenciones o procedimientos urgentes y no planificados (9).
- Fibrilación Auricular (FA). Ibrutinib incrementa el riesgo de FA. En un metaanálisis que integraba resultados de cuatro ensayos con una mediana de seguimiento de 26 meses, se observó una incidencia de FA de 3,3 casos por 100 pacientes-años (22). De todos modos, como no se dispone de evidencias que demuestren que la suspensión de Ibrutinib modifica el curso de la FA, no existen motivos que justifiquen la interrupción del tratamiento. Por otra parte, si la magnitud del riesgo de ictus isquémico aconsejara la administración de terapia antitrombótica, esta podría implementarse, aunque con las limitaciones expuestas más arriba: debería emplearse uno de los anticoagulantes orales directos (ACOD) disponibles en lugar de inhibidores de la vitamina K y, si se requiriera la adición de otro agente antitrombótico más, entonces sí sería aconsejable la sustitución de Ibrutinib por otro tratamiento antineoplásico alternativo. Finalmente, cabe añadir que en estos escenarios deben tenerse en cuenta las posibles interacciones entre Ibrutinib y algunos fármacos antiarrítmicos (verapamilo, amiodarona) o algunos ACOD (Dabigatran, Apixaban, Rivaroxaban) (22).

Tratamiento

- Sangrados poco relevantes. Los hematomas leves (grado 1) aparecen con mucha frecuencia en los pacientes tratados con Ibrutinib. No obstante, no suelen constituir el preámbulo de eventos de mayor gravedad y desaparecen espontáneamente en la mayor parte de los casos. En consecuencia, en estas circunstancias el paciente puede continuar con el tratamiento (21).
- Sangrados clínicamente relevantes. En caso de sangrado mayor debe interrumpirse temporalmente el uso de Ibrutinib, aun cuando a día de hoy no existan datos suficientes que avalen la eficacia de dicha medida. La transfusión de plaquetas constituye una opción terapéutica interesante en estos casos, aun en ausencia de trombocitopenia. Se ha propuesto una pauta que consiste en la administración repetida de concentrados de plaquetas a partir de, al menos, tres horas después de la última dosis de Ibrutinib, aunque la eficacia de esta medida tampoco ha podido ser refrendada en estudios clínicos robustos (21).

¿Acalabrutinib podría constituir la alternativa a Ibrutinib?

Acalabrutinib es un nuevo ITC más selectivo, ya que su acción se ciñe a BTK y no inhibe a TEC. Este hecho ha permitido formular la

hipótesis de que, con este fármaco, podría mantenerse la eficacia de Ibrutinib, pero reduciendo la incidencia de eventos adversos de índole hemorrágica. Será interesante conocer los resultados de un ensayo de fase 3, actualmente en marcha, que compara ambos ITC (9).

La disfunción plaquetar inducida por la inhibición de BTK puede acarrear beneficios en otros escenarios clínicos

Un reciente trabajo sugiere que puede extraerse un beneficio de la que, en el contexto de esta revisión, constituye la principal limitación de estos medicamentos. Sus autores han demostrado que Ibrutinib, Acalabrutinib y ONO/GS-4059, otro nuevo inhibidor de BTK gracias a sus propiedades antiplaquetarias, bloquean selectivamente la formación de los trombos que se generan a consecuencia de la ruptura de la placa aterosclerótica, característica que podría hacerlos útiles en situaciones como, por ejemplo, la revascularización mecánica percutánea, que acarrea un alto riesgo de ruptura iatrogénica de la placa aterosclerótica (23).

Dasatinib

Nombre químico

Monohidrato de N-(2-cloro-6-metilfenil)-2-[[6-[4-(2-hidroxi-etil)-1-piperazinil]-2-metil-4-pirimidinil]amino]-5-tiazolecarboxamida.

Mecanismo de acción

Dasatinib inhibe a BCR-ABL, la TC producida por el cromosoma Filadelfia, mediante inhibición competitiva de su lugar de unión al ATP, impidiéndole de este modo que fosforile a las proteínas que participan en los mecanismos de transducción responsables de la transformación neoplásica que originan la LMC y algunas LLA. Su uso ha conocido un auge por ser más potente que otro ITC, Imatinib, y eludir los mecanismos de la enfermedad que la hacen resistente a este último (5). No obstante, como sucede con otros ITC, inhibe también a otras TQ, además de a BCR-ABL, hecho que es clave para la génesis de algunos de sus efectos adversos.

Indicaciones

- Adultos recién diagnosticados de LMC con cromosoma Filadelfia positivo (Ph+) en fase crónica.
- Adultos con LMC Ph+ en fase crónica, acelerada, o blástica mieloide o linfoide con resistencia/intolerancia a terapia previa (Imatinib incluido).
- Adultos con LLA Ph+ con resistencia/intolerancia a terapia previa.
- Niños con LMC en fase crónica.

Alteraciones hemostáticas

Mecanismos implicados

Dasatinib causa trombocitopenia debido a que, aunque favorece la diferenciación de los megacariocitos, impide su migración y

la formación de proplaquetas; además, induce disfunción plaquetaria. Se ha demostrado que Dasatinib inhibe *in vitro* la formación de plaquetas, así como los mecanismos de señalización dependientes de colágeno y de FcγRIIA, lo que motiva que los trombos formados *ex vivo* sobre matriz de colágeno sean más lábiles. Además, Dasatinib incrementa de modo dosis-dependiente el tiempo de sangrado caudal en ratones (24,25).

Evidencia clínica

La trombocitopenia es la causa de la mayor parte de problemas de sangrado asociados al uso de Dasatinib, y motiva que las hemorragias constituyan uno de los efectos adversos de este fármaco. La experiencia clínica con Dasatinib incluye una serie de ensayos clínicos, como CA180-034, DASISION, DARIA-01, OPTIM DASATINIB o DIRECT (revisado en 26). Se ha constatado que la mayor parte de eventos hemorrágicos son leves o moderados, aunque en ocasiones pueden llegar a ser graves e incluso mortales. En los ensayos clínicos con pacientes con LMC o LLA Ph+ se han documentado episodios de Grado 3/4 en el 5,8% de los pacientes, y de Grado 5 en el 0,4%. La localización más habitual es la gastrointestinal. Se han observado episodios de Grado ≥ 3 que afectan al sistema nervioso central, aunque esto sucede en menos del 1% de los pacientes (revisado en [27]).

Prevención y manejo de las alteraciones hemostáticas

Prevención

La trombocitopenia (< 50 × 10⁹/L en fase crónica, < 10 × 10⁹/L en fases acelerada o blástica) puede obligar a la suspensión temporal del tratamiento o a la reducción de la dosis hasta la recuperación de los recuentos plaquetarios. Además, el uso concomitante de otros antiagregantes y/o anticoagulantes puede incrementar el riesgo de sangrado a niveles inaceptables, y debe evitarse en la medida de lo posible. Conviene vigilar la ingesta de fármacos o alimentos que induzcan la inhibición del citocromo CYP3A4, ya que podrían originar un aumento excesivo de los niveles circulantes de Dasatinib. Finalmente, si va a llevarse a cabo un procedimiento invasivo debe interrumpirse el tratamiento desde siete días antes y reanudarlo cuando el riesgo de sangrado sea mínimo (5,27).

Tratamiento

Las hemorragias, especialmente las de Grado ≥ 3, requieren la interrupción temporal del tratamiento y transfusiones de plaquetas y/o hematíes junto con las medidas de soporte habituales. Cuando la localización es gastrointestinal pueden emplearse también inhibidores de la bomba de protones, aunque esto puede comprometer la eficacia al disminuir la biodisponibilidad del fármaco, por lo que el cambio de ITC sería la opción más adecuada. Finalmente, en circunstancias de particular gravedad podría ser necesaria la cauterización endoscópica de la lesión (28).

Otros ITC empleados en hemopatías malignas

Imatinib

Imatinib es un inhibidor de BCR-ABL que, en el ámbito del cáncer hematológico, se emplea en LMC Ph+, LLA Ph+ y en determinados síndromes mielodisplásicos (SMD). Imatinib también se asocia en un 18% de pacientes con trombocitopenia y con disfunción plaquetaria, por lo que su uso acarrea en ocasiones problemas de sangrado. En un estudio con una cohorte de 56 pacientes con LMC se demostró que, en más de la mitad, la agregación plaquetaria inducida por ácido araquidónico, colágeno o epinefrina se reducía en más del 40% (29). En concordancia con estas observaciones, con cierta frecuencia se han documentado casos clínicos de pacientes que reciben Imatinib y que experimentan episodios de sangrado, especialmente de localización gastrointestinal. Este hecho puede constituir una limitación relevante, particularmente para una indicación fuera del contexto oncohematológico, ya que Imatinib se emplea para tratar tumores estromales gastrointestinales. El manejo de la trombocitopenia varía según la enfermedad de base y el recuento plaquetario, y puede requerir reducción de la dosis o interrupción temporal de la terapia. En cuanto al tratamiento de las hemorragias, no difiere del descrito para las asociadas a Dasatinib.

Ponatinib

Ponatinib es un inhibidor de BCR-ABL indicado para todos los estadios de la LMC y para la LLA Ph+ en pacientes resistentes y/o intolerantes o con mutación T315I. A pesar de que resulta atractivo por su eficacia frente a variantes de BCR-ABL, que eluden la acción de otros ITC, y por ser con frecuencia tolerado por pacientes a los que se contraindican otros ITC, como Imatinib, no carece de los problemas asociados a los otros ITC que se han descrito hasta ahora, aunque la mayor preocupación clínica tiene que ver con una alta incidencia de eventos isquémicos cardiovasculares, que, de hecho, llevó a la interrupción temporal de su programa de desarrollo clínico en 2013. Ponatinib induce trombocitopenia y disfunción plaquetaria, algo que se ha atribuido a su efecto sobre otras TC, particularmente las pertenecientes a la familia Src (30). La trombocitopenia puede requerir interrupción temporal y reducción de la dosis, o incluso plantear la suspensión de la terapia. El tratamiento de los eventos hemorrágicos, cuya localización más frecuente es gastrointestinal o subdural, no difiere del descrito más arriba para otros ITC. En cualquier caso, algunos autores consideran que Ponatinib es un fármaco seguro incluso para pacientes con historia de sangrados, siempre que el recuento de plaquetas sea el apropiado y se evite en lo posible el uso concomitante de anti-trombóticos (31) y antiagregantes. Esto último es relevante, porque algunos grupos están recomendando el empleo sistemático de AAS en pacientes tratados con Ponatinib por el riesgo isquémicos (32).

Nilotinib

Nilotinib es otro inhibidor de BCR-ABL que se emplea en pacientes con LMC Ph+, en fase crónica o acelerada (no está

aprobado en crisis blástica), cuando no toleran Imatinib o no responden a otros ITC. Aunque se acepta que la trombocitopenia es, también en este caso, uno de los efectos adversos más habituales asociados a su uso, la bibliografía recoge hallazgos contradictorios con respecto al efecto de Nilotinib sobre la hemostasia. Por un lado, se han descrito anomalías en la agregación plaquetar en la sangre de los pacientes tratados que, si bien no parecen tan acusadas como las observadas con Imatinib, podrían, al menos en teoría, propiciar la aparición de episodios de sangrado (29). Sin embargo, otros autores no solo contradicen tal aseveración, sino que afirman que Nilotinib podría asociarse a trastornos plaquetarios de índole protrombótica, ya que, en modelos murinos de oclusión vascular mediada por FeCl₃, los ratones tratados con Nilotinib exhiben trombos mayores y más estables, además de que las plaquetas de los pacientes tratados con este medicamento muestran mayor adhesividad *ex vivo* y los niveles plasmáticos de moléculas de adhesión o citoquinas proinflamatorias se encuentran anormalmente elevados, al punto de que también lo está el potencial endógeno de formación de trombina. Al menos en parte, la explicación radicaría en que Nilotinib induce la degranulación de los gránulos alfa mediada por el *protease activated receptor-1* (PAR-1) (33). Se conoce bien la elevada incidencia de eventos isquémicos cardiovasculares (especialmente isquemia arterial periférica) con Nilotinib, que se sitúa globalmente entre el 5 y el 25% de los casos, según las series publicadas. De producirse casos como estos, su manejo no debería diferir del que se lleva a cabo cuando estas complicaciones aparecen en otros contextos de enfermedad, y la prevención mediante el control de los factores de riesgo cardiovascular es clave (34).

Bosutinib

Bosutinib inhibe a BCR-ABL y a miembros de la familia Src y también está aprobado para el tratamiento de la LMC Ph+ en pacientes resistentes o intolerantes a otros ITC. Aunque su experiencia clínica es menor que con otros ITC, y a pesar de su acción sobre otras cinasas, la función plaquetar parece verse menos alterada como con los inhibidores citados más arriba y, a pesar de inducir una trombocitopenia equiparable a la que se produce con Imatinib (tanto mayor cuanto más alto sea el número de ITC previos empleados), la frecuencia de complicaciones hemorrágicas asociadas a su uso es notablemente menor que la observada con otros ITC (35,36), con las reservas mencionadas de su menos utilización clínica.

Conclusiones

Los ITC constituyen una alternativa prometedora para el tratamiento del cáncer, y serán más atractivos en la medida en que puedan desplazar a los agentes quimioterápicos clásicos. No obstante, como el número de TC celulares es elevado y las diferencias estructurales entre unas y otras son sutiles, es habitual que los ITC compartan más de una diana dentro de ese grupo de moléculas, lo que posibilita la aparición de efectos adversos, entre los que destacan la trombocitopenia y los defectos funcionales plaquetarios. Como en estas circunstancias pueden producirse sangrados, en ocasiones, en localizaciones que ponen en riesgo

la vida del paciente, la búsqueda de ITC más selectivos constituye una necesidad de primer orden. El desarrollo de moléculas como Acalabrutinib marca el camino a seguir a la espera de los resultados de los ensayos en curso. Hasta entonces, debe seguirse una observancia estricta de las pautas de manejo de los pacientes en tratamiento con ITC para evitar los sangrados o, en su caso, para tratarlos correctamente.

Bibliografía

- Ke X, Shen L. Molecular targeted therapy of cancer: The progress and future prospect. *Front Lab Med* 2017;1:69-75.
- Khalil DN, Smith EL, Brentjens RJ, et al. The future of cancer treatment: immunomodulation, CARs and combination immunotherapy. *Nat Rev Clin Oncol* 2016;13:273-90.
- Guri Y, Hall MN. mTOR signaling confers resistance to targeted cancer drugs. *Trends Cancer* 2016;2:688-97.
- Azzariti A, Porcelli L, Simone GM, et al. Tyrosine kinase inhibitors and multidrug resistance proteins: interactions and biological consequences. *Cancer Chemother Pharmacol* 2010;65:335-46.
- Levade M, Severin S, Gratacap MP, et al. Targeting Kinases in Cancer Therapies: Adverse Effects on Blood Platelets. *Curr Pharm Des* 2016;22:2315-22.
- Elice F, Jacob J, Rickles FR, et al. Hemostatic complications of angiogenesis inhibitors in cancer patients. *Am J Hematol* 2008;83:862-70.
- Ponader S, Burger JA. Bruton's tyrosine kinase: from X-linked agammaglobulinemia toward targeted therapy for B-cell malignancies. *J Clin Oncol* 2014;32:1830-9.
- Tsygankov AY. Non-receptor protein tyrosine kinases. *Front Biosci* 2003;8:s595-635.
- Shatzel JJ, Olson SR, Tao DL, et al. Ibrutinib-associated bleeding: pathogenesis, management and risk reduction strategies. *J Thromb Haemost* 2017;15:835-47.
- Arthur JF, Dunkley S, Andrews RK. Platelet glycoprotein VI-related clinical defects. *Br J Haematol* 2007;139:363-72.
- Liu J, Fitzgerald ME, Berndt MC, et al. Bruton tyrosine kinase is essential for botrocetin/VWF-induced signaling and GPIb-dependent thrombus formation in vivo. *Blood* 2006;108:2596-603.
- Navarro-Núñez L, Langan SA, Nash GB, Watson SP. The physiological and pathophysiological roles of platelet CLEC-2. *Thromb Haemost* 2013;109:991-8.
- Oda A, Ikeda Y, Ochs HD, et al. Rapid tyrosine phosphorylation and activation of Bruton's tyrosine/Tec kinases in platelets induced by collagen binding or CD32 cross-linking. *Blood* 2000;95:1663-70.
- Bye AP, Unsworth AJ, Vaiyapuri S, et al. Ibrutinib Inhibits Platelet Integrin α IIb β 3 Outside-In Signaling and Thrombus Stability But Not Adhesion to Collagen. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2015;35:2326-35.
- Wang ML, Blum KA, Martin P, et al. Long-term follow-up of MCL patients treated with single agent Ibrutinib: updated safety and efficacy results. *Blood* 2015;126:739-45.
- Burger JA, Tedeschi A, Barr PM, et al; RESONATE-2 Investigators. Ibrutinib as initial therapy for patients with chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2015;373:2425-37.
- Caron F, Leong DP, Hillis C, et al. Current understanding of bleeding with Ibrutinib use: a systematic review and meta-analysis. *Blood Adv* 2017;1:772-8.
- Chanan-Khan A, Cramer P, Demirkan F, et al; HELIOS investigators. Ibrutinib combined with bendamustine and rituximab compared with placebo, bendamustine, and rituximab for previously treated chronic lymphocytic leukaemia or small lymphocytic lymphoma (HELIOS): a randomised, double-blind, phase 3 study. *Lancet Oncol* 2016;17:200-11.
- Byrd JC, Brown JR, O'Brien S, et al; RESONATE Investigators. Ibrutinib versus ofatumumab in previously treated chronic lymphoid leukemia. *N Engl J Med* 2014;371:213-23.
- Dreyling M, Jurczak W, Jerkeman M, et al. Ibrutinib versus temsirolimus in patients with relapsed or refractory mantle-cell lymphoma: an international, randomised, open-label, phase 3 study. [Erratum appears in *Lancet*. 2016;387(10020):750.] *Lancet* 2016;387:770-8.
- De Weerd I, Koopmans SM, Kater AP, et al. Incidence and management of toxicity associated with Ibrutinib and idelalisib: a practical approach. *Haematologica* 2017;102:1629-39.
- Leong DP, Caron F, Hillis C, et al. The risk of atrial fibrillation with Ibrutinib use: a systematic review and meta-analysis. *Blood* 2016;128:138-40.
- Busygina K, Jamasbi J, Seiler T, et al. Oral Bruton tyrosine kinase inhibitors selectively block atherosclerotic plaque-triggered thrombus formation in humans. *Blood* 2018;131:2605-16.
- Mazharian A, Ghevaert C, Zhang L, et al. Dasatinib enhances megakaryocyte differentiation but inhibits platelet formation. *Blood* 2011;117:5198-206.
- Gratacap MP, Martin V, Valéra MC, et al. The new tyrosine-kinase inhibitor and anticancer drug dasatinib reversibly affects platelet activation in vitro and in vivo. *Blood* 2009;114:1884-92.
- Talpaz M, Saglio G, Atallah E, et al. Dasatinib dose management for the treatment of chronic myeloid leukemia. *Cancer* 2018;124:1660-72.
- Steggmann JL, Baccarani M, Breccia M, et al. European LeukemiaNet recommendations for the management and avoidance of adverse events of treatment in chronic myeloid leukaemia. *Leukemia* 2016;30:1648-71.
- Quintás-Cardama A, Kantarjian H, Ravandi F, et al. Bleeding diathesis in patients with chronic myelogenous leukemia receiving dasatinib therapy. *Cancer* 2009;115:2482-90.
- Warit W, Norasetthada L, Tantiworawit A, et al. High prevalence of platelet dysfunction among patients with chronic myeloid leukemia receiving tyrosine kinase inhibitors. *Blood* 2014;124:2781.
- Neelakantan P, Marin D, Laffan M, et al. Platelet dysfunction associated with ponatinib, a new pan BCR-ABL inhibitor with efficacy for chronic myeloid leukemia resistant to multiple tyrosine kinase inhibitor therapy. *Haematologica* 2012;97:1444.
- Nazha A, Romo CG, Kantarjian H, et al. The clinical impact of ponatinib on the risk of bleeding in patients with chronic myeloid leukemia. *Haematologica* 2013;98:e131.
- Breccia M. Identification, prevention and management of cardiovascular risk in chronic myeloid leukaemia patients candidate to ponatinib: an expert opinion. *Ann Hematol* 2017;96:549-58.
- Alhawiti N, Burbury KL, Kwa FA, et al. The tyrosine kinase inhibitor, nilotinib potentiates a prothrombotic state. *Thromb Res* 2016;145:54-64.
- Gugliotta G, Castagnetti F, Breccia M, et al; GIMEMA CML Working Party. Long-term outcome of a phase 2 trial with nilotinib 400 mg twice daily in first-line treatment of chronic myeloid leukemia. *Haematologica* 2015;100:1146-50.
- Amsberg GK, Schafhausen P. Bosutinib in the management of chronic myelogenous leukemia. *Biologics* 2013;7:115-22.
- Cortes JE, Kantarjian HM, Brummendorf TH, et al. Safety and efficacy of bosutinib (SKI-606) in chronic phase Philadelphia chromosome-positive chronic myeloid leukemia patients with resistance or intolerance to imatinib. *Blood* 2011;118:4567-76.

37. Walraven M, Homs MYV, van der Veldt AAM, et al. Platelet function is disturbed by the angiogenesis inhibitors sunitinib and sorafenib, but unaffected by bevacizumab. *Angiogenesis* 2018;21: 325-34.
38. Je Y, Schutz FA, Choueiri TK. Risk of bleeding with vascular endothelial growth factor receptor tyrosine-kinase inhibitors sunitinib and sorafenib: a systematic review and meta-analysis of clinical trials. *Lancet Oncol* 2009;10:967-74.
39. Kanazawa S, Yamaguchi K, Kinoshita Y, et al. Gefitinib affects functions of platelets and blood vessels via changes in prostanoids balance. *Clin Appl Thromb Hemost* 2005;11:429-34.
40. Yamaguchi K, Kanazawa S, Kinoshita Y, et al. Acute myocardial infarction with lung cancer during treatment with gefitinib: the possibility of gefitinib-induced thrombosis. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2005;34:48-50.
41. Lynch DR Jr, Kickler TS, Rade JJ. Recurrent myocardial infarction associated with gefitinib therapy. *J Thromb Thrombolysis* 2011;32:120-4.

Trombocitopenias congénitas: cuando lo importante no son las plaquetas

María Luisa Lozano, José Rivera

Unidad de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia. Centro Regional de Hemodonación. Murcia. Facultad de Medicina. Universidad de Murcia. Murcia. IMIB-Arrixaca. Murcia. U765-CIBERER. Murcia

Introducción

La visión de las trombocitopenias hereditarias (TH) ha cambiado de manera sustancial en los últimos 20 años. Hasta el final del último siglo, éramos conscientes de un número limitado de trastornos, todos ellos caracterizados por una tendencia hemorrágica severa, y a veces asociados con otros defectos congénitos. Ahora, conocemos más de 30 de estas enfermedades causadas por mutaciones en diferentes genes, con más de la mitad de estos trastornos identificados en los últimos 5 años (1). En este momento sabemos que muchos de los defectos genéticos responsables de las TH más frecuentes también predisponen al desarrollo de otras condiciones médicas, que pueden afectar negativamente a los enfermos mucho más que la trombocitopenia en sí misma (2). Por eso, cada vez se le da más importancia a la caracterización y al seguimiento clínico de aquellos pacientes que presentan trombocitopenias leves o moderadas, sin defectos muy relevantes de la función de las plaquetas y que tienen leve o nula tendencia a la hemorragia (3). Sin duda, los avances diagnósticos en el campo de TH, sobre todo con la aplicación de secuenciación de alto rendimiento (HTS), han sido mucho mayores que en el caso de los defectos congénitos de la función plaquetaria. Nuestro conocimiento de estas condiciones todavía es, en muchos casos, limitado e insatisfactorio. Muchos pacientes con trombocitopatías aún reciben diagnósticos genéricos, como “defectos primarios de secreción” o “trastorno de gránulos”, pues se desconocen los defectos genéticos subyacentes, así como los mecanismos patogénicos.

Actualmente está claro que debe hacerse un esfuerzo para caracterizar de forma correcta a los pacientes con TH, considerando que casi el 50% está en riesgo de desarrollar enfermedades adicionales durante la vida, como aplasia medular, insuficiencia renal o neoplasias hematológicas (4). Cabe destacar que en la revisión de 2016 de la clasificación de la OMS de neoplasias mieloides y leucemias agudas se introdujo una nueva categoría de enfermedades definidas como “neoplasias mieloides con mutaciones de línea germinal y trastornos plaquetarios preexistentes”, que incluye aquellas que cursan con variantes en los genes *RUNX1*, *ANKRD26* y *ETV6* (5). Otra razón es que los sujetos afectados podrían beneficiarse de tratamientos que ya se han mostrado efectivos en algunas formas de TH, como los agonistas del receptor de la trombopoyetina (TPO-RA), fundamentalmente en la preparación de los pacientes para la cirugía, para evitar así transfusiones en patologías como el síndrome de Wiskott-Aldrich (WAS), en la enfermedad relacionada con MYH9 y, potencialmente, en otras trombocitopenias con funcionalidad plaquetaria adecuada y sin predisposición leucémica.

Cuadro clínico

El sangrado suele ser mucocutáneo y la gravedad de la tendencia hemorrágica no necesariamente se correlaciona con el recuento de plaquetas, y es más grave de lo esperado en las formas que asocian alteración de la función plaquetaria. Aunque el grado de trombocitopenia suele permanecer estable durante la vida, los recuentos, sin embargo, tienden a aumentar con el tiempo en el síndrome de trombocitopenia con ausencia de radio (TAR) y en algunos pacientes con trombocitopenia asociada a síndrome de Paris-Trousseau/Jacobsen. Por el contrario, la trombocitopenia empeora con los años en el síndrome de plaqueta gris.

Formas sindrómicas

En algunos pacientes, los defectos moleculares responsables de la trombocitopenia pueden inducir fenotipos sindrómicos complejos que pueden incluir deformidades esqueléticas, miopatías, deterioro cognitivo, malformaciones del sistema nervioso central o del sistema cardiovascular, inmunodeficiencia y anomalías cutáneas.

Síndromes cromosómicos

Una alteración en la distribución de cromosomas durante la división celular conduce a aneuploidía, que puede estar asociada con trombocitopenia, aunque rara vez esta es grave. Estos defectos también pueden producirse por microdeleciones cromosómicas (6). El diagnóstico de estos cuadros suele establecerse pronto tras el nacimiento por las manifestaciones extrahematológicas. Reconocer precozmente la trombocitopenia es importante para evitar el sangrado perioperatorio, ya que estas condiciones suelen asociarse a anomalías cardíacas, respiratorias y craneofaciales que pueden necesitar de cirugías correctivas o paliativas. Las alteraciones típicas de las formas sindrómicas derivadas de defectos cromosómicos se enumeran en la [tabla I](#).

Formas sindrómicas asociadas a mutaciones puntuales

Recientemente, y sobre todo gracias a la aplicación de las técnicas de HTS, se han identificado pacientes con trombocitopenia que son portadores de mutaciones en genes que hasta ahora no habían sido relacionados con anomalías plaquetarias, y cuyo papel en la megacariopoyesis es en muchos casos todavía desconocido ([Tabla II](#)).

Algunas de estas alteraciones moleculares se asocian a alteraciones en el sistema músculo-esquelético o con fibrosis medular.

Tabla I. Características de los principales síndromes cromosómicos asociados a trombocitopenia

Alteración cromosómica	Incidencia	Rasgos clínicos	Incidencia de trombocitopenia
Trisomía 21	1 en 660	Retraso cognitivo, problemas auditivos, tiroideos, defectos cardíacos, atresias gastroenterales, cataratas	7-28%
Trisomía 13	1 en 5.000	Labio leporino y paladar hendido, polidactilia, malformaciones en pies, hernia umbilical, defectos del septo cardíaco, ductus arterioso, defectos del tubo neural	54%
Trisomía 18	1 en 5.000	Dolicocefalia, micrognatia, alteraciones en dedos, defectos del septo cardíaco, renales, retraso psicomotor y en ingesta	86%
Síndrome de Turner (45, X)	1 en 2.500	Coartación de aorta, estenosis, baja estatura, fallo ovárico, riñón en herradura, cúbito valgo, línea capilar posterior baja, cuello alado	31%
Síndrome de DiGeorge (22q11.2 del) (AD)	1 en 4.000	Facies típica, anomalías tímicas, hipocalcemia, insuficiencia velofaríngea, defectos cardíacos	30%
Síndrome de Jacobsen/Paris Trousseau (Del [11] [q23.3]) (AD)	1 en 100.000	Dismorfogénesis de las manos y pies, defectos cardíacos y retraso cognitivo	88%

AD: autosómica dominante

Por ejemplo, se ha descrito recientemente una familia con TH familiar causada por una mutación dominante que ocasiona una ganancia de función en la tirosina cinasa SRC. Las plaquetas de los nueve enfermos en esta familia son dismórficas y muy variables en tamaño, con escasez de gránulos. Los pacientes presentan defectos óseos y pérdida temprana de dientes. Además, la mayor parte ellos desarrollaron mielofibrosis de inicio temprano, con hiperplasticidad medular y displasia trilineal, lo que lleva a considerar esta entidad como una nueva causa de mielofibrosis juvenil (7). De manera similar, la mielofibrosis puede ser consecuencia de variantes recesivas en *MPIG6B* (o G6B), que causan también trombocitopenia y anemia (8). Mutaciones autosómicas dominantes de ganancia de función en *ORAI1* y *STIMI* dan como resultado la activación constitutiva de canales de calcio, que se asocian con un espectro de enfermedades superpuestas, incluida la miopatía tubular no sindrómica y los síndromes de Stormorken y de York. Estos se definen, además de por la miopatía, por trombocitopenia, trombotopatía y diátesis hemorrágica (9). Otro tipo de miopatía asociada a trombocitopenia es la ligada a GNE. Se trata de un trastorno muscular autosómico recesivo causado por mutaciones en este gen, el cual codifica una enzima clave en la biosíntesis de ácido siálico. Esta pérdida del contenido de ácido siálico en plaquetas puede así contribuir a la trombocitopenia de los pacientes, no tanto por defecto de síntesis sino por aumento de destrucción (10). La trombocitopenia con ausencia de radio (TAR) es un trastorno autosómico recesivo descrito en más de 50 familias. Tiene una base genética compleja, derivada de herencia compuesta de un alelo nulo raro y uno de dos SNP de baja frecuencia en las regiones reguladoras del gen *RBM8A* (11). El sello distintivo de la enfermedad es la aplasia bilateral de radios, pero pueden encontrarse defectos físicos adicionales en la mayoría de los sujetos. La TAR se caracteriza por una trombocitopenia hipomegacariocítica y un recuento de plaquetas con una tendencia a aumentar con el tiempo, que a menudo alcanza valores normales o casi normales en la edad adulta. Se ha descrito que algunos de estos individuos también desarrollará AML o ALL en la infancia o en la edad adulta (3,11).

Recientemente también se han descrito casos raros con trombocitopenia y cierto grado de disfunción plaquetaria, asociada a una alteración de la biosíntesis lipídica, a defectos a nivel de piel o presencia de depósitos de lípidos anormales. Dentro de estas “nuevas” patologías, nuestro grupo ha colaborado en la descripción por primera vez de un síndrome plaquetario sindrómico causado por mutaciones recesivas en el gen *KDSR* (o *FVT1*). Este gen codifica la enzima ketodihidroesfingosina reductasa, que es esencial en la ruta de esfingolípidos y generación de ceramidas, que se asocia a trombocitopenia, hiperqueratosis e ictiosis cutánea (12). La sitosterolemia es otro raro trastorno del metabolismo lipídico causado por herencia autosómica recesiva, que se caracteriza por elevación extrema del suero esteroides vegetales causada por mutaciones en *ABCG5* o *ABCG8*. Aunque las principales características clínicas de la sitosterolemia son los xantomas y la aterosclerosis prematura, los pacientes pueden presentar artralgias, anemia hemolítica y esplenomegalia, aunque ocasionalmente en los enfermos la macrotrombocitopenia puede ser la primera manifestación de la enfermedad (13).

La trombocitopenia relacionada con *DIAPH1* (*DIAPH1-RT*) es un defecto autosómico dominante caracterizado por macrotrombocitopenia con o sin neutropenias variables y progresivas y sordera neurosensorial también progresiva que afecta a todas las frecuencias (14). *DIAPH1* es un gen involucrado en la organización del citoesqueleto, en el órgano de Corti y en la extensión de proplaquetas. De manera similar a lo que puede suceder en *MYH9-RD* (ver abajo), estos individuos desarrollarán sordera neurosensorial, aunque característicamente a edades mucho más tempranas. Destacamos que de, entre las raras familias con este nuevo tipo de TH sindrómica causada por mutaciones en *DIAPH1* (menos de 10), dos han sido identificadas en nuestra serie de TH (3).

Formas predisponentes

Como se ha comentado previamente, el desarrollo de neoplasias hematológicas, de aplasia medular o de la enfermedad renal en

Tabla II. Formas sindrómicas de trombocitopenias congénitas

Enfermedad	Herencia	Gen/ Genes	Rasgos clínicos	Características adicionales en células sanguíneas	Tamaño plaquetar
Trombocitopenia asociada a filaminopatía	LX	<i>FLNA</i>	Heterotropenia nodular periventricular. También pacientes que solo presentan trombocitopenia	Función plaquetaria alterada	↑
Trombocitopenia con ausencia de radio	AR	<i>RBM8A</i>	Aplasia bilateral de radio, anomalías adicionales de miembros superiores o inferiores, malformaciones posibles renales, cardiaca, y/o de SNC. Posible intolerancia a leche de vaca que puede asociarse con exacerbación de trombocitopenia	Número de megacariocitos en médula reducido. La cifra de plaquetas puede aumentar con la edad	N
Síndrome de Stormorken o de York	AD	<i>STIM1</i>	Miopatía, miosis congénita, asplenia funcional o anatómica, ictiosis, cefalea, dismorfia facial, defectos en crecimiento y retraso cognitivo	Disminución gránulos alfa en plaquetas, incremento en vacuolas, cuerpos gigantes electrodensos	-
Enfermedad relacionada con <i>GATA1</i>	LX	<i>GATA-1</i>	Anemia disritropoyética con anomalías de laboratorio que recuerdan a la beta-talasemia; esplenomegalia	Defectos funcionales plaquetarios	N/↑
Síndrome de plaqueta gris	AR	<i>NBEAL2</i>	Desarrollo de fibrosis medular progresiva y esplenomegalia. Niveles séricos de vitamina B ₁₂ elevados	Función plaquetaria alterada. Los recuentos plaquetarios suelen reducirse con el tiempo	↑
Trombocitopenia relacionada con <i>GF11b</i>	AD	<i>GF11b</i>	Similar a síndrome de plaqueta gris	Puede cursar con anisocitosis en serie roja. Reducción en gránulos alfa plaquetarios, e incremento de CD34 en plaquetas	↑
Síndrome de Wiskott-Aldrich	LX	<i>WAS</i>	Immunodeficiencia, eccema, enfermedad autoinmune; incremento de riesgo de tumores sólidos y linfomas	Distribución linfocitaria anómala	↓
Trombocitopenia ligada a X	LX	<i>WAS</i>	Clínica asociada menos manifiesta	-	↓
Trombocitopenia asociada a <i>DIAPH-1</i>	AD	<i>DIAPH1</i>	Hipoacusia neurosensorial desde infancia	Trombocitopenia y neutropenia variables	↑
Trombocitopenia ligada a <i>SRC</i>	AD	<i>SRC</i>	Dismorfismo facial congénito, mielofibrosis juvenil y esplenomegalia, osteoporosis grave, edentulismo prematuro	Plaquetas hipogranulares o agranulares. Vacuolas abundantes	↑
Trombocitopenia asociada a alteraciones en queratinización	AR	<i>KDSR</i>	Alteraciones cutáneas que van desde hiperqueratosis a ictiosis	Disfunción plaquetaria moderada	N/↑
Sitosterolemia A	AR	<i>ABCG5</i> ; <i>ABCG8</i>	Xantomas en localizaciones atípicas, complicaciones vasculares a edades tempranas, anemia hemolítica, artralgia, esplenomegalia	Estomatocitos	↑
Trombocitopenia ligada a <i>GNE</i>	AR	<i>GNE</i>	Miopatía	Disminución en vida media de plaquetas	N
Trombocitopenia ligada a <i>G6B</i>	AR	<i>G6B</i>	Mielofibrosis	Anemia	↑

AD: autosómica dominante; AR: autosómica recesiva; LX: ligada a X.

etapa terminal pueden ser mucho más determinantes en la calidad y cantidad de vida de un paciente que las propias hemorragias asociadas a trombocitopenia (2). Las principales formas predisponentes se muestran en la [tabla III](#), y se discuten brevemente a continuación:

Enfermedad ligada a MYH9 (MYH9-RD)

Esta patología (MYH9-RD) es la TH más prevalente en el mundo, con más de 300 familias identificadas. El cuadro está causado por mutaciones monoalélicas en *MYH9*, el gen de la cadena pesada de la miosina IIA no muscular (*NMMHC-IIA*). Todos los pacientes presentan desde el nacimiento trombocitopenia con plaquetas gigantes. A pesar de que en estos enfermos los episodios de sangrado son generalmente raros y leves, o incluso ausentes, este no es un trastorno trivial, ya que el 25% de los pacientes desarrollan una nefropatía proteinúrica que, en la mayoría de los casos, evoluciona a insuficiencia renal terminal y requiere diálisis o trasplante de riñón. Además, cerca del 50% de los enfermos padecerán sordera neurosensorial y el 18%, cataratas preseniles. Por lo tanto, el curso clínico de MYH9-RD es bastante heterogéneo, y varía desde una trombocitopenia aislada y asintomática hasta un trastorno complejo que afecta severamente a la calidad de vida. Hay que destacar que en esta patología se ha descrito una alta correlación genotipo-fenotipo, lo que permite la predicción de la evolución de la enfermedad en aproximadamente el 85% de los casos de los enfermos; en general, mutaciones que afectan el dominio “cabeza” N-terminal de *NMMHC-IIA* se asocian con un peor pronóstico que aquellas localizadas en el dominio “cola C-terminal”. Se ha mostrado que solo siete genotipos explican la mayoría de fenotipos clínicos del MYH9-RD (15).

Aplasia medular secundaria a trombocitopenia amegacariocítica congénita (CAMT) o a sinostosis radiocubital con trombocitopenia amegacariocítica (RUSAT)

Las mutaciones bialélicas en *MPL*, el gen que codifica el receptor de trombopoyetina (TPO), ocasiona la trombocitopenia amegacariocítica congénita (CAMT), que se presenta al nacer como trombocitopenia hipomegacariocítica aislada sin otras anomalías fenotípicas. Los pacientes con CAMT desarrollan durante la infancia citopenias adicionales hasta que finalmente progresan a aplasia de médula ósea (16). Adicionalmente, las mutaciones bialélicas del gen *TPO*, que ocasionan una pérdida de función de la TPO, tienen un curso clínico similar a las que afectan al gen *MPL*. Sin embargo, los individuos con patología molecular en *TPO* no muestran respuestas hematopoyéticas adecuadas al trasplante alógeno debido a un defecto extrínseco a dichos progenitores (17). En estos casos, la administración de agentes trombopoyéticos, como el Romiplostim, un TPO-RA, sí induce respuestas hematopoyéticas trilineales, la remisión del sangrado y de las infecciones y la independencia transfusional (18).

La sinostosis radioulnar con trombocitopenia amegacariocítica es un trastorno genéticamente heterogéneo que puede ser causado por mutaciones que causan pérdida de función en *HOXA11* o ganancias de función en *MECOM*. Pacientes con variantes en ambos genes pueden desarrollar insuficiencia medular, aunque las mutaciones en *MECOM* parecen tener una evolución más grave. Ahora se conoce que el espectro de fenotipos de pacientes con mutaciones en *MECOM* es muy amplio, con casos familiares y esporádicos, con presentaciones clínicas que varían desde la sinostosis radiocubital aislada, con ausencia o leve afectación hematológica, hasta insuficiencia grave de la médula ósea sin obvias

Tabla III. Trombocitopenias congénitas que predisponen al desarrollo de otros cuadros

Enfermedad	Herencia	Gen/ Genes	Rasgos clínicos	Tamaño plaquetar
Enfermedad relacionada con MYH9	AD	MYH9	Posible desarrollo de hipoacusia neurosensorial, nefropatía y/o cataratas. La mitad de los pacientes se presentan con elevación de enzimas hepáticas que no progresan	↑
Trombocitopenia amegacariocítica congénita	AR	CAMT MPL	Disminución o ausencia de megacariocitos y evolución a aplasia medular durante la infancia	N
Trombocitopenia familiar con predisposición a leucemia mieloide aguda (FPD/AML)	AD	RUNX1	Un 40% de los pacientes desarrollan LMA o SMD. También aumenta el riesgo de LLA-T. Anomalías en función plaquetaria	N/↑
Trombocitopenia ligada a ETV6	AD	ETV6	Aproximadamente un 25% de pacientes desarrollarán LLA y otras neoplasias hematológicas	N/↑
Trombocitopenia ligada a ANKRD26	AD	ANKRD26	Aproximadamente el 8% de enfermos presentarán neoplasia mieloides	N/↑
Sinostosis radiocubital con trombocitopenia amegacariocítica (AD/AR)	AD/AR	HOXA11 MECOM	Sinostosis radiocubital bilateral. Posible progresión a aplasia medular. El fenotipo hematológico es más grave en las formas AR asociadas a mutaciones en <i>MECOM</i> . Megacariocitos reducidos/ausentes en médula ósea	N/↑

AD: autosómica dominante; AR: autosómica recesiva; LLA: leucemia linfoblástica aguda; LMA: leucemia mieloblástica aguda; SMD: síndrome mielodisplásico.

anomalías esqueléticas. El cuadro clínico incluye no solo sinusitis radiocubital e insuficiencia medular, sino también clinodactilia, malformaciones cardíacas y renales, deficiencia de células B y pérdida auditiva presenil (19). Recientemente se ha descrito que mutaciones germinales autosómicas dominantes en MECOM también predisponen al desarrollo de neoplasias mieloides (20).

Predisposición a leucemia por trastorno plaquetario familiar con predisposición a leucemia (FPD/AML), trombocitopenia relacionada con ETV6 (ETV6-RT) y trombocitopenia relacionada con ANKRD26 (ANKRD26-RT)

Se trata de 3 trastornos autosómicos dominantes, con una prevalencia bastante diferente entre las TH (3,5% y 18%, respectivamente), causados por patología molecular en los genes que codifican tres factores de transcripción. Estas tres enfermedades se presentan con trombocitopenia aislada, no sindrómica y generalmente leve a moderada. Hay incluso algunos pacientes que tienen un recuento de plaquetas en el límite inferior del rango normal. Por lo tanto, la trombocitopenia evidente no es un criterio imprescindible para el diagnóstico de estas condiciones, sobre todo el caso de FPD/AML (21). El tamaño plaquetario suele ser normal y el sangrado a menudo está ausente o es leve, especialmente en pacientes con ANKRD26-RT o ETV6-RT. Los pacientes con FPD/AML, sin embargo, suelen presentar ciertas anomalías de la función plaquetaria, lo que puede asociarse con grados variables de tendencia a la hemorragia. De cualquier manera, y de forma relevante, la característica común de estas condiciones es el mayor riesgo de neoplasias hematológicas. El desarrollo de síndrome mielodisplásico (SMD) y leucemia mieloblástica aguda (LMA) sucede en aproximadamente el 40% de los pacientes con FPD/AML y en el 8% de los pacientes con ANKRD26-RT. Un 10% de los pacientes con ETV6-RT desarrollará leucemia linfoblástica aguda, mientras que el 14% restante sufrirá LMA, síndromes mielodisplásicos, mieloma múltiple o policitemia vera (22).

Diagnóstico

El diagnóstico clínico de TH puede ser sencillo cuando existen varios miembros de una familia afectados o si la disminución en el recuento de plaquetas ha sido documentada desde el nacimiento. Sin embargo, el reconocimiento del origen genético de la trombocitopenia es a menudo difícil, como lo demuestra el hecho de que muchos de los pacientes con TH son diagnosticados erróneamente con trombocitopenias adquiridas. En muchos casos, la trombocitopenia puede ser un hallazgo incidental descubierto en la edad adulta, y puede haberse atribuido un diagnóstico erróneo de trombocitopenia inmune (PTI), causando que el paciente se someta durante años a tratamientos innecesarios (23).

El origen genético de una trombocitopenia puede no sospecharse cuando no existe historia familiar, bien porque la herencia del cuadro es recesiva o por la aparición de mutaciones de *novo*, como se ha documentado hasta en el 40% de pacientes con MYH9-RD. Aunque la historia de sangrado de toda la vida debe poner en alerta, en muchos casos la trombocitopenia se descubre a menudo solo en la edad adulta debido a una tendencia hemorrágica leve o ausente. Además, la penetrancia de la mutación causal puede ser

incompleta y hay casos en los que el tamaño plaquetario no es el característico del defecto específico (24). La evaluación del tamaño de plaquetas en el frotis de sangre periférica y un adecuado examen físico del enfermo que indique si nos encontramos ante un cuadro sindrómico son elementos fundamentales para guiar el diagnóstico. El análisis molecular es necesario para confirmar el diagnóstico y proporcionar a los pacientes asesoramiento genético y adecuado seguimiento clínico. Las plataformas HTS de paneles de genes empiezan a ser la primera opción en el diagnóstico de rutina de las TH (1,3,20). Frente a la estrategia clásica de secuenciación de Sanger de un gen candidato, estas plataformas ofrecen la enorme ventaja de evaluar simultáneamente el elevado número de genes potencialmente causantes de TH, y su coste es cada vez más competitivo. Sin embargo, a pesar de la aplicación de estas plataformas que criban los múltiples genes ya conocidos como causa de TH, en una proporción relevante de pacientes no se identifica el gen causante. En estos casos, puede recurrirse a estrategias de cribado molecular no dirigido, como el análisis del todo el exoma o genoma (WES o WGS). Un aspecto aun controvertido es la asignación de patogenicidad cuando se identifican variantes genéticas nuevas, en genes conocidos o nuevos, pues una incorrecta consideración de una variante como patogénica también puede exponer al paciente a un manejo clínico incorrecto. En estos casos, el carácter patógeno de las nuevas variantes debe estar apoyado en aproximaciones como la segregación familiar y/o estudios funcionales específicos.

Manejo de pacientes con herencia de trombocitopenias que predisponen a otras enfermedades

Además de llevar a cabo las medidas generales para la prevención o el tratamiento de hemorragias, en ciertos casos pueden adoptarse otras para incrementar el recuento plaquetario. Así, la mayoría de los pacientes con MYH9-RD o con síndrome de Wiskott-Aldrich responden adecuadamente a Eltrombopag, un TPO-RA, lo que hay que considerar frente a cirugía u otros procedimientos invasivos (25). Romiplostim, otro agente trombopoyético, ha mostrado tener respuestas óptimas en pacientes con TH por mutaciones bialélicas en TPO (18). En pacientes con MYH9-RD, especialmente aquellos con mutaciones más frecuentemente asociadas a insuficiencia renal, se aconseja análisis de orina anuales, con especial atención a la aparición de proteinuria, lo que podría indicar la necesidad de tratamiento. Los bloqueantes del receptor de angiotensina y/o inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina pueden ejercer un efecto favorable, aunque no parecen prevenir o retrasar el deterioro de función renal y, en ocasiones, los enfermos desarrollan enfermedad terminal y precisan diálisis o trasplante renal. En caso de sordera y/o cataratas, se aconseja una evaluación anual auditiva y visual para evitar retrasos terapéuticos, y tanto el implante coclear como la cirugía estándar de cataratas suelen restablecer la función de ambos órganos.

En caso de identificar mutaciones en *RUNX1*, *ANKRD26* o *ETV6*, puede estar recomendado el examen de médula ósea que incluya citogenética en el momento de la identificación de individuos portadores de mutaciones patogénicas. Posteriormente, deben realizarse hemogramas y una evaluación clínica anuales para identificar signos tempranos de neoplasias hematológicas

y el inicio de la terapia oportuna que incluya la búsqueda precisa de un donante compatible en caso de que se plantee la realización de un trasplante de progenitores alogénico (alo-TPH). Siempre que se disponga de un donante relacionado, es fundamental excluir que esté afectado por la misma alteración molecular para evitar el desarrollo de la neoplasia en las células procedentes del donante.

De manera similar, la búsqueda de un donante compatible para alo-TPH comenzará tan pronto como se confirme el diagnóstico de trastornos que predisponen a una insuficiencia medular (CAMT, RUSAT), al igual que en síndrome de Wiskott-Aldrich. Pacientes con RUSAT con trombocitopenia aislada tienen un menor riesgo de aplasia medular, aunque también requieren de una vigilancia cuidadosa.

Consideraciones finales

En los últimos años, el concepto de las trombocitopenias hereditarias ha cambiado significativamente. La principal preocupación para muchos pacientes ya no es el sangrado, sino los trastornos adicionales que pueden desarrollarse y tener más impacto en la vida del enfermo que el propio sangrado. Puede requerirse de un enfoque multidisciplinar para alcanzar un diagnóstico correcto de estos cuadros y organizar el tratamiento y el seguimiento más adecuados. La mejor comprensión de las consecuencias funcionales de las alteraciones genéticas de las trombocitopenias hereditarias que cursan con otras condiciones médicas o predisponen a ellas ofrece una oportunidad única para avanzar en nuestro conocimiento no solo del campo de los trastornos plaquetarios, sino también de otras áreas como en neoplasias hematológicas, insuficiencias medulares, defectos osteomusculares, renales, cutáneos, auditivos y visuales.

Por último, dada la rareza de estas patologías, su identificación, caracterización y mejor manejo clínico se verán favorecidos por la puesta de marcha de proyectos multicéntricos, por la colaboración entre clínicos e investigadores del campo a nivel nacional e internacional y por la existencia de registros de pacientes con estas patologías. Estos son los objetivos básicos del proyecto “Caracterización funcional y molecular de pacientes con trastornos plaquetarios congénitos”, que coordinamos desde hace más de diez años bajo la cobertura científica de la Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia (SETH), y de la puesta en marcha este mismo año del Registro Español de Pacientes con Trastornos Plaquetarios Congénitos (RETPLAQ).

Bibliografía

- Heremans J, Freson K. High-throughput sequencing for diagnosing platelet disorders: lessons learned from exploring the causes of bleeding disorders. *Int J Lab Hematol* 2018;40(Suppl. 1):89-96.
- Melazzini F, Zaninetti C, Balduini CL. Bleeding is not the main clinical issue in many patients with inherited thrombocytopaenias. *Haemophilia* 2017;23(5):673-81.
- Bastida JM, Lozano ML, Benito R, et al. Introducing high-throughput sequencing into mainstream genetic diagnosis practice in inherited platelet disorders. *Haematologica* 2018;103(1):148-62.
- Noris P, Pecci A. Hereditary thrombocytopenias: a growing list of disorders. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2017;2017(1):385-99.
- Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* 2016;127(20):2391-405.
- Sarangi SN, Acharya SS. Bleeding Disorders in Congenital Syndromes. *Pediatrics* 2017;139(2).
- Turro E, Greene D, Wijgaerts A, et al. A dominant gain-of-function mutation in universal tyrosine kinase SRC causes thrombocytopenia, myelofibrosis, bleeding, and bone pathologies. *Sci Transl Med* 2016;8(328):328ra30.
- Melhem M, Abu-Farha M, Antony D, et al. Novel G6B gene variant causes familial autosomal recessive thrombocytopenia and anemia. *Eur J Haematol* 2017;98(3):218-27.
- Lacruz RS, Feske S. Diseases caused by mutations in ORAI1 and STIM1. *Ann N Y Acad Sci* 2015;1356:45-79.
- Izumi R, Niihori T, Suzuki N, et al. GNE myopathy associated with congenital thrombocytopenia: a report of two siblings. *Neuromuscul Disord* 2014;24(12):1068-72.
- Albers CA, Paul DS, Schulze H, et al. Compound inheritance of a low-frequency regulatory SNP and a rare null mutation in exon-junction complex subunit RBM8A causes TAR syndrome. *Nat Genet* 2012;44(4):435-9;S1-2.
- Takeichi T, Torrelo A, Lee JYW, et al. Biallelic Mutations in KDSR Disrupt Ceramide Synthesis and Result in a Spectrum of Keratinization Disorders Associated with Thrombocytopenia. *J Invest Dermatol* 2017;137(11):2344-53.
- Bastida JM, Benito R, Janusz K, et al. Two novel variants of the ABCG5 gene cause xanthelasmas and macrothrombocytopenia: a brief review of hematologic abnormalities of sitosterolemia. *J Thromb Haemost* 2017;15(9):1859-66.
- Stritt S, Nurden P, Turro E, et al. A gain-of-function variant in DIA-PH1 causes dominant macrothrombocytopenia and hearing loss. *Blood* 2016;127(23):2903-14.
- Pecci A, Ma X, Savoia A, et al. MYH9: Structure, functions and role of non-muscle myosin IIA in human disease. *Gene* 2018.
- Ballmaier M, Germeshausen M. Congenital amegakaryocytic thrombocytopenia: clinical presentation, diagnosis, and treatment. *Semin Thromb Hemost* 2011;37(6):673-81.
- Seo A, Ben-Harosh M, Sirin M, et al. Bone marrow failure unresponsive to bone marrow transplant is caused by mutations in thrombopoietin. *Blood* 2017;130(7):875-80.
- Pecci A, Ragab I, Bozzi V, et al. Thrombopoietin mutation in congenital amegakaryocytic thrombocytopenia treatable with romiplostim. *EMBO Mol Med* 2018;10(1):63-75.
- Germeshausen M, Ancliff P, Estrada J, et al. MECOM-associated syndrome: a heterogeneous inherited bone marrow failure syndrome with amegakaryocytic thrombocytopenia. *Blood Adv* 2018;2(6):586-96.
- Ripperger T, Hofmann W, Koch JC, et al. MDS1 and EVI1 complex locus (MECOM): a novel candidate gene for hereditary hematological malignancies. *Haematologica* 2018;103(2):e55-e8.
- Hayashi Y, Harada Y, Huang G, et al. Myeloid neoplasms with germ line RUNX1 mutation. *Int J Hematol* 2017;106(2):183-8.
- Feurstein S, Godley LA. Germline ETV6 mutations and predisposition to hematological malignancies. *Int J Hematol* 2017;106(2):189-95.
- Fiore M, Pillois X, Lorrain S, et al. A diagnostic approach that may help to discriminate inherited thrombocytopenia from chronic immune thrombocytopenia in adult patients. *Platelets* 2016;27(6):555-62.
- Bastida JM, Del Rey M, Revilla N, et al. Wiskott-Aldrich syndrome in a child presenting with macrothrombocytopenia. *Platelets* 2017;28(4):417-20.
- Rodeghiero F, Carli G. Beyond immune thrombocytopenia: the evolving role of thrombopoietin receptor agonists. *Ann Hematol* 2017;96(9):1421-34.

Diagnosis and management of DIC

Alessandro Squizzato, Silvia Galliazzo

Research Center on Thromboembolic Disorders and Antithrombotic Therapies. Department of Medicine and Surgery. School of Medicine. University of Insubria. Varese, Italia

Introduction

Disseminated intravascular coagulation (DIC) was defined as a dynamic ‘intermediary mechanism’ (1) that severely complicates many critical illnesses. As stated by the International Society of Thrombosis and Haemostasis (ISTH), we are dealing with an acquired syndrome characterized by the intravascular activation of coagulation with loss of localization arising from different causes. It can originate from and cause damage to the microvasculature, which if it is sufficiently severe, can produce organ dysfunction (2). Our knowledge about DIC derives mainly from studies carried out in patients affected by sepsis, the most common setting of DIC occurrence. Indeed, DIC jeopardize up to 35-50% of patients treated in intensive care unit because of sepsis (3-5).

It is essential to bear in mind that DIC does not exist as primary disorder, but it is always a complication of an underlying pathological process able to trigger a massive and systemic coagulation activation. The spectrum of DIC precipitating conditions encompasses sepsis, solid and haematologic malignancy, obstetric complications, major surgery and severe toxic or immunological reactions (3). Some lists improperly include also cirrhosis and vascular abnormalities. Actually, these conditions do not completely fit with a strict definition of DIC. Laboratory findings in end-stage liver disease overlap with those reported in DIC, but they stem from different mechanisms. Conversely, in vascular abnormalities, such as giant aneurysms, active intravascular coagulation generally remains localized into the lesion region.

In clinical practice DIC still remains a major clinical concern for physicians. The recognition of true DIC demands a careful and rapid differential diagnosis. The same acronym DIC tersely specifies its poor prognosis that can be spelt out by the sentence ‘Death Is Coming’. Unfortunately, a recent survey carried out among experts in thrombosis and haemostasis, showed a widely heterogeneous awareness about diagnosis and management of this clinical pathological syndrome (6). Given potential adverse clinical outcomes of DIC, deepening its pathogenesis is a paramount research topic in the attempt to provide high-quality evidences to assist physician in a timely diagnosis and in an effective management.

New insights in DIC pathogenesis

Modern evidence suggests that some forms of DIC, in particular sepsis-associated DIC, are not only a merely haemostatic and coagulation dysfunction. In the wake of the modern concept of ‘immunothrombosis’ coined by Engelmann in 2013 (7), also endothelial cells and neutrophils may play a pivotal role in sustaining

a disseminated thrombin generation. In particular, sepsis-associated DIC exemplifies a multifaceted interaction among coagulation pathway, innate immunity cells, inflammatory mediators and endothelial surface. Some authors have also suggested to reinterpret DIC as an endotheliopathy-associated disseminated intravascular microthrombosis (8). Vascular endothelium is the major target of various circulating inflammatory and cytotoxic mediators that damage glycocalyx, endothelial protein C receptor and thrombomodulin. Accordingly, the physiological antithrombin and protein C pathways are damaged and unchecked coagulation goes ahead. In addition, injured endothelial cells actively fuel coagulation by expressing surface adhesion molecules such as E-selectin, by exposing negatively charged phospholipid, by releasing ultra large von Willebrand factor multimer and microparticles (8-11). Among innate immunity cells, neutrophils are a central focus for research. The thrombophilic state created by neutrophils extracellular traps (NETs) is particularly intriguing in sepsis-associated DIC pathogenesis. These “natural foreign surfaces” offer a new circulating scaffold to promote coagulation both through intrinsic and TF-related pathway activation as well as through proteolytic degradation of physiological anticoagulants by specific neutrophilic proteases. Moreover, NETs high levels hinder clot fibrinolysis by forming webs within fibrin meshwork. At the same time, NETs cross-talk with platelets and endothelial cells amplifying their procoagulant properties (12-14). Of interesting, NETs seem to be an independent prognostic marker for mortality in DIC (15). Ultimately the thrombin generation is the hallmark of DIC resulting from an impaired coagulation, fibrinolysis and inflammation response. New insights into DIC biological complexity might be of clinical value to detect new potential biomarkers and targets for its early diagnosis and treatment.

Clinical aspects and diagnostic perspectives

On clinical ground, acute DIC is a life-threatening syndrome that may represent a medical emergency characterized by organ failure due to disseminated thrombosis of small to medium sized vessels and/or bleeding events. We can distinguish 3 clinical types of DIC on the basis of the most remarkable and dominant haemostatic derangement. The type called ‘organ failure DIC’ is sustained by a haywire active coagulation along with a relative hypofibrinolysis, such as it may occur in septic patients. Conversely, the type called ‘bleeding DIC’ is related to an exaggerated hyperfibrinolysis such as it may occur in acute promyelocytic leukaemia patients. Between these two opposite forms there is the type called ‘consumptive DIC’ in which both coagulation and fibrinolysis are remarkably active and clinical picture is dominated by massive

haemorrhage, such as the catastrophic Weterhouse-Friderichsen syndrome. Of note, this classification should not be read as a static categorization, since DIC is, by definition, a dynamic phenomenon that can unpredictably shift its clinical phenotype. Finally, some DIC patients are clinically silent: these forms are so called 'non-overt DIC' or 'pre-DIC', and they may be a chronic asymptomatic DIC or an early phase of a systemic phenomenon that can rapidly decompensate with clinical symptoms (2).

In this complex pathophysiological and dynamic scenario, DIC diagnosis remains controversial. In the lack of a pathognomonic clinical picture and a gold-standard test, DIC diagnosis should rely on multiparametric validated scoring systems that should be regularly reassessed. Which is the most appropriate diagnostic score and how often to implement it are still grey areas. Up to 20% of experts in thrombosis and haemostasis declared to make DIC diagnosis according to their expertise, without implementing any score and after DIC diagnosis the regular surveillance of global coagulation test is performed at heterogeneous different intervals (6). These findings prove that DIC diagnostic approach in clinical practice is still far to be standardized. To date, two leading different sets of diagnostic criteria are variably recommended: the ISTH criteria and the Japanese Ministry of Health and Welfare's (JMHW) diagnostic criteria (2,16). To properly use these score systems some flaws of methodological nature deserve to be quoted. Their diagnostic accuracy varies according to DIC type and the adopted diagnostic reference. In most cases blinded experts' opinion was employed as gold standard reference to evaluate the different score systems. Overall, each scoring model succeeds in better identifying only some DIC forms. Thus, it is not possible to establish the best algorithm to detect all presentations of DIC. The Japanese Ministry of Health and Welfare (JMHW) introduced the first score for DIC diagnosis in 1987 and it was devised from compiling different cases of DIC (16). It represents the core from which over time other diagnostic scores were built on. JMHW score encompasses both clinical features and global coagulation tests. Bleeding and thrombosis-related organ failure are the two clinical items. The algorithm develops two different scores on the basis of the presence of an underlying haematological malignancy. A score ≥ 4 is indicative of overt DIC in patients with haematological disorders. In presence of the other disorders DIC is diagnosed when total score is ≥ 7 . It was validated in a small study including 125 newly diagnosed acute leukaemia patients. In this setting JMHW showed a positive-predictive value of 80% (67-93%) and a negative predictive value of 90% (84-96%). JMHW scoring system allows room for many objections for the inclusion of non-specific clinical symptoms, for a common trend to misdiagnose liver disease and for hindering a DIC early diagnosis in the fields of emergency medicine and surgery (17).

To overcome some flaws of JMHW score, in 2001 the Scientific and Standardization Committee of the International Society of Thrombosis and Haemostasis (ISTH) Subcommittee on DIC proposed new diagnostic criteria based on DIC definition. The ISTH scoring system consists of 5 steps algorithm rooted on objective laboratory parameters. It proceeds from the compulsory DIC risk assessment by searching for a potential underlying disorder known to be associated with overt DIC. The priority identification of an

underlying disorder potentially associated with DIC, increases the score specificity. Once first step was fulfilled, determination of routinely available coagulation tests (i.e. platelet count, elevated fibrin-related markers, prolonged prothrombin time (PT) and fibrinogen level) is required. A total score equal or major than 5 is compatible with overt DIC diagnosis. Its prospective validation in intensive care unit patients provides accurate performance measure represented by a positive and negative predictive value of 96% and 97% respectively (18). In acute leukaemia setting ISTH score showed a DIC positive and negative predictive value of 95% and 80% respectively (19). In order to simplify ISTH score implementation in clinical practice, the Italian Society for Thrombosis and Haemostasis (SISET) suggested, as good practice points, the use of D-dimer value with pre-defined thresholds as fibrin-related marker and the determination of PT as ratio rather than absolute duration measured in seconds (20).

More recently in the attempt to properly catch all overt DIC presentations, the Japanese Society of Thrombosis and Haemostasis proposes a draft of new diagnostic criteria. This innovative proposal consists in a selective algorithm according to the nature of underlying disease. Thus, three specific algorithms are proposed: the haematopoietic, the infectious and the basic one. Coagulation biomarkers used to set up these criteria are platelets count (not considered in presence of a haematopoietic disorder), absolute levels of fibrin degradation products (FDP) and fibrinogen, PT ratio and antithrombin activity $\leq 70\%$. Of interest liver failure is added as a marker with an associated negative score in order to limit misdiagnosis (17).

A topic even more challenging is the diagnosis of non-overt DIC/pre-DIC that is crucial to improve in good time the poor prognosis of these patients. In order to address this unmet clinical need, some research groups committed to accomplish dynamic scores able to capture coagulation shift towards DIC before the appearance of clinical manifestations. Subcommittee of ISTH proposed a template of coagulation biomarkers to be investigated for this purpose encompassing various markers reflecting coagulation activation such as thrombin-antithrombin complexes (TAT), soluble fibrin (SF), antithrombin (AT) and C-protein (2). In septic patients a score including baseline AT and change from baseline to day 1 in PT, AT and D-dimer values showed a significant association with increased risk of organ failure development and 28-day mortality (21). In the same clinical setting an easier simple evolving DIC score was proposed considering rapidly available and round-the-clock parameters represented by absolute value and worsening trend of platelet count and PT value (22). Other haemostasis tests could play a role in patient's non-overt DIC risk assessment. For instance, interesting information could be derived from the current ongoing investigation about the role of thromboelastography in septic shock (NCT 03095625). Finally, the scant available background on this topic calls for new scientific projects and registries to better inform clinical practice on evidence-based level.

DIC management strategies

The cornerstone of DIC management is the treatment of the underlying disorder in order to stop the pathological cascade at start. This is the only validated therapeutic approach that may

effectively influence patient's prognosis. Till now, no anticoagulant drug has been clearly demonstrated to modify patient prognosis.

Supportive treatment is useful to reduce DIC complications while waiting the effect of the underlying disorder treatment, e.g. chemotherapy or antibiotic drugs. Once again, the best supportive treatment approach remains uncertain given the variety of dynamic clinical scenarios and the lack of strong evidence. In this scant background, we often rely on experts' opinion: it is advisable, therefore, a patient's tailored approach with a reassessment of risk-benefit ratio many times a day by combining clinical and laboratory information (23). Transfusion practice with platelets and/or fresh frozen plasma (FFP) is warranted in case of active bleeding, need for invasive procedure or risk for bleeding complications. There is a general agreement on maintaining a platelets count $> 50 \times 10^9/L$ in patients with active major bleeding and a lower threshold set up at $20-30 \times 10^9/L$ for patients with minor or without bleeding. If hypofibrinogenemia ($< 1 \text{ g/L}$) persists despite FFP replacement, fibrinogen concentrate or cryoprecipitate can be considered a further option. Prophylactic dose of unfractionated heparin or low molecular weight heparin is recommended when thrombotic risk outweighs bleeding risk; the administration of therapeutic doses of heparin (preferably unfractionated heparin) is suggested when large vessel arterial or venous thrombosis occurs (23).

Other anticoagulant options have been tested mainly in severe sepsis context with disappointing clinical outcomes. In particular, administration of antithrombin and protein C is not routinely recommended as large randomized clinical trials proved that they entail laboratory data restoration without a concurrent patient's clinical benefit in term of short-term mortality (24-26). Nowadays, recombinant soluble thrombomodulin (ART-123) represents a promising anticoagulant support that seems able to clinically impact on patients' prognosis. Of interest, ART-123 effects are due to both its anticoagulant and anti-inflammatory properties (27). This latter aspect is of interest for sepsis-associated DIC as it is also a hyperinflammatory condition.

Understanding the involved innate immunity molecular pathways is of paramount importance to pinpoint better supportive treatment strategy, as coagulation impairment is only the final step of a life-threatening cascade process. NETs and endothelial cells represent emerging therapeutic targets at least for sepsis-associated DIC. New insights derived from mice models support the role of DNase 1, peptidylarginine deaminase 4 (PAD4), non-anticoagulant heparin and non-anticoagulant activated protein C as effective therapeutic agents to turn-off the cytotoxic and pro-thrombotic effects of NETs (28-30). The restoration of physiological coagulation by arresting NETosis and inhibiting circulating NETs represents an attractive therapeutic strategy potentially free from an intrinsic bleeding risk. Finally, a potential therapeutic target may be endothelial glycocalyx: it actively interplays by simultaneous mechanisms between inflammation and coagulation (31).

References

1. Mc Kay DG. Disseminated intravascular coagulation. Pathology, diagnosis and therapy of disseminated intravascular coagulation. *Proc R Soc Med* 1968;61(11):1129-34.
2. Taylor FB Jr, Toh CH, Hoots WK, et al. Scientific Subcommittee on Disseminated Intravascular Coagulation (DIC) of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH). Towards definition, clinical and laboratory criteria, and a scoring system for disseminated intravascular coagulation. *Thromb Haemost* 2001;86(5):1327-30.
3. Gando S, Levi M, Toh CH. Disseminated intravascular coagulation. *Nature Rev Dis Primers* 2016;2:16037.
4. Levi M. Thrombosis and Haemostasis issues in critical ill patients. *Semin Thromb Hemost* 2015;51(1):7-8.
5. Hayakawa M. Pathophysiology of trauma-induced coagulopathy: disseminated intravascular coagulation with the fibrinolytic phenotype. *Journal of intensive care* 2017;31:5-14.
6. Squizzato A, Rancan E, Tachil J, et al. Diagnosis of overt and non-overt disseminated intravascular coagulation. A survey among experts and a call for actions from the ISTH. *Thrombosis Research* 2017;152:74-6.
7. Engelmann B, Massenber S. Thrombosis as an intravascular effect of innate immunity. *Nat Rev Immunol* 2013;13(1):34-45.
8. Chang JC. Disseminated intravascular coagulation: is it fact or fancy? *Blood Coagul fibrinolysis* 2018;29(3):330-7.
9. Toh CH, Alhamdi Y. Current consideration and management of disseminated intravascular coagulation. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2013;2013:286-91.
10. Alhamdi Y, Toh CH. Recent advances in pathophysiology of disseminated intravascular coagulation: the role of circulating histones and neutrophil extracellular traps. *F1000Res* 2017;6:2143.
11. Iba T, Levi JH. Inflammation and thrombosis: roles of neutrophils, platelets and endothelial cells and their interactions in thrombosis during sepsis. *J Thromb Haemost* 2018;16(2):231-41.
12. Noubouossie DF, Whelihan MF, Yu YB, et al. In vitro activation of coagulation by human neutrophil DNA and histone proteins but not neutrophil extracellular traps. *Blood* 2017;129(8):1021-9.
13. Gould TJ, Lysov Z, Liaw PC. Extracellular DNA and histones: double-edged swords in immunothrombosis. *J Thromb Haemost* 2015;13(Suppl. 1):S82-91.
14. Martinod K, Wagner DD. Thrombosis: tangled up in NETs. *Blood* 2014;123(18):2768-76.
15. Kim JE, Lee N, Gu JY, et al. Circulating levels of DNA-histone complex and dsDNA are independent prognostic factors of disseminated intravascular coagulation. *Thromb Res* 2015;135(6):1064-9.
16. Kobayashi N, Maegawa K, Takada M, et al. Criteria for diagnosis of DIC based on yje analysis of clinical and laboratory findings in 345 DIC patients collected by the Research Committee on DIC in Japan. *Bibl Haematol* 49:265-75.
17. Asakura H, Takahashi H, Uchiyama T, et al. DIC subcommittee of the Japanese Society on Thrombosis and Hemostasis. Proposal for new diagnostic criteria for DIC from the Japanese Society on Thrombosis and Hemostasis. *Thromb J* 2016;28:14-42.
18. Bakhtiari K, Meijers JC, de Jonge E, et al. Prospective validation of the International Society of Thrombosis and Haemostasis scoring system for disseminated intravascular coagulation. *Crit Care Med* 2004;32(12):2416-21.
19. Yanada M, Matsushita T, Suzuki M, et al. Disseminated intravascular coagulation in acute leukemia: clinical and laboratory features at presentation. *Eur J Haematol* 2006;77(4):282-7.
20. Di Nisio M, Baudo F, Cosmi B, et al. Italian Society for Thrombosis and Haemostasis. Diagnosis and treatment of disseminated intravascular coagulation: guidelines of the Italian Society for Haemostasis and Thrombosis (SISSET). *Thromb Res* 2012;129(5):e177-84.
21. Dhainaut JF, Claessens YE, Janes J, et al. Underlying disorders and their impact on the host response to infection. *Clin Infect Dis* 2005;41(Suppl. 7):S481-9.

22. Kinasewitz GT, Zein JG, Lee GL, et al. Prognostic value of a simple evolving disseminated intravascular coagulation score in patients with severe sepsis. *Crit Care Med* 2005;33(10):2214-21.
23. Squizzato A, Hunt BJ, Kinasewitz GT, et al. Supportive management strategies for disseminated intravascular coagulation. An international consensus. *Thromb Haemost* 2016;115(5):896-904.
24. Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF, et al. Recombinant human protein C Worldwide Evaluation in Severe Sepsis (PROWESS) study group. Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. *N Engl J Med* 2001;344(10):699-709.
25. Warren BL, Eid A, Singer P, et al. KyberSept Trial Study Group. Caring for the critically ill patient. High-dose antithrombin III in severe sepsis: a randomized controlled trial. *JAMA* 2001; 286(15):1869-78.
26. Dhainaut JF, Yan SB, Joyce DE, et al. Treatment effects of drotrecogin alfa (activated) in patients with severe sepsis with or without overt disseminated intravascular coagulation. *J Thromb Haemost* 2004;2(11):1924-33.
27. Vincent JL, Ramesh MK, Ernest D, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled, Phase 2b study to evaluate the safety and efficacy of recombinant human soluble thrombomodulin, ART-123, in patients with sepsis and suspected disseminated intravascular coagulation. *Crit Care Med* 2013;41(9):2069-79.
28. Von Brühl ML, Stark K, Steinhart A, et al. Monocytes, neutrophils, and platelets cooperate to initiate and propagate venous thrombosis in mice in vivo. *J Exp Med* 2012;209(4):819-35.
29. Wildhagen KC, García de Frutos P, Reutelingsperger CP, et al. Nonanticoagulant heparin prevents histone-mediated cytotoxicity in vitro and improves survival in sepsis. *Blood* 2014;123(7):1098-101.
30. Kerschen EJ, Fernández JA, Cooley BC, et al. Endotoxemia and sepsis mortality reduction by non-anticoagulant activated protein C. *J Exp Med* 2007;204(10):2439-48.
31. Nieuwdorp M, Meuwese MC, Mooij HL, et al. Tumor necrosis factor-alpha inhibition protects against endotoxin-induced endothelial glycocalyx perturbation. *Atherosclerosis* 2009;202(1):296-303.

Ponencias

Nuevas terapias en coagulopatías congénitas. El futuro ya ha llegado

COORDINADORES: Dr. Víctor Jiménez Yuste. Hospital Universitario La Paz. Madrid
 Dr. Ramiro Núñez Vázquez. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla

CS-1. Arqueogenética de la deficiencia de FXI causada por la variante p.C56R identificada en diferentes países

De la Morena Barrio M. E.¹, Salloum Asfar S.¹, de la Morena Barrio B.¹, Altisent C.², Martín Fernández L.³, Gueguen P.⁴, Esteban J.⁵, Padilla J.¹, Miñano A.¹, Bauduer F.⁶, Vicente V.¹, Vidal F.⁷, Carbonell P.⁸, Corral J.¹

¹Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia, España. Centro Regional de Hemodonación. Murcia, España. Universidad de Murcia. IMIB-Arrixaca. Murcia, España. CIBERER. Murcia, España. ²Unidad de Hemofilia. Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona, España. ³Banc de Sang i Teixits. Barcelona, España. Institut d'Investigació Biomèdica de Sant Pau (IB Sant Pau). Barcelona, España. ⁴Institut Curie. PSL Research University. París, Francia. ⁵Servicio de Hematología. Hospital Virgen del Castillo. Yecla, Murcia. ⁶Service d'Hématologie. Centre Hospitalier de la Côte Basque. Bayonne, Francia. ⁷Université de Bordeaux. Pessac, Francia. ⁸Coagulopatías Congénitas. Banc de Sang i Teixits. Barcelona, España. Unitat de Diagnòstic i Teràpia Molecular. Vall d'Hebron Institut de Recerca. Barcelona, España. Universitat Autònoma de Barcelona (VHIR-UAB). Barcelona, España. CIBER de Enfermedades Cardiovasculares. Barcelona, España. ⁹Centro de Bioquímica y Genética Clínica. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia, España

Introducción

La deficiencia congénita de FXI (DFXI) se ha considerado una enfermedad rara, excepto en determinadas etnias, especialmente en judíos askenazis. Nuestro grupo identificó una alta prevalencia (2,5%) de DFXI en una localidad de Murcia de 60.000 habitantes (Yecla), con una mutación predominante, p.C56R. Esta mutación también se describió como frecuente y con características fundadoras en el país vasco francés, con menor frecuencia en la Bretaña francesa, y también se identificó en un paciente portugués.

Objetivo

Analizar las características genéticas asociadas a la mutación p.C56R del *F11*, evaluando los potenciales vínculos ancestrales

de las poblaciones portadoras, y estimar la antigüedad de la mutación.

Métodos

Se estudiaron 65 pacientes con DFXI portadores de la mutación p.C56R procedentes de Yecla (n = 30 de 20 familias, 3 homocigotos), Barcelona (n = 27 de 14 familias, 2 homocigotos), País Vasco (n = 3 no relacionados), y Bretaña francesa (n = 3 no relacionados). También se analizaron tríos familiares (padres y un hijo) de 20 familias no relacionadas y no portadoras de la mutación de Yecla. La totalidad del gen *F11* (23kb) se secuenció por NGS (PGM y MiSeq). Se analizaron 8 microsatélites que cubrían 2,9 Mb teloméricas y 2,8 Mb centroméricas flanqueando al *F11* (Fig. 1). La edad de la mutación se estimó con el software DMLE+2.3

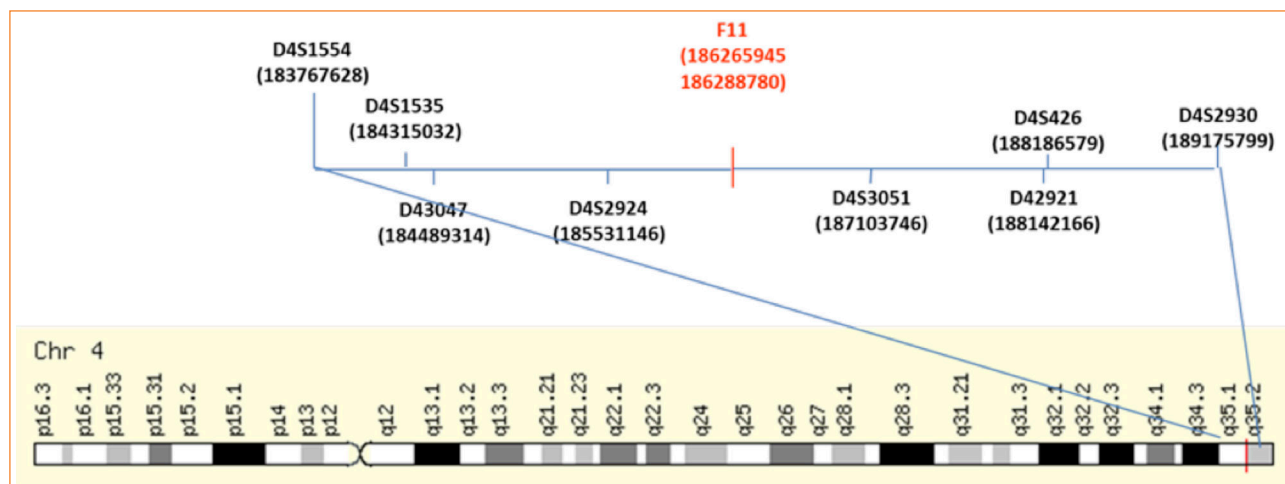


Figura 1.

mediante método bayesiano, estableciendo una tasa de crecimiento poblacional obtenida de datos del censo de Yecla registrados durante los últimos 551 años.

Resultados

Demostramos la existencia de la mutación p.C56R en el *F11*, asociada con DFXI en cuatro regiones de dos países distintos (Francia y España). La mutación es la más prevalente en pacientes con DFXI en todas las poblaciones (24/46 en Yecla, 14/55 en Barcelona, 8/12 en País Vasco y 3/12 en Bretaña francesa). Todos los portadores de la mutación p.C56R con DFXI compartían 14 polimorfismos de *F11* con MAF que oscilaba entre 0,21 y 0,44. El estudio de microsatélites mostró mayor homogeneidad en los portadores de poblaciones pequeñas (Yecla, Bretaña Francesa y País Vasco), pero gran variabilidad en los portadores identificados en Barcelona, que ha acogido históricamente individuos de diferentes procedencias. La estimación del origen de la mutación (en Europa), con una tasa de crecimiento de población $r = 0,034$ (Eur J Hum Genet 2014), estaría en alrededor de 185 generaciones (4.625 años) con un intervalo de confianza (IC) al 95% entre 128 y 279 generaciones (3.200-6.975 años). Específicamente para Yecla, la población en la que su origen se puede establecer con mayor precisión, se estimó su aparición en los siglos XIV-XV (25 generaciones IC 95% 15-45) (Fig. 2).

Conclusión

Este estudio demuestra el origen fundacional de la mutación p.C56R del *F11* y data la aparición de la mutación hace 4.625

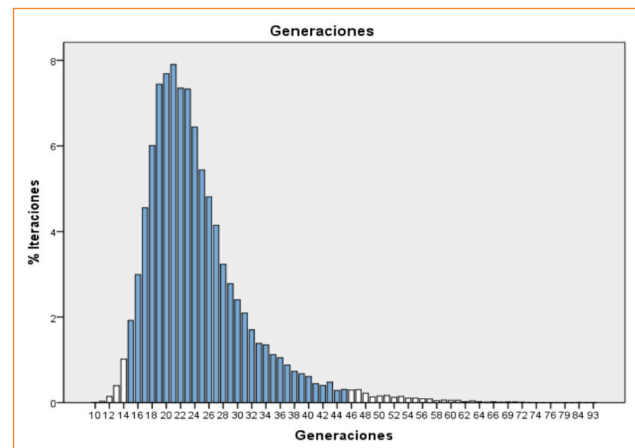


Figura 2.

años. Se expande por Europa y llegó a Yecla posiblemente en las repoblaciones que siguieron a la reconquista, aunque las crónicas de la época no muestran repoblaciones del País Vasco, sino de Aragón. La dificultad diagnóstica del DFXI, especialmente en heterocigosis, junto a estos resultados, sugiere que esta mutación sea relativamente frecuente en Europa, y alcance incidencias muy destacadas en ciertas poblaciones por diferentes razones entre las que no se puede descartar una presión selectiva positiva.

Financiación: ISCIII-PI15/00079; Fundación Séneca-19873/GERM/15; M-BME contrato FETH.

Terapia génica y edición genética en coagulopatías congénitas

Bastida J. M.^{1,2}, Marín-Quílez A.^{2,3}, Real P. J.⁴, Palma-Barqueros V.⁵, Quijada M.^{3,6}, García-Tuñón I.^{3,6}, Benito R.^{3,6}, Ramos Mejía V.⁴, Pérez-Losada J.³, Sánchez-Martín M.⁷, Guerrero C.^{2,3}, Hernández-Rivas J. M.^{1,3,6}, González-Porras J. R.^{1,2}

¹Unidad de Trombosis y Hemostasia. Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Salamanca. Salamanca. ²Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL). Grupo CARD-02. Salamanca. ³Centro de Investigación del Cáncer-IBMCC-CSIC. Salamanca. ⁴Centro Pfizer-Universidad de Granada-Junta de Andalucía de Genómica e Investigación Oncológica (GENYO). Granada. ⁵Centro Regional de Hemodonación. Universidad de Murcia. IMIB-Arixaca. CB15/00055-CIBERER. Murcia. ⁶Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL). Grupo CANC-04. Salamanca. ⁷Servicio de Transgénesis. Nucleus. Universidad de Salamanca. Salamanca

Introducción a las coagulopatías congénitas, diagnóstico y tratamiento

Las coagulopatías congénitas hemorrágicas son un grupo heterogéneo de trastornos congénitos y/o hereditarios que predisponen al sangrado. Se producen por alteraciones en los genes relacionados con la megacariopoyesis y/o función plaquetaria, más conocidos como trastornos plaquetarios congénitos (TPC), o en los genes que codifican los factores de la coagulación, incluyendo hemofilia A (HA) y B (HB) o los *Rare Bleeding Disorders* (RBDs) (1,2). El diagnóstico de estas entidades se basa en la combinación de pruebas fenotípicas de laboratorio, así como en su confirmación diagnóstica mediante el estudio molecular. En los últimos años, el desarrollo de las técnicas de secuenciación masiva (NGS) ha revolucionado el diagnóstico de estas entidades abaratando los costes, ayudándonos a entender la etiopatogenia de estas enfermedades y a ampliar su espectro mutacional. Todo ha repercutido en el paciente, ya que puede alcanzarse un diagnóstico más certero (3-6). El manejo de estos pacientes se ha basado en el tratamiento del sangrado en su fase aguda, así como en evitar su aparición o profilaxis. En el caso de los TPC, podemos emplear transfusiones de plaquetas, desmopresina y antifibrinolíticos, así como factor VII recombinante (rFVIIa). Tanto en los RBD como en la HA y HB, el tratamiento empleado ha sido sustitutivo o de reemplazo del factor deficitario (Tabla I). En los últimos años, el tratamiento de la HA y HB ha sufrido un cambio importante gracias a la aparición de los productos de vida media prolongada que permiten reducir el número de infusiones, o incluso el desarrollo de nuevas moléculas con diferentes dianas terapéuticas con un mecanismo de acción completamente diferente (7) (Tabla I). Sin embargo, estos tratamientos son indefinidos, mientras que el desarrollo de la terapia génica puede inducir la producción endógena y persistente de la proteína deficitaria y, por tanto, la curación del trastorno (7) (Tabla I).

Terapia génica: fundamentos, metodología, aplicaciones y limitaciones

Hace más de 40 años se planteó de manera visionaria la utilización y los retos que suponía la modificación del ADN como tratamiento en las enfermedades monogénicas hereditarias (8). Este interés se fundamentó en que la terapia génica podría tener un efecto duradero y potencialmente curativo para este tipo de enfermedades con un único tratamiento, a diferencia de las terapias sustitutivas (8). En los años noventa, los ensayos clínicos

no mostraron los resultados que se auguraban, e incluso se describieron toxicidades inesperadas, probablemente por la falta de conocimiento tanto de la biología de los vectores como de las propias enfermedades. A partir del año 2000, los ensayos clínicos comenzaron a describir potenciales beneficios, aunque a expensas de importantes toxicidades. En los últimos años, los avances en la biología molecular y en la ingeniería genética están posibilitando que la terapia génica se postule como una de las ramas de la medicina más prometedoras y con un mayor grado de desarrollo (8,9).

La terapia génica consiste en la introducción de ácidos nucleicos (ADN o ARN) exógenos en la célula diana con la intención de tratar, prevenir o curar una enfermedad. Dependiendo de la patología a tratar, la terapia génica se sirve de diversas estrategias como son: 1) la adición de genes, 2) la corrección de variantes génicas puntuales, o 3) la eliminación de secuencias deletéreas del genoma (9). En base a estos principios, la terapia génica puede ser *in vivo*, es decir, administrar al paciente un gen a través de un vehículo o vector (por ejemplo, un virus), el cual debe localizar las células a infectar, o *ex vivo*, en la que la transformación celular se lleva a cabo a partir de una muestra del tejido del paciente y al que luego se le trasplantan las células ya transformadas (8).

Las coagulopatías congénitas, al ser enfermedades monogénicas, son candidatas ideales para poder llevar a cabo la terapia génica, ya que, sobretudo en HA, HB y RBD, no es necesario la corrección absoluta del defecto, ya que pequeños aumentos en los niveles del factor deficitario tienen un impacto significativo en la disminución del riesgo hemorrágico (6,8).

Vectores virales

Dentro de las herramientas disponibles para la adición génica, los vectores virales constituyen una de las más eficaces y empleadas. De hecho, en los últimos años ha habido una gran expansión en el número de ensayos clínicos en los que destaca el uso de vectores virales para el tratamiento de enfermedades genéticas (Tabla II). Los vectores virales se definen como virus cuyo genoma ha sido modificado para que pierdan la capacidad de replicación y patogenicidad. Una vez han infectado una célula, no pueden volver a formar la partícula viral y, por consiguiente, no pueden propagarse para infectar otras células. Actualmente existe un amplio espectro de vectores virales que están al servicio de la terapia génica. Dentro de este espectro, los tres vectores que dominan en el campo de la clínica son los diseñados a partir de adenovirus, virus adeno-asociados (AAV) y lentivirus (10) (Tabla II).

Tabla I. Tipos de tratamiento disponibles para las coagulopatías congénitas. Ampliado y modificado de Livnat *et al* (6)

Trastorno	Defecto genético	Manifestaciones más graves	Tratamiento sustitutivo	Tratamiento no sustitutivo	Terapia génica
Def de fibrinógeno	<i>FGA, FGB, FGG</i>	Trombosis Sangrado cordón umbilical	FG / PFC / DpFG	---	---
Def de Protrombina	<i>F2</i>	Sangrado mucosas, hemartrosis, SNC	PFC, CCP	---	---
Def Factor V	<i>F5</i>	Sangrado muscular, epistaxis	PFC / FV	Tx plaquetas	---
Def Factor VII	<i>F7</i>	Hemartrosis, SNC	rFVIIa / PFC / CCP	---	Sí
Hemofilia A	<i>F8</i>	Hemartrosis, SNC	DpFVIII / rFVIII / EHL FVIII. *FEIBA / rFVIIa	Emicizumab Concizumab Fitusiran	Sí†
Hemofilia B	<i>F9</i>	Hemartrosis, SNC	DpFIX / rFIX / EHL FIX *FEIBA / rFVIIa	Concizumab Fitusiran	Sí†
Def combinada FV y FVIII	<i>LMAN1, MCFD2</i>	Post-traumático / cirugía	PFC / rFVIII	Desmopresina	---
Def Factor X	<i>F10</i>	Gastrointestinal, SNC	CCP / PdFX	---	---
Def Factor XI	<i>F11</i>	Postraumático	PFC / PdFXI	---	---
Def Factor XIII	<i>F13A, F13B</i>	Cicatrización, SNC, abortos	rFXIII / PdFXIII / PFC	---	---
Def Factor vit K depend	<i>GGCX, VKORC1</i>	SNC, malf. esqueléticas	Vit K / CCP / PFC	---	---
Síndrome de Wiskott-Aldrich	<i>WAS</i>	Trombocitopenia, eccemas, infecciones,	Análogos trombopoyetina	Tx plaquetas	Sí

Def: deficiencia; vit K depend: vitamina K dependientes; FG: fibrinógeno; PFC: plasma fresco congelado; Dp: derivados plasmáticos; SNC: sistema nervioso central; CCP: concentrado de complejo protrombínico; EHL: vida media prolongada; Tx: transfusión; *Agentes *by-pass* para pacientes con inhibidor; †Exclusión pacientes con inhibidores; malf: malformaciones.

Tabla II. Principales características de los distintos tipos de vectores virales

Vectores	Adenovirales	Adeno-asociados	Lentivirus
Envuelta	No	No	Sí (retrovirus)
ADN	Doble cadena	Cadena simple	Cadena simple ARN
Tamaño genoma	~35 kb	~5 kb	~8 kb
Empaquetamiento Transporte de transgén	Gran ventaja: ~30 kb de transgén	Limitación ~5 kb de transgén	
Integración de genoma en huésped	No	No No patogénicos No replicación autónoma (adenovirus)	Sí Genotoxicidad
Expresión transgén	Temporal	Estable a largo plazo	Indefinida
Tejidos	Mayoría de ellos	Músculo, hígado	Alta tasa de división
Inmunogenicidad	Alta Respuesta inflamatoria grave	Muy baja	--
Inactivación en sangre	Sí	No	--

Fundamentos de los vectores virales

Estos vectores presentan diferencias a nivel estructural, por lo que la estrategia para el desarrollo de un vector terapéutico estará determinada por sus características básicas (Tabla II). Sin embargo, para producir un vector viral existe una estrategia general que consiste en dividir el genoma del virus en dos o más moléculas de ADN distintas. Una de las moléculas es el denominado vector de

transferencia, que contiene el *cassette* de expresión del gen terapéutico junto con secuencias virales no codificantes, entre ellas el dominio viral de empaquetamiento psi (Ψ). La otra molécula en la que se divide el genoma del virus se denomina ADN *helper*, que a su vez puede fraccionarse en 2 o más moléculas para aumentar la seguridad del vector. Las moléculas de ADN *helper* contienen los genes virales que hemos eliminado de su genoma, pero son esenciales para la replicación y la estructura del virus. En la pro-

ducción del vector, las proteínas estructurales virales aportadas por los plásmidos ADN *helper* solo empaquetaran en la partícula viral el genoma del vector de transferencia, que es el que contiene la secuencia Ψ (10).

Aplicaciones de los vectores virales

Conocer mejor la biología y la genética de los virus ha permitido explotar estos vectores con diversos fines, como el tratamiento de enfermedades mediante terapia génica, el desarrollo de vacunas o su aplicación como una herramienta útil para la investigación básica. La elección del vector ideal para una aplicación específica dependerá esencialmente de una serie de parámetros del vector, entre ellos, la necesidad de una expresión del transgén indefinida o temporal, el tipo de administración o la posibilidad de tolerar una respuesta inflamatoria. Así, en el caso particular de los vectores adenovirales, su uso se centra principalmente en el desarrollo de terapias antitumorales y de vacunas (10). En el caso de los vectores con adenoasociados, cabe mencionar que fueron el primer fármaco de terapia génica aprobado en Europa, el denominado Glybera[®], diseñado para corregir la deficiencia de lipoproteína lipasa (11). Gracias a su perfil de seguridad, así como a la posibilidad de transducir una amplia variedad de tejidos, estos virus se han empleado en

diversos ensayos clínicos para el tratamiento *in vivo* de la hemofilia A y B (13,14) (Tabla III).

Por último, se ha descrito que los lentivirus son los vectores más eficientes para transducir células madre hematopoyéticas (13,15). La mayoría de los ensayos clínicos que emplean este vector tiene como estrategia transducir células madre hematopoyéticas *ex vivo* que posteriormente serán trasplantadas en el paciente. En estos ensayos, el objetivo es el tratamiento de enfermedades hereditarias, entre ellas el Síndrome de Wiskott-Aldrich, la β -talasemia o la adrenoleucodistrofia. Además, los vectores lentivirales están siendo usados también para diseñar células CART (*Chimeric Antigen Receptor T*) para el tratamiento del cáncer mediante inmunoterapia (10,16).

Limitaciones de los vectores virales

Un vector viral ideal debe ser capaz de: transducir con alta eficiencia tanto células en división como quiescentes, conseguir una expresión estable del transgén, transportar grandes fragmentos de ADN sin limitación de tamaño, ser específico para el tejido afectado y, por último y más relevante, el vector debe de ser seguro (17). Como se ha mencionado, la especificidad del vector es uno de sus grandes inconvenientes, así como la generación de anticuer-

Tabla III. Ensayos clínicos activos de terapia génica en hemofilia (clinicaltrials.gov)

	Ensayo	Fase	Serotipo / medicamento	N.º pacientes	Objetivos principales	Periodo
HB	NCT01687608	1/2	AAV8	30	Efectos adversos Evaluación laboratorio	2013-2030
HA	NCT03001830	1	AAV2/8-HLP-FVIII-V3	18	Dosis y Ac neutralizantes	2017-2034
HB	NCT02484092	1/2	AAV SPK-9001	15	Efectos adversos	2015-2019
HA	NCT02576795	1/2	BMN 270	15	Efectos adversos Evaluación laboratorio	2015-2022
HB	NCT00515710	Observacional	AAV2-hFIX16		Seguridad y tolerancia	2007-2009
HB	NCT00979238	1	scAAV2/8-LP1-hFIXco	14	Seguridad	2018-2032
HA	NCT03003533	1/2	Recombinant AAV SPK-8011	30	Efectos adversos Evaluación laboratorio	2016-2019
HA	NCT03061201	1/2	Recombinant AAV2/6 - F8	20	Efectos adversos Evaluación laboratorio	2017-2022
HB	NCT02396342	1/2	AAV5-hFIX	15	Efectos adversos	2015-2021
HA	NCT03520712	1/2	Valoctocogene Roxaparvovec Ac pre-existentes AAV5	10	Seguridad	2018-2024
HB	NCT03369444	1/2	Novel AAV FLT180	18	Efectos adversos y respuesta inmune	2017-2019
HB	NCT03307980	Observacional	SPK-9001-101 protocol	11	Efectos adversos y seguimiento	2017-2023
HA	NCT03392974	3	Valoctocogene Roxaparvovec BMN 270	40	Eficacia y seguridad	2018-2023
HA	NCT03370913	3	Valoctocogene Roxaparvovec BMN 270	40	Eficacia y seguridad	2017-2023
HB	NCT02695160	1	AAV2/6 Factor IX Gene Via Zinc Finger Nuclease	12	Efectos adversos	2016-2021
HA	NCT03370172	1/2	AAV8 - BAX 888	10	Efectos adversos	2018-2022
HB	NCT03569891	3	AAV5-hFIXco-Padua	56	Eficacia y laboratorio	2018-2024
HB	NCT03489291	2b	AAV5-hFIXco-Padua, AMT-061	3	Eficacia y laboratorio	2018-2023

pos neutralizantes frente a la cápside de los AAV, que aparecen después de la exposición natural a diferentes serotipos AAV en el 20-60% de los pacientes (10). Del mismo modo, la seguridad es un requisito imprescindible para poder emplear el vector en un ensayo clínico. Su perfil de seguridad está determinado por su genotoxicidad y por el calibre de la respuesta inmune que desencadene. En muchas ocasiones, la respuesta inmune que se inicia contra el vector o contra el transgén es la misma que se espera contra el virus *wild-type*. De todos los vectores virales disponibles, los adenovirus son los más inmunogénicos, por ello, la prioridad de los nuevos vectores adenovirales es sortear esta inmunogenicidad (Tabla II). En el contexto de la seguridad, otro reto al que se enfrentan los vectores virales de tipo integrativo es conseguir un patrón de integración predeterminado que evite una integración aleatoria (10). Generalmente, el mayor riesgo de estos vectores es la activación de proto-oncogenes, que puede originar una neoplasia en los pacientes. Para reducir este riesgo inminente de genotoxicidad, están desarrollándose múltiples herramientas, entre ellas, el diseño de vectores *Self-inactivating* (SIN) o el empleo de test de *screening* en terapia *ex vivo* para seleccionar los clones con una integración deseada antes de infundirlos al paciente (17).

Edición genómica

Los sistemas de edición genómica desarrollados hasta el momento, son: a) nucleasas de dedos de zinc (*Zinc Finger Nucleases* —ZFN—); b) las nucleasas tipo activadores de la transcripción (*Transcription Activator-Like Effector Nucleases*, —TALEN—) y c) las nucleasas de secuencias palindrómicas repetidas (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats* —CRISPR/Cas—). Las metodologías ZFN y TALEN se basan en la ingeniería de proteínas constituidas por una región catalítica encargada de generar rupturas en el ADN y una región de reconocimiento de la secuencia diana que quiera editarse (8). Sin embargo, estas dos metodologías tienen algunos inconvenientes: a) es necesario generar una proteína diferente para cada región del genoma que quiera editarse y, además, b) ambos sistemas son difíciles de introducir en las células debido a su gran tamaño, con lo que disminuye su eficiencia en edición y complica la capacidad de generación de ediciones simultáneas de varias regiones genómicas en una misma célula.

Fundamentos de CRISPR/Cas9

El sistema CRISPR/Cas9 permite editar secuencias de ADN de una forma más sencilla y eficiente. Históricamente, CRISPR fue descubierto como un sistema inmune adaptativo presente en muchas clases de bacterias y arqueas (19). Se trata de un sistema basado en una nucleasa que actúa en la defensa de estos organismos contra fagos y plásmidos. Este sistema presenta numerosas copias de secuencias palindrómicas que estaban separadas por secuencias variables de aproximadamente 36 pares de bases (espaciadores) asociada a genes Cas (que codifican para proteínas con función nucleasa) y regiones de ARN no codificante, que son capaces de programar y dirigir puntos de corte específicos en ácidos nucleicos. No fue hasta la década de 2010 cuando se descubrió su aplicabilidad a las células humanas (19). Existen varios tipos de

sistemas CRISPR, pero el más extendido en edición genética es el sistema CRISPR/Cas9. Para poder inducir rupturas dirigidas en células humanas es necesaria la expresión de la proteína Cas9, un segmento de ARN formado por 20 nucleótidos complementarios a la región genómica diana y una región de unión a la proteína Cas9 que actúa como guía (*single-guide RNA* —sgRNA—). Estos componentes se introducen en las células de mamíferos mediante plásmidos de expresión (lentivirus) o en forma de ribonucleoproteínas (Fig. 1A). Una vez introducido el sistema en la célula, se producirá una ruptura en el ADN de doble cadena mediada por Cas9 y se activarán los mecanismos endógenos de reparación de las rupturas de doble cadena, que son principalmente dos: a) *non-homologous end-joining* (NHEJ), que se realiza al azar y en la mayoría de las ocasiones, y b) recombinación homóloga (HR), que es más preciso y dirigido (19) (Fig. 1B).

Aplicaciones de CRISPR/Cas9

En el área de investigación, el sistema CRISPR/Cas9 permite el estudio de las funciones de genes mediante la generación de *knock-out* (KO), así como la corrección de variantes genéticas en modelos *in vitro* e *in vivo*, la regulación de la transcripción a través de moléculas efectoras unidas a Cas9 y la regulación de la metilación o *screening* funcional mediante librerías de sgRNAs (19). En el ámbito de las coagulopatías congénitas, el primer modelo generado por CRISPR/Cas9 se desarrolló en cerdos KO del *VWF*, dando lugar al incremento de los tiempos de sangrado, así como a la disminución de la proteína que reproducía la enfermedad de Von Willebrand [20]. Posteriormente, se han publicado diversos estudios encaminados a la caracterización *in vitro* de las variantes genéticas detectadas en *GGCX* que dan lugar a diferentes fenotipos clínicos hemorrágicos, así como la demostración de un mecanismo de *splicing* alternativo en una nueva variante de *GF11B* (21,22). El continuo desarrollo y mejora de la tecnología CRISPR/Cas9 ha permitido su empleo en terapia génica, centrándose principalmente en la corrección de las variantes genéticas que afectan a los genes *F8* y *F9*. En estos casos, la edición se ha llevado a cabo en células madre pluripotentes inducidas (Induced Pluripotent Stem Cells, —iPSC—) derivadas de pacientes con inversiones en *F8* o variantes *missense* en *F9*, así como en iPSC, que posteriormente se han trasplantado en ratones inmunodeprimidos (23), en los que se observa la normalización de la hemostasia y la disminución de los tiempos de sangrado. Además, se han generado modelos murinos con variantes en *F9* corregidas tanto *in vivo* como *ex vivo* [14,25]. Por último, cabe destacar la corrección de variantes puntuales en *MPL*, que provocan la trombocitopenia congénita amegacariocítica (26).

Limitaciones de CRISPR/Cas9

Dado que la aplicación de CRISPR/Cas9 para la edición de células humanas es bastante reciente, todavía existen diversas limitaciones. Uno de los mayores obstáculos asociados a este sistema es la aparición de efectos *off-target*, es decir, variantes genéticas en regiones no deseadas del genoma. Para minimizar la posible aparición de *off-targets*, es importante seleccionar sgRNA optimizados y altamente específicos que solo sean com-

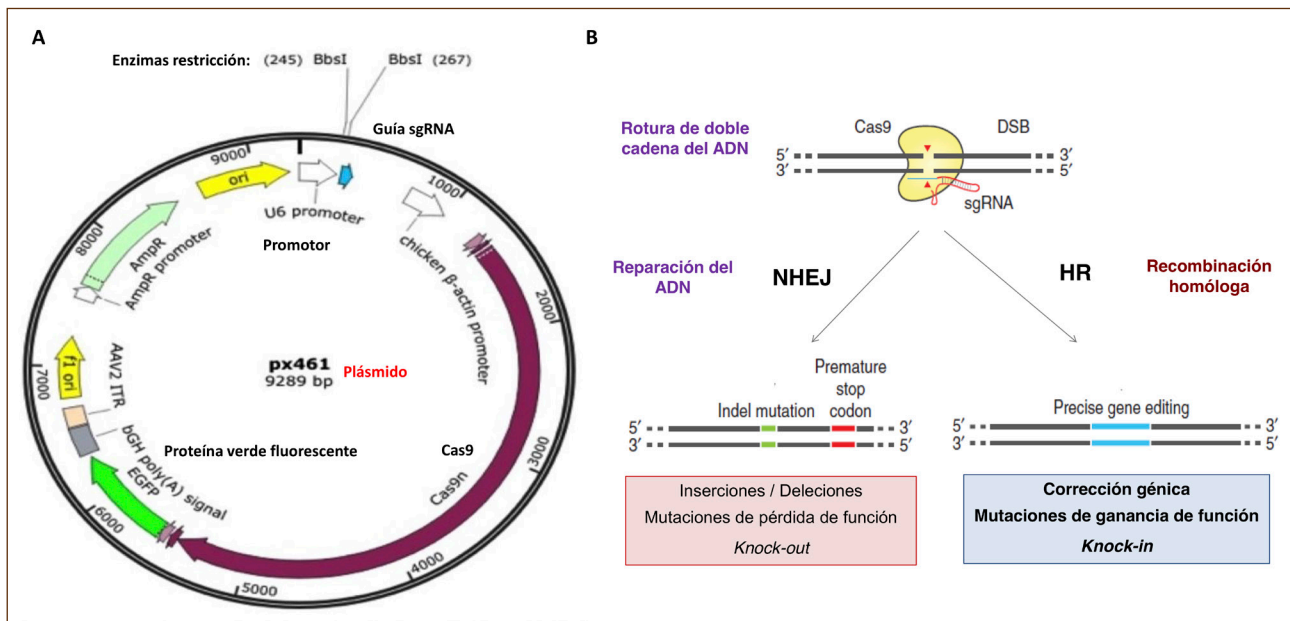


Figura 1. Sistema CRISPR/Cas9. A. Componentes. B. Mecanismos de reparación de la ruptura de doble cadena. PAM: secuencia de tres nucleótidos (NGG) que sigue a una secuencia de 20 nucleótidos de la región genómica a editar. B) Una vez introducido el sistema en la célula, se producirá una ruptura en el ADN de doble cadena mediada por la nucleasa Cas9 en la región complementaria a la guía situada upstream de la secuencia PAM y se activarán los mecanismos endógenos de reparación de las rupturas de doble cadena: NHEJ: unión de extremos romos mediante incorporación (inserciones) o eliminación de nucleótidos (deleciones) que dan lugar a un codón de parada que pueda truncar la proteína diana, generando de esta forma un knock-out. HR: mecanismo de reparación que utiliza una secuencia homóloga como molde para una reparación precisa ya que integra un molde específico para la reparación junto con los componentes del sistema CRISPR/Cas9.

plementarios a la secuencia diana. Además, la reciente implementación del sistema CRISPR/Cpf1 (Cas12a) ha permitido una mejora de la especificidad y la reducción de las alteraciones *off-target* (27). El empleo de CRISPR/Cas9 para la corrección de variantes puntuales en las células de pacientes presenta también un importante reto debido a que la mayoría de tipos celulares emplean preferentemente el mecanismo NHEJ para la reparación de la ruptura de doble cadena generada por la Cas9 en lugar de HR, necesario para la corrección de la alteración genética (27). Actualmente, están investigándose numerosas estrategias para mejorar la eficiencia de HR mediante la modificación del molde necesario para la reparación, inhibición transitoria de alguno de los componentes del mecanismo NHEJ para favorecer HR o bien mejora de los métodos de transfección (27). Finalmente, estudios recientes han objetivado que la edición genómica mediante CRISPR/Cas9 induce una activación de la respuesta al daño en el ADN y arresto del ciclo celular dependiente de p53. De esta forma, algunos de los clones editados con disfunción en p53 podrían tener una ventaja selectiva frente a las células con p53 *wild-type*. Por lo tanto, la aplicación de CRISPR/Cas9 para corregir variantes genéticas puntuales en células humanas debería utilizarse con cautela y siguiendo una monitorización exhaustiva de la funcionalidad de p53 en las células editadas con el fin de evitar la selección de clones con anomalías en p53 que podrían aumentar el riesgo de la aparición de neoplasias secundarias (28,29).

Células madre pluripotentes inducidas

Las células madre pluripotentes humanas (human Pluripotent Stem Cells, —hPSC—) engloban a las células madre embrionarias humanas (human Embryonic Stem Cells —hESC—) y a las iPSC. Las hESC se aislaron por primera vez en 1998 a partir de la masa celular interna de embriones humanos, mientras que las iPSC fueron generadas a través de un proceso de reprogramación celular a partir de células somáticas adultas (30).

Fundamentos de iPSC

A pesar de su diferente origen ambos tipos celulares comparten una serie de propiedades comunes, como la autorrenovación, la capacidad de mantenerse en cultivo en estado indiferenciado durante largos periodos de tiempo y la pluripotencia o potencialidad de diferenciarse de cualquier tipo celular embrionario humano, incluidas las células madre hematopoyéticas (HSC) (30). Las iPSC pueden generarse a partir de diferentes células somáticas adultas utilizando varias estrategias de reprogramación (vectores de expresión, ARN, proteínas, etc.) (31). Desde la generación de este tipo celular se consideró la posibilidad de reprogramar células de pacientes de diferentes patologías que sirvieran como modelos celulares *in vitro* para entender los mecanismos moleculares de la enfermedad (31). Además, son un sistema ideal donde evaluar la funcionalidad de diferentes terapias farmacológicas o genéticas

antes de acudir a modelos animales o ensayos en humanos (31). Debido a ello, sus posibles aplicaciones en áreas de investigación, como la biología del desarrollo, la medicina regenerativa, la farmacología y la fisiopatología, están siendo cada vez más frecuentes.

Aplicaciones de iPSC

El interés en el campo de las coagulopatías congénitas ha crecido paralelamente a la mejora de los protocolos de diferenciación celulares hacia megacariocitos y plaquetas a partir de hPSC. Desde el primer trabajo en el que se producían pocos megacariocitos de forma muy ineficiente hasta nuestros días son muchos los avances que han posibilitado la generación de megacariocitos y plaquetas funcionales a partir de hPSC, ya sea usando un sistema optimizado de cocultivo en líneas celulares estromales de origen animal o bien empleando la sobreexpresión de SCL/TAL1 como potenciador de la producción de megacariocitos y plaquetas *in vitro* (32-34).

En el momento actual, son varias las coagulopatías congénitas, especialmente los TPC, que ya han sido modelados mediante reprogramación celular, como el síndrome de Bernard Soulier (SBS) o el síndrome de Wiskott-Aldrich, entre otros (35-38). En la actualidad, están restaurándose las variantes genéticas encontradas en pacientes con SBS utilizando técnicas de terapia celular y edición génica en las células iPSC con la idea de aplicar dicho conocimiento en el desarrollo de un tratamiento curativo basado en la modificación genética y autotrasplante de células madre hematopoyéticas. Ya hemos visto la aplicación de esta metodología conjunta con CRISPR/Cas9 en HA y HB (14,23).

Limitaciones de iPSC

Sin embargo, hay varios retos que debemos considerar en relación a las iPSC. En primer lugar, las iPSC son más variables que las hESC en cuanto a nivel de metilación y de expresión transcripcional y, además, algunas iPSC pueden retener memoria epigenética del tipo celular empleada para su generación (31). En segundo lugar, las iPSC presentan una mayor inestabilidad genómica que las hESC. Este hecho puede venir originado por la heterogeneidad de la muestra de partida utilizada, alteraciones ocurridas durante el proceso de reprogramación o posteriormente por su manipulación y cultivo (39).

Terapia génica en hemofilia

En cuanto a las coagulopatías congénitas, la hemofilia A y B han sido las estrellas principales en relación con el avance de la terapia génica. Desde los primeros ensayos de terapia génica en los años noventa se han utilizado diferentes estrategias para la transfección del gen de interés mediante vectores virales (13). En la actualidad existen numerosos ensayos clínicos abiertos sobre terapia génica en hemofilia (Tabla III). La terapia génica en HA es un reto debido al tamaño del *F8* transgénico. En la mayoría de los ensayos se selecciona el dominio B, lo que hace posible la inclusión del gen en el vector AAV (13). En cuanto a la HB, podemos encontrar tanto la aplicación de vectores virales, CRISPR/Cas9 como iPSCs. De los más destacados fue la utilización de AAV con el FIX Padua (R338L) en 10 pacientes con HB grave.

Esta variante está relacionada con estados trombofílicos y que confiere una actividad de FIX específica 8 veces superior a la de la variante normal, con lo que, aunque solo se exprese una pequeña fracción de la proteína, su actividad será muy superior. Los resultados obtenidos mostraron un incremento mantenido del factor coagulativo endógeno acompañado de la reducción de las tasas de sangrado (40).

Conclusiones y perspectivas

En los últimos años hemos podido observar el gran avance científico en cuanto al desarrollo de modelos para entender los mecanismos moleculares de las coagulopatías congénitas, así como la evolución en la terapia génica dirigida a ellas, demostrando su eficacia y seguridad en numerosos ensayos clínicos. Sin embargo, quedan muchos desafíos, como la genotoxicidad derivada de los vectores y/o edición genómica, el abordaje de las respuestas inmunes tras la administración de vectores, la respuesta inmune adaptativa, el serotipo de AAV a emplear o el uso concomitante de otros fármacos, hasta cuestiones polémicas desde un punto de vista ético y económico. Finalmente, los resultados obtenidos en estos últimos años, la velocidad con la que se consiguen y el avance continuo y el esfuerzo por la comunidad científica justifican el optimismo para poder incorporar estas terapias como parte de nuestro arsenal terapéutico.

Bibliografía

1. Blanchette VS, Key NS, Ljung LR, et al. Subcommittee on Factor VIII, Factor IX and Rare Coagulation Disorders. Definitions in hemophilia: communication from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost* 2014;12:1935-9.
2. Nurden AT, Nurden P. Inherited disorders of platelet function: selected updates. *J Thromb Haemost* 2015;13:S2-9.
3. Bastida JM, Palma-Barqueros V, Lozano ML, et al. A modern approach to the molecular diagnosis of inherited bleeding disorders. *J Mol Genet Med* 2018;12:322.
4. Bastida JM, González-Porras JR, Jiménez C, et al. Application of a molecular diagnostic algorithm for haemophilia A and B using next-generation sequencing of entire *F8*, *F9* and *VWF* genes. *Thromb Haemost* 2017;117:66-74.
5. Bastida JM, del Rey M, Lozano ML, et al. Design and application of a 23-gene panel by next-generation sequencing for inherited coagulation bleeding disorders. *Haemophilia* 2016;22:590-7.
6. Bastida JM, Lozano ML, Benito R, et al. Introducing high-throughput sequencing into mainstream genetic diagnosis practice in inherited platelet disorders. *Haematologica* 2018;103:148-62.
7. Livnat T, Barg AA, Levy-Mendelovich S, et al. Rare bleeding disorders—old diseases in the era of novel options for therapy. *Blood Cells Mol Dis* 2017;67:63-8.
8. Dunbar CE, High KA, Joung JK, et al. Gene therapy comes of age. *Science* 2018;359.
9. Maeder ML, Gersbach CA. Genome-editing Technologies for Gene and Cell Therapy. *Mol Ther* 2016;24:430-46.
10. Sharon D, Kamen A. Advancements in the design and scalable production of viral gene transfer vectors. *Biotechnol Bioeng* 2018;115:25-40.
11. Ylä-Herttua S. Endgame: glybera finally recommended for approval as the first gene therapy drug in the European union. *Mol Ther* 2012;20:1831-2.

12. Milone MC, O'Doherty U. Clinical use of lentiviral vectors. *Leukemia* 2018;32:1529-41.
13. VandenDriessche, Chuah MK. Hemophilia Gene Therapy: Ready for Prime Time? *Hum Gene Ther* 2017;28:1013-23.
14. Lyu C, Shen J, Wang R, et al. Targeted genome engineering in human induced pluripotent stem cells from patients with hemophilia B using the CRISPR-Cas9 system. *Stem Cell Res Ther* 2018;9:92.
15. Naldini L. Gene therapy returns to centre stage. *Nature* 2015;526:351-60.
16. Howarth JL, Lee YB, Uney JB. Using viral vectors as gene transfer tools (Cell Biology and Toxicology Special Issue: ETCS-UK 1 day meeting on genetic manipulation of cells). *Cell Biol Toxicol* 2010;26:1-20.
17. David RM, Doherty AT. Viral Vectors: The Road to Reducing Genotoxicity. *Toxicol Sci* 2017;155:315-25.
18. Lander ES. The Heroes of CRISPR. *Cell* 2016;164:18-28.
19. Hsu PD, Lander ES, Zhang F. Development and applications of CRISPR-Cas9 for genome engineering. *Cell* 2014;157:1262-78.
20. Hai T, Teng F, Guo R, et al. One-step generation of knockout pigs by zygote injection of CRISPR/Cas system. *Cell Res* 2014;24:372-5.
21. Tie JK, Carneiro JD, Jin DY, et al. Characterization of vitamin K-dependent carboxylase mutations that cause bleeding and nonbleeding disorders. *Blood* 2016;127:1847-55.
22. Polfus LM, Khajuria RK, Schick UM, et al. Whole-Exome Sequencing Identifies Loci Associated with Blood Cell Traits and Reveals a Role for Alternative GFI1B Splice Variants in Human Hematopoiesis. *Am J Hum Genet* 2016;99:785.
23. Park CY, Kim DH, Son JS, et al. Functional Correction of Large Factor VIII Gene Chromosomal Inversions in Hemophilia A Patient-Derived iPSCs Using CRISPR-Cas9. *Cell Stem Cell* 2015;17:213-20.
24. Singh K, Evens H, Nair N, et al. Efficient In Vivo Liver-Directed Gene Editing Using CRISPR/Cas9. *Mol Ther* 2018;26:1241-54.
25. Huai C, Jia C, Sun R, et al. CRISPR/Cas9-mediated somatic and germline gene correction to restore hemostasis in hemophilia B mice. *Hum Genet* 2017;136:875-83.
26. Cleyrat C, Girard R, Choi EH, et al. Gene editing rescue of a novel MPL mutant associated with congenital megakaryocytic thrombocytopenia. *Blood Adv* 2017;1:1815-26.
27. Wu WY, Lebbink JHG, Kanaar R, et al. Genome editing by natural and engineered CRISPR-associated nucleases. *Nat Chem Biol* 2018;14:642-51.
28. Haapaniemi E, Botla S, Persson J, et al. CRISPR-Cas9 genome editing induces a p53-mediated DNA damage response. *Nat Med* 2018.
29. Ihry RJ, Worringer KA, Salick MR, et al. p53 inhibits CRISPR-Cas9 engineering in human pluripotent stem cells. *Nat Med* 2018;24:939-46.
30. Takahashi K, Yamanaka S. A decade of transcription factor-mediated reprogramming to pluripotency. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2016;17:183-93.
31. Kim C. Disease modeling and cell based therapy with iPSC: future therapeutic option with fast and safe application. *Blood Res* 2014;49:7-14.
32. Moreau T, Evans AL, Vázquez L, et al. Large-scale production of megakaryocytes from human pluripotent stem cells by chemically defined forward programming. *Nat Commun* 2016;7:11208.
33. Sugimoto N, Eto K. Platelet production from induced pluripotent stem cells. *J Thromb Haemost* 2017;15:1717-27.
34. Toscano MG, Navarro-Montero O, Ayllon V, et al. SCL/TAL1-mediated transcriptional network enhances megakaryocytic specification of human embryonic stem cells. *Mol Ther* 2015;23:158-70.
35. Ingrungruanglert P, Amarinthnukrowh P, Rungsiwiwut R, et al. Wiskott-Aldrich syndrome iPSC cells produce megakaryocytes with defects in cytoskeletal rearrangement and proplatelet formation. *Thromb Haemost* 2015;113:792-805.
36. López-Onieva L, Montes R, Lamolda M, et al. Generation of induced pluripotent stem cells (iPSCs) from a Bernard-Soulier syndrome patient carrying a W71R mutation in the GPIX gene. *Stem Cell Res* 2016;16:692-5.
37. López-Onieva L, Machuca C, Lamolda M, et al. Generation of a human induced pluripotent stem cell (iPSC) line from a Bernard-Soulier syndrome patient with the mutation p.Asn45Ser in the GPIX gene. *Stem Cell Res* 2016;17:603-6.
38. López-Onieva L, Lamolda M, Montes R, et al. Induced pluripotent stem cells derived from Bernard-Soulier Syndrome patient's peripheral blood cells with a p.Phe55Ser mutation in the GPIX gene. *Stem Cell Res* 2017;20:10-3.
39. Turinetto V, Orlando L, Giachino C. Induced Pluripotent Stem Cells: Advances in the Quest for Genetic Stability during Reprogramming Process. *Int J Mol Sci* 2017;18.
40. George LA. Hemophilia gene therapy comes of age. *Blood Adv* 2017;1:2591-9.

Impacto de las nuevas aproximaciones terapéuticas en hemofilia

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

Introducción

La hemofilia es una enfermedad hereditaria causada por la deficiencia del factor (F) FVIII, en el caso de la hemofilia A, y del FIX, en el caso de la hemofilia B. La aparición de los concentrados del factor deficitario para el tratamiento de la enfermedad consiguió que esta población aumentara su esperanza de vida y mejorara su estado articular, algo más evidente desde la instauración de los protocolos de profilaxis (1).

Sin embargo, aún existen muchas barreras para su correcto cumplimiento, entre otras, la necesidad de administrar los concentrados del factor deficitario por vía intravenosa, así como el elevado número de infusiones que se requiere. Otra de las desventajas de los concentrados actuales es que un 30%-40% de los pacientes con hemofilia A y un 5-9% con hemofilia B desarrollarán un inhibidor, lo que aumenta la morbimortalidad y supone un mayor coste del tratamiento (2,3). Para disminuir el número de infusiones intravenosas se han desarrollado en los últimos años nuevos concentrados de FVIII y de FIX con una $t_{1/2}$ más larga denominados EHL (del inglés *Extended Half Life*) (4).

Paralelamente, y con el propósito de disponer de tratamientos más eficaces para los pacientes con inhibidor, están desarrollándose nuevas moléculas con diferentes dianas terapéuticas capaces de generar trombina sin necesidad de reponer el factor deficitario. Dichas moléculas tienen un mecanismo de acción completamente diferente, pues restauran la hemostasia estimulando directamente la producción de trombina, como lo hace el emicizumab, o disminuyendo la síntesis de anticoagulantes naturales del plasma, como actúan el anti-TFPI o ALN-ATIII.

A su vez, en los últimos años se han alcanzado resultados prometedores en terapia génica.

Impacto de la utilización de EHL en pacientes con hemofilia

Los mecanismos utilizados para aumentar la $t_{1/2}$ de los concentrados han sido, por un lado, la unión a proteínas de fusión, como la Fc de la IgG1 o la albúmina y, por otro, la adición de moléculas de polietilenglicol. Los resultados de los ensayos clínicos realizados con estos concentrados en pacientes previamente tratados indican que puede prolongarse la $t_{1/2}$ de 3 a 5 veces en el caso del FIX y de 1,4 a 1,5 veces en el caso del FVIII. En este último, la menor prolongación de la $t_{1/2}$ se debe a que precisa del factor Von Willebrand (FvW) para su estabilización y transporte.

En el caso de los concentrados de FVIII, amparándose en esta característica de $t_{1/2}$ prolongada, ha surgido en los últimos cinco

años un gran arsenal de productos que muchas veces hace difícil la correcta elección del mejor concentrado para el tratamiento de cada paciente (5).

Recientemente, un grupo de expertos definía las características que debería tener un concentrado de FVIII para ser considerado un EHL. En este sentido, debe cumplir tres características: la primera, utilizar una tecnología destinada a aumentar la $t_{1/2}$. En segundo lugar, que el área bajo la curva (AUC, del inglés *Area Under Curve*) esté por encima de los rangos de equivalencia establecidos por la ISTH; es decir, por encima de 1,25. Finalmente, que la ratio de $t_{1/2}$ esté por encima de 1,3. Para definir estos dos últimos parámetros, es necesario tener un estudio de farmacocinética (PK) bien diseñado en el que se demuestre que es un EHL; es decir, que en un grupo de pacientes se realice un estudio de PK con un concentrado de $t_{1/2}$ estándar (SHL, del inglés *Standard Half Life*) y, tras un periodo de lavado, se realice en esos mismos pacientes una nueva PK con el nuevo concentrado (6).

Los únicos concentrados que cumplen estas premisas son los que utilizan la pegilación o la unión a la fracción constante de la inmunoglobulina para aumentar su $t_{1/2}$ (Tabla I).

En cuanto a los EHL de FIX el avance ha sido mucho más espectacular. En la tabla II pueden verse las características los concentrados de EHL de FIX.

Si revisamos qué impacto puede haber tenido estos concentrados en el manejo del paciente con hemofilia tendríamos los siguientes:

Consecuencias de la utilización de concentrados de EHL del FVIII

Mayor protección frente al sangrado y mejora en la salud articular

Los concentrados de EHL del FVIII tienen una PK mejorada en todos sus parámetros. Si analizamos la $t_{1/2}$, quizás es el parámetro menos alentador. No obstante, hemos conseguido mayores niveles valle, lo que conlleva menos sangrados espontáneos, y una mayor AUC, que hará que los pacientes tengan menos sangrados subclínicos y, por lo tanto, menos artropatía. Esta mejora en la salud articular de los pacientes tratados con EHL, concretamente con rFVIIIIFc, ha sido recientemente publicada por Oldenburg *et al.* En dicho trabajo se evaluó el estado articular de los pacientes que habían recibido rFVIIIIFc como tratamiento profiláctico, tanto dentro del estudio pivotal como durante el estudio de extensión. Los resultados de la evaluación pusieron de manifiesto una mejora continua, independientemente del régimen de tratamiento, antes de entrar en el estudio (demanda o profilaxis), y lo que es más

Tabla I. Características de los EHL del FVIII

Producto	Compañía	Tecnología	Línea celular	t _{1/2} (h)	Mejora t _{1/2}	Ensayos		
						Adultos	Pediátricos	PUP
rFVIII-Fc Elocta®	Biogen Idec	Fusión con fragmento Fc de la IgG1	HEK293H	19,7 ± 2,3	1,5 veces	Aprobado por la FDA en 2014	Finalizado (NCT01458106)	En desarrollo (NCT02234323)
Bay 94-9027	Bayer Healthcare	Pegilación dirigida con PEG de 60 kDa en el dominio A3	BHK	19	1,5-1,6 veces	Ensayo fase III completado (NCT01580293)	En desarrollo (NCT01775618)	No
BAX 855 Adynovi®	Shire	Pegilación química en lisinas específicas con PEG de 20 kDa	CHO	14,7 ± 3,8	1,4 veces	Aprobado por la FDA en 2015	Finalizado (NCT02210091)	En desarrollo (NCT02615691)
N8-GP	Novo-Nordisk	Glicopegilación dirigida con PEG modificada ácido siálico de 40 kDa en el dominio B	CHO	19	1,5-1,6 veces	Ensayo fase III completado (NCT01480180)	En desarrollo (NCT01731600)	En desarrollo (NCT02137850)

Tabla II. Características de los EHL de FIX

Producto	Compañía	Tecnología	Línea celular	t _{1/2} (h)	Mejora t _{1/2}	Ensayos		
						Adultos	Pediátricos	PUP
rIX-FP	CSL Behring	Fusión con albúmina recombinante	CHO	92 - 95	5 veces	Aprobado por la FDA y la EMA	Finalizado (NCT01662531)	En desarrollo (NCT02053792)
FIX-Fc	Biogen Idec	Fusión con fragmento Fc de la IgG1	HEK293H	56,7 - 82.1	3-5 veces	Aprobado por la FDA y la EMA	Finalizado (NCT01440946)	En desarrollo (NCT02234310)
N9-GP	Novo-Nordisk	Pegilación dirigida con PEG de 40 kDa	CHO	93	6 veces	Aprobado por la FDA y la EMA	Finalizado (NCT01467427)	En desarrollo (NCT02141074)

importante: estos beneficios se vieron también en pacientes con articulaciones diana y con artropatía grave (7).

Reducción en el número de infusiones

La reducción del número de infusiones conducirá a una mejora en la calidad de vida y, probablemente, a una mayor adherencia al tratamiento. En la mayoría de los pacientes hemos logrado reducir el número de infusiones semanales, de 3 veces/semana (que supone unas 156-182 infusiones al año) a 2 veces/semana (lo que supone 104 infusiones/año). Esto ha sido valorado por los pacientes como una mejora en su calidad de vida al permitirles llevar una vida más activa con una mayor participación en los deportes y en las actividades de ocio (8).

Realizar una profilaxis coste-efectiva

En la práctica clínica habitual se ha comprobado que en la mayoría de los pacientes adultos tratados con EHL de FVIII puede reducirse un 30% el consumo manteniendo niveles valle más altos y, por tanto, teniendo una mayor prevención frente al sangrado.

Consecuencias de la utilización de los concentrados de EHL del FIX

Las ventajas para los pacientes con hemofilia B han sido mucho mayores.

Mayor prevención del sangrado con administraciones cada 7, 14 o 21 días

La PK de los EHL de FIX se traduce en un aumento en la t_{1/2} de 3 a 5 veces con mayor AUC y mayores niveles valle. Esto hace que los pacientes puedan recibir su profilaxis cada 7, 14 o 21 días manteniendo niveles valle superiores a los que obtenemos con los concentrados de SHL. En el estudio pivotal de rFIXFP se alcanzaban niveles valle superiores a un 12% cuando se administraba una dosis de 75 UI/kg cada 14 días, y en el pivotal del N9-GP se mantenían niveles valle de un 27% administrando 40 UI/kg una vez a la semana (9-11).

Seguridad hemostática en cirugía con menos infusiones

Los tres concentrados de EHL-FIX tienen muy buenos resultados en cirugía, tanto en procedimientos invasivos menores como

en cirugía ortopédica, ya que administrando el concentrado a dosis más bajas y más espaciadas que las utilizadas para este tipo de procedimientos con los SHL son capaces de mantener niveles plasmáticos de FIX similares a cuando administramos un SHL en infusión continua.

Reducción en el consumo de factor de hasta un 40-50%

En la mayoría de los pacientes incluidos en los ensayos clínicos, así como en los que están tratados con estos productos según práctica clínica habitual, se ha demostrado un ahorro de un 40-50%. Desafortunadamente, los concentrados de EHL de FIX no han conseguido precio reembolso por el Ministerio de Sanidad en España.

Impacto de los tratamientos con otras dianas terapéuticas

Hasta ahora, los pacientes con inhibidor eran los que acumulaban una mayor discapacidad y los que presentaban un riesgo mayor de tener hemorragias de riesgo vital. En este contexto han surgido alternativas mucho más eficaces y de administración subcutánea, mucho más cómoda para el paciente.

Los productos que actualmente se encuentran en fases más avanzadas de desarrollo son un anticuerpo monoclonal humanizado biespecífico que mimetiza la acción del FVIII y, por lo tanto, solo útil para pacientes con hemofilia A (Emicizumab), recientemente aprobado por la FDA y la EMA; un anticuerpo monoclonal dirigido contra el inhibidor del TFPI (Concizumab), y un RNA de interferencia (RNAi) de la ATIII (Fitusiran) (12-14). Los tres productos tienen como características comunes una $t_{1/2}$ mucho más larga que la de otros productos utilizados para los pacientes con inhibidor y una vía de administración mucho más cómoda, la subcutánea.

Consecuencias de la utilización del Emicizumab

La eficacia y la seguridad de Emicizumab administrado como tratamiento profiláctico en el paciente con hemofilia e inhibidor han sido evaluadas en dos ensayos clínicos, uno llevado a cabo en adolescentes y adultos (HAVEN-1) y otro en población pediátrica (HAVEN-2). Ambos han ofrecido resultados excepcionales en cuanto a eficacia se refiere.

El estudio de adultos mostró una disminución de la tasa anualizada de sangrados (TAS) de un 87 al 79%, dependiendo de si el régimen previo del paciente era tratamiento a demanda o profilaxis con agente *bypass*, y, además, hasta casi un 70% de los pacientes no tuvo sangrado (12). En cuanto al estudio pediátrico, HAVEN-2, los resultados fueron aún mejores que los obtenidos en la población adulta. Un 94,7% de los pacientes no tuvo episodios hemorrágicos que requirieran tratamiento durante el tiempo que duró el estudio (15). Una vez que ha disminuido la preocupación sobre los eventos graves ocurridos en uno de los estudios con Emicizumab, este anticuerpo monoclonal se posiciona como una de las terapias más prometedoras para nuestros pacientes.

La consecuencia del uso de Emicizumab será un cambio radical en la morbimortalidad del paciente con inhibidor. Su alta eficacia se traducirá en una mejora en el estado articular y una

disminución de los sangrados de riesgo vital. Además, mejorará la calidad de vida de estos pacientes, no solo por todo lo anterior, sino porque, además, es de administración subcutánea.

Consecuencias de la utilización de Concizumab

El anticuerpo monoclonal anti-TFPI se encuentra en una fase de desarrollo más inicial, pero también con muy buenos resultados. Tiene como ventaja que es útil tanto en pacientes con hemofilia A como con hemofilia B, y con o sin inhibidor. Viene a cubrir un hueco muy importante para el tratamiento de los pacientes con hemofilia B e inhibidor en los que había muy pocas alternativas disponibles. Igualmente, es de administración subcutánea.

Consecuencias de la utilización del Fitusirán

El desarrollo clínico del Fitusirán está parado por la EMA tras el fallecimiento de un paciente en uno de los ensayos clínicos. Las ventajas de este producto es que, debido a su mecanismo de acción, es útil en pacientes con hemofilia A y con hemofilia B con o sin inhibidor, así como en pacientes diagnosticados de otros trastornos de la coagulación menos frecuentes.

Terapia génica

En los últimos años varios grupos han mostrado muy buenos resultados en los ensayos clínicos con terapia génica. La mayoría de los pacientes pudo dejar la profilaxis manteniendo niveles suficientes para prevenir el sangrado espontáneo, aunque no lo suficiente como para disminuir el número de sangrados traumáticos (16). El impacto que tendrá esta nueva estrategia terapéutica en los países desarrollados aún no está definido.

Conclusiones

Los avances conseguidos en los últimos años con las nuevas terapias han sido espectaculares. Los concentrados EHL ya han demostrado mejorar la salud articular de los pacientes y reducir el número de infusiones. Todo ello conducirá a una mejoría importante en su calidad de vida y, posiblemente, a una mayor adherencia al tratamiento.

Además, en pocos meses tendremos disponible el Emicizumab para el tratamiento del paciente con hemofilia e inhibidor. Esto constituirá un cambio muy importante, fundamentalmente por su elevada eficacia, pero también por la administración subcutánea.

Las otras estrategias descritas, como el Concizumab, están en fases más incipientes de desarrollo, pero sin duda alguna darán respuesta a necesidades no cubiertas, como, por ejemplo, el tratamiento del paciente con hemofilia B e inhibidor.

Asimismo, es posible que en los próximos años tengamos un mayor arsenal terapéutico con nuevas moléculas, como el Fitusirán, o nuevas estrategias, como la terapia génica.

Bibliografía

1. Nilsson IM, et al. Twenty-five years' experience of prophylactic treatment in severe haemophilia A and B. *J Intern Med* 1992;232(1): 25-32.

Nuevos mecanismos patogénicos en la enfermedad tromboembólica arterial y venosa

COORDINADORES: **Dra. Pilar Medina Badenes**, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, Valencia
Dra. Rosario López Pedrera, Instituto Maimónides de Investigación Biomédica, Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba

Este simposio presenta un análisis pormenorizado de nuevos mecanismos patogénicos subyacentes a la enfermedad tromboembólica.

En la primera ponencia, el Dr. Christoph Reinhardt, del Center for Thrombosis and Haemostasis (University Medical Center Mainz, Johannes Gutenberg University of Mainz, Alemania) revisará los últimos hallazgos relativos al papel de la microbiota en el desarrollo de aterosclerosis y trombosis.

Estudios recientes han mostrado un inesperado vínculo entre la dieta, la microbiota intestinal y la salud cardiovascular. El tracto gastrointestinal, con su enorme número de microorganismos, es un potencial contribuyente a diversos procesos patológicos a nivel sistémico, causando fenotipos cardiometabólicos de aterosclerosis, obesidad y diabetes tipo 2. Ciertos nutrientes de la dieta, como la fosfatidilcolina, la colina y la carnitina, son procesados específicamente por la microbiota intestinal para producir trimetilamina (TMA). Esta es absorbida en el intestino y convertida en N-óxido de TMA (TMAO) en el hígado por la enzima flavina monooxigenasa. El TMAO, a su vez, induce activación y agregación plaquetaria, promoviendo el desarrollo de eventos trombóticos. De hecho, se ha demostrado una asociación entre los componentes de la dieta, los niveles de TMAO y el desarrollo de enfermedades aterotrombóticas.

Por tanto, el conocimiento del rol de la microbiota en este proceso patológico, así como el de los nutrientes procedentes de la dieta, otorga la oportunidad de diseñar estrategias preventivas enfocadas a la reducción de los óxidos de TMA para evitar complicaciones cardiovasculares mayores.

En la segunda ponencia, el Dr Tobias Fuchs, del Institute of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Alemania), se centrará en el análisis del papel de las NET en el desarrollo de trombosis venosa y arterial y su potencial como diana terapéutica.

Hace casi una década, se describió que los neutrófilos despliegan un mecanismo extracelular que les permite confinar y destruir microorganismos. Este novedoso mecanismo consiste en la liberación de estructuras en forma de redes, denominadas trampas extracelulares de neutrófilos (NET), compuestas por ADN, histonas y otras proteínas antimicrobianas, en respuesta a la presencia de microorganismos patógenos. Asimismo, las NET se forman también en respuesta a distintos estímulos inflamatorios, como ocurre en las vasculitis de pequeños vasos, la preeclampsia y en diferentes tipos de tumores. En las enfermedades cardiovasculares, las NET intervienen en el proceso de trombosis promoviendo la activación y la agregación plaquetaria, sirviendo de soporte a los eritrocitos e induciendo la generación de trombina y del depósito de fibrina. De hecho, diversos estudios han demostrado que la formación de NET está asociada al desarrollo de enfermedad coronaria arterial y eventos cardíacos adversos. Las NET podrían, pues, considerarse biomarcadores de predicción de riesgo cardiovascular.

Por todo ello, el conocimiento del rol de las NET en la fisiopatología trombótica ofrece nuevas posibilidades para prevenir la trombosis y mejorar el tratamiento trombolítico.

Finalmente, la tercera ponencia la presenta la Dra. Silvia Navarro Rosales, del Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, de Valencia. Versará sobre la utilidad de técnicas de nueva generación, como la proteómica y la metabolómica, en la identificación de biomarcadores de riesgo trombótico.

La enfermedad tromboembólica venosa (ETV) es una enfermedad multifactorial, responsable de una morbilidad y mortalidad muy elevadas. Se han investigado varios biomarcadores plasmáticos con resultados variables, de forma que la identificación de un nuevo marcador específico de diagnóstico simple y eficaz para la ETV sigue siendo un desafío. Nuevas tecnologías ómicas, como el perfil metabolómico (cuyo objetivo es detectar alteraciones en los niveles de diferentes biofluidos como reflejo de factores regulados por la genética, estados patológicos, factores ambientales, tipo de dieta y medicamentos para asociarlos con la enfermedad) o la proteómica de alto rendimiento (cuyo fin es identificar nuevas proteínas implicadas en la coagulación y la fibrinólisis), constituyen nuevos enfoques para investigar enfermedades complejas como la ETV y permitir el desarrollo de tratamientos más individualizados. Esta ponencia presenta un análisis pormenorizado del estado del arte de estas nuevas tecnologías en el abordaje de la ETV.

CS-2. Implicación de MIR-146A en trombosis arterial a través de la regulación de trampas extracelulares de neutrófilos (NET)

Arroyo Rodríguez A. B.¹, de Los Reyes García A. M.¹, Fernández M. P.¹, del Monte A.², Andrés Manzano M. J.², Caleprico M. S.³, García-Barberá N.¹, Vicente V.⁴, Andrés V.³, González Conejero R.¹, Martínez C.¹

¹Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia. Centro Regional de Hemodonación. Murcia. Universidad de Murcia. IMIB-Arixaca. Murcia. ²Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares Carlos III (CNIC). Madrid. ³Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares Carlos III (CNIC). Madrid. CIBER de Enfermedades Cardiovasculares (CIBER-CV). Madrid. ⁴Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia. Centro Regional de Hemodonación. Murcia. Universidad de Murcia. IMIB-Arixaca. Murcia. CIBER Enfermedades raras CIBER-ER. Madrid

Introducción

La formación de trampas extracelulares de neutrófilos (NET) puede desencadenarse por una gran variedad de estímulos, tanto infecciosos como estériles, induciendo una respuesta procoagulante lo que constituye un vínculo entre inmunidad y trombosis. Sin embargo, todavía se desconoce en gran medida la regulación molecular de la NETosis. MiR-146a podría estar involucrado en este proceso debido a su función antiinflamatoria.

Objetivo

El objetivo de este estudio fue investigar el papel de miR-146a en la formación de NET y en el desarrollo de trombosis arterial.

Métodos

Se inyectó una dosis subletal (1 mg/kg) de lipopolisacárido (LPS) a ratones silvestres (wt) y miR-146a^{-/-} por vía intraperitoneal. Ratones carentes del receptor de LDL (Ldlr^{-/-}) trasplantados con médula ósea (MO) extraída de ratones wt o miR-146a^{-/-} se alimentaron con dieta grasa (HFD). Se extrajo sangre y se aisló el plasma antes y después de cada procedimiento (4 y 24h de LPS; 8 y 20 semanas de HFD). El ADN libre se cuantificó por SYTOX Green. Los niveles de elastasa (EN), especies reactivas de oxígeno (ROS) y complejos trombina-antitrombina (TAT) se midieron por ELISA. La histona H3 citrulinada (H3cit) se valoró por Western blot y análisis densitométrico e inmunofluorescencia (IF). La NETosis se midió in vitro en neutrófilos aislados de MO de ratones miR-146^{-/-} y wt, después de estimular con PMA (20 nM, 2h). Evaluamos la potencial diferencia en el desarrollo de trombosis arterial entre ratones wt y miR-146^{-/-}, midiendo el tiempo de oclusión del flujo sanguíneo en la arteria carótida tras inducir una lesión vascular con FeCl3.

Resultados

Tras estimulación con LPS, los niveles plasmáticos de DNA libre, EN y H3cit fueron significativamente mayores, en todos los tiempos, en los ratones miR-146a^{-/-} en comparación con los wt (Tabla I). Los niveles de ROS y TAT tras la activación con LPS aumentaron de forma similar en ambos grupos (Fig. 1). En el modelo de aterogénesis inducida con HFD, se observó un incremento significativo en los niveles plasmáticos de ADN libre y EN en los ratones Ldlr^{-/-} con MO miR-146a^{-/-} en comparación con wt, pero solo tras 8 semanas de HFD (Tabla I). Para confirmar estos datos, se está cuantificando la NETosis (colocalización EN/histonas) en placas ateroscleróticas de estos ratones por inmunohistoquímica. In vitro, tanto el incremento de ADN libre como el de H3cit fueron significativamente más elevados en los neutrófilos de ratones miR-146a^{-/-} que en los de wt. La IF confirmó estos niveles significativamente más elevados de H3cit en neutrófilos de miR-146a^{-/-} (ratio células positivas/tales: 5,14 ± 0,3 % vs 3,7 ± 0,4 % en wt, p < 0,001). Finalmente, en el modelo de

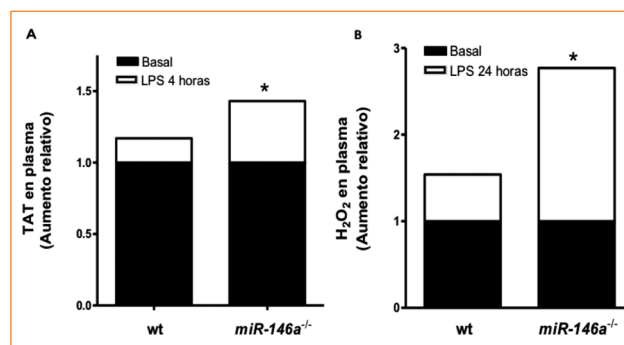


Figura 1.

Tabla I. Niveles de ADN libre, elastasa y H3cit en plasma de ratones sometidos a diferentes estímulos

	ADN libre (ng/mL)			Elastasa (ng/mL)			H3Cit (área densitométrica)		
	WT	miR-146a ^{-/-}	p	WT	miR-146a ^{-/-}	p	WT	miR-146a ^{-/-}	p
LPS 4 h	845,6 ± 294,4	1653,0 ± 216,5	< 0,01	1206,1 ± 99,2	1671,3 ± 95,6	< 0,01	7,8 × 107 ± 1,3 × 106	1,5 × 107 ± 4,6 × 106	< 0,001
LPS 24 h	76,2 ± 12,4	267,7 ± 51,7	< 0,05	1524,6 ± 61,2	2458,0 ± 57,1	< 0,001	1,7 × 106 ± 1,3 × 106	4,2 × 107 ± 1,3 × 106	< 0,05
HFD 8 sem.	177,3 ± 39,4	348,1 ± 73,0	< 0,05	113,0 ± 14,2	228,6 ± 32,6	< 0,05	-	-	-
HFD 20 sem.	367,7 ± 32,3	492,2 ± 35,8	ns	123,7 ± 22,7	164,4 ± 15,4	ns	-	-	-

trombosis con FeCl₃, el tiempo de oclusión del flujo carotideo fue inferior en ratones miR-146a^{-/-} en comparación con wt (374 ± 21 s vs, 452 ± 26 segundos, $p < 0,05$). La NETosis en los trombos generados se está analizando por inmunohistofluorescencia (EN/histonas).

Conclusiones

Este estudio demuestra que la deficiencia de miR-146a afecta significativamente a la formación de NET tanto in vitro como en

in vivo en modelos de sepsis y de aterosclerosis inducida por HFD. Estos datos sugieren que miR146a actúa como modulador de la trombosis mediada por la formación de NET.

Financiación: PI17-00051 (ISCIII y FEDER), 19873/GERM/15 (Fundación Séneca), Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia (SETH).

CS-3. Deficiencias de antitrombina “transitorias”, un nuevo concepto en trombofilias hereditarias

Bravo-Pérez C., Toderici M., de la Morena-Barrio B., Miñano A., Padilla J., Corral J., Vicente V., de la Morena-Barrio M. E.

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

Introducción

La deficiencia de antitrombina es la trombofilia hereditaria más grave. El estudio genético, restringido al gen codificante de la antitrombina (*SERPINC1*), suele reservarse para los casos en los que se demuestra de forma consistente una deficiencia de proteína y/o actividad anticoagulante en plasma. No obstante, este enfoque “clásico” presenta las limitaciones propias de los ensayos utilizados y podría pasar por alto deficiencias de antitrombina clínicamente relevantes, pero de expresión fluctuante, que designamos como deficiencias “transitorias”.

Objetivo

Identificar casos de deficiencia de antitrombina transitoria y caracterizar los mecanismos moleculares subyacentes.

Métodos

Revisión de una cohorte de 340 casos no relacionados con deficiencia de antitrombina, remitidos a nuestro centro durante un periodo de 20 años (1998-2018). La antitrombina plasmática se caracterizó mediante ensayos funcionales (sustratos cromogénicos) y bioquímicos (*Western blot*). Las deficiencias de antitrombina transitorias se definieron como aquellos casos con una determinación positiva (anti-FXa < 80%), no confirmada en al menos una segunda muestra o en el estudio realizado en nuestro laboratorio. El análisis de *SERPINC1* y genes de N-glicosilación, también implicados en la deficiencia de antitrombina, incluyó secuenciación (Sanger, *NGS*), *MLPA* y/o PCR con oligonucleótidos específicos. En casos seleccionados, los mecanismos patogénicos subyacentes se analizaron *in vitro* en un modelo de antitrombina recombinante, expresando en células HEK-EBNA las formas de antitrombina silvestre y variantes.

Resultados

Se identificaron 239 casos (70,3%) con deficiencia de antitrombina mantenida en todas las muestras analizadas, de los cuales 189 (79,1%) presentaban alteraciones en *SERPINC1* (103 variantes diferentes), 9 (3,8%) se explicaron por defectos de N-glicosilación y 41 (17,1%) no mostraron alteraciones moleculares.

En los 101 casos restantes (29,7%) la deficiencia de antitrombina fue transitoria. Se objetivaron mutaciones patogénicas en 31 de estos 101 casos (30,6%): 25 (24,7%) localizadas en *SERPINC1* (7 variantes distintas) y 6 (5,9%) con defectos de N-glicosilación. En los 70 casos restantes (69,4%) no se pudieron identificar alteraciones moleculares. Destacamos dos variantes genéticas recurrentes en *SERPINC1* asociadas con deficiencia de antitrombina transitoria: antitrombina Cambridge II (p.Ala416Ser, n = 10) y antitrombina Dublín (p.Val30Glu, n = 9). Distintos mecanismos moleculares justificaron la transitoriedad de la deficiencia de antitrombina en los portadores de estas mutaciones: sensibilidad del método diagnóstico empleado (n = 2), actuación de la variante como sustrato de la trombina (n = 10), cambio conformacional inducido en condiciones de estrés (n = 12) y/o sensibilidad a factores externos (n = 7).

Conclusiones

Nuestros resultados confirman que el estudio de *SERPINC1* ofrece un alto rendimiento diagnóstico cuando se analizan deficiencias de antitrombina mantenidas en diferentes determinaciones. Pero también muestran evidencias que cambian el paradigma de la trombofilia: un defecto molecular protrombótico puede mostrar su efecto patogénico de forma transitoria. Hasta un 30% de los casos con deficiencia de antitrombina fueron transitorios y, a su vez, el 30% presentaron base molecular, identificándose diferentes mutaciones en *SERPINC1*, dos de ellas recurrentes, y defectos de N-glicosilación. Distintos mecanismos explican la transitoriedad, desde limitaciones técnicas a la intervención de un factor adquirido que exacerba el efecto patogénico de una mutación. Destacamos finalmente tres implicaciones:

1. La deficiencia de antitrombina parece estar subestimada.
2. Debería realizarse un estudio más profundo de los casos con deficiencia de antitrombina transitoria.
3. Existe una nueva entidad en trombofilia, con un nuevo mecanismo que implica factores genéticos y ambientales, y que es de difícil diagnóstico.

Financiación: ISCIII-PII5/00079; Fundación Séneca-19873/GERM/15

Proteómica y metabolómica en la identificación de nuevos biomarcadores del riesgo trombótico: más allá del genoma

Navarro Rosales S., Fernández-Pardo Á., Martos L., Oto J., Plana E., Solmoirago M. J., España F., Medina P., Navarro S.

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

Introducción: ¿a qué nos enfrentamos?

Las enfermedades del sistema circulatorio representan un serio problema socio-sanitario y económico en los países desarrollados. Datos obtenidos del Instituto Nacional de Estadística (INE) correspondientes al año 2016 nos muestran cómo en España el grupo de enfermedades del sistema circulatorio representa la primera causa de mortalidad (con una tasa de 257,9 fallecidos por cada 100.000 habitantes). Además, separando por género, las enfermedades del sistema circulatorio fueron la principal causa de muerte en las mujeres y la segunda en los hombres. Según el gasto sanitario, los grupos de enfermedades que causaron más estancias hospitalarias fueron las enfermedades del aparato circulatorio (14,8% del total). Atendiendo a la morbilidad, las enfermedades del aparato circulatorio suponen la segunda causa de mortalidad en los hospitales españoles (20,5% del total), y se espera que aumente en las próximas décadas debido al envejecimiento de la población y a un aumento en las frecuencias de los factores de riesgo.

La enfermedad tromboembólica venosa (ETV) representa la tercera enfermedad más común del sistema circulatorio, después del infarto de miocardio y del accidente cerebrovascular isquémico, con más del 1% de la población bajo tratamiento anticoagulante. La ETV es un trastorno multifactorial, que resulta de la interacción de factores de riesgo tanto genéticos como ambientales (1,2). Las principales causas de trombofilia hereditaria identificadas incluyen: deficiencias plasmáticas de los anticoagulantes naturales antitrombina, proteínas C y S, las mutaciones factor V Leiden y protrombina g.20210G>A, ciertas disfibrirogenemias y niveles plasmáticos elevados de factor VIII. Sin embargo, aproximadamente un 40% de pacientes con ETV cursan sin factores de riesgo conocidos, y en un 20%-30% de los casos los pacientes desarrollan recurrencia en los 10 años siguientes, a pesar de estar en terapia anticoagulante. Por lo tanto, es necesario identificar factores de riesgo adicionales para comprender el mecanismo de la ETV, para administrar el tratamiento más adecuado al riesgo de cada paciente, mejorar su pronóstico y reducir la mortalidad.

Biomarcadores plasmáticos de la enfermedad tromboembólica venosa

El diagnóstico precoz y diferencial de ETV también es importante. La estrategia diagnóstica actual consiste principalmente en una evaluación clínica, la determinación de los niveles de dímeros-D y una ecografía de compresión. En este punto, los biomarcadores clínicos disponibles para la ETV, como niveles de dímeros-D, P-selectina y proteína C-reactiva, suponen un punto

desafiante, puesto que tienen una baja especificidad y un bajo valor predictivo positivo para la ETV, aunque alta sensibilidad (3-5). Es por ello que la identificación de biomarcadores plasmáticos específicos para la ETV es un objetivo prioritario a desarrollar en la investigación de esta patología, lo cual reportará un beneficio directo para los pacientes, que podrían beneficiarse de un tratamiento anticoagulante individualizado apropiado a su estado. Estudios recientes sobre los mecanismos que subyacen en el proceso trombótico han puesto de manifiesto la existencia de nuevos moduladores de la coagulación sanguínea, que incluyen proteínas de la fase de contacto (o también sistema quinina-caliceína) (6, 7), productos liberados por las células inflamatorias y necróticas (polifosfatos, histonas y ácidos nucleicos) (8-10), microRNAs (11), lipoproteínas (VLDL, HDL y LDL) y lípidos (fosfolípidos, esfingolípidos, etanolaminas, sulfatidas y acilcarnitinas) (12-15), incluso proteínas procedentes de patógenos (16).

Nuevos abordajes de la enfermedad tromboembólica venosa

Las técnicas ómicas, especialmente técnicas de metabolómica y proteómica, representan una herramienta avanzada para la detección de nuevos activadores/inhibidores de la coagulación que pueden influir sobre el riesgo trombótico, puesto que la sangre es el “primer órgano transportador” de metabolitos y proteínas.

La metabolómica ofrece un enfoque novedoso en la investigación biomédica al proporcionar una instantánea global de los cambios intracelulares asociados con un estado fisiológico o patológico particular, y que nos permite identificar pequeñas moléculas o metabolitos como biomarcadores específicos de la patología y dar más información del mecanismo fisiológico que la provoca. Además, estos metabolitos pueden reflejar con mayor precisión el estado funcional de un organismo, regulados no solo por la expresión genética, sino también por el estrés ambiental. Por lo tanto, el cambio en los niveles específicos de determinados metabolitos es un indicador del estado fisiopatológico de un individuo y podría explicar el mecanismo de enfermedades complejas, como la ETV.

Por otro lado, y de forma similar a la metabolómica, la identificación de proteínas procoagulantes y anticoagulantes, así como de factores profibrinolíticos y antifibrinolíticos, podrían ser marcadores importantes del riesgo de ETV. A su vez, estas proteínas podrían verse afectadas por factores genéticos y adquiridos, además de estar directamente relacionadas con procesos metabólicos y de regulación génica (modificaciones postraduccionales, glicosilaciones, fosforilaciones, epigenómica, etc.). En general, estos marcadores se miden tanto en química clínica como en laboratorios de investigación a través de ensayos basados en actividad o

anticuerpos, pero es interesante la aplicación de nuevas técnicas de proteómica que permitan identificar y cuantificar un alto número de proteínas de forma simultánea, sencilla, rápida y precisa, y con un bajo volumen de muestra, más allá de ELISA, *western-blot* o inmunohistoquímica.

Metabolómica y enfermedad tromboembólica venosa: ¿qué conocemos?

En los últimos años han ido apareciendo estudios de identificación de metabolitos asociados con la patología trombótica, de los que muchos son metabolitos lípidos con actividad procoagulante o anticoagulante. En un estudio piloto de metabolómica no dirigida en pacientes con ETV y controles sanos, Griffin y cols. (17) identificaron 2 metabolitos de la familia de las acilcarnitinas (AC) con niveles plasmáticos disminuidos en pacientes con ETV. Por ello, decidieron investigar el mecanismo de estas AC sobre la coagulación, y realizaron una cuantificación de varias AC de cadena larga (≥ 10 carbonos) en el plasma de pacientes con ETV y controles. Observaron que varias AC estaban disminuidas en el grupo de ETV, y, además, demostraron que ejercían un efecto anticoagulante al unirse e inhibir al factor X activado (FXa) con una inhibición proporcional al tamaño de las cadenas. En colaboración con el grupo del Dr. Griffin, hemos demostrado en 2 poblaciones independientes que el lípido glucosilceramida (GlcCer), que presenta actividades anticoagulantes, inmunomoduladoras y antiinflamatorias, está asociado con la enfermedad trombótica tanto venosa como arterial, de forma que niveles reducidos de este lípido aumentan el riesgo trombótico (18). Este glucoesfingolípido actúa como cofactor inhibidor de la coagulación, potenciando la actividad anticoagulante de la proteína C activada y reduciendo la generación de trombina. Cabe destacar que niveles disminuidos de GlcCer se asocian con un aumento en los niveles circulantes de ceramida, lo cual produce un aumento de la agregación de LDL sobre la pared celular y, por tanto, un aumento del proceso aterogénico.

También es interesante el estudio descrito por Deguchi y cols. (19), en el que aplicaron la metabolómica no dirigida para analizar el efecto de la warfarina sobre el metaboloma. Analizaron un grupo de pacientes con ETV antes y durante el tratamiento con warfarina, e identificaron 3 metabolitos de la familia de las etanolaminas cuyos niveles plasmáticos están disminuidos durante la terapia con anticoagulantes. Describieron, además, que las etanolaminas ejercen funciones relacionadas con la coagulación, ya que estimulan la generación de trombina. Estos resultados condujeron al descubrimiento de una nueva familia de lípidos procoagulantes en plasma, y abrieron una nueva vía de investigación de las complicaciones hemorrágicas asociadas al tratamiento con warfarina.

Diferentes estudios de metabolómica experimentales, en modelos animales de cerdo y ratón, han identificado varias moléculas asociadas con la ETV, similares a las encontradas en los diferentes estudios en plasma humano. Se han descrito perfiles de metabolitos implicados en el metabolismo energético (metabolitos intermedios del ciclo del ácido tricarboxílico o TCA, carnitinas y triglicéridos), metabolitos implicados en la glucólisis, esfingolípidos y metabolismo de la adenosina, con niveles discriminatorios entre la ETV y animales control (20,21). Además, se

ha estudiado la relación entre la ETV y el envejecimiento, puesto que el envejecimiento influye negativamente en la inflamación y afecta al metabolismo. En modelos experimentales murinos de ETV, Obi y colaboradores (22) observaron como los niveles de 3 metabolitos sensibles al estrés oxidativo (glutamina, fenilalanina y prolina) se incrementaron con la ETV en los ratones de mayor edad; además, estos niveles se asociaron con alteraciones de la vasculatura y los niveles de P-selectina. Este estudio sugiere que los cambios metabólicos e inflamatorios mediados en la vasculatura contribuirían a la ETV al aumentar la edad.

En un proyecto preliminar de metabolómica no dirigida en plasma realizado por nuestro grupo, identificamos un conjunto de variables metabólicas que permitan diferenciar entre pacientes con ETV y controles sanos (Figs. 1 y 2). Dentro de este conjunto de metabolitos se identificaron: lípidos, AC, fosfolípidos, etanolaminas y agentes presentes en alimentos, algunos de ellos con funciones procoagulantes o anticoagulantes conocidas. Para poder confirmar su implicación en la patología, es necesario validar este perfil de metabolitos plasmáticos asociados con el riesgo de sufrir un episodio trombótico, cuantificando sus niveles en un estudio caso-control diferente y de mayor tamaño. Además, el estudio de su asociación con marcadores clínicos nos permitirá elucidar su mecanismo de acción en la ETV.

Proteómica y enfermedad trombótica o cardiovascular: ¿dónde nos encontramos?

Actualmente, las técnicas de proteómica diferencial avanzada han sido aplicadas de forma preliminar en la ETV con un número de publicaciones limitadas, si bien en la enfermedad cardiovascu-

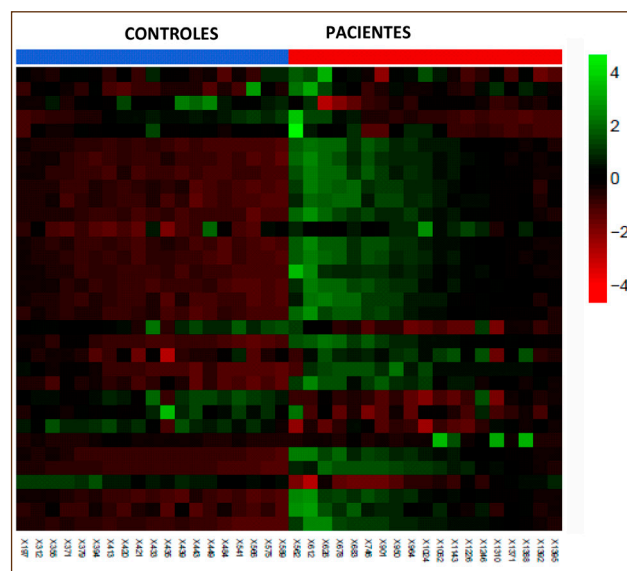


Figura 1. Heatmap de los metabolitos plasmáticos capaces de diferenciar entre pacientes con ETV y controles sanos. Realizamos un análisis estadístico de regresión binomial con penalización (R v3.2.3) y observamos cómo se diferencian 2 grupos de variables metabólicas con infraexpresión (rojo) y sobreexpresión (verde) entre los grupos de estudio.

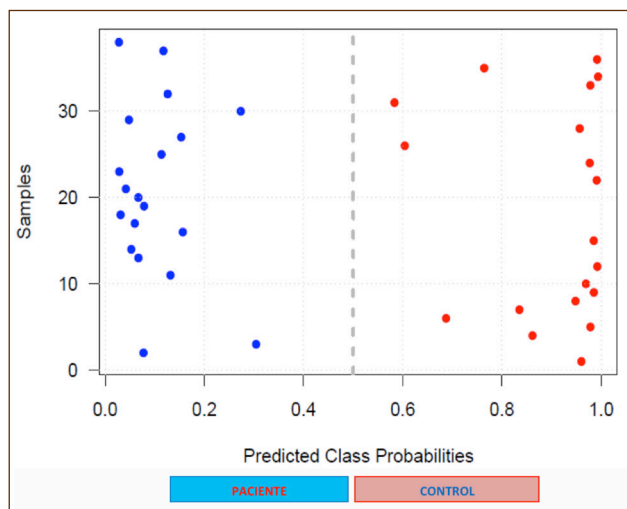


Figura 2. Gráfico de predicción de probabilidad de clases estimada a partir de las variables metabólicas identificadas capaces de diferenciar entre pacientes con ETV y controles sanos. Representa la probabilidad de pertenecer a una clase (caso o control) según la predicción del modelo (eje x) para cada muestra representada por un punto (eje y).

lar estas técnicas sí han sido más exploradas. Dado que la ETV y la enfermedad cardiovascular comparten algunos mecanismos similares, Memon y cols. (23) realizaron un estudio preliminar con la finalidad de encontrar nuevos biomarcadores diagnósticos de la ETV. Para ello, emplearon un panel de 92 proteínas asociadas con la enfermedad cardiovascular y cuantificadas mediante inmunoensayo multiplexado (Proseek Multiplex CVD III^{96x96} kit). Este panel incluye proteínas asociadas con diferentes procesos biológicos, tales como la inflamación, angiogénesis, coagulación, activación plaquetar, adhesión celular, cicatrización, quimiotaxis y metabolismo. Describieron 7 proteínas (SELP, TR, VWF, TFPI, OPN, BLM hidrolasa y ST2) que, en combinación con otros biomarcadores de ETV ya establecidos (dímeros-D) o nuevos (complejo APC-PCI), conseguían un buen valor predictivo de ETV, estimado como un área bajo la curva ROC de hasta 0,937.

También, Mohammed y cols. realizaron un estudio de proteómica dirigida LC-MRM/MS multiplexada de 31 proteínas conocidas y relacionadas con la coagulación y la fibrinólisis en el plasma de pacientes con ETV, pacientes con ETV y cáncer y controles sanos (24). Además, compararon la cuantificación de estas proteínas de forma individual con técnicas basadas en anticuerpos o ensayos de actividad. Observaron una buena correlación entre la determinación individual y la del panel por MRM, aunque la capacidad discriminatoria del panel por MRM fue significativamente mejor a la obtenida de forma individual, permitiendo clasificar el 70% de los pacientes con ETV y cáncer

Nuestro grupo ha realizado un estudio preliminar de proteómica diferencial no dirigida mediante SWATH LC-MS/MS. Obtuvimos un perfil de 28 proteínas capaces de diferenciar entre pacientes con ETV y controles (Fig. 3), con un buen valor predictivo de la ETV (área bajo la curva ROC aparente: 0,997 [0,988-1]). Dentro de este listado, identificamos proteínas que participan en

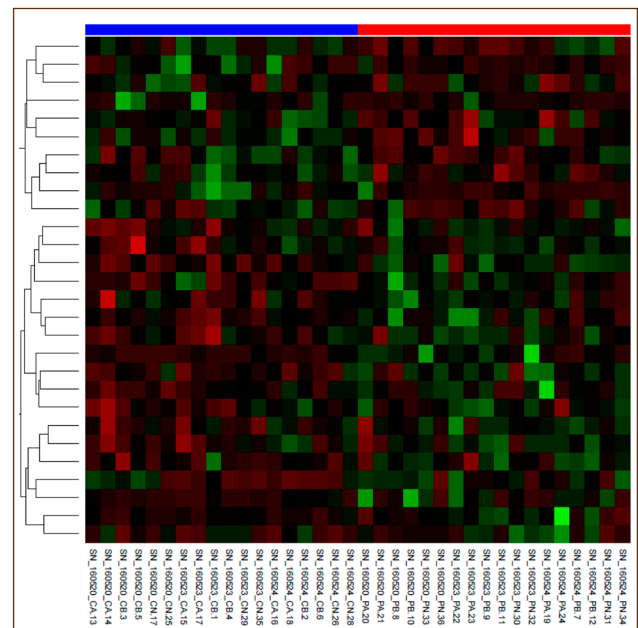


Figura 3. Heatmap de las 28 proteínas plasmáticas capaces de diferenciar entre pacientes con ETV y controles sanos. Realizamos un análisis estadístico de regresión binomial con penalización (R v3.2.3) y observamos cómo se diferencian 2 grupos de proteínas con infraexpresión (rojo) y sobreexpresión (verde) entre los grupos de estudio.

la coagulación, la activación plaquetaria, el metabolismo lipídico, la activación del complemento, la glicosilación o la respuesta del sistema inmunitario y a patógenos. También identificamos un conjunto de 16 proteínas con una función no conocida dentro de la patología trombótica, y que podría llevarnos a la identificación de nuevas rutas y mecanismos protrombóticos con un marcado potencial terapéutico.

Por último, cabe destacar la aparición del término *proteómica plaquetaria*, referido al estudio de identificación, cuantificación y validación de proteínas, receptores, moléculas de señalización y modificación postraduccional como nuevas estrategias para el diagnóstico de alteraciones relacionadas con las plaquetas. Además, esta aproximación proporcionaría una buena herramienta para la identificación de pacientes con diversos defectos asociados a las plaquetas y su aplicación directa al diagnóstico clínico (25).

Conclusiones

La ETV es una enfermedad multifactorial, responsable de una morbilidad y mortalidad muy elevada: un 40% de los pacientes cursan sin factores de riesgo conocidos y en un 20%-30% de los casos los pacientes desarrollan recurrencia a pesar de estar en terapia anticoagulante. Actualmente, el diagnóstico se basa en el examen clínico y la obtención de imágenes. Se han investigado varios biomarcadores plasmáticos con resultados variables, de forma que la identificación de un nuevo biomarcador específico, de diagnóstico simple y eficaz para la ETV sigue siendo un desafío.

Las nuevas tecnologías ómicas ofrecen la oportunidad de abordar estas necesidades clínicas. El perfil metabólico se ha convertido en un nuevo enfoque para investigar enfermedades complejas y permitir el desarrollo de tratamientos más individualizados. Su principal objetivo es detectar alteraciones en los niveles de diferentes biofluidos, reflejo de factores regulados por la genética, estados patológicos, factores ambientales, tipo de dieta y los medicamentos, para asociarlos con la enfermedad y describir nuevos biomarcadores, vías fisiopatológicas y/o dianas terapéuticas. Por otro lado, la aplicación de tecnologías de análisis proteómico de alto rendimiento nos permitirá cuantificar, de forma múltiple, proteínas implicadas en la coagulación y la fibrinólisis que, en combinación con los marcadores plasmáticos ya descritos mediante el uso de técnicas convencionales con anticuerpos o basadas en actividad, pueden proporcionar nuevos perfiles proteicos capaces de diagnosticar de forma precisa y específica la ETV.

En resumen, para la identificación de nuevos biomarcadores plasmáticos asociados con la ETV es necesaria la aplicación de todas aquellas tecnologías ómicas disponibles (genómica, metabólica, proteómica, lipidómica, epigenómica, etc.), pues solo de esta forma podremos entender de forma global la fisiopatología de las enfermedades multifactoriales.

Fuentes de financiación: Este trabajo ha sido financiado por el Instituto de Salud Carlos III-FEDER (PII4/00512, PII4/00079, FI14/00269, CPII15/00002, PII7/00495), la Generalitat Valenciana (Prometeo II/2015/017 y ACIF 2017/138), Instituto de Investigación Sanitaria La Fe (VLC_BIOMED 2014/0718, 2016/0820, IIS La Fe_UPV 2014/0421, 2017/0408).

Agradecimientos

Instituto de Salud Carlos III-FEDER (PII4/00512, PII4/00079, FI14/00269, CPII15/00002, PII7/00495), la Generalitat Valenciana (PrometeoII/2015/017 y ACIF/2017/138), Instituto de Investigación Sanitaria La Fe (VLC_BIOMED 2014/0718, 2016/0820, IIS La Fe_UPV 2014/0421, 2017/0408).

Bibliografía

- García de Frutos P. Mechanisms of thrombophilia. *Thromb Haemost* 2007;98(3):485-7.
- Bertina RM. Molecular risk factors for thrombosis. *Thromb Haemost* 1999;82(2):601-9.
- Di Nisio M, Squizzato A, Rutjes AW, et al. Diagnostic accuracy of D-dimer test for exclusion of venous thromboembolism: a systematic review. *J Thromb Haemost* 2007;5(2):296-304.
- Ghozlan MF, Osman AA, Mahmoud HM, et al. Comprehensive study on laboratory biomarkers for prediction and diagnosis of deep venous thrombosis. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2015;26(3):255-60.
- Stein PD, Hull RD, Patel KC, et al. D-dimer for the exclusion of acute venous thrombosis and pulmonary embolism: a systematic review. *Ann Intern Med* 2004;140(8):589-602.
- Kenne E, Nickel KF, Long AT, et al. Factor XII: a novel target for safe prevention of thrombosis and inflammation. *J Intern Med* 2015;278(6):571-85.
- Nickel KF, Long AT, Fuchs TA, et al. Factor XII as a Therapeutic Target in Thromboembolic and Inflammatory Diseases. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2017;37(1):13-20.
- Smith SA, Mutch NJ, Baskar D, et al. Polyphosphate modulates blood coagulation and fibrinolysis. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 2006;103(4):903-8.
- Müller F, Mutch NJ, Schenk WA, et al. Platelet polyphosphates are proinflammatory and procoagulant mediators in vivo. *Cell* 2009;139(6):1143-56.
- Fuchs TA, Brill A, Wagner DD. Neutrophil extracellular trap (NET) impact on deep vein thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012;32(8):1777-83.
- Arroyo AB, de Los Reyes-García AM, Teruel-Montoya R, et al. microRNAs in the haemostatic system: More than witnesses of thromboembolic diseases? *Thromb Res* 2018;166:1-9.
- Deguchi H, Yegneswaran S, Griffin JH. Sphingolipids as bioactive regulators of thrombin generation. *J Biol Chem* 2004;279(13):12036-42.
- Deguchi H, Fernández JA, Griffin JH. Plasma cholesteryl ester transfer protein and blood coagulability. *Thromb Haemost* 2007;98(6):1160-4.
- Smith JD. Dysfunctional HDL as a diagnostic and therapeutic target. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010;30(2):151-5.
- Deguchi H, Elias DJ, Griffin JH. Minor Plasma Lipids Modulate Clotting Factor Activities and May Affect Thrombosis Risk. *Res Pract Thromb Haemost* 2017;1(1):93-102.
- Geddings JE, Mackman N. New players in haemostasis and thrombosis. *Thromb Haemost* 2014;111(4):570-4.
- Deguchi H, Banerjee Y, Trauger S, et al. Acylcarnitines are anticoagulants that inhibit factor Xa and are reduced in venous thrombosis, based on metabolomics data. *Blood* 2015;126(13):1595-600.
- Deguchi H, Navarro S, Payne AB, et al. Low level of the plasma sphingolipid, glucosylceramide, is associated with thrombotic diseases. *Res Pract Thromb Haemost* 2017;1(1):33-40.
- Deguchi H, Elias DJ, Trauger S, et al. Warfarin untargeted metabolomics study identifies novel procoagulant ethanolamide plasma lipids. *Br J Haematol* 2014;165(3):409-12.
- Bujak R, García-Álvarez A, Rupérez FJ, et al. Metabolomics reveals metabolite changes in acute pulmonary embolism. *J Proteome Res* 2014;13(2):805-16.
- Sung Y, Spagou K, Kafeza M, et al. Deep Vein Thrombosis Exhibits Characteristic Serum and Vein Wall Metabolic Phenotypes in the Inferior Vena Cava Ligation Mouse Model. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2018;55(5):703-13.
- Obi AT, Stringer KA, Díaz JA, et al. 1D-¹H-nuclear magnetic resonance metabolomics reveals age-related changes in metabolites associated with experimental venous thrombosis. *J Vasc Surg Venous Lymphat Disord* 2016;4(2):221-30.
- Memon AA, Sundquist K, PirouziFard M, et al. Identification of novel diagnostic biomarkers for deep venous thrombosis. *Br J Haematol* 2018;181(3):378-85.
- Mohammed Y, van Vlijmen BJ, Yang J, et al. Multiplexed targeted proteomic assay to assess coagulation factor concentrations and thrombosis-associated cancer. *Blood Adv* 2017;1(15):1080-7.
- Looße C, Swieringa F, Heemskerck JWM, et al. Platelet proteomics: from discovery to diagnosis. *Expert Rev Proteomics* 2018;1-10.

Plaquetas y endotelio

COORDINADORES: **Dra. Maribel Díaz Ricart**. Hospital Clínic. Barcelona
Dra. Marta Palomo. Instituto de Investigación contra la Leucemia Josep Carreras. Barcelona

En el simposio de Plaquetas y Endotelio, las presentaciones irán a cargo de los doctores Miguel Cruz (Baylor College of Medicine, Houston, Estados Unidos), Carmen Altisent (Hospital Vall d'Hebron, Barcelona), Ginés Escolar (Hospital Clínic, Barcelona) y Jaime Pereira (Pontificia Universidad Católica, Santiago, Chile).

La sepsis es un problema de salud importante debido a su alta incidencia y a la mortalidad asociada, a pesar de los avances terapéuticos. La gravedad del síndrome séptico se asocia a un incremento en la disfunción orgánica, y es la principal causa de mortalidad en las unidades de cuidados intensivos. La sepsis provocada por *Staphylococcus aureus* (SA), que es el microorganismo Gram positivo más frecuente en los países industrializados, tiene una alta probabilidad de desarrollar coagulación intravascular diseminada (CID) y eventos trombóticos. La mortalidad estaría asociada al número de órganos afectados. Trabajos previos del grupo del Dr. Miguel Cruz, del Baylor College of Medicine, en Houston (Estados Unidos), han demostrado que la proteína A2 disminuye la mortalidad y la trombosis microvascular diseminada en un modelo murino de endotoxemia. La proteína A2 es el dominio A2 recombinante del factor de Von Willebrand. El Dr. Cruz nos presentará sus nuevos estudios enfocados a evaluar si la proteína A2 tiene la capacidad de atenuar la CID y el síndrome de disfunción multiorgánico en un modelo de CID porcino. También presentará los estudios realizados para elucidar los mecanismos de interacción entre la proteína A2 y la fibrina.

La Dra. Carmen Altisent nos presentará los estudios realizados para la identificación de enfermedades hereditarias del tejido conectivo, en concreto de las anomalías del colágeno de la matriz vascular, que se presentan con diátesis hemorrágica. Los defectos en las plaquetas o el FVW derivan en una diátesis hemorrágica de intensidad variable, aunque predominan las de tipo moderado o leve, y son diagnosticadas por las técnicas que se realizan habitualmente en el laboratorio de hemostasia. A pesar de la normalidad de los estudios de hemostasia *in vitro*, las anomalías del colágeno de la matriz vascular podrían ser la causa de diátesis, por lo que son necesarias una historia clínica detallada y una exploración minuciosa con el fin de orientar el diagnóstico diferencial. El enfoque molecular mediante la técnica Next Generation Sequencing (NGS) es útil y eficiente para el estudio exhaustivo de la base genética subyacente a estos trastornos. La identificación de los genes implicados permitirá mejorar el diagnóstico, la clasificación, la orientación terapéutica y el consejo genético a pacientes a los que, en la actualidad, solo se les ofrece recomendaciones basadas en las manifestaciones hemorrágicas.

En la tercera ponencia, el Dr. Ginés Escolar tratará el tema de los nuevos estudios que están resucitando una estrategia del pasado: la conservación de las plaquetas en frío. Esta técnica acorta la supervivencia de las plaquetas en circulación respecto a la de los concentrados almacenados a 22 °C, por lo que esta última opción es la que lleva aplicándose durante los últimos años. La vida útil de las plaquetas conservadas a temperatura ambiente es de cinco días y su aumento hasta siete se asocia a un riesgo de contaminación bacteriana que puede resultar en infecciones graves en los pacientes transfundidos. Con la aparición de patógenos emergentes y posibles amenazas al suministro de componentes sanguíneos, los bancos de sangre necesitan nuevas estrategias para extender la vida útil de los concentrados manteniendo su seguridad.

Descubrimientos recientes sobre la fisiología y la función de las plaquetas preservadas a 4 °C perfilan la criopreservación como una estrategia a recuperar. A lo largo de los años noventa se descubrió que las plaquetas conservadas en frío desaparecen rápidamente de la circulación de los pacientes transfundidos debido a alteraciones de la glicoproteína Ib. Nuevos estudios demuestran que determinados inhibidores, aditivos y estrategias de adaptación cíclica de temperatura podrían aumentar la supervivencia de estas plaquetas en circulación. Respecto a la función de estas células criopreservadas, estudios *in vitro* han demostrado que la conservación en frío tiene un efecto negativo sobre la capacidad adhesiva de las plaquetas, pero potencia su actividad procoagulante, y subrayan la importancia de este último efecto en la restauración de una hemostasia normal. Los pacientes con hemorragia aguda podrían ser los que más se beneficiaran de este tipo de concentrados debido a su acción hemostática más inmediata. El renovado interés por la criopreservación y los resultados científicos consecuentes sugieren que en los próximos años presenciaremos una evolución en las estrategias de conservación de concentrados de plaquetas de los bancos de sangre y centros de transfusión.

Para finalizar el simposio, el Dr. Jaime Pereira presentará estudios sobre los efectos de la cocaína —una de las drogas más consumidas a nivel mundial— sobre el sistema vascular. Estos efectos, que derivan en una morbilidad y mortalidad significativas, parecen estar mediados por aterotrombosis, que tiene como actores importantes en su desarrollo la activación del sistema hemostático y del endotelio. El efecto de la cocaína sobre las plaquetas resulta controvertido, ya que se observa activación o inhibición de su función dependiendo de si los experimentos se realizan *in vitro* o *in vivo*, y también varía según el tiempo de abstinencia. Los estudios del efecto de esta droga sobre la coagulación son escasos, pero apuntan hacia su activación. El efecto de la cocaína sobre el endotelio está más documentado en la literatura científica y resulta en una activación caracterizada por un aumento de células endoteliales circulantes y marcadores solubles de daño endotelial en adictos. Estudios *in vitro* demuestran un fenotipo procoagulante y proadhesivo de células endoteliales macrovasculares incubadas con la droga. Además, experimentos en usuarios crónicos, modelos animales y células endoteliales en cultivo demuestran que la activación de la vía Rho/Rho Kinasa es uno de los mecanismos mediante los que esta droga induce la activación del endotelio. Esta información podría contribuir a considerar la protección del endotelio como parte del tratamiento integral de la adicción con el objetivo de retardar el desarrollo de lesiones isquémicas.

CS-4. Generación de un modelo murino *knock-in* mediante CRISPR/CAS9 portador de una variante germinal en RUNX1 identificada en pacientes con trastorno plaquetario congénito

Marín-Quílez A.¹, García-Tuñón I.², Hernández-Cano L.³, Gutiérrez-Herrero S.³, Méndez-Sánchez L.⁴, Herrero-García M.⁴, Montaña-Brioso A.², Alonso-Pérez V.², González S.², Rodríguez I.², Palma-Barqueros V.⁵, Pérez-Losada J.³, Benito R.², Lozano M. L.⁶, Rivera J.⁶, Sánchez-Martín M.⁴, Guerrero C.¹, Hernández-Rivas J. M.², González-Porras J. R.¹, Bastida J. M.⁷

¹Grupo Patología Trombótica y Hemostasia. Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL). Salamanca. ²Grupo Genética Molecular en Oncohematología. Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL). Salamanca. ³Centro de Investigación del Cáncer-IBMCC-CSIC. Salamanca. ⁴Servicio de Transgénesis. Nucleus. Universidad de Salamanca. Salamanca. ⁵Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia. Centro Regional de Hemodonación. Murcia. Universidad de Murcia. IMIB-Arixaca. CB15/00055-CIBERER. Murcia. ⁶Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia. Centro Regional de Hemodonación. Murcia. Universidad de Murcia. IMIB-Arixaca. CB15/00055-CIBERER. Murcia. En representación del Proyecto Caracterización Funcional y Molecular de Pacientes con TPC del Grupo de Trabajo de Patología Hemorrágica de la Sociedad Española de Trombosis y Hemorrágica (GTPH-SETH). ⁷Grupo Patología Trombótica y Hemostasia. Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL). Salamanca. En representación del Proyecto Caracterización Funcional y Molecular de Pacientes con TPC del Grupo de Trabajo de Patología Hemorrágica de la Sociedad Española de Trombosis y Hemorrágica (GTPH-SETH)

Introducción

La enfermedad relacionada con RUNX1 (RUNX1-RD) es un trastorno plaquetario congénito (TPC) que provoca sangrado/trombocitopenia y predisposición a hemopatía maligna. Su clínica es heterogénea y no se dispone de un método diagnóstico claro. La variante genética L56S en RUNX1 fue detectada mediante secuenciación masiva (HTS) en 4 familias no relacionadas que presentaban sangrado/trombocitopenia con herencia autosómica dominante y alteración en la activación plaquetaria (principalmente gránulos α). Además, en 2 familias existían antecedentes familiares de leucemia mieloblástica aguda. Esta variante fue calificada como significado incierto. Aunque la HTS ha revolucionado el diagnóstico de los TPC, una limitación importante es la dificultad para definir la patogenicidad de una variante genética. En la actualidad, se siguen las recomendaciones del Colegio Americano de Genética Molecular, sin embargo, la relación final de causalidad requiere una demostración a nivel celular o murino.

Objetivos

Generación de un modelo murino portador de la variante germinal L43S en *RUNX1* (L56S en humanos) mediante la tecnología de edición genómica CRISPR/Cas9 y estudio preliminar del fenotipo funcional.

Métodos

La generación del modelo murino *knock-in* se realizó mediante la tecnología de edición genómica CRISPR/Cas9 en su variante Cas9 doble-nickasa. Se diseñaron dos guías dirigidas frente al exón 2 de RUNX1 flanqueando el sitio diana a mutar. Las guías, el RNA codificante para la nucleasa y el ADN molde con la mutación L43S fueron microinyectados en cigotos de la cepa C57BL/6J e implantados en hembras CD1 pseudopreñadas. Los ratones nacidos se secuenciaron para comprobar quienes

eran portadores de la variante. De los portadores se estableció y se expandió una nueva colonia con 76 individuos: 23 de genotipo *wild-type* (WT) y 53 portadores de la variante L43S en heterocigosis (RUNX1+/-). La caracterización plaquetaria se realizó mediante la cuantificación del número de plaquetas [porcentaje de células CD41+] y el análisis de su funcionalidad: activación (JON/A), degranulación (anti-CD62P) y agregación (anti-CD9) con los agonistas trombina y PMA mediante citometría de flujo (CMF). Las poblaciones hematopoyéticas se caracterizaron mediante el empleo de anticuerpos de superficie específicos de linaje mielóide, linfóide y células stem.

Resultados

Hasta la fecha se han analizado 16 ratones, de los cuales, 5 eran WT y 11 eran RUNX1+/- . La mediana de edad fue de 14 meses (2-19 meses) para WT y de 16 meses (1,5-19 meses) para RUNX1+/- . La mediana del número de plaquetas fue significativamente menor en los ratones RUNX1+/- respecto a los WT (6,7% [2,1-10,9%] vs 10,6% [8,34-14,3%]; p = 0,019) (Fig. 1A). El estudio funcional mostró una disminución en la activación plaquetaria con el agonista PMA en ratones RUNX1+/- respecto a los WT (19,5% [7,1-33,7%] vs 36,1% [15,5-57,5%]; p = 0,09). En 2 ratones RUNX1+/- se ha observado una alteración de la degranulación plaquetaria (13,7% y 17,4% CD62P+ vs 32,9% en WT a Trombina 2U) (Figs. 1B y 1C). La caracterización de las poblaciones hematopoyéticas en sangre periférica, médula ósea y bazo se está realizando en el momento actual.

Conclusión

Se ha realizado con éxito la edición genómica mediante CRISPR/Cas9 en línea germinal, generando el primer modelo murino portador de la variante L43S del gen RUNX1. La correlación genotipo-fenotipo mediante el estudio funcional determinará la patogenicidad de dicha variante (L56S en humanos) recurrente en 4 familias no relacionadas con TPC.

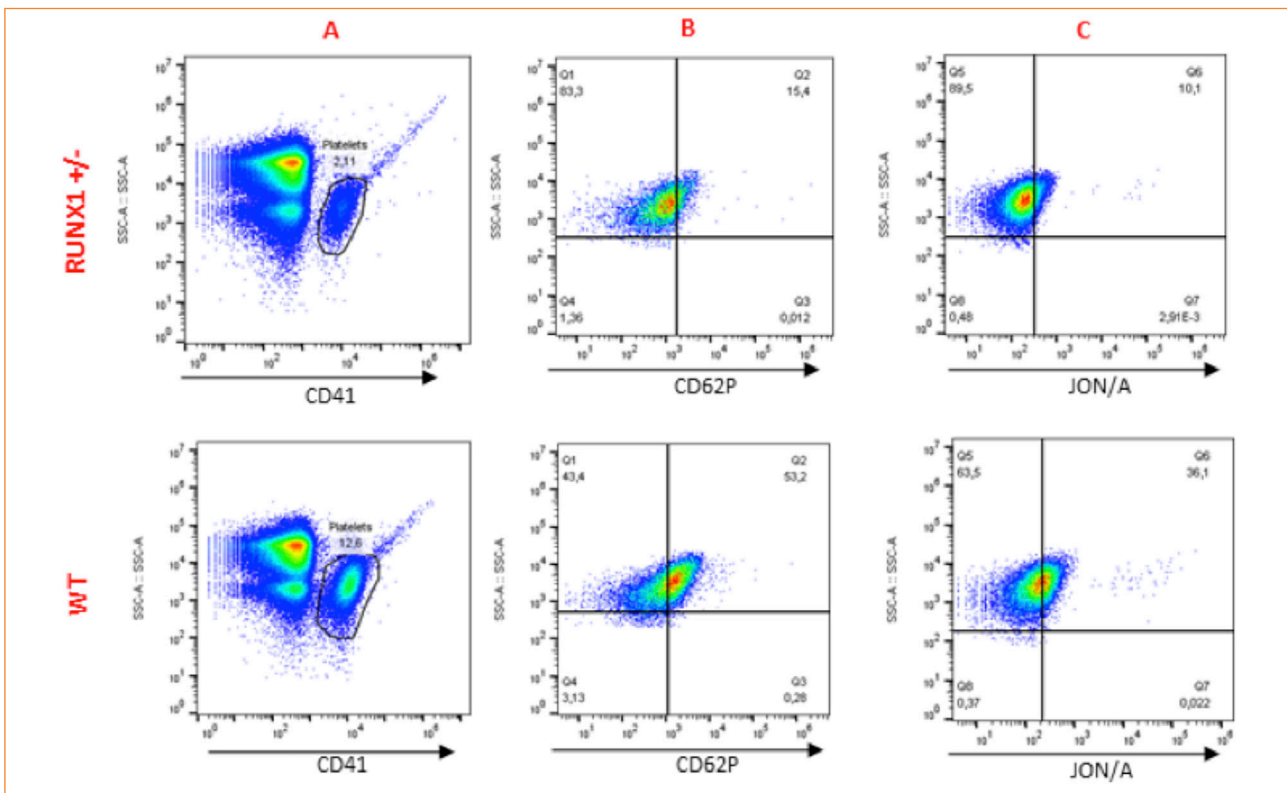


Figura 1. Estudio de la función plaquetaria analizada mediante citometría de flujo en ratones *RUNX1 +/-* vs WT. A) Porcentaje de plaquetas CD41+. B) Degranulación plaquetaria medida como expresión de P-selectina en superficie con el anticuerpo CD62P. Estimulación con trombina 2U (15 minutos). C) Activación plaquetaria, medida como activación de la integrina α IIb β 3 con el anticuerpo JON/A. Estimulación con 1 μ l PMA (15 minutos).

A novel target to prevent microvascular thrombosis and multiple organ dysfunction syndrome in sepsis*

Martínez-Vargas M.^{1,2}, Valladolid C.^{1,2}, Nguyen T. C.^{2,3}, Marini J. C.^{3,4}, Guillery B.^{1,2}, Cohen D.^{2,5}, Da Q.^{1,2}, Cirlos S. C.^{1,2}, Lam F.^{2,3}, Yuan Y.^{3,4}, Stoll B.^{3,4}, Orellana R.³, Bashir D.^{2,3}, Desai M.³, Flores S.³, Tchamitchi H.³, Navaei A.³, Akcan Arian A.³, Kaplan S.^{3,6}, Vallejo J.^{3,6}, Lamberth L.^{3,6}, Hulten K. G.^{3,6}, Scull B. P.^{3,7}, Allen C. E.^{3,7}, Derry P.^{1,2}, Rumbaut R.^{1,2}, Vinod-Vijayan K.^{1,2}, Cruz M. A.^{1,2}

¹Department of Medicine. Baylor College of Medicine. Houston, USA. ²Center for Translational Research on Inflammatory Diseases. Michael E. DeBakey Veteran Administration Medical Center. Houston, USA. ³Section of Critical Care Medicine. Department of Pediatrics. Baylor College of Medicine-Texas Children's Hospital. Houston, USA. ⁴USDA/Agricultural Research Service. Children's Nutrition Research Center. Houston, USA. ⁵Department of Pathology. Baylor College of Medicine. Houston, USA. ⁶Section of Infectious Diseases. Department of Pediatrics. Baylor College of Medicine-Texas Children's Hospital. Houston, USA. ⁷Section of Hematology and Oncology. Department of Pediatrics. Baylor College of Medicine-Texas Children's Hospital. Houston, USA

Introduction

Several large studies reveal that *Staphylococcus aureus* (SA) is the most common Gram positive infecting organism in industrialized nations and that SA sepsis is associated with a higher mortality (1,2). Furthermore, SA sepsis has been associated with DIC, thromboembolic events, and mortality (3-5). A recent prospective pediatric sepsis point-prevalence study reports that sepsis mortality increases with each additional dysfunctional organ - less than 20% mortality with 2 dysfunctional organs to more than 80% mortality with 6 dysfunctional organs (6). Currently, there is a consensus among experts that the future of sepsis research should be directed toward understanding and reversing sepsis-induced multiple organ dysfunction syndrome (MODS) (7,8). Organ dysfunction is now included in the new adult definition of sepsis - "defined as life-threatening organ dysfunction caused by a dysregulated host response to infection" (9). Syndromes of disseminated microvascular thromboses such as disseminated intravascular coagulation (DIC) have been thought as one of the pathophysiologic mechanisms for the development of MODS during sepsis as a result of a "dysregulated host response to infection" (10). Persistent inflammation during sepsis activates the coagulation and thrombotic pathways leading to a prothrombotic and antifibrinolytic state. The resultant disseminated fibrin deposition in small to mid-size blood vessels leads to organ ischemia and dysfunction (11). DIC can occur in 29-50% of septic patients and is a predictor of mortality (12). Unfortunately, no therapy exists for sepsis-induced DIC other than source-control, antibiotics, hemodynamic resuscitation, and supportive care. There is a consensus among experts that hemodynamically and pathologically relevant large animal models are needed in sepsis research such as sepsis-induced DIC (7,13).

Objective

We have previously shown in an endotoxemic murine model that A2 protein, a recombinant A2 domain of von Willebrand factor, when injected after lipopolysaccharide (LPS) challenge decreased mortality, and attenuated disseminated microvascular thromboses (14). We also show that A2 protein interacts with fibrin monomer, alters fibrin

polymerization, inhibits platelet-fibrin clot formation and flow-dependent platelet adhesion to fibrin(ogen)-coated surfaces (14). This has led us to the aims of our current study which are 1) to evaluate whether A2 protein could attenuate DIC and MODS in a porcine model of human pathogenic methicillin resistant SA (MRSA) sepsis-induced DIC without causing excessive bleeding, and 2) to further elucidate the mechanistic interaction of A2 protein and fibrin.

Methods

Our porcine model used a clinically relevant and prevalent human MRSA strain that has been genetically sequenced and causes significant human diseases, including DIC (15,16). The Pig ICU was staffed 24/7 with either an intensivist, veterinarian, or research scientist. A Wi-Fi-enabled telemetry device was implanted in the femoral artery of each pig that displayed continuous blood pressure, heart rate, and respiratory rate. Respiratory and neurologic clinical scores were assessed every 6h. Point-of-care measurements including arterial blood gas, complete blood count, and DIC panel were measured at 0 (Pre-MRSA inoculation), 24, 48, 60, and 70h and dextrose measurement was obtained every 6h. Each pig received maintenance dextrose containing intravenous fluid and individualized care such that when the clinical condition dictates, the specific pig received fluid resuscitation, analgesia and antipyretics, dextrose boluses, and body roll to prevent pressure ulcers. Pigs were euthanized and necropsy was performed at 70h and tissues were collected. To test the A2 protein, we treated 6 pigs (in a blinded fashion) with varying concentrations of A2 protein (1-3.5 mg/kg) 24h after MRSA intravenous inoculation. The two animals with the higher dose (3.5 mg/kg) received a first dose of 1.75 mg/kg at 24 h and a second dose of 1.75mg/kg at 48h.

Recombinant A2 protein containing the E1567A mutation was expressed and purified from bacteria identical to wild type (WT) A2 protein. The A2 mutant was assessed for its protein structure, binding activities, and effect on microvascular thrombosis in mice with LPS-induced DIC (14).

The effect of the A2 protein on the kinetics of fibrin formation in human plasma was evaluated using ultraviolet-visible spectroscopy. Three-dimensional reconstructions of the fibrin

* This work has been supported by: NIH-GM112806 and NIH-NS094280, Alkek Foundation, and Mary Gibson Foundation. The contents of this presentation do not represent the views of the Department of Veterans Affairs or the United States Government.

mesh structure of pig plasma supplemented with 2% of human fibrinogen conjugated to alexa fluor 647 were obtained using laser scanning confocal microscopy (LSCM). Using these techniques we correlated overall fibrin mesh morphology with treatment and kinetics data.

Finally, we examined the A2 protein in intravital microscopy employing a murine thrombosis model (17). This model determines the kinetics of *in vivo* platelet adhesion/aggregation following photochemical injury using the cremaster microcirculation. The A2 protein (4 mg/kg) or vehicle was infused (I.V.) 3-4 minutes prior to the injury.

Results

Our porcine model resulted in consumptive coagulopathy and displayed histological evidence of a heterogeneous disseminated microvascular thromboses and organ injuries in the kidneys, and livers. This sepsis model does not cause significant hemodynamic instability in the pigs compared to endotoxemia or other Gram negative bacterial sepsis models, which result in significant shock and higher mortality. We observed that the A2 protein decreased kidney injury in a dose dependent manner, and diminished fibrin deposition and microvascular thrombosis in kidney. Finally, since elevated levels of D-dimer indicate an active fibrin polymerization process, we determined the D-dimer level. The A2-treated septic pigs had a D-dimer level < 1.5-fold baseline value while the septic pigs without A2 protein had ~ 7.3 fold baseline value.

To further understand how A2 protein may offer protection in a DIC model, we generated the A2 mutant E1567A and evaluated its efficacy in a LPS-induced murine model. The mutation E1567A did not alter the overall A2 domain structure as demonstrated by studies that employed conformational-specific monoclonal antibody and circular dichroism (CD) thermal unfolding. Additionally, the A2 mutant bound to isolated A1 domain of VWF (18) and vimentin (19) in a fashion identical to WT A2 protein. However, the A2 mutant bound to fibrin (ogen) with a kinetic constant ~20 times the binding constant determined for WT A2 protein, sug-

gesting a decreased affinity of the mutant A2 to fibrin (ogen). We then examined the effect of the A2 mutant in our murine model for LPS-induced DIC. LPS-treated mice were intervened with either A2 mutant or WT A2 protein (4 mg/kg) at 1.5 h after the LPS challenge. Importantly, kidneys from A2 mutant-treated mice displayed a markedly increased of widespread intravascular fibrin-rich microthrombi in kidneys as compared to mice with WT A2 protein (Fig. 1). These studies suggest the beneficial aspects of A2 protein in a DIC model might be depended on the ability of A2 protein to engage fibrin. We further examined the physical effect of the A2 protein on the structure of polymerized fibrin. The A2 protein clearly altered the fibrin structure as compared to that without A2 protein (Fig. 2). Finally, by using intravital microscopy for a murine thrombosis model, the A2 protein did not affect thrombus formation *in vivo* as compared to animals treated with vehicle only. The result implies that the A2 protein could be a candidate product for treating DIC in sepsis without causing excessive bleeding or affecting hemostasis.

Discussion

The intriguing results from testing the beneficial effect of the A2 protein in an LPS-induced DIC murine model prompted us to further confirm our findings employing a large animal model and to dissect the mechanism by which the A2-fibrin association attenuates microvascular thrombosis in DIC.

The large (porcine) animal model for MRSA-induced sepsis and DIC generated in our lab appears to mimic the progression of the disease as seen in humans. Notably, the infected pigs manifested signs of consumption coagulopathy, including thrombocytopenia. Furthermore, widespread fibrin deposition and fibrin-rich microthrombi were markedly increased as compared to non-infected or sham animals, demonstrating that our pig model for MRSA-induced sepsis recapitulates DIC symptoms. To our knowledge, this is the longest (70 hours) MRSA sepsis-induced DIC large animal study to date, as others have reported models up to 48-hour (20). This lengthen model allowed us to closely

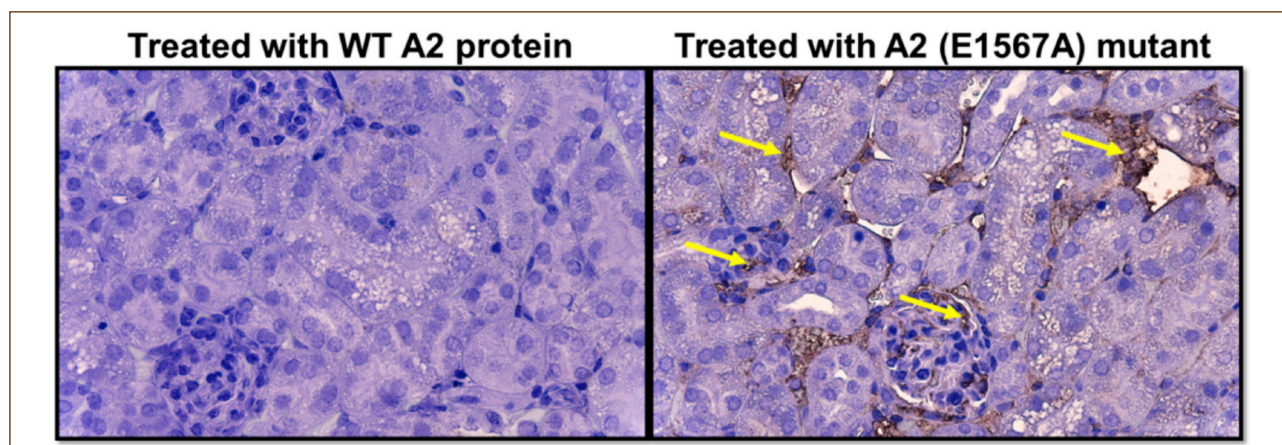


Figure 1. The effect of A2 mutant on microvascular thrombosis *in vivo*. Kidneys were harvested at 24 hours after the administration of LPS to mice and stained fibrin (dark brown-yellow arrows). Mice treated with the A2 mutant (right panel) is compared with mice that received WT A2 protein (left panel).

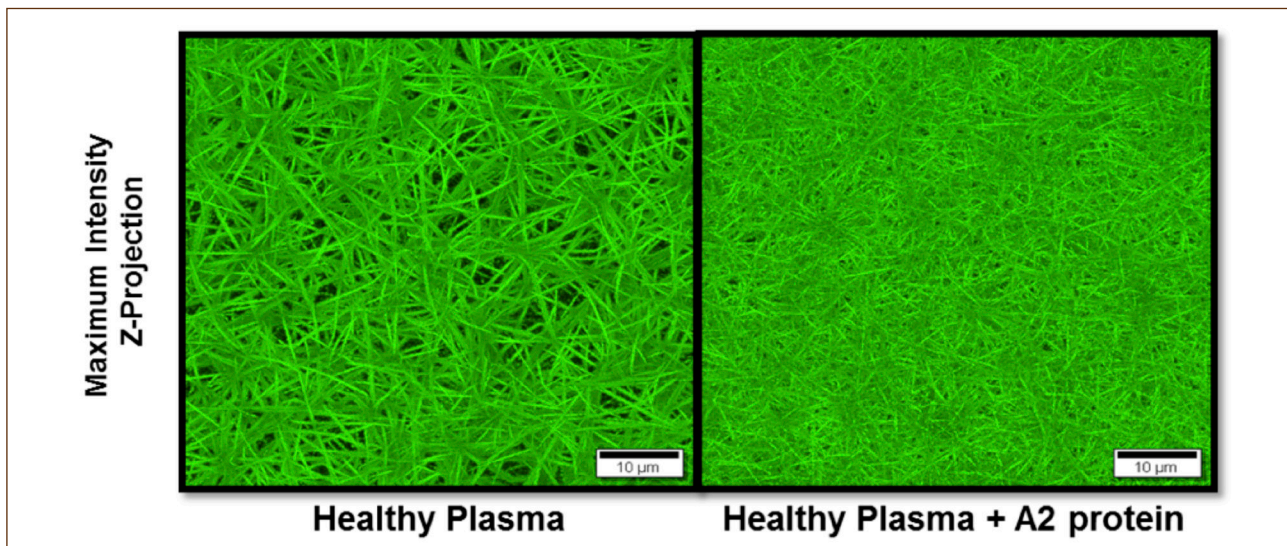


Figure 2. Effect of A2 protein on fibrin polymerization in healthy human plasma. The A2 protein (right panel) markedly affected the polymerized fibrin network as compared to plasma containing control vehicle (left panel).

mimic the course of MRSA sepsis-induced DIC commonly seen in intensive care units.

We are now showing the first evidence that the A2 protein is capable of reducing fibrin deposition, fibrin-rich microthrombi and organ injuries in two animal models for DIC employing endotoxin in mice (14) and MRSA in pigs. Moreover, like in mice, the pigs were intervened with the A2 protein after the animals presented symptoms of sickness, this is, *24 h after the infusion* (I.V.) of MRSA. Note that the pigs started to show signs of fever and tachycardia at 12 h after the bacteria inoculation. The intervention time used for the A2 protein in both murine and porcine models notably contrasts from many studies that administrated their potential therapeutic compounds before or concurrently with the insult of the animals. Thus, the A2 protein demonstrated its pharmacological efficacy when the animals were already sick, which models the typical presentation of septic patients who seek medical attention after the development of symptoms.

Fibrinogen level increases in systemic inflammation and is converted to fibrin by thrombin, which also increases in sepsis (21). The active conversion of fibrinogen to fibrin is determined by measuring the level of D-dimer, a fibrin proteolytic product. In fact, studies have suggested that high level of D-dimer indicates poor prognosis in sepsis (22). Particularly, the level of D-dimer was reduced in the infected pigs that received the A2 protein (three different doses) as compared to the sick animals without the A2 treatment. This is important because recent studies demonstrated a reduction of D-dimer when sepsis-induced DIC was attenuated in both humans and baboons (23, 24). In addition, measuring D-dimer level seems to be a proper tool to monitor the effect of the A2 protein or other testing drugs in the progression of the disease.

Among the repertoire of A2 mutants in the lab, we selected the A2 (E1567A) mutant to further investigate the mechanistic interaction with fibrin and how the A2 protein attenuates fibrin depo-

sition *in vivo*. This mutant resulted with a low binding affinity for fibrin but, it retained identical binding affinities for other ligands of A2 protein. The failure of the mutant to reduce microthrombi formation in mice with LPS-induced DIC strongly indicates that A2 protein functions through an interaction with fibrin. One can argue that A2 protein acts as an anticoagulant, however, we are showing the first evidence that the recombinant A2 protein does not impede fibrin formation but rather it directly alters the resultant fibrin structure. This physical alteration most likely affects the stability of the fibrin network, and this concept appeals one to propose that the modified fibrin by the A2 protein is more prone to fibrinolysis. This speculation is currently under investigation.

Treatment for DIC should aim at reducing the severity of bleeding or thrombosis. To date, acute DIC is frequently managed with anticoagulants and the use of these therapies increase the risk of bleeding. The A2 protein appears to be a promising candidate product to treat DIC in sepsis since it did not alter tail bleeding time in mice (14) nor provoke excessive bleeding in mice and pigs, and did not affect the occlusion time in a mouse model of thrombosis. These data provide evidence that the A2 protein can treat DIC associated with severe sepsis without causing excessive bleeding or impairing hemostasis.

Conclusion

We found a novel way to attenuate DIC through targeting fibrin directly. The A2 protein could diminish organ injuries, microvascular thrombosis, and D-dimer level in a porcine MRSA sepsis-induced DIC model. The mode of action for the A2 protein appears to be via an interaction with fibrin as demonstrated by employing an A2 mutant with a defective binding activity for fibrin. Furthermore, the A2 protein does not block fibrin formation but rather alters the physical structure of the resultant polymerized fibrin.

Lastly, the A2 protein had no effect on *in vivo* thrombosis in a mouse model for thrombosis nor caused excessive bleeding in the infected A2-treated pigs. Therefore, the A2 protein is a novel therapeutic approach in patients with uninhibited activated coagulation and disseminated fibrin deposition such as in DIC. Further human studies are warranted to confirm our findings and to further develop A2 protein as a therapeutic agent.

References

- Weiner LM, Fridkin SK, Aponte-Torres Z, et al. Vital Signs: Preventing Antibiotic-Resistant Infections in Hospitals-United States, 2014. *Am J Transplant* 2016;16(7):2224-30.
- Hassoun A, Linden PK, Friedman B. Incidence, prevalence, and management of MRSA bacteremia across patient populations-a review of recent developments in MRSA management and treatment. *Crit Care* 2017;21(1):211.
- Nguyen T, Kyle UG, Jaimon N, et al. Coinfection with *Staphylococcus aureus* increases risk of severe coagulopathy in critically ill children with influenza A (H1N1) virus infection. *Critical care medicine* 2012;40(12):3246-50.
- Kravitz GR, Dries DJ, Peterson ML, et al. Purpura fulminans due to *Staphylococcus aureus*. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America. Infectious Diseases Society of America* 2005;40(7):941-7.
- Carpenter SL, Goldman J, Sherman AK, et al. Clinical variables and *Staphylococcus aureus* virulence factors associated with venous thromboembolism in children. *Thrombosis research* 2016;138:69-73.
- Lin JC, Spinella PC, Fitzgerald JC, et al. New or Progressive Multiple Organ Dysfunction Syndrome in Pediatric Severe Sepsis: A Sepsis Phenotype With Higher Morbidity and Mortality. *Society of Critical Care Medicine and the World Federation of Pediatric Intensive and Critical Care Societies. Pediatric Critical Care Medicine* 2017;18(1):8-16.
- Cohen J, Vincent JL, Adhikari NK, et al. Sepsis: a roadmap for future research. *Lancet Infect Dis* 2015;15(5):581-614.
- Tamburro RF, Jenkins TL, Kochanek PM. Strategic Planning for Research in Pediatric Critical Care. *Society of Critical Care Medicine and the World Federation of Pediatric Intensive and Critical Care Societies. Pediatric Critical Care Medicine* 2016;17(11):e539-e42.
- Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *American Medical Association. JAMA* 2016;315(8):801-10.
- Levi M, van der Poll T. Coagulation and sepsis. *Thromb Res* 2017;149:38-44.
- Gando S, Levi M, Toh CH. Disseminated intravascular coagulation. *Nat Rev Dis Primers* 2016;2:16037.
- Khemani RG, Bart RD, Alonzo TA, et al. Disseminated intravascular coagulation score is associated with mortality for children with shock. *Intensive Care Med* 2009;35(2):327-33.
- Fink MP, Warren HS. Strategies to improve drug development for sepsis. *Nature reviews Drug discovery* 2014;13(10):741-58.
- Nguyen TC, Gushiken F, Correa JI, et al. A recombinant fragment of von Willebrand factor reduces fibrin-rich microthrombi formation in mice with endotoxemia. *Thromb Res* 2015.
- Kennedy AD, Porcella SF, Martens C, et al. Complete nucleotide sequence analysis of plasmids in strains of *Staphylococcus aureus* clone USA300 reveals a high level of identity among isolates with closely related core genome sequences. *J Clin Microbiol* 2010;48(12):4504-11.
- Highlander SK, Hulten KG, Qin X, et al. Subtle genetic changes enhance virulence of methicillin resistant and sensitive *Staphylococcus aureus*. *BMC microbiology* 2007;7:99.
- Rumbaut RE, Randhawa JK, Smith CW, et al. Mouse cremaster venules are predisposed to light/dye-induced thrombosis independent of wall shear rate, CD18, ICAM-1, or P-selectin. *Microcirculation* 2004;11(3):239-47.
- Martín C, Morales LD, Cruz MA. Purified A2 domain of von Willebrand factor binds to the active conformation of von Willebrand factor and blocks the interaction with platelet glycoprotein Ibalpha. *J Thromb Haemost* 2007;5(7):1363-70.
- Da Q, Behymer M, Correa JI, et al. Platelet adhesion involves a novel interaction between vimentin and von Willebrand factor under high shear stress. *Blood* 2014;123(17):2715-21.
- Soerensen KE, Olsen HG, Skovgaard K, et al. Disseminated intravascular coagulation in a novel porcine model of severe *Staphylococcus aureus* sepsis fulfills human clinical criteria 1. *J Comp Pathol* 2013;149(4):463-74.
- Levi M, Keller TT, van GE, et al. Infection and inflammation and the coagulation system. *Cardiovasc Res* 2003;60(1):26-39.
- Schwameis M, Steiner MM, Schoergenhofer C, et al. D-dimer and histamine in early stage bacteremia: A prospective controlled cohort study. *Eur J Intern Med* 2015;26(10):782-6.
- Schochl H, van Griensven M, Heitmeier S, et al. Dual inhibition of thrombin and activated factor X attenuates disseminated intravascular coagulation and protects organ function in a baboon model of severe Gram-negative sepsis. *Crit Care* 2017;21(1):51.
- Iba T, Hagiwara A, Saitoh D, et al. Effects of combination therapy using antithrombin and thrombomodulin for sepsis-associated disseminated intravascular coagulation. *Ann Intensive Care* 2017;7(1):110.

Diátesis hemorrágica y colágeno: avances en la era de la genómica

Altisent C.¹, Corrales I.^{1,2}

¹Institut de Recerca Vall d'Hebron. Universitat Autònoma de Barcelona (VHIR-UAB). Barcelona. ²Banc de Sang i Teixits. Barcelona

Introducción

La hemostasia es un sistema biológico muy complejo en el que interviene la interacción regulada entre el endotelio vascular, las plaquetas y las proteínas de la coagulación. Una mutación en cualquiera de los genes que codifican para alguna de las proteínas o receptores implicados en este proceso puede resultar en un fenotipo hemorrágico. El desarrollo de tecnologías cada vez más potentes (*Next Generation Sequencing* —NGS—) para la aplicación rutinaria al diagnóstico molecular y a la investigación de las enfermedades con base genética permite abordar su estudio de manera integral. Este planteamiento está siendo especialmente útil en el campo de las coagulopatías congénitas para el análisis simultáneo de las diversas proteínas de la coagulación que interactúan de manera sinérgica para mantener el equilibrio hemostático (1,2), así como en las enfermedades congénitas relacionadas con anomalías del colágeno (3). No obstante, todavía es necesario profundizar en el estudio de los trastornos hemorrágicos con una base genética compleja, poco conocida o absolutamente desconocida.

Diagnóstico y clasificación de las diátesis hemorrágicas

En general, las diátesis hemorrágicas congénitas se clasifican según su causa: alteraciones de la pared vascular, anomalías cuantitativas y cualitativas de las plaquetas, alteraciones de las proteínas de la coagulación o alteraciones de la fibrinólisis. Las distintas pruebas de hemostasia específicas permiten orientar el diagnóstico de estas alteraciones y los estudios genéticos han servido para determinar la mutación causal.

Con la intención de objetivar el índice hemorrágico para la catalogación de los pacientes se han propuesto distintas valoraciones del sangrado, en especial para la enfermedad de Von Willebrand (EVW). En el año 2010 se elaboró el consenso *Bleeding Assessment Tool* de la International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH-BAT), y en el año 2014 se publicaron los valores de normalidad de este índice en 1.040 adultos sanos y 328 niños provenientes del *Merging Project*. Los resultados fueron unos valores de normalidad de 0-2 en niños de ambos sexos, de 0-3 en varones adultos y de 0-5 en mujeres adultas; los valores discriminativos positivos o anormales fueron superiores a 3, 4 y 6, respectivamente (4).

En la actualidad, existe una clara correlación entre la gravedad de la enfermedad y el diagnóstico con las pruebas de hemostasia, pero es muy difícil el diagnóstico de las diátesis hemorrágicas leves (5) (Fig. 1). En este sentido, es de gran interés el estudio

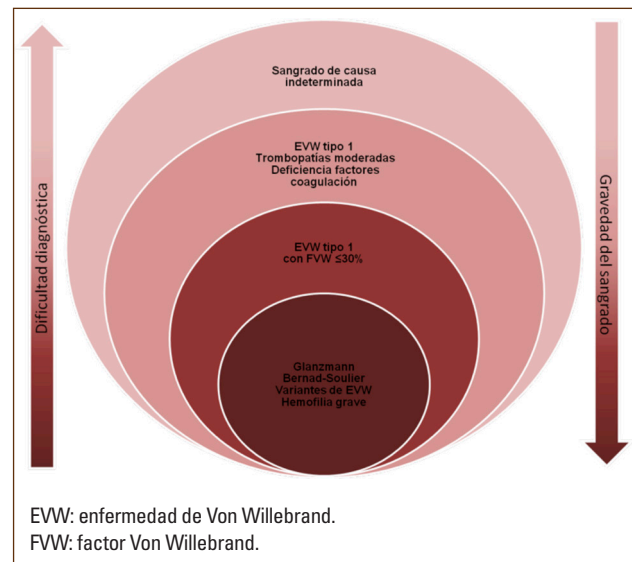


Figura 1. Prevalencia, dificultad diagnóstica y gravedad del sangrado (adaptado de Quiroga T *et al*) (5).

del Vienna Bleeding Bank por el elevado número de casos y sus resultados (6): la selección de pacientes se inició en octubre de 2009, continúa abierta en la actualidad y el primer análisis de datos abarcaba hasta septiembre de 2015. Se analizaron 418 pacientes (345 mujeres y 73 varones) de edad superior a 14 años. En ambos sexos las manifestaciones hemorrágicas más frecuentes fueron las equimosis o hematomas (64%), las hemorragias posquirúrgicas (377; 60%) y el sangrado después de una extracción dentaria (363; 40%). El 60% de las mujeres presentó menorragia y el 30%, una hemorragia después del parto (214). Los estudios de hemostasia practicados según las recomendaciones para la orientación diagnóstica fueron: el tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPA), el tiempo de protrombina (TP), la determinación del fibrinógeno Clauss, el análisis de la función plaquetaria (PFA) y su agregación, la determinación de los factores de la coagulación VIII, IX y XIII y del factor Von Willebrand (FVW), incluyendo el antígeno y el cofactor R, así como los factores XI y XII si el TTPA estaba alargado. El diagnóstico más frecuente fue una trombopatía posible o definitiva seguido de la EVW y niveles bajos de FVW, todos ellos relacionados con la hemostasia primaria. En la mayoría de los pacientes (303 de 418; 72,5%) no pudo establecerse un diagnóstico definitivo, especialmente en las mujeres (77,1% frente al 50,7%). El fenotipo hemorrágico y las características clínicas

no diferenciaban el grupo con o sin diagnóstico (6). La ausencia de diferenciación clínica entre ambos grupos ya ha sido reportada en estudios similares, en los que en un 47-69% de los pacientes no se alcanzaba un diagnóstico definitivo (5).

En las guías recientes de orientación diagnóstica no se incluye el uso del tiempo de hemorragia (tiempo de Ivy) para el estudio de las trombopatías o de la EVW por considerarlo invasivo y de bajo valor predictivo. En un estudio prospectivo que incluía 280 pacientes con historia de hemorragia, el tiempo de Ivy estaba alargado en el 27% de los pacientes (41% con EVW y 39% con trombopatía). Es de interés destacar que fue la única prueba anormal en el 19% de los 167 pacientes sin diagnóstico, lo que orientaba hacia defectos de la interacción de las plaquetas o el FVW con el endotelio vascular, no detectables con las pruebas diagnósticas actuales (5).

Estructura y funciones del colágeno

Las distintas moléculas de colágeno son las proteínas más abundantes en los mamíferos y representan el 30% del total. En los últimos años, los avances en bioquímica, biología molecular y la secuenciación del genoma han permitido describir un total de 28 tipos, numerados de I al XXVIII (el 90% pertenece a los tipos I, II y III), de los cuales se conoce su estructura y el papel biológico, aunque se continúa ampliando su implicación en distintas enfermedades (7).

El colágeno fibrilar es el más abundante en los vertebrados y desempeña un papel de gran importancia para mantener la arquitectura y propiedades mecánicas de los tejidos, en especial la resistencia a la tracción de los ligamentos o la resistencia de la piel. El 40% de las proteínas de los vasos es de naturaleza colágena y contribuye a mantener su integridad. La matriz extracelular vascular es un componente de gran importancia para mantener la estructura y función de todos los vasos sanguíneos y comprende una membrana basal, con colágeno de tipos IV, XV y XVIII, y una matriz intersticial donde predominan los tipos I, III y VI (Fig. 2). Existe una amplia evidencia de que el colágeno de la matriz extracelular es uno de los mayores activadores de las plaquetas después de una lesión vascular y participa en su adhesión y activación, así como en la regulación de la coagulación (8).

El colágeno se sintetiza en forma de moléculas de procolágeno y la estructura común en todas ellas comprende una triple hélice que puede ocupar la mayoría de su estructura (96% en el de tipo I) o solamente una pequeña parte (< 10% en el de tipo XII). Las tres cadenas polipeptídicas (cadenas α) son de una extensión variable, están sometidas a múltiples cambios postranscripcionales y pueden ser idénticas, formando homotrímeros, o distintas, formando heterotrímeros. Las secuencias de la triple hélice son repeticiones de glicina y dos aminoácidos más, de los que los más frecuentes son la prolina y la 4-hidroxiprolina. La presencia de una glicina en cada triplete es esencial para el ensamblado cerrado de las tres cadenas.

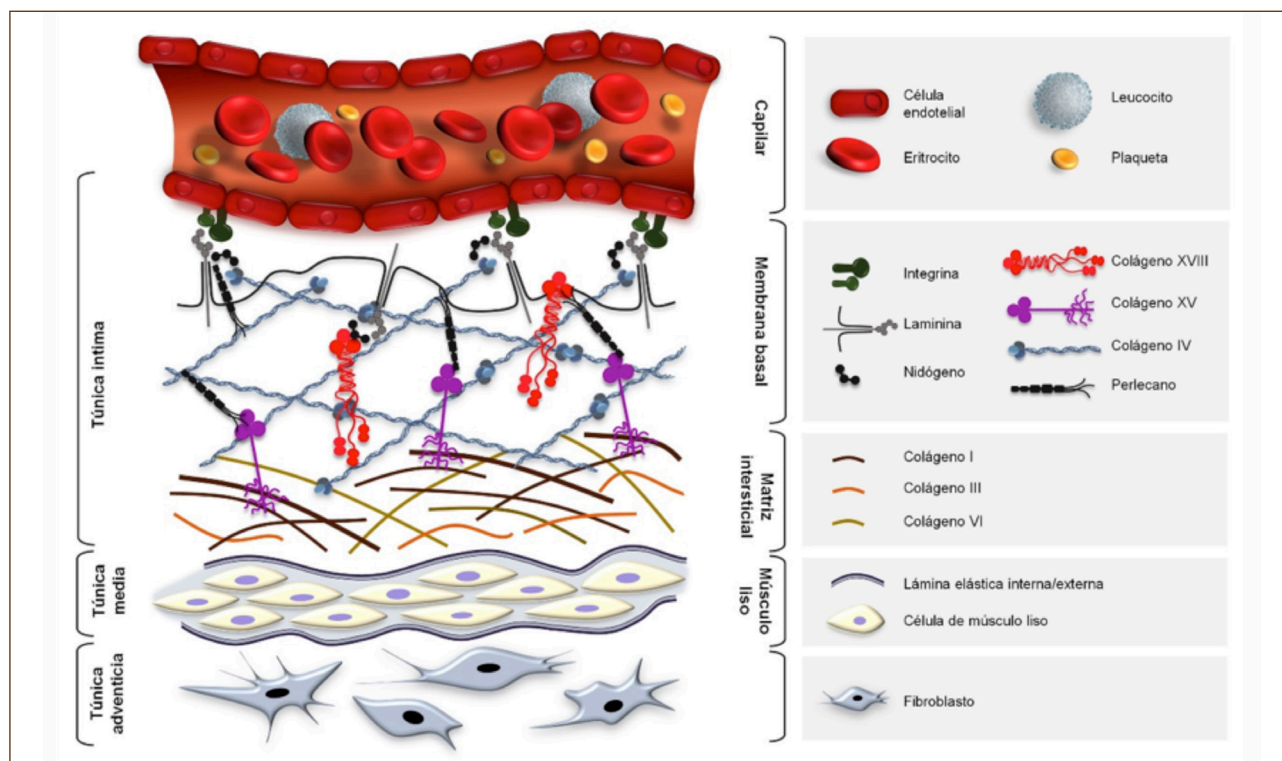


Figura 2. Representación esquemática de la estructura de la capa subendotelial de los capilares sanguíneos, compuesta por la membrana basal (MB) y la matriz intersticial (MI). Los componentes mayoritarios de la MB incluyen el colágeno tipo IV, la laminina y la integrina. Entre los componentes minoritarios se incluyen el colágeno tipo XV y tipo XVIII. En la MI se incluyen los colágenos tipo I, III y VI. La MB está íntimamente conectada a la MI a través de las interacciones que se establecen entre el colágeno tipo I, IV, VI y XV.

La triple hélice con dominios del colágeno puede estar interrumpida por dominios no propiamente colágenos, que participan en el montaje estructural y le confieren actividades biológicas. Los dominios no colágenos están presentes en otras proteínas extracelulares, como la fibronectina III, Kunitz y trombospondina 1, aunque los dominios del FVW son los más abundantes (9,10) (Fig. 3).

Los estudios bioquímicos del colágeno son difíciles por su gran tamaño, su insolubilidad, las secuencias repetitivas y por una compleja estructura. Algunos péptidos sintéticos han permitido determinar las diferentes zonas de unión de las moléculas de colágeno fibrilar que reconocen la glicoproteína (GP) VI, la integrina $\alpha_2\beta_1$ y el dominio A3 del FVW, estableciendo que el colágeno es un multirreceptor eficiente para la adhesión de las plaquetas (6).

Los genes del colágeno se hallan dispersos en el genoma y, además de las mutaciones en las proteínas colágenas, se han descrito otras de la proteína tenascina B (TNXB) y de los genes *PLOD1* y *ADAMTS2*, las cuales, por mecanismos distintos, alterarían la estructura correcta del colágeno en el tejido conectivo. En general, las anomalías del colágeno comportan alteraciones orgánicas en el sistema cardiovascular (aneurismas o disfunción valvular), globo ocular (luxación del cristalino), matriz ósea (anomalías de la osteogénesis), ligamentos (hiperlaxitud o hipermovilidad articular) y piel (flacidez y cicatrización anómala). Son menos conocidos los efectos de sus anomalías en la hemostasia, pero debido a su participación en la resistencia vascular y en el inicio de la hemostasia, es de interés profundizar en su conocimiento.

Colágeno y hemostasia

Cualquier lesión por agresión del endotelio vascular comporta una exposición de la matriz extracelular de la pared del vaso, cuya proteína extracelular más abundante es el colágeno y la que, a su vez, le confiere la resistencia vascular. La exposición de los componentes subendoteliales como el colágeno, el FVW, la fibronectina y la laminina a partir de la lesión vascular será esencial para el inicio de la hemostasia y para la recuperación de la integridad vascular. Se conocen las propiedades del colágeno para mantener la estabilidad mecánica de la membrana basal, así como sus propiedades adhesivas; no obstante, aún se desconoce en detalle cómo

el colágeno media en la adhesión y activación de las plaquetas y en otras funciones de activación de las proteínas plasmáticas.

Las plaquetas tienen receptores en su superficie para cada uno de los componentes subendoteliales. Las fibras de colágeno de tipo I, III, IV y VI interactúan directamente con los receptores plaquetarios GP Ia/IIa y GP VI o indirectamente a través del FVW. Este factor es una proteína multimérica con un papel fundamental en la hemostasia primaria como proteína adhesiva entre las plaquetas y el colágeno de la matriz vascular. En el dominio A1 se encuentran las zonas de unión para los colágenos de tipo IV y VI, y en el dominio A3 para los tipos I y III. En condiciones normales, el FVW presenta una conformación globular inactiva y circula por el plasma sanguíneo sin interactuar con las plaquetas. Tras producirse un daño vascular y quedar expuesto el colágeno subendotelial, el FVW se une al colágeno a través del dominio A3 y pierde su estructura globular, adquiriendo una conformación de cadena con capacidad adhesiva. La unión entre el dominio A1 y la GPIIb/IIIa (complejo GPIIb-IX-V) inicia la inmovilización y adhesión de las plaquetas al colágeno. Esta unión es inestable y es necesaria la interacción directa de las plaquetas con el colágeno a través de la GP VI, la cual inducirá una activación de la GP IIb/IIIa ($\alpha_{IIb}\beta_3$) y la GP Ia/IIa ($\alpha_2\beta_1$). Estas integrinas, con el FVW y el fibrinógeno, forman unas fuertes uniones y permiten una adhesión y agregación estables (11) (Fig. 4).

Es conocida la dificultad del diagnóstico de los defectos del FVW relacionados con su unión al colágeno, dado que los resultados son variables en función del tipo de colágeno utilizado para valorar esta unión (12). Cabe destacar que, en general, este defecto comporta un fenotipo hemorrágico moderado o leve.

El factor IX se une al colágeno IV y esta unión ha sido estudiada en la farmacocinética del tratamiento sustitutivo con este factor, pero se desconocen sus funciones hemostáticas. En un modelo murino con la mutación K5A, que reduce en gran medida la unión al colágeno IV, no se ha evidenciado ninguna anomalía hemostática *in vitro*, pero sí *in vivo*, destacando así un papel funcional significativo en la hemostasia (13).

Anomalías del tejido conectivo y laxitud articular

Es conocida la facilidad para el sangrado en pacientes con enfermedades hereditarias del tejido conectivo (EHTC), en espe-

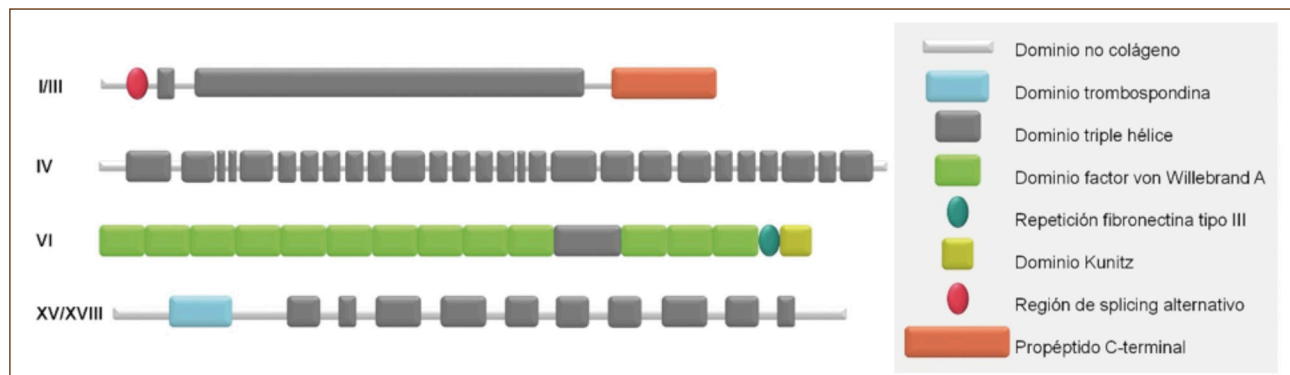







Figura 3. Estructura esquemática de una cadena α de los colágenos I, III, IV, VI, XV y XVIII en la que se muestran los dominios que los conforman (adaptado de Ricard-Blum S) (10).

Tabla I. Criterios de Beighton para la valoración de la laxitud articular		Izquierda	Derecha
Laxitud articular. Criterios de Beighton			
	Flexión dorsal pasiva del dedo meñique > 90°	1	1
	Aposición del pulgar a la cara palmar del antebrazo	1	1
	Hiperextensión del codo > 10°	1	1
	Hiperextensión de la rodilla > 10°	1	1
	Flexión del tronco hacia adelante hasta tocar con las manos al suelo sin flexionar las rodillas		1
		Total: 9 puntos	
		Hiperlaxitud: ≥ 4 puntos	

de un trastorno hemostático relacionado con el tejido conectivo, se aconseja derivarlo al especialista correspondiente, determinar el tiempo de Ivy en la EED o considerar el estudio genético (20).

En la EED, por las múltiples manifestaciones clínicas en diferentes sistemas y su solapamiento en los diferentes subtipos, el estudio molecular con NGS es de gran interés para la identificación de variantes en cualquiera de los genes potencialmente implicados. En el primer estudio molecular con NGS se incluyeron 177 pacientes, de los que 34 habían sido previamente estudiados con el método Sanger. Se confirmaron las mutaciones descritas. 7 nuevas mutaciones permitieron modificar el diagnóstico y de las 18 nuevas variantes de significado incierto, un número significativo tenía evidencia de patogenicidad. De este estudio cabe resaltar que las variantes patogénicas de los distintos tipos de colágeno no siempre se correlacionan con el fenotipo esperado (3).

Estudio prospectivo

En base a la asociación descrita entre la EED y la tendencia al sangrado, se ha planteado un estudio observacional y prospectivo con el objetivo de examinar las características clínicas de pacientes con tendencia hemorrágica de causa desconocida e hiper movilidad articular y abordar la base genética subyacente a estos trastornos. En total, se han incluido 41 mujeres entre junio de 2016 y enero de 2017, 26 seleccionadas en la Unitat d'Hemofilia y 15 en el Servei de Rehabilitació de l'Hospital Universitari Vall d'Hebron. La media de edad es de 38,7 años (límites: 17-62), la media del ISTH-BAT es de 8 (3-17) y la del índice de Beighton es de 7 (2-9).

El estudio genético mediante NGS del exoma clínico de estos sujetos se ha realizado aplicando el panel TruSight One Sequencing de Illumina, que permite el estudio simultáneo de más de 4.800 genes relacionados con enfermedades de herencia mendeliana. La búsqueda se ha centrado en 209 genes relacionados con las EHTC o con sangrado. En un análisis preliminar, se han podido identificar un total de 263 variantes distintas en genes relacionados con estas enfermedades. Doce de estas variantes han sido validadas por el método Sanger en 9 pacientes y están localizadas en los genes *COL1A1*, *COL1A2*, *COL5A1* y *COL5A2*, todos ellos relacionados con el grupo A de Ehlers-Danlos de la reciente clasificación (14). Asimismo, también se han identificado y validado en 4 pacientes un total de 5 mutaciones en los genes *FBN1* y *FBN2*, relacionados con el síndrome de Marfan y otros trastornos asociados. Por otro lado, en 18 pacientes se han detectado y validado un total de 29 variantes identificadas en genes relacionados con coagulopatías congénitas (21).

Conclusión

Para el inicio de la hemostasia primaria es necesario la correcta interacción de los múltiples receptores de las plaquetas con el FVW y el colágeno. Los defectos en las plaquetas o el FVW derivan en una diátesis hemorrágica de intensidad variable, aunque predominan las de tipo moderado o leve. A pesar de la normalidad de los estudios de hemostasia *in vitro*, las anomalías del colágeno de la matriz vascular podrían ser la causa de la diátesis, por lo que son necesarias una historia clínica detallada y una exploración

minuciosa con el fin de orientar el diagnóstico diferencial de las diátesis hemorrágicas en ausencia de anomalía en los estudios de hemostasia.

Las posibilidades que brindan actualmente las técnicas de secuenciación NGS nos permiten plantear el estudio simultáneo de decenas, cientos o miles de genes a un coste inferior al del estudio individual de cada uno de ellos mediante secuenciación tradicional de Sanger. Los resultados preliminares aportados por el estudio prospectivo resaltan la necesidad de considerar la evaluación clínica de la sintomatología propia de la EED en pacientes con antecedentes hemorrágicos sin anomalía hemostática y sintomatología de hipermovilidad. Es de interés resaltar la elevada prevalencia del sexo femenino en ambos defectos.

El enfoque molecular mediante la técnica NGS es útil y eficiente para el estudio exhaustivo de la base genética subyacente a estos trastornos. La identificación de los genes implicados proporcionaría un avance en el diagnóstico, clasificación, orientación terapéutica y consejo genético a pacientes a los que, en la actualidad, solo se les ofrece recomendaciones basadas en las manifestaciones hemorrágicas. Para una mejor identificación de las enfermedades hereditarias del tejido conectivo es necesario la creación de grupos multidisciplinarios para la detección de estos pacientes con sintomatología múltiple y compleja.

Bibliografía

1. Sivapalaratnam S, Collins J, Gómez K. Diagnosis of inherited bleeding disorders in the genomic era. *Br J Haematol* 2017;179(3):363-76. Review.
2. Leinøe E, Zetterberg E, Kinalis S, et al. Application of whole-exome sequencing to direct the specific functional testing and diagnosis of rare inherited bleeding disorders in patients from the Öresund Region, Scandinavia. *Br J Haematol* 2017;179(2):308-22.
3. Weerakkody RA, Vandrovцова J, Kanonidou C, et al. Targeted next-generation sequencing makes new molecular diagnoses and expands genotype-phenotype relationship in Ehlers-Danlos syndrome. *Genet Med* 2016;18(11):1119-27. PubMed PMID:27011056
4. Elbatarny M, Mollah S, Grabell J, et al. Normal range of bleeding scores for the ISTH-BAT: adult and pediatric data from the merging project. *Haemophilia* 2014;20(6):831-5. PubMed PMID: 25196510.
5. Quiroga T, Mezzano D. Is my patient a bleeder? A diagnostic framework for mild bleeding disorders. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2012:466-74. Review. PubMed PMID: 23233621.
6. Gebhart J, Hofer S, Panzer S, et al. High proportion of patients with bleeding of unknown cause in persons with a mild-to-moderate bleeding tendency: Results from the Vienna Bleeding Biobank (VIBB). *Haemophilia* 2018. PubMed PMID: 29388750.
7. Liu W, Li L, Ye H, et al. Role of COL6A3 in colorectal cancer. *Oncol Rep* 2018;39(6): 2527-36. PubMed PMID: 29620224.
8. Farndale RW, Slatter DA, Siljander PR, et al. Platelet receptor recognition and cross-talk in collagen-induced activation of platelets. *J Thromb Haemost* 2007;5(Suppl. 1): S220-S9. PubMed PMID: 17635730.
9. Gordon MK, Hahn RA. Collagens. *Cell Tissue Res* 2010;339(1):247-57. Review. PubMed PMID: 19693541.
10. Ricard-Blum S. The collagen family. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2011;3(1): a004978. Review. PubMed PMID: 21421911.
11. Manon-Jensen T, Kjeld NG, Karsdal MA. Collagen-mediated hemostasis. *J Thromb Haemost* 2016;14(3):438-48. Review. PubMed PMID: 26749406.
12. Flood VH, Gill JC, Christopherson PA, et al. Comparison of type I, type III and type VI collagen binding assays in diagnosis of von Willebrand disease. *J Thromb Haemost* 2012;10(7):1425-32. PubMed PMID: 22507643.
13. Gui T, Rehemana A, Ni H, et al. Abnormal hemostasis in a knock-in mouse carrying a variant of factor IX with impaired binding to collagen type IV. *J Thromb Haemost* 2009;7(11):1843-51. PubMed PMID: 19583826.
14. Malfait F, De Paepe A. Bleeding in the heritable connective tissue disorders: mechanisms, diagnosis and treatment. *Blood Rev* 2009;23(5):191-7. PubMed PMID: 19592142.
15. Malfait F, Francomano C, Byers P, et al. The 2017 international classification of the Ehlers-Danlos syndromes. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2017;175(1):8-26. PubMed PMID: 28306229.
16. Tinkle B, Castori M, Berglund B, et al. Hypermobile Ehlers-Danlos syndrome (a.k.a. Ehlers-Danlos syndrome Type III and Ehlers-Danlos syndrome hypermobility type): Clinical description and natural history. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2017;175(1):48-69. Review. PubMed PMID: 28145611.
17. Castori M, Tinkle B, Levy H, et al. A framework for the classification of joint hypermobility and related conditions. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2017;175(1):148-57. PubMed PMID: 28145606.
18. Jackson SC, Odiaman L, Card RT, et al. Suspected collagen disorders in the bleeding disorder clinic: a case-control study. *Haemophilia* 2013;19(2):246-50. PubMed PMID: 23030528.
19. Hickey SE, Varga EA, Kerlin B. Epidemiology of bleeding symptoms and hypermobile Ehlers-Danlos syndrome in paediatrics. *Haemophilia* 2016;22(5):e490-3. PubMed PMID: 27562077.
20. Boender J, Kruij MJ, Leebeek FW. A diagnostic approach to mild bleeding disorders. *J Thromb Haemost* 2016;14(8):1507-16. Review. PubMed PMID: 27208505.
21. Altisent C, Martorell M, Sánchez-Raya J, et al. Patients with bleeding of unknown cause and joint hypermobility: clinical assessment and genetic screening. *Haemophilia* 2018;24(Suppl. 1):S63.

Plaquetas conservadas en frío para fines transfusionales: “regreso al pasado”

Escolar Albaladejo G., Lozano M., Cid J., Díaz-Ricart M.
Hospital Clínic. Barcelona

Resumen

En los inicios de la transfusión de plaquetas los concentrados se conservaban en frío, siguiendo un razonamiento simplista. Diversas investigaciones en los setenta llegaron a la conclusión de que las plaquetas conservaban mejor su funcionalidad y persistían en la circulación de los pacientes transfundidos cuando los concentrados se mantenían a 22 °C. Con la aparición de plásticos que permitían un mejor intercambio de gases, la vida útil de los concentrados se mejoró de 3 a 5 días. En los últimos 10 años, distintos estudios han descubierto las causas por las que las plaquetas conservadas a bajas temperaturas desaparecían rápidamente de la circulación. Esos hallazgos parecían desterrar el uso de la conservación de plaquetas a bajas temperaturas. La necesidad de concentrados de plaquetas ha aumentado progresivamente en las últimas décadas. El riesgo de contaminación bacteriana y la posibilidad de que los pacientes desarrollen infecciones graves han obligado a diseñar estrategias que consiguen prolongar la vida útil de las plaquetas hasta los 7 días, que parece ser el límite de la vida útil de los concentrados de plaquetas conservados a 22 °C, y esta barrera parece difícil de franquear. Recientemente se ha renovado el interés por las plaquetas conservadas en frío y por otros productos menos convencionales, como plaquetas criopreservadas, que permitirían mejorar el manejo de los inventarios en los centros y en los servicios de transfusión. Parece que hemos redescubierto que el frío evitaba la contaminación bacteriana y que la función hemostática de las plaquetas conservadas en frío no estaba tan deteriorada como se suponía. Este texto intentará revisar y actualizar los aspectos anteriormente delineados.

Visión histórica

Hace unos 50 años, Murphy y Gardner (1) confirmaban que el almacenamiento de los concentrados a 4 °C acertaba la supervivencia de las plaquetas en la circulación de los individuos transfundidos respecto a las concentrados almacenados a 22 °C. Pocos años después, los mismos autores demostraban que el almacenamiento a 22 °C prolongaba la vida útil y mantenía una función adecuada de las plaquetas en los concentrados. En los años siguientes, la vida útil de los concentrados de plaquetas pudo extenderse hasta los 5 días a temperatura ambiente cuando se utilizaban plásticos permeables a los gases y se mantenían en agitación (2). Se investigó la posibilidad de prolongar la preservación hasta los 7 días con resultados aceptables (3). Sin embargo, el riesgo de contaminación bacteriana de los concentrados de plaquetas aumenta a medida que

se prolonga su conservación y puede dar como resultado infecciones graves en pacientes que reciben estas transfusiones.

La aparición progresiva de patógenos emergentes afecta también al suministro de componentes sanguíneos por el riesgo de infecciones transmitidas. Los bancos de sangre están investigando con nuevas tecnologías y nuevos productos que permitan afrontar las posibles amenazas al suministro de componentes sanguíneos. Han aparecido diferentes estrategias para extender la vida útil de los concentrados manteniendo su seguridad, incluyendo tecnologías para la reducción de patógenos o la implementación de pruebas para la detección de contaminación bacteriana (4,5). Para disminuir el impacto de las limitaciones en la vida útil de los concentrados, está considerándose el desarrollo de preparados menos convencionales. La criopreservación es una de las estrategias de futuro. La disponibilidad de plaquetas criopreservadas puede proporcionar una alternativa en casos de emergencias extremas.

La conservación en frío limitaba el crecimiento bacteriano, pero afectaba negativamente a la supervivencia de las plaquetas transfundidas. Varios estudios consiguieron demostrar los mecanismos implicados en la rápida desaparición de las plaquetas conservadas en frío.

Alteración de la GPIb por bajas temperaturas

En 1994, Bode y cols. (6) ya habían sugerido que la conservación de las plaquetas a 4 °C aumentaba la microvesiculación de la membrana plaquetaria y aceleraba la pérdida de la glicoproteína Ib (GPIb), y que estos hallazgos contribuían a la vida media acortada de las plaquetas en la circulación. Estudios posteriores demostraron que el almacenamiento de las plaquetas en frío inducía una disminución en la unión de anticuerpos monoclonales a la GPIb plaquetaria, lo que facilitaba la fagocitosis de las plaquetas por macrófagos. Estos efectos podían inhibirse por la presencia de N-acetilglucosamina (7). Otras investigaciones confirmaron que las bajas temperaturas inducen una desialización de la GPIb (8,9). La exposición de plaquetas refrigeradas a temperaturas más elevadas induce la secreción de sialidasas que proteolizan el ácido siálico. La supervivencia en la circulación de plaquetas refrigeradas aumenta en presencia de inhibidores de sialidasas. La presencia de un inhibidor de la metaloproteasa ADAMTS-17 (GM6001) inhibe estos fenómenos de proteólisis y aumenta la supervivencia de las plaquetas en la circulación (10). Es un hecho destacable que los estudios citados en este apartado consiguieron explicar por qué las plaquetas desaparecían rápidamente de la circulación en los pacientes transfundidos, pero nunca mostraron interés en cuál era la función de las plaquetas transfundidas mientras permanecían en la circulación.

Evaluación *in vitro* de la función de los concentrados de plaquetas

La evaluación *in vitro* de la función de las plaquetas en concentrados es un aspecto clave para implementar desarrollos que mejoren los procedimientos de conservación de los concentrados. Desgraciadamente, las pruebas *in vitro* tienen dos grandes limitaciones. La primera es determinar en qué medida los resultados de la prueba *in vitro* se traducen en la eficacia clínica de los productos plaquetarios una vez transfundidos (11). La segunda, y tal vez la más difícil de resolver, es saber cómo estas pruebas pueden ser aplicadas a la evaluación de productos menos convencionales (12). En el campo de la evaluación *in vitro* de los concentrados de plaquetas, las técnicas de perfusión han contribuido en gran medida a una mejor comprensión de los mecanismos que utilizan para restaurar la hemostasia en los pacientes trombocitopénicos. En estos sistemas, superficies vasculares dañadas se exponen a la sangre circulante en condiciones de flujo definidas.

La principal ventaja de estos dispositivos de perfusión es que permiten la evaluación de las actividades adhesiva, agregante y procoagulante de las plaquetas usando condiciones de flujo fisiológicas (13). En un estudio pionero en 1979, McGill y Brindley (14) ya habían utilizado cámaras anulares de perfusión para evaluar los efectos de las plaquetas almacenadas a 4 °C o a 22 °C sobre la reactividad plaquetaria al subendotelio arterial. Los resultados de esos estudios demostraron funciones adhesivas adecuadas en concentrados conservados a 4 °C. Estudios posteriores confirmaron que el almacenamiento de concentrados a 4 °C tenía un efecto negativo sobre la capacidad adhesiva de las plaquetas, pero potenciaban su actividad procoagulante (15). Un incremento en la capacidad procoagulante ha sido también descrito para preparaciones sintéticas de fosfolípidos que imitan a las micropartículas de origen plaquetario y para plaquetas criopreservadas (16,17). Estas observaciones en sistemas de perfusión apoyan la importancia de la actividad procoagulante de las plaquetas y su contribución a la restauración de la hemostasia.

Renovado interés en plaquetas conservadas en frío

A pesar de los efectos deletéreos de las bajas temperaturas sobre la supervivencia plaquetaria, las investigaciones en este campo continuaron. Con cierta sorpresa, en los últimos años estamos asistiendo a un interés renovado en el uso de plaquetas almacenadas en frío con la aparición de diversos artículos científicos que promueven el interés en esta opción. Así, un estudio experimental demostraba que las plaquetas conservadas a 4 °C sin agitación preservaban características metabólicas y celulares correctas durante 21 días (18). Concentrados de plaquetas obtenidos por aféresis y almacenadas a 4 °C parecían hemostáticamente más eficaces y liberaban menos mediadores proinflamatorios que cuando eran almacenadas a temperatura ambiente durante 5 días. Se ha sugerido que los concentrados de plaquetas almacenadas en frío pueden ser más eficaces en los pacientes con hemorragia aguda (19). El almacenamiento en frío de plaquetas también conduce a la formación de agregados. La separación de las plaquetas del exceso de plasma y su almacenamiento en soluciones aditivas (PAS) a 4 °C evita la formación de agregados y preserva las respuestas

metabólicas y funcionales de las plaquetas (20). En un estudio reciente, los autores compararon los efectos de las condiciones de almacenamiento a 22 y 4 °C sobre la vida útil de los concentrados y su eficacia en el control del sangrado agudo. Las plaquetas almacenadas a 4 °C durante 10 a 14 días mostraron una mayor expresión superficial de PAC-1 y CD62P, dos indicadores de activación plaquetaria. Los recuentos, las morfologías celulares, las respuestas de agregación y la función hemostática de las plaquetas almacenadas a 4 °C durante 10 a 14 días fueron mejores que las almacenadas a 22 °C durante 5 días (21). Se ha sugerido que las plaquetas conservadas a 4 °C favorecen la polimerización de la fibrina (22).

Paralelamente al redescubrimiento de la conservación de plaquetas en frío, está investigándose la incorporación de posibles aditivos (trealosa, N-acetilcisteína) y estrategias de adaptación cíclica de temperaturas que prevengan el desarrollo de alteraciones de la membrana plaquetaria inducidas por el frío. Debemos reconocer que en los últimos 40 años los progresos en la prolongación de la vida útil de los concentrados de plaquetas han sido modestos e intermitentes. Todo parece indicar que los nuevos descubrimientos sobre la eficacia de los concentrados conservados a bajas temperaturas y su potencial en el tratamiento del sangrado agudo han reavivado el debate sobre la temperatura óptima de almacenamiento de los concentrados de plaquetas. Es posible predecir que, en un futuro no lejano, deberemos considerar la posibilidad de disponer de concentrados de plaquetas conservados a 22 °C, tratados o no con tecnologías para la reducción de patógenos, coexistiendo con plaquetas mantenidas a bajas temperaturas o criopreservadas. Estas opciones van a facilitar la disminución del riesgo de contaminación bacteriana de los concentrados y prolongar su vida útil.

Conclusiones

Los concentrados de plaquetas primero fueron conservados en frío, pasamos a conservarlos a 22 °C y, en la actualidad, está retornándose a estrategias de conservación a bajas temperaturas, estrategia que había sido abandonada.

Datos recientes sugieren que las plaquetas almacenadas en frío pueden mejorar los resultados hemostáticos de los pacientes con hemorragia aguda.

El uso de nuevas estrategias de almacenamiento que evitan las alteraciones de la membrana inducidas por el frío podrían ofrecer una solución para prolongar el almacenamiento de plaquetas.

La introducción de aditivos, medios de conservación y tecnologías automatizadas para el reciclaje de las temperaturas pueden modificar la estrategia de fraccionamiento y mantenimiento de inventarios en los bancos de sangre y en los centros de transfusión.

Es predecible una evolución en las estrategias de fraccionamiento y conservación que permita disponer de concentrados de plaquetas con una acción hemostática inmediata y otros preparados con mayor supervivencia en la circulación.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por las siguientes ayudas oficiales: Proyectos integrados de Excelencia en Institu-

tos de Salud PIE15/00027 y Proyecto de Desarrollo Tecnológico DTS16/00133 (Instituto de Salud Carlos III), del Gobierno español. Financiación adicional recibida a través de Jazz Pharmaceuticals (IST-16-10355), BMS y Germán José Carreras Leukaemia Foundation (11R/2016). Los autores son miembros del Grupo de Investigación de Calidad 2017-SGR-671, reconocido por el Gobierno de la Generalitat catalana.

Bibliografía

- Murphy S, Gardner FH. The effect of temperature on platelet viability. *Vox Sang* 1969;17(1):22.
- Murphy S, Gardner FH. Platelet storage at 22 degrees C: role of gas transport across plastic containers in maintenance of viability. *Blood* 1975;46(2):209-18.
- Simon TL, Nelson EJ, Murphy S. Extension of platelet concentrate storage to 7 days in second-generation bags. *Transfusion* 1987;27(1):6-9.
- Stormer M, Vollmer T. Diagnostic methods for platelet bacteria screening: current status and developments. *Transfus Med Hemother* 2014;41(1):19-27.
- Di Minno G, et al. Pathogen reduction/inactivation of products for the treatment of bleeding disorders: what are the processes and what should we say to patients? *Ann Hematol* 2017;96(8):1253-70.
- Bode AP, Knupp CL. Effect of cold storage on platelet glycoprotein Ib and vesiculation. *Transfusion* 1994;34(8):690-6.
- Badlou BA, et al. Role of glycoprotein Ibalpha in phagocytosis of platelets by macrophages. *Transfusion* 2006;46(12):2090-9.
- Sorensen AL, et al. Role of sialic acid for platelet life span: exposure of beta-galactose results in the rapid clearance of platelets from the circulation by asialoglycoprotein receptor-expressing liver macrophages and hepatocytes. *Blood* 2009;114(8):1645-54.
- Sorensen AL, Clausen H, Wandall HH. Carbohydrate clearance receptors in transfusion medicine. *Biochim Biophys Acta* 2012;1820(11):1797-808.
- Jansen AJ, et al. Desialylation accelerates platelet clearance after refrigeration and initiates GPIIb/IIIa metalloproteinase-mediated cleavage in mice. *Blood* 2012;119(5):1263-73.
- Alving BM, et al. Frozen platelets and platelet substitutes in transfusion medicine. *Transfusion* 1997;37(8):866-76.
- Lozano M, Cid J, Escolar G. In vitro evaluation of the haemostatic capacity of cryopreserved platelets and platelet substitutes. *ISBT Science Series* 2017;12(1):227-32.
- Escolar G, et al. Measurement of platelet interactions with subendothelial substrata: relevance to transfusion medicine. *Transfus Med Rev* 2001;15(2):144-56.
- McGill M, Brindley DC. Effects of storage on platelet reactivity to arterial subendothelium during blood flow. *J Lab Clin Med* 1979;94(2):370-80.
- Mazzara R, et al. Evaluation of the transfusion effectiveness of various platelet concentrates by means of an in vitro perfusion technique. *Transfusion* 1991;31(4):308-12.
- Galan AM, et al. Preparations of synthetic phospholipids promote procoagulant activity on damaged vessels: studies under flow conditions. *Transfusion* 1998;38(11-12):1004-10.
- Cid J, et al. In vitro evaluation of the hemostatic effectiveness of cryopreserved platelets. *Transfusion* 2016;56(3):580-6.
- Sandgren P, Shanwell A, Gulliksson H. Storage of buffy coat-derived platelets in additive solutions: in vitro effects of storage at 4 degrees C. *Transfusion* 2006;46(5):828-34.
- Reddoch KM, et al. Hemostatic function of apheresis platelets stored at 4 degrees C and 22 degrees C. *Shock* 2014;41(Suppl. 1):54-61.
- Getz TM, et al. Storage of platelets at 4 degrees C in platelet additive solutions prevents aggregate formation and preserves platelet functional responses. *Transfusion* 2016;56(6):1320-8.
- Yang J, et al. Evaluation of the advantages of platelet concentrates stored at 4 degrees C versus 22 degrees C. *Transfusion* 2018;58(3):736-47.
- Nair PM, et al. Platelets stored at 4 degrees C contribute to superior clot properties compared to current standard-of-care through fibrin-crosslinking. *Br J Haematol* 2017. 178(1):119-29.

Disfunción endotelial y activación del sistema hemostático asociado al uso crónico de cocaína

Pereira J.

Departamento de Hematología-Oncología. Laboratorio de Trombosis y Hemostasia. Escuela de Medicina. Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile

Introducción

La cocaína es una de las drogas ilícitas más frecuentemente consumidas a nivel mundial, lidera las consultas asociadas a uso de drogas de los servicios de urgencia, afecta preferentemente a hombres de entre 35 y 45 años y genera gastos significativos a los servicios de salud (1).

Aunque los efectos sociales y psicológicos de su consumo son ampliamente conocidos, las consecuencias médicas de este problema son casi desconocidas por los usuarios. Entre ellas, existen complicaciones médicas graves, como, por ejemplo, las que afectan al aparato vascular, que derivan en morbilidad y mortalidad significativas (2). Desde el punto de vista clínico, los consumidores de cocaína tienen mayor riesgo de presentar infarto de miocardio, angina pectoris, muerte súbita cardiovascular, accidentes cerebrovasculares isquémicos (3-5) y defectos regionales de perfusión cerebral (6). La patogenia de las lesiones vasculares isquémicas asociada al uso crónico de cocaína no se ha dilucidado completamente y se han descrito varios mecanismos, entre los que destacan: vasoconstricción (7), aumento del consumo de oxígeno y trombogénesis (8).

Tenemos evidencia que respalda el papel de la aterotrombosis como un actor importante involucrado en la patogenia y las consecuencias del daño vascular inducido por la cocaína. En este sentido, varios estudios han demostrado que el consumo de cocaína induce varios cambios que se han descrito como actores importantes en la génesis de la aterotrombosis; específicamente, la activación del sistema hemostático y la disfunción endotelial.

Con el fin de explorar los mecanismos que participan en la patogenia de la aterotrombosis en los usuarios crónicos de cocaína, se realizaron estudios mediante tres aproximaciones: 1) usuarios crónicos de cocaína con consumo reciente y después de un mes de abstinencia estricta; 2) modelo animal en el que a ratas Sprague-Dawley se les administró cocaína durante tres semanas, y 3) células endoteliales en cultivo (HUVEC) expuestas a cocaína o plasma de usuarios crónicos.

Uso de cocaína y aterotrombosis

Efecto de la cocaína sobre las plaquetas

Estudios previos han mostrado resultados controvertidos respecto al efecto directo de la cocaína sobre las plaquetas: se han demostrado tanto activación como inhibición de su función. Resultados de nuestro laboratorio mostraron que plaquetas incubadas *in vitro* con altas concentraciones de cocaína no muestran signos de activación (dato no mostrado). Por otra parte, estudios efectuados

in vivo, especialmente en voluntarios sometidos a administración aguda y crónica de cocaína, mostraron evidencia de activación de las plaquetas. En un estudio realizado por nuestro grupo en pacientes adictos a cocaína (criterios DCM IV), demostramos que dentro de las primeras 72 horas de abstinencia se observaba una activación significativa de las plaquetas circulantes que no se demuestra después de un mes de abstinencia estricta (9) (Fig. 1).

Efecto de la cocaína sobre la coagulación

Los efectos del uso crónico de cocaína sobre el sistema de la coagulación han sido muy poco explorados. Solamente un estudio de Moliterno mostró a un aumento de PAI-1 en usuarios de cocaína (10). En el estudio en pacientes, observamos que los complejos TAT, como marcadores de generación de trombina, se encontraban aumentados con respecto a los controles, aunque este aumento no alcanzó significancia estadística ($2,7 \pm 0,7$ frente a $0,7 \pm 0,4$ $\mu\text{g/L}$; $p: 0,054$). Sin embargo, la prueba de generación de trombina, que mide la capacidad total del plasma libre de plaquetas de generar trombina, estaba significativamente aumentada en los usuarios crónicos de cocaína respecto a los controles. Los dos parámetros que se evalúan con esta técnica —el potencial endógeno de trombina (ETP) y el máximo alcanzado (*peak*)— fueron mayores en pacientes que en los controles (Fig. 2).

Efecto de la cocaína sobre las células endoteliales

Se disponía de evidencia en la bibliografía de estudios *in vivo* e *in vitro* que demostraban el efecto de la cocaína sobre las células endoteliales. Havranek demostró que la vasodilatación dependiente de endotelio (FMD) estaba alterada en usuarios crónicos de cocaína (11), observación replicada posteriormente en un modelo animal (12). En nuestros estudios en adictos, demostramos un aumento muy importante en el número de células endoteliales circulantes como marcador de disfunción endotelial, tanto en las muestras posconsumo reciente como después de un mes de abstinencia estricta (13) (Fig. 3). Los marcadores solubles que evidencian daño endotelial también se encontraron significativamente aumentados en los usuarios crónicos de cocaína posconsumo reciente (Fig. 4).

Para los estudios *in vitro*, células endoteliales de cordón umbilical (HUVEC) se cultivaron en medio M199 suplementado con 20% de plasma libre de plaquetas, obtenido de controles normales o de usuarios crónicos de cocaína. En experimentos separados, pero en las mismas condiciones de cultivo, las HUVEC se expusieron a cocaína (10 μM) o vehículo. Las células endoteliales expuestas al plasma de consumidores crónicos como a cocaína

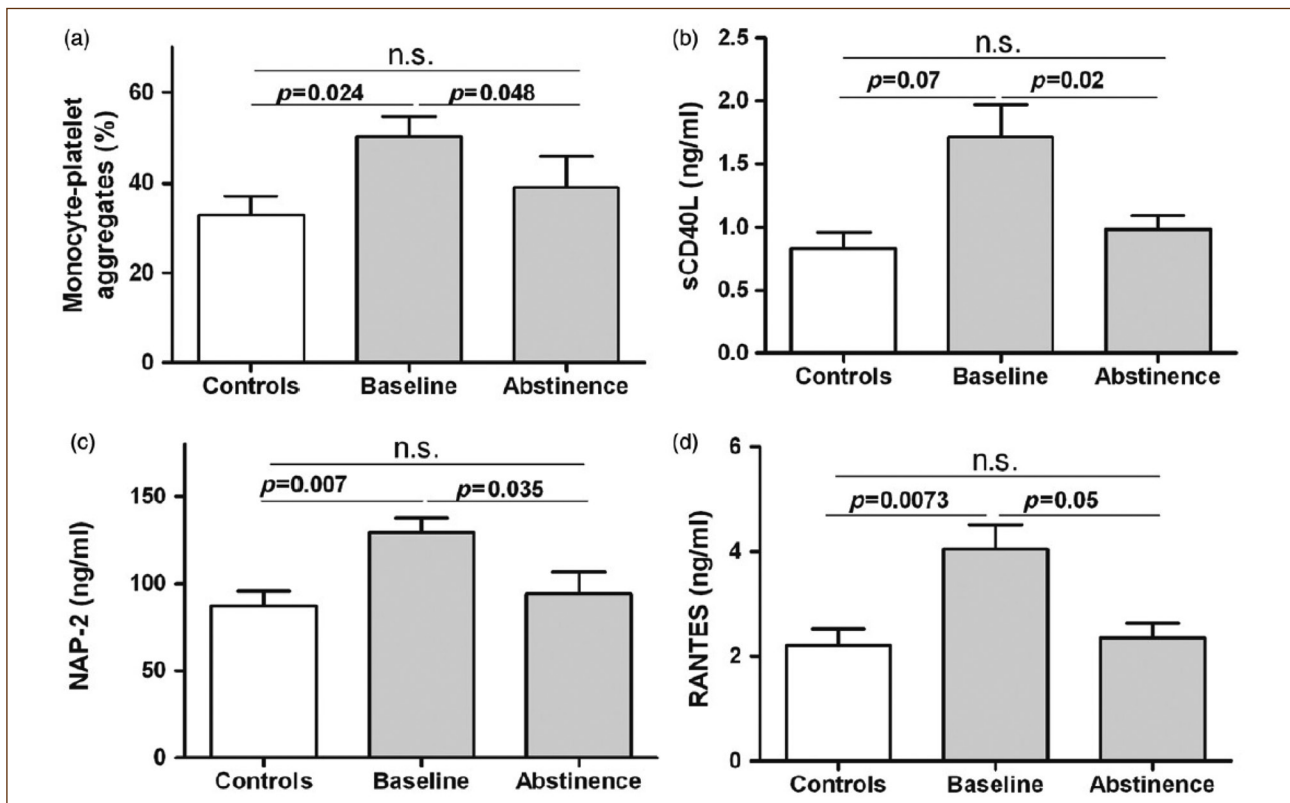


Figura 1. Biomarcadores plasmáticos de activación plaquetaria en usuarios crónicos de cocaína. Los agregados de monocitos-plaquetas se determinaron mediante citometría de flujo en sangre completa (a). Los niveles plasmáticos de sCD40L y quimioquinas derivadas de plaquetas NAP-2 y RANTES se midieron usando ELISA. Las muestras basales se tomaron dentro de las 72 h desde el último consumo de cocaína y la abstinencia denota la muestra tomada después de 4 semanas de abstinencia estricta y controlada (b-d). Se muestra la media \pm desviación estándar (SD). Los valores p se calcularon usando la prueba U de Mann-Whitney (basales frente a controles) y prueba de Wilcoxon (basales frente a abstinencia).

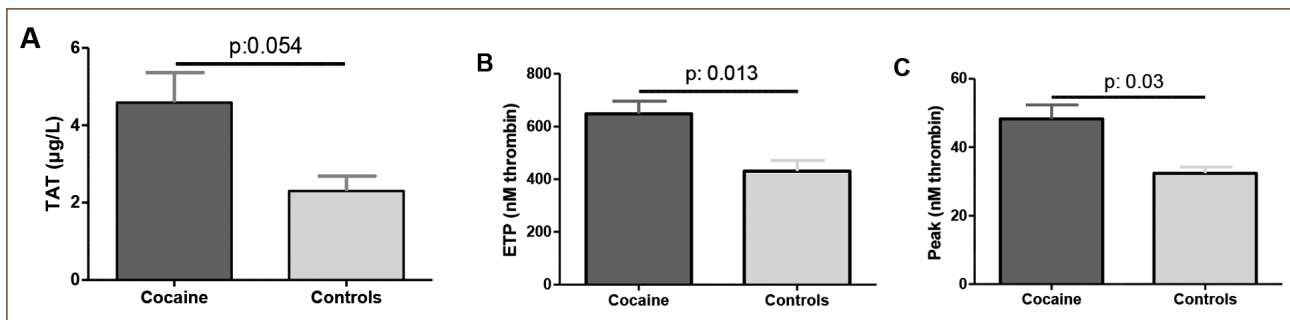


Figura 2. Complejos trombina-antitrombina (TAT) y generación de trombina en usuarios de cocaína. Los complejos TAT se midieron mediante Elisa (panel A). La capacidad del plasma para generar trombina se evaluó mediante técnica de trombograma calibrado automatizado utilizando plasma libre de plaquetas, que fue recalcificado en ausencia de fosfolípidos y factor tisular. En estas condiciones, la generación de trombina depende directamente del número de micropartículas presentes en el plasma. Se analizó la capacidad total de generar trombina (ETP; panel B) y el peak (panel C). Se muestra la media \pm desviación estándar (SD). Los valores p se calcularon usando la prueba U de Mann-Whitney.

pura mostraron un aumento en la exposición de factor Von Willebrand y factor tisular, lo que evidencia un cambio hacia un fenotipo procoagulante (Fig. 5). En la disfunción endotelial, la pérdida de las propiedades antiadhesivas de las células endoteliales es una de

sus características centrales, y juega un papel fundamental en las etapas iniciales de la aterosclerosis. Para explorar este fenómeno, se utilizó la misma aproximación experimental *in vitro*, en la que CE expuestas a plasma de consumidores de cocaína o cocaína pura

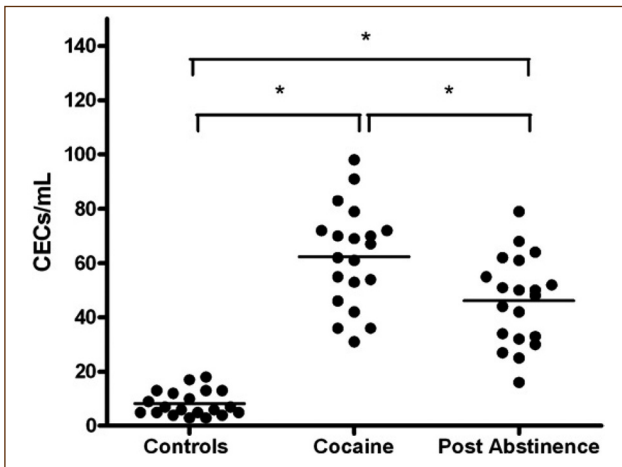


Figura 3. Efecto del consumo de cocaína sobre el número de células endoteliales circulantes (CEC) antes y después de un mes de abstinencia en comparación con los controles pareados por sexo y edad. Las CEC se enumeraron en la sangre periférica utilizando captura mediante esferas inmunomagnéticas recubiertas con anti-CD146; se marcaron con anti-CD45 y lectina de *Ulex Europaeus 1* y se contaron en microscopio de fluorescencia. Las líneas horizontales representan la media \pm SD; * $p < 0,0001$ usando Mann Whitney) U test (controles frente a basales) y la prueba de Wicoxon (abstinencia frente a basales, n: 20).

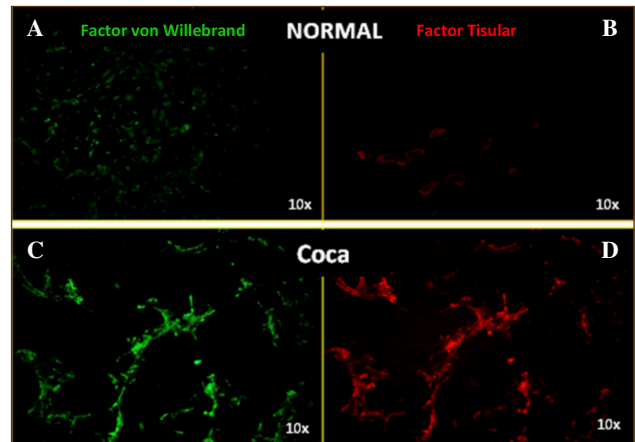


Figura 5. Expresión de factor Von Willebrand (FvW) y factor tisular (FT) sobre la superficie de las células endoteliales en cultivo expuestas a plasma normal o de usuarios crónicos de cocaína. En A y B, HUVEC incubadas con plasma normal y teñidas para demostrar FvW y FT, respectivamente. En C y D, las células fueron incubadas con plasma de usuarios de cocaína y teñidas para FvW y FT, respectivamente. Se observa un aumento significativo en la marca tanto para FvW como para factor tisular.

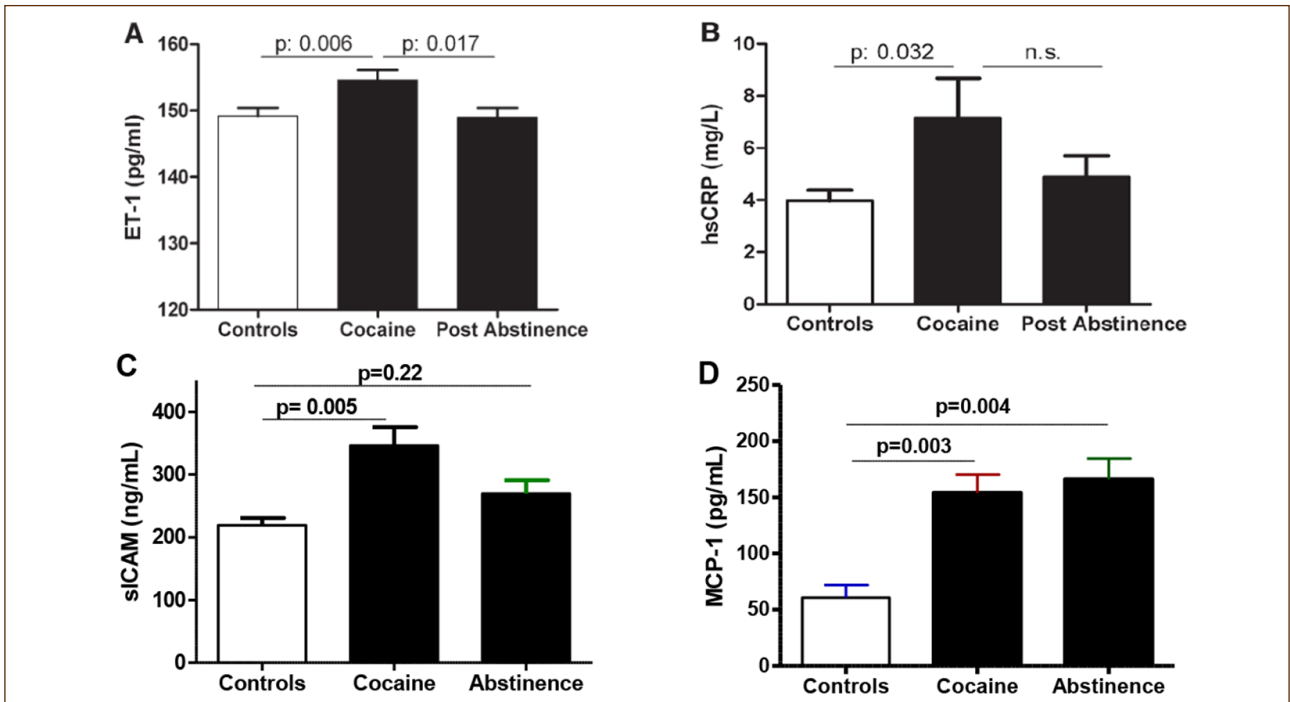


Figura 4. Niveles plasmáticos de marcadores de disfunción endotelial en pacientes consumidores de cocaína antes y después de un mes de abstinencia de drogas. Las barras representan el valor medio \pm SD para cada grupo de individuos. Panel A: niveles plasmáticos de ET-1 en el grupo de consumidores activos estaban significativamente elevados en comparación con el control (prueba U de Mann Whitney, n = 13). Panel B: los niveles plasmáticos de hsCRP se encuentran elevados con respecto a los controles, retornando a lo basal después de un mes de abstinencia. (Prueba U de Mann Whitney, n = 20). Panel C: los niveles plasmáticos de sICAM fueron significativamente mayores en los consumidores activos de cocaína que en el grupo de control. Los valores disminuyeron hasta alcanzar valores no significativamente diferentes de los del grupo control después de abstinencia (prueba U de Mann Whitney, n: 20). Panel D: los consumidores activos de cocaína mostraron niveles elevados de MCP-1 en comparación con el grupo de control. Después de un mes de abstinencia de cocaína, los niveles plasmáticos de MCP-1 permanecen elevados (prueba de Wicoxon; n: 15).

fueron coincubadas posteriormente con plaquetas en reposo y se determinó el grado de adhesión. Observamos que las CE expuestas a plasma de consumidores crónicos, y especialmente aquellas expuestas a cocaína pura, mostraron un fenotipo proadhesivo, evidenciado por un aumento significativo en el número de plaquetas que se adhirieron en reposo (Fig. 6).

Activación de la vía rho/rho kinasa en la disfunción endotelial asociada a cocaína

De acuerdo a los resultados anteriores, concluimos que la cocaína induce una disfunción importante a nivel de las células endoteliales; sin embargo, se desconocen los mecanismos que participan en la patogénia de esta disfunción endotelial. RhoA es uno de los miembros más conocidos de una gran familia de GTPasas pequeñas que, junto con su efector río abajo, la Rho-kinasa (ROCK), regula la organización de la actina y otra amplia gama de funciones celulares vitales tales como contracción, motilidad, proliferación y apoptosis. Rho se activa por agonistas de receptores acoplados a proteínas G de la membrana celular, como angiotensina II, serotonina, tromboxano, trombina, endotelina-1, etc. Una vez que Rho se activa, se transloca a la membrana celular donde se activa ROCK. La ROCK activada fosforila la fosfatasa de la cadena ligera de la miosina, que luego se inhibe promoviendo la contracción del músculo liso. Considerando el efecto de la cocaína sobre la pared vascular y su asociación con aterosclerosis acelerada, exploramos el papel de la activación de la vía RhoA/ROCK inducida por cocaína en 1; pacientes usuarios crónicos de cocaína, 2; modelo animal de exposición crónica y 3. Estudios *in vitro* usando células endoteliales en cultivo (HUVEC).

En los usuarios crónicos de cocaína, demostramos un aumento en la actividad de la vía RhoA/ROCK dentro de las 72 horas después del último consumo, fenómeno que regresa parcialmente después de un mes de abstinencia estricta (Fig. 7). La evaluación de la activación de ROCK en el modelo animal se hizo mediante la administración de cocaína (30 mg/kg de peso) por vía intraperitoneal a ratas Sprague Dawley durante 21 días e inyección de

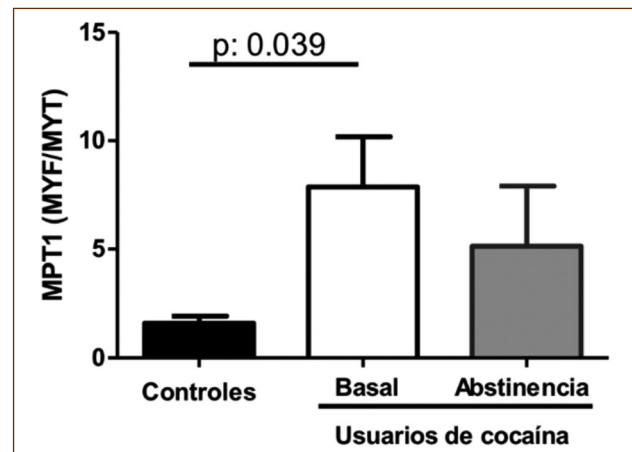


Figura 7. Niveles de fosfo-MYPT1 en los leucocitos de consumidores crónicos de cocaína al momento del ingreso al estudio (basal), después de un mes de abstinencia estricta y controles sanos. Las células mononucleares se aislaron de muestras de sangre periférica, se lisaron y se determinó la razón MY-fosforilada/MY total mediante Western blot. Un aumento de la razón traduce una mayor activación de la vía de Rho-kinasa. Los valores corresponden al promedio \pm ES; n: 18 p: 0,039 frente a los controles sanos (Mann Whitney U test).

suelo fisiológico a ratas control. En otra serie de experimentos, dos grupos de ratas recibieron cocaína (30 mg/kg de peso). A un grupo se administró Fasudil (100 mg/kg/día vía oral), que es un inhibidor específico de ROCK, y al otro, suelo fisiológico como control. Observamos un aumento significativo de la actividad de ROCK en las ratas a las que se administró cocaína, abolida con el uso de Fasudil (Fig. 8). HUVEC en cultivo expuestas a cocaína mostraron una activación de la vía ROCK (Fig. 9). El cambio de fenotipo de las CE en cultivo a uno proadhesivo fue inhibido completamente por Atorvastatina (14) o Y27632, inhibidor específico de ROCK (Fig. 10). Debido a que Atorvastatina inhibe la síntesis de isoprenoides intermedarios esenciales que participan en la activación de

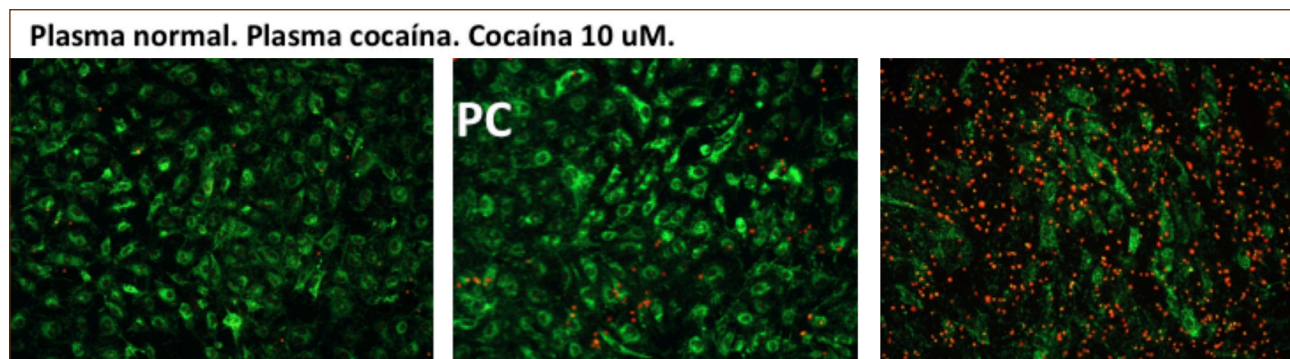


Figura 6. Adhesión de plaquetas a CE en cultivo. HUVEC fueron expuestas a plasma control, de consumidores de cocaína (plasma cocaína) (20%) o cocaína pura (10uM). Después de 24 horas se cocultivaron con 1×10^9 plaquetas por 30 min. Las células se lavaron para eliminar plaquetas no adheridas, se fijaron y se realizó inmunotinción para la GPIb plaquetaria (rojo) y FvW (verde) (20X). Consistentemente se observó un mayor número de plaquetas adheridas a las CE expuestas al plasma de consumidores y muy significativamente a aquellas expuestas a cocaína pura con respecto a los controles (experimento representativo de 3).

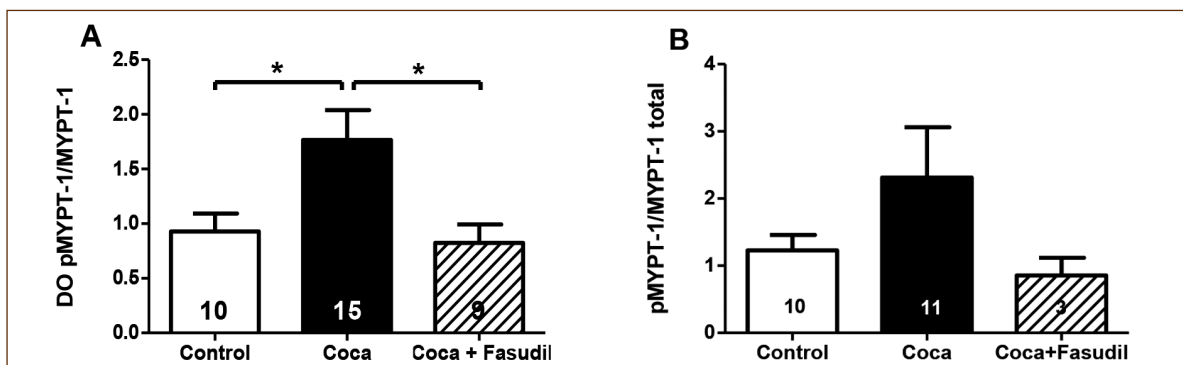


Figura 8. Niveles de fosfo-MYPT1 en la raíz de la aorta (panel A) y en el corazón (panel B) de ratas tratadas con cocaína 30 mg/kg/día por 28 días, controles (sham) y tratadas simultáneamente con cocaína+Fasudil. Las barras representan el promedio \pm ES. * $p < 0,05$ ANOVA más prueba de Tukey para comparaciones múltiples.

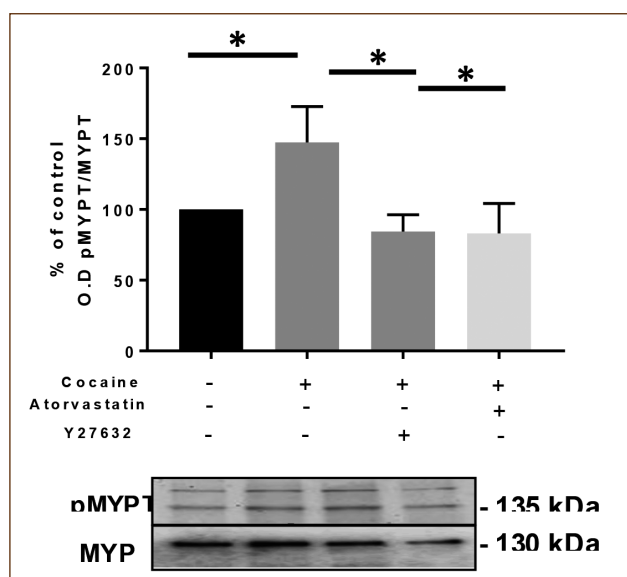


Figura 9. Activación de la vía RhoA/ROCK en HUVEC expuestas a cocaína. La cocaína aumenta significativamente la actividad de ROCK (pMYPT-1/MYPT-1) respecto a HUVEC suplementadas con vehículo. ** $p = 0,0057$. Y27632 y Atorvastatina disminuyen significativamente la actividad de ROCK cuando son coincubadas con la cocaína. Se muestran Western Blots representativos. * $p = 0,0222$ y $p = 0,0451$, respectivamente; $n = 8$ para Y27632 y $n = 5$ para Atorvastatina.

varias proteínas de señalización intracelular incluida Rho y que Y27632 es un bloqueador específico de ROCK, estos resultados demuestran que, en la DE asociada a cocaína, la vía RhoA/ROCK juega un papel importante. Finalmente, también se demostró la participación de la vía ROCK en el fenotipo protrombótico de las CE en cultivo, evaluado por su capacidad de generar factor Xa por exposición de factor tisular (Fig. 11).

Conclusiones

En resumen, el conjunto de resultados obtenidos de los estudios en consumidores crónicos en el modelo animal de exposición crónica y en los experimentos *in vitro* muestran que el uso de cocaína se asocia a una disfunción endotelial importante y a una activación del sistema hemostático, probablemente secundario al daño del endotelio. Además, se demostró que, en la patogenia de la disfunción endotelial, la activación de la vía RhoA/ROCK juega un papel clave. Esta observación es trascendente porque abre la posibilidad de explorar medidas de protección del endotelio que podrían incorporarse como parte del tratamiento integral de la adicción con el fin de prevenir o retardar el desarrollo de lesiones vasculares isquémicas.

Financiado por: Grants N°s 1080253, 1110418, 1141051 de Fondecyt (Fondo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico, Conicyt, Chile)



Figura 10. Adhesión de plaquetas a CE en cultivo. HUVEC fueron expuestas a cocaína pura (10uM) durante 5 horas en presencia o ausencia de Atorvastatina o Y27632 como inhibidores de ROCK. Después de lo cual se cocultivaron con 1×10^9 plaquetas por 30 min. Las células se lavaron para eliminar plaquetas no adheridas, se fijaron y se realizó inmunotinción para la GPIb plaquetaria (rojo) y FvW (verde) (20X).

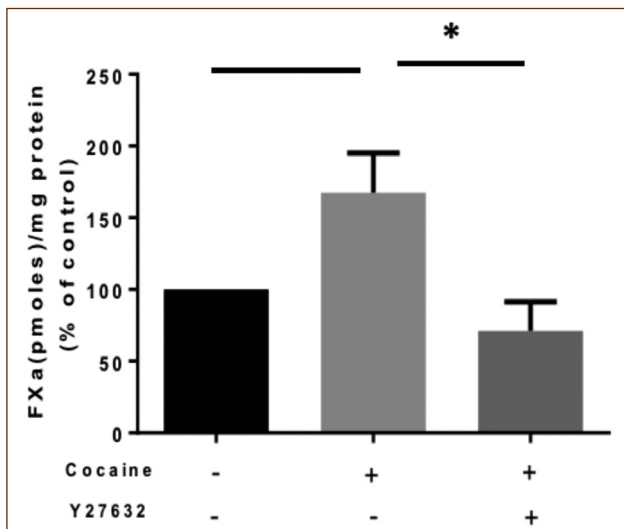


Figura 11. Actividad procoagulante dependiente factor tisular en presencia de inhibidor de ROCK (Y27632). Se utilizó un ensayo de generación de FXa en células endoteliales, sin añadir factor tisular externo. Alícuotas de lisado de las CE tratadas se traspasaron a placas de microtitulación, añadiendo FVIIa, FX, CaCl₂ y sustrato cromogénico FXa. La absorbancia a 620 nm se restó de la absorbancia máxima a 405 nm, que se monitorizó continuamente. Este valor corresponde a la generación máxima de FXa, expresada como pmoles de FXa por mg de proteína. *p = 0,05; n = 6.

Bibliografía

1. Peacock A, Leung J, Larney S, et al. Global statistics on alcohol, tobacco and illicit drug use: 2017 status report. *Addiction* 2018;113(10):1905-26. DOI: 10.1111/add.14234
2. Bachi K, Mani V, Jeyachandran D, et al. Vascular disease in cocaine addiction. *Atherosclerosis* 2017;262:154-62. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2017.03.019
3. Maraj S, Figueredo VM, Lynn Morris D. Cocaine and the heart. *Clin Cardiol* 2010;33:264-9. DOI: 10.1002/clc.20746
4. Lucena J, Blanco M, Jurado C, et al. Cocaine-related sudden death: a prospective investigation in south-west Spain. *Eur Heart J* 2010;31:318-29. DOI: 10.1093/eurheartj/ehp557
5. Treadwell SD, Robinson TG. Cocaine use and stroke. *Postgrad Med J* 2007;83:389-94. DOI: 10.1136/pgmj.2006.055970
6. Kosten TR, Cheeves C, Palumbo J, et al. Regional cerebral blood flow during acute and chronic abstinence from combined cocaine-alcohol abuse. *Drug Alcohol Depend* 1998;50: 187-95.
7. Moliterno DJ, Willard JE, Lange RA, et al. Coronary-artery vasoconstriction induced by cocaine, cigarette smoking, or both. *N Engl J Med* 1994;330:454-9. DOI: 10.1056/NEJM199402173300702
8. Rusovici A, Varkey S, Saeed Q, et al. Cocaine-induced coronary thrombosis: what is the optimal treatment strategy. *Cardiovasc Revasc Med* 2011;12:133:e1-6. DOI: 10.1016/j.carrev.2010.06.004
9. Pereira J, Sáez CG, Pallavicini J, et al. Platelet activation in chronic cocaine users: effect of short term abstinence. *Platelets* 2011;22:596-601. DOI: 10.3109/09537104.2011.578181
10. Moliterno DJ, Lange RA, Gerard RD, et al. Influence of intranasal cocaine on plasma constituents associated with endogenous thrombolysis and thrombolysis. *Am J Med* 1994;96: 492-6.
11. Havranek EP, Nademanee K, Grayburn PA, et al. Endothelium-dependent vasorelaxation is impaired in cocaine arteriopathy. *J Am Coll Cardiol* 1996;28:1168-74. DOI: 10.1016/S0735-1097(96)00299-9
12. Pradhan L, Dabisch PA, Liles JT, et al. Effect of binge cocaine treatment on hindlimb vascular function. *J Appl Toxicol* 2005;25:479-90. DOI: 10.1002/jat.1083
13. Sáez CG, Olivares P, Pallavicini J, et al. Increased number of circulating endothelial cells and plasma markers of endothelial damage in chronic cocaine users. *Thromb Res* 2011;128: e18-23. DOI: 10.1016/j.thromres.2011.04.019
14. Sáez CG, Pereira-Flores K, Ebersperger R, et al. Atorvastatin reduces the proadhesive and prothrombotic endothelial cell phenotype induced by cocaine and plasma from cocaine consumers in vitro. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2014;34:2439-48. DOI: 10.1161/ATVBAHA.114.304535

Controversias en el tratamiento antitrombótico

COORDINADORES: Dr. José Ramón González Porras. Complejo Asistencial Universitario de Salamanca. Salamanca
Dr. Pere Domènech Santasusana. Hospital Universitario de Bellvitge. Hospitalet de Llobregat, Barcelona

En el simposio Controversias en el Tratamiento Antitrombótico contaremos con tres ponencias. Una sobre *Tratamiento antitrombótico y cáncer*. El Dr. Andrés Muñoz, tras describir la importancia del problema y la evidencia disponible, expone cuáles son las estrategias de tratamiento a día de hoy y cómo ve el futuro de dicho tratamiento a medida que se disponga de mayor evidencia sobre los anticoagulantes orales de acción directa (ACOD) en estos pacientes. Resaltará el hándicap de las posibles interacciones de los ACOD con los fármacos oncoespecíficos, muchos de ellos de reciente indicación. Otra ponencia versará sobre el *Tratamiento antitrombótico en el síndrome antifosfolípido (SAF)*. El Dr. Ricard Cervera, tras una revisión sobre la evidencia de la que se dispone sobre el tratamiento antitrombótico en los diversos escenarios del SAF, nos expondrá cuáles son sus recomendaciones sobre la actitud terapéutica a día de hoy, resaltando el hándicap de la falta de evidencia suficiente. Por último, la Dra. Elena Rosselló expondrá la ponencia *Monitorización de los anticoagulantes orales directos*. Tras hacer un análisis de la utilidad de las diversas pruebas de laboratorio para evaluar la actividad de los ACOD, expondrá cuáles son las indicaciones de determinación en los diversos escenarios, en muchos casos avalada únicamente por la opinión de expertos.

CS-5. Comportamiento en vida real de los nuevos anticoagulantes orales en una cohorte de 2.505 pacientes con fibrilación auricular: registro Refase

Cerezo-Manchado J. J.¹, Caro Martínez C.², Navarro-Almenzar B.³, Leal Rubio J. D.³, Flores Blanco P.⁴, Elvira Ruiz G.⁴, Andreu Cayuelas J. M.⁴, Martínez-Marín A.³, García-Candel F.³, Fernández Poveda E.⁶, Cabañas Perianes V.⁶, Blanquer Blanquer M.^{6,7}, Salido Fierrez E.⁵, Pérez López R.⁵, Cascales A.⁵, Moraleta Jiménez J. M.^{5,6,7}, Lova Navarro A.⁸, Arregui Montoya F.⁸, García Alberola A.⁸, Pascual Figal D.⁸, Funes C.⁵, Moreno Belmonte M. J.⁵, Manzano-Fernández S.⁴

¹Servicio de Hematología. Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona. ²Servicio de Cardiología. Hospital de la Vega Baja. Orihuela, Alicante. ³Servicio de Hematología. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia. IMIB-Arrixaca. Universidad de Murcia. Murcia. ⁴Servicio de Cardiología. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia. IMIB-Arrixaca. Universidad de Murcia. Murcia. ⁵Servicio de Hematología. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia. ⁶IMIB-Arrixaca. Murcia. ⁷Departamento de Medicina Interna. Facultad de Medicina. Universidad de Murcia. Murcia. ⁸Servicio de Cardiología. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia. IMIB-Arrixaca. Universidad de Murcia. Murcia

Introducción

Actualmente en España hay pocos registros con un número suficiente de pacientes que permita estudiar el perfil clínico, la efectividad y la seguridad de los anticoagulantes de acción directa (ACOD) en la práctica clínica real a nivel global y en las diferentes subpoblaciones. Por este motivo nos planteamos la creación del registro REFASE.

Métodos

Estudio retrospectivo de pacientes con fibrilación auricular (FA), que iniciaron tratamiento anticoagulante con ACOD de manera consecutiva para la prevención del ictus entre diciembre de 2012 y diciembre de 2016 en dos hospitales terciarios en España. Los pacientes fueron seguidos hasta febrero de 2018, registrándose eventos clínicos en el 99,7% de los mismos. Se recogieron más de 60 variables relacionadas con la fibrilación auricular y el tratamiento anticoagulante del paciente, así como comorbilidades y medicación concomitante. El registro obtuvo la aprobación del CEIC.

Resultados

Se incluyeron 2.505 pacientes en total. La edad media fue de $76,0 \pm 9,4$ años (63,5%, > 75 años), el 52,9% eran mujeres, y el 51,1% tenían FA permanente. Con respecto al riesgo tromboembólico y hemorrágico, el CHA₂DS₂-VASc medio fue $4,0 \pm 0,9$ (95,5% = 2) y el HAS-BLED medio $2,4 \pm 0,9$ (38,3% = 3), respectivamente. La presencia de factores de riesgo cardiovascular fue frecuente (hipertensión arterial 86,8%, diabetes 31,5%), así como de enfermedad vascular (ictus/ataque isquémico transitorio 20,6%, insuficiencia cardíaca 18,6%, cardiopatía isquémica 15,3%, enfermedad arterial periférica 3,1%). El 40,4% de los pacientes tenían un aclaramiento de creatinina (Cockcroft-Gault) < 50 ml/min. El ACOD más usado fue Rivaroxaban 603 (40,4%) esto se mantiene en los pacientes con un aclaramiento < 50 ml/min 419 (41,4%). Se estudiaron resultados en las diferentes sub-

poblaciones más relevantes, insuficiencia renal, edad avanzada, valvulopatía, insuficiencia cardíaca, uso de antiagregantes. En la tabla se resumen los eventos tromboembólicos y hemorrágicos más relevantes. Dentro de los sangrados mayores, el 56,2% fueron de origen gastrointestinal, el 10,3% hematomas/equimosis.

Conclusiones

El registro REFASE ofrece una información muy relevante al ser un estudio con un gran volumen de pacientes con FA tratados con ACOD. Los datos de este registro señalan que los pacientes tratados con ACOD tienen una edad avanzada y un elevado riesgo tromboembólico y hemorrágico mayor que el ofrecido en los pivotaes. A pesar de ello las tasas de complicaciones tromboembólicas y hemorrágicas ofrecen datos superponibles a los registros internacionales (Tabla I). Eventos tromboembólicos y hemorrágicos Seguimiento medio (meses) $22,7 \pm 7,4$ Muerte, % (eventos por 100 pacientes-año) Cardiovascular Sangrado 11,1 (5,6) 3,3 (2,0) 0,4 (0,2) Ictus, % (eventos por 100 pacientes-año) 3,0 (1,7) Infarto de miocardio, % (eventos por 100 pacientes-año) 1,6 (0,9) Sangrado intracraneal, % (eventos por 100 pacientes-año) 0,5 (0,3) Sangrados mayores, % (eventos por 100 pacientes-año) 5,0 (2,9) Sangrados menores, % (eventos por 100 pacientes-año) 13,1 (7,1).

Tabla I. Eventos tromboembólicos y hemorrágicos

Seguimiento medio (meses)	22,7 ± 7,4
Muerte, % (eventos por 100 pacientes-año)	11,1 (5,6)
Cardiovascular	3,3 (2,0)
Sangrado	0,4 (0,2)
Ictus, % (eventos por 100 pacientes-año)	3,0 (1,7)
Infarto de miocardio, % (eventos por 100 pacientes-año)	1,6 (0,9)
Sangrado intracraneal, % (eventos por 100 pacientes-año)	0,5 (0,3)
Sangrados mayores, % (eventos por 100 pacientes-año)	5,0 (2,9)
Sangrados menores, % (eventos por 100 pacientes-año)	13,1 (7,1)

CS-6. Validación de un perfil de 4 metabolitos plasmáticos predictores de tromboembolismo venoso

Fernández-Pardo A.¹, Oto J.¹, Hervás D.², Roca M.³, Martos L.¹, Plana E.⁴, Solmoirago M. J.¹, Ponce-Mora A.¹, Santillana N.¹, Ferrando F.⁵, Blanquer A.⁵, Bonanad S.⁵, España F.¹, Medina P.¹, Navarro S.¹

¹Grupo de Investigación en Hemostasia, Trombosis, Arteriosclerosis y Biología Vascular; unidades de ²Bioestadística y ³Análítica. IIS La Fe-Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia. ⁴Grupo de Investigación en Hemostasia, Trombosis, Arteriosclerosis y Biología Vascular. IIS La Fe. Valencia. Servicio de Angiología y Cirugía Vascular. Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia. ⁵Unidad de Hemostasia. Servicio de Hematología. Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia.

Introducción

Estudios recientes evidencian la existencia de nuevos moduladores de la coagulación sanguínea, que incluyen proteínas de la fase de contacto (sistema quinina-caliceína), productos liberados por células activadas y necróticas (polifosfatos, histonas y ácidos nucleicos), y mediadores inflamatorios. Por ello, nos planteamos la aplicación de técnicas analíticas avanzadas en el estudio del tromboembolismo venoso (TEV).

Métodos

A partir de un análisis previo de metabolómica no dirigido en el plasma de 40 pacientes con TEV y 32 voluntarios sanos, identificamos 15 variables metabólicas capaces de diferenciar esta patología. A continuación, seleccionamos muestras de plasma de 60 pacientes con TEV y 60 voluntarios sanos para validar dichas variables metabólicas mediante análisis dirigido por UPLC-MS/MS. La identificación y cuantificación de estas variables se realizó mediante el uso de estándares químicos y rectas de calibrado. Analizamos la asociación entre la concentración de los metabolitos cuantificados en plasma y el riesgo de TEV mediante análisis de regresión binomial con penalización ELASTIC NET (R v3.5.0). Asimismo, analizamos el grado de correlación entre los metabolitos cuantificados con parámetros clínicos, el test de generación de trombina (TGT) y moduladores de la coagulación.

Resultados

De las 15 variables metabólicas identificadas en el estudio no dirigido, 4 fueron identificadas con éxito con su estándar químico y pudieron cuantificarse en las muestras de plasma. Observamos diferencias en los niveles de estos 4 metabolitos (M1, M2, M3 y M4) entre pacientes y controles ($p < 0,001$) (Fig. 1), con un *fold-change* de -1,2 (M1); 1,6 (M2); 2,4 (M3) y 2,1 (M4). A continuación, realizamos un análisis de regresión binomial con los cuatro metabolitos cuantificados y obtuvimos un modelo predictivo de TEV con un área bajo la curva ROC de 0,98 (IC 95% = 0,97-1) (Fig. 2). Los valores de odds-ratio para cada variable fueron: 0,92 ($p = 0,173$) (M1); 1,03 ($p < 0,001$) (M2); 1,12 ($p = 0,173$) (M3) y 23,98 ($p = 0,001$) (M4) (Tabla I). Finalmente, observamos una asociación entre los metabolitos cuantificados y los niveles de LDL, calprotectina y mieloperoxidasa ($p < 0,05$).

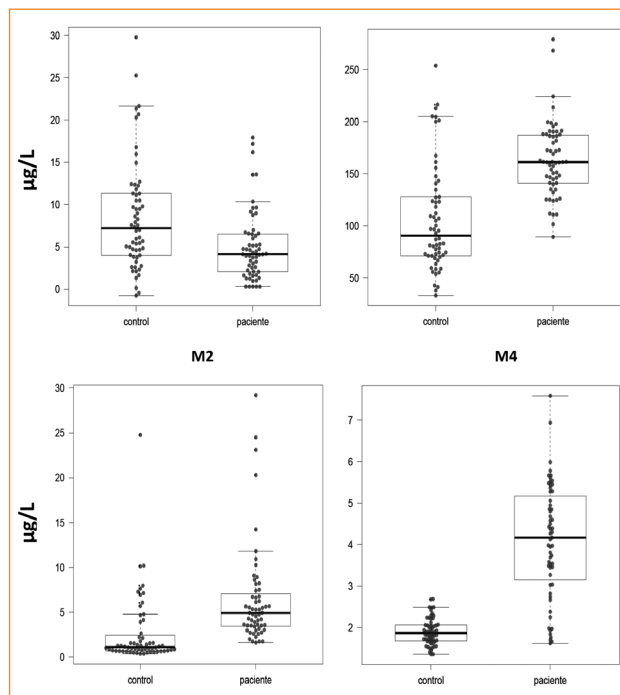


Figura 1. Niveles plasmáticos de cada variable metabólica cuantificada (MS/MS dirigido) en el grupo control y pacientes con TEV.

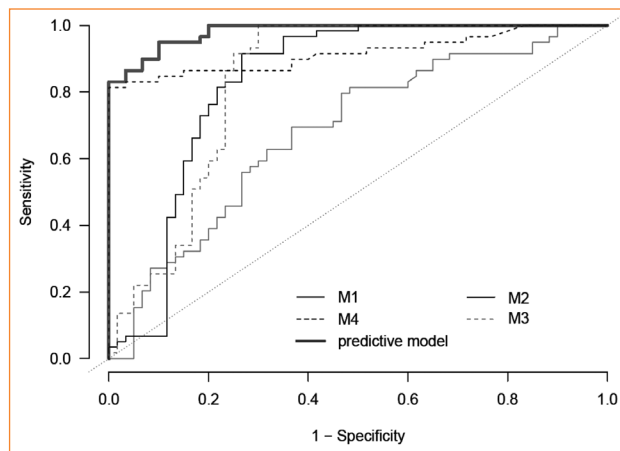


Figura 2. Representación del área bajo la curva (AUC) como estimador de la capacidad de diferenciar pacientes y controles, asociada a cada variable y con el modelo que nos predice la patología trombótica.

Tabla I. Indicadores tras el análisis de los niveles de cada uno de los metabolitos cuantificados mediante regresión binomial con penalización ELASTIC NET (R v3.2.3)

	Estimación	Std, Error	OR	< 95%	> 95%	p
(Intercept)	-12,061	2,922	-	-	-	< 0,001
M1	-0,085	0,062	0,918	0,796	1,031	0,173
M2	0,029	0,008	1,03	1,015	1,049	< 0,001
M3	0,117	0,086	1,124	0,942	1,334	0,173
M4	3,177	0,963	23,982	5,912	280,317	0,001
AIC	52,388					

Conclusiones

Hemos identificado y validado por primera vez en un estudio retrospectivo caso-control un conjunto de metabolitos plasmáticos con una elevada capacidad predictiva para el TEV. Estudios recientes han demostrado que uno de estos metabolitos (M1) inhibe la actividad del FXa, y además hemos observado una asociación entre estos metabolitos y biomarcadores de metabolismo lipídico,

activación celular, inflamación y NETosis. Todo ello sugiere la existencia de nuevas moléculas y rutas de acción implicadas en el sistema de la coagulación.

Financiación: ISCIII-FEDER (PI14/00512, PI14/00079, FI14/00269, CPII15/00002, PI17/00495), Generalitat Valenciana (PROMETEOII/2015/017, ACIF/2017/138), IIS La Fe (2014/0718, 2016/0820_VLC-BIOMED).

Tratamiento antitrombótico y cáncer

Ruiz M. C.¹, Muñoz A. J.²

¹Servicio de Oncología Médica. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. Universidad Complutense de Madrid. Madrid. ²Departamento Médico-Quirúrgico. Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid. Madrid

Impacto de la enfermedad tromboembólica venosa en el paciente oncológico

En los pacientes con cáncer, la enfermedad tromboembólica venosa (ETV) es una complicación frecuente y grave. Se calcula que 1 de cada 10 pacientes con cáncer desarrollará una ETV a lo largo de la enfermedad oncológica. Es el mayor riesgo durante los primeros 3-6 meses tras el diagnóstico (1). Algunos aspectos relacionados con el manejo del paciente oncológico, como los diferentes tipos de tratamiento empleados, el uso de accesos venosos permanentes, la hospitalización o la inmovilidad, aumentan el riesgo de ETV asociada al cáncer (2).

Los pacientes oncológicos que presentan un episodio de ETV tienen tres veces más riesgo de muerte que el resto (3) y, además, es un factor independiente del estadio tumoral (4). Para los pacientes que sobreviven al episodio trombótico existen también implicaciones clínicas (prolongación de hospitalización, retrasos o suspensión en la administración del tratamiento oncológico, síndrome posttrombótico, hipertensión pulmonar secundaria...) que impactan de manera significativa en su calidad de vida (5).

Tratamiento actual de la ETV en pacientes con cáncer

A la hora de tratar los episodios trombóticos en los pacientes oncológicos, ha de tenerse en cuenta que la valoración riesgo/beneficio ha de ser especialmente cuidadosa, ya que el paciente oncológico presenta una serie de características que lo hacen diferir del resto, como la mayor incidencia de diagnósticos incidentales, recurrencia trombótica y sangrados (6).

La recurrencia del episodio trombótico está muy relacionada con la propia biología del tumor, la baja adherencia al tratamiento anticoagulante y la suspensión de dicho tratamiento debido a sangrados o trombocitopenia. El riesgo de sangrado es mayor en pacientes oncológicos de avanzada edad (> 65 años), con movilidad reducida, enfermedad metastásica, historia previa de sangrado debido al tumor y aclaramiento de creatinina menor de 30 ml/min (7).

Con respecto al abordaje de la trombosis incidental, un estudio retrospectivo en el que se incluyeron pacientes oncológicos con embolismo pulmonar incidental (51) y sintomático (144) con tratamiento anticoagulante seguidos durante un año mostró similares tasas de recurrencia (13,3% en el grupo incidental frente al 16,9% en el sintomático $p = 0,77$) con incidencia de sangrado comparable (12,5% frente a 8,6%, $p = 0,5$) y similar mortalidad (52,9% frente a 53,3%, $p = 0,7$) (8). Estos datos apoyan el consenso recogido en guías de práctica clínica a favor del tratamiento de los episodios

incidentales de similar manera a como se abordarían los diagnósticos sintomáticos.

Tratamiento inicial

Para el tratamiento inicial del episodio trombótico la heparina de bajo peso molecular (HBPM) se considera como tratamiento de elección en aquellos pacientes con aclaramiento de creatinina (Clcr) > 30 ml/min. En un metaanálisis que incluía 15 ensayos aleatorizados y controlados de tratamiento de episodio de ETV en pacientes oncológicos, la HBPM se asoció con una pequeña reducción de la mortalidad a tres meses (RR 0,66; 95% IC 0,40-1,1) sin un incremento en el riesgo de sangrado comparado con la heparina no fraccionada (9). Fondaparinux también fue evaluado comparado con Enoxaparina en un análisis posterior de dos estudios aleatorizados, en los que se obtuvo mayor tasa de recurrencias y, por tanto, menor eficacia (12,7% frente a 5,5%) sin objetivarse diferencias en sangrado (10).

Tratamiento prolongado

Con respecto al tratamiento prolongado, la evidencia disponible recomienda el uso de HBPM frente a los anticoagulantes orales antivitaminas K (AVK) que son comúnmente utilizados en el paciente no oncológico.

Cinco estudios prospectivos, abiertos, aleatorizados y multicéntricos han comparado tres diferentes formulaciones de HPM (Enoxaparina, Daltaparina y Tinzaparina) con AVK con resultados resumidos en la [tabla I](#).

Un metaanálisis de 7 estudios (1.908 pacientes) confirmó que el tratamiento con HBPM demostraba una reducción estadísticamente significativa en la tasa de recurrencia (Hazard ratio 0,47; 95% IC 0,32-0,71) sin que se observase una mejoría en la supervivencia y con una incidencia similar en cuanto a episodios de sangrado menor y mayor (11).

A la vista de estos resultados, en la práctica totalidad de las guías de práctica clínica elaboradas por distintas sociedades médicas existe consenso acerca de la necesidad de tratar los episodios de ETV en el paciente oncológico con HBPM con dosis plenas ajustadas al peso durante 3-6 meses.

Sin embargo, no existen recomendaciones sólidas respecto a la duración óptima del tratamiento debido a la falta de ensayos clínicos aleatorizados.

Existen algunos modelos de predicción del riesgo de recurrencia basados en variables clínicas y biomarcadores. Un modelo predictivo de riesgo, el modelo de Ottawa, que incluye cuatro variables (sexo, tumor primario, estadio e historia previa de ETV), se aplicó en una cohorte retrospectiva de 543 pacientes en los que

Tabla I. Ensayos clínicos aleatorizados para tratamiento prolongado de la ETV en el paciente oncológico

Ensayo clínico/año	HBPM utilizada frente a AVK	n	Recurrencia ETV (HPM frente a AVK)	Reducción del riesgo de recurrencia	HR	Sangrado mayor (HBPM frente a AVK)	Mortalidad (HBPM frente a AVK)	Seguimiento
CANTHANOX Meyer <i>et al.</i> Arch Intern Med 2002	Enoxaparina (1,5 mg/kg día)	146	2,8% frente a 4%	30%	0,70 (0,12-4,08) p = 0,09	7% frente a 16% p = 0,09 NS	22,7% frente a 11,3% p = 0,07	3 meses
CLOT Lee AY <i>et al.</i> N Engl J Med 2003	Dalteparina (200 UI/kg primer mes, 150 UI/kg 5 meses)	676	9% frente a 17%	52%	0,48 (0,30-0,77) p = 0,002	6% frente a 4% p = 0,27 NS	39% frente a 41% p = 0,53	6 meses
ONCENOX Deistcher <i>et al.</i> Clin Appl Thromb Hemost 2006	Enoxaparina (1,0 mg/kg y 1,5 mg/kg)	102	3,4% frente a 3,1% frente a 6,7%	31%	0,69 p = NS	6,5% frente a 11,1% frente a 2,9% p = NS	22,6% frente a 41,7% frente a 32,4% p = NS	6 meses
LITE Hull R <i>et al.</i> Am J Med 2006	Tinzaparina (175 UI/kg)	200	7% frente a 16%	56%	0,44 (0,17-0,99) p = 0,044	0% frente a 2,1% p = NS	47% frente a 47% p = NS	3 y 12 meses
CATCH 2015 Lee AY <i>et al.</i> JAMA 2015	Tinzaparina (175 UI/kg)	900	6,9% frente a 10%	35%	0,65 (0,41-1,03) p = 0,07	2,7% frente a 2,4% p = 0,77 NS	33,4% frente a 30,6% p = 0,54 NS	6 meses

se identificaron dos grupos de riesgo de recurrencia; riesgos alto y bajo. Para los investigadores que desarrollaron este modelo, sería este grupo de alto riesgo el que se beneficiaría de un tratamiento anticoagulante prolongado (12).

Este modelo predictivo de riesgo de recurrencia se intentó validar de manera retrospectiva en una población perteneciente a un hospital terciario coreano (13). Los resultados no confirmaron la capacidad predictiva del modelo. Khorana aplicó el modelo de Ottawa a la población del estudio *Catch* sin conseguir tampoco validar su capacidad predictiva (14).

En cuanto a resultados en el tratamiento prolongado de los episodios de ETV en pacientes con cáncer más allá de los seis meses, dos estudios con un solo brazo de tratamiento han proporcionado algunas evidencias:

El estudio Daltecan (15) tuvo como objetivo principal evaluar la seguridad del tratamiento prolongado con Dalteparina a partir de 6 meses y hasta 12 meses. De los 334 pacientes reclutados en el estudio, 185 y 109 completaron 6 y 12 meses, respectivamente. El porcentaje de sangrado mayor fue de un 10,2%, y de un 3,6% en el primer mes. También se confirmó que en el primer mes la tasa de recurrencia fue mayor (5,7%) comparada con el resto de meses (3,4% durante los meses 2-6 y 4,1% durante los meses 7-12, y de un 11,1% en todos los pacientes durante todo el estudio). La principal conclusión de los autores fue que el riesgo de desarrollar un episodio de sangrado mayor fue menos frecuente a partir de los seis meses de tratamiento con HBPM y mayor en el primer mes, por lo que el tratamiento prolongado puede considerarse seguro.

Otro estudio multicéntrico, prospectivo, abierto y de un solo brazo (estudio *TiCAT*) (16) evaluó la seguridad del tratamiento con Tinzaparina midiendo la incidencia de episodios de sangrado clínicamente relevantes (sangrado mayor y menor con relevancia clínica) y recurrencia de ETV en 198 y 136 pacientes que completaron los seis y doce meses de tratamiento, respectivamente. Los resultados confirmaron que el tratamiento prolongado más allá de 6 meses no se acompaña de mayor incidencia en los episodios de sangrado clínicamente relevante y que la incidencia por mes es de

0,9% en los seis primeros meses (95% IC 0,5-1,5) y de 0,6% por mes entre los 7-12 meses (95% IC 0,2-1,4%).

Los estudios anteriores apoyan la tendencia a favor de proponer tratamiento anticoagulante de manera indefinida en aquellos pacientes en los que los factores de riesgo de trombosis se han mantenido de manera persistente (cáncer activo, tratamiento con quimioterapia) o bien han tenido algún episodio de recurrencia. La decisión de mantener el tratamiento indefinido debe contemplar de nuevo la relación entre el beneficio y el riesgo, la expectativa de supervivencia del paciente y las propias condiciones asociadas al paciente (preferencia, soporte social).

Controversias asociadas al tratamiento con HBPM

A pesar de la evidencia en cuanto a seguridad y eficacia de las HBPM revisada en el apartado anterior, algunas preguntas clínicas quedan aún sin una respuesta sólida.

Por un lado, y de manera similar a lo que acontece en el tratamiento de la ETV en el paciente no oncológico, el efecto de grupo de las diferentes HBPM no ha sido evaluado de una manera prospectiva.

Tampoco hay una respuesta a si en los pacientes oncológicos la dosis de HBPM debería modificarse en función de los cambios que experimenta el peso corporal durante la evolución de la enfermedad oncológica, de manera similar a las recomendaciones que existen durante el manejo de la HBPM durante el embarazo.

Otro aspecto a considerar es la carencia de datos con respecto a la seguridad de la HBPM en pacientes oncológicos con insuficiencia renal, ya que aquellos pacientes con $ClCr < 30$ ml no fueron incluidos en la mayoría de los estudios al ser este un frecuente criterio de exclusión.

Papel de los nuevos anticoagulantes orales de acción directa (ACOD)

Los anticoagulantes orales de acción directa (ACOD) han demostrado en el tratamiento de la ETV en la población general no

inferioridad en términos de eficacia (tasa de recurrencias) y seguridad (incidencia de episodios de sangrado) y, además, presentan una serie de ventajas, como disponer de una dosis fija y permitir la ausencia de monitorización frecuente para ajustes de tratamiento.

En dos de los principales estudios de ACOD para el tratamiento de pacientes con ETV (estudio *Einstein* para Rivaroxabán y estudio *Recover* para Dabigatrán) se realizó un análisis de subgrupos para pacientes oncológicos. Cabe recordar que en estos estudios el brazo comparador (considerado como tratamiento anticoagulante estándar) lo formaban AVK. Las conclusiones de ambos estudios fueron similares: cuando los pacientes oncológicos recibieron ACOD se objetivó una tasa similar de recurrencias con un perfil similar de seguridad en cuanto a sangrado comparado con los pacientes que recibieron AVK.

Un metaanálisis de seis estudios con ACOD (dos con Dabigatrán, dos con Rivaroxabán, uno con Edoxaban y uno con Apixabán) que incluía 1.132 pacientes con ETV y cáncer demostró una tasa de recurrencia de 3,9% frente a 6% en pacientes tratados con ACOD y tratamiento convencional, respectivamente (OR 0,63, 95% IC 0,37-1,10) y sangrado mayor 3,2% frente a 4,2% (= R 0,77, 95% IC 0,41-1,44) (17).

A la vista de estos resultados, se garantizaba el posterior desarrollo de estudios que evaluaran de una manera más fiable el uso de ACOD en estos pacientes. Sin embargo, un aspecto a destacar era la falta de homogeneidad en los diferentes estudios con respecto a la población oncológica. Mientras que en algunos pacientes la enfermedad oncológica había sido diagnosticada y tratada tiempo atrás, en otros el diagnóstico se hizo durante el tratamiento de la ETV, presentando un mayor riesgo de complicaciones.

Estas diferencias objetivadas, así como el enorme interés en conocer el papel de los ACOD en el tratamiento de la ETV en el paciente oncológico, llevaron al desarrollo de ensayos clínicos prospectivos y aleatorizados.

El primer estudio en presentar resultados finales ha sido el ensayo clínico realizado por los investigadores del grupo de Hokusai para investigación de la ETV (18). Se trata de un estudio prospectivo abierto, multicéntrico, de no-inferioridad, que ha incluido 1.050 pacientes que han sido aleatorizados en dos brazos: uno de ellos recibió HBPM durante cinco días seguido de Edoxaban 60 mg/día o Dalteparina a dosis de 200 UI/kg durante un mes, seguido de 150 UI/kg en el otro. En el caso de pacientes con ClCr reducida (30-50 ml/min), peso inferior a 60 kg o uso concomitante de inhibidores de la P-glicoproteína (P-gp), la dosis de Edoxaban se redujo a 30 mg.

El tratamiento se mantuvo un mínimo de seis meses y el criterio principal de valoración fue un combinado de recurrencia de ETV o sangrado mayor a 12 meses. Los resultados demostraron que si bien no hubo diferencias significativas en cuanto al objetivo primario combinado (tasa de recurrencia y sangrado mayor en la rama de Edoxaban 12,8% frente a 13,5%, HR 0,97 IC 95% 0,70-1,36, margen de no inferioridad 1,50), sí que hubo una reducción en el riesgo de recurrencia de ETV a doce meses a favor del brazo de Edoxaban, aunque sin significación estadística (7,9% frente a 11a3%, $p = 0,09$). Sin embargo, se observó una mayor incidencia en episodios de sangrado mayor de manera estadísticamente significativa en el brazo de Edoxaban (6,9% frente a 4%, $p = 0,04$), en su mayoría sangrados en el tracto gastrointestinal superior en pacientes con tumores digestivos.

La frecuencia de presentación de sangrado mayor severo (grado 3-4) fue similar en ambos brazos y no hubo ningún episodio de sangrado fatal en el grupo de Edoxaban, mientras que en el brazo de Dalteparina hubo dos sangrados fatales.

En este estudio, la decisión de continuar el tratamiento por encima de seis meses se dejó a criterio del investigador y se objetivó un mayor número de pacientes en el brazo de Edoxaban comparado con el de Dalteparina que continuaron hasta 12 meses (38,3% frente a 29,4%). La media de duración de tratamiento en el brazo de Edoxaban fue de 210 días (76-357) comparada con 180 días (85-341) en el brazo de heparina ($p = 0,0143$). Estos datos confirmaron una mayor adherencia cuando el tratamiento se administró de manera oral.

El estudio también alcanzó el objetivo secundario de supervivencia sin eventos (sin ETV recurrente, sangrado mayor o muerte) en 12 meses, y los porcentajes fueron similares entre Edoxaban y Dalteparina (55% y 56,5%, respectivamente). El porcentaje de muertes en cada uno de los brazos fue también similar (39,5% en el brazo de Edoxaban frente a 36,6% en el de Dalteparina).

Recientemente se han presentado los resultados del análisis de subgrupos de este estudio (19) (pacientes con ETV incidental, pacientes con tumores hematológicos y pacientes con cáncer digestivo). No se han visto diferencias notables en cuanto al criterio principal de valoración (combinado de recurrencia de ETV o sangrado mayor a 12 meses) en ninguno de los subgrupos, pero sí una mayor incidencia de episodios de sangrado mayor en los pacientes que tomaron Edoxaban en el subgrupo de cáncer digestivo.

Otro ensayo clínico prospectivo, aleatorizado, abierto y multicéntrico que compara Rivaroxabán en monoterapia (sin HBPM en la fase inicial) con Dalteparina a dosis de 200 UI/kg durante el primer mes seguido de 150 UI/kg en pacientes con enfermedad oncológica activa que han tenido un evento trombotico (SELECT-D) ha sido recientemente publicado (20). El objetivo primario fue evaluar la recurrencia de ETV en los seis meses de duración del tratamiento; en cuanto a seguridad, el parámetro que se evaluó fue la incidencia de sangrado mayor y sangrado menor clínicamente relevante.

En junio de 2016 se realizaron algunas modificaciones al protocolo inicial tras un análisis interino de seguridad. La más relevante fue la exclusión de pacientes con tumores esofágicos y gástricos debido a una tendencia al aumento de sangrados en estos pacientes comparados con otros grupos.

Los resultados obtenidos tras el análisis de los 406 pacientes demostraron una reducción en la tasa de recurrencia en el brazo de Rivaroxabán (4% frente a 11%, Hazard ratio 0,43; IC 95% 0,19-0,99) con un incremento de la incidencia de episodios de sangrado mayor (6% frente a 4%, Hazard ratio 1,82; IC 95% 0,68-4,96). Se observó, además, una mayor incidencia de sangrados considerados clínicamente relevantes, aunque no fueran sangrados mayores, en el brazo de Rivaroxabán (13% frente a 4%, Hazard ratio 3,76; IC 95% 1,63-8,69). La mayoría de eventos hemorrágicos se localizaron en el tracto gastrointestinal superior y no se reportaron sangrados en el sistema nervioso central. Los pacientes con cáncer esofágico o gástrico tuvieron mayor incidencia de episodios de sangrado mayor con Rivaroxabán (36%) comparado con el brazo de Dalteparina (11%).

La supervivencia a 6 meses ha sido similar en ambos brazos: 75% con Rivaroxabán (95% IC 63-76%) frente a 70% (95% IC 69-81%).

Estos resultados son consistentes con los publicados por el grupo de Hokusai y confirman la efectividad de los ACOD a riesgo de mayor sangrado en pacientes con tumores digestivos.

Actualmente nuevos estudios aleatorizados están siendo desarrollados con ACOD que añadirán información relevante en términos de eficacia y seguridad a los datos ya disponibles.

A la vista de los datos discutidos en el párrafo anterior podría concluirse que los ACOD suponen una interesante alternativa en el tratamiento de la ETV en el paciente oncológico.

Sin embargo, aún quedan por conocer diferentes datos que permitan confirmar que su uso es seguro en esta población:

- Datos de interacciones farmacológicas con diferentes medicamentos y cómo estas afectarían a la biodisponibilidad del fármaco. Este hecho es especialmente relevante en pacientes oncológicos que reciben múltiples tratamientos. Un apartado especial en este sentido sería evaluar los sangrados en aquellos pacientes que recibían agentes antiangiogénicos (con un posible efecto aditivo en el riesgo de sangrado)
- No hay una explicación convincente para la mayor incidencia de sangrado en pacientes con tumores digestivos. Sería de interés recoger características específicas de los pacientes que sangraron e intentar determinar si existen diferencias. Un dato de interés sería determinar si los pacientes tenían el tumor “puesto” (no operado) con infiltración de la mucosa comparada con los pacientes con tumor resecaado y sin afectación de la mucosa.
- Del estudio de Hokusai que compara Edoxaban con Daltaparina no se han comunicado los resultados de eficacia y seguridad en aquellos pacientes que recibieron la dosis de 30 mg debido a ClCr reducido (30-50 ml/min), peso inferior a 60 kg o uso concomitante de inhibidores de la P-glicoproteína (P-gp), dato que sería de enorme interés para utilizarlos como alternativa en aquellos pacientes con afectación de la función renal no candidatos a HBPM.

Conclusiones

La ETV tiene un impacto sanitario y económico conocido en el paciente oncológico que obliga a iniciar un tratamiento que, en muchos casos, debe ser individualizado, teniendo en cuenta características de la enfermedad oncológica, supervivencia y posibles riesgos asociados.

Los resultados de los ensayos clínicos recientemente publicados sugieren un cambio en la práctica clínica con la incorporación de los ACOD al arsenal terapéutico de los pacientes con cáncer y trombosis. Sin embargo, es necesario disponer de datos sobre interacción farmacológica, uso concomitante con las terapias oncológicas específicas (fármacos antiangiogénicos que incrementan el riesgo de sangrado), identificar el mecanismo que favorece el riesgo de sangrado digestivo, etc. Diversos ensayos clínicos aleatorizados en marcha podrán ofrecernos nueva evidencia que nos ayuden a aclarar todas estas áreas de incertidumbre y definan el papel preciso de estos fármacos en el paciente con cáncer.

Por último, no hay que olvidar que la ETV es una enfermedad potencialmente evitable también en oncología y, por tanto, deben desarrollarse estrategias de identificación de pacientes de riesgo que permitan instaurar una adecuada profilaxis primaria en consonancia con los esfuerzos realizados en mejorar el tratamiento.

Bibliografía

1. Kourlaba G, Relakis J, Mylonas C, et al. The humanistic and economic burden of venous thromboembolism in cancer patients: a systematic review. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2015;26(1):13-31.
2. Mandalá M, Falanga A, Roila F. Management of venous thromboembolism (VTE) in cancer patients: ESMO Clinical Practice Guidelines. *Ann Oncol* 2011;22(Suppl. 6):vi85-92.
3. Monreal M, Falga C, Valdes M, et al. Fatal pulmonary embolism and fatal bleeding in cancer patients with venous thromboembolism: findings from the RIETE registry. *J Thromb Haemost* 2006;4(9):1950-6.
4. Chew HK, Wun T, Harvey DJ, et al. Incidence of venous thromboembolism and the impact on survival in breast cancer patients. *J Clin Oncol* 2007;25(1):70-6.
5. Noble S, Pasi J. Epidemiology and pathophysiology of cancer-associated thrombosis. *Br J Cancer* 2010;102:S2-S9.
6. Prandoni P, Lensing WA, Piccioli A, et al. *Blood* 2002;100:3484-8.
7. Trujillo-Santos J, Nieto JA, Tiberio G, et al. Predicting recurrences or major bleeding in cancer patients with venous thromboembolism. Findings from the RIETE Registry. *Thromb Haemost* 2008;100:435-9.
8. Den Exter PL, Hooijer J, Dekkers OM, et al. Risk of Recurrent Venous Thromboembolism and Mortality in Patients With Cancer Incidentally Diagnosed With Pulmonary Embolism: A Comparison With Symptomatic Patients. *J Clin Oncol* 2011;29:2405-9.
9. Hakoum MB, Kahale LA, Tzolakian IG, et al. Anticoagulation for the initial treatment of venous thromboembolism in people with cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2018;1:CD006649.
10. Van Doornaal FF, Raskob GE, Davidson BL, et al. Treatment of venous thromboembolism in patients with cancer: subgroup analysis of the Matisse clinical trials. *Thromb Haemost* 2009;101:762.
11. Akl EA, Labedi N, Barba M, et al. Anticoagulation for the long-term treatment of venous thromboembolism in patients with cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2011;(6):CD006650.
12. Louzada ML, Carrier M, Lazo-Langner A, et al. Development of a clinical prediction rule for risk stratification of recurrent venous thromboembolism in patients with cancer associated venous thromboembolism. *Circulation* 2012;126:448-54.
13. Ahn S, Lim KS, Lee YS, et al. Validation of the clinical prediction rule for recurrent venous thromboembolism in cancer patients: the Ottawa score. *Support Care Cancer* 2013;21(8):2309-13.
14. Khorana AA, Kamphuisen PW, Meyer G, et al. Tissue Factor As a Predictor of Recurrent Venous Thromboembolism in Malignancy: Biomarker Analyses of the CATCH Trial. *J Clin Oncol* 35:1078-85.
15. Francis CW, Kessler CM, Goldhaber SZ, et al. Treatment of venous thromboembolism in cancer patients with dalteparin for up to 12 months: the DALTECAN Study. *J Thromb Haemost* 2015;13:1028-35.
16. Jara-Palomares L, Solier-López A, Elías-Hernández T, et al. Tinzaparin in cancer associated thrombosis beyond 6 months: TiCAT study. *Thrombosis Research* 2017;157:90-6.
17. Vedovati MC, Germini F, Agnelli G, et al. Direct Oral Anticoagulants in Patients with VTE and Cancer A Systematic Review and Meta-analysis. *CHEST* 2015;147(2):475-83
18. 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.
19. Mulder F, Van Es N, Kraaijpoel N, et al. Efficacy and safety of edoxaban in clinically relevant subgroups: results from the Hokusai VTE cancer randomized trial. 9th ICTHC meeting 2018.
20. 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) Published at jco.org on May 10, 2018.

Tratamiento antitrombótico en el síndrome antifosfolipídico

Cervera R.

Servicio de Enfermedades Autoinmunes. Hospital Clínic. Barcelona

Introducción

El síndrome antifosfolipídico (SAF) es una enfermedad autoinmune caracterizada por el desarrollo de trombosis venosas o arteriales recurrentes y morbilidad obstétrica (fundamentalmente, abortos y pérdidas fetales), acompañadas muchas veces de trombocitopenia y asociadas a la presencia de los anticuerpos antifosfolipídicos (AAF), fundamentalmente los anticuerpos anticardiolipina (AAC) y anti- β_2 glicoproteína I (β_2 GPI) y el anticoagulante lúpico (AL) (1). El SAF puede presentarse de forma aislada (denominado SAF primario) o bien asociado a otras enfermedades autoinmunes, fundamentalmente a lupus eritematoso sistémico (LES). También pueden detectarse AAF en otras situaciones, como infecciones, neoplasias o en relación a la toma de fármacos. Existe también un subgrupo de SAF en el que los pacientes desarrollan múltiples trombosis (sobre todo en los vasos de pequeño calibre de diversos órganos) durante un corto espacio de tiempo, que se ha denominado SAF catastrófico y que es responsable de una mortalidad de hasta un 30% (2).

El tratamiento óptimo de los pacientes con SAF es controvertido y está en continua revisión debido a que el número reducido de pacientes dificulta la elaboración de estudios prospectivos adecuados que permitan obtener conclusiones definitivas. Aunque está clara la asociación entre la presencia de AAF y trombosis, la actitud terapéutica actual no se dirige primariamente a la eliminación o reducción de los niveles de estos anticuerpos mediante recambios plasmáticos, gammaglobulinas endovenosas o inmunodepresores (excepto en el SAF catastrófico), ya que no existe una clara correlación entre los niveles de los AAF y los episodios trombóticos. En cambio, el tratamiento de estos pacientes se basa en el uso de fármacos antitrombóticos (antiagregantes plaquetarios y anticoagulantes). Asimismo, en pacientes con AAF aquellos factores adicionales de riesgo vascular deben ser reducidos o eliminados, tales como hipertensión arterial, hipercolesterolemia, tabaquismo, sedentarismo o uso de anticonceptivos orales que contengan estrógenos.

Tromboprolifaxis primaria

La primera consideración en los pacientes que presentan títulos elevados de AAF, pero todavía no han desarrollado trombosis (tromboprolifaxis primaria), debe ser la de evitar o controlar otros factores de riesgo trombóticos adicionales, como el hábito de fumar, el sedentarismo, la ingesta de anticonceptivos orales, la hipertensión arterial, la diabetes, el síndrome nefrótico, etc.

Respecto al tratamiento farmacológico, la práctica más común es la antiagregación plaquetaria con dosis bajas de aspirina (75-150 mg). Curiosamente, en el único ensayo clínico aleatorizado

y controlado con placebo que se ha realizado, Erkan *et al.* (3), no encontraron un efecto beneficioso de la aspirina superior al placebo, aunque el número de pacientes que desarrollaron episodios trombóticos fue muy reducido en ambos grupos. Sin embargo, en otros estudios la aspirina fue eficaz en la prevención de trombosis en pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES) y en mujeres con AAF y abortos previos (4). No hay datos sobre la eficacia de otros fármacos antiagregantes en pacientes con AAF.

En pacientes con LES, una alternativa a la aspirina puede ser el uso de antimaláricos, como la hidroxicloroquina. Además de mejorar manifestaciones inflamatorias del LES, como la afectación articular o cutánea, estos fármacos tienen conocidas propiedades antiagregantes (5). El inconveniente de su uso a largo plazo es la posibilidad de toxicidad ocular.

El uso de anticoagulantes orales, manteniendo una intensidad de anticoagulación baja (INR = 1,5), se ha demostrado eficaz para prevenir trombosis en otros estados protrombóticos, como el cáncer de mama en estadio IV, cateterización venosa central o pacientes varones con riesgo de enfermedad coronaria. Sin embargo, un estudio aleatorizado no demostró mayor eficacia que los antiagregantes plaquetarios, pero sí una mayor incidencia de hemorragias (6).

Mientras no haya datos avalados por estudios prospectivos más amplios que sugieran otra aproximación farmacológica, la práctica clínica más habitual es tratar con dosis bajas de aspirina a todos aquellos pacientes con AL o AAC persistentemente positivos, sobre todo si son del isotipo IgG, y a títulos medios o altos, así como controlar estrictamente la existencia de otros factores asociados de riesgo.

Tromboprolifaxis secundaria

Los pacientes con SAF que han padecido una trombosis tienen un riesgo elevado de sufrir nuevos fenómenos trombóticos. El tratamiento óptimo para prevenir estas recurrencias es todavía objeto de debate. Mientras la mayoría de los estudios coinciden en que el tratamiento con anticoagulantes orales es superior al tratamiento con antiagregantes solamente, no hay el mismo acuerdo sobre la intensidad y la duración de la anticoagulación. El riesgo de hemorragia, que es la mayor complicación del tratamiento anticoagulante, y la necesidad de controlar frecuentemente la intensidad de la anticoagulación mediante la determinación del INR son factores que urgen a buscar alternativas terapéuticas. Una característica común a la mayoría de los pacientes con SAF es que las trombosis suelen recurrir en el mismo territorio vascular; es decir, las recurrencias de trombosis venosas suelen ser venosas y las de arteriales suelen ser también arteriales en casi un 80% de los casos.

Prevención de las recurrencias venosas

Respecto a la intensidad de la anticoagulación, los estudios retrospectivos iniciales (7) encontraron pocas recurrencias o ninguna cuando el INR era superior a 3. Las mayores limitaciones de estos estudios son sus diseños retrospectivos y el hecho de no analizar separadamente las trombosis venosas y arteriales, así como la aparición de varios episodios hemorrágicos. Se plantea entonces la cuestión de si todos los pacientes con SAF y trombosis previas necesitan la misma intensidad de anticoagulación. Dos estudios prospectivos concluyeron que una INR entre 2 y 3 era suficiente para evitar recurrencias trombóticas (8,9). La anticoagulación con INR superior a 3 debería reservarse para aquellos casos en que haya recurrencias trombóticas venosas con INR entre 2 y 3 (fundamentalmente si hay también antecedentes de trombosis arteriales). No se ha demostrado que añadir aspirina disminuya el riesgo de recurrencias y sí parece aumentar el riesgo de hemorragia.

Respecto a la duración de la anticoagulación, los estudios iniciales (7) describieron una tasa de recurrencias superior al 50%. Estos datos sugieren, por tanto, que la anticoagulación no debe suspenderse en pacientes con SAF.

Varios trabajos recientes (10) revisan los estudios publicados sobre tratamiento de pacientes con SAF después de una trombosis venosa. La recomendación más habitual, por tanto, es utilizar tratamiento con anticoagulantes orales por tiempo indefinido mientras no haya episodios o factores de riesgo claros de hemorragia (hipertensión arterial no controlada, edad avanzada, etc.) y mantener un INR entre 2 y 3. En pacientes que hayan sufrido una trombosis venosa claramente asociada a un factor de riesgo conocido, como la ingesta de anticonceptivos orales, puede considerarse interrumpir la anticoagulación (11).

La eficacia de los nuevos anticoagulantes directos no ha sido demostrada todavía en ensayos clínicos, aunque estudios preliminares sugieren su equivalencia a los anticoagulantes orales clásicos (12).

Prevención de las recurrencias arteriales

Las trombosis arteriales más frecuentes en los pacientes con AAF son los accidentes vasculares cerebrales (AVC), los accidentes isquémicos transitorios y el infarto de miocardio.

En la población general, las recomendaciones para la prevención de AVC recurrentes dependen de la presencia o no de una patología cardioembólica. Los pacientes con fibrilación auricular son generalmente anticoagulados de por vida con INR entre 2 y 3. Los antiagregantes se usan sobre todo en AVC no embólicos o en accidentes isquémicos transitorios, a pesar de que algunos estudios han descrito que estos fármacos solo reducen el riesgo de recurrencia arterial o de muerte en un 13%. Actualmente, no hay datos concluyentes de estudios prospectivos sobre la prevención de AVC en pacientes con AAF. Las diferentes opciones propuestas incluyen dosis bajas de aspirina u otros antiagregantes, anticoagulación oral con INR entre 2 y 3 por un tiempo corto o una combinación de ambos tratamientos (10). Se ha sugerido también tratamiento antiagregante para aquellos pacientes con otros factores de riesgo evidentes para trombosis y títulos bajos de AAF, reservando la anticoagulación oral para aquellos pacientes con

recurrencias trombóticas a pesar del tratamiento antiagregante. Debido a la alta tasa de recurrencias trombóticas asociada a la presencia de AAF y las altas morbilidad y mortalidad asociadas a AVC e infarto de miocardio, la anticoagulación oral por tiempo indefinido es la opción más ampliamente aceptada. Los resultados observacionales de la cohorte Euro-phospholipid (13) aconsejan una intensidad alta de anticoagulación (INR 3-4).

Tratamiento del síndrome antifosfolípídico catastrófico

En el tratamiento para el SAF catastrófico deben tenerse en cuenta tres objetivos: tratar cualquier factor desencadenante (el uso temprano de los antibióticos cuando se sospeche de alguna infección, amputación de cualquier órgano necrosado, extremo cuidado en los pacientes con SAF que deban someterse a una intervención quirúrgica o un procedimiento invasivo), tratar los continuos fenómenos trombóticos y suprimir el exceso de la "cascada" de citocinas. Los estudios de las grandes series de pacientes con esta enfermedad indican que la combinación de anticoagulación y glucocorticoides junto a recambios plasmáticos o gammaglobulinas endovenosas proporcionan la más alta tasa de supervivencia (70%) (14-16) (Fig. 1).

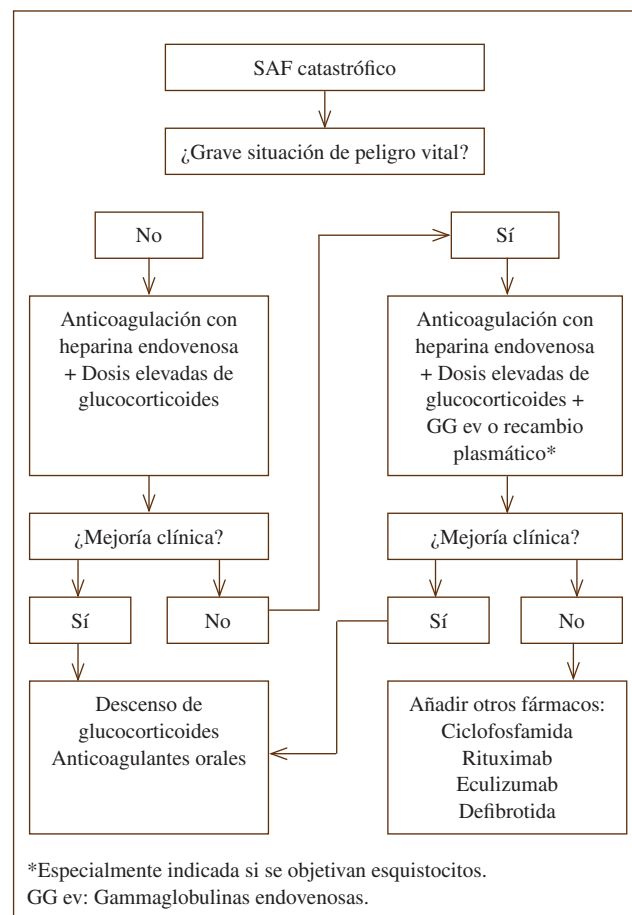


Figura 1. Algoritmo para el tratamiento del SAF catastrófico.

Consideraciones finales

El tratamiento antitrombótico actual de los pacientes con SAF se basa en la anticoagulación oral a largo plazo. Sin embargo, la falta de estudios bien diseñados hace que la fortaleza de algunas recomendaciones esté en discusión. Ejemplos de estos son el mejor rango de anticoagulación (INR) para la trombosis arterial o el mejor tratamiento para las manifestaciones clínicas de los pacientes con AAF positivos que no muestran criterios de clasificación formal (clínica o de laboratorio) para SAF. En otros escenarios, como los pacientes con SAF “seronegativo”, aquellos con episodios tromboticos recurrentes a pesar de la anticoagulación óptima o aquellos con manifestaciones clínicas asociadas con AAF, pero no incluidos en los criterios de clasificación de APS, la evidencia no existe. En estos casos, las recomendaciones se basan en el sentido común.

Bibliografía

- Espinosa G, Cervera R. Current treatment of antiphospholipid syndrome: lights and shadows. *Nat Rev Rheumatol* 2015;11:586-96.
- Rodríguez-Pintó I, Espinosa G, Cervera R. Catastrophic antiphospholipid syndrome: The current management approach. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2016;30:239-49.
- Erkan D, Harrison MJ, Levy R, et al. Aspirin for primary thrombosis prevention in the antiphospholipid syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial in asymptomatic antiphospholipid antibody-positive individuals. *Arthritis Rheum* 2007;56:2382-91.
- Arnaud L, Mathian A, Ruffatti A, et al. Efficacy of aspirin for the primary prevention of thrombosis in patients with antiphospholipid antibodies: An international and collaborative meta-analysis. *Autoimmun Rev* 2014;13:281-91.
- Ruiz-Irastorza G, Egurbide MV, Pijoan JJ, et al. Effect of antimalarials on thrombosis and survival in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2006;15:577-83.
- Cuadrado MJ, Bertolaccini ML, Seed PT, et al. Low-dose aspirin vs low-dose aspirin plus low-intensity warfarin in thromboprophylaxis: a prospective, multicentre, randomized, open, controlled trial in patients positive for antiphospholipid antibodies (ALIWAPAS). *Rheumatology (Oxford)* 2014;53:275-84.
- Khamashta MA, Cuadrado MJ, Mujic F, et al. The management of thrombosis in the antiphospholipid antibody syndrome. *N Engl J Med* 1995;332:993-7.
- Schulman S, Svenungsson E, Granqvist S. Duration of Anticoagulation Study Group. Anticardiolipin antibodies predict early recurrence of thromboembolism and death among patients with venous thromboembolism following anticoagulant therapy. *Am J Med* 1998;104:332-8.
- Crowther MA, Ginsberg JS, Julian J, et al. A comparison of two intensities of warfarin for the prevention of recurrent thrombosis in patients with the antiphospholipid syndrome. *N Engl J Med* 2003;349:1133-8.
- Ruiz-Irastorza G, Cuadrado MJ, Ruiz-Arruza I, et al. Evidence-based recommendations for the prevention and long-term management of thrombosis in antiphospholipid antibody-positive patients: report of a task force at the 13th International Congress on antiphospholipid antibodies. *Lupus* 2011;20:206-18.
- Sciascia S, Coloma-Bazán E, Radin M, et al. Can we withdraw anticoagulation in patients with antiphospholipid syndrome after seroconversion? *Autoimmun Rev* 2017;16:1109-14.
- Cohen H, Hunt BJ, Efthymiou M, et al. Rivaroxaban versus warfarin to treat patients with thrombotic antiphospholipid syndrome, with or without systemic lupus erythematosus (RAPS): a randomised, controlled, open-label, phase 2/3, non-inferiority trial. *Lancet Haematol* 2016;3:e426-36.
- Cervera R, Serrano R, Pons-Estel GJ, et al. Morbidity and mortality in the antiphospholipid syndrome during a 10-year period: a multicentre prospective study of 1000 patients. *Ann Rheum Dis* 2015;74:1011-8.
- Rodríguez-Pintó I, Moitinho M, Santacreu I, et al. Catastrophic antiphospholipid syndrome (CAPS): Descriptive analysis of 500 patients from the International CAPS Registry. *Autoimmun Rev* 2016;15:1120-4.
- Berman H, Rodríguez-Pinto I, Cervera R, et al. Rituximab use in the catastrophic antiphospholipid syndrome: Descriptive analysis of the CAPS registry patients receiving rituximab. *Autoimmun Rev* 2013;12:1085-90.
- Espinosa G, Rodríguez-Pintó I, Cervera R. Catastrophic antiphospholipid syndrome: An update. *Panminerva Medica* 2017;59:254-68.

Monitorización de los anticoagulantes orales directos

Rosselló Palmer E., Peris Vidal J., Pina Pascual E., Domènech Santasusana P.
Unitat d'Hemostàsia i Trombosi. Hospital Universitari de Bellvitge. Hospitalet de Llobregat, Barcelona

Introducción

Los anticoagulantes orales de acción directa (ADO) han surgido como una alternativa eficaz y segura frente a los antagonistas de la vitamina K (warfarina) para la prevención y el tratamiento de los embolismos arteriales en pacientes con fibrilación auricular no valvular y en la profilaxis y tratamiento de la enfermedad tromboembólica venosa (ETE).
Los ADO se han diseñado para producir una inhibición directa de un factor específico de la coagulación. Rivaroxaban, Apixaban y Edoxaban inhiben al factor X activado, mientras que Dabigatran inhibe al factor II activado. Se administran a dosis fijas, presentan un inicio de acción rápido, con un efecto dosis-respuesta predecible y un rango terapéutico amplio, de modo que no precisan una monitorización continua.

Está justificado el control biológico de un fármaco si lo que se pretende es optimizar la dosis para mejorar la eficacia y/o la seguridad. Puede hacerse mediante la *monitorización*, que implica un ajuste de dosis (los estudios nos demuestran que esto no es necesario), y la *medición puntual*, que nos aporta una información valiosa en una situación especial, como la complicación hemorrágica o trombótica, la necesidad de un procedimiento invasivo o una intervención urgente.

Para realizarlo disponemos de métodos cualitativos (test básicos globales) y métodos cuantitativos (miden la concentración específica del fármaco), y para interpretarlos debemos tener en cuenta la edad y el peso del paciente, la dosis administrada, el tiempo transcurrido desde la última toma y la función renal.

Inhibidores directos de la trombina (IDT)

Dabigatran fue el primer ADO aprobado, para la prevención del tromboembolismo venoso (TEV) después del reemplazo electivo de cadera (ensayo RE-NOVATE) y de rodilla (ensayo RE-MODEL) en 2007. Posteriormente obtuvo la aprobación para la prevención de eventos tromboembólicos en pacientes con fibrilación auricular no valvular (FANV) (ensayo RE-LY) (1) y el tratamiento de la ETEV (ensayo RE-COVER). *Dabigatran* se administra cada 12 horas, como profármaco (*dabigatran exilato*). Se absorbe rápidamente y se transforma en *dabigatran* mediante hidrólisis. Su efecto es rápido y alcanza el pico máximo a las 2h. La vida media plasmática es de 13 - 15 horas (si el aclaramiento de creatinina (ACr) > 50ml/min). Alrededor del 80% se elimina por vía renal en forma inalterada (activa). Es dializable. Dispone de agente reversor (*Idarucizumab*[®]). Se han observado en pacientes con FANV a dosis de 150mg/12h las siguientes concentraciones (percentiles 25-75) (2): C_{max} 175 (117-275 ng/mL) y C_{min} 91 (61-

143 ng/mL); y en pacientes tratados a dosis 110mg/12h: C_{max} 126 (52-275 ng/mL) y C_{min} 65 (28.2-155 ng/mL).

Efecto de los IDT en las pruebas de coagulación (3-8)

Test globales

El *tiempo de tromboplastina parcial activada* (TTPA): se observa una relación lineal entre la concentración del fármaco y la ratio de TTPA, pero a concentraciones > 200 ng/mL se alcanza un *plateau* que impide una cuantificación precisa. En pacientes que reciben terapia crónica con *Dabigatran* 150 mg dos veces al día, el pico medio de la ratio de TTPA es aproximadamente el doble del control.

El *tiempo de protrombina* (TP) es poco sensible a *Dabigatran* (se observa un ratio de 1,2 respecto al basal en concentraciones terapéuticas). No es útil.

El *tiempo de reptilasa* (TR) no se ve afectado.

El *tiempo de trombina* (TT) presenta una relación lineal entre la concentración del fármaco y la ratio de TT, pero es demasiado sensible a *Dabigatran*, ya que se prolonga hasta 15 veces respecto a valores normales en pacientes con concentraciones de 200 ng/mL y unas 5 veces con concentraciones > 50 ng/mL. No es útil para monitorizar su efecto, pero sí para excluir su presencia en caso de TT normal.

El *fibrinógeno* determinado por el método Clauss presenta interferencias con *Dabigatran*. Se observa una infraestimación. Se debe usar reactivo a altas concentraciones de trombina.

Test cuantitativos

El *tiempo de trombina diluida* (TT d) es un TT modificada (la muestra se diluye con cloruro sódico y se incuba con plasma normal). Esta dilución disminuye el exceso de sensibilidad del TT estándar. Se usa un calibrador específico para *Dabigatran*. Presenta una relación lineal.

El *tiempo de ecarina* (TEC) es un test específico de generación de trombina. Se basa en que la ecarina (veneno de *Echis carinatus*) activa la protrombina, generando meizotrombina. *Dabigatran* inhibe la acción de la meizotrombina, lo que provoca un alargamiento del TEC. En voluntarios sanos se observa una relación lineal con ratios TEC de 2 a 4 posadministración *Dabigatran* 150 mg (dosis cada 12 horas).

Los *test anti-IIa cromogénicos*. Basados en la inhibición de una cantidad constante y en exceso de trombina (FIIa) por *Dabigatran* y en la hidrólisis de un sustrato cromogénico específico de trombina por la trombina residual. Se libera pNA del sustrato. La

cantidad de pNA liberado es proporcional a la actividad de trombina residual. Parece que son lineales, más estables, con menor interferencia por heparina y detectan concentraciones menores de Dabigatran.

Inhibidores directos del factor Xa

Rivaroxaban fue el primer inhibidor directo del factor Xa aprobado. Obtuvo la primera indicación para la prevención del TEV después del reemplazo electivo de cadera (ensayo RECORD-1) y de rodilla (ensayo RECORD-3) en 2008 y, posteriormente, para la prevención de eventos tromboembólicos en pacientes con FANV (ensayo ROCKET) (9) y el tratamiento de la ETEV (ensayo Einstein). Rivaroxaban se administra cada 24 horas. Su pico de acción se alcanza entre las 2-4 h. Su vida media es de 7 a 11 horas. La excreción renal de fármaco activo es del 33%. Puede administrarse con $ACr > 15 \text{ min/mL}$. En pacientes con FANV con dosis de 20 mg cada 24 horas se han observado las siguientes concentraciones (percentiles 5-95) (10): $C_{\text{máx}}$ 257 (178-364 ng/mL) y $C_{\text{mín}}$ 22 (4-96 ng/mL).

Apixaban fue aprobado en 2009 para la prevención del TEV después del reemplazo electivo de rodilla (ensayo ADVANCE-1 y 2) y de cadera (ensayo ADVANCE-3) y, posteriormente, para la prevención de eventos tromboembólicos en pacientes con FANV (ensayo Averrores y Aristotle) y para el tratamiento de la ETEV (ensayo Amplify). Apixaban se administra cada 12 horas. Alcanza el pico de concentración a las 3-4 horas, y su vida media es de 8 a 15 horas. La excreción renal de fármaco activo solo es del 25%. En pacientes con FANV a dosis de 5 mg cada 12 horas se han observado las siguientes concentraciones (percentiles 5-95) (11): $C_{\text{máx}}$ 171 (91-321 ng/mL) y $C_{\text{mín}}$ 103 (41-230 ng/mL) y a dosis de 2,5 mg / 12 h: $C_{\text{máx}}$ 123 (69-221 ng/mL) y $C_{\text{mín}}$ 79 (34-162 ng/mL).

Edoxaban obtuvo la aprobación para la prevención del TEV después del reemplazo electivo de cadera en el 2011 y, posteriormente, para la prevención de eventos tromboembólicos en pacientes con FANV (ensayo ENGAGE) y para el tratamiento de la ETEV (ensayo Hokusai). Edoxaban se administra cada 24 horas. Se absorbe alcanzando concentraciones plasmáticas máximas en 1 a 2 horas. Su vida media es de 10 a 14 horas. Se elimina por vía renal el 35%. En pacientes con ETEV con dosis de 60 mg cada 24 h se han observado las siguientes concentraciones: $C_{\text{máx}}$ 234 (149-317 ng/mL) y $C_{\text{mín}}$ 19 (10-39 ng/mL) y con dosis 30 mg / 24 h: $C_{\text{máx}}$ 164 (99-225 ng/mL) y $C_{\text{mín}}$ 16 (8,3-32 ng/mL).

Efecto de los inhibidores directos del factor Xa en las pruebas de coagulación (7,8,12-15)

Test globales

Los fármacos anti-Xa prolongan tanto el TP como el TTPA. Cada reactivo presenta diferentes sensibilidades, por lo que es recomendable que cada laboratorio conozca las de sus propios reactivos para asesorar en la interpretación de los resultados obtenidos.

Rivaroxaban presenta el efecto más intenso sobre el TP, seguido de Edoxaban y Apixaban. Para concentraciones de 200 ng/mL de Rivaroxaban podemos encontrar un ratio TP entre 1,25-1,98

mientras que para concentraciones $< 100 \text{ ng/mL}$ el ratio TP i ratio TTPA habitualmente son normales.

Para Apixaban, tanto el TTPA como el TP son poco sensibles. Para la mayoría de reactivos el TTPA es normal para concentraciones de 200 ng/mL y el TP prácticamente también (ratios 0,9-1,3). Por lo tanto, un TTPA y un TP normales no excluyen una concentración pico de Apixaban.

Para Edoxaban el TP puede ser normal (ratio $< 1,2$) para concentraciones terapéuticas dependiendo del reactivo utilizado. Está alargado solo en pico (y levemente). Presenta una prolongación del TTPA dosis dependiente, pero para doblar el ratio TTPA precisa concentraciones de 500 ng/mL.

Los tiempos de Trombina, Reptilase y Ecarina no se ven afectados.

El tiempo de veneno de víbora Russel diluido (dRVVT) es sensible a Rivaroxaban. Para concentraciones de 200 ng/ml de Rivaroxaban observamos un ratio $> 1,5$, mientras que Apixaban produce un alargamiento del dRVVT a partir de concentraciones de 400-500 ng/mL y con ratios inferiores a 1,4.

Test cuantitativos

Los test Anti-Xa cromogénicos. Son los indicados para medir las concentraciones de estos fármacos. Deben estar calibrados con su fármaco específico (Apixaban, Rivaroxaban y Edoxaban) y con unos intervalos de medida amplios que cubran los niveles terapéuticos. Se expresan en ng/mL. Deben tenerse en cuenta los límites de detección de cada test (entre 20-50 ng/mL). Se ha sugerido que, en caso de necesidad, podría utilizarse el test calibrado para HBPM para descartar teóricamente la presencia del fármaco anti-Xa (cuando el resultado es inferior al límite de detección del test).

Interpretación de los resultados de las diferentes pruebas de laboratorio

La interpretación de los resultados de las pruebas de coagulación debe tener en cuenta la probable concentración plasmática del fármaco, el tiempo transcurrido desde la última toma, el reactivo utilizado y otras patologías que puedan prolongar los tiempos de TP y TTPA.

En el caso de IDT: si el TT está alargado y no corrige con *pool* de plasma normal, se confirma la presencia de Dabigatran. Si el TT corrige con sulfato de protamina se debe a la presencia de heparina en la muestra. En el caso de que TT, TR y fibrinógeno estén alargados, se deberá a dis/hipofibrinogenemia.

En caso de fármacos anti-Xa: conocer el límite de detección del test cromogénico es importante para descartar la presencia del fármaco ante procedimientos invasivos según los umbrales propuestos por varios grupos.

Estos test presentan una buena correlación con los niveles de fármaco medidos por el método estándar de referencia (cromatografía líquida / espectrometría de masas en tándem) en un amplio rango de concentraciones plasmáticas. Sin embargo, estos ensayos no han sido aprobados por la FDA debido a que no existen unos "rangos terapéuticos" definidos ni para Dabigatran ni para los fármacos anti-Xa. Solo disponemos de "rangos esperados" o "rangos en terapia", obtenidos la mayoría de estudios en voluntarios sanos

o de los modelos farmacocinéticos de estudios en fase II y III debido a que no se han realizado estudios que correlacionen resultados clínicos con niveles específicos del fármaco.

Indicaciones e impacto de la medición de los ADO en la práctica clínica

A pesar de que los ADO no precisan de monitorización, es importante que los laboratorios puedan realizar su medición en determinadas situaciones (16) (Tabla I), ya que esta puede facilitar la toma de decisiones en el manejo clínico de los pacientes.

Las declaraciones de práctica clínica reconocen que estos niveles pueden usarse para detectar la presencia del fármaco o para cuantificarlo, pero no indican cómo interpretar los resultados o ajustar la dosificación de fármaco en función de los niveles. Por lo tanto, los ajustes de dosis basados en los niveles de los fármacos son dudosos y no existe evidencia de la efectividad de tales prácticas.

Se han publicado revisiones 17-18 de los niveles plasmáticos reales en pacientes que toman ADO a largo plazo comparados con los niveles esperados en los que constan las indicaciones de las mediciones de los fármacos y las decisiones clínicas basadas en dichos resultados. Las indicaciones más frecuentes son la detección del fármaco previo a una cirugía o procedimiento invasivo de urgencia seguido de la determinación en pacientes con pesos extremos (con IMC > 40 kg/m² o bajo peso 2.º a malabsorción). En uno de los estudios se observó que en 2 de los 7 pacientes obesos tratados con Rivaroxaban presentaban niveles valle de 0 ng/mL, lo que sugeriría una subdosificación en este grupo de pacientes. De estas revisiones se verifican las indicaciones propuestas en guías internacionales. Desde el SSC de la ISTH19 se ha elaborado una guía para el uso de los ADO en pacientes obesos. En ella se recomienda que no se utilicen las dosis estándar en pacientes con IMC > 40 kg/m² o > 120 kg debido que con el aumento del peso se ha observado una disminución de la exposición al fármaco, una reducción de las concentraciones máximas y unas vidas medias más cortas, lo que sugiere una subdosificación en esta población. En caso de usarlos, se recomienda la medición de las concentraciones pico y valle. En

caso de detectarse niveles inferiores a los esperados se recomienda pasar a AVK en lugar de ajustar la dosis de ADO.

Las *situaciones de emergencia* incluyen hemorragias, trombosis, procedimientos invasivos o trombolisis. En estos casos, los clínicos quieren identificar niveles terapéuticos o supratrapéuticos. Desde el Subcomité del Control de la Anticoagulación de la ISTH han dado unas guías para el uso de los agentes reversores de los ADO (Idarucizumab® y Andexanet®). En pacientes con hemorragias graves y una concentración > 50ng/mL, se recomienda la administración del antídoto, mientras que en el caso de precisar una cirugía urgente de elevado riesgo hemorrágico se administrará el antídoto con concentraciones > 30ng/mL. Sin embargo, no debería retrasarse la administración del agente reversor en caso de sangrados potencialmente mortales a la espera de disponer del resultado de laboratorio. En el 2013 Steiner publicó unos *cutt-off* para la realización de trombólisis IV con r-TP en pacientes con ictus agudo. Se propusieron 10 ng/mL (Apixaban), 50 ng/mL (Dabigatran) y 100 ng/ml (Rivaroxaban). Según un estudio más reciente publicado en pacientes anticoagulados con Rivaroxaban, se recomendaba la trombolisis en caso de concentraciones <20-30 ng/mL, que se considerara en caso de concentraciones entre 20-100 ng/mL y que se contraindicara en caso de concentraciones > 100 ng/mL.

En los *procedimientos electivos*, los clínicos lo que buscan es descartar la presencia del fármaco. En principio, si se respetan los días de suspensión preprocedimiento según el riesgo quirúrgico recomendados por las guías no sería necesario monitorizarlo. Sin embargo, en determinados casos, como en pacientes con múltiples factores que puedan interferir en la farmacocinética de los ADO (como la insuficiencia renal o antiarrítmicos), o en casos en los que no ha podido asegurarse la suspensión correcta del fármaco, podrían beneficiarse de una medición de laboratorio. Se ha propuesto como umbral hemostático de seguridad concentraciones < 30 ng/mL para Dabigatran y Rivaroxaban²⁰. Se han establecido por extrapolación de los datos obtenidos de los protocolos utilizados en los ensayos clínicos y los resúmenes de las características del producto (estudio RE-LY y ROCKET-AF).

Conclusiones

1. Para la interpretación de los resultados de las pruebas de coagulación debe tenerse en cuenta la edad y el peso del paciente, así como su función renal, la dosis administrada, el tiempo transcurrido desde la última toma, el reactivo utilizado y otras patologías que puedan prolongar los tiempos de TP y TTPA.
2. Si el TT está alargado y no corrige con *pool* de plasma normal se confirma la presencia de Dabigatran. Si el TT corrige con sulfato de protamina, se debe a la presencia de heparina en la muestra. En el caso de que TT, TR y fibrinógeno estén alargados se deberá a dis/hipofibrinogenemia.
3. Se ha sugerido que en caso de necesidad podría utilizarse el test calibrado para HBPM para descartar teóricamente la presencia del fármaco anti-Xa (cuando el resultado es inferior al límite de detección del test).
4. Deberían realizarse estudios prospectivos para correlacionar resultados clínicos con niveles específicos del fármaco (validación de rangos terapéuticos y umbrales de laboratorio).

Tabla I
Situaciones en las que estaría indicada la medición de los ADO
Hemorragia espontánea o traumática
Fármacos interferentes
Fallo terapéutico
Cirugías electivas para descartar presencia del fármaco
Insuficiencia renal
Pesos extremos
Sospecha de malabsorción por antecedentes de resecciones intestinales
Edad avanzada
Asegurar adherencia
Fuente: tomado de S. Kitchen <i>et al.</i> (16) (traducción).

Bibliografía

1. Connolly SJ, Ezekowitz MD, Yusuf S, et al. Dabigatran versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *N Engl J Med* 2009;361:1139-51.
2. European Medicines Agency. Pradaxa-Summary of Product Characteristics. 2017 [consultado 26 September 2017]. Available at: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_Product_Information/human/000829/WC500041059.pdf
3. Van Ryn J, Stangier J, Haertter S, et al. Effect of dabigatran on coagulation assays and reversal strategies. *Thromb Haemost* 2010;103:1116-27.
4. Stangier J, Rathgen K, Stähle H, et al. The pharmacokinetics, pharmacodynamics and tolerability of dabigatran etexilate, a new oral direct thrombin inhibitor, in healthy male subjects. *Br J Clin Pharmacol* 2007;64:292-303.
5. Nowak G. The ecarin clotting time, a universal method to quantify direct thrombin inhibitors. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2003;33:173-83.
6. Poli S, Härtig F, Spencer C, et al. Diagnostic Accuracy of a Novel Chromogenic Direct Thrombin Inhibitor Assay: Clinical Experiences for Dabigatran Monitoring. *Thromb Haemost* 2017; 117:2369-75.
7. Douxfils J, Ageno W, Samama CM, et al. Laboratory testing in patients treated with direct oral anticoagulants: a practical guide for clinicians. *J Thromb Haemost* 2017;16:209-19.
8. Gosselin RC, Adcock DM. The laboratory's 2015 perspective on direct oral anticoagulant testing. *J Thromb Haemost* 2016;14:886-93.
9. Patel MR, Mahaffey KW, Garg J, et al. Rivaroxaban versus warfarin in nonvalvular atrial fibrillation. *N Engl J Med* 2011;365:883-91.
10. Girgis IG, Patel MR, Peters GR, et al. Population Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Rivaroxaban in Patients with Non-valvular Atrial Fibrillation: Results from ROCKET AF. *L Clin Pharmacol* 2014;54(8):917-27.
11. European Medicines Agency. Eliquis-Summary of Product Characteristics 2017 [accessed 26 September 2017]. Available at: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_Product_Information/human/002148/WC500107728.pdf
12. Douxfils J, Mullier F, Loosen C, et al. Assessment of the impact of rivaroxaban on coagulation assays: Laboratory recommendations for monitoring of rivaroxaban and review of the literature. *Thromb Res* 2012;130:956-66.
13. Hillarp A, Gustafsson K, Faxälv L, et al. Effects of the oral, direct factor Xa inhibitor apixaban on routine coagulation assays and anti-FXa assays. *J Thromb Haemost* 2014;12(9):1545-53.
14. Ogata K, Mendell-Harary J, Tachibana M, et al. Clinical safety, tolerability, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of the novel factor Xa inhibitor edoxaban in healthy volunteers. *J Clin Pharmacol* 2010;50:743-53.
15. Douxfils J, Chantelain B, Chatelain C, et al. Edoxaban: impact on routine and specific coagulation assays. *Thromb Haemost* 2016;115:368-81.
16. Kitchen S, Gray E, Mackie I, et al. Measurement of non-coumarin anticoagulants and their effects on tests of haemostasis: Guidance from the British Committee for Standards in Haematology. *Br J Hem* 2014;166:830-41.
17. Martin K, Moll S. Direct oral anticoagulant drug level testing in clinical practice: A single institution experience. *Thromb Res* 2016;143:40-4.
18. Wright C, Brown R, Cuker A. Laboratory measurement of the direct oral anticoagulants: Indications and impact on management in clinical practice. *Int Jnl Lab Hem* 2017;39(Suppl. 1):31-6.
19. Martin K, Beyer-Westendorf J, Davidson BL, et al. Use of the direct oral anticoagulants in obese patients: guidance from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost* 2016;14:1308-13.
20. Pernod G, Albaladejo P, Godier A, et al. Management of major bleeding complications and emergency surgery in patients on long-term treatment with direct oral anticoagulants, thrombin or factor-Xa inhibitors: Proposals of the Working Group on Perioperative Haemostasis (GIHP)-March 2013. *Arch Cardiovasc Dis* 2013;106:382-93.

Big data en hemostasia y trombosis

COORDINADORES: Dr. Jordi Fontcuberta Boj. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona
Dr. Javier Rodríguez Martorell. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla

CS-7. Integración de datos ómicos en la enfermedad tromboembólica venosa

Rodríguez-Rius A.¹, López S.¹, Martínez-Pérez Á.¹, Sabater-Lleal M.², Buil A.³, Viñuela A.⁴, Brown Andrew A.⁴, Panousis Nikolaos I.⁴, Muñoz C.¹, Hamsten A.², Dermizakis Emmanouil T.⁴, Souto J. C.⁵, Soria J. M.¹

¹Unit of Genomic of Complex Diseases IIB Sant Pau. Research Institute. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona, España. ²Cardiovascular Medicine Unit. Department of Medicine. Karolinska Institutet. Estocolmo, Suecia. ³Institute of Biomedical Psychiatry. Mental Health Sct. Hans Hospital. Roskilde, Dinamarca. ⁴University of Geneva. Dpt Genetic Medicine and Development. Ginebra, Suiza. ⁵Haemostasis and Thrombosis Unit. Department of Hematology. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona, España

Introducción

La enfermedad tromboembólica venosa (ETV) es una enfermedad compleja altamente heredable en la que se han llevado a cabo numerosas investigaciones para identificar factores genéticos de riesgo. Sin embargo, los factores identificados apenas explican el 15% de la variabilidad genética. Nuestra estrategia plantea abordar esta problemática integrando diferentes capas de información biológica, lo que se conoce como datos ómicos (genómica, epigenómica, transcriptómica y proteómica).

Métodos

En este estudio hemos analizado el perfil de expresión de 752 miRNAs extraídos de plasma y cuantificados mediante qPCR, en 52 casos de ETV y 52 controles, no relacionados genéticamente, seleccionados del proyecto 'Genetic Analysis of Idiopathic Thrombophilia' (GAIT2). Los niveles de expresión de 103 miRNAs (aquellos expresados en al menos el 90% de los individuos) se han analizado de manera conjunta con los 10 millones de SNVs (GWAS), 300 fenotipos intermediarios y los niveles de expresión de mRNA de 18.000 genes (GWES-RNA-seq) en estos 104 individuos.

Resultados

Se observan diferencias estadísticamente significativas en la expresión de 11 miRNAs entre casos y controles, así como varias asociaciones significativas con fenotipos intermediarios de gran importancia en el desarrollo de la enfermedad, como son los niveles de Factor VIII o la generación de trombina. Asimismo, obtenemos correlaciones significativas con niveles de expresión de mRNA que nos permiten aproximarnos a posibles mecanismos de acción de los miRNAs, y asociaciones significativas con SNP que nos sugieren regiones de regulación genética de estos miRNAs.

Conclusión

Nuestro estudio supone un innovador análisis ómico global en el campo de la ETV en el que hemos integrado varias capas de información biológica: genómica (SNPs), epigenómica (miRNAs), transcriptómica (RNA-seq) y proteómica (fenotipos). Esta estrategia nos ha permitido identificar un perfil de expresión de miRNAs potencialmente asociado al riesgo de ETV y aproximarnos a sus mecanismos de acción y zonas de regulación genética. Estos resultados están siendo validados en otros proyectos independientes a nivel internacional.

Fuentes de financiación: FIS P114/00582; FI-AGAUR 2018_FI_00227; STAGO.

CS-8. Explorando el efecto de mutaciones intrónicas, sinónimas y *missense* del VWF sobre el *splicing*: aportación de la NGS en el estudio del RNA

Borràs Agustí N.^{1,2}, Orriols G.¹, Pérez-Rodríguez A.³, Batlle J.³, Fidalgo T.⁴, Parra R.^{1,2,5}, Altisent C.², Vidal Pérez F.^{1,2,6}, Corrales Insa I.^{1,2}; en nombre de los participantes y grupo PCM-EVW-ES

¹Banc de Sang i Teixits, Barcelona, España. ²Institut de Recerca Vall d'Hebron, Barcelona, España. Universitat Autònoma de Barcelona (VHIR-UAB), Barcelona, España. ³Complejo Hospitalario Universitario A Coruña. INIBIC, A Coruña, España. ⁴Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, Coimbra, Portugal. ⁵Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona, España. ⁶CIBER de Enfermedades Cardiovasculares (CIBERCV), Barcelona, España

Introducción

El estudio molecular del *VWF* en una cohorte española (PCM-EVW-ES) y una portuguesa de pacientes diagnosticados con VWD, ha permitido la identificación de 273 mutaciones diferentes. Uno de los retos más interesantes consiste en descifrar la patogenicidad de las variantes que potencialmente pueden afectar a los sitios de *splicing* (PSSM). Para ello, existen algoritmos de predicción *in silico* que pueden orientar el efecto de la mutación, pero son necesarios estudios funcionales para caracterizar su efecto real. Estos se pueden abordar mediante estudios a nivel de mRNA. No obstante, hasta la fecha, del total de PSSM identificadas en estas cohortes, solo se había demostrado el impacto en el procesamiento del mRNA en 3 de ellas.

Objetivo

Caracterizar el máximo número de mutaciones identificadas en pacientes de ambas cohortes que puedan tener un impacto sobre el mRNA del *VWF* mediante secuenciación tradicional y masiva (NGS).

Métodos

A partir de un estudio detallado de las mutaciones identificadas, se seleccionaron 14 pacientes con 18 PSSM nuevas o con un efecto patogénico desconocido (Tabla I). De cada uno de ellos, se extrajo RNA de leucocitos y plaquetas. Utilizando el RNA como

Tabla I. Efecto observado en mRNA de leucocitos y plaquetas de 18 PSSM identificadas en 14 pacientes con VWD

Patients	nt mutation	aa mutation	Exon	Intron	Leukocyte effect	Platelet effect	Protein nomenclature
P64	c.1533+1G>A	-	-	13	Skipping exon 13	NMD	p.Gly478AlafsTer138
RNA081	c.3379+1G>A	-	-	25	Skipping exon 25	NMD	p.Pro1075ValfsTer88
					Activation of a cryptic site +126 nt in exon 25	NMD	p.Pro1117ValfsTer88
RNA082	c.5664+2T>C	-	-	33	Skipping exon 33	NMD	p.Gly1874AlafsTer32
RNA075	c.7081+6G>T	-	-	-	-	-	-
RNA071	c.7082-2A>G	-	-	41	Activation of a cryptic site +7 nt in exon 42	NMD	p.Ala2361GlyfsTer40
	c.449T>C	p.Leu150Pro	5	-	No visible effect	No visible effect	-
RNA083	c.7730-4C>G	-	-	45	No visible effect	No visible effect	-
RNA084	c.7730-56C>T	-	-	45	No visible effect	No visible effect	-
RNA059	c.8254-5T>G	-	-	51	No visible effect	No visible effect	-
RNA077	c.546G>A	p.Ser182	6	-	Skipping exon 6	NA	p.Thr179ProfsTer31
	c.4866C>T	p.Asp1622	28	-	No visible effect	NA	-
RNA076	c.3291C>T	p.Cys1097	25	-	No visible effect	No visible effect	-
RNA073	c.3426T>C	p.Cys1142	26	-	No visible effect	No visible effect	-
	c.3485_3486delinsTG	p.Pro1162Leu	26	-	No visible effect	No visible effect	-
P12	c.7437G>A	p.Ser2479	43	-	Skipping exon 43	NA	p.Val2430GlyfsTer335
	c.6699_6702dupT	p.Cys2235ArgTer8	38	-	Activation of a cryptic site +146 nt in exon 43	NA	p.Ser2479AlafsTer23
RNA078	c.1109G>A	p.Cys370Tyr	9	-	Skipping exon 9	NMD	p.Glu33AlafsTer87
					Skipping exon 8+9	NMD	p.Ser292ThrfsTer87
RNA085	c.3223-7_3236dup	p.Pro1079_Tyr1080in	25	-	Activation of a cryptic site -21 nt in exon 25	Activation of a cryptic site -21 nt in exon 25	p.Pro1079_Tyr1080ins

molde se amplificaron las regiones de interés mediante RT-PCR y se analizaron por Sanger y NGS.

Resultados

Del total de 18 PSSM estudiadas, 8 (44%) afectan al *splicing* del *VWF*. En 10 no se ha podido dilucidar su efecto en base a los estudios realizados, aunque en 3 de ellas el análisis *in silico* predice un impacto en el procesamiento del mRNA. Las mutaciones intrónicas c.1533+1G>A, c.5664+2T>C provocan la delección del exón adyacente a 5' y la sinónima c.546G>A la del exón portador. Las mutaciones c.3223-7_3236dup y c.7082-2A>G conducen a la activación de un sitio críptico de *splicing* dentro de los exones 25 y 42, respectivamente. Las mutaciones c.3379+1G>A y c.7473G>A (p.=) dan lugar a dos tipos de transcritos: con la delección de los exones 25 y 43 respectivamente y con la delección de los últimos nucleótidos de cada exón, debido a la activación de un sitio críptico de *splicing*. De las dos mutaciones *missense* incluidas en el estudio, la p.Cys370Tyr (c.1109G>A; correspondiente al último nucleótido del exón 9) produce dos transcritos aberrantes: sin exón

9 (13,4%) y sin los exones 8 y 9 (8,7%). Es destacable que esta es la segunda mutación *missense* en la que se ha demostrado y caracterizado su efecto sobre el *splicing* del *VWF*. El estudio del mRNA de leucocitos ha sido indispensable para la caracterización de 7 mutaciones (87,7%) dado que, en plaquetas, lugar de expresión del *VWF*, el mRNA portador de la mutación es degradado activamente por *nonsense mediated decay* (NMD).

Conclusiones

La NGS es un método rápido y efectivo para el análisis simultáneo de todos los transcritos de mRNA resultantes de una mutación que además permite conocer el porcentaje relativo de cada uno de ellos, lo que puede ayudar a entender el fenotipo de los pacientes. Por otro lado, el estudio *in vivo* de las PSSM a partir de RNA de leucocitos es determinante cuando ocurre NMD en plaquetas. Este estudio ha permitido establecer el efecto de 8 mutaciones, poniendo de manifiesto la implicación que pueden tener mutaciones sinónimas y *missense* en el *splicing* del *VWF*.

Retos, preguntas y respuestas de la NGS en trombosis y hemostasia

Vidal F.

Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona

Introducción: del estudio del gen al estudio del genoma

Durante las dos últimas décadas los avances alcanzados en el análisis genético han resultado espectaculares y hemos pasado del análisis de un solo gen a la posibilidad de analizar todo el genoma humano. Como consecuencia derivada, incluso el título de esta ponencia pierde parte de su sentido, ya que actualmente el abordaje molecular puede ser idéntico o muy similar para cualquier patología o grupo de enfermedades genéticas. Es decir, no es necesario centrarse en la trombosis y en la hemostasia, sino que la mayoría de las consideraciones que aquí hagamos probablemente puedan aplicarse a cualquier patología monogénica. Únicamente varían las aproximaciones en función del conocimiento que tengamos *a priori* de las bases moleculares de la enfermedad. Por ejemplo, no es lo mismo abordar el estudio molecular de una coagulopatía ampliamente estudiada, como la hemofilia, que enfrentarnos un diagnóstico molecular en el que se sospecha de un trastorno plaquetario congénito, pero de características atípicas.

En este sentido, sabemos que buena parte de la patología hemorrágica tiene una base genética desconocida o de muy difícil estudio con las técnicas tradicionales. En este aspecto el campo de la hemostasia no es diferente ni independiente de la evolución del conocimiento del genoma humano en general: sin tener en cuenta las mutaciones que resultan letales en el desarrollo embrionario, para más del 50% de los genes todavía no se ha determinado su impacto en patología humana (1). Frente a esto, la buena noticia es que ahora contamos con herramientas en el laboratorio para poder responder, o como mínimo intentarlo, al reto de desentrañar las bases moleculares de cualquier patología de herencia mendeliana. Ello se debe fundamentalmente a la aparición de una tecnología totalmente disruptiva, como la secuenciación masiva (*Next Generation Sequencing*—NGS—) y su aplicación creciente a la investigación y diagnóstico en biomedicina. Previsiblemente, este es el camino que recorreremos los próximos años para dar respuesta en el terreno de la investigación y el diagnóstico de la trombosis y hemostasia, cuya genética todavía permanece oculta o ha sido, hasta ahora, inaccesible.

El abordaje clásico del diagnóstico molecular (DM), con la identificación de mutaciones en los genes implicados, nos permite orientar el diagnóstico clínico y/o confirmar la enfermedad. Sin embargo, para la mayoría de las patologías poco prevalentes, dado el elevado coste de implementación del DM tradicional, no se presta de manera rutinaria y habitualmente ha quedado relegado al ámbito de la investigación (2). El DM clásico se basó inicialmente en técnicas indirectas (en las que no se determinaba la mutación causal) para pasar posteriormente a las técnicas de diagnóstico

directo. El objetivo de estas últimas sí persigue identificar el defecto genético responsable de la patología en la familia. Puede llevarse a cabo a través de dos aproximaciones: a) realizando un filtrado inicial mediante procedimientos de cribado de mutaciones o; b) mediante la secuenciación directa del gen o genes en cuestión. Debido a la importancia y a las peculiaridades de esta aproximación metodológica y a los trascendentales avances que ha experimentado la secuenciación del ADN en la última década con la llegada de la NGS, es obligado un desarrollo más detallado en los siguientes apartados.

NGS, de la investigación al diagnóstico molecular

Las plataformas NGS son extraordinariamente más rápidas y económicas que la secuenciación de Sanger, y su potencial se ha puesto de manifiesto durante los últimos años. Un ejemplo paradigmático que anunciaba la hegemonía de esta tecnología ya quedó patente desde el inicio de su aplicación cuando, en 2008, la secuenciación del genoma de James Watson (3) pudo realizarse en tan solo cuatro meses y medio, a un coste inferior a 1,5 millones de dólares, mientras que pocos años antes (2001) se había concluido el Proyecto Genoma Humano, abordado mediante secuenciación tradicional, después de 13 años de trabajo y a un coste de 2.700 millones de dólares.

Si bien es cierto que las primeras aplicaciones de la NGS estaban muy ligadas a la secuenciación de genomas completos, durante los últimos años el abanico de aplicaciones ha crecido considerablemente. En el contexto de la investigación básica, la NGS ha sido ampliamente aplicada a la secuenciación de genomas *de novo*, la resecuenciación dirigida de genes o exomas, la secuencia de transcriptomas y en epigenómica. Gracias a esta y a otras tecnologías de análisis masivo, han podido ponerse en marcha grandes proyectos multinacionales impensables hace solo una década. Es paradigmático el 1000 Genomes Project (www.1000genomes.org), cuyo objetivo era establecer un catálogo exhaustivo de la variabilidad genética humana. Otras iniciativas posteriores, como el *Exome Variant Server* o el *Exome Aggregation Consortium* (ExAC), han puesto a nuestra disposición datos genéticos de diferentes poblaciones, muy útiles durante el filtrado de variantes patogénicas y no patogénicas, como más adelante quedará de manifiesto.

El desarrollo de aplicaciones diagnósticas basadas en NGS para enfermedades minoritarias de origen genético, incluidas las hemostáticas, ha experimentado un considerable aumento en los últimos cinco años.(4) Estas aplicaciones son diversas y van desde el estudio de un solo gen al genoma completo. Una estrategia probada, por ejemplo, es el análisis de grandes cohortes de pacientes con una patología monogénica, como es el caso del registro espa-

ñol de enfermedad de Von Willebrand (VWD). El diagnóstico de la VWD, de herencia compleja y con un gen responsable de gran tamaño, resulta manifiestamente claro cuando puede disponerse de la secuencia completa del gen de diferentes miembros de cada familia a un coste razonable (5,6). Por otra parte, las posibilidades que brinda actualmente la NGS permiten plantearnos el estudio simultáneo de decenas o de miles de genes (paneles de genes) a un coste inferior del estudio individual de cada uno de ellos mediante la tecnología tradicional. De esta manera, pueden secuenciarse simultáneamente los genes implicados, por ejemplo, en la cascada de coagulación o, de manera más amplia, en la hemostasia. Este nuevo planteamiento tiene dos consecuencias directas: por una parte, permite mejorar la respuesta desde el punto de vista asistencial a las patologías más frecuentes, pero también a las muy minoritarias, cuyo DM y consejo genético no estaba resuelto para muchas de ellas. De hecho, gracias a que el conocimiento genético está creciendo exponencialmente, la identificación de las mutaciones causales de las RBD (*Rare Bleeding Disorders*) está convirtiéndose en el método diagnóstico definitivo. Una misma técnica para diferentes patologías permite acumular muchas muestras (para ser procesadas simultáneamente), simplificar los protocolos (uno para todos) y reducir los costes de la secuenciación. Por otra parte, permite recabar datos moleculares, no solamente del gen presumiblemente afectado, sino que ofrece una información mucho más amplia del sistema hemostático globalmente considerado. El abordaje del estudio molecular de patologías relacionadas desde el punto de vista clínico, genético y/o bioquímico está progresando precisamente hacia análisis integrales y respuestas basadas en una visión holística: este planteamiento es especialmente adecuado en el campo de la hemostasia, en el que diversos factores interaccionan de manera sinérgica para mantener el equilibrio hemostático. La comprensión de la fisiología de la coagulación está esencialmente basada en la observación de los componentes o de los factores individualmente, y ello no parece ofrecer siempre una estimación fiel del riesgo hemorrágico/trombótico global. Al contrario, este riesgo es una combinación de cambios en varios de los componentes del sistema hemostático. Los ensayos globales de la coagulación (por ejemplo, el test de generación de trombina) han mejorado nuestro conocimiento de la dinámica del proceso hemorrágico y se encuentran en la vanguardia de la aplicación clínica. Sin embargo, hasta ahora era técnicamente inabordable un planteamiento similar para el DM. A medida que la tecnología avanza, la posibilidad de fusionar los datos moleculares y fenotípicos es cada vez más deseable y esperamos que factible. Ello debería traducirse en una interpretación integral de los cambios moleculares y de los observados a nivel fenotípico.

En este sentido, un aspecto todavía poco explorado que también se beneficia de la secuenciación masiva y del uso de paneles de genes es la información sobre las variantes (mutaciones y polimorfismos) no solo del gen estudiado, sino del resto de factores y proteínas que interaccionan en el mantenimiento de la hemostasia. En este tipo de interacciones podríamos encontrar la explicación a que algunos pacientes con un perfil molecular muy similar o idéntico muestren un fenotipo hemorrágico diferente. Esto es lo que explica que los individuos portadores del FV Leiden y del polimorfismo 20210A de la protrombina sufran menos hemorragias en determinadas circunstancias (7). En esta misma dirección, mujeres

portadoras de hemofilia tienen un menor riesgo de fallecer por cardiopatía isquémica (8). En este complejo escenario hay quien defiende que el diagnóstico de las coagulopatías debe contemplarse teniendo en cuenta la coexistencia subyacente de genotipos protrombóticos y hemorrágicos (9).

Además de los paneles de genes diseñados a medida, existen soluciones (*kits*) comerciales que permiten el análisis de miles de genes relacionados con patología humana, como los que permiten la secuenciación del denominado exoma clínico (CES) y la secuenciación del exoma completo (WES). Estas aproximaciones son cada vez más empleadas para el diagnóstico a medida que se abaratan los costes y aumenta la capacidad de los secuenciadores de sobremesa. En ambos casos —CES y WES—, después de secuenciar es posible establecer filtros y limitar el análisis flexiblemente a aquellos genes relacionados con el fenotipo estudiado (síntomas, patología, síndrome...) (Fig. 1). Esta es una herramienta muy potente para la investigación de las patologías hemostáticas congénitas de etiología poco conocida: déficits de glicosilación, hemorragias relacionadas con mutaciones del tejido conectivo, enfermedades muy raras relacionadas con trastornos plaquetarios, pacientes con coagulopatías congénitas sin mutación en los genes clásicos, etc. Sin embargo, es probable que acabe convirtiéndose muy pronto en la herramienta de rutina habitual, sustituyendo a los paneles de múltiples genes.

Análisis bioinformático, identificación, clasificación, selección y priorización de variantes

El objetivo del análisis molecular basado en la secuenciación siempre consiste en la identificación de la mutación responsable de la patología. Por tanto, una vez disponemos de la secuencia, es indiferente si se trata de un gen o de todo el genoma. El proceso de diagnóstico consiste en el análisis y en la interpretación del efecto y priorización de las variantes encontradas. Un reto primordial en el DM es determinar la relevancia biológica de las variaciones halladas; es decir, demostrar que son responsables de la patología y, por tanto, pueden considerarse mutaciones. Para ello es fundamental tener en cuenta la bibliografía y las bases de datos (cada vez más completas y complejas) de mutaciones específicas de *locus* que reportan descripciones anteriores en pacientes con patologías clínicas similares. No obstante, en muchos casos es necesario llevar a cabo una investigación en mayor profundidad de las mutaciones detectadas para valorar el impacto funcional a través de: estudios *in silico*, estudios *in vivo*, modelos celulares y modelos animales (10,11).

A medida que aumenta el número de genes que podemos analizar simultáneamente, el análisis y la priorización de las variantes encontradas se complican y las herramientas bioinformáticas se sofistican. No es necesario señalar que el desarrollo que ha experimentado la genética en las últimas décadas hubiera sido imposible sin el desarrollo en paralelo de la informática. Desde el análisis de solo un gen en el pasado reciente, pasando por el análisis de paneles de múltiples genes, hasta el CES y WES, hemos comprobado cómo la complejidad de la tecnología y de la bioinformática aumentaban espectacularmente y sus aplicaciones clínicas han demostrado ser más complicadas de lo que se planteaba inicialmente. Los costes de infraestructura para administrar,

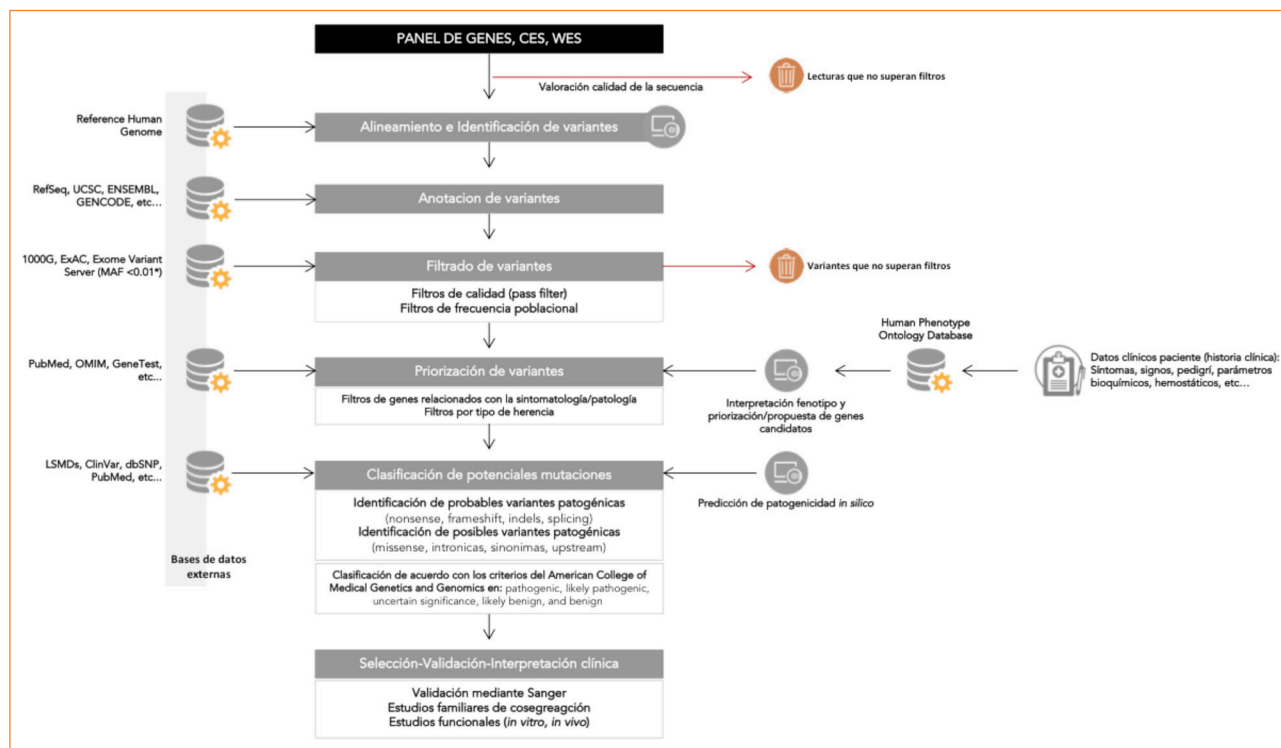


Figura 1. Representación esquemática del flujo de trabajo habitual realizado a partir de los datos de secuencia obtenidos al abordar un estudio molecular mediante un panel de genes, exoma clínico (CES) o exoma completo (WES). Es filtrado sucesivo de las variantes detectadas frente al genoma de referencia debe conducir a un número limitado de potenciales mutaciones capaces de explicar la patología estudiada.

almacenar y analizar datos de NGS se disparan fácilmente en cientos de miles de euros, sobre todo cuando hablamos de exoma o genomas completos (12), y en la actualidad es un aspecto a tener en consideración para la implementación de sistemas de NGS en la rutina clínica (13). Contar con grandes volúmenes de datos suele ser muy deseable en el marco de la investigación básica, en la que la atención se centra en la obtención de tanta información como sea posible sin que el tiempo empleado en analizarla para obtener resultados significativos sea una restricción primordial a tener en cuenta. Por el contrario, la gran cantidad de datos generados puede resultar un importante obstáculo en su traslado a la rutina diagnóstica. Por tanto, en la transición actual de la NGS hacia la clínica, uno de los mayores retos es la simplificación del análisis de la gran cantidad de datos generados para obtener información útil de manera eficiente, la simplificación del proceso de identificación de las mutaciones/variaciones y también su aplicación en el laboratorio de rutina para personas sin una formación bioinformática excepcional.

En este sentido, los grandes volúmenes de datos de variantes genéticas generadas por las nuevas tecnologías de análisis masivo requieren nuevas herramientas y aproximaciones adecuadas para la clínica. Por ejemplo, del análisis de un exoma individual pueden esperarse típicamente entre 28.000 y 30.000 variantes respecto a la secuencia de referencia genómica, y alrededor de 10.000 producirán sustituciones de aminoácidos no sinónimas, alteraciones de residuos conservados del *splicing* o pequeñas deleciones e

inserciones (14). Los flujos de análisis informático establecidos en la actualidad siguen todos ellos un patrón similar (Fig. 1). Sin embargo, todavía son flujos inmaduros que deberán perfeccionarse en el futuro para permitir una retroalimentación significativa de datos entre la sintomatología clínica y de laboratorio (fenotipo) y los datos genéticos. Los nuevos sistemas deberán ser capaces de aglutinar, recapitular y volver a analizar las variantes con una significación clínica incierta a medida que se esclarezcan las relaciones entre el fenotipo y el genotipo, gestionando la incertidumbre y permitiendo enfoques personalizados. Pero para todo ello todavía tendremos que superar algunos problemas, incorporar nuevas tecnologías y resolver nuevos retos.

Perspectivas de futuro, consideraciones éticas y conclusiones

Todavía no hemos asimilado el impacto de esta nueva generación de secuenciadores cuando ya empieza a entrar en escena una tercera generación (TGS). La principal novedad de esta tercera generación radica en que son capaces de detectar la polimerización de moléculas individuales de ADN sin necesidad de una amplificación previa (15). Helicos Biosciences, Pacific Biosciences, Halcyon Molecular (16), ZS Genetics (15) y Oxford Nanopore Technologies son algunas de las compañías que han desarrollado plataformas de tercera generación. La carrera tecnológica en este campo parece imparable y, de hecho, algunas de las plataformas

mencionadas arriba han sido superadas tecnológicamente y han desaparecido o están a punto de hacerlo. Probablemente, el área de desarrollo más prometedora en TGS sea la secuenciación mediante el uso de nanoporos (17). Oxford Nanopore Technologies, la primera compañía que ofrece secuenciadores con esta tecnología, ha generado un gran entusiasmo con sus plataformas GridION y MinION. Esta última, que pudo empezar a probarse en 2014, tiene el tamaño de un dispositivo de almacenamiento USB. A pesar de que la calidad de secuencia de la TGS no es suficiente y/o el precio demasiado elevado para su aplicación diagnóstica de manera generalizada, el progreso en los últimos meses está siendo espectacular y se espera que estos secuenciadores representen de nuevo un avance disruptivo en el campo de secuenciación del ADN.

Tanto paneles de genes como CES y WES son herramientas con las que ya nos estamos acostumbrando a trabajar, pero la aproximación que se convertirá en el método diagnóstico de rutina es, indudablemente, la secuenciación del genoma completo (WGS). En los primeros años de la próxima década, propiciado por nuevos secuenciadores NGS y también por la irrupción de la TGS, (15,17), se estima que el coste del WGS rondará los 100 dólares, dejando obsoletos los enfoques destinados a secuenciar solo una fracción del genoma. Un ejemplo de lo que nos espera en este campo son los programas nacionales en biomedicina, que incluyen la secuenciación de genomas en muchos países occidentales como: Estonia (Estonian Genome Project), pionera en 2000 de un proyecto de biobanco y medicina genómica, Reino Unido (100.000 Genomes Project of Genomics England), Australia (100.000 Genomes Project), Estados Unidos (Precision Medicine Initiative), Francia (France Medicine Genomique 2025), Irlanda e Islandia. Pero también se han iniciado programas en poblaciones asiáticas de países como Malasia, la India, Japón, Tailandia, Qatar y, por supuesto, el programa chino, cuyo objetivo es secuenciar un millón de genomas humanos en subpoblaciones de 50.000 individuos. No es necesario remarcar que el conocimiento genético de poblaciones no occidentales resulta fundamental para la investigación biomédica y farmacológica tal como se entiende hoy.

Como consecuencia de todo lo anterior, es indudable que la genética está convirtiéndose en una de las disciplinas biomédicas capaz de generar más datos de interés clínico y es uno de los actores principales en la generación de lo que hoy se conoce como *big data*. Pero ello también lleva asociada la problemática de transformar esos datos en conocimiento útil para el diagnóstico y el tratamiento de la salud. Teniendo en cuenta que el ADN es básicamente información binaria codificada, que el genoma humano contiene más de 20.000 genes dispersos a lo largo de 3.000 millones de bases y que entre los últimos años y los venideros se secuenciarán cientos de miles de genomas, podemos hacernos a la idea de la colosal cantidad de datos que habrá que analizar. Será el uso de las técnicas de análisis de *big data* usadas en otras disciplinas lo que posiblemente nos permita extraer información de alta calidad acerca de cómo actúan los genes (18). Sin embargo, aplicar estas herramientas requerirá superar uno de los cuellos de botella más importantes en la actualidad: la dificultad de estructurar y acceder a la información fenotípica de los pacientes.

Como ha quedado de manifiesto, el avance técnico y científico desde el flanco del genotipo está siendo muy acelerado. Sin embargo, en el flanco del fenotipo, a pesar de que la historia clínica

hospitalaria contiene una enorme cantidad de información, esta no siempre es fácil de filtrar, de analizar y de simplificar para que resulte útil. Asimismo, existe una enorme heterogeneidad entre los sistemas de información hospitalaria (HIS) y otros sistemas de explotación de datos utilizados en los diferentes hospitales españoles. Esto tiene como consecuencia las dificultades a la hora de comunicarse entre los diferentes sistemas y también a la hora de extraer información relevante de cara a poder ser explotada con las herramientas propias de *big data*. Además, buena parte de esta información de interés (historia clínica) está fundamentalmente recogida en lenguaje natural y, en gran parte, ni siquiera digitalizada. El reto principal en los próximos años consistirá en ordenar, homogeneizar y establecer objetivos claros para que toda la información generada en el futuro esté disponible de una manera sencilla, pero también para tratar de estructurar la información existente de manera que pueda ser contrastada con los datos genéticos. Es reseñable que en este flanco del fenotipo también están haciéndose esfuerzos, todavía insuficientes, para tratar de aprovechar la información disponible a través de: el reconocimiento y la sistematización del lenguaje natural en el que está buena parte de la información clínica o la sistematización del fenotipo a través de iniciativas como Human Phenotype Ontology, que permite la conexión con bases de datos de información genética (19). Sin embargo, para que todo ello sea viable, es fundamental que todos los datos estén integrados en sistemas de historia clínica electrónica (HCE) eficaces que eviten que esa información quede aislada y/o dispersa.

Es evidente que la NGS, que ha permitido abordar la WES y la WGS, es una herramienta con un gran potencial para mejorar la asistencia sanitaria y la salud humana en general a través de la prevención de enfermedades en las personas con ciertas predisposiciones de base genética. Sin embargo, también plantea importantes consideraciones éticas que deberían tenerse en cuenta analizándolas desde diferentes puntos de vista. Por ejemplo, es difícil anticipar el impacto del WGS en la medicina del siglo XXI, pero ya han surgido problemas éticos con respecto a la privacidad de los datos de salud. Es obvio que a nadie le gustaría que los grandes operadores digitales (Google, Apple, Facebook, Amazon), que ya han entrado en el mundo de la genómica, comercialicen datos de su genoma como, de una manera u otra, hacen con los datos personales de sus usuarios en Internet. El uso de la información genética humana siempre ha sido un aspecto controvertido desde el punto de vista ético y legal: la preocupación por el consentimiento informado, el peligro de estigmatización (es decir, a ser juzgado o etiquetado como consecuencia de los resultados de pruebas genéticas), la privacidad (tanto individual como de grupo), los intereses de entidades patronales y aseguradoras, la discriminación debida a las características genéticas, etc. Todas las cuestiones planteadas por las tecnologías anteriores se exacerban con la aparición de la NGS y, además, plantean nuevas polémicas, aún más desde el momento en el que puede llegar a considerarse la secuenciación de exoma o genomas completos como método de diagnóstico genético de aplicación universal en lugar de la secuenciación de regiones discretas del genoma. En promedio, cada persona porta aproximadamente de 250 a 300 variantes con pérdida de función en genes anotados y de 50 a 100 variantes previamente descritas como causantes de enfermedades hereditarias

(20). Por lo tanto, la WES y la WGS no solo revelan la mutación causante de la enfermedad, sino que también pueden poner de manifiesto mutaciones (hallazgos incidentales) potencialmente causantes de otras enfermedades monogénicas o factores genéticos de riesgo para enfermedades complejas (21), todo ello sin aludir a la proliferación de compañías que comercializan pruebas genéticas directamente a los consumidores soslayando la participación del profesional sanitario (22). No es el objetivo de esta ponencia debatir exhaustivamente sobre las diferentes cuestiones éticas y legales que se plantearán, pero es necesario poner de relieve que la transición a una nueva etapa en la investigación centrada en el genoma en su conjunto conlleva cuestiones cada vez más abundantes y más complejas. Se reclama a los comités éticos (y cada vez lo serán más) para revisar la ética de los proyectos que impliquen el uso de estas tecnologías emergentes en la investigación con seres humanos hasta que los legisladores desarrollen un consenso y una orientación consistente (23).

A modo de conclusión, podemos decir que es incuestionable que en los próximos años las nuevas tecnologías de secuenciación tendrán un efecto transformador en la utilización y en el protagonismo de la información genética en la rutina clínica de la trombosis y en la hemostasia. Pero, como se comentaba al inicio de esta ponencia, el nuevo escenario tendremos que contemplarlo desde un punto de vista global, ya que buena parte de las herramientas serán comunes para toda la patología genética y, probablemente, muchas de las aplicaciones clínicas de la NGS, incluyendo la secuenciación rutinaria del genoma, estarán centralizadas. Es evidente que estamos avanzando en esa dirección y que todo ello supondrá un impacto sin precedentes en la salud del siglo XXI.

Bibliografía

- Chong JX, Buckingham KJ, Jhangiani SN, et al. The Genetic Basis of Mendelian Phenotypes: Discoveries, Challenges, and Opportunities. *Am J Hum Genet* 2015;97(2):199-215.
- Peyvandi F, Kunicki T, Lillicrap D. Genetic sequence analysis of inherited bleeding diseases. *Blood* 2013;122(20):3423-31.
- Wheeler DA, Srinivasan M, Egholm M, et al. The complete genome of an individual by massively parallel DNA sequencing. *Nature* 2008;452(7189):872-6.
- Pati HP, Sharma P. Molecular Genetic Diagnosis of the Inherited Bleeding Disorders: Are We Close to the Perfect Test? *Indian J Hematol Blood Transfus* 2016;32(4):375-6.
- Batlle J, Pérez-Rodríguez A, Corrales I, et al. Molecular and clinical profile of von Willebrand disease in Spain (PCM-EVW-ES): Proposal for a new diagnostic paradigm. *Thromb Haemost* 2016;115(1):40-50.
- Hampshire DJ, Goodeve AC. The molecular basis of von Willebrand disease: the under investigated, the unexpected and the overlooked. *Haematologica* 2011;96(6):798-800.
- Gopel W, Gortner L, Kohlmann T, et al. Low prevalence of large intraventricular haemorrhage in very low birthweight infants carrying the factor V Leiden or prothrombin G20210A mutation. *Acta Paediatr* 2001;90(9):1021-4.
- Sramek A, Kriek M, Rosendaal FR. Decreased mortality of ischaemic heart disease among carriers of haemophilia. *Lancet* 2003;362(9381):351-4.
- Castoldi E, Govers-Riemslog JW, Pinotti M, et al. Coinheritance of Factor V (FV) Leiden enhances thrombin formation and is associated with a mild bleeding phenotype in patients homozygous for the FVII 9726+5G>A (FVII Lazio) mutation. *Blood* 2003;102(12):4014-20.
- Corrales I, Ramírez L, Altisent C, et al. The study of the effect of splicing mutations in von Willebrand factor using RNA isolated from patients' platelets and leukocytes. *J Thromb Haemost* 2011;9(4):679-88.
- Corrales I, Ramírez L, Altisent C, et al. Rapid molecular diagnosis of von Willebrand disease by direct sequencing. Detection of 12 novel putative mutations in VWF gene. *Thromb Haemost* 2009;101(3):570-6.
- Radford A, Bushell C. How new sequencing technologies will help shape the future. *Vet Rec* 2012;170(18):471.
- Desai AN, Jere A. Next-generation sequencing: ready for the clinics? *Clin Genet* 2012;81(6):503-10.
- Smedley D, Jacobsen JOB, Jäger M, et al. Next-generation diagnostics and disease-gene discovery with the Exomiser. *Nature Protocols* 2015;10:2004.
- Schadt EE, Turner S, Kasarskis A. A window into third-generation sequencing. *Hum Mol Genet* 2010;19(R2):R227-40.
- Casals F, Idaghmour Y, Hussin J, et al. Next-generation sequencing approaches for genetic mapping of complex diseases. *J Neuroimmunol* 2012;248(1-2):10-22.
- Heather JM, Chain B. The sequence of sequencers: The history of sequencing DNA. *Genomics* 2016;107(1):1-8.
- Lee CH, Yoon HJ. Medical big data: promise and challenges. *Kidney Res Clin Pract* 2017;36(1):3-11.
- Köhler S, Doelken SC, Mungall CJ, et al. The Human Phenotype Ontology project: linking molecular biology and disease through phenotype data. *Nucleic Acids Res* 2014;42(Database issue):D966-D74.
- Genomes Project C. A map of human genome variation from population-scale sequencing. *Nature* 2010;467(7319):1061-73.
- Lohmann K, Klein C. Next generation sequencing and the future of genetic diagnosis. *Neurotherapeutics* 2014;11(4):699-707.
- Covolo L, Rubinelli S, Ceretti E, et al. Internet-Based Direct-to-Consumer Genetic Testing: A Systematic Review. *J Med Internet Res* 2015;17(12):e279.
- Diamandis EP. Next-generation sequencing: a new revolution in molecular diagnostics? *Clin Chem* 2009;55(12):2088-92.

Sesión Plenaria

Coordinadores: **Dr. Jorge Sierra Gil**

Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona

Dra. José A. Páramo Fernández

Clínica Universidad de Navarra. Pamplona

Dr. José Luis Díez Martín

Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid

Dr. José Mateo Arranz

Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona

Síndromes linfoproliferativos crónicos

SP-01 Características clínico-biológicas y resultados de pacientes con leucemia de linfocitos grandes granulares y síndrome linfoproliferativo crónico de células NK

Rivero A., Magnano L., Jiménez L., López-Guerra M., Colomer D., Bastidas G., Mozas P., Baumann T., Martínez-Trillos A., Rivas-Delgado A., Delgado J., Giné E., López-Guillermo A., Villamor N., Matutes E

Hospital Clínic. Barcelona

Introducción: La leucemia de linfocitos grandes granulares (LLGG-T) y el síndrome linfoproliferativo crónico de células NK (SLPC-NK) son entidades poco frecuentes caracterizadas por una expansión clonal de linfocitos T citotóxicos o células NK, respectivamente. Se manifiestan principalmente con citopenias y suelen asociarse a enfermedades autoinmunes o neoplásicas. Hasta un tercio de los casos presenta mutaciones del gen STAT3. Aunque la conducta terapéutica no está bien definida, los inmunosupresores son los fármacos de elección cuando existe indicación de tratamiento. Hay pocas series en la literatura que describan estas entidades.

Objetivo: El objetivo del presente estudio fue analizar las características clínico-biológicas y el impacto del estado mutacional de STAT3 en una serie amplia de pacientes.

Métodos: Se incluyeron ciento nueve pacientes (M/H, 61/48; edad mediana 68 años) diagnosticados de LLGG-T (n=77) o SLPC-NK (n=32) entre 1993 y 2017 en una única institución. El diagnóstico se realizó de acuerdo a la clasificación de la OMS (2017). La clonalidad de linfocitos T y de las células NK fue determinada analizando la cadena beta y/o gamma del receptor de célula T por PCR y el patrón de KIRs por inmunofenotipo, respectivamente. El estado mutacional del gen STAT3 se determinó por secuenciación directa de los exones 20 y 21. Se analizaron las principales características clínico-biológicas, el impacto de las mutaciones de STAT3, el tratamiento y la supervivencia de estos pacientes.

Resultados: Las características clínico-biológicas de los pacientes se detallan en la [tabla I](#). La mediana de linfocitos totales y linfocitos grandes granulares al diagnóstico fue de $3,9 \times 10^9/L$ y $1,52 \times 10^9/L$, respectivamente. La neutropenia fue la manifestación hematológica más frecuente (n = 60) y fue grave únicamente en un 3% de los casos. Frecuentemente, estas entidades se asociaron a otras enfermedades como hemopatías (32%), tumores sólidos (16%) y enfermedades autoinmunes (17%). El gen STAT3 se encontró mutado en 19 casos (20%). Las mutaciones más frecuentes fueron Y640F y D661Y. El análisis de las principales características de los pacientes según el estado mutacional de STAT3 mostró que aquellos con STAT3 mutado presentaban más frecuentemente anemia (p = 0,02) y neutropenia (p=0,002), así como mayor linfocitosis (p = 0,04) y niveles elevados de LDH sérica (p = 0,008). Solo 16 pacientes (LLGG-T n = 10; SLPC-NK n = 6) requirieron tratamiento. El metotrexato fue el fármaco más

Tabla I. Características clínico-biológicas de los pacientes con LLGG-T y SLPC-NK

Características	N = 109
Sexo (M/H)	61/48
Edad mediana (rango)	68 (26-92)
Diagnóstico (OMS 2017), n (%)	
– LLGG-T	77 (71)
– SLPC-NK	32 (29)
Síntomas, n (%)	3 (3)
Linfocitos $\times 10^9/L$, mediana (rango)	3,9 (0,7-20,2)
LGG $\times 10^9/L$, mediana (rango)	1,52 (0,13-18,98)
Manifestaciones hematológicas, n (%)	
– Neutrófilos $< 2,5 \times 10^9/L$	60 (55)
– Neutrófilos $< 0,5 \times 10^9/L$	3 (23)
– Hemoglobina < 120 g/L	30 (28)
– Hemoglobina < 80 g/L	1 (1)
– Plaquetas $< 130 \times 10^9/L$	18 (17)
– Plaquetas $< 50 \times 10^9/L$	3 (3)
LDH > 450 UI/L, n (%)	22 (20)
Enfermedad autoinmune, n (%)	19 (17)
Hemopatía, n (%)	35 (32)
– Gammapatía monoclonal	17 (49)
– LNH	10 (28)
– SMD/LMA	5 (14)
– Otras	3 (9)
Tumor sólido, n (%)	17 (16)
Trasplante alogénico, n (%)	7 (6)
Trasplante órgano sólido, n (%)	3 (3)
Inmunofenotipo LLGG-T, n (%)	
– CD8+/CD4-	54/77 (70)
– CD4+/CD8+	16/77 (21)
– CD4+/CD8-	4/77 (5)
– CD4-/CD8-	3 (4)
Infiltración BMO, n (%)	22/25 (88)
– Intersticial	15/22 (68)
– Intrasinusoidal	2/22 (9)
– Otros	5/22 (23)
Mutación STAT3, n (%)	19/95 (20)
– Y640F	8/19 (42)
– D661Y	8/19 (42)
– Otras	3/19 (16)
Tratamiento, n (%)	16/109 (15)
– Metotrexato	12/16 (75)
– Ciclofosfamida	1/16 (6)
– Ciclosporina A	2/16 (13)
– CHOP	1/16 (6)
Respuesta, n (%)	
– Respuesta hematológica completa	4/16 (25)
– Respuesta hematológica parcial	4/16 (25)
– No respuesta	7/16 (44)
– No datos	1/16 (6)

LNH: linfoma no Hodgkin; LMA: leucemia mieloide aguda; SMD: síndrome mielodisplásico; BMO: biopsia de médula ósea; CHOP: ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, prednisona; LGG: linfocitos grandes granulares; respuesta hematológica completa: normalización de citopenias; respuesta hematológica parcial: mejoría de las citopenias sin alcanzar la normalización.

utilizado en primera línea, con una tasa de respuesta hematológica completa del 25%. Tras una mediana de seguimiento de 5 años, 6 pacientes fallecieron. La supervivencia global a los 5 años fue del 92% (IC 95%: 86-98) sin observarse diferencias respecto al estado mutacional de STAT3.

Conclusiones: La LLGG-T y el SLPC-NK son entidades poco frecuentes cuyas principales manifestaciones son las citopenias. La presencia de mutaciones de STAT3 se asocia a formas más sintomáticas de la enfermedad, con citopenias marcadas. En la actualidad, los tratamientos disponibles consiguen bajas tasas de respuesta, por lo que son necesarias nuevas terapias en estos enfermos.

Tratamientos antitrombóticos

SP-02 Análisis de CM352 frente a concentrado de complejo protrombínico en modelos experimentales de hemorragia asociados a anticoagulantes orales

Navarro-Oviedo M.¹, Salicio M.¹, Rabal O.¹, Zandío B.², Oyarzábal J.¹, Páramo J. A.³, Muñoz R.¹, Orbe J.¹

¹Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA). Pamplona. ²Servicio de Neurología. Complejo Hospitalario de Navarra. Pamplona. ³Servicio de Hematología. Clínica Universidad de Navarra. Pamplona

Introducción: La hemorragia intracraneal (HIC) es la complicación más temida de los anticoagulantes orales con tasas de mortalidad del 40-65%. El empleo de los anticoagulantes orales directos (ACOD), antitrombina y anti-Fxa, se ha asociado a una reducción del riesgo de HIC (HR = 0,48 [0,39-0,59]). No existen estrategias para la reversión del efecto de ACOD inhibidores del FXa. Se ha sugerido que las metaloproteasas (MMPs) están implicadas en el sistema coagulación-fibrinólisis. Disponemos de un inhibidor de MMPs (CM352) capaz de controlar el sangrado en modelos experimentales de hemorragia. Se ha determinado el efecto antihemorrágico del CM352 en presencia de warfarina y Rivaroxabán, así como el papel de la MMP10 en un modelo experimental de HIC.

Métodos: Se ha utilizado el modelo de hemorragia en cola y el de HIC inducido por colagenasa en ratones salvajes (C57Bl6J) anticoagulados con warfarina (oral, 2 mg/kg, 24 h) y Rivaroxabán (oral, 3 y 10 mg/kg, 1 h antes de la hemorragia). El tratamiento con CM352 (1 mg/kg) o salino se realizó 5 min antes de la escisión de la cola y se determinó el tiempo de sangrado. En el modelo de HIC, el tratamiento con CM352 (1 mg/kg) y concentrado de complejo protrombínico (CCP, 500 UI/kg) se realizó 30 min después de la inyección de colagenasa (0,3 U) y se analizó el volumen de hemorragia a las 24 h mediante tinción con diaminobencidina. Se incluyeron los animales con un INR = 2,3-5 y una actividad anti-Fxa < 3 mU. Finalmente, se realizó el modelo de HIC en ratones deficientes en MMP10 (Mmp10^{-/-}). También se midieron los niveles plasmáticos de IL-6 como marcador de inflamación sistémica a las 24 h.

Resultados: El tratamiento con CM352 redujo un 75% y un 60% el tiempo de sangrado en los animales anticoagulados con rivaroxabán (p < 0,001) y warfarina (p < 0,01). En el modelo de HIC, el CM352 fue tan eficaz como el CCP reduciendo el volumen del hematoma en los animales anticoagulados con rivaroxabán (p = 0,001). El tratamiento con CCP redujo el volumen del hematoma en presencia de Rivaroxabán y warfarina (p < 0,01 y p < 0,05). Finalmente, los ratones Mmp10^{-/-} presentaron un menor volumen del hematoma (5,7 ± 1,4 vs 3,8 ± 2,0 mm³, p = 0,041) y menores niveles de IL-6 (33,8 ± 9,0 vs. 21,8 ± 5,8 pg/mL, p = 0,036) que no se modificaron tras el tratamiento con CM352.

Conclusiones: La inhibición de MMPs con CM352 es efectiva en el control de la hemorragia leve en presencia de warfarina y Rivaroxabán, y muy efectiva en la HIC inducida por rivaroxabán. Este efecto beneficioso es dependiente de la inhibición de la MMP10, por lo que proponemos la MMP10 como un factor clave en el control clínico de la hemorragia aguda asociada a anticoagulantes.

Financiación: Ministerio de Economía y Competitividad PI15/01807, Programa de la Unión Europea FEDER; Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia (SETH); Gobierno de Navarra (02/2015) y Fundación Patrimonio Praga.

Leucemias agudas

SP-03 Estudio del perfil mutacional y correlación de respuesta a test farmacológico *ex vivo* en el diagnóstico de la LMA

Onecha de la Fuente E.¹, Ruiz-Heredia Y.², Linares Gómez M.¹, Rojas J.², Ballesteros J.², Llop García M.³, Rapado I.⁴, Sánchez Vega L.⁴, Gallardo Delgado M.⁴, Barragán González E.³, Montesinos Fernández P.³, Martínez López J.⁴, Ayala Díaz R.⁴

¹Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO). Madrid. ²Vivia Biotech. Madrid. ³Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia. ⁴Hospital Universitario 12 Octubre. Madrid

Introducción: La información combinada del perfil mutacional mediante NGS y la respuesta a ensayos farmacológicos *ex vivo* podrán ser útiles en la clasificación pronóstica de los pacientes con LMA, anticipando al fracaso terapéutico.

Métodos: Se analizó muestras de médula ósea de 190 pacientes de LMA en el diagnóstico tratados según protocolos PE-THEMA: esquema 3+7 (n = 149), esquema Fluga (n = 26), soporte (n = 6), y ensayos clínicos (n = 18). El perfil mutacional se estudió mediante NGS (Ion Torrent Proton) usando un panel de 32 genes (región codificante completa) implicados en patologías mieloides: ASXL1, CBL, DNMT3A, EPOR, ETV6, EZH2, FLT3, HRAS, IDH1/2, JAK2, KDM6A, KIT, KRAS, SH2B3, KMT2A, MPL, NRAS, PHF6, PRPF40B, PTEN, RUNX1, SF1, SF3A1/B1, SRSF2, TET2, TP53, U2AF1, VHL, ZRSR2 y CALR. 74 de los 190 pacientes se analizaron mediante el test farmacológico *ex vivo*, usando una plataforma automatizada basada en citometría de flujo, PharmaFlow, testando 8 concentraciones seriadas de drogas antineoplásicas. El análisis de NGS se realizó mediante RUBioSeq.

Las diferencias de medias de los experimentos *ex vivo* se realizaron con el test no paramétricos. El análisis de supervivencia se realizó mediante Kaplan-Meier (log rank). Los parámetros farmacodinámicos obtenidos fueron: E0 = nivel basal, Emax = eficacia y EC50 = potencia. Los datos de EC50 fueron normalizados fijando Emax = 1, generando así un modelo optimizado y comparable donde siempre se alcance el efecto máximo, amortiguando la variabilidad individual y experimental entre fármacos.

Resultados: Las curvas dosis respuesta muestran que los pacientes son más sensibles a idarubicina (EC50media=0,05) y panobinostat (EC50media=0,03), mientras que los fármacos a los que se asocia peor respuesta son decitabina (EC50media =4693) y busulfán (EC50media = 525). Se detectó una alta variabilidad de respuesta entre los distintos fármacos por cada paciente, des-

tacando un grupo de pacientes con peor respuesta a Citarabina y alta respuesta a Idarubicina (Fig. 1). Se observaron diferencias significativas entre pacientes mutados y no mutados en función de respuesta a fármacos (Tabla I). Mediante Kaplan-Meier se seleccionaron marcadores de pronóstico adverso en pacientes con mutaciones en TP53 (HR = 2,9; p < 0,001), U2AF1 (HR = 4,1; p = 0,001), KMT2A (HR = 3,1; p = 3.12), EZH2 (HR = 2,4; p = 0,027) y ETV6 (HR = 2,9; p = 0,037).

Conclusiones: La secuenciación masiva de alta profundidad podría establecer el perfil mutacional de los pacientes con LMA, que en combinación con el test farmacológico *ex vivo* podría ser capaz de predecir la respuesta al tratamiento de inducción y orientar la terapia de forma individualizada.

Estudio financiado por el ISCHII (P113/02387–P116/01530).

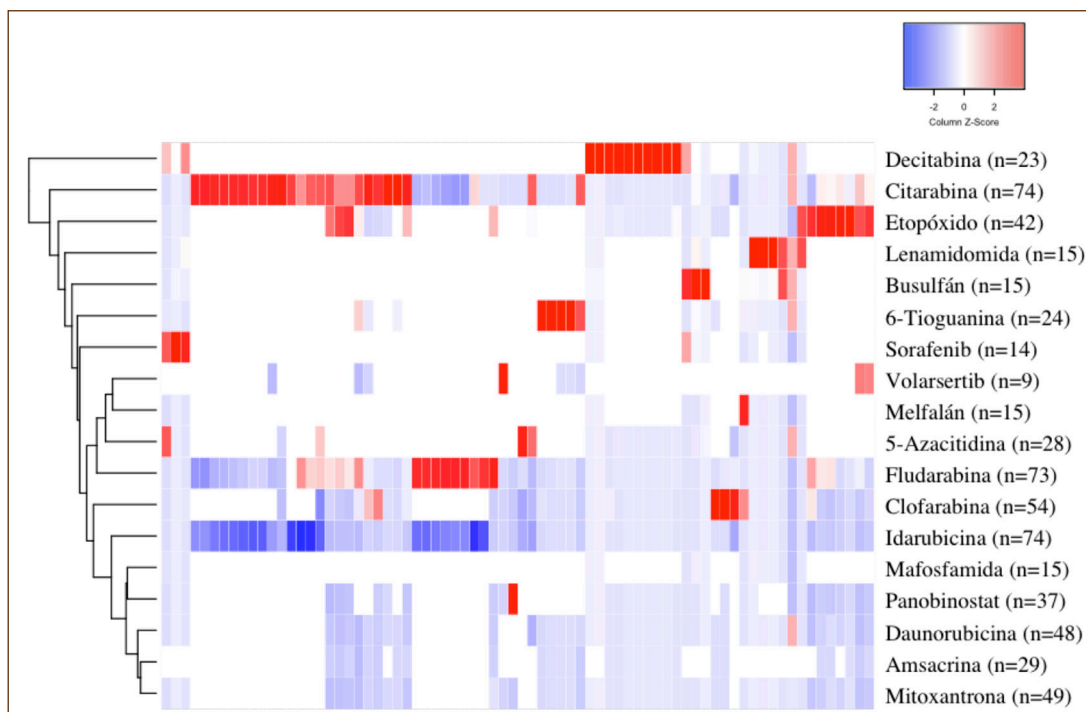


Figura 1. Mapa de respuesta a fármacos. Representación de los pacientes por filas y los fármacos ensayados por columnas; Decitabina (n = 23), Citarabina (n = 74), Etopósido (n = 42), Lenamidomida (n = 15), Busulfán (n = 15), 6-thioguanina (n = 24), Sorafenib (n = 14), Volasertib (n = 9), Melfalán (n = 15), 5-azacitidina (n = 28), Fludarabina (n = 15), Clofarabina (n = 54), Idarubicina (n = 74), Mafosfamida (n = 15), Panobinostat (n = 37), Daunorubicina (n = 48), Amsacrina (n = 29) y Mitoxantrona (n = 49).

Tabla I. Diferencias de medias de EC50 entre grupos de pacientes mutados y no mutados									
	Gen	Ida	Eto	Dauno	6~thio	5~aza	Pan	Mit	Ams
Mayor sensibilidad	KMT2A	0,031	0,048						
	FLT3-SNV				0,033	0,011			0,030
	FLT3-ITD			0,0005			0,035		0,036
	NPM1							0,042	0,014
Menor sensibilidad	TP53			0,027				0,039	
	U2AF1				0,048				0,029
	EZH2	0,021		0,041				0,041	

Se presenta p valor cuyas diferencias de media entre grupos son significativas.
 Ida: Idarubicina; Eto: etopósido; Dauno: Daunorubicina; 6-thio: 6-thioguanina; 5-aza: 5-azacitidina; Pan: Panobinostat; Mit: Mitoxantrona; Ams: Amsacrina.

Gammopatías monoclonales

SP-04 Eficacia de la inhibición simultánea de las proteínas antiapoptóticas MCL-1 (S63845) y BCL-2 (venetoclax) en mieloma múltiple

Algarín E. M.¹, San-Segundo L.¹, Hernández-García S.¹, González-Méndez L.¹, Martín-Sánchez M.¹, Mogollón P.¹, Díaz-Tejedor A.¹, Benayas B.¹, Schoumacher M.², Banquet S.², Kraus-Berthier L.², Kloos I.², Halilovic E.³, Maacke H.⁴, Gutiérrez N. C.¹, Mateos M. V.¹, Paíno T.¹, Garayoa M.¹, Ocio E. M.¹

¹Hospital Universitario de Salamanca (IBSAL). Centro de Investigación del Cáncer (IBMCC-CSIC-USAL). Salamanca, España. ²Institut de Recherches Servier. Suresnes, Francia. ³Novartis Institutes for Biomedical Research. Cambridge, Estados Unidos. ⁴Novartis Institutes for Biomedical Research. Basel, Suiza

Introducción: Venetoclax, un inhibidor de BCL-2, ha demostrado recientemente ser eficaz en mieloma múltiple (MM), principalmente en pacientes con la translocación t(11;14). Sin embargo, MCL-1, otro miembro de esta misma familia, parece ser más importante en la patogénesis del MM.

Objetivo: El objetivo principal de este trabajo es estudiar la eficacia y el mecanismo de acción de S63845, un nuevo inhibidor de MCL-1 (MCL1i), actualmente en evaluación en ensayos fase I, solo y en combinación con Venetoclax (BCL2i), en modelos preclínicos *in vitro* e *in vivo* de MM.

Métodos: S63845 fue proporcionado por Servier. La actividad *in vitro* de MCL1i y de BCL2i solos y en combinación fue evaluada sobre diferentes líneas celulares de MM. El índice de combinación (IC) fue calculado con el *software* Calcsyn utilizando MTT. Cuatro líneas celulares con diferente sensibilidad a MCL1i (MM.1S, JLN3, KMS12-BM y NCI-H929) fueron elegidas para los estudios de mecanismo. Los efectos sobre la apoptosis y el ciclo celular se evaluaron por citometría de flujo. Los niveles de expresión de las proteínas de la familia BCL-2 se analizaron por western blot. El mecanismo de acción se estudió mediante ensayos de inmunoprecipitación. Finalmente, los estudios *in vivo* se realizaron utilizando un modelo de plasmocitoma subcutáneo en ratones CB17-SCID y un modelo diseminado en ratones BRG.

Resultados: S63845, mostró un fuerte efecto antitumoral dependiente de la dosis en las nueve líneas celulares de mieloma, con IC50 a las 48 horas entre 2.6 y 465 nM. La sensibilidad a S63845 fue independiente de las alteraciones genéticas y la expresión basal de los diferentes miembros de la familia BCL-2. Aunque el cocultivo con células mesenquimales estromales aumentó la expresión de MCL1, S63845 permaneció activo en estas condiciones. El tratamiento con S63845 no produjo cambios en el ciclo celular, pero sí provocó la permeabilización de la membrana mitocondrial induciendo así muerte celular por apoptosis. S63845 no modificó significativamente los niveles de MCL-1 u otras proteínas de la familia BCL-2 en las líneas celulares MM.1S y KMS12-BM. Sin embargo, experimentos de inmunoprecipitación realizados en las líneas celulares MM.1S, JLN3, NCI-H929 y KMS12-BM mostraron que S63845 impedía la interacción

MCL-1/BIM. Además, se observó un incremento compensatorio de la interacción BCL-2/BIM en las dos líneas celulares menos sensibles, MM.1S y JLN3, tratadas con S63845, lo que sugiere un mecanismo de escape de estas células. Por otro lado, el inhibidor de BCL-2 venetoclax ejerció el efecto contrario, inhibió la interacción BCL-2/BIM e incrementó de manera compensatoria la unión de MCL1 a BIM. Atendiendo a estos resultados, nos planteamos la hipótesis de que la inhibición simultánea de las interacciones MCL-1/BIM y BCL-2/BIM podría resultar en una significativa potenciación de cada uno de los fármacos. Así, la combinación de S63845 (MCL1i) + venetoclax (BCL2i) fue muy sinérgica obteniéndose IC entre 0.1 y 0.4 en las líneas celulares MM1S, JLN3, KMS-12.BM y NCI-H929. Además, la triple combinación incluyendo dexametasona mostró una sinergia aún mayor que la del doble tratamiento en MM.1S y JLN3 (IC < 0,06 y IC < 0,2, respectivamente). Estas combinaciones están siendo evaluadas actualmente en dos modelos murinos de MM, uno de plasmocitoma subcutáneo y otro diseminado (Fig. 1).

Conclusiones: Nuestros datos preclínicos demuestran la potente actividad de la combinación de los inhibidores de MCL1 y BCL2 en el MM y proporcionan la base para el desarrollo clínico de una combinación muy prometedora para pacientes con MM.

Este proyecto ha sido apoyado por Novartis Pharmaceuticals y financiado por los proyectos GRS 1604/A/17, ISCIII-FIS PI15/00067 y ISCIII-FIS PI15/02156.

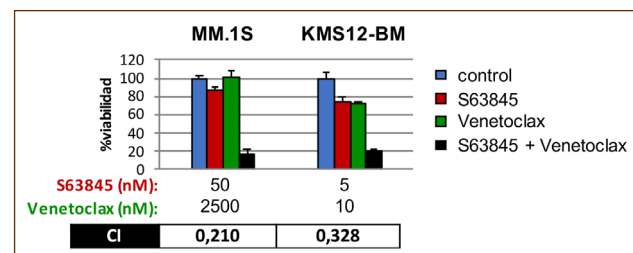


Figura 1.

Conceptos básicos en hemostasia

SP-05 Identificación y caracterización de la anomalía de tráfico intracelular de la forma variante de antitrombina ocasionada por la delección (C.1332_1336delAAGAG) que genera un extremo carboxi-terminal distinto

Toderici M.¹, Bravo-Pérez C.¹, de la Morena-Barrio M. E.¹, Chambers J. E.², Marciniak S. J.², Vicente V.¹, Corral J.¹

¹Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia, España. Centro Regional de Hemodonación. Murcia, España. Universidad de Murcia. IMIB-Arrixaca. CIBERER. Murcia, España. ²Cambridge Institute for Medical Research. Cambridge, Inglaterra

Introducción: La delección C.1332_1336 de la AAGAG en el gen *SERPINC1*, identificada en 5 familias españolas con deficiencia de antitrombina (AT) y episodios recurrentes de trombosis, produce niveles de proteína en plasma inferiores a los esperados en portadores (40%). Estos resultados podrían explicarse por una ganancia de función o dominancia negativa de esta variante, efecto que debe producirse intracelularmente.

Objetivo: Sabiendo que el retículo endoplásmico (RE) juega un papel clave en el control del plegamiento y en el tráfico intracelular de proteínas, el objetivo de nuestro estudio fue caracterizar la respuesta de estrés del RE asociada con la expresión de esta variante empleando nueva metodología de análisis subcelular y funcional.

Métodos: Las secuencias de *SERPINC1* que codifica la AT silvestre y mutada se clonaron, empleando la técnica Gibson Assembly, en un plásmido con un trazador fluorescente (Yellow Fluorescent Protein —YFP—) separado por una secuencia de unión (Gly4Ser)₃. Los plásmidos con inserto, silvestre y mutado, se secuenciaron y se transfectoron en células CHO (Chinese Hamster Ovary) usando Lipofectamina LTX. Para visualizar el tráfico de proteínas secretadas a través de la célula, contranfectamos las células con el plásmido mCherry-ER que contiene un marcador del RE acoplado a un fluoróforo diferente. Este sistema permite realizar el estudio con células vivas, sin ningún tipo de intervención que pueda artefactuar los resultados. Las imágenes fueron tomadas usando un sistema *live cell imaging* mediante microscopía confocal (Zeiss LSM780, Cambridge UK) y la fluorescencia se cuantificó empleando el *software* Zen Blue. El análisis estadístico se realizó mediante el Test exacto de Fisher considerando significación estadística $p < 0,05$.

Resultados: El 76,5% de las células transfectadas con el plásmido YFP-AT silvestre mostraban un RE reticular normal (Figs. 1 y 2), con una expresión moderada y uniforme de la YFP-AT (verde) que colocalizaba con el marcador de RE (mCherry-ER; rojo). Además, se observaba la expresión de YFP-AT en el aparato de Golgi (Fig. 1). En cambio, 24h tras la transfección con el vector YFP-AT-mutada, un 67,5% de las células transfectadas presentaban un cambio significativo en la morfología del RE, que quedaba fragmentado y dilatado (Figs. 1 y 2). La AT mutada formaba, además, inclusiones en el interior del RE, colocalizándose con el mCherry-ER, pero sin alcanzar el aparato de Golgi (Fig. 1). Esta expresión y morfología celular era muy similar a la observada para la variante Z de $\alpha 1$ -antitripsina, una mutación que causa polimerización y retención intracelular de esta serpina (Fig. 1).

Conclusiones: El sistema empleado en este estudio permite evaluar la ultraestructura del RE así como la localización subcelular y el tráfico intracelular de proteínas secretadas en células vivas. Como era esperable, la AT silvestre se localiza en un RE reticular y Golgi, lo que refleja un tráfico celular eficaz. En cambio, la expresión de una variante con extremo C-terminal diferente, resultado de la delección C.1332_1336 de la AAGAG en el gen *SERPINC1* provoca la fragmentación del RE posiblemente por la acumulación de oligómeros de AT mutada en su interior. La proteína mutada no alcanza el aparato de Golgi, lo que explica la deficiencia de AT en los portadores de esta mutación.

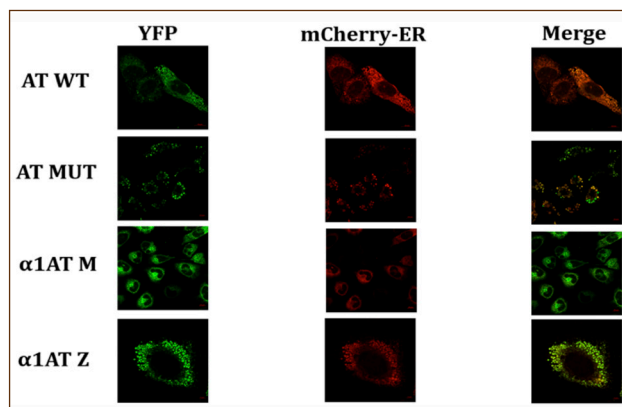


Figura 1.

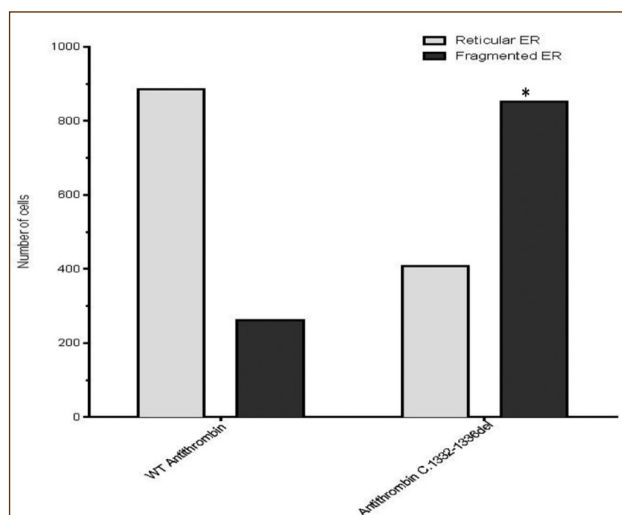


Figura 2.

TERAPIA CELULAR

SP-06 Resultados del ensayo clínico CART19-BE-01 sobre el uso de células ARI-0001 (células CART19 A3B1:CD8:4-1BB:CD3Z) en pacientes adultos y pediátricos con neoplasias CD19+ recaídas/refractarias

Delgado J.¹, Rives S.², Ortiz-Maldonado V.¹, Caballero-Baños M.¹, Castellà M.¹, Boronat A.¹, García Rey E.³, Baumann T.¹, Torredadell M.², Cid J.¹, Lozano M.¹, Llanos C.², Bataller A.¹, Oliver A.¹, Castro P.¹, Jordan I.², Alonso Saladríguez A.², Esteve J.¹, Canals J. M.⁴, Trias E.³, Yagüe J.¹, Urbano Ispizua A.¹, Juan M.¹

¹Hospital Clínic. Barcelona. ²Hospital Sant Joan de Déu. Barcelona. ³Banc de Sang i Teixits. Barcelona. ⁴Universitat de Barcelona. Barcelona

Introducción: El pronóstico de los pacientes con leucemia linfoblástica aguda (LLA), linfoma no Hodgkin (LNH) o leucemia linfocítica crónica (LLC) recaído/refractario es adverso, especialmente en los pacientes que ya han recibido un trasplante hematopoyético, ya sea autólogo (autoTPH) o alogénico (aloTPH). En el último lustro se han desarrollado diversas construcciones de receptores antigénicos quiméricos frente al antígeno CD19 (CAR19) con unos resultados muy prometedores en estos pacientes. De hecho, dos de ellas (tisa-cel y axi-cel) ya han sido aprobadas por la FDA para el tratamiento de LLA y LNH.

Métodos: El ensayo clínico fue aprobado por la AEMPS en mayo/2017 (clinicaltrials.gov NCT03144583). Los criterios de inclusión abarcaban LLA, LNH o LLC CD19⁺ refractaria/recaída sin opciones terapéuticas. El ensayo incluía pacientes pediátricos (excluyendo lactantes) y adultos hasta 80 años. La afectación del SNC se permitía a menos que fuera franca (CNS3). El objetivo primario del estudio era la seguridad del procedimiento, y los objetivos secundarios la tasa de respuestas y su duración (supervivencia libre de progresión), así como la supervivencia de las células ARI-0001 *in vivo*.

Resultados: Con fecha de junio/2018 hemos incluido 27 pacientes en el estudio. De esos, hemos realizado la linfoaféresis a 26 y hemos procesado las células de 24, aunque de momento solo se las hemos infundido a 17. Los diagnósticos de estos 17 pacientes

eran LLA en 13, LNH en 3 y LLC en 1. La edad mediana era 23 (extremos 3-54) años y el 35% de los pacientes eran mujeres. De los 13 pacientes con LLA, 12 habían recaído tras aloTPH, mientras que los 3 pacientes con LNH habían recaído tras autoTPH. Tras acondicionamiento con fludarabina (90 mg/m²) y ciclofosfamida (900 mg/m²) infundimos 0,5-5 × 10⁶ células ARI-0001/kg. Hemos observado 4 (23%) casos de síndrome de liberación de citocinas (SLC) grave y mortalidad relacionada con el procedimiento en 2 (SLC y colitis pseudomembranosa). No hemos tenido neurotoxicidad grave ni casos de edema cerebral. De los 13 pacientes con LLA 11 alcanzaron RC con EMR negativa (2 fallecieron precozmente), pero 1 de ellos ha recaído posteriormente (seguimiento mediano de 127 días). En los pacientes con LNH/LLC hemos documentado RC en 2. Los otros 2 pacientes no respondieron y han fallecido por su linfoma.

Conclusiones: El tratamiento con células ARI-0001 es eficaz con una tasa de respuestas del 84% en LLA y del 50% en LNH/LLC, aunque con un seguimiento corto. También observamos casos de SLC grave en el 23% de los pacientes y una mortalidad relacionada con el procedimiento del 12%, por lo que es importante una monitorización muy cuidadosa.

Financiación: Proyecto ARI, Fundació Gloria Soler, ISCIII, CatSalut.

Comunicaciones orales

Trombosis

CO-146 Déficit de antitrombina en la gestación y en el puerperio. Resultados y prevención de los efectos adversos

Entrena Ureña L.¹, Fernández Jiménez D.², De la Morena Barrio E.³, Corral de la Calle J.³, Jurado Chacón M.¹

¹Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada. ²Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario San Cecilio. Granada. ³Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia. Centro Regional de Hemodonación. Murcia. Universidad de Murcia. Murcia. IMIB Arrixaca. Murcia. CIBERER. Madrid

Introducción: En el embarazo existe un riesgo hasta cinco veces superior de enfermedad tromboembólica. Los factores de

riesgo más importantes son los antecedentes de trombosis y la trombofilia, siendo el déficit de antitrombina (AT) el que asocia mayor riesgo. El tratamiento óptimo de estas mujeres sigue sin definir, ya que los datos son escasos y la mayoría de los casos reportados individuales o de pequeñas series. Aunque se acepta que deben recibir profilaxis, la dosis, duración y tipo sigue siendo controvertida.

Métodos: Estudio retrospectivo a 30 años de gestantes con déficit de AT. Analizamos 118 embarazos en 38 mujeres con diagnóstico de déficit de AT (18 por historia familiar, 4 por hijo con déficit y el resto por cribado de trombofilia por antecedentes personales). La mediana de edad era 29 años (14-43). 10 mujeres tenían factores de riesgo cardiovascular (2 HTA, 1 DL, 1 obesidad y 8 fumadoras) y 15 otras trombofilias (2 déficit de proteína S y 14 RPCa secundarias a FV Leiden heterocigoto). El estudio molecular identificó mayoritariamente mutaciones que causan déficit tipo II: 17 AT Budapest (Leu131Phe) una en homocigosis, 2 AT Toyama (Arg79Cys), 1 AT Basilea (Pro73Leu), 6 AT Glasgow (Arg425His), 1 AT Granada 1 (Asn240Lys); 1 mutación en

Tabla I. Gestaciones con déficit de AT que recibieron tratamiento

G	Tratamiento embarazo	Tratamiento parto	Tratamiento puerperio	Resultado gestacional	Complicaciones
1	HBPM profiláctica	-	-	Aborto precoz	-
2	HBPM profiláctica	HBPM profiláctica	HBPM profiláctica + ACO	Niño vivo	Eclampsia
3	HBPM profiláctica	-	HBPM profiláctica	Niño vivo	CIR
4	HBPM profiláctica	-	HBPM profiláctica	Niño vivo	CIR
5	HBPM profiláctica	-	-	-	Muerte materna
6	HBPM profiláctica	-	HBPM profiláctica	Niño vivo	-
7	HBPM terapéutica	-	HBPM profiláctica	Niño vivo	-
8	HBPM terapéutica	-	-	Aborto precoz	-
9	HBPM terapéutica	HBPM profiláctica + AT	HBPM profiláctica + ACO	Niño vivo	-
10	HBPM terapéutica	HBPM profiláctica + AT	HBPMp + AT + ACO	Niño vivo	-
11	HBPM terapéutica	-	HBPM terapéutica	Niño vivo	-
12	HBPM terapéutica	HBPM profiláctica + AT	HBPM profiláctica	Niño vivo	-
13	HBPM terapéutica	HBPM profiláctica + AT	HBPM terapéutica	Niño vivo	-
14	HBPM terapéutica	HBPM profiláctica + AT	HBPMp + AT + ACO	Niño vivo	-
15	HBPM terapéutica	HBPM profiláctica + AT	HBPMp + AT + ACO	Niño vivo	-
16	HBPM terapéutica	HBPM profiláctica + AT	HBPMp + AT + ACO	Niño vivo	-
17	HBPM terapéutica	HBPM profiláctica + AT	HBPMp + AT + ACO	Niño vivo	-
18	HBPM terapéutica	HBPM profiláctica + AT	HBPMp + AT + ACO	Niño vivo	-
19	HBPM terapéutica	HBPM profiláctica + AT	HBPMp + AT + ACO	Niño vivo	Metrorragia
20	HBPM terapéutica	HBPM profiláctica + AT	HBPMp + AT + ACO	Niño vivo	-
21	HBPM terapéutica	HBPM profiláctica	HBPM terapéutica	Niño vivo	-
22	HBPM terapéutica + AT	HBPM profiláctica + AT	HBPM terapéutica	Niño vivo	-
23	HBPM terapéutica + AT	HBPM profiláctica + AT	HBPM profiláctica + AT	Niño vivo	-
24	HBPM terapéutica + AT	HBPM profiláctica + AT	HBPMp + AT + ACO	Niño vivo	-
25	HBPM terapéutica + AT	HBPM profiláctica + AT	HBPM terapéutica	Niño vivo	-
26	HBPM terapéutica + AT	HBPM profiláctica + AT	HBPM terapéutica	Niño vivo	-
27	HBPM y ACO (12s)	HBPM profiláctica	HBPM profiláctica + ACO	Niño vivo	-
28	HBPM y ACO (12s)	HBPM profiláctica + AT	HBPMp + AT + ACO	Niño vivo	Sangrado cesárea
29	HBPM + AAS	HBPM profiláctica + AT	HBPM terapéutica	Niño vivo	-

el intrón 5 que afecta al procesamiento de intrones (IVS5 -14G > A), 2 AT Granada 2 (Arg391Profs*3); 1 AT Granada 3 (Arg89Ser). Dos casos no presentaban alteraciones en SERPINC1 y en 5 no se realizó el estudio.

Resultados: De 118 embarazos, 89 (2 gemelares) no recibieron tratamiento por diagnóstico posterior del déficit de AT. En estos 89 embarazos hubo 61 recién nacidos vivos, 23 abortos (25%), la mayoría precoces (n = 20) y 7 muertes fetales. Como complicaciones maternas registramos 5 preeclampsias, 3 trombosis en la gestación y 7 en el puerperio. 29 de las gestaciones recibieron tratamiento: 23 heparina de bajo peso molecular (HBPM) terapéutica con control de AntiXa (8 gestaciones recibían previamente Acenocumarol por antecedentes de trombosis) y 6 a dosis profilácticas. Concomitantemente se administró concentrados de antitrombina (Grifols) 50 UI/kg/72 h a 5 pacientes y 2 tomaron Acenocumarol desde la semana 12 de gestación. En el periparto 3 recibieron HBPM y 18 AT asociada a HBPM profiláctica. En el postparto 13 reciben Acenocumarol (10 previa terapia puente con AT y HBPM y 3 solo con HBPM) y 16 HBPM (7 terapéutica, 4 terapéutica con AT y 5 profiláctica). De las 29 gestaciones con tratamiento hubo 26 recién nacidos vivos. Como complicaciones, un aborto precoz con HBPM terapéutica y con profiláctica una eclampsia, 2 CIR y otro aborto precoz. Los efectos adversos al tratamiento fueron sangrado de la herida en una cesárea y una metrorragia. De las 38 pacientes dos fallecieron: una por trombosis masiva de senos y TEP que recibía HBPM profiláctica (previamente anticoagulada) y otra por TEP en el puerperio (solo recibió HBPM ante desconocimiento del déficit de AT) (Tabla I).

Conclusiones: Nuestro estudio muestra una tasa de complicaciones materno fetales en mujeres con déficit de AT superior a la población general, especialmente si no reciben tratamiento (HBPM y/o concentrados de AT) durante el embarazo y puerperio.

CO-147 La neumonía adquirida en la comunidad (NAC) induce activación plaquetaria que se mantiene al menos durante 30 días desde la hospitalización

Latorre A.¹, Méndez R.², Menéndez R.², Gimeno A.², Amará I.², Santos M. T.¹, Piró A.², Vallés J.¹, Montesinos F.¹, Mena B.¹, Bonanad S.², Moscardó A.²

¹Instituto de Investigaciones Sanitarias de La Fe. Valencia. ²Hospital Universitario i Politècnec de La Fe. Valencia

Introducción: La hospitalización por NAC es un factor de riesgo independiente de enfermedad cardiovascular, particularmente en los primeros 30 días de hospitalización, donde el riesgo cardiovascular se multiplica por 4 (Corrales-Medina VF. JAMA 2015;313(3):264-74). No obstante, los estudios sobre activación plaquetaria en estos pacientes son muy escasos, a pesar del conocido papel de las plaquetas en la aterotrombosis y en la inmunidad.

Objetivo: Nos proponemos estudiar de forma secuencial (1, 4/5 y 30 días) marcadores de activación plaquetaria en pacientes con NAC.

Pacientes y métodos: Realizamos un estudio prospectivo en 126 pacientes hospitalizados con NAC. Como controles seleccionamos sujetos sanos sin medicación (n = 20). Como marcadores de activación plaquetaria determinamos mediante citometría de flujo: 1) agregados heterotípicos leucocito-plaqueta (CD45/CD61) y monocito-plaqueta (CD14/CD61), 2) expresión de P-selectina (CD61/CD62) en la superficie plaquetaria. Se realizó el seguimiento clínico de los pacientes durante 30 días.

Resultados: Los pacientes con NAC muestran al ingreso una significativa elevación de todos los marcadores de activación plaquetaria valorados con respecto a sujetos sanos (Fig. 1). Al 4/5 día encontramos un mayor incremento en la activación plaquetaria especialmente la monitorizada por los agregados leucocito-plaqueta y monocito-plaqueta. Finalmente, a los 30 días, pese a estar

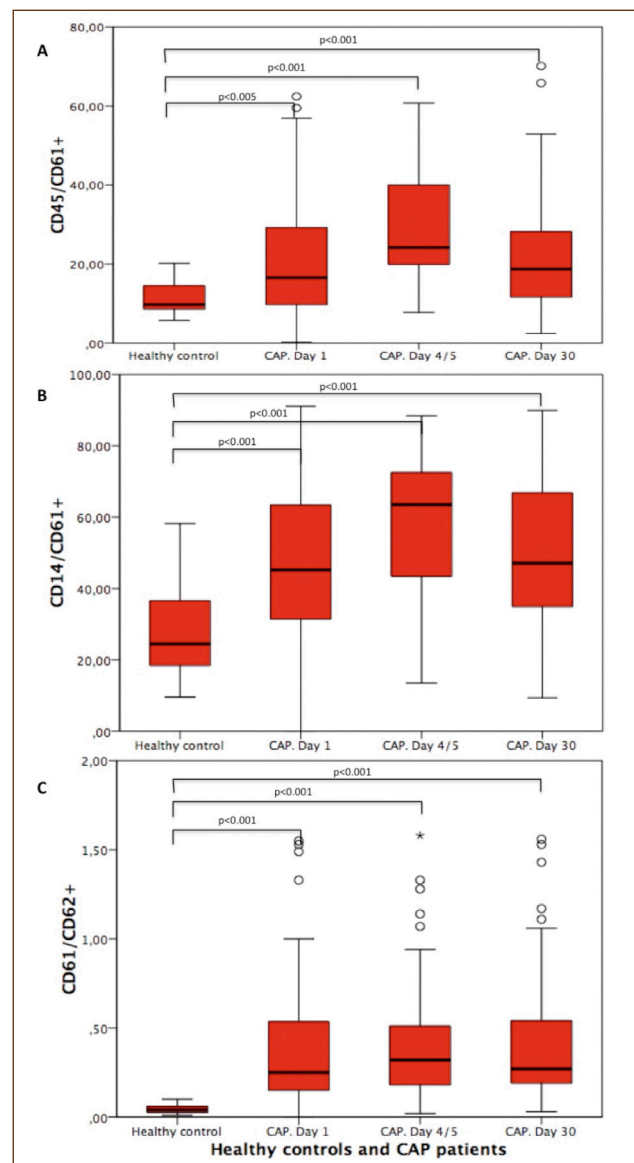


Figura 1.

la neumonía ya resuelta permanece una significativa elevación de los tres marcadores de activación plaquetaria.

Conclusiones: La neumonía adquirida en la comunidad induce activación plaquetaria en los primeros días, activación que permanece a tiempos más largos (30 días) cuando la neumonía ya está resuelta. Esta activación plaquetaria mantenida en el tiempo puede tener importantes implicaciones en las complicaciones cardiovasculares a largo plazo asociadas a la neumonía.

CO-148 La presencia de subpoblación de monocitos tipo 2 se asocia con patología vascular aterotrombótica

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

¹Clínica Universidad de Navarra. Pamplona. ²Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA). Pamplona. ³Clínica Universidad de Navarra. Pamplona.

⁴Complejo Hospitalario de Navarra. Pamplona

Objetivo: La aterosclerosis se caracteriza por una inflamación crónica vascular con participación monocitaria. Los monocitos tienen implicación en la progresión aterosclerótica. El objetivo de este estudio es la caracterización de las distintas poblaciones monocitarias en pacientes con factores de riesgo cardiovascular con o sin enfermedad aterotrombótica.

Material y métodos: Estudio transversal que incluyó 102 pacientes consecutivos, edad media: 64,8 años (rango 41-86 años), 68,8% varones. Se determinó el perfil inflamatorio de las células circulantes (EuroFlow Standard Operating Procedure) utilizando un panel de anticuerpos específicos frente a monocitos clásicos (Mon1, CD14 + CD16-) con actividad proinflamatoria; intermedios (Mon2, CD14+CD16+,HLADR+, CD300e+, CXCR4), considerados como los primeros en movilizarse ante estímulos inflamatorios y no clásicos (Mon3, CD14-CD116+, SLAN+), considerados como patrulleros en la circulación. El estudio se realizó con muestras frescas en sangre-EDTA. Contó con la aprobación del comité ético. Se incluyeron tres grupos de pacientes: 17,6% asintomáticos con más de un factor de riesgo cardiovascular, 58,8% sujetos asintomáticos, pero con patología vascular por prueba de imagen, considerando relevantes aquellas placas que ocupaban > 25% de la luz del vaso o microalbuminuria, y un 23,5% de pacientes con algún evento vascular aterotrombótico (cardiopatía isquémica, ictus isquémico, nefropatía o enfermedad arterial periférica). Asimismo, se calculó el riesgo cardiovascular mediante las escalas Framingham y REGICOR y se realizaron curvas ROC (Tabla I).

Resultados: Existieron diferencias entre los monocitos tipo 1 y el riesgo cardiovascular según la escala REGICOR ($r=0,25$, $p=0,016$), así como una asociación entre niveles elevados de monocitos tipo 1 y la presencia de placas ateroscleróticas (tercil 3 OR: 7,31, 95% CI: 1,56-34,36); monocitos tipo 2 y antecedente cardiovascular (tercil 3 OR: 8,91; 95% CI: 1,42-55,79) y monocitos tipo 3 y la presencia de dos o más factores de riesgo cardiovascular (tercil 3 OR: 4,12 95% CI: 1,33-12,78). Los pacientes que han presentado eventos (grupo 3) tienen mayor número de

Tabla I. Distribución del porcentaje de subtipos monocitarios y grupos de riesgo cardiovascular

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
Monocitos 1 (DE)	5,29 (1,2)	5,77 (1,41)	6,61 (1,49)*
Monocitos 2 (DE)	0,15 (0,07)	0,17 (0,1)	0,25 (0,19) [†]
Monocitos 3 (DE)	0,73 (0,4)	0,75 (0,43)	0,84 (0,6)

*Grupo 1 con grupo 3. [†]Grupo 1 con 3 y grupo 2 con 3.

monocitos tipo 1 ($p=0,012$) y tipo 2 ($p=0,019$) que se confirma tras ajustar por edad y sexo. En el análisis post-hoc, las diferencias se encuentran entre los pacientes sintomáticos vs cualquiera de los otros dos grupos (asintomáticos con o sin placa aterotrombótica) en los monocitos tipo 2. Se obtiene un área bajo la curva de 0,72.

Conclusiones: El hecho de que una subpoblación de monocitos tipo 2 permita discriminar entre pacientes sintomáticos y asintomáticos, su análisis puede constituir una novedosa herramienta en la valoración de estos pacientes.

CO-149 Estado protrombótico, activación plaquetaria y netosis en lupus eritematoso sistémico

Monzón Manzano E.¹, Justo Sanz R.¹, Fernández Bello I.¹, Acuña Butta P.¹, García Barcenilla S.¹, Cebanu T.¹, Valor L.², Hernández D.², López-Longo F. J.², Jiménez Yuste V.¹, Butta Coll N.¹

¹Grupo de Coagulopatías y Alteraciones de la Hemostasia. Unidad de Hematología. Hospital Universitario La Paz-IdiPAZ. Madrid. ²Unidad de Reumatología. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid

Introducción: El Lupus Eritematoso Sistémico (LES) es una enfermedad inflamatoria sistémica donde existe un estado protrombótico caracterizado por activación plaquetaria y por un aumento en la generación de trampas extracelulares de neutrófilos (NET).

Objetivo: Evaluar la influencia del daño endotelial, de la activación plaquetaria y de las NET en el estado protrombótico de los pacientes con LES.

Métodos: Se incluyeron 23 pacientes con LES y 23 controles sanos. El daño endotelial se determinó midiendo PAI-1 en plasma por ELISA. La activación plaquetaria se analizó por citometría de flujo (CMF) en plasma rico en plaquetas. La funcionalidad del receptor de fibrinógeno de las plaquetas se determinó en estado basal y estimuladas con ADP (100 μ M) y TRAP (1 mM) empleando el anticuerpo PAC1 y el número de estos receptores con anticuerpos dirigidos contra las subunidades α IIb y β 3. La expresión de P-selectina se evaluó en estado basal y estimulando con TRAP y ADP. La apoptosis se determinó por CMF midiendo la exposición de fosfatidilserina (PS) por medio de la unión de AnexinaV y la actividad de las caspasas -3/7, 8 y 9. Los neutrófilos fueron aislados y estimulados con PMA 100nM, 30 minutos. Por trombinografía automática calibrada (CAT) se evaluó la generación de trombina en presencia de neutrófilos con/sin PMA y con/sin corn

trypsin inhibitor (CTI), en PRP de controles ajustado a 100.000 pts/ μ L, y se estudiaron los parámetros (Fig. 1). Para el análisis estadístico se utilizó GraphPad Prism v5.03.

Resultados:

- Los niveles de PAI-1 estaban aumentados en el plasma de los pacientes con LES (Tabla I).
- Las plaquetas de los pacientes con LES expresaron más P-selectina en condiciones basales pero respondieron peor a la estimulación con agonistas (Tabla I).
- Los neutrófilos de los pacientes con LES aumentaron la generación de trombina en muestras de PRP. Este efecto se inhibió usando CTI (Fig. 2).

Conclusiones:

1. El aumento de PAI-1 en los pacientes con LES indica daño endotelial. La mayor expresión de P-selectina plaquetaria observada en los pacientes podría mediar la interacción de las plaquetas con el endotelio y las células blancas causando inflamación y daño endotelial.

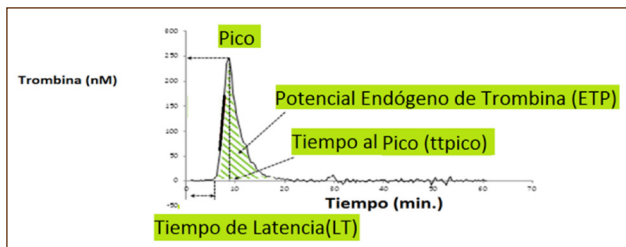


Figura 1. Parámetros del CAT.

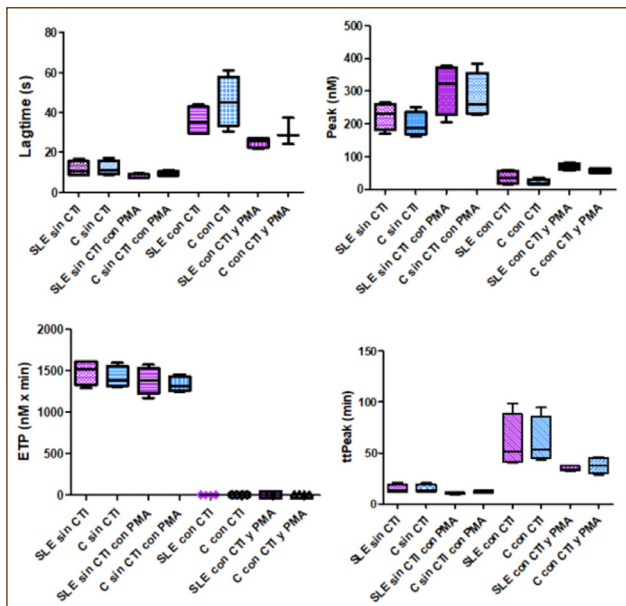


Figura 2. Resultados del CAT al medir la GT con neutrófilos estimulados y no estimulados y en presencia o no de CTI, en PRP ajustado a 100.000 pts/ μ L. En todos los parámetros se observa una tenencia procoagulante cuando el CAT se realiza con neutrófilos de pacientes con LES estimulados con PMA.

Tabla I. Datos expresados como la media \pm DS o la mediana (percentiles 25%-75%) y analizados con las pruebas estadísticas t-Student o U de Mann-Whitney dependiendo de la distribución de los datos

	LES	Controles
PAI-1 (ng/ml)	9,5 (4,75-21,25)*	3,5 (1,25-6,75)
PAC-1 estimulado con TRAP (UA)	2.847 (2.193-4.534)*	4.478 (2.652-5.800)
P-selectina basal (UA)	188,8 (120,1-229,8)*	110,5 (90,15-162,3)

*p < 0,05.
UA: unidades arbitrarias.

2. Las NET intervienen en la generación de trombina a través de la vía de contacto de la coagulación.
3. Los neutrófilos de los pacientes con LES son más susceptibles a ser activados y a liberar NET, las cuales actuarían como andamio para formar el trombo favoreciendo el estado protrombótico de estos pacientes.

CO-150 Impacto de los estados mutacionales relacionados con enfermedad trombótica en pacientes con linfoma

Ortiz J.¹, Bastos M.¹, Pradillo V.¹, Martínez-Laperche C.¹, Menarguez J.¹, Landete E.¹, Salas E.², Rodríguez-Huerta A.³, Díez-Martín J. L.³, Pascual C.³

¹Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. ²Gendiag.Exe. Esplugues de Llobregat, Barcelona. ³Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid

Introducción: La enfermedad tromboembólica venosa (ETE) en pacientes con linfoma es una causa importante de morbimortalidad. Para predecir el riesgo trombótico en pacientes con neoplasia se creó la escala Khorana y más recientemente la escala Throly, específica para linfoma, pero su falta de reproducibilidad sugiere que existen factores que no están teniendo en cuenta. En el último año se ha publicado un nuevo *score*, TiC-Onco (1) (Muñoz Martín AJ, *et al.*), teniendo en cuenta datos clínicos junto a variables genéticas asociadas al riesgo de trombosis. TiC-Onco ha demostrado mayor poder predictivo para predecir ETE en neoplasias sólidas que Khorana. Sin embargo, no hay estudios que definan el papel de estas variantes genéticas en pacientes con linfoma.

Material y métodos: Se trata de un estudio observacional retrospectivo de casos y controles con los pacientes diagnosticados de linfoma en nuestro centro entre 2014 y 2018. El objetivo es valorar el impacto de distintas variables genéticas en la aparición de ETE en pacientes con linfoma. Las variables clínicas recogidas en los pacientes incluidos fueron: IMC, ECOG, inmovilización, catéter venoso central, antecedentes personales de trombosis, terapia antitrombótica previa, histología, Ann Arbor, síntomas B, masa bulky, afectación extranodal y afectación mediastínica (Tabla I). Para el estudio genético utilizamos ADN de médula ósea o sangre periférica. Analizamos mediante PCR cuantitativa basada

Tabla I. Variables clínicas			
		ETEV n (%)	No ETEV n (%)
		n = 22 (48,9)	n = 23 (51,1)
IMC	< 18,5	2 (9,09)	2 (8,7)
	18,5-24,99	7 (31,82)	5 (21,74)
	25-29,99	6 (27,27)	13 (56,52)
	> 30	7 (31,8)	3 (13,04)
ECOG	0	12 (54,54)	16 (69,57)
	1	6 (27,28)	3 (13,04)
	2-4	4 (18,18)	4 (17,39)
Inmovilización > 3 días	Sí	10 (45,45)	10 (43,48)
	No	12 (54,55)	13 (56,52)
Catéter central	Sí	17 (77,27)	17 (73,91)
	No	5 (22,73)	6 (26,09)
Histología	LH	4 (18,18)	5 (21,74)
	LF	2 (9,09)	4 (17,39)
	Linfoma bajo grado-no LF	1 (4,55)	0 (0)
	LBDCG	10 (45,45)	10 (43,48)
	Linfoma alto grado-no LBDCG	5 (22,73)	3 (13,04)
	LPSNC	0 (0)	1 (4,35)
ANN ARBOR	1	1 (4,55)	3 (13,04)
	2	4 (18,18)	2 (8,7)
	3	6 (27,27)	6 (26,09)
	4	11 (50)	11 (47,82)
	5	0 (0)	1 (4,35)
Síntomas B	Sí	12 (54,55)	15 (65,22)
	No	10 (45,45)	8 (34,78)
Masa Bulky	Sí	8 (36,36)	6 (26,09)
	No	14 (63,64)	17 (73,91)
Afectación extranodal	Sí	11 (50)	13 (56,52)
	No	11 (50)	10 (43,48)
Afectación mediastino	Sí	4 (18,18)	1 (4,35)
	No	18 (81,82)	22 (95,65)
Throly	> 3	5 (22,73)	3 (13,04)
	2-3	10 (45,45)	8 (34,78)
	0-1	7 (31,82)	12 (52,18)

IMC: índice de masa corporal; LH: linfoma de Hodgkin; LF: linfoma folicular; LBDCG: linfoma B difuso de células grandes; LPSNC: linfoma primario del sistema nervioso central.

en sondas TaqMan y la plataforma EP1 Fluidigm de Ferrer® las siguientes variables genéticas: F5 rs6025, F5 rs4524, F13 rs5985, SERPINA10 rs2232698. Se utilizaron las escalas de Khorana,

ThroLy y TiC-Onco modificado (TiC-Linfo) y se calculó para cada una la capacidad predictiva para identificar a los pacientes en riesgo de desarrollar ETEV mediante el área bajo la curva ROC (Tabla II). Las variables clínicas fueron comparadas mediante el test Chi-cuadrado comparando las proporciones.

Resultados: Entre 2014 y 2018 se diagnosticaron en nuestro centro 254 linfomas, 33 de ellos han presentado algún episodio de ETEV. De 29 de estos 33 disponíamos de médula ósea o sangre periférica para realizar el estudio genético. Como controles seleccionamos 29 pacientes sin episodio de ETEV pareados por edad, sexo, histología y estadio Ann-Arbor. De los 29 controles y 29 casos, se eliminaron los que recibieron tratamiento trombotoproláctico con ácido acetil salicílico y/o con anticoagulantes. Tras esta eliminación, hemos estudiado 22 pacientes que desarrollaron ETEV y 23 pacientes que no desarrollaron ETEV. Las variables clínicas obtienen un área bajo la curva ROC de 0,670 y las variables genéticas de 0,630, el valor p de la comparación de ambas es $p = 0,74$. En el análisis realizado, el peso de la clínica y de la genética es muy similar y no diferente desde el punto de vista estadístico. TiC-Linfo, que incluye ambos tipos de variables, mostró un área bajo la curva ROC de 0,738 ($p = 0,0019$). Las escalas de Khorana y ThroLy muestran unas áreas bajo la curva ROC no significativas. Esto apoyaría la capacidad de TiC-Linfo para identificar a los pacientes con linfoma que sufrirán un ETEV.

Conclusión: Aunque los resultados aún son preliminares y tienen que confirmarse estudiando un mayor número de pacientes, la presencia de variables genéticas relacionadas con estados de trombofilia puede aportar información relevante sobre el riesgo trombotico de los pacientes con linfoma, ayudando a categorizarlos adecuadamente para administrar una prevención eficaz.

Tabla II. Áreas bajo la curva ROC y significación

Escala	AUC	(95% intervalo de confianza)	p
ThroLy	0,593	(0,436-0,737)	0,265
Khorana	0,525	(0,371-0,675)	0,758
TiC-Linfo	0,738	(0,586-0,858)	0,0019

Bibliografía

- Muñoz Martín AJ, Ortega I, Font C, Pachón V, Castellón V, Martínez-Marín V, et al. Multivariable clinical-genetic risk model for predicting venous thromboembolic events inpatients with cancer. Br J Cancer 2018;118(8):1056-61.

CO-151 Los NET pueden ayudar a estimar el riesgo trombotico en pacientes con cáncer biliopancreático al diagnóstico

Oto J.¹, Larsen A. C.², Plana E.³, Hervás D.⁴, Solmoirago M. J.¹, Fernández-Pardo A.¹, Santillana N.¹, Ponce-Mora A.¹, España F.¹, Navarro S.¹, Kristensen S. R.⁵, Thorlacius-Ussing O.⁶, Medina P.¹

¹Grupo de Investigación en Hemostasia, Trombosis, Arteriosclerosis y Biología Vascul. Instituto de Investigación Sanitaria de La Fe. Valencia, España.

²Department of Gastrointestinal Surgery and Center of Clinical Cancer Research. Aalborg University Hospital. Aalborg, Dinamarca. ³Grupo de Investigación en Hemostasia, Trombosis, Arteriosclerosis y Biología Vascular. Instituto de Investigación Sanitaria y Servicio de Angiología y Cirugía Vascular. Hospital Universitari i Politècnic de La Fe. Valencia, España. ⁴Unidad de Bioestadística. Instituto de Investigación Sanitaria de La Fe. Valencia, España. ⁵Department of Clinical Biochemistry and Department of Clinical Medicine. Aalborg University. Aalborg, Dinamarca. ⁶Department of Gastrointestinal Surgery and Center of Clinical Cancer Research. Department of Clinical Medicine. Aalborg University. Aalborg, Dinamarca

Introducción: El tromboembolismo venoso (TEV) es una complicación frecuente en pacientes oncológicos, que causa una mayor morbilidad y mortalidad en estos pacientes. Sin embargo, no existen guías para determinar qué pacientes necesitan ser anticoagulados por presentar un mayor riesgo de TEV. Por ello, son necesarios nuevos biomarcadores capaces de identificar los pacientes con cáncer con alto riesgo de TEV. Los neutrophil extracellular traps (NET) son redes altamente protrombóticas liberadas por los neutrófilos tras su activación, compuestos por DNA, mieloperoxidasa (MPO), calprotectina y nucleosomas, entre otros elementos. Por ello, nuestro objetivo fue evaluar la capacidad de los NET para identificar los pacientes con cáncer biliopancreático con un alto riesgo de desarrollar TEV durante el seguimiento.

Métodos: Reclutamos 125 pacientes con cáncer biliopancreático en un estudio prospectivo. Extrajimos sangre en el momento del diagnóstico y cada 3 meses durante 2 años de seguimiento. En cada muestra de plasma obtenida de los pacientes, cuantificamos diferentes marcadores de NET: DNA (PicoGreen), nucleosomas, MPO y calprotectina (ELISAs específicos). Calculamos la capacidad predictiva de TEV de los NETs con R (v3.5.0).

Resultados: Realizamos un modelo de supervivencia con la Regresión de Cox con una covariable dependiente del tiempo, incluyendo las variables cuantificadas en cada muestra de los pacientes en forma de rango. Obtuvimos que, por cada unidad que aumenta el logaritmo de la concentración de calprotectina, el riesgo de TEV en pacientes con cáncer biliopancreático incrementa 6 veces ($p = 0,009$). La capacidad predictiva de TEV de los demás componentes de NET no fue significativa. Seguidamente, ajustamos un modelo de regresión logística Elastic Net y obtuvimos un modelo predictivo de TEV con la calprotectina como variable predictora ($AUC = 0,77$).

Conclusiones: La concentración de calprotectina al diagnóstico nos permite estimar el riesgo de TEV en pacientes con cáncer biliopancreático. Esta información podría ser de gran utilidad para prevenir los eventos trombóticos en estos pacientes a través de un seguimiento más estrecho y una tromboprofilaxis personalizada.

ISCIII-FEDER (PI12/00027, Red RIC RD12/0042/0029, PI14/00079, PI14/00512, FI14/00269, CPII15/00002, PI17/00495), Generalitat Valenciana (PrometeoII/2015/017, ACIF/2017/138), Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia y OBEL Family Foundation (26145).

CO-152 Grandes alteraciones en SERPINC1 causantes de deficiencia de antitrombina

De la Morena-Barrio B.¹, de la Morena-Barrio M. E.¹, Borràs-Agustí N.², Puurunen Marja K.³, Toderici M.¹, Miñano A.¹, Padilla J.¹, Bravo C.¹, Vidal F.², Vicente V.¹, Corrales-Insa I.², Corral J.¹

¹Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia, España. Centro Regional de Hemodonación. Murcia, España. Universidad de Murcia. Murcia, España. IMIB-Arrixaca. Murcia, España. CIBERER. Madrid, España. ²Coagulopatías Congénitas. Banc de Sang i Teixits. Barcelona, España. Unitat de Diagnòstic i Teràpia Molecular. Vall d'Hebron Institut de Recerca. Barcelona, España. Universitat Autònoma de Barcelona (VHIR-UAB). Barcelona, España. ³National Heart. Lung and Blood Institute's. The Framingham Heart Study. Framingham, Estados Unidos

Introducción: La deficiencia congénita de antitrombina es la trombofilia hereditaria más grave. Más del 8% de las alteraciones moleculares identificadas en el gen codificante (*SERPINC1*) son grandes deleciones o duplicaciones. En la base de datos de la Human Gene Mutation Database (HGMD) se describen 2 duplicaciones y 25 deleciones de más de 50pb. Estas alteraciones causan deficiencia tipo I y se detectan habitualmente empleando Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) en los casos en los que no se detecta mutación mediante secuenciación en las regiones codificantes del gen.

Objetivos: Definir la incidencia de grandes alteraciones moleculares en *SERPINC1* asociadas a deficiencia de antitrombina, identificar nuevas grandes alteraciones genéticas, evaluar el mecanismo molecular implicado, y establecer el método más adecuado para su correcto diagnóstico molecular.

Métodos: El estudio incluye 385 casos procedentes de dos cohortes (española y finlandesa) con deficiencia de antitrombina (anti-FXa < 80% en al menos dos determinaciones). Se realiza la caracterización funcional y bioquímica mediante sustratos cromogénicos, ELISA, electroforesis y Western blot. El análisis genético incluyó: PCR y secuenciación de Sanger, MLPA, secuenciación de todo el gen por PGM; y Long Range PCR (LR-PCR) con 4 amplicones que cubren las 18,5 kb del gen para su fragmentación y secuenciación (MiSeq).

Resultados: El estudio se realizó en los 45 casos sin mutaciones en *SERPINC1* tras secuenciación por Sanger de los 7 exones y regiones flanqueantes. El estudio por MLPA identificó 13 grandes alteraciones: 5 deleciones completas, 7 deleciones parciales y una duplicación parcial (Tabla I). El estudio por LR-PCR y secuenciación masiva no identificó la mayoría de las deleciones que afectan los exones 1 o 7 detectadas por MLPA (Tabla I). Sin embargo, este método identificó 2 duplicaciones y una deleción que no se detectaban por MLPA y mostró resultados contradictorios con los obtenidos por MLPA en dos casos (Tabla I). Las alteraciones identificadas por LR-PCR se confirmaron empleando oligonucleótidos específicos. La secuenciación masiva del gen con PGM no detectó ninguna gran alteración (Tabla I). Las zonas más expuestas a grandes alteraciones génicas en *SERPINC1* implican al exón 6 y la zona promotora (Tabla I). La caracterización del punto de ruptura

Tabla I	MLPA	PGM	LR-PCR MiSeq	Alus implicadas
Delección del gen completo (exones 1-7) (n = 5)	Sí	No	No	ND
Delección exones 1-6	Sí	No	No	ND
Delección exones 1-5	Sí	No	No	ND
Delección exones 2-7	Sí	No	No	ND
Delección exones 1-2	Sí	No	Sí	Sí
Delección exones 1-2	Delección exón 1	No	Sí	No
Delección exones 2-5	Sí	No	Sí	ND
Delección exón 4	Sí	No	Sí	ND
Delección intrón 1	No	No	Sí	No
Duplicación exones 1-5	Duplicación exones 2, 3 y 5	No	Sí	Sí
Duplicación exón 6 (n = 2)	No	No	Sí	Sí

pudo realizarse en 6 casos, 2 deleciones y 3 duplicaciones parciales del gen, e implicaba secuencias Alu en 4 casos.

Conclusiones: Este es el mayor estudio de grandes alteraciones en SERPINC1 realizado en pacientes con deficiencia de antitrombina. El diagnóstico de estas alteraciones debe considerarse en pacientes con deficiencia de antitrombina ya que pueden afectar al 4% de los casos. Estas alteraciones se identifican en más de un tercio de los casos con deficiencia de antitrombina sin mutaciones en las regiones codificantes del gen. El empleo complementario de MLPA y LR-PCR-NGS permite un mejor diagnóstico de estos

pacientes. Las grandes alteraciones en SERPINC1 son heterogéneas, tanto en efecto final (la mayoría son deleciones, pero también identificamos 3 duplicaciones diferentes), como en tamaño (desde varias kb a 153 pb). El exón 6 y la zona promotora son las zonas más afectadas por la alta concentración de secuencias Alu que las flanquean, una secuencia repetitiva dispersa en el genoma y frecuente en SERPINC1 (Fig. 1), implicada en la aparición de grandes alteraciones genéticas en otros genes.

Financiación: ISCIII-PI15/00079; Fundación Séneca-19873/GERM/15.

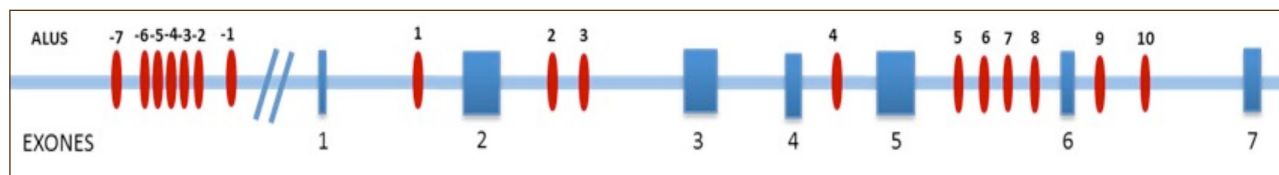


Figura 1.

CO-153 SDF1 y MMP12, nuevos biomarcadores inflamatorios de enfermedad aterotrombótica

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

¹Clínica Universidad de Navarra. Pamplona. ²Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA). Pamplona. ³Complejo Hospitalario de Navarra. Pamplona

Objetivo: La inflamación juega un papel clave en todas las etapas de la aterosclerosis. El eje SDF1/CXCR4 controla la homeostasis y tráfico celular, habiéndose documentado su papel en el control de la aterosclerosis debido a la preservación de la integridad vascular. SDF1/CXCR4 no solo se expresa en células

progenitoras, sino también en células endoteliales, músculo liso y leucocitos. La MMP12 es una endoproteasa revestida de zinc de tipo metalo-elastasa, se ha visto que tiene funciones en la degradación de la matriz extracelular y la proliferación de músculo liso vascular. El objetivo de este estudio es valorar el papel de SDF1 y MMP12 como biomarcadores de riesgo aterotrombótico.

Material y métodos: Estudio transversal en el que se incluyeron 135 pacientes consecutivos, edad media: 65,9 años (rango 34-88 años), 70,4% varones. En todos ellos se determinaron parámetros de riesgo cardiovascular e historia de eventos clínicos aterotrombóticos (infarto de miocardio, ictus isquémico, enfermedad arterial periférica y nefropatía). Un 71,3% sujetos estaban asintomáticos y 28,7% sujetos tenían antecedentes de evento vascular aterotrombótico. En todos ellos se determinó SDF1 y MMP12 mediante técnica ELISA en muestra de plasma EDTA

doble centrifugado. El estudio se realizó a través de muestras de Biobanco (Universidad de Navarra) y contó con la aprobación del Comité Ético.

Resultados: Se objetivaron diferencias en los niveles de SDF1 entre individuos asintomáticos y los que habían tenido eventos cardiovasculares siendo mayor en el grupo de pacientes con patología cardiovascular (media 2353 ± 509 pg/mL frente a 28.436 ± 8.108 pg/mL; $p < 0,001$). Los niveles de SDF1 circulante estaban más elevados en los sujetos con nefropatía ($p < 0,001$), cardiopatía isquémica ($p = 0,016$) e ictus isquémico ($p = n.s.$), tras ajustar por ajustados edad, sexo y tratamientos. Existe una correlación positiva entre SDF1 e índice de masa corporal ($r = 0,2$, $p = 0,017$) y con niveles de PCR ($r = 0,23$, $p = 0,01$) y negativa con tensión arterial diastólica ($r = -0,25$, $p < 0,005$). Se objetivaron diferencias en las concentraciones de MMP-12 entre sintomáticos y asintomáticos (media 483 ± 353 pg/mL vs 703 ± 585 pg/mL; $p = 0,004$), se encontraron más elevadas en pacientes con nefropatía ($p = 0,02$) e hipertensión arterial ($p = 0,016$) ajustados por edad, sexo y tratamientos. Existe una correlación positiva entre MMP12 e índice de masa corporal ($r = 0,23$, $p = 0,008$), con las plaquetas ($r = 0,21$, $p = 0,02$) y con el nivel de PCR ($r = 0,18$, $p = 0,049$), e inversa con tensión arterial diastólica ($r = -0,17$, $p = 0,04$).

Conclusiones: SDF1 y MMP12 se proponen como nuevos biomarcadores inflamatorios de enfermedad aterotrombótica. La expresión aumentada de SDF1 circulante en pacientes con enfermedad clínica vs subclínica, constituye asimismo a ser una nueva diana terapéutica.

CO-154 Primera mutación en *SERPINC1* que eliminando un sitio de n-glicosilación causa una deficiencia transitoria de antitrombina con alto riesgo trombotico debido a un efecto dominante negativo

De la **Morena-Barrio M. E.¹**, **Toderici M.¹**, de la **Morena-Barrio B.¹**, **Bravo-Pérez C.¹**, **Revilla N.¹**, **López-Gálvez R.¹**, **Iversen N.²**, **Miñano A.¹**, **Vicente V.¹**, **Corral J.¹**

¹Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia, España. Centro Regional de Hemodonación. Murcia, España. Universidad de Murcia. Murcia, España. IMIB-Arrixaca. Murcia, España. CIBERER. Madrid, España. ²Department of Medical Genetics. Oslo University Hospital. Oslo, Noruega

Introducción: La antitrombina es el principal anticoagulante endógeno. Para su eficiente mecanismo inhibitorio requiere de la activación por heparina y de una estructura flexible. Posee 4 sitios de N-glicosilación (Asn-X-Ser/Thr), uno (Asn167) cuya glicosilación alternativa es responsable de las dos glicofomas detectadas en plasma: alfa, con 4 N-glicanos y mayoritaria en sujetos sanos (90%) y beta, con 3 N-glicanos que presenta mayor afinidad por heparina. Solo se ha identificado una variante que elimina un sitio de N-glicosilación, p.As167Thr, y aunque la forma beta aumenta significativamente en portadores, no se describen consecuencias tromboticas (Bayston, *et al.* Blood 1999).

Métodos: Estudio de 2 familias trombofílicas noruegas no relacionadas. Secuenciación de *SERPINC1*. Expresión en células

HEK-EBNA de antitrombinas recombinantes silvestre y mutadas a partir de cDNA silvestre (Thr169) o de cDNA de la forma beta (Ala169). La actividad anticoagulante (anti-FXa y anti-FIIa) y características electroforéticas de la antitrombina plasmática o recombinante se analizaron empleando métodos cromogénicos y *western-blotting*.

Resultados: Las dos familias presentaron eventos tromboticos recurrentes y tempranos. El estudio de trombofilias solo detectó una deficiencia transitoria de antitrombina (muestras con 50% y con valores normales en otros momentos). El estudio de *SERPINC1* detectó la misma variante en heterocigosis en los pacientes de las dos familias: p.As224His. Esta mutación, no descrita previamente, elimina un sitio de N-glicosilación. El análisis de la antitrombina plasmática en muestras con actividad anti-FXa normal de 3 portadores, mostró mayores niveles de la forma con 3 N-glicanos (Fig. 1), sin polímeros o incremento de forma latente, sin mayor sensibilidad conformacional al calor, ni aumento de formas con baja afinidad por heparina. La expresión recombinante de la antitrombina silvestre mostró similar producción de formas alfa y beta (Fig. 2A). La eliminación secuencial de glicanos se asoció con menor secreción de antitrombina silvestre (Fig. 2B).

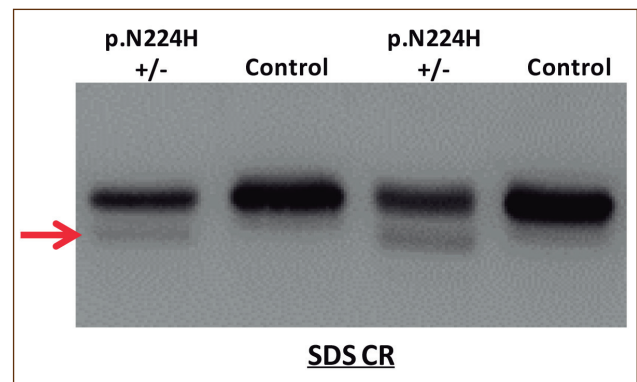


Figura 1.

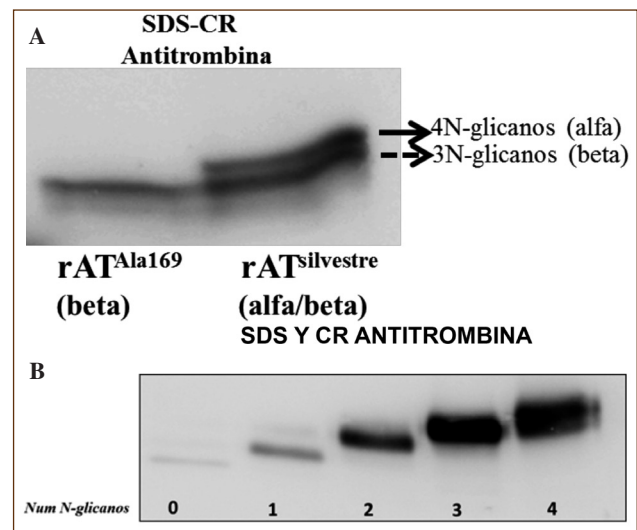


Figura 2.

La eliminación del glicano en posición 224, tanto por la mutación identificada en pacientes (p.Asn224His), como por la mutación p.Thr226Ala en el cDNA silvestre (Thr169), disminuyó ligeramente la secreción de la molécula (Fig. 3) sin afectar su funcionalidad. Sin embargo, la mutación p.Asn224His expresada en el cDNA beta (Ala169, con solo 2 N-glicanos) perdió toda actividad anticoagulante (anti-FXa y anti-FIIa), a diferencia de p.Thr226Ala (Fig. 3). Llamativamente, la variante His224&Ala169 (con 2 N-glicanos y sin actividad anticoagulante) redujo casi la mitad la actividad inhibitoria de la antitrombina silvestre (recombinante o plasmática) in vitro cuando estaban presentes de forma equimolecular y en presencia de heparina.

Conclusión: Identificamos la primera mutación en *SERPINC1* que ocasiona la pérdida de un sitio de N-glicosilación que da lugar a una deficiencia transitoria de antitrombina con muy alto riesgo trombótico. La ausencia de N-glicano en posición 224 no es crucial ni para la secreción ni para la actividad anticoagulante si el resto de secuencias de glicosilación se ocupan. Sin embargo, cuando la posición 167 no se ocupa (glicofoma beta), la forma mutada His224 con solo dos glicanos, se secreta, pero pierde su capacidad anticoagulante y adquiere un efecto dominante negativo, posiblemente secuestrando la heparina.

Financiación: ISCIII-PI15/00079; Fundación Séneca-19873/GERM/15; M-BME contrato FETH.

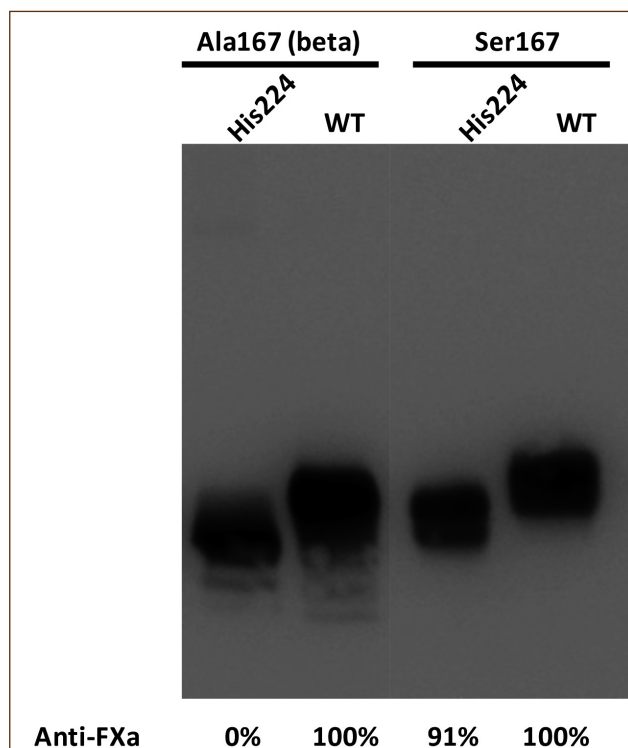


Figura 3.

CO-155 Incidencia de trastornos de glicosilación en deficiencia de antitrombina. Implicaciones terapéuticas

De la Morena-Barrio, M. E.¹, Altisent C.², Toderici M.¹, de la Morena-Barrio B.¹, López-Gálvez R.¹, Bastida J. M.³, Wypasek E.⁴, Miñano A.¹, Asenjo S.⁵, Bravo-Pérez C.¹, Padilla J.¹, Fernández-Caballero M.², Vicente V.¹, Vidal F.⁶, Undas A.⁴, Corral J.¹

¹Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia, España. Centro Regional de Hemodonación. Murcia, España. Universidad de Murcia. Murcia, España. IMIB-Arrixaca. Murcia, España. CIBERER. Madrid, España. ²Unidad de Hemofilia. Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona, España. ³Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Salamanca-IBSAL-USAL. Salamanca, España. ⁴The John Paul II Hospital. Kraków, Polonia. ⁵Unidad de Coagulación. Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza, España. ⁶Coagulopatías congénitas. Banc de Sang i Teixits. Barcelona, España. Unitat de Diagnòstic i Teràpia Molecular. Vall d'Hebron Institut de Recerca. Barcelona, España. Universitat Autònoma de Barcelona (VHIR-UAB). Barcelona, España. CIBER de Enfermedades Cardiovasculares. Barcelona, España

Introducción: El estudio de pacientes con deficiencia de antitrombina sin alteraciones moleculares en *SERPINC1* permitió a nuestro grupo identificar la hipoglicosilación como nueva base molecular de esta grave trombofilia. Por otra parte, un tipo de trastorno de glicosilación congénito (CDG): MPI-CDG, potencialmente subestimado, cuenta con una terapia específica y eficaz, el tratamiento oral con D-manosa.

Objetivo: Definir la incidencia de los trastornos de glicosilación responsables de la deficiencia de antitrombina e identificar posibles terapias al tratamiento sustitutivo.

Métodos: El estudio se realizó en 340 casos no relacionados con deficiencia de antitrombina diagnosticada con método funcional cromogénico (Anti-FXa < 80%), la mayoría con historia personal de trombosis, remitidos de forma consecutiva a nuestro centro durante un periodo de 20 años (1998-2018). El gen *SERPINC1* fue analizado mediante secuenciación (Sanger y/o NGS) y MLPA. Las características electroforéticas (en condiciones desnaturilizantes y nativas) de antitrombina, FXI, FXII y a1antitripsina se analizaron mediante western-blotting. Los niveles de las glicofomas de transferrina se cuantificaron mediante cromatografía líquida de alta presión. La secuencia de los exones de un panel de 74 genes implicados en N-glicosilación se realizó mediante NGS.

Resultados: Quince pacientes (4,4%) presentaban formas hipoglicosiladas de antitrombina detectables en geles desnaturilizantes y nativos. El estudio molecular del gen *SERPINC1* fue normal en todos. El trastorno de N-glicosilación tipo 1 de estos casos se confirmó con la detección de formas hipoglicosiladas de otras proteínas plasmáticas: a1antitripsina, FXI (cuyos niveles también estaban disminuidos) o FXII; y con niveles elevados de asialo y disialo-transferrina. Todos, excepto dos pacientes, presentaron trombosis arteriales o venosas tempranas, y ninguno presentaba historia familiar de trombosis o familiares con deficiencia de antitrombina. Cuatro casos se podrían diagnosticar como CDG

clásicos en base a la presencia de variantes bialélicas en el mismo gen. Destacamos el que podría ser tercer caso ALG13-CDG y el 8.º caso ALG12-CDG descritos en todo el mundo, ambos sin retraso psicomotor pero sí con otras anomalías, especialmente cardiológicas. Especial interés tiene el caso diagnosticado como MPI-CDG causado por la heterocigosis compuesta p.I398T y p.R219Q. Su tratamiento oral con D-manosa (dos dosis de 700mg al día) mejoró los niveles de antitrombina (de 58% a 78%), así como los problemas gastrointestinales derivados de su enfermedad de Crohn, sin efectos adversos ni recurrencia trombótica. Los 11 pacientes restantes solo presentaban una mutación potencialmente deletérea en genes de glicosilación. En 9 casos, bebedores habituales, el trastorno de glicosilación y la deficiencia de antitrombina fueron transitorios.

Conclusiones: Los trastornos de glicosilación son relativamente frecuentes en nuestra cohorte de pacientes con deficiencia de antitrombina (4,4%). Se restringen a los casos sin alteraciones en el gen codificante (SERPINC1) (15/59; 25%). Deben sospecharse si no existe historia familiar de deficiencia de antitrombina y presentan disminución simultánea de otros factores de la coagulación (principalmente FXI). El diagnóstico de este trastorno es relevante ya que puede permitir un tratamiento oral con D-Manosa en los casos identificados como MPI-CDG. Este tratamiento no solo disminuye el riesgo trombótico al corregir los niveles de antitrombina, sino que además beneficia otros sistemas también afectados por el defecto de N-glicosilación.

Financiación: ISCIII-PI15/00079; Fundación Séneca-19873/GERM/15; M-BME contrato FETH.

CO-156 Importancia de las subpoblaciones de micropartículas circulantes en la patología trombótica

Fernández-Pardo A.¹, Martos L.¹, Ponce-Mora A.¹, Solmoirago M. J.¹, Oto J.¹, Plana E.², García-Ortega A.³, Cid A. R.⁴, Haya S.⁴, Bonadad S.⁴, España F.¹, Ramón-Núñez L. A.¹, Medina P.¹, Navarro S.¹

¹Grupo de Investigación en Hemostasia, Trombosis, Arteriosclerosis y Biología Vascul. IIS de La Fe- Hospital Universitari i Politècnic de La Fe. Valencia.

²Grupo de Investigación en Hemostasia, Trombosis, Arteriosclerosis y Biología Vascul. IIS de La Fe. Valencia. Servicio de Angiología y Cirugía Vascul.

Hospital Universitari i Politècnic de La Fe. Valencia. Servicios de ³Neumología, y ⁴Unidad de Hemostasia y Servicio de Hematología. Hospital Universitari i Politècnic de La Fe. Valencia

Introducción: Las micropartículas (MP) son pequeñas vesículas circulantes generadas por múltiples tipos celulares en respuesta a condiciones asociadas con activación celular o daño vascular, y participan en la comunicación intercelular al exponer receptores o ligandos específicos. Las MP circulantes pueden exponer factor tisular (FT) y fosfatidilserina (PS), induciendo un estado prothrombótico.

Objetivo: Nuestro objetivo fue cuantificar las MP circulantes y diferenciar su origen celular en un grupo de pacientes con trombosis y en individuos sanos.

Métodos: Analizamos, por citometría de flujo en un equipo Navios (Beckman Coulter), los niveles de MP totales en el plasma de 30 pacientes con trombosis venosa profunda (TVP) o embolismo pulmonar (EP), y en 30 voluntarios sanos (controles) pareados por edad y sexo. Identificamos las MP como partículas positivas para: Lactadherin-FITC (PS+), CD142-PE (FT+), CD41-PC7 (plaquetas+), CD13-PE (células endoteliales y monocitos+), y con CD201 (EPCR+). Como control de calidad interno utilizamos microesferas (Perfect-Count Microspheres™). Además, correlacionamos el número de MPs obtenido con los parámetros del test de generación de trombina (TGT) y variables analíticas.

Resultados: Al comparar los pacientes con EP y TVP, observamos una disminución en los niveles de MP de origen plaquetar (CD41+/PS+) ($p = 0,0288$) y en las procedentes de otros tipos celulares (CD41-/PS+) ($p = 0,0128$). Lo mismo observamos al comparar los pacientes con EP frente a control, con niveles disminuidos de MP CD41+/PS+ ($p = 0,0365$) y en las MP CD41-/PS+ ($p = 0,0294$). Por el contrario, al comparar pacientes con TVP frente a controles, observamos un aumento en los niveles de MP CD41-/PS+ ($p = 0,0407$). Observamos una correlación entre los niveles de MP CD41+/PS- y CD41-/PS+ con el parámetro ETP (potencial endógeno de trombina) del TGT ($p = 0,0002$ y $p = 0,0165$, respectivamente). Además, los pacientes con EP presentaron mayor ETP que los TVP ($p = 0,0238$) y los controles ($p = 0,0230$).

Conclusiones: Nuestros resultados muestran que el estado procoagulante de los pacientes con EP es diferente al de los pacientes con TVP, si bien se requieren estudios con un mayor tamaño muestral que confirmen nuestros datos. Diversos estudios describen un efecto diferencial de ciertos factores de riesgo trombótico según el evento sea EP o TVP, posiblemente explicado por una etiología diferente para cada tipo de trombosis, por diferencias anatómicas o del sistema circulatorio.

Financiación: ISCIII-FEDER (PI14/00512, PI14/00079, FI14/00269, CPII15/00002, PI17/00495), Generalitat Valenciana (PROMETEOII/2015/017, ACIF/2017/138), IIS La Fe (2014/0718, 2016/0820_VLC-BIOMED).

CO-157 Actualización de mutaciones en el gen de la proteína C (PROC) en un panel de 124 familias españolas con deficiencia de proteína C

Fernández Pardo A.¹, Oto J.¹, López Fernández M. F.², Roldán V.³, Tássies D.⁴, Ibáñez F.⁵, Marco P.⁶, González Porras J. R.⁷, Herrero S.⁸, Lecumberri R.⁹, Iruin G.¹⁰, Velasco F.¹¹, Alonso M. N.¹², Reverter J. C.⁴, Bonadad S.¹, Ferrando F.¹, Costa Pinto M. J.², González López T. J.¹³, Martí E.¹⁴, Oña F.¹⁵, Cuesta I.¹⁶, Martos L.¹, España F.¹, Medina P.¹, Navarro S.¹

¹Grupo de Investigación en Hemostasia, Trombosis, Arteriosclerosis y Biología Vascul. Instituto de Investigación Sanitaria de La Fe. Valencia. ²Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña. A Coruña. ³Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia. Centro Regional de Hemodonación. Murcia.

⁴Hospital Clínic. Barcelona. ⁵Hospital General Universitario de Valencia. Valencia. ⁶Hospital General Universitario de Alicante. Alicante. ⁷Hospital

Clínico de Salamanca. Salamanca. ⁸Hospital Universitario de Guadalajara. Guadalajara. ⁹Clínica Universidad de Navarra. Pamplona. ¹⁰Hospital de Cruces. Bilbao. ¹¹Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (IMIBIC). Córdoba. ¹²Hospital Universitario Infanta Cristina. Badajoz. ¹³Hospital Universitario de Burgos. Burgos. ¹⁴Hospital de Manises. Valencia. ¹⁵Hospital Universitario de Getafe. Getafe, Madrid. ¹⁶Hospital Obispo Polanco. Teruel

Introducción: Actualmente se desconocen las características y bases moleculares de la deficiencia hereditaria de proteína C (defPC) en España. Presentamos una actualización del registro nacional de defPC de la Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia, el cual se realiza en probandos con defPC y sus familiares.

Métodos: Secuenciamos los 9 exones (E) y regiones intrónicas flanqueantes del gen de la proteína C (PROC) en 124 probandos con historia de trombosis venosa, y en 276 familiares.

Resultados: En 96 probandos (77%) encontramos 54 mutaciones diferentes en heterocigosis asociadas a la defPC, 28 de ellas no publicadas. Estas se distribuyen a lo largo de todo el gen: 1 en la región 5'UTR, 1 en el intrón (I) 1, 1 en E2, 1 en I2, 5 en E3, 2 en I3, 7 en E5, 3 en I5, 5 en E6, 1 en I6, 8 E7, 3 en E8, 1 en I8 y 15 en E9. Identificamos 10 mutaciones sinónimas, 33 missense, 6 nonsense, 4 delecciones de 1, 3, 4 y 16 nt que causaron un corrimiento de la pauta de lectura, y 1 inserción de 6 nt. Un 44% de las mutaciones puntuales estaban en dinucleótidos CpG, compatible con un modelo metilación, ya descrito anteriormente. 8 mutaciones se identificaron en 2 familias, 2 en 3, 1 en 4, 2 en 5, 1 en 6, y 2 en 8 familias, todas ellas no relacionadas entre sí. 7 mutaciones causaron defPC tipo II, con presencia de antígeno, pero sin actividad anticoagulante. En dos de ellas hemos comprobado que retienen su actividad citoprotectora, con posibles aplicaciones terapéuticas. Para establecer el punto de corte de niveles de PC por debajo del cual consideramos defPC, estudiamos 436 sujetos sanos y 325 pacientes con trombosis sin defPC (media-2DS, respectivamente). Consideramos defPC niveles < 67% en sujetos sanos y < 63% en pacientes con trombosis. No encontramos mutación en 21 probandos con niveles de PC de 49% a 67% y en 2 bajo anticoagulación oral y niveles < 30%. En estos pacientes estudiamos si existían grandes delecciones o inserciones por MLPA, no identificando ningún caso. 24 familiares de 16 familias con defPC 24 familiares de 16 familias con defPC, con niveles de PC del 51% al 73% no portaban la mutación identificada en el probando. Por el contrario, 22 individuos con presencia de la mutación familiar no presentaban defPC.

Conclusiones: La ampliación del registro nacional de defPC confirma la considerable heterogeneidad de las causas genéticas que producen estas defPC. Este estudio ha proporcionado consejo genético a aquellos pacientes y sus familiares cuyos niveles de PC estaban cerca del límite bajo de normalidad. La inclusión de un ensayo genético permite clasificar a los individuos dentro del grupo normal o con deficiencia, susceptible de transmisión genética, así como analizar con precisión la correlación entre defPC y trombosis.

Financiación: ISCIII-FEDER P112/00027, P114/00079, P114/00512, F114/00269, CPII15/00002, P117/00495; Generalitat Valenciana PrometeoII/2015/017 y ACIF/2017/138; Este trabajo ha sido financiado con una ayuda de la Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia para Grupos de Trabajo.

Diátesis hemorrágica

CO-158 Experiencia en la vida real con AR-TPO para tratamiento de la PTI pediátrica: ¿qué hemos aprendido? ¿Qué podemos mejorar?

Panizo Morgado E.¹, Berruero Moreno R.², Sebastián Pérez E.³, Ponce Salas B.⁴, San Román Pacheco S.⁵, Domínguez Pinilla N.⁶, González Muñiz S.⁷, Pérez Alonso V.⁸, Hong Tam A.⁹, Osuna Marco M.¹, Llorente Otones L.¹⁰, Maldonado Regalado M.¹¹, Hernández García B.¹², Peláez Pleguezuelos I.¹³

¹Hospital Universitario de Móstoles. Móstoles, Madrid. ²Hospital Sant Joan de Déu. Barcelona. ³Hospital Infantil Universitario Niño Jesús. Madrid. ⁴Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. ⁵Hospital General Universitario La Paz. Madrid. ⁶Hospital Virgen de la Salud. Toledo. ⁷Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo. ⁸Hospital Universitario Doce de Octubre. Madrid. ⁹Hospital General Doctor José Molina Orosa. Lanzarote, Las Palmas. ¹⁰Hospital Universitario de Fuenlabrada. Fuenlabrada, Madrid. ¹¹Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid. ¹²Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz. Madrid. ¹³Complejo Hospitalario de Jaén. Jaén

Introducción: La trombocitopenia primaria (PTI) es la causa más frecuente de trombocitopenia en la infancia, con una evolución favorable y autolimitada en la mayoría de los casos. Sin embargo, en ocasiones los pacientes requieren tratamientos de segunda línea con eficacia y efectos secundarios variables. Desde la aparición y aprobación de los análogos de receptores de trombopoyetina (AR-TPO) en el paciente pediátrico, su uso se ha generalizado. Sin embargo, la experiencia es aún limitada. El presente estudio pretende caracterizar el uso AR-TPO en el tratamiento de la PTI en el paciente pediátrico.

Métodos: Estudio multicéntrico, retrospectivo y descriptivo, de pacientes pediátricos que han recibido AR-TPO para el tratamiento de PTI. Se definen las siguientes variables: 1) respuesta: plaquetas > 30x 10⁹/L al menos 2 semanas consecutivas; 2) respuesta mantenida (RM): plaquetas > 30x 10⁹/L durante al menos el 50% del tiempo de tratamiento.

Resultados: Entre marzo de 2010 y diciembre de 2017, 60 pacientes (60% varones; edad media 8,8 años [4,6]) recibieron 70 tratamientos con AR-TPO (56 Eltrombopag, 14 Romiplostim). La mayoría se encontraban en fase crónica (55%), pero también se emplearon en PTI persistente (33%) y de reciente diagnóstico (11,7%). La **tabla I** recoge las características demográficas y clínicas de los pacientes. Cuando existe respuesta al tratamiento con AR-TPO, la elevación de la cifra de plaquetas ocurre con una mediana de 14 días, sin diferencias entre el fármaco utilizado. El 84% de los casos responden en ausencia de terapias de rescate. La tasa de RM es del 72% (aguda: 50%; persistente: 78,6%; crónica: 73,3%), con mayores tasas en pacientes tratados con Eltrombopag (Eltrombopag 75,6%, Romiplostim 40% [p > 0,05]). En un 28,6% de los casos (19,6% Eltrombopag, 64,3% Romiplostim [p < 0,05]) se requiere tratamiento de rescate; en estos pacientes la tasa de respuesta es del 75%, y de RM del 60% (aguda: 50%; persistente: 57%; crónica: 63%). Se observó una reducción sig-

Tabla I. Características demográficas y clínicas de los pacientes

	Total	Eltrombopag (56)	Romiplostim (14)	p*
Edad, media (DS)	8,8 (4,6)	9,04 (4,6)	9,4 (4,15)	n.s.
Sexo, n (%) Masculino	36 (60)	33 (58,9)	11 (78,6)	n.s.
Raza, n (%) Caucásica	50 (83,3)	45 (80,3)	12 (85,7)	n.s.
Fase PTI				n.s.
Aguda	7 (11,7)	5 (8,9)	3 (21,4)	
Persistente	20 (33,3)	18 (32,2)	3 (21,4)	
Crónica	33 (55)	33 (58,9)	8 (57,2)	
Años de evolución, mediana (rango)	1 (0-11)	1 (0-11)	2,05 (0-6)	n.s.
Líneas previas, media (DS)	2,9 (1,06)	3 (1,4)	3,5 (1,31)	n.s.
Esplenectomía, n (%)	7 (11,7)	8 (14,3)	2 (14,3)	n.s.
PQ basales (x 10 ⁹ /L), mediana (rango)	14,12 (10,9)	15,1 (11,25)	8,14 (9,8)	< 0,05

* comparando ambos AR-TPO

nificativa en el grado de hemorragias ($p < 0,05$). En nuestra serie, 11 casos fueron tratados con AR-TPO de forma secuencial, con el mismo o distinto análogo: 64% mejoraron la respuesta previa; 36% no obtuvieron respuesta. Se contabilizaron 56 efectos adversos, 7 de ellos graves (grado > 2): 1 trombosis de seno venoso, 1 TEP, 1 síndrome nefrótico, 1 neutropenia, 2 elevaciones ALT, 1 hematemesis. El tratamiento con análogo se suspendió en 32 casos (45,7%). En el 11,4% el motivo fue la estabilización de las plaquetas, lo que supone que más del 60% de pacientes con plaquetas estables mantienen el tratamiento.

Conclusiones: Los AR-TPO son eficaces y seguros en el tratamiento de la PTI pediátrica en todas las fases de la enfermedad. Eltrombopag parece tener un patrón más favorable, con mejores respuestas mantenidas y menor necesidad de tratamientos de rescate. El tratamiento secuencial con AR-TPO puede ser una opción terapéutica, así como el empleo de tratamientos combinados. En un futuro habrá que definir cómo y cuándo suspender los análogos, así como valorar nuevas pautas de administración, que disminuyan los posibles efectos adversos. Un registro de pacientes con PTI pediátrica podría ayudarnos a un mejor empleo de los AR-TPO.

CO-159 Desarrollo del primer registro español de trastornos plaquetarios congénitos [RETPLAC]

Sánchez-Fuentes A.¹, Gil E.², Pérez F.², Palma-Barqueros V.¹, Cifuentes R.¹, Vicente V.¹, Bastida J. M.³, Lozano M. L.⁴, Rivera Pozo

¹Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia. Centro Regional de Hemodonación. Murcia. Universidad de Murcia. Murcia. IMIB-Arrixaca. Murcia. CB15/00055-CIBERER. Madrid. ²Servicio de Bioinformática. IMIB-Arrixaca. Murcia. ³Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Salamanca. IBSAL. IBMCC. CIC. Universidad de Salamanca-CSIC. Salamanca. ⁴Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia. Centro Regional de Hemodonación.

Murcia. Universidad de Murcia. Murcia. IMIB-Arrixaca. Murcia. CB15/00055-CIBERER. Madrid. En representación del Proyecto Caracterización Funcional y Molecular de Pacientes con TPC del Grupo de Trabajo de Patología Hemorrágica de la Sociedad Española de Trombosis y Hemorrágica (GTPH-SETH)

Introducción: Los registros de enfermedades raras (ER) son una prioridad sanitaria a nivel europeo y la Comisión Europea está impulsando su desarrollo. Nuestro grupo pertenece al Centro de Investigación Biomédica en Red de ER (CIBERER), con un gran interés en desarrollar los registros nacionales de ER, entre ellas los trastornos plaquetarios congénitos (TPC). Con la concesión en 2016 y 2017 de la ayuda del Grupo de Trabajo de Patología Hemorrágica de la Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia (GTPH-SETH) a nuestro proyecto “Caracterización funcional y molecular de pacientes con trastornos plaquetarios congénitos (TPC)”, nos comprometimos a desarrollar el registro nacional de TPC.

Objetivo: Puesta en marcha del Registro Español de Trastornos Plaquetarios Congénitos (RETPLAC).

Métodos: Diseñamos un Cuaderno de Recogida de Datos (CDR) en una plataforma web que incorpora los beneficios de las tecnologías de la web semántica para diseñar, recopilar y explotar bases de datos en proyectos biomédicos. Este CRD incluye:

- Código anonimizado del paciente.
- Datos epidemiológicos: fecha nacimiento, sexo, edad al diagnóstico y diagnóstico.
- Información clínica: sangrado con escala BAT-ISTH, otras manifestaciones clínicas con códigos HPO [human phenotype ontology], consanguinidad y familiares afectos.
- Fenotipo de laboratorio (múltiples visitas): hemograma-frotis, coagulación, función plaquetaria (PFA-100, agregación, inmunofenotipo plaquetar, activación y secreción plaquetaria por citometría de flujo; microscopía electrónica, entre otros).
- Genotipo: gen y variante(s) molecular(es) causante de la enfermedad, status (homocigoto, heterocigoto), secuenciación de genes candidatos por Sanger o secuenciación de alto rendimiento (HTS) de múltiples genes (incluye fichero de

variantes encontradas [vcf]). Todas las variantes son enriquecidas con la información disponible en bases de datos de acceso público.

Resultados: Realizamos la validación inicial del registro, incorporando datos de 47 pacientes con síndrome de Bernard Soulier y Trombastenia de Glanzmann. Se comprobó la calidad de los datos recopilados desde el CRD, con respecto a la integridad y la coherencia de la información, A partir de esta validación, la base de datos RETPLAC se encuentra activa, para contener CRD de pacientes con TPC. Es accesible de forma segura en la url <https://retplac.imib.es> (después Acceso Personal e introducir usuario y clave). Cada usuario accede, por defecto, solo a los datos de sus casos. RETPLAC está ubicada en servidores del centro de procesamiento de datos de la Fundación Integra, que son propiedad del Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria (IMIB). RETPLAC permite la descarga de los CRD de los enfermos y la realización fácil del análisis estadístico de la información de los pacientes. Entre otros, descriptivos totales o por patologías, agrupación de casos por diagnóstico o fenotipo (HPO), correlaciones entre variables clínicas y parámetros de laboratorio o moleculares. RETPLAC cuenta con el aval científico del GTPH-SETH y la aprobación del CEIC del Hospital Universitario Reina Sofía de Murcia.

Conclusión: RETPLAC es la primeraplataforma de registro centralizado de información epidemiológica, clínica, de fenotipo y genotipo, de TPC. RETPLAC es una herramienta de uso sencillo, versátil y útil para investigaciones epidemiológicas y clínico-científicos en pacientes con TPC de la península Ibérica, y puede contribuir a la mejora general de la planificación de servicios que redunden en la salud de estos enfermos.

Financiación: Grupo Murcia: ISCIII-Feder [PI 17/01311 PI 17/01966]; Fundación Séneca (19873/GERM/15); CIBERER-U765; GRS 1647A/17. Proyecto de “Caracterización funcional y molecular de pacientes con TPC”, Grupo Trabajo Patología Hemorrágica-SETH.

CO-160 Eventos hemorrágicos e ibrutinib: experiencia en nuestro centro

Montero Benítez J., García Díez M., García-Donas Gabaldón G., Herruzo Delgado B., de la Torre Corona L., Domínguez Velasco N., Rodríguez Fernández A.

Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla

Introducción: Ibrutinib (IBT) es un inhibidor irreversible de la tirosina quinasa de Bruton (TKB), aprobado en el tratamiento de ciertas patologías linfoproliferativas. TKB está implicada en la cascada de señalización de varios receptores de la membrana plaquetaria, entre ellos el receptor de GPVI (responsable de la activación plaquetaria mediada por colágeno) y CLEC-2. Además, IBT interfiere en la unión de GPIb y factor von Willebrand (FvW). En pacientes tratados con IBT se ha observado un incremento de eventos hemorrágicos (EH) relacionado con la inhibición plaquetaria.

Métodos: Se incluyeron 11 pacientes tratados con IBT en nuestro centro desde diciembre 2015 hasta abril 2018. Se anali-

Tabla 1. Resultados de estudio de hemostasia basal y a 3 meses

Pac.	Factor VIII (50-150%)		FvW Ag (60-150%)		FvW CoRi (60-150%)		PFA ADP (62-104s)		PFA Epi (75-145s)		PFA P2Y (<106s)		MM ADP (57-113U)		MM AA (71-115U)		Escala de sangrado	Tipo de EH	Fármacos antiagregantes o anticoagulantes	Motivo
	Basal	3M	Basal	3M	Basal	3M	Basal	3M	Basal	3M	Basal	3M	Basal	3M	Basal	3M				
1	114	110	137	66	140	77	110	129	130	142	89	99	1	27	14	45	Grado 1	Equimosis	No	
2	210	115	112	108	225	113	86	101	115	132	75	119	0	59	0	52	Grado 1	Equimosis	No	
3	152	ND	48	ND	44	ND	>300	ND	>300	ND	177	ND	100	ND	38	ND	Grado 4	Hemorragia pulmonar	AAS	AVC
4	98	ND	74	ND	111	ND	89	ND	109	ND	69	ND	58	ND	74	ND	Grado 2	Epistaxis	No	
5	ND	84	ND	46	ND	16	ND	>300	ND	273	ND	>300	ND	31	ND	46	Grado 1-2	Equimosis y gingivorragias	No	
6	ND	97	ND	58	ND	63	ND	140	ND	187	ND	ND	ND	46	ND	12	Grado 0	-	AAS y HBPM profiláctica	Embolia art. temporal retina
7	ND	94	ND	45	ND	44	ND	185	ND	>300	ND	>300	ND	17	ND	4	Grado 2 y 4	Hematuria y sangrado postOx	AAS	Cardiopatía isquémica
8	154	98	167	79	128	84	83	102	137	>300	58	86	20	50	53	100	Grado 0	-	No	
9	190	102	297	87	302	103	106	128	>300	>300	82	205	11	53	24	75	Grado 2	Epistaxis	No	
10	210	ND	257	ND	258	ND	104	ND	85	ND	129	ND	3	ND	24	ND	Grado 0	-	No	
11	151	ND	129	ND	185	ND	88	ND	104	ND	67	ND	10	ND	12	ND	Grado 1	Equimosis	No	

zaron distintos parámetros hemostáticos previo al inicio de IBT y a los 3 meses: niveles de FVIII, FvW antigénico (FvW Ag) y Cofactor-Ristocetina (FvW CoRi), función plaquetaria por medio de PFA-100 con ADP, Epinefrina (Epi) y PFA P2Y y agregación plaquetaria medida por multiplate (MM) con ADP y Ácido Araquidónico (AA). Mediante la revisión de la historia clínica se recogió la aparición de EH durante el tratamiento.

Resultados: De los 11 pacientes incluidos, 7 fueron varones (63,6%) y 4 mujeres (36,3%). La media de edad fue 68 años. La **tabla I** muestra los resultados basales y a 3 meses. En > 50% de pacientes se observa alteración en la hemostasia primaria una vez iniciado IBT, encontrando 1 caso con leve alteración basal agravada con el tratamiento. 8 pacientes (72%) presentaron EH, 6 (75%) de grado 1-2, sin precisar suspensión o modificación de dosis de IBT, y 2 (25%) de grado 3-4, detallados a continuación.

El paciente 3 muestra alteración de la hemostasia primaria en relación al tratamiento con AAS y agravada con IBT. Presentó una hemorragia pulmonar controlada con transfusión de plaquetas, antifibrinolíticos y medidas de hemostasia local. Además, desarrolló una púrpura trombocitopénica amegacariocítica 2.^a a su patología de base, decidiéndose suspensión indefinida de IBT.

El paciente 7 presentó una hemorragia posimplantación de marcapasos al no suspender IBT el tiempo necesario previo a la intervención, agravada por AAS. Fue controlada con la retirada de IBT y AAS, transfusión de plaquetas, antifibrinolíticos y compresión local con buena evolución. Posteriormente ha sido intervenido sin complicaciones hemorrágicas y un manejo perioperatorio de IBT según las guías europeas.

Conclusiones: En pacientes que inician IBT consideramos importante realizar una buena historia clínica que detecte fármacos o antecedentes que predispongan al sangrado y valorar de manera individualizada si es preciso continuar con antiagregantes o anticoagulantes indefinidamente. También un estudio de hemostasia basal previo nos ayuda a detectar pacientes con mayor riesgo hemorrágico para una vigilancia más estrecha de los mismos. Para el manejo de EH y perioperatorio nosotros seguimos en este caso las recomendaciones de la última guía europea publicada en *British Journal of Haematology* en 2018. Ante EH grado = 3, transfusión de plaquetas y retirada de IBT, pero en caso de EH grado = 2, no suspender ni modificar dosis. En intervenciones, suspender IBT 3 a 7 días pre y postcirugía, según riesgo hemorrágico de la misma.

CO-161 Estudio multicéntrico nacional y retrospectivo del empleo de agonistas del receptor de trombopoyetina en pacientes adultos con PTI: estudio Vertex 2.0

Lozano Almela M. L.¹, Mingot M. E.², Perera M.³, Jarque I.⁴, Campos R.⁵, González-López T. J.⁶, Grande C.⁷, Bermejo N.⁸, Fernanda López M.⁹, de Andrés A.¹⁰, Valcárcel D.¹¹, Casado F.¹², Álvarez M. T.¹³, Orts M. I.¹⁴, Novelli S.¹⁵, González J. R.¹⁶, Bolaños E.¹⁷, Rodríguez López M.¹⁸, Orna E.¹⁹, Revilla N.²⁰, García Vicente V.²⁰

¹Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia. Centro Regional de Hemodonación. Murcia. Universidad de Murcia. Murcia. IMIB-Arrixaca. Murcia. CB15/00055-CIBERER. Madrid.

²Complejo Hospitalario Regional Universitario de Málaga. Málaga. ³Complejo Hospitalario Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín. Las Palmas de Gran Canaria. ⁴Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia. ⁵Hospital de Especialidades de Jerez de la Frontera. Jerez de la Frontera, Cádiz. ⁶Hospital Universitario de Burgos. Burgos. ⁷Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid. ⁸Hospital San Pedro de Alcántara. Cáceres. ⁹Hospital Universitario A Coruña. A Coruña. ¹⁰Complejo Hospitalario Universitario de Santiago. Santiago de Compostela. ¹¹Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona. ¹²Hospital Virgen de la Salud. Toledo. ¹³Hospital Universitario La Paz. Madrid. ¹⁴Hospital de Sagunto. Sagunto, Valencia. ¹⁵Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. ¹⁶Hospital Universitario de Salamanca. Salamanca. ¹⁷Hospital Clínico San Carlos. Madrid. ¹⁸Hospital Álvaro Cunqueiro. Vigo, Pontevedra. ¹⁹Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona, Barcelona. ²⁰Hospital General Universitario Morales Meseguer. Murcia

Introducción: Los agonistas del receptor de la trombopoyetina (TPO-RA) constituyen un tratamiento bien establecido en pacientes con trombopenia inmune primaria (PTI).

Objetivo: El objetivo de este estudio es analizar el empleo de estos agentes en pacientes con PTI en diferentes entornos clínicos.

Métodos: Estudio retrospectivo, nacional, de pacientes mayores de 18 años diagnosticados de PTI primaria que habían iniciado tratamiento para la PTI con TPO-RA entre enero de 2012 y diciembre de 2014. Participaron 19 centros de distintas comunidades autónomas con una amplia distribución geográfica.

Resultados: Se incluyeron 147 enfermos con una mediana de edad de 59 años (rango 19-96 años), 42% varones, y una mediana de seguimiento desde inicio de TPO-RA de 3,9 años. El 70% de los enfermos cumplía criterios de PTI crónica, el 16% de PTI de nuevo diagnóstico y el 14% de PTI persistente. Los TPO-RA se administraron por primera vez fundamentalmente como segunda línea terapéutica (52% de pacientes), aunque también se emplearon como línea inicial de tratamiento (10%). La mayoría de los enfermos (83%) recibieron los TPO-RA con la intención de administrar un tratamiento prolongado (más de 3 meses), mientras que el resto lo recibió durante cortos periodos de tiempo (el 32% de estos para preparación quirúrgica). La justificación para la administración de TPO-RA como terapia prolongada fue esencialmente para incrementar recuentos plaquetarios ante respuestas inadecuadas a otras terapias (62% por refractariedad y 26% por dependencia). El 7,5% de los pacientes había sufrido previamente episodios vasculares, predominantemente isquémicos, y en el 3% de los casos incluidos el inicio de TPO-RA fue para lograr recuentos plaquetarios que permitieran tratamiento antiagregante/anticoagulante. En 40/122 pacientes con TPO-RA como tratamiento mantenido se llevó a cabo un cambio de agonista. Las causas más frecuentes de alternancia se relacionaron con falta de eficacia (47,5%; en el 75% de estos casos el TPO-RA inicial fue Eltrombopag), por preferencia del enfermo (17,5%, de los que el 86% pasó de Romiplostim a Eltrombopag), y por acontecimientos adversos (15%, todos ellos con Eltrombopag). Es destacable que la cuarta parte de los enfermos que iniciaron TPO-RA como terapia a largo plazo han podido discontinuar el tratamiento con mantenimiento de recuentos plaquetarios seguros.

Conclusiones: Aunque los TPO-RA han sido aprobados para el tratamiento de PTI crónica, se confirma que el 30% de pacientes de una muestra representativa de nuestro país recibe estas terapias en fases más tempranas de la enfermedad. A diferencia de

hace unos pocos años (1) la mayor experiencia con estos agentes ha llevado a preferirlos como segunda línea de tratamiento, y también se constata que antecedentes de enfermedad vascular no contraindican su empleo. Los datos confirman que los médicos son conscientes de que una proporción significativa de pacientes que inician TPO-RA puede mantener niveles seguros de plaquetas tras la discontinuación de la terapia lo que les lleva a verificar la viabilidad de dicha reducción e interrupción.

Financiación: Amgen S.A.

Bibliografía

1. Lozano ML, et al. Ann Hematol 2016;95:1089-98.

CO-162 Abordaje de la heterogeneidad genética de las diátesis hemorrágicas asociadas a anomalías del tejido conectivo mediante secuenciación del exoma clínico

Corrales Insa I.¹, Altisent C.², Sánchez Raya Judit, Comes Fernández N.¹, García Martínez I.¹, Martín Fernández L.³, Martorell M., Vidal Pérez F.⁴

¹Banc de Sang i Teixits. Barcelona. Institut de Recerca Vall d'Hebron. Barcelona. Universitat Autònoma de Barcelona (VHIR-UAB). Barcelona. ²Institut de Recerca Vall d'Hebron. Barcelona. Universitat Autònoma de Barcelona (VHIR-UAB). Barcelona. Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona. ³Institut de Recerca Vall d'Hebron. Barcelona. Universitat Autònoma de Barcelona (VHIR-UAB). Barcelona. Fundación Española de Trombosis y Hemostasia. Madrid. Institut d'Investigació Biomèdica Sant Pau (IIB-Sant Pau). Barcelona. ⁴Banc de Sang i Teixits. Barcelona. Institut de Recerca Vall d'Hebron. Barcelona. Universitat Autònoma de Barcelona (VHIR-UAB). Barcelona. CIBER de Enfermedades Cardiovasculares (CIBERCIV). Barcelona

Introducción: Con relativa frecuencia se identifican pacientes con síntomas de sangrado moderado-leve que no presentan alteraciones en las pruebas de hemostasia. Estos sangrados pueden estar relacionados con anomalías del colágeno subendotelial, implicado en la hemostasia primaria. Es el caso de las Enfermedades Hereditarias del Tejido Conectivo (EHTC) caracterizadas por hiper movilidad articular, hiperextensibilidad de la piel y fragilidad tisular.

Objetivo: El objetivo de este estudio es abordar la heterogeneidad genética de las diátesis hemorrágicas asociadas a anomalías del tejido conectivo mediante la aplicación de protocolos de secuenciación del exoma clínico (CES).

Métodos: En un estudio piloto se han reclutado 41 pacientes (26 en la Unitat d'Hemofília y 15 en el Servei de Rehabilitació del Hospital Universitari Vall d'Hebron) con una caracterización clínica exhaustiva del fenotipo hemorrágico (ISTH-BAT), hiper laxitud (Beighton) e hiper movilidad articular (Brighton). La CES se ha realizado mediante el protocolo *TruSight One* (Illumina) en la priorización de variantes mediante el programa *Variant Interpreter* (Illumina) que permite aplicar filtros de frecuencia poblacional, de calidad de secuencia y de genes candidatos. Se han incluido un total de 209 genes relacionados con las EHTC y/o con sangrado en base a paneles previamente diseñados y a bases de datos específicas.

Resultados: Se ha identificado una media de 9.504 variantes por paciente. Una vez filtradas para descartar las inespecíficas y las polimórficas, se han localizado 151 variantes distintas en genes de EHTC. Destaca que 40 de estas variantes, presentes en 26 pacientes, se ubican en genes codificantes para distintas cadenas de los colágenos IV y VI, proteínas de unión al VWF y cuya implicación en el fenotipo requerirá de estudios adicionales. Se han priorizado, para su validación por Sanger, variantes localizadas en genes que pueden relacionarse con el fenotipo, como es el caso del Síndrome de Ehlers-Danlos Grupo A (12 mutaciones) y Marfan (5 mutaciones). Es relevante que, de los 13 pacientes con estas mutaciones, 10 (77%) fueran reclutados debido a su clínica hemorrágica. En cuanto al filtrado por genes relacionados con sangrado, se han identificado 112 variantes distintas, 29 de las cuales se encuentran en genes de la coagulación, pero cuyo efecto no justificaría el fenotipo de los pacientes. Entre ellos hay 5 portadoras de mutaciones en el *F8* sin historia familiar previa de hemofilia (12%). La secuenciación por Sanger ha validado el 100% de estas variantes.

Conclusiones: Estos resultados ponen de manifiesto la elevada incidencia de las EHTC en pacientes con tendencia al sangrado de etiología desconocida, el estudio de cuyos genes ha permitido explicar, en una primera aproximación, el fenotipo en 46% (19 de 41) de los pacientes incluidos. La eficacia de estos métodos puede dar respuesta a la gran variedad de sintomatología asociada a estos trastornos: identificando variantes en genes que no se habían relacionado previamente con sangrado, o bien con la capacidad de relacionar, en un mismo paciente, fenotipos tan heterogéneos como sangrado, hiper laxitud, entorsis de tobillo, síndrome de Raynaud y miopía. El estudio genético exhaustivo mediante NGS de los genes potencialmente implicados en la hiper laxitud o en el síndrome de hiper movilidad brinda una orientación diagnóstica muy valiosa a estos pacientes.

CO-163 Análogos del receptor de la trombopoyetina en pacientes con trombopenia inmune primaria. De la ficha técnica a la práctica clínica

Yera Cobo M., Sevillano Ruiz-Mateos C., De Cos Höhr C.

Hospital Universitario Puerta del Mar. Cádiz

Introducción: Los análogos del receptor de la trombopoyetina (R-TPO) fueron aprobados en España en 2009 (Romiplostim-N-Plate[®]) y poco después Revolade-Eltrombopag[®], y desde entonces son ampliamente utilizados en pacientes con trombopenia inmune primaria (PTI), ya que han demostrado una alta eficacia con infrecuentes efectos secundarios. Romiplostim se administra vía subcutánea de forma semanal, comenzando a la dosis de 1 mg/kg con una dosis máxima de 10 mg/kg, mientras que Revolade es un fármaco oral diario, iniciándose con 50 mg, y ajustando a 25 mg o 75 mg, según cifra de plaquetas. Sin embargo, en la práctica clínica, existe una heterogeneidad tanto en la respuesta a estos fármacos, como en el ajuste de los mismos para alcanzar una cifra de plaquetas 50.000-150.000/uL.

Objetivos: Analizar el tratamiento con los R-TPO en nuestro Centro y el ajuste de dosis de los mismos en pacientes con PTI crónica.

Material y métodos: Estudio retrospectivo en un Centro de primer nivel de los pacientes con PTI crónica atendidos en los últimos 5 años, prestando especial atención a los que se encuentran bajo tratamientos con los R-TPO y la dosis que reciben.

Resultados: Desde el año 2013, han sido valorados en nuestras consultas un total de 91 pacientes con PTI, de los cuales, 22 (24.17 %) han precisado tratamiento con R-TPO por fracaso a tratamiento de primera línea (inmunoglobulinas/corticoides) o segunda línea (esplenectomía), de los cuales 16 no han sido esplenectomizados, 5 pacientes estuvieron en tratamiento previo a la esplenectomía y 1 paciente lo toma tras fallo de la misma. De estos 22 pacientes que han recibido R-TPO, 15 continúan actualmente en tratamiento (6 reciben Romiplostim y 9 Revolade). 9/15 pacientes tienen dosis establecidas según ficha técnica del fármaco, pero en el resto, 6/15 (40%) el ajuste de dosis para alcanzar rango de plaquetas adecuado, ha precisado de variaciones tales como dosis intermedias de Romiplostim (2 pacientes), espaciar la administración del fármaco en vez de semanal, mensual (1 paciente), tomar dosis distintas en una misma semana (2 pacientes), así como disminuir la dosis menor registrada en ficha técnica: 12.5 mg, 3 días a la semana (1 paciente).

Conclusiones:

1. Los R-TPO son fármacos muy utilizados en la práctica clínica habitual. En nuestro Centro, son necesarios en casi el 25% de pacientes con diagnóstico de PTI en los últimos 5 años. Como son tratamientos de alta eficacia y escasos efectos secundarios, muchos pacientes respondedores a los R-TPO, rechazan la esplenectomía.
2. Dada la gran variabilidad individual y de respuesta a los mismos, en el 40% de casos, es preciso ajustar la dosis sin seguir las indicaciones de ficha técnica para alcanzar una cifra de plaquetas adecuada de forma mantenida y sin oscilaciones que podrían poner en riesgo hemorrágico/trombótico al paciente.
3. Tras varios años desde la incorporación de estos fármacos al arsenal terapéutico de pacientes con PTI crónica, sería necesario una revisión de su ficha técnica.

Conceptos básicos en hemostasia

CO-164 Papel del PAI-1 en el adenocarcinoma de endometrio y su regulación por mecanismos epigenéticos

Marí-Alexandre J.¹, Aghababyan C.², Cubas-Núñez N.¹, García-Oms J.², Estellés A.¹, Braza-Boils A.¹, Gilaber-Estellés J.²

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

Introducción: El cáncer de endometrio (CE) es el cáncer ginecológico más prevalente. Existen dos tipos: tipo I, representa el 80% de los casos, es menos agresivo y asociado a buen pronóstico; y tipo II, con más poder metastásico, elevada capacidad de

transición epitelio-mesénquima (TEM) y peor pronóstico. Existe una creciente evidencia de que la desregulación de componentes del sistema de activación del plasminógeno (uPA y PAI-1) juegan un papel clave en la promoción y progresión del cáncer. Niveles aumentados de uPA pueden contribuir a la degradación de la matriz extracelular, promoviendo la invasividad y metastatización. Sin embargo, el papel de PAI-1 no ha sido bien establecido en el cáncer de endometrio, aunque podría estar implicado en la TEM. Por otra parte, los miRNA son reguladores epigenéticos cuya desregulación puede contribuir a las alteraciones moleculares observadas.

Objetivo: El objetivo del presente trabajo es determinar el papel de PAI-1 en el CE y su regulación por mecanismos epigenéticos.

Métodos: Se estudiaron pacientes con cáncer de endometrio (n = 33) y mujeres control (n = 23). A partir del análisis de perfiles de expresión de miRNA (Affymetrix, GeneChipmiRNA 2.0) se seleccionaron 5 miRNA con diana en PAI-1 (miR-99a-5p, miR-143-3p, miR-145-5p, miR-196b-5p y miR-301a-3p), que fueron validados por qRT-PCR. Los niveles tisulares y plasmáticos de PAI-1 se evaluaron por ELISA (DuoSet).

Resultados: A nivel tisular, hemos observado un aumento en la expresión de PAI-1 en cáncer de endometrio en relación al endometrio control ($88,67 \pm 12,65$ frente a $65,89 \pm 9,39$ pg/mg), aumentando significativamente en el tipo tumoral de peor pronóstico (tipo 2 frente a tipo 1: $124,43 \pm 18,31$ frente a $65,90 \pm 13,57$ pg/mg; $p = 0,02$). Interesantemente, aunque los niveles plasmáticos de PAI-1 aumentan significativamente en el cáncer de endometrio frente al plasma control ($3,06 \pm 0,34$ frente a $0,99 \pm 0,19$ ng/mL, $p < 0,001$), existe una reducción significativa en el subtipo de peor pronóstico (tipo 2 frente a tipo 1: $1,75 \pm 0,38$ frente a $3,49 \pm 0,46$ ng/mL; $p = 0,01$).

A nivel epigenético, los resultados de la validación mostraron niveles significativamente reducidos de miR-196b-5p en cáncer de endometrio vs. endometrio control ($0,42 \pm 0,12$ frente a $1,00 \pm 0,27$; $p < 0,05$), correlacionándose inversamente con la expresión de PAI-1, principalmente en subtipo 2 de cáncer de endometrio. Por otro lado, existen niveles significativamente aumentados de miR-301a-3p ($1,90 \pm 0,30$ frente a $1,00 \pm 0,16$; $p < 0,05$) en cáncer de endometrio en relación al endometrio control, el cual podría actuar predominantemente a través de la supresión de PTEN.

Conclusión: Los niveles tisulares de PAI-1 aumentan en el cáncer de endometrio en comparación con el endometrio control, principalmente en el subtipo de peor pronóstico, que está asociado a un mayor cambio fenotípico epitelio-mesénquima. Sin embargo, a nivel plasmático existe una disminución de PAI-1 en cáncer de endometrio tipo 2 versus tipo 1, lo cual sugiere una acción local de PAI-1 en el microambiente tumoral. Dicha acción podría estar regulada epigenéticamente, principalmente a través del miR-196b-5p. Actualmente, estamos completando el estudio en tejido y llevando a cabo experimentos funcionales *in vitro* para determinar el significado biológico de las alteraciones observadas.

Financiación: ISCIII and FEDER "Una manera de hacer Europa" (PI14/01309; PI17/01945), Becario FETH 2017-2018, Beca Roche Roche-IIS La Fe (2017/0055).

CO-165 HDAC-1 en el desarrollo de disfunción endotelial en la insuficiencia renal crónica. Efecto protector del defibrotide

Torramadé Moix S.¹, Palomo de Udaeta M.², Cases Amenós A.³, Vera Rivera M.³, Escolar Albaladejo G.¹, Díaz-Ricart M.¹

¹Servicio de Anatomía Patológica (CDB). Hospital Clínic. Barcelona. Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS). Barcelona.
²Instituto de Investigación contra la Leucemia Josep Carreras (IJC). Barcelona. Campus Hospital Clínic. Barcelona. ³Servicio de Nefrología (CDB). Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS). Barcelona. Hospital Clínic. Barcelona

Introducción: El desarrollo de aterosclerosis en los pacientes con insuficiencia renal crónica (IRC) parece estar precedida por la activación y disfunción del endotelio, expresando un fenotipo inflamatorio, protrombótico y de estrés oxidativo, con la activación del receptor de inmunidad innata Toll-like 4 (TLR4), el inflammasoma NALP3 y el factor de transcripción NFκB. El defibrotide, que ha demostrado ser un fármaco protector del endotelio, podría tener un papel terapéutico en este escenario. El objetivo es evaluar el potencial efecto protector del defibrotide sobre la disfunción endotelial en la uremia y los mecanismos implicados.

Métodos: Células endoteliales (HUVEC) fueron expuestas a sueros de un grupo control (n = 8) y de pacientes con IRC en diálisis (n = 8). Evaluamos cambios en: i) la expresión de receptores de adhesión (ICAM-1), ii) de TLR4 y iii) FVW, iv) la producción intracelular de especies reactivas de oxígeno (ROS), y v) el proteoma celular; en ausencia y presencia de defibrotide (DF, 100 microg/ml). Utilizamos técnicas de inmunofluorescencia, cromatografía bidimensional y biología de sistemas.

Resultados: En respuesta al suero urémico, las HUVEC aumentaron la expresión de ICAM-1, TLR4, FVW y ROS. La evaluación diferencial de la expresión proteica reveló un incremento en la presencia de 9 proteínas causado por el suero urémico, que fue normalizado por la presencia de defibrotide. Mediante transferencia proteica e inmunofluorescencia se comprobó que una de ellas, la histona deacetilasa-1 (HDAC-1), incrementaba de manera significativa su expresión en respuesta al suero urémico (24 y 48 horas) tanto en el citoplasma como en el núcleo celular, y que el defibrotide era capaz de inhibir este aumento de manera dosis dependiente. Tanto el defibrotide como el inhibidor de HDAC tricostatina A (TSA) fueron capaces de prevenir el aumento en la expresión de ICAM-1, TLR4, FVW y ROS causado por el suero urémico.

Conclusiones: El efecto proinflamatorio, protrombótico y de estrés oxidativo causado por el medio urémico en células endoteliales podría estar mediado por un incremento de HDAC-1, involucrada en regulación epigenética. Estos resultados abren la posibilidad de aplicar nuevas estrategias terapéuticas dirigidas a proteger el endotelio en una entidad patológica con un alto riesgo cardiovascular.

Financiación: Parcialmente financiado por las ayudas: PIE15/00027 y DTS16/00133 (ISCIII); 2017-SGR-671 Generalitat de Catalunya; Jazz Pharmaceuticals (IST-16-10355); German Jose Carreras Leukaemia Foundation (11R/2016); CERCA Programme/Generalitat de Catalunya.

CO-166 Disfunción endotelial asociada a sepsis. Efecto preventivo del defibrotide

Palomo M.¹, Fernández S.², Nicolás J. M.², Escolar G.³, Carreras E.¹, Castro P.², Díaz-Ricart M.³

¹Instituto de Investigación contra la Leucemia Josep Carreras (IJC). Barcelona. Hospital Clínic. Barcelona. ²Unidad de Cuidados Intensivos. Hospital Clínic. Barcelona. ³Hematopatología. Anatomía Patológica. Centro de Diagnóstico Biomédico (CDB). Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS). Hospital Clínic. Barcelona. Universitat de Barcelona. Barcelona

Introducción: La disfunción endotelial juega un papel clave en la fisiopatología de la sepsis, lo que puede llevar a fallo multiorgánico y la muerte. El defibrotide (DF) ha demostrado ser eficaz en el tratamiento de la enfermedad veno-oclusiva (VOD), donde la activación endotelial también es la piedra angular, por lo que podría tener un papel como tratamiento potencial en las complicaciones de la sepsis.

Objetivo: El objetivo de este estudio fue el de caracterizar, en un modelo *in vitro* de sepsis, el daño endotelial asociado a diferentes grados de gravedad de la sepsis y explorar el efecto protector del DF.

Métodos: Células endoteliales de vena de cordón umbilical (HUVEC) fueron expuestas a sueros de pacientes con síndrome séptico (sepsis, sepsis grave y *shock* séptico) o síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS), obtenidos durante las primeras 24 h de inicio de los síntomas. Evaluamos cambios en: la expresión de receptores de adhesión en la superficie celular (ICAM-1 y VCAM-1); la presencia de factor de Von Willebrand (VWF) en la matriz extracelular (MEC); la trombogenicidad de la MEC; y alteraciones en la activación de proteínas de señalización intracelular (p38MAPK y SAPK / JNK). Las células fueron incubadas con DF (100 µg/ml) durante 24 horas antes de exponerlas a los sueros y durante la exposición.

Resultados: La activación de células endoteliales, determinada por un aumento en la expresión de ICAM-1 y VCAM-1 en la superficie celular, y de FVW y mayor adhesión plaquetaria en la MEC, fue mayor en el síndrome séptico en comparación con el SIRS y el grupo control, con un aumento progresivo correlacionado con la gravedad de la sepsis (sepsis < sepsis severa = *shock* séptico) (p < 0,05 para VCAM-1, ICAM-1 y VWF; p < 0,001 para la adhesión de plaquetas). La exposición previa y la incubación continua de las células al DF modificaron la respuesta endotelial reduciendo significativamente la expresión de ICAM-1, VCAM-1, FVW y la adhesión plaquetaria inducida por el suero de pacientes con síndrome séptico en todos los grupos (p < 0,001). La activación de las proteínas de señalización siguió el mismo patrón de activación ya descrito para el resto de marcadores.

Conclusiones: Existe activación y daño endotelial en respuesta al síndrome séptico, desarrollando un fenotipo proinflamatorio y protrombótico que se correlaciona con la gravedad del síndrome séptico. El DF previene la activación y el daño endotelial inducidos por el síndrome séptico en un modelo celular *in vitro*.

Financiación: PIE15/00027, DTS16/00133, FIS P114/00772 (ISCIII); 2017-SGR-671 Generalitat de Catalunya. Jazz Pharmaceuticals (IST-16-10355), German Jose Carreras Leukaemia Foundation (11R/2016).

CO-167 Nuevas funciones antitumorales de la antitrombina

Peñas Martínez J.¹, Luengo Gil G.¹, Espín S.¹, Ortega C.¹, Bohdan N.¹, Vicente V.², Martínez Martínez I.²

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

Introducción: La antitrombina tiene un papel clave en hemostasia puesto que es el principal inhibidor natural de la cascada de la coagulación. Debido a la gran flexibilidad estructural de la antitrombina, existen distintas conformaciones: nativa, activada por la heparina, rota, latente y prelatente. Además de su función en hemostasia, se ha demostrado que la antitrombina puede tener una función anti-angiogénica, anti-inflamatoria, anti-apoptótica y anti-viral. Recientemente, nuestro grupo ha demostrado que la antitrombina también puede tener una función anti-tumoral. Este efecto anti-tumoral parece ser mediado por la inhibición que ejerce la antitrombina sobre la proteasa enteropeptidasa, pero además otras proteasas implicadas en cáncer podrían estar bajo el control de la antitrombina. La hepsina es una serín proteasa que pertenece a la misma familia de proteínas que la enteropeptidasa y cuya sobre-expresión se asocia con determinados tumores.

Objetivo: Nuestro objetivo fue evaluar el efecto de la antitrombina sobre la función de la hepsina. Debido a la gran flexibilidad estructural de diferentes conformaciones de antitrombina sobre la función de la hepsina.

Métodos: Determinamos la estequiometría y la cinética de inhibición de la antitrombina nativa sobre la hepsina en ausencia y en presencia de los distintos tipos de heparinas. Se llevó a cabo la purificación de antitrombina prelatente a partir de plasma humano mediante cromatografía de afinidad por heparina tras su incubación a 60 °C durante 30 horas. Su actividad inhibitoria sobre FXa y trombina y hepsina se evaluó mediante ensayos cromogénicos y fluorogénicos, respectivamente, y su afinidad por heparina se midió mediante la emisión de fluorescencia. Calculamos la constante de interacción entre la antitrombina prelatente y la hepsina. Evaluamos la interacción entre las formas nativa y prelatente de la antitrombina con la hepsina mediante electroforesis en condiciones desnaturalizantes y no desnaturalizantes.

Resultados: La antitrombina nativa inhibe a la hepsina con una velocidad de inhibición incluso mayor que la que ejerce la antitrombina sobre la trombina ($K_{app} = 1.2 \cdot 10^5$ vs $8.4 \cdot 10^3$ M⁻¹s⁻¹). Esta inhibición es ejercida mediante la formación de un complejo covalente entre proteasa e inhibidor con una estequiometría de inhibición de 1.6. Curiosamente, solo el pentasacárido activa esta función y solo de forma moderada ($K_{app} = 6.1 \cdot 10^5$ M⁻¹s⁻¹). Sorprendentemente, la forma prelatente no es capaz de inhibir la función de la hepsina, sino que provoca su activación. Mediante ensayos fluorogénicos demostramos que prelatente y hepsina interaccionan con una K_m de 0,27 nM.

Conclusiones: La forma nativa de la antitrombina es capaz de inhibir la función de la hepsina. Este resultado muestra una nueva evidencia de la potencial actividad antitumoral de la antitrombina. Sin embargo, la forma prelatente de la antitrombina, capaz de interaccionar con la hepsina, no la inhibe, sino que la activa, de manera que el potencial anti-tumoral de esta conformación estaría restringido a aquellos tumores que no expresen hepsina.

Financiación: P117/00050, Fundación Séneca-19873/GERM/15

CO-168 Efecto de la antitrombina prelatente en la migración e invasión de células de glioblastoma-astrocitoma

Peñas-Martínez J.¹, Luengo-Gil G.¹, Espín S.¹, Ortega C.¹, Bohdan N.¹, Vicente V.², Martínez-Martínez I.²

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

Introducción: La antitrombina es el principal inhibidor de la cascada de la coagulación. Se caracteriza por tener una gran flexibilidad estructural clave para ejercer su función inhibitoria sobre proteasas como el FXa y la trombina. Debido a esta gran flexibilidad estructural, existen distintas conformaciones para la antitrombina: nativa, activada por la heparina, rota, latente y prelatente. Las dos últimas conformaciones, en las que el loop reactivo se internaliza en la lámina beta central, son adoptadas in vitro al incubar la antitrombina nativa a temperaturas elevadas. A diferencia de la conformación latente, la prelatente se caracteriza por mantener su capacidad inhibitoria, pero con una menor afinidad por la heparina que la conformación nativa. Se ha descrito que la conformación prelatente tiene capacidad anti-angiogénica. Nuestro grupo ha demostrado recientemente que la antitrombina tiene función anti-tumoral pero la conformación prelatente nunca ha sido explorada en esta función.

Objetivo: El principal objetivo de nuestro estudio consiste en evaluar el efecto de la antitrombina prelatente en la migración e invasión de las células de glioblastoma-astrocitoma U-87MG.

Materiales y métodos: La antitrombina prelatente se purificó a partir de plasma humano mediante cromatografía de afinidad por heparina tras su incubación a 60 °C durante 30 horas. Su actividad inhibitoria sobre el FXa, trombina y enteropeptidasa se evaluó mediante ensayos cromogénicos y su afinidad por heparina se midió mediante la emisión de fluorescencia. La migración y la invasión de las células U-87MG se realizaron mediante las técnicas de wound healing y transwells cubiertos con matrigel en presencia de antitrombina nativa y antitrombina prelatente, tanto en presencia como en ausencia de heparina de bajo peso molecular.

Resultados: La conformación prelatente de la antitrombina purificada se validó con pruebas funcionales, afinidad por hepari-

na y movilidad electroforética. La antitrombina prelatente, como la nativa, es capaz de inhibir a la enteropeptidasa. La antitrombina prelatente es además capaz de reducir la migración e invasión de las células U-87MG de forma significativa en ausencia de heparina ($p < 0,001$) y en el caso de la migración, de forma más eficiente que la antitrombina nativa (56 frente a 67%, $p < 0,01$), a una concentración 1,38 veces menor. Este efecto de la antitrombina prelatente no se ve potenciado por la presencia de heparina (Figs. 1 y 2).

Conclusión: El presente estudio es la primera demostración del efecto antitumoral de la antitrombina prelatente, al ser capaz de reducir la migración e invasión de las células U-87MG de forma significativa, en ausencia de heparina, de forma más eficien-

te que la antitrombina nativa. El mecanismo subyacente podría explicarse por su capacidad inhibitoria sobre proteasas como la enteropeptidasa y/o que su especial conformación le permitiría una mayor interacción con determinados receptores implicados en estos procesos. El mecanismo por el que la antitrombina prelatente ejerce un mayor efecto anti-tumoral que la antitrombina nativa podría deberse a su capacidad inhibitoria sobre proteasas como la enteropeptidasa, como nuestro grupo ya ha demostrado, unido a su conformación, que podría permitir una mayor interacción con determinados receptores implicados en estos procesos, aunque esto último está aún por determinar.

Financiación: P117/00050, Fundación Séneca-19873/GERM/15.

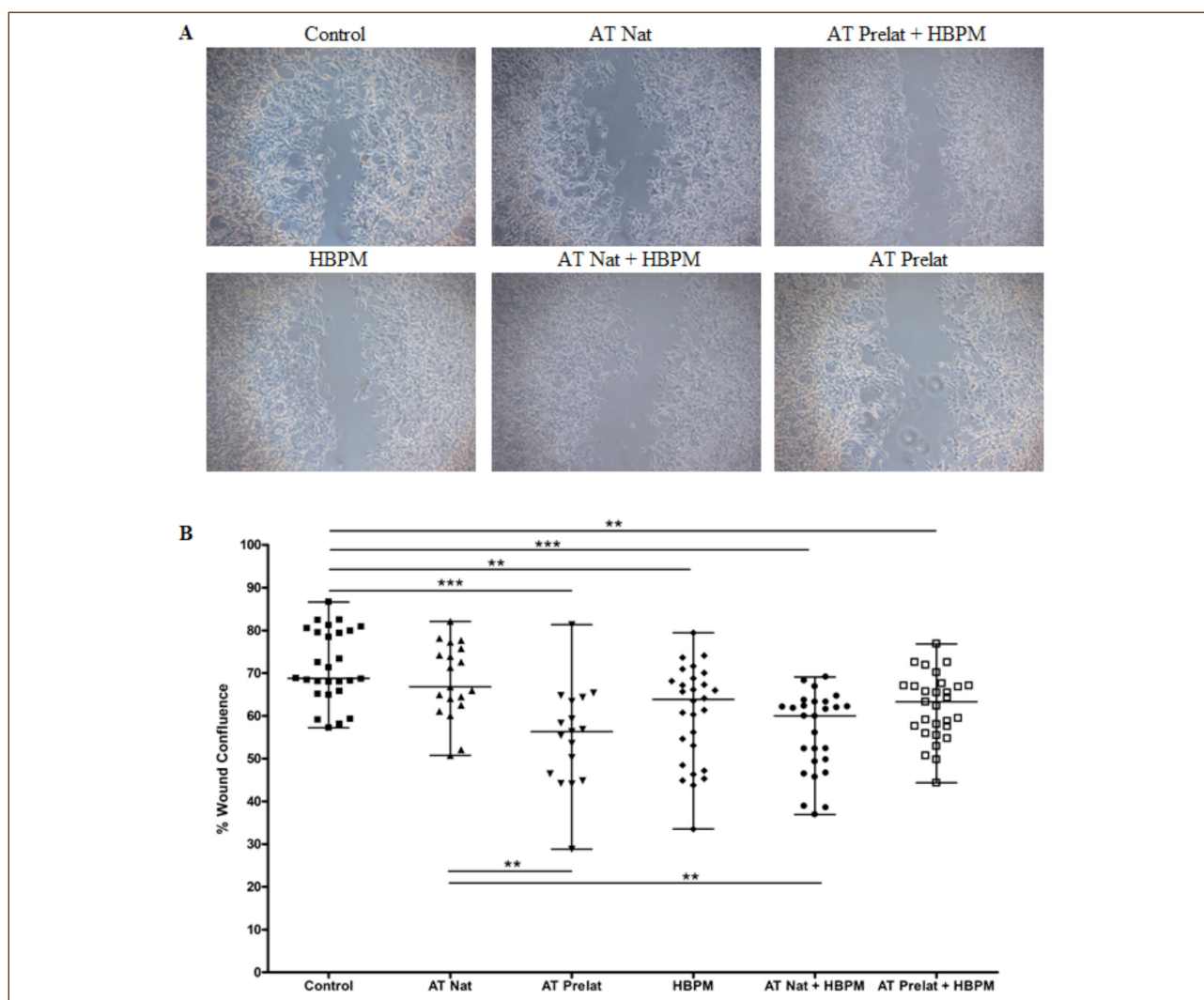


Figura 1. Efecto de las AT nativa, prelatente y heparina sobre la migración de las células U-87 MG. La capacidad migratoria se evaluó tras la incubación de las células durante 16 horas con heparina de bajo peso molecular (HBPM), antitrombina nativa (AT Nat) o antitrombina prelatente (AT Prelat), y en combinación de cada antitrombina con HBPM. A. Imágenes de microscopía tras 16 horas de migración. B. Confluencia celular (%). Cada condición fue evaluada por triplicado; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

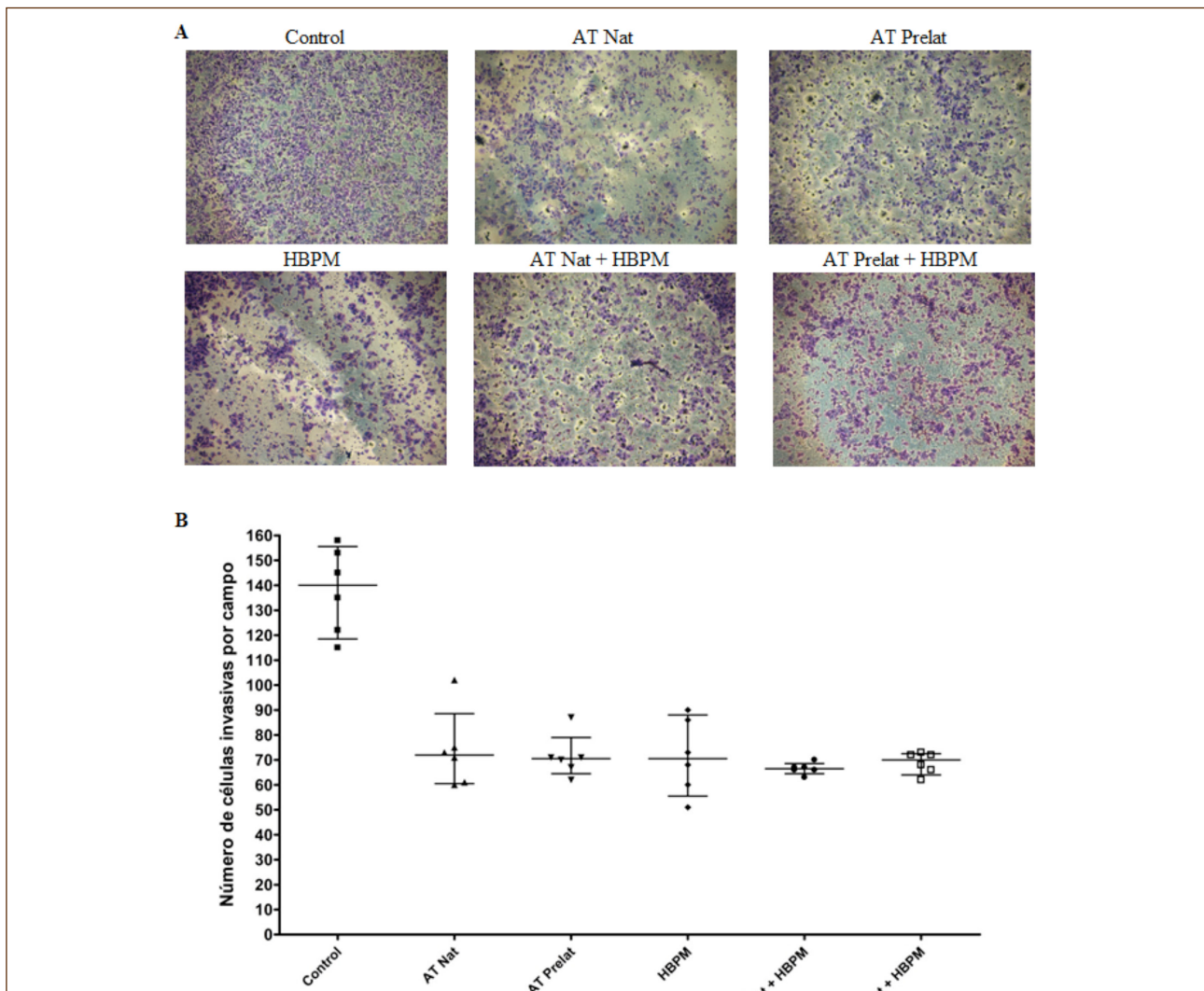


Figura 2. Efecto de las AT nativa, prelatente y heparina sobre la capacidad invasiva de células U-87 MG. La invasión se evaluó tras la incubación de las células durante 6 horas con heparina de bajo peso molecular (HBPM), antitrombina nativa (AT Nat) o antitrombina prelatente (AT Prelat), y en combinación de cada antitrombina con HBPM. (A) Imágenes de microscopía tras 6 horas de incubación con las distintas condiciones. (B) Número de células invasivas por campo.

CO-169 Patología molecular de F12: p.T309K. Causa angioedema hereditario tipo III, pero tiene poca relevancia en la activación de la hemostasia

López-Gálvez R.¹, López-Lera A.², Emsley J.³, Toderici M.¹, de la Morena-Barrio B.¹, Salloum-Asfar S.¹, Miñano A.¹, Bravo-Pérez C.¹, Fernández-Caballero M.⁴, Vicente V.¹, Corral J.¹, de la Morena-Barrio M. E.¹

¹Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia, España. Centro Regional de Hemodonación. Murcia, España. Universidad de Murcia. Murcia, España. IMIB-Arrixaca. Murcia, España. CIBERER. Madrid, España. ²Unidad de Inmunología. Instituto de Investigación Hospital Universitario La Paz (IdiPAZ). Madrid, España. CIBERER. Madrid, España.

³University of Nottingham. Nottingham, Inglaterra. ⁴Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona, España

Introducción: El angioedema hereditario tipo III (HAEIII) es causado por defectos en el FXII. Cuatro alteraciones dominantes en el gen F12 se han identificado en pacientes HAEIII. La más frecuente, p.Thr309Lys, localizada en el dominio rico en prolinas, eliminando una O-glicosilación hace más activable al FXII, sin aparentes efectos hemostáticos (Björkqvist, *et al.* JCI 2015).

Objetivo: Analizar el efecto de la mutación p.Thr309Lys en el FXII.

Métodos: Reclutamos 33 pacientes HAEIII heterocigotos para p.Thr309Lys y 25 familiares (15 portadores y 10 no portadores). El FXII plasmático se analizó mediante Western Blot. La función hemostática del FXII se evaluó mediante ensayo coagulométrico

(FXII:C) y tiempos de coagulación (TTPa). La activación del FXII con sílica y dextrán sulfato (DX) y de sus dianas (calicreína y FXI) se estudió mediante Western Blot y/o métodos cromogénicos. La expresión recombinante de FXII (rFXII) silvestre y mutado se realizó en células de insecto. La activación del rFXII y su efecto en proteínas diana se estudió en el plasma de un paciente deficiente en FXII (0.9%) con la mutación c.919delG en homocigosis.

Resultados: La mayoría de portadores de la mutación p.Thr-309Lys (n = 45) presentaban dos formas de FXII en plasma: 80KDa (normal) y 78KDa, similar al de pacientes con trastorno de glicosilación (sin un N-glicano, 2KDa) (Fig. 1A), pero incompatible con la pérdida de un solo O-glicano (0.6KDa). Las diferencias de tamaño fueron mayores en condiciones no reductoras (Fig. 1B). El tratamiento con N-glicosidasa F magnificaba la diferencia de tamaño de las dos formas de aglico-FXII (Fig. 1C). La activación del FXII plasmático con sílica o DX generó dos cadenas pesadas: 40KDa (normal) y 35KDa (Fig. 1D). Sin embargo, 3 pacientes portadores de la mutación, sin alteración genética adicional, presentaban solo la forma normal de FXII (Fig. 2A). Finalmente, el rFXII mutado y silvestre eran similares, tanto en condiciones reductoras como no reductoras (Fig. 2B). Análisis in silico sugieren que la mutación podría afectar el procesamiento del exón 9, generando una proteína sin 42 residuos del dominio en anillo. En cuanto a la

funcionalidad, no detectamos FXII activado en muestras basales de pacientes HAEIII, pero se activaba y generaba calicreína con dosis bajas de DX (Fig. 3A). El TTPa y el FXII:C eran normales

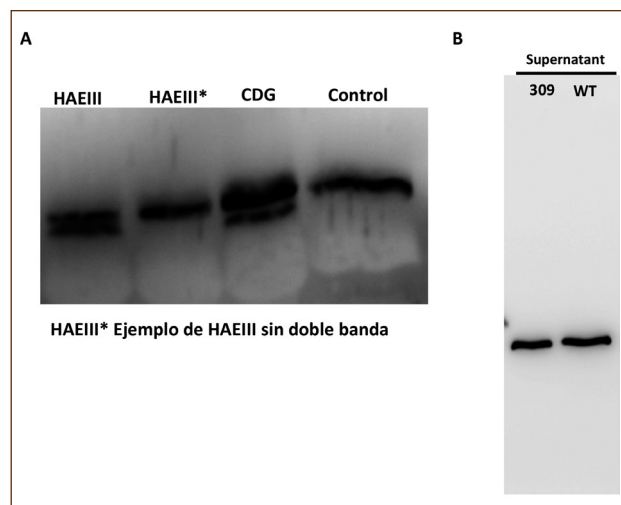


Figura 2.

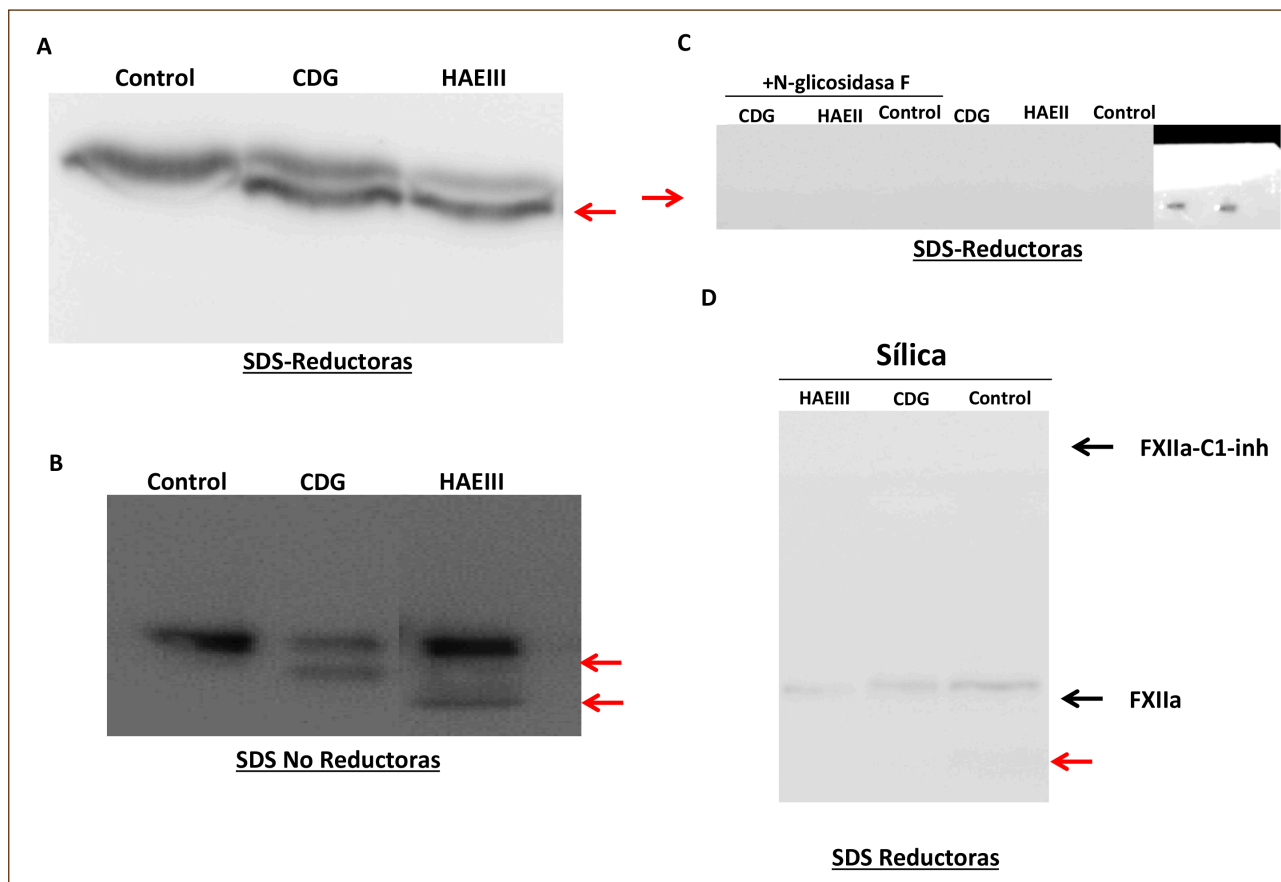


Figura 1.

en todos los casos. El rFXII no se activaba con sílica o DX salvo que se adicionara plasma. Entonces, el rFXII mutado se activaba espontáneamente, activando la calicreína, pero sin activar el FXI. Además, la cadena pesada del rFXIIa mutado era menor que la del rFXIIa silvestre (Fig. 3B).

Conclusiones: La mutación p.Thr309Lys en F12 facilita la activación de la fase fluida del FXII al permitir un nuevo sitio de corte que hace más pequeña la cadena pesada. Esta activación tiene

efecto sobre la calicreína pero ninguna consecuencia en coagulación. La forma aberrante de FXII que se observa en la mayoría de portadores no puede explicarse exclusivamente por la pérdida de un O-glicano, y podría justificarse por un defecto de procesamiento del exón 9, aunque el cambio Thr309Lys *per se* facilita la activación del FXII variante.

Financiación: ISCIII-PI15/00079; Fundación Séneca-19873/GERM/15; M-BME contrato FETH.

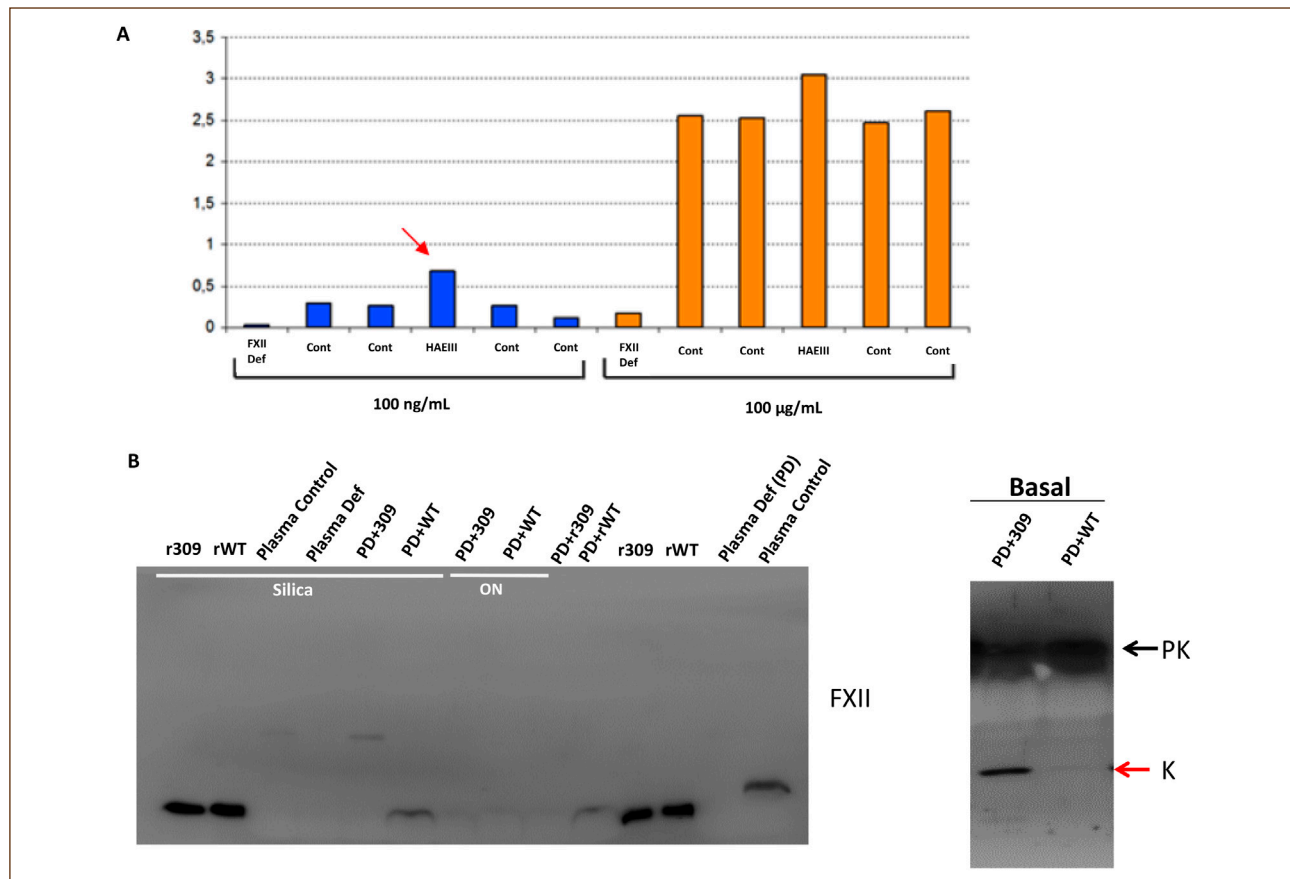


Figura 3.

CO-170 Efecto de inhibidores basados en la antitrombina en la actividad de una proteasa implicada en cáncer

Luengo Gil G.¹, Pérez Sánchez H.², Cerón-Carrasco J. P.², Espín S.¹, Vicente V.³, Martínez-Martínez I.³

¹Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia. Centro Regional de Hemodonación. Murcia. Universidad de Murcia. Murcia. IMIB-Arrixaca. Murcia. ²Structural Bioinformatics and High Performance Computing Research Group (BIO-HPC). Universidad Católica San Antonio de Murcia (UCAM). Murcia. ³Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia. Centro Regional de

Hemodonación. Murcia. Universidad de Murcia. Murcia. IMIB-Arrixaca. Murcia. CIBERER. Madrid. Instituto de Salud Carlos III (ISCIII). Madrid

Introducción: Hasta un 10% de los pacientes con cáncer mueren a consecuencia de un evento tromboembólico. Numerosos mecanismos influyen en el estado protrombótico de estos pacientes, y uno de ellos podría ser la sobreexpresión de serín proteasas tumorales. Estudios previos de nuestro grupo demuestran que la antitrombina (AT), principal anticoagulante endógeno, inhibe a una serín proteasa implicada en cáncer, la enteropeptidasa (EP). El mecanismo de inhibición que ejerce la AT sobre EP no implica la formación de un enlace covalente, tal y como hace con el FXa y

la trombina. Dicho mecanismo parece implicar la ruptura del loop reactivo de la AT, generando un péptido que quedaría unido al centro activo de la EP y que actuaría como un inhibidor irreversible.

Objetivo: En este estudio nos propusimos, utilizando como secuencia peptídica de referencia el loop reactivo de la AT, diseñar péptidos mediante técnicas in silico de modelado molecular que potencialmente pudieran unirse al centro activo de la EP, así como posteriormente sintetizar y validar in vitro mediante técnicas bioquímicas su potencial inhibitorio.

Métodos: En primer lugar, se realizaron cálculos de *docking* molecular con una versión modificada de Autodock Vina, usando para ello la estructura cristalográfica de EP con código PDB: 4DGJ y procesando una librería combinatorial con alrededor de 400 péptidos de hasta 7 unidades. A continuación, y para aquellas secuencias cuyo *docking score* fue más elevado, se realizaron cálculos de Dinámica Molecular con el paquete Gromacs a efecto de observar los detalles dinámicos del mecanismo. Por último, las principales interacciones se resuelven utilizando métodos basados en la química cuántica. Más concretamente, utilizamos la teoría del funcional de la densidad (DFT) para resolver las energías con los principales residuos utilizando el paquete de programas Gaussian16. El cálculo de la capacidad inhibitoria de los péptidos sobre la EP se realizó mediante cinéticas utilizando sistemas cromogénicos.

Resultados: Se seleccionaron las 8 secuencias peptídicas con el mayor índice de interacción posible (Tabla I). La energía total promedio (AVG E) fue de -185 kcal/mol. El valor promedio de la componente electrostática y de Van Der Waals fue de -110 y de -46 respectivamente. El cálculo alternativo de la energía de interacción mediante mecánica molecular arrojó un valor promedio de -37 kcal/mol. Realizando cinética de inhibición en ausencia y presencia de cada uno de los péptidos sintetizados, sólo dos de ellos (péptidos 1 y 2) mostraron una capacidad inhibitoria del 15%. Como puede observarse en la tabla I, no se observó inhibición con el resto de péptidos (3-8).

Conclusiones: Solo dos de los ocho péptidos sintetizados a partir de los datos in silico fueron capaces de inhibir la actividad de la EP, aunque la capacidad inhibitoria de estos péptidos fue muy limitada. Los datos recabados permitirán refinar el modelado molecular o incluso será necesario llevar a cabo modificaciones químicas sobre estos compuestos con el fin de conseguir cinéticas de inhibición más eficientes que permitan su potencial uso como fármacos antitumorales.

Financiación: P117/00050, Fundación Séneca-19873/GERM/15 y CTQ2017-87974-R (AEI/FEDER, UE).

Tabla I					
Péptido	Act. Perc.	AVG E 50 ns	A Elec 50 ns	Vdw 50 ns	Prime dG MMGBSA
1	85,4	-287	-239	-48	-40
2	86,7	-311	-24	-72	-59
3	100	-287	-239	-48	-51
4	100	-359	-311	-60	-50
5	100	-167	-120	-48	-59
6	100	-48	-48	-48	-19
7	100	-24	48	-24	-16
8	100	0	48	-24	-2

Tratamientos antitrombóticos

CO-171 ¿Están dosificándose correctamente los anticoagulantes orales de acción directa (ACOD) en la práctica clínica habitual? Datos del estudio prospectivo *Real Life Cohort* del Hospital Vall d'Hebron

Cerezo-Manchado J. J., Johansson E., Cerda M., Fernández M., Martínez M. F., Martín L., Bosch F., Santamaría A.

Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona

Introducción: A pesar de los buenos resultados observados de los ensayos que dieron lugar a la aprobación de los ACOD, existen algunos datos sobre la dosificación inadecuada según ficha técnica y su relación con la aparición de eventos. Por ello, hemos analizado los datos de dosificación y la posible correlación con la seguridad o efectividad en la vida real en los pacientes incluidos en el estudio observacional *Real Life Cohort Vall d'Hebron*.

Métodos: Se analizaron los datos del estudio observacional y prospectivo *Real Life Cohort Vall d'Hebron* que recogía pacientes reclutados entre enero de 2015 y septiembre de 2017. Los pacientes fueron seguidos hasta discontinuación del fármaco o hasta el último seguimiento. La dosis de ACOD y su indicación fue elegida a criterio clínico. Se estudió cómo se habían dosificado los ACOD y se evaluó el porcentaje de prescripción adecuado conforme a las dosis recomendadas según aclaramiento renal, fórmula de Cockcroft-Gault, y edad. Las variables principales investigadas fueron la tasa de eventos tromboembólicos (eventos por 100 pacientes/año) y la tasa de sangrados mayores (eventos por 100 pacientes/año). El sangrado mayor fue definido según los criterios de la ISTH 2005. Los análisis estadísticos se realizaron con SPSS 21.0 (SPSS Inc., Chicago, IL).

Resultados: Entre enero de 2015 y septiembre de 2017 se incluyeron un total de 1.443 pacientes en el estudio. Un total de 245 pacientes (17%) recibieron dosis inadecuadas. Estos pacientes eran más jóvenes ($76 \pm 10,7$ frente a $79,0 \pm 9,4$; $p < 0,001$) y sin diferencias en cuanto al CHA₂DS₂-VASc ($3,9 \pm 1,5$ frente a $4,1 \pm 1,5$, $p < 0,15$) respecto a los que recibieron dosis estándar. Si se observó una diferencia significativa en el filtrado glomerular < 50 mL/min/1,73 m², 46% frente a 34% $p < 0,001$. Del total de pacientes dosificados inadecuadamente, recibieron Rivaroxaban 102 (41,4%), Dabigatran 112 (45,1%), Apixaban 24 (9,7%) y Edoxaban 7 (2,9%). Si analizamos cada ACOD por separado el que alcanza mayor porcentaje de dosificación inadecuada fue dabigatran, 34%; seguido de Rivaroxaban, 15%; Apixaban, 7%; y Edoxaban, 7%. De los pacientes que recibieron dosis inadecuadas, 139 (56%) recibían dosis estándar y 106 (43%) dosis reducidas ($p < 0,001$).

Las tasas de accidente cerebrovascular isquémico y hemorragia mayor fueron de 0,05 y 6,7 eventos por 100 pacientes-año, respectivamente. No hubo significación estadística en el % de pacientes con ictus previo, probablemente por la baja tasa de eventos trombóticos en esta cohorte. Cabe destacar que los pacientes

que recibieron una dosis fuera de lo indicado en ficha técnica presentaron una mayor frecuencia de sangrados mayores respecto a los que sí lo estaban (11% frente a 4.6%) siendo esta diferencia significativa ($p < 0.001$).

Conclusiones: En esta cohorte del estudio *Real Life Cohort Vall d'Hebron* se observa un número importante de pacientes no dosificados adecuadamente respecto a las recomendaciones aceptadas. Además, se aprecia un aumento del sangrado mayor en este grupo, lo que podría atribuirse aun peor uso de las dosis estándar en la cohorte analizada. Esto destaca la importancia de la dosificación según ficha técnica en el uso de ACOD.

CO-172 Análisis retrospectivo de resultados clínicos del autocontrol del tratamiento con fármacos antivitaminas K en el Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Estudio Orión

Corrochano M.¹, Jiménez B.², Millón J.³, Gich I.⁴, Rambla M.³, Gil E.³, Caparrós P.³, Macho R.³, Souto J. C.³

¹Servicio de Hematología; ²Institut de Recerca; ³Unidad de Hemostasia y Trombosis; y ⁴Servicio de Epidemiología Clínica y Servicios Sanitarios. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona

Introducción: El autocontrol del tratamiento anticoagulante oral (TAO) se usa hace aproximadamente 30 años. Existen pocos estudios publicados sobre resultados clínicos en vida real asociados a este modelo. Ninguno de estos estudios contiene datos de pacientes españoles. En nuestro hospital disponemos de la mayor cohorte existente en España de pacientes en autocontrol del TAO con anti-vitamina K (AVK) en un único centro. Esta se inició en 2002 como consecuencia de un ensayo clínico llamado ACOA (Menéndez-Jándula, *et al.*; Ann Intern Med 2005) que demostró la facilidad para realizar autocontrol del TAO, la aplicabilidad clínica y una reducción significativa de las complicaciones graves en comparación con el manejo por especialistas. Los resultados fueron corroborados posteriormente (Heneghan Lancet, 2006 y 2012). Ahora presentamos los resultados en vida real de los pacientes en autocontrol del TAO formados en nuestra unidad.

Objetivo: Evaluar la incidencia de complicaciones graves (tromboembólicas y hemorrágicas, según la escala BARC grados 3 y 5) así como otras complicaciones relevantes trombóticas (AIT, IAM, tromboflebitis) y hemorrágicas (grado 2 de la escala BARC).

Métodos: Se realizó un estudio observacional retrospectivo y unicéntrico (NCT 03532724). Se analizaron pacientes en régimen de autocontrol del TAO educados y seguidos en la Unidad de Hemostasia y Trombosis entre julio de 2002 y mayo de 2018. Se efectuó una búsqueda exhaustiva de los registros clínicos de cada individuo (entrevista personal, historia clínica del hospital y centro de atención primaria e historia clínica compartida de Cataluña) para asegurar la información más completa posible sobre complicaciones del TAO, comorbilidades y mortalidad. La estimación del porcentaje de tiempo en rango terapéutico (TRT) se realizó mediante el método de Rosendaal.

Resultados:

- Este análisis se ha realizado con los primeros 720 pacientes reclutados.

- Las características basales de la población se muestran en la **tabla I**.
- Las indicaciones de anticoagulación se muestran en la **tabla II**.
- El tiempo total de seguimiento fue de 4.749 pacientes-año (rango 0,36-16,54 años), con una mediana de seguimiento de 6,6 ($\pm 4,49$) años por paciente.
- Se dispone del TRT de 679 pacientes (94,5%). La media del TRT fue de 63,8% \pm 13,3. El TRT en las mujeres fue menor que el de los hombres: 60,8% y 66,50%, respectivamente ($p < 0,05$).
- 67 pacientes murieron durante el tiempo de estudio, lo cual representa una incidencia de mortalidad de 1,4% pacientes-año en la población estudiada.
- 13,2% presentaron al menos una complicación grave. La incidencia global de complicaciones graves (trombóticas y hemorrágicas) fue de 2,15% pacientes-año ($n = 95$). La incidencia de complicaciones hemorrágicas graves fue de 1,11% pacientes-año ($n = 50$), siendo la incidencia de la hemorragia intracraneal de 0,2% pacientes-año ($n = 9$). La incidencia de complicaciones trombóticas graves fue de 1,10% pacientes-año ($n = 50$). Dentro de las complicaciones relevantes, la incidencia de AIT fue de 0,38% pacientes-año ($n = 18$).

Conclusiones: Hemos observado, tras una búsqueda exhaustiva de complicaciones, una muy baja incidencia en nuestra población autocontrolada. Esto confirma resultados previos en otros países, en vida real, y en los ensayos clínicos randomizados y apoya el concepto de que el autocontrol del tratamiento anti vitamina K es el mejor modelo de gestión para un gran número de pacientes.

Tabla I. Características basales de la población

Sexo femenino	337 (47%)
Edad al inicio del autocontrol (media \pm DE)	56,9 (\pm 12,8)
Número de pacientes con comorbilidades (%)	
Alguna	639 (88,8%)
Ninguna	81 (11,2%)
≥ 3	280 (38,9%)
Número de pacientes con complicaciones previas al autocontrol durante el TAO convencional (%)	135 (18,7%)
Trombóticas	89 (12,4%)
Hemorrágicas	55 (7,6%)
Ambas	9 (1,25%)

Tabla II. Las indicaciones de anticoagulación

Patología	Número de pacientes	%
Fibrilación auricular	97	13
Prótesis aórtica	148	21
Prótesis mitral	113	16
Prótesis v. pulmonar o v. tricuspídea	14	2
Prótesis valvular múltiple	96	13
ETE V	166	23
Otros (valvulopatía, miocardiopatía dilatada)	86	12

CO-173 Calidad de la anticoagulación con antivitaminas K en atención primaria de un área sanitaria: la informática al servicio del hombre

Cos Hohr C.¹, Yera Cobo M.¹, Sevillano Ruiz-Mateos C.¹, Bernal Cerezo J.¹, López Rodríguez R.¹, Garrastazu Sánchez M. P.¹, Rodríguez Martorell F. J.²

¹Hospital Universitario Puerta del Mar. Cádiz. ²Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla

Introducción: El tratamiento con anticoagulantes orales (TAO) ha sufrido numerosos avances clínicos y asistenciales: creación de Unidades Clínicas Especializadas en los 70, monitorización de AVK con Razón Normalizada Internacional (INR), informatización de las unidades clínicas, coagulómetros portátiles, autocontrol, y actualmente, introducción de los Anticoagulantes de Acción Directa (ACOD). A pesar que el presente y futuro de TAO son los ACOD, el uso de éstos no está extendido, hay pacientes que por sus patologías y/o comorbilidades no son candidatos, por lo que el control adecuado de AVK sigue siendo prioritario. La monitorización de AVK es dificultosa, deben realizarse controles de calidad: porcentaje de INR dentro de margen terapéutico en un periodo determinado, tiempo que INR de un paciente se encuentra en rango o sección transversal de ficheros (INR de cada paciente en una fecha determinada). El crecimiento de los pacientes con AVK, obligó a la descentralización de controles de INR hacia Atención Primaria, para disminuir la masificación de pacientes que acudían al hospital, mejorar la calidad asistencial al evitar desplazamientos, hacer al médico de Atención Primaria (MAP) participe del TAO de su paciente y favorecer la integración del TAO en la historia de salud de un paciente. En 2005, Servicio Andaluz de Salud impulsó el inicio de descentralización del TAO en Andalucía.

Objetivo: Evaluar la calidad del control de AVK de nuestra área sanitaria, 12 años después del inicio de la descentralización. Se evaluó INR dentro de intervalo terapéutico según indicación $\pm 0,2$ durante dos periodos de tiempo: 01/03/2015-01/03/2016 y 20/03/2016-20/03/2017. El porcentaje de enfermos con un INR en el rango debe ser superior al 70% para ser considerado un buen indicador del programa. Han sido excluidos los centros hospitalarios de referencia de la zona.

Material y métodos: En 2005 la población del área era 225.000 personas, existían 11 Centros de Atención Primaria (CAP), descentralizándose el control de INR entre 2006 y 2008. Los MAP se desplazaron de forma organizada, semanalmente, 3-4 días/ semana 4 horas/día a la unidad de anticoagulación del hospital, donde se impartieron conocimientos teóricos- prácticos y del sistema informático (Sintromac, Grifols). Posteriormente, iniciaron la actividad en su CAP, desplazándose un hematólogo para supervisión. Fueron formados 57 MAP. Se les enseñó a pautar “a la antigua”, con escalones traducidos a mg semanales, analizando las características del paciente. Siempre se ha mantenido relación fluida entre MAP y Hematología.

Acenocumarol 4 mg, escalones	Dosis total semanal aprox.	11	10,5	10	9,8	9,33	9	8,7	8,4	8,2	8
---------------------------------	-------------------------------	----	------	----	-----	------	---	-----	-----	-----	---

Posteriormente, Gota (Werfen) sustituyó a Sintromac, adaptándose a nuestras necesidades. Los controles periódicos de calidad de INR son buenos, aumentando ésta progresivamente. Presentamos los porcentajes de INR en rango durante dos periodos.

Resultados: Actualmente son 10 CAP.

Periodo: 01/03/2015-01/03/2016a					
CAP	TRT en rango %	TRT bajo%	TRT alto%	N.º pacientes	N.º visitas
1	79	10	12	382	5.259
2	78	11	11	248	3.661
3	78	10	12	226	3.609
4	76	11	13	368	4.300
5	81	9	9	305	4.273
6	78	11	12	119	1.588
7	78	11	11	377	5.849
8	78	10	11	302	4.479
9	76	12	12	243	3.377
10	79	11	11	319	4.515
	X: 79,1			Total: 2.889	

Periodo: 20/03/2017-20/03/2018					
CAP	TRT en rango %	TRT bajo%	TRT alto%	N.º pacientes	N.º visitas
1	79	11	9	300	4125
2	76	13	12	195	2742
3	83	9	8	167	2357
4	78	11	12	287	3462
5	81	10	10	266	3925
6	76	14	10	102	1400
7	81	9	10	288	4012
8	81	11	8	233	3430
9	81	10	9	183	2592
10	81	10	9	245	3718
	X: 79,7			Total: 2.266	

El 79,1 y 79,7% de los controles de INR ($\pm 0,2$) monitorizados en AP se encuentran dentro de rango.

Conclusiones:

1. La descentralización del control del TAO supone un avance en la accesibilidad del paciente.
2. Debe garantizarse la calidad de la formación de MAP, y su mantenimiento.
3. El control de INR de los CAP de nuestra área es excelente.
4. Disminución del número de pacientes con AVK, probablemente por introducción de ACOD.

- MAP pautan según se les enseñó, gracias a adaptabilidad de sistemas informáticos.
- Los sistemas informáticos de control de TAO suponen gran ayuda en monitorización de AVK pero es muy importante la valoración de los facultativos responsables.
- Esta valoración cuidadosa y la individualización de la dosis/paciente son responsables de los resultados obtenidos.

CO-174 La trombopoyetina circulante en pacientes con síndrome coronario agudo condiciona el efecto antiplaquetario de la aspirina

Latorre A.¹, Ferré M.², Madrid I.², Fuset P.², Santos M. T.¹, Vallés J.¹, Montesinos F.¹, Mena B.¹, Bonnad S.², Moscardó A.²

¹Instituto de Investigaciones Sanitarias La Fe (IIS La Fe). Valencia. ²Hospital Universitari i Politècnic de La Fe. Valencia

Introducción: La trombopoyetina (TPO) regula la producción de plaquetas, pero también puede actuar como “cebador” de la reactividad plaquetaria inducida por otros agonistas. Existen escasos datos sobre los efectos de la TPO en la función plaquetaria en pacientes con infarto agudo de miocardio con elevación del segmento ST (STEMI) tratados con aspirina y clopidogrel.

Objetivos: Estudiar los niveles de TPO y la función plaquetaria en pacientes con STEMI tratados con aspirina más clopidogrel.

Métodos: Se estudiaron 129 pacientes con STEMI (edad media $63,7 \pm \text{SEM } 1,2$ años, 103 hombres). Todos fueron tratados con aspirina y clopidogrel en el momento del evento agudo. La función plaquetaria se evaluó dentro de las 48 h del evento. Las pruebas (1) incluyeron: síntesis de TXA_2 y reclutamiento plaquetario inducido por colágeno (actividad proagregante de los liberados libres de células) en sangre completa; agregometría óptica inducida por ácido araquidónico (AA, 1 mM), colágeno (1 $\mu\text{g/ml}$), ADP (20 μM), U46619 (1 μM) y TRAP (15 μM). Fosforilación de VASP mediante citometría de flujo y tiempos de oclusión en el sistema PFA-100 con cartuchos de colágeno/epinefrina y colágeno/ADP. El TPO se evaluó mediante un ELISA comercial.

Resultados: Distribuimos a los pacientes en cuartiles de TPO (Q) y consideramos baja TPO el 1.º y 2.º Q (rango [16,02-64,09] ng/ml n = 62) y alta TPO el 3.º y 4.º Q (rango [65,6-267,85] ng/ml n = 67). Los pacientes con niveles altos de TPO presentaron un aumento significativo en los marcadores de función plaquetaria sensibles a la aspirina: agregación inducida por AA (%) ($16,95 \pm 2,82$ vs. $28,93 \pm 3,60$, $p = 0,011$), síntesis de TXA_2 inducida por colágeno (ng/ml) ($11,31 \pm 3,49$ vs. $27,72 \pm 4,49$, $p = 0,006$), reclutamiento plaquetario (mm) ($32,31 \pm 3,70$ vs. $51,61 \pm 4,77$, $p = 0,002$) y agregación inducida por colágeno (%) ($27,45 \pm 2,84$ vs. $37,28 \pm 3,72 \pm 0,022$). Por el contrario, los marcadores del efecto del clopidogrel como la agregación inducida por ADP o la fosforilación de VASP no se vieron influenciados por los niveles de TPO. No se encontraron diferencias relacionadas con los niveles de TPO en la agregación plaquetaria inducida por U46619 o TRAP o el PFA-100. Interesantemente, en aquellos pacientes que presentaban simultáneamente alta TPO y alto número de plaquetas se observó un aumento de 5 veces de la síntesis de TXA_2 residual.

Conclusiones: Los pacientes con TPO elevada tuvieron un efecto marcadamente reducido de aspirina, mientras que no se detectó influencia de TPO en el efecto del clopidogrel. Los datos sugieren que la TPO elevada es un factor determinante de la resistencia a la aspirina en pacientes con STEMI.

Financiación: FIS13 / 00016. ACIF / 2016/465. INVICTUS + (RD16 / 0019/0008).

Bibliografía

- Santos MT y cols. J Thromb Haemost 2008;6:615-61

CO-175 Evaluación de un programa de telecontrol en anticoagulación oral enfocado a las nuevas tecnologías de la información y comunicación (TIC)

Gómez Crespo M. J.¹, Pascual A.², Beltrán P.³, Vidal R.⁴, Bermejo L.², Velasco D.⁴, Lamas Sillero P.⁴

¹Hospital Infanta Sofía. San Sebastián de los Reyes, Madrid. ²Hospital Universitario Infanta Elena. Valdemoro, Madrid. ³Hospital Infanta Sofía. San Sebastián de los Reyes, Madrid. ⁴Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz. Madrid

Introducción: Las nuevas herramientas de comunicación, acceso a internet y los dispositivos y aplicaciones permiten a los pacientes controlar y realizar un seguimiento más estrecho de su enfermedad y así conseguir un emponderamiento de los mismos. Cada vez existe un mayor número de pacientes anticoagulados; a pesar de los nuevos tratamientos, el uso de los fármacos antivitaminas K (AVK) sigue siendo mayoritario a pesar de sus limitaciones.

Objetivo: Implantación de un programa de gestión del tratamiento con AVK mediante telecontrol, basado en la aplicación del “portal del paciente” de nuestro sistema informático.

Material y métodos: Estudio multicéntrico, descriptivo, prospectivo y transversal en el que se incluyeron un grupo de 250 pacientes de los HU Fundación Jiménez Díaz e Infanta Elena en tratamiento crónico con AVK, candidatas a entrar en un programa de telecontrol. Los criterios de inclusión fueron: indicación de anticoagulación indefinida, pacientes con mal control del tratamiento anticoagulante, capacidad para su gestión y manejo informático del paciente o familiares del programa de telecontrol. La formación en el manejo del coagulómetro (CoaguChek Roche) y programa informático se realizó en la UTA (Unidad de tratamiento antitrombótico) de ambos hospitales con la colaboración de enfermería.

La comunicación médico-paciente se establece a través del “portal del paciente”, herramienta tecnológica clave para poder llevar a cabo este proyecto, que está en versión web y App. El paciente introduce el valor de INR que ha obtenido mediante auto-medida, junto con comentarios que el facultativo deba saber. Esta información se vuelca de nuevo al portal del paciente y de aquí al sistema de gestión del tratamiento anticoagulante y a su historia clínica digital. Una vez que el hematólogo recibe la información del paciente, realiza la pauta del AVK y se la remite al paciente vía web.

Resultados: De un total de 250 pacientes, 4 fallecieron a lo largo del estudio por causas ajenas a la anticoagulación; 142 eran varones y 104 mujeres. 69 pacientes con indicación de fibrilación auricular/Flutter, 58 con prótesis mecánicas, 73 con ETEV y 16 con ACVA, 21 tenían trombosis en sitios inusuales y 13 otras patologías como LES, trombofilias, etc. Los resultados de las escalas recogidas fueron: RIETE: de 0-3 el 80,4%, de 3-4 el 3,2 %, y > 4 el 1,2 %. Un 95% de los pacientes estaban dados de alta en el portal del paciente y de los formularios asignados se entregaron cumplimentados el 97%. Los datos preliminares en 100 pacientes muestran resultados de TRT: 61,22% para las FA/Flutter; 69,5% para la ETEV y un 57% para las prótesis valvulares cardíacas.

Conclusiones: Este programa ha proporcionado a los pacientes la información y herramientas adecuadas para que tenga un papel más activo en su proceso de control del tratamiento con AVK. A pesar de ser una forma de descentralización del seguimiento de un tratamiento crónico, el paciente sigue conectado con el personal sanitario de una forma directa. Un gran número de paciente consigue tener un mejor control del INR a pesar de ser pacientes con riesgo alto en las escalas validadas. Hemos observado mejor control del tratamiento anticoagulante oral en estos pacientes.

CO-176 Evaluación de un protocolo de trombopprofilaxis en pacientes obesos candidatos a cirugía bariátrica

Marco Rico A.¹, Tomás Menor L.², Pérez Sala M.¹, López Marín J.¹, Marco Vera P.¹

¹Servicio de Trombosis y Hemostasia. Departamento de Hematología. Hospital General Universitario de Alicante. Alicante. ²Fundación para el Fomento de la Investigación Sanitaria y Biomédica de la Comunidad Valenciana (Fisabio). Valencia. Hospital General Universitario de Alicante. Alicante

Introducción: A pesar del número creciente de intervenciones de cirugía bariátrica hay muy pocos ensayos clínicos prospectivos y aleatorizados sobre la prevención de enfermedad tromboembólica venosa en pacientes con obesidad mórbida intervenidos de cirugía bariátrica. La incidencia de tromboembolismo venoso en esta población oscila entre 0.5-1 %, con diferentes esquemas de trombopprofilaxis. Según la ACCP las recomendaciones de profilaxis antitrombótica son equiparables a las de los pacientes quirúrgicos no ortopédicos de moderado-alto riesgo.

Objetivo: Nuestro objetivo es evaluar un protocolo de trombopprofilaxis ajustado al perfil de los pacientes obesos sometidos a cirugía bariátrica en nuestro centro.

Métodos: Realizamos un estudio prospectivo de cohortes en pacientes con obesidad mórbida, incluidos de forma consecutiva y candidatos a cirugía bariátrica entre abril de 2014 y Julio de 2015 en nuestro centro. Excluimos a los pacientes con antecedentes de tromboembolismo venoso o arterial o que estuvieran con cualquier tratamiento antitrombótico. Por acuerdo entre los Servicios de Hematología, Endocrinología y Cirugía General, todos los pacientes recibieron trombopprofilaxis con enoxaparina 60 mg diarios a partir de las 12-24 horas de la cirugía y se mantuvo los 30 días siguientes. Además, los primeros 7-10 días tras la cirugía,

a todos los pacientes se les aplicó compresión neumática intermitente. Analizamos la incidencia de enfermedad tromboembólica venosa sintomática y complicaciones hemorrágicas con significación clínica. Se completó el estudio con biomarcadores de hipercoagulabilidad: Generación de trombina, Fragmento F1+2 de la protrombina y Dímero-d (al mes y 6 meses de la cirugía).

Resultados: Se incluyeron 96 pacientes (72,5% mujeres, índice de masa corporal medio de $49,7 \pm 7,2$ kg/m²). Solo 1 paciente presentó un infarto esplénico a los 15 días de la cirugía, probablemente asociado al proceso quirúrgico. La enoxaparina se inició a las 12 horas de la cirugía, excepto en 10 pacientes que se retrasó a las primeras 24-36 horas por sangrado en herida quirúrgica. El 40% de los pacientes presentó hematomas en zona peripunción. Biológicamente, observamos una disminución estadísticamente significativa de la generación de trombina y F1+2 al mes y 6 meses de la cirugía, con valores de Dímero-d < 0.5 µg/ml. No realizamos control anti-Xa ya que la incidencia de previa de trombosis en pacientes obesos operados de cirugía general en nuestro hospital fue $< 4\%$ y todos los pacientes tenían una función renal normal (1).

Conclusión: En base a nuestros resultados, nuestro protocolo de trombopprofilaxis en pacientes obesos candidatos a cirugía bariátrica es seguro y eficaz. Comparando nuestros resultados con otras publicaciones, la incidencia de tromboembolismo venoso es equivalente a la de otros regímenes más agresivos de trombopprofilaxis tras 6 meses de seguimiento y ninguno de nuestros pacientes precisó transfusión de concentrados de hemáties.

Bibliografía

1. Gould MK, García da, Wren SM, et al. Prevention of venous thromboembolism in nonorthopedic surgical patients: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th Edition: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. CHEST 2012;141(Suppl. 2):227-77.

CO-177 ¿Existe nefropatía asociada a los anticoagulantes orales directos?

Flores K. J., Artaza G., Olivera Pavel E., Pero A., Velásquez C. A., Comai A., Ene G. S., Campoy D., Subirá M., Salinas R.

Unidad de Hematología Clínica. Banc de Sang i Teixits de Catalunya. Barcelona

Introducción: Se ha reportado un empeoramiento progresivo de la función renal en los pacientes anticoagulados con fármacos antivitaminas K que presentan hiperdescoagulación. En estos casos se produce un sangrado glomerular que provoca obstrucción tubular y daño renal. Nos planteamos si, dada la mayor previsibilidad del efecto de los anticoagulantes orales directos (ACOD), estos se asocian a una menor tasa de empeoramiento de la función renal.

Métodos: Se diseñó un estudio retrospectivo en el que se incluyeron todos aquellos pacientes que recibieron ACOD desde abril de 2016 hasta febrero de 2018 siempre que contaran con una reevaluación a los 3 meses de iniciado el tratamiento. Se evaluó la función renal al inicio y a los 3 meses mediante el método de Cockcroft-Gault. Para determinar el grado de insuficiencia renal hemos utilizado el documento de consenso de la Sociedad Española de Nefrología "Clasificación de la Enfermedad Renal Crónica".

Resultados: Se contabilizaron 85 pacientes anticoagulados con ACOD. La mediana de edad fue de 73 años (rango, 20-98) y el 55,3% son mujeres. Del total de pacientes, el 75,3% tenía una ETEV y el resto una FA. La distribución por grupos de tratamiento fue la siguiente: 40% (n = 34) en el grupo de Rivaroxaban, 30,6% (n = 26) en el de Edoxaban, 18,8% (n = 16) en el de dabigatran y 10,6% (n = 9) en el de Apixaban. El control previo al inicio del tratamiento anticoagulante mostró que el 35,3% de los pacientes presentaba una insuficiencia renal G3 o superior (FG < 60 ml/min). Pasados 3 meses se observó una insuficiencia renal G3 o superior en el 32,9% de los casos, es decir, una disminución porcentual respecto del control inicial. Se observó que del total de pacientes con insuficiencia renal G3 o superior en el control inicial, un 23,3% mejoró el filtrado glomerular. Solo 1 paciente desarrolló insuficiencia renal G4 pasados los 3 meses del control inicial partiendo de una insuficiencia renal G3 (1-3).

Conclusiones: En nuestro análisis no se observó un empeoramiento global de la función renal. Los resultados obtenidos apuntan a un posible factor protector de los ACOD en los pacientes anticoagulados con insuficiencia renal, aunque son necesarios estudios con una mayor potencia estadística para confirmar esta hipótesis.

Bibliografía

1. Documento de consenso para la detección y manejo de la enfermedad renal crónica. Nefrología 2014.
2. Piran S, et al. Incidence and risk factors for acute kidney injury in patients with excessive anticoagulation on warfarin: a retrospective study. J Thromb Thrombolysis 2018;45(4):557-61.
3. Brodsky SV, et al. Acute kidney injury aggravated by treatment initiation with apixaban: Another twist of anticoagulant-related nephropathy. Kidney Res Clin Pract 2017;36(4):387-92.

Coagulopatías congénitas

CO-178 Desarrollo de una nueva estrategia para el diagnóstico de las coagulopatías congénitas mediante técnicas de NGS

Ibáñez M.

Servicio de Hematología. Hospital Universitari i Politècnic de La Fe. Valencia. CIBERONC. Madrid

Introducción: El diagnóstico molecular de las coagulopatías congénitas confirma el diagnóstico, ayuda en el asesoramiento genético pre y postnatal y establece una correlación genotipo-fenotipo importante para el pronóstico y seguimiento de los pacientes. Su caracterización genética se dificulta por la complejidad genómica de los genes involucrados y por la heterogeneidad de las mutaciones que subyacen estos desórdenes. Por ello, es imprescindible una estrategia de diagnóstico que permita el análisis simultáneo de múltiples genes de manera rápida y coste-efectiva.

Objetivo: Diseñar e implementar una nueva estrategia de diagnóstico genético de las coagulopatías congénitas por secuenciación masiva (NGS).

Material y métodos: Se ha diseñado, validado e implementado un panel de 50 genes mediante NGS por tecnología de captura Custom SureSelect (Agilent). El panel incluye las regiones exónicas y las regiones flanqueantes de los genes seleccionados por su implicación en las coagulopatías congénitas (Tabla I). Se ha analizado 110 pacientes con coagulopatías congénitas y 10 casos controles. El análisis de variantes se realizó empleando el software de Cartagenia®, programas predictivos de efecto in silico (Mutation Taster, Polyphen, SIFT, DANN) y estudios de segregación familiar. Las bases de datos consultadas fueron Varsome, ClinVar, dbSNP, gnomAD y 1000 Genomes Project. Las variantes fueron categorizadas según los criterios del ACMG. Los resultados de NGS se validaron por Sanger. La implementación y validación del panel se efectuaron siguiendo las guías internacionales de interés (ISO 9001, ACCE, EuroGene Test, ACMG) y bajo el modelo ACCE (Analytical Validity, Clinical Validity, Clinical Utility, Ethical, Legal & Social implications).

Resultados: Todas las variantes previamente detectadas en los casos controles fueron confirmados por NGS. Siguiendo las recomendaciones establecidas por EuroGentest, se analizó la cobertura de todas las regiones incluidas en el panel y se mejoró el diseño de captura consiguiendo una cobertura del 99%. Asimismo, se identificaron variantes en el 59% de los pacientes analizados (n = 65), permitiéndonos confirmar su diagnóstico y establecer su pronóstico. De entre las mutaciones detectadas (n = 75), 65 fueron missense, 9 fueron indels y 1 causó un codón de parada prematuro. Además, el 87% de las variantes habían sido descritas previamente en las bases de datos consultadas. Todas las variantes detectadas por NGS fueron confirmadas por Sanger, lo que resultó en un nivel de especificidad y sensibilidad de la técnica del 100%.

Conclusiones: Es importante el proceso de validación del panel de genes para asegurar que todas las regiones de interés

Tabla I. Contenido del panel NGS de coagulopatías congénitas

Subcategorías del panel	Número de genes	Genes cubiertos
Mutaciones causantes de coagulopatías, fibrinólisis y desórdenes del complemento	30	FGA, FGB, FGG, FIBCD, F2, F3, F5, LMAN1, MCFD2, F7, F10, F11, F13A1, F13B, GGCX, VKORC1, F8, F9, VWF, KLB1, HRG, KNG1, PLAT, PLAUR, SERPINE1, PLG, PLGKT, TFP1, C1BQT, CPB2.
Desórdenes plaquetarios hereditarios	12	ITGA2B, ITGB3, GP1BA, GP1BB, P9, NBEAL2, RUNX1, ANKRD26, RBM8A, WAS, LYST, RAB27A, MYH9, AP3B1, BLOC1S3, BLOC1S6, DTNBP1, HPS1, HPS3, HPS4, HPS5, HPS6.
Otros desórdenes de hipercoagulación hereditarios	4	SERPINC1, PROS1, PROC, SERPIND1
Otros	4	ADAMTS13, CBS, MTHFR, ATM

están cubiertas y son analizadas correctamente. Esta información permite desarrollar nuevas versiones con un diseño mejorado. Nuestros resultados demuestran que esta estrategia es una herramienta precisa, reproducible y rápida para el diagnóstico genético de las coagulopatías congénitas.

Estudio financiado por las ayudas FEDER (CIBERONC (CB16/12/00284)), Instituto de Salud Carlos III: PI16/00665, PI16/011113, PI17/0015/0043; la Consellería de Educación, Cultura y Deporte: PROMETEOII/2015/008, AECC: Becas predoctorales en Oncología.

CO-179 Abordaje integral del diagnóstico molecular de las coagulopatías congénitas mediante la aplicación de un panel de NGS

Ramírez Orihuela L.¹, Comes Fernández N.¹, Borràs Agustí N.¹, Corrales Insa I.¹, Altisent Roca C.², Parra R.³, Vidal Pérez F.⁴

¹Banc de Sang i Teixits. Barcelona. Institut de Recerca Vall d'Hebron. Barcelona. Universitat Autònoma de Barcelona (VHIR-UAB). Barcelona. ²Institut de Recerca Vall d'Hebron. Barcelona. Universitat Autònoma de Barcelona (VHIR-UAB).

Barcelona. ³Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona. Banc de Sang i Teixits. Barcelona. Institut de Recerca Vall d'Hebron. Barcelona. Universitat Autònoma de Barcelona (VHIR-UAB). Barcelona. Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona. ⁴Banc de Sang i Teixits. Barcelona. Institut de Recerca Vall d'Hebron. Barcelona. Universitat Autònoma de Barcelona (VHIR-UAB). Barcelona. CIBER de Enfermedades Cardiovasculares. Barcelona

Introducción: En los últimos años, el diagnóstico molecular se ha aplicado a las coagulopatías congénitas más frecuentes, como la enfermedad de von Willebrand (VWD) y las hemofilias. Sin embargo, la secuenciación no estaba disponible para la mayoría de coagulopatías minoritarias debido al elevado coste de la implementación del estudio. Este paradigma ha cambiado drásticamente desde la aparición de las nuevas plataformas de secuenciación masiva (NGS), permitiendo estudiar un elevado número de muestras y genes simultáneamente.

Objetivo: El objetivo de este estudio consiste en evaluar la aplicación clínica de un panel de genes basado en NGS como herramienta de rutina para el diagnóstico molecular en pacientes con algún déficit congénito de la coagulación.

Métodos: Se secuenciaron un total de 557 individuos con alteraciones en algún factor de la coagulación, entre los que predominan la VWD, DFVII o HA (Tabla I). Para ello, se aplicó un panel

Tabla I. Clasificación de los resultados obtenidos tras secuenciación del panel de genes para el diagnóstico de las coagulopatías congénitas

Coagulopatía	Propósitos (n = 557)								
	Hombres (n = 291)				Mujeres (n = 266)				
	Se identifica mutación (n = 225)		No se identifica mutación (n = 66)		Se identifica mutación (n = 188)		No se identifica mutación (n = 78)		
	Mutación descrita previamente	Mutación nueva	Descartada coagulopatía	Estudios adicionales en curso	Mutación descrita previamente	Mutación nueva	Descartada coagulopatía	Estudios adicionales en curso	
Déficit Combinado de FV y FVIII	2	0	0	0	2	3	0	0	7
Déficit Fibrinógeno	8	3	1	0	8	5	1	0	26
Déficit Múltiple*	13	5	6	1	7	3	4	1	40
Déficit FII (DFII)	0	1	0	0	1	0	0	0	2
Déficit FV (DFV)	2	2	0	0	6	4	1	0	15
Déficit FVII (DFVII)	6	34	11	6	37	6	5	11	116
Déficit FX (DFX)	2	3	1	0	4	0	0	0	10
Déficit FXI (DFXI)	7	13	4	0	21	6	2	1	54
Déficit FXII (DFXII)	2	1	1	1	2	1	0	1	9
Déficit FXIII (DFXIII)	2	0	1	1	1	4	2	0	11
Enfermedad de von Willebrand (VWD)	24	10	11	1	30	11	27	6	120
Hemofilia A (HA)	14	57	13	1	12	3	9	1	110
Hemofilia B (HB)	9	4	4	0	7	0	2	0	26
Púrpura Trombocitopénica Trombótica (PTT)	0	0	2	0	0	1	4	0	7
Síndrome de Bernard Soulier	0	1	0	0	0	0	0	0	1
Trombastenia de Glanzmann	1	0	0	0	2	0	0	0	3
	92	134	55	11	140	47	57	21	557

*Casos en los que están alterados los niveles de más de un factor de la coagulación.

de genes (GeneRead DNaseq Custom Panel V2 de QIAGEN) diseñado a medida por nuestro equipo que permite amplificar 23 genes (Tabla II) responsables de 15 coagulopatías congénitas. Las regiones de interés fueron amplificadas conjuntamente en 4 PCRs secuenciadas en la plataforma MiSeq (Illumina), y analizadas con el *software* GeneRead Targeted Exon Enrichment Panel Data Analysis (Qiagen). Las regiones no cubiertas en los genes implicados, de acuerdo con la orientación clínica, y las mutaciones candidatas identificadas se confirmaron mediante secuenciación de Sanger.

Resultados: En 413 pacientes se identificó al menos una mutación, que en el 93,9% de los casos (388 pacientes) se encontraba en el gen candidato. En los 25 pacientes restantes, las mutaciones se localizaron en uno o más genes distintos a los de la orientación clínica inicial. Entre estos pacientes cabe destacar, por su importancia en el asesoramiento genético, la detección de cuatro portadoras de mutaciones en *F8* y una en *F9* sin antecedentes familiares de hemofilia. Un 7,1% de la población estudiada presentaba alteraciones en los niveles de más de un factor de la coagulación y en el 50% de estos casos se han hallado mutaciones en el *F7* y/o el *VWF*. En 24 pacientes se han identificado variantes mediante secuenciación tradicional no detectadas por NGS: en 15 casos se trata de mutaciones en regiones no cubiertas por el panel, y los 9 casos restantes no se deben a una menor sensibilidad de la técnica sino a errores (ya subsanados) en el algoritmo de análisis. En 181 individuos, se han identificado mutaciones no reportadas en la literatura. Es notorio que, a pesar que el *F8* ha sido históricamente uno de los genes más estudiados, la prevalencia de mutaciones nuevas (33,21%) en este gen sea tan elevada. Del 77,7% de pacientes donde no se ha detectado mutación (144 casos), se ha podido descartar el diagnóstico clínico de coagulopatía congénita. Sin embargo, en el 22,3% restante se llevan a

cabo estudios adicionales con el fin de determinar la base genética que explique su fenotipo.

Conclusiones: Los resultados demuestran que el panel diseñado es una herramienta precisa, rápida, económica y fiable para el diagnóstico genético, tanto de las coagulopatías más frecuentes como de las minoritarias. Por otra parte, ofrece una información mucho más amplia del sistema hemostático globalmente considerado, como polimorfismos asociados a la modificación de niveles que nos pueden ser de gran utilidad para intentar explicar aquellos casos donde no hay concordancia genotipo-fenotipo.

CO-180 Estudio de coagulopatías hereditarias por secuenciación masiva (NGS). La experiencia de un centro de diagnóstico

Martinho P.¹, Silva Pinto C.¹, Catarino C.², Rodrigues F.², Salvado R.³, Carvalho M.⁴, Calheiros M.⁵, Caetano G.⁶, Azevedo J.¹, Araújo L. F.¹, Kjollerstrom P.⁷, Costa M.⁸, Fidalgo T.¹, Ribeiro M. L.¹

¹Departamento de Hematología Clínica. Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra. Coimbra, Portugal. ²Serviço de Imunohemoterapia. Hospital Santa Maria. Lisboa, Portugal. ³Serviço de Imunohemoterapia. Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra. Coimbra, Portugal. ⁴Serviço Imunohemoterapia. Hospital São João. Oporto, Portugal. ⁵Serviço Imunohemoterapia. Hospital São Marcos. Braga, Portugal. ⁶Centro Hospitalar do Algarve. Faro, Portugal. ⁷Serviço Hematología Pediátrica. Hospital Estefânia. Lisboa, Portugal. ⁸Serviço Imunohemoterapia. Hospital de São Teotónio. Viseu, Portugal

Introducción: El desarrollo de las tecnologías de next-generation sequencing (NGS) con paneles de genes dirigidos introducirán en la práctica clínica beneficios sustanciales para el diagnóstico definitivo en las enfermedades hematológicas, sobretudo en patologías en que el gen candidato no es obvio. Esta metodología ha cambiado los algoritmos de estudio en los centros de diagnóstico mas además contribuye para una visión más amplia de las causas moleculares de las enfermedades, identificando una gran heterogeneidad genética y permitiendo una mejor correlación genotipo/fenotipo.

Objetivo: Mejorar la capacidad de diagnóstico con un flujo de trabajo por NGS con panel de 43 genes para el diagnóstico discrasia hemorrágica, trombosis y sospecha de anomalías plaquetares (DH, T y AP).

Material y métodos: Estudiamos 190 pacientes (media edad 36,3 años (1-78); 114 mujeres), desde mayo 2017, provenientes de varios hospitales centrales del país con los datos clínicos de DH (n = 114), T (n = 54) y AP (n = 22) para elucidación de diagnóstico molecular con el panel que incluye los genes: asociados a anomalías de factores de la coagulación: *F2, F3, F5, F7, F8, F9, F10, F11, F13A1, F13B, LMAN1, MCFD2, FGA, FGB, FGG, GGCX, VKORC1, VWF*; asociados a la trombosis: *PROC, PROS1, SERPINC1, SERPINE1, SERPINF2, THBD, PLAT, PLG, ANXA5, PLAU, F12*; asociados a trastornos plaquetares: *GP1BB, GP1BA, GP9, ITGA2B, ITGB3, NBEAL2, NBEA, GP6, TBXA2R, P2RY12, ANKRD26, CYCS, PLA2G4A, TUBB1*. La preparación de librerías y uso del panel fue según el protocolo Ion Torrent™ PGM y IonS5 sequencing system (Thermo Fisher Scientific). El algoritmo de estudio contempla en hemofilia A severa la exclusión inicial de

Tabla II. Coagulopatías congénitas incluídas en el panel y genes asociados

Coagulopatía congénita	Genes implicados
Déficit combinado de FV y FVIII	LMAN1; MCFD2
Déficit fibrinógeno	FGG; FGB; FGA
Déficit FII (DFII)	F2
Déficit FV (DFV)	F5
Déficit FVII (DFVII)	F7
Déficit FX (DFX)	F10
Déficit FXI (DFXI)	F11
Déficit FXII (DFXII)	F12
Déficit FXIII (DFXIII)	F13A1; F13B
Enfermedad de von Willebrand (VWD)	VWF
Hemofilia A (HA)	F8
Hemofilia B (HB)	F9
Púrpura trombocitopénica trombótica (PTT)	ADAMTS13
Síndrome de Bernard Soulier	GP9; GP1BB; GP1BA
Trombastenia de Glanzmann	ITGB3; ITGA2B

IVS1 y IVS22 del *F8* por PCR largo y detección de deleciones/duplicaciones por MLPA.

Resultados: Fueran identificadas mutaciones en 132 de los 190 pacientes que justificaran los respectivos fenotipos y fueran concordantes con los estudios funcionales. En el total 89 variantes patogénicas diferentes, en 21 de los 43 genes del panel, siendo 20 nuevas (Tabla I). De los 114 pacientes con DH en 103 (90%) fueran detectadas variantes en los genes *F5*, *F7*, *F8*, *F9*, *F10*, *F11*, *F13A1*, *LMAN1*, *FGA*, *FGB*, *GGCX*, *VWF*; en los 22 pacientes con AP (trombocitopenia familiar, macrotrombocitopenia, trombostenia Glanzman, síndrome plaqueta gris y otros trastornos plaquetarios) se identificaron variantes en 16 (73%) en los genes *GP1BA*, *ITGA2B*, *ITGB3*, *NBEAL2*, *ANKRD26* y *TUBB1*; en los 54 pacientes con trombosis fueran identificadas variantes en 14 (26%) en los genes *PROC*, *PROS1* y *SERPINC1*.

En los varios grupos de pacientes fue posible identificar dobles heterocigotos (*F8*, *VWF*), heterocigotos compuestos que explicarían fenotipos intrafamiliares más heterogéneos.

Conclusión: Encontramos una sensibilidad de identificación de mutaciones diferente entre los 3 grupos de pacientes, siendo que el grupo de trombosis el que reveló una menor eficacia de diagnóstico. Estos datos evidencian la necesidad de paneles de creciente de complejidad y en algunos pacientes el estudio del exoma. Sin embargo, la NGS constituye una herramienta valiosa en nuestra práctica clínica, complementando los estudios funcionales y proporcionando un diagnóstico más correcto, sobretodo en las

deficiencias más raras, ayudando a determinar el tratamiento más eficaz en estas enfermedades complejas.

CO-181 Estudio farmacoeconómico e impacto clínico del tratamiento con efmoctocog alfa en pacientes con hemofilia A

Martínez García M. F.¹, Martorell Murtra M.¹, Fernández Caballero M.¹, Juárez Giménez J. C.¹, Sitges Arriaga M.², Martín Rodríguez L.¹, Johansson E.¹, Cerdá Sabater M.¹, Cerezo-Manchado J. J.¹, Santamaría Ortiz A.¹, Bosch Albareda F.¹

¹Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona. ²Hospital Universitari German Trials i Puyol. Barcelona

Introducción: El factor VIII-Fc recombinante (efmoctocog alfa) es el primer Factor VIII (FVIII) de vida media extendida (EHL) disponible en nuestro país. El uso de este factor podría ofrecer la posibilidad de reducir el número de infusiones en algunos pacientes o aumentar la protección hemostática.

Objetivo: Nuestro objetivo fue comprobar si esto sucedía en nuestros pacientes, así como valorar si existe un beneficio económico.

Material y métodos: Realizamos un estudio observacional retrospectivo en los pacientes con diagnóstico de Hemofilia A grave (HAG) tratados en la Unidad de Hemofilia del Hospital Vall d'Hebron de Barcelona, los cuales cambiaron de tratamiento con FVIII estándar a FVIII-Fc.

Se revisaron las historias clínicas de los 8 pacientes (Tabla I) que han recibido tratamiento con FVIII-Fc durante un mínimo de 3 meses. Se recogieron datos acerca del consumo de FVIII y del número de hemorragias totales y espontáneas. Se compararon las variables recogidas durante el tratamiento con FVIII estándar previo y con el tratamiento con FVIII-Fc.

Resultados: La media de seguimiento de estos 8 pacientes fue de 7,3 meses (3-12 meses) para cada uno de los periodos de tratamiento.

Dos pacientes (25%) eran pediátricos (2 y 16 años) y el resto eran adultos con una mediana de edad de 44 años (23-64 años). El 75% (6 sujetos) recibían tratamiento profiláctico previo, mientras que el resto lo hacían a demanda. Luego del cambio de factor el 100% pasó a profilaxis.

De los pacientes con profilaxis previa, el 67% (4) logró disminuir el número de infusiones mensuales. El tratamiento profiláctico con FVIII-Fc supuso una reducción del 19% del consumo de unidades al mes y 35% del gasto económico mensual (Tabla II). De los 2 que no recibían profilaxis previa, uno mantuvo el número de infusiones mensuales, pero logró disminuir las dosis y aumentar la protección hemostática, el otro paciente presentó aumento de las infusiones y, por lo tanto, de la dosis mensual ya que se trataba de un paciente pediátrico en crecimiento. Se observó disminución en el número de hemorragias (totales y espontáneas) durante el tratamiento con FVIII-Fc. (Tabla III).

Conclusiones: En nuestra serie de pacientes se evidenció una disminución del consumo de FVIII destinado a la profilaxis de los pacientes con HAG así como disminución en la media de sangrados mensuales en estos pacientes.

Tabla I. Variantes patogénicas nuevas detectadas en la cohorte de 190 pacientes

Gen	Exón	Nt	Aminoácido	zigotía
F5	10	c.1576T>C	p.Cys526Arg	heterozigotía
F5	14	c.4876delA	p.Ser1626Alafs*38	heterozigotía
F8	18	c.5836G>T	p.Asp1946Tyr	hemizigotía
F8	22	c.6302A>G	p.His2101Arg	hemizigotía
F8	19	c.6014T>G	p.Val2005Gly	hemizigotía
F7	8	c.871C>T	p.Pro291Ser	heterozigotía
F10	8	c.1196C>T	p.Thr399Ile	heterozigotía
F11	9	c.1026G>T	p.Gly342Gly	heterozigotía
F13A1	7	c.931C>T	p.Arg311Trp	heterozigotía
GGCX	10	c.1306C>T	p.Arg436*	heterozigotía
FGB	4	c.718G>A	p.Glu240Lys	heterozigotía
PROS1	6	c.570_571insT	p.Val191Cysfs*6	heterozigotía
PROS1	7	c.678_679delTG	p.Cys226*	heterozigotía
SERPINC1	4	c.679G>A	p.Glu227Lys	heterozigotía
GP1BA	2	c.1363_1364delATinsCA	p.Ile455His	heterozigotía
ITGA2B	28	c.2906C>T	p.Ala969Val	heterozigotía
NBEAL2	10	c.1051delG	p.Ala351Argfs*14	heterozigotía
NBEAL2	11	c.1189T>C	p.Ser397Pro	heterozigotía
NBEAL2	4	c.c.6690_6691insGGTA	p.Phe2232Argfs*3	heterozigotía
NBEAL2	27	c.4180delG	p.Pro1395Argfs*59	homozigotía

Tabla I. Características de pacientes al momento de cambio de factor

Paciente	Edad	Diagnóstico	Pauta con FVIII estándar	Pauta con FVIII-FC
1	23	HAG + EVW tipo 1	1.500 UI c/24 h	3.000UI c/48 h
2	64	HAG	2.000 UI 2v/semana	2.000UI c/5 días
3	41	HAG	3.000 UI a demanda	6.000UI c/7 días
4	46	HAG	2.000 UI a demanda	2.000UI c/5 días
5	16	HAG	3.000 UI 2v/semana	2.500UI 2v/semana
6	61	HAG	2.000 UI 2v/semana	2.000UI c/7 días
7	2	HAG	500 UI 1v/semana	500UI 2v/semana
8	34	HAG	2.000UI 2v/semana	2.000UI c/5 días

Tabla II. Resultados fármaco-económicos

	Media	
	FVIII estándar	FVIII-FC
Total pacientes n = 8		
U/mes	17.594 UI	17.875 UI
Gasto en euros/mes	8.708 €	7.150 €
Pacientes profilaxis previa n = 6		
U/mes	21.375 UI	17.333 UI
Gasto en euros/mes	10,631 €	6,933 €

Tabla III. Resultados clínicos

	Mediana (rango)	
	FVIII estándar	FVIII-FC
Total pacientes n = 8		
Consumo (U/kg/mes)	254 (43-451)	205 (150-451)
Sangrados totales/mes	0,5 (0,0-0,8)	0,0 (0,0-0,5)
Sangrados espontáneos /mes	0,1 (0,0-0,4)	0,0 (0,0-0,2)
Pacientes profilaxis previa n = 6		
Consumo (UI/kg/mes)	279 (183-451)	205 (155-451)
Sangrados totales/mes	0,2 (0,0-0,8)	0,0 (0,0-0,4)
Sangrados esp/mes	0,0 (0,0-0,4)	0,0 (0,0-0,0)

CO-182 Mayor protección frente a los inhibidores con el complejo natural FVIII/FVW que con un concentrado de FVIII de vida media prolongada (BDD-rFVIII-Fc)

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

Grifols. Barcelona

Introducción: Los concentrados de Factor VIII (FVIII) para el tratamiento de la hemofilia están disponibles bien como complejo natural de FVIII y Factor von Willebrand (FVW) purificado de plasma (pd), o bien como FVIII aislado, sin FVW, obtenido por tecnología de ADN recombinante (rFVIII). Recientemente se han comercializados productos con moléculas de rFVIII modificadas con el objetivo de intentar aumentar la vida media del FVIII circulante. Estos nuevos productos se conocen como concentrados de vida media prolongada (EHL, en inglés). Actualmente, los EHL comercializados son proteínas de fusión con Fc y rFVIII PEGilado. En el presente estudio se evaluó la capacidad neutralizadora de inhibidores del FVIII frente a un concentrado EHL y se comparó con el complejo natural pdFVIII/VWF.

Métodos: Los inhibidores deFVIII (IgG) se purificaron a partir de una mezcla de plasmas de pacientes hemofílicos por cromatografía de afinidad mediante proteína G.Los concentrados de FVIII (complejo natural pdFVIII/FVW y EHL consistente en rFVIII con dominio B eliminado y proteína de fusión Fc [BDD-rFVIII-Fc] obtenido en células humanas embrionarias renales) se llevaron a 1 IU/mL FVIII:C y se incubaron 1:1 con diluciones seriadas de IgG en presencia de 1 IU/mL pdFVW (sin FVIII, Wilfact®). En un segundo grupo de experimentos, los concentrados de FVIII se premezclaron con pdFVW y posteriormente se incubaron con el inhibidor. Tras 2 horas a 37 °C, el FVIII:C residual se determinó mediante ensayo cromogénico y se realizó la titulación de inhibidores siguiendo el cálculo del método Bethesda. Se ensayaron tres determinaciones independientes para cada concentrado de FVIII. Para las comparaciones estadísticas se utilizó el test Mann-Whitney.

Resultados: Los resultados del ensayo Bethesda mostraron una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,0001$) entre el título obtenido con el BDD-rFVIII-Fc ($16,77 \pm 1,11$ BU/ml, media \pm DS) y el concentrado de complejo natural pdFVIII/FVW ($10,97 \pm 1,72$ BU/ml). El patrón de resultados fue similar cuando el FVIII se premezcló con pdVWF previo contacto con inhibidores.

Conclusiones: Esta es la primera vez que el BDD-rFVIII-Fc ha sido testado en un modelo *in vitro* para comparar su reactividad (antigenicidad) frente a inhibidores reales. De acuerdo con los datos anteriormente reportados, el concentrado de EHL-FVIII mostró un FVIII:C residual significativamente más bajo que el concentrado que contiene el complejo natural pdFVIII/FVW, tras ser enfrentado a una mezcla de inhibidores de FVIII. Este efecto se observó también incluso después de la incubación previa del FVIII con FVW aislado, para formar el complejo rFVIII/VWF *in vitro* antes de los ensayos. Estos resultados coinciden con los obtenidos con otros productos con FVIII aislado (referencia) y confirman que dichos productos, independientemente de su origen, forma mole-

cular, líneas celulares implicadas o modificación EHL, presentan una mayor reactividad frente a los inhibidores en comparación a la del complejo natural pdFVIII/VWF.

CO-183 Ecografía como método para detección precoz de alteraciones articulares subclínicas en niños hemofílicos: experiencia de un centro asistencial

Seivas T.¹, Roriz D.², Abreu I.², Pissara P.², Patrício D.¹, Veiros I.³, Moreira Á.², Noruegas M. J.², Salvado R.¹, Tomaz J.¹

Serviços de ¹Medicina Transfusional; ²Imagiologia; y ³Medicina Física e Reabilitação. Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (CHUC), EPE. Coimbra, Portugal.

Introducción: Profilaxis es la modalidad terapéutica considerada gold standard en niños con hemofilia grave, una vez que la administración regular de factor previene el daño articular y su consecuente pérdida de calidad de vida. Sin embargo, aun estando en profilaxis, los pacientes pueden tener hemorragias, mayoritariamente subclínicas (HSc). La detección precoz de la artropatía hemofílica (AH) puede ser útil para adecuar el tratamiento e impedir su desarrollo. La técnica imagiológica más sensible es la Resonancia (RM), pero no es la ideal como test de rutina sin embargo en los últimos años la ecografía se está destacando como un excelente método para la detección precoz del daño articular siendo actualmente una de las más utilizadas.

Material y métodos: 14 hemofílicos graves en edad pediátrica. Edad mediana 10,5 (6-18), 12 hemofílicos A, 2 hemofílicos B, 1 con inhibidores (Tabla I). Estudiadas 84 articulaciones (codo, rodilla, tobillo). Monitorización de AH por: escala de Gilbert (SG),

EcoA (score HEAD-US) y RM (score IPSPG). Grupo 1 (n pacientes = 10, n articulaciones = 79): SG negativo, prosigue con rastreo por EcoA; Grupo 2 (n pacientes = 4, n articulaciones = 5): con alteraciones SG, prosigue para evaluación del grado de AH por EcoA y RM. (Figs. 1 y 2).

Resultados: Cambio del régimen de profilaxis en 10 pacientes. De las 84 articulaciones estudiadas: 17% (n = 14) con alteraciones leves en SG, 18% (n = 15) con alteraciones en HEAD-US. SG y HEAD-US sin correlación (p = 0,14). En el Grupo 2 el SGs y HEAD-US más elevados, son acompañados de IPSPG proporcionalmente más elevados.

Conclusión: Número reducido de alteraciones sugestivas de AH en SG y EcoA, probablemente en relación con una población pediátrica en profilaxis, de acuerdo con la literatura. En los casos en que el IPSPG es superior al HEAD-US esto se debe a alteraciones como depósitos de hemosiderina, hipertrofia sinovial o quistos subcondrales. Así, la RM ha permitido detectar más alteraciones que la EcoA en la identificación de alteraciones articulares leves. Sin embargo, existe apenas un caso en el que el HEAD-US ultrapasa el SG, lo que hace pensar que la EcoA es una buena herramienta para detectar consecuencias de hemorragias subclínicas. Además, es más sencilla de ejecutar, sobre todo en niños, evitándose, por ejemplo, la sedación casi siempre necesaria para RM. La evaluación clínica e imagiológica (EcoA y RM) son complementares y herramientas útiles en la monitorización del tratamiento y de la AH. Tratándose de un estudio observacional, solo permite, por ahora asumir que el método imagiológico a utilizar depende de la disponibilidad y experiencia del radiólogo. Aun así, por su sencillez hemos adoptado la EcoA por rutina en nuestros pacientes y esto ya nos ha permitido hacer ajustes en la frecuencia del tratamiento profiláctico, por ejemplo. Pretendemos ampliar nuestra muestra, con un estudio multicéntrico y prospectivo.

Tabla I

	Edad a la evaluación (años)	Hemofilia	Edad al diagnóstico	Edad inicio de profilaxis	Dosis y frecuencia de profilaxis inicial	Primera EcoA	Dosis y frecuencia de profilaxis actual
Paciente 1 (RCG)	8	A	3 años	4 años	30 U/kg, 2x/semana	30/05/2014	30 U/kg, 3x/semana
Paciente 2 (RIFL)	19	A	10 meses	10 años	30 U/kg, 2x/semana	05/06/2014	30 U/kg, 2x/semana
Paciente 3 (MTF)	2	A	3 meses	2 años	30 U/kg, 2x/semana	30/05/2014	30 U/kg, 3x/semana
Paciente 4 (JGG)	4	A	12 meses	15 meses	30 U/kg, 2x/semana	18/07/2014	30 U/kg, 3x/semana
Paciente 5 (DFA)	3	A	8 meses	19 meses	30 U/kg, 2x/semana	03/09/2104	30 U/kg, 3x/semana
Paciente 6 (SIFL)	5	A	1 mes	2 años	30 U/kg, 2x/semana	03/11/2014	30 U/kg, 3x/semana
Paciente 7 (SCA)	9	A	2 años	2 años	30 U/kg, 2x/semana	20/02/2015	30 U/kg, 3x/semana
Paciente 8 (RPP)	7	B	1 año	13 meses	40 U/kg, 2x/semana	24/10/2014	40 U/kg, 2x/semana
Paciente 9 (TTC)	4	A	24 horas de vida	4 años	30 U/kg, 2x/semana	31/10/2017	30 U/kg, 3x/semana
Paciente 10 (DRM)	9	B	15 meses	6 años	40 U/kg, 2x/semana	22/08/2014	40 U/kg, 2x/semana
Paciente 11 (PFC)	4	A	24 horas de vida	16 meses	30 U/kg, 2x/semana	11/07/2014	50 U/kg, 3x/semana
Paciente 12 (MDC)	3	A	13 meses	17 meses	30 U/kg, 2x/semana	05/06/2014	30 U/kg, días alternos
Paciente 13 (GMQ)	8	A	14 meses	14 meses	30 U/kg, 2x/semana	06/06/2014	30 U/kg, 3x/semana
Paciente 14 (AFN)	15	A	14 meses	6 años	30 U/kg, 2x/semana	28/08/2015	30 U/kg, 3x/semana

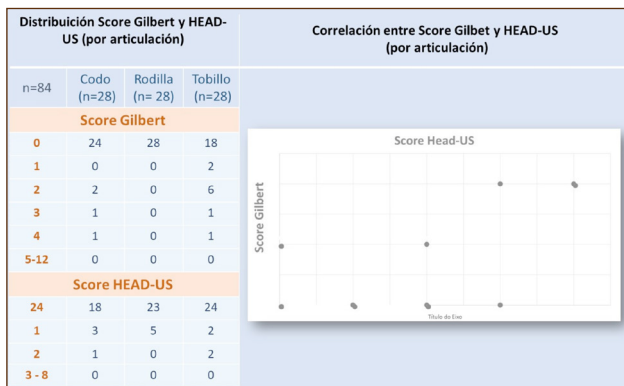


Figura 1.

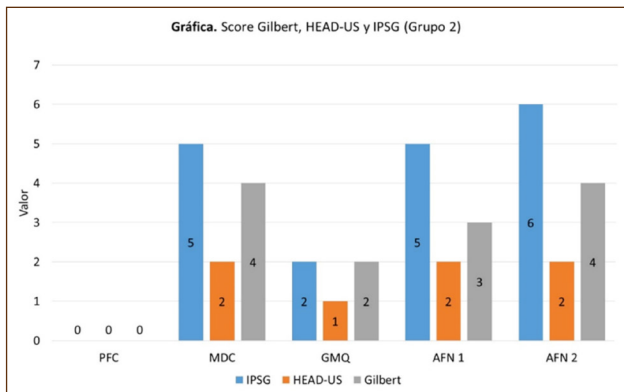


Figura 2.

Métodos de diagnóstico y marcadores

CO-184 Papel del ácido siálico en el sistema hemostático: resultados de un modelo *in vitro*

Revilla N.¹, López-Gálvez R.¹, de la Morena-Barrio M. E.², López-Lera A.³, Miñano A.¹, Vicente V.², Lozano M. L.², Corral J.²

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

Introducción: Todas las proteínas del sistema hemostático presentan glicosilación. Por tanto, contienen alto contenido de ácido siálico en su superficie. La expresión de neuraminidasas endógenas

o de agentes infecciosos puede provocar la reducción de los niveles de ácido siálico. La transcendencia de este monosacárido ácido en hemostasia es poco conocida, aunque existen datos sobre su papel en el aclaramiento de plaquetas tanto en situaciones fisiológicas como patológicas (Grozovsky *et al.* Blood 2015;126:1877-84).

Objetivo: Valorar el papel del ácido siálico de manera global e individual en elementos clave del sistema hemostático.

Métodos: Modelo de desialilación *in vitro* por tratamiento con neuraminidasa de amplio espectro de plasma y plaquetas (12 h y 1 h respectivamente, 37 °C) procedente de controles sanos. La desialilación fue verificada mediante electroforesis y *western blot* para proteínas plasmáticas y mediante la unión de RCA-lectina a grupos galactosa por citometría de flujo en el caso de proteínas plaquetarias.

Estudios funcionales en 1) antitrombina (actividad anti-Xa y anti-FIIa), 2) FXII (activación con sílica y dextran sulfato —DxS— mediante *western blot* y sistema cromogénico), efecto en sus dianas (FXI, calicreína, o complemento), e inhibición por C1-inhibidor (C1INH) (ELISA).

Estudios globales del sistema hemostático: tiempos de la coagulación (aPTT y TP), generación y degradación del coágulo de fibrina (activación con factor tisular o sílica, en presencia y ausencia de rTPA), agregación plaquetaria y activación/secreción de gránulos plaquetarios de forma basal. Estudios de tamaño y niveles inmunoreactivos de determinadas proteínas de superficie plaquetaria en muestras no activadas mediante citometría de flujo.

Resultados: El análisis del efecto de la pérdida de ácido siálico en proteínas pro y anticoagulantes mostró que la antitrombina plasmática desialilada mantiene íntegramente su actividad anti-Xa y anti-FIIa. Aunque el mejor reconocimiento inmunológico del FXII plasmático desialilado podría inducir erróneamente a considerar que este se activa más potentemente que el FXII con siálico (Fig. 1), el estudio con métodos cromogénicos reveló una activa-

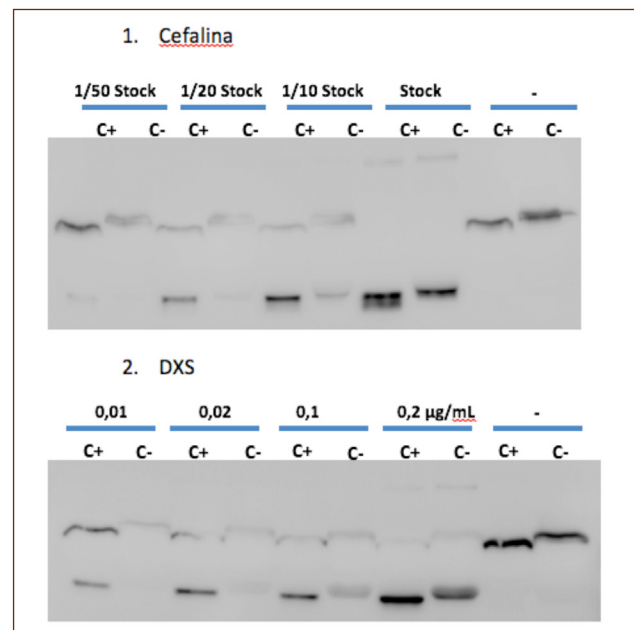


Figura 1.

ción similar. Tampoco se observaron diferencias en la activación del FXI ni calicreína. La actividad total de complemento, tanto a través de la vía clásica, como de la vía alternativa fue normal (n = 4).

En cuanto a las pruebas de hemostasia global, no se encontraron diferencias en TP (83% en plasma desialilado vs 79%, n = 4) ni en aPTT (34,0" vs 34,1", n = 4). La formación y degradación del coágulo fue también similar a la del plasma no desialilado en todas las condiciones evaluadas (Fig. 2), y no se observó agregación espontánea en las plaquetas desialiladas.

Las plaquetas desialiladas mostraron niveles de expresión de glicoproteínas (Gp) en superficie, activación/secreción de gránulos plaquetarios de forma basal similar a la observada en plaquetas control (n = 38) (Tabla I).

Conclusiones: Este trabajo analiza por vez primera el efecto de la desialilación global en hemostasia. Aunque los niveles de glicosilación pueden tener importantes implicaciones en el reconocimiento inmunológico y en aclaramiento de las proteínas, nuestro modelo indica que la pérdida de ácidos siálicos no tiene un impacto mayor en ninguno de los parámetros evaluados relacionados con la funcionalidad *in vitro* de proteínas de coagulación y plaquetas.

Tabla I	
	Plaquetas control desialiladas (n = 38)
FSC (ratio):	0,99 ± 0,09
GpIIb (ratio):	1,15 ± 0,33
GpIba (ratio):	1,02 ± 0,11
GpIX (ratio):	1,02 ± 0,07
CD62-P (ratio):	0,95 ± 0,14
CD63 (ratio):	1,04 ± 0,15
RCA-1 (ratio):	3,40 ± 3,35

Se analizó mediante citometría de flujo (CMF) el tamaño plaquetario (FSC), la expresión en superficie de las glicoproteínas (Gp) IIb, Iba y IX y la activación/secreción de gránulos plaquetarios (CD62 y CD63). La pérdida de ácidos siálicos en superficie se evaluó mediante la unión de RCA-lectina a grupos galactosa. Los resultados de citometría se expresan como mediana de intensidad de fluorescencia media ± desviación estándar respecto a la misma plaqueta control sin neuraminidasa.

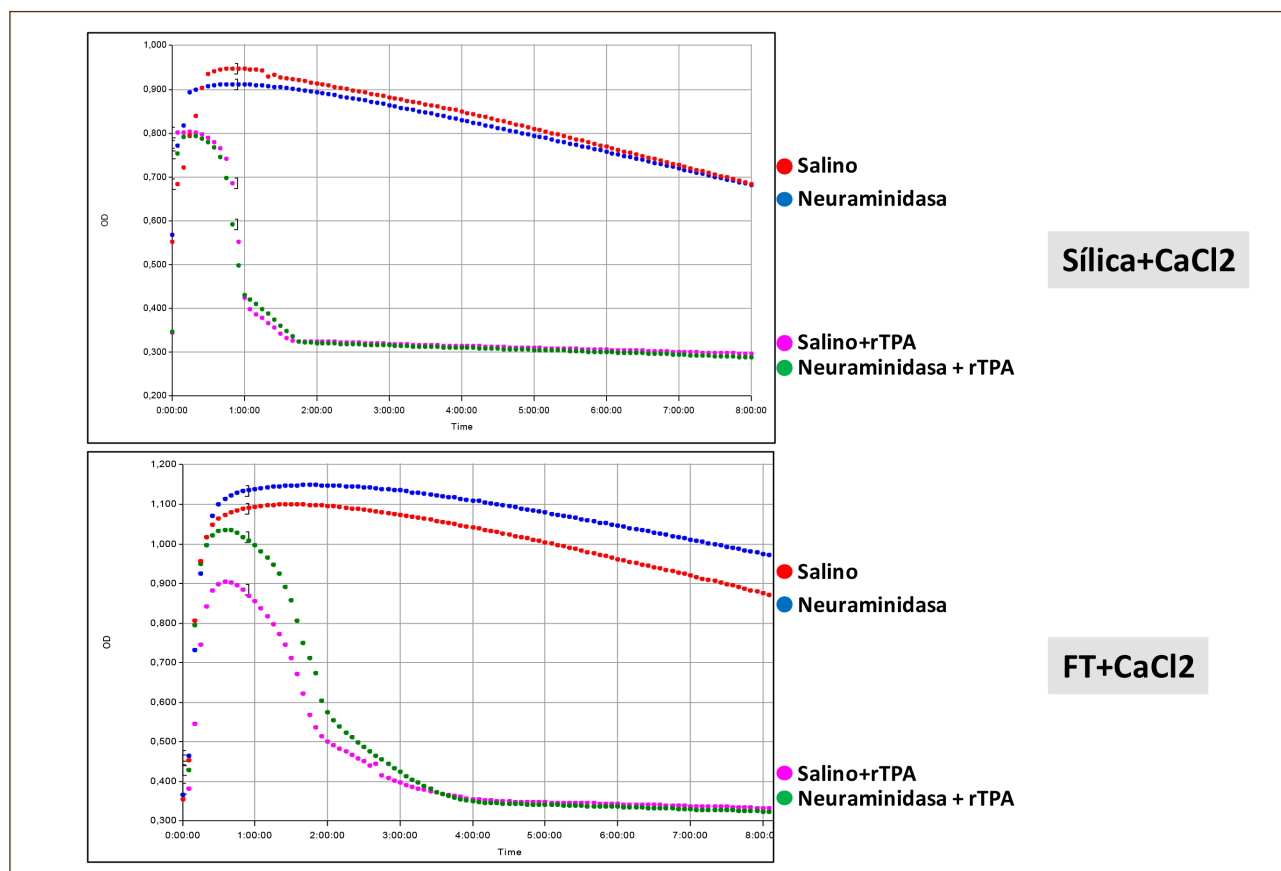


Figura 2.

CO-185 Validación de un perfil de 6 miRNAs predictor de embolismo pulmonar incidental posquirúrgico temprano en pacientes con glioma

Oto J.¹, Plana E.², Hervás D.³, Solmoirago M. J.¹, Fernández-Pardo A.¹, Santillana N.¹, Ponce-Mora A.¹, España F.¹, Navarro S.¹, Artoni A.⁴, Bucciarelli P.⁴, Carrabba G.⁵, Merati G.⁴, Medina P.¹

¹Grupo de Investigación en Hemostasia, Trombosis, Arteriosclerosis y Biología Vascul. Instituto de Investigación Sanitaria de La Fe. Valencia, España.

²Grupo de Investigación en Hemostasia, Trombosis, Arteriosclerosis y Biología Vascul. Instituto de Investigación Sanitaria de La Fe. Valencia, España. Servicio de Angiología y Cirugía Vascul. Hospital Universitari i Politècnic de La Fe. Valencia, España. ³Unidad de Bioestadística. Instituto de Investigación Sanitaria de La Fe. Valencia, España. ⁴A. Bianchi Bonomi Hemophilia and Thrombosis Centre; y ⁵Neurosurgery Unit. Fondazione IRCCS Ca'Granda Ospedale Maggiore Policlinico. Milán, Italia

Introducción: Los tumores intracraneales aumentan el riesgo de trombosis, y pueden causar embolismo pulmonar (EP) incidental tras una cirugía. La caracterización de nuevos biomarcadores puede ayudar a identificar pacientes oncológicos con elevado riesgo trombótico. Los microRNAs (miRNAs) son pequeñas moléculas de RNA que regulan la expresión proteica y parecen estar implicados en la progresión del cáncer y el TEV.

Objetivo: Nuestro objetivo fue generar y validar un modelo predictivo de miRNAs capaz de predecir EP postquirúrgico en pacientes con glioma.

Métodos: Reclutamos prospectivamente y realizamos el seguimiento después de la cirugía a 50 pacientes con glioma, todos ellos con un *scan* de perfusión pulmonar negativo al reclutamiento. Diagnosticamos objetivamente un EP en 17 pacientes en los 7 primeros días post-cirugía. En muestras de plasma obtenidas antes de la cirugía, cuantificamos la expresión de 179 miRNAs con el *Serum/Plasma Focus microRNA PCR Panel V4* (Exiqon) en 10 pacientes con glioma (5 desarrollaron EP y 5 no). Estimamos la capacidad predictiva de EP post-quirúrgico como el área bajo la curva ROC (AUC) mediante un modelo de regresión logística multivariable con R (v3.5.0). Posteriormente, validamos este modelo predictivo en un grupo independiente de pacientes con glioma (12 con EP y 28 sin EP). Adicionalmente, buscamos en las bases de datos *miRWalk* y *KEGG* las dianas predichas de estos miRNAs relacionadas con la ruta del complemento y la cascada de la coagulación.

Resultados: Hemos ajustado un modelo de regresión logística *Elastic Net* para la estimación del riesgo de EP en pacientes con glioma mediante los niveles de expresión de 6 miRNAs (miR-363-3p, miR-93-3p, miR-22-5p, miR-451a, miR-222-3p y miR-140-3p) antes de la cirugía. Hemos validado el modelo en una cohorte independiente de pacientes obteniendo una AUC=0,78 (IC 95%: 0,63-0,94) que supera la capacidad predictiva del modelo de Khorana en estos pacientes (AUC = 0,52).

Conclusiones: Antes de la cirugía, el nivel de expresión de un perfil de 6 miRNAs es un buen predictor del EP incidental posquirúrgico en pacientes con glioma. Además, nuestro modelo predictivo es muy superior al de Khorana, actualmente utilizado en

la práctica clínica. La estimación del riesgo de cada paciente con glioma antes de la cirugía podría ser de gran utilidad para prevenir el EP a través de una tromboprofilaxis personalizada.

Financiación: ISCIII-FEDER (PI12/00027, Red RIC RD12/0042/0029, PIE13/00046, PI14/00079, PI14/00512, FI14/00269, CPII15/00002, PI17/00495), Generalitat Valenciana (PrometeoII/2015/017, ACIF/2017/138), Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia y GR-2011-02347854.

CO-186 Utilidad del test de generación de trombina en diversos fenotipos clínicos para pronosticar las recurrencias trombóticas en pacientes con cáncer sin tratamiento anticoagulante

Fernández-Pardo A.¹, Oto J.¹, Sánchez-López V.², Martos L.¹, Solmoirago M. J.¹, Plana E.³, Fornés-Ferrer V.⁴, Santillana N.¹, Ponce-Mora A.¹, Arellano E.², Elías T.², Jara L.², España F.¹, Navarro S.¹, Otero R.², Medina P.¹

¹Grupo de Investigación en Hemostasia, Trombosis, Arteriosclerosis y Biología Vascul. Instituto de Investigación Sanitaria de La Fe. Valencia. ²Unidad Médico-Quirúrgica de Enfermedades Respiratorias. Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBiS). Sevilla. Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Respiratorias (Ciberes). Madrid. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. ³Grupo de Investigación en Hemostasia, Trombosis, Arteriosclerosis y Biología Vascul. Instituto de Investigación Sanitaria de La Fe. Valencia. Servicio de Angiología y Cirugía Vascul. Hospital Universitari i Politècnic de La Fe. Valencia. ⁴Unidad de Bioestadística. Instituto de Investigación Sanitaria de La Fe. Valencia

Introducción: El tromboembolismo venoso (TEV) es una complicación frecuente en pacientes oncológicos, que causa una mayor morbilidad y mortalidad en estos pacientes. Además, los pacientes con cáncer y TEV tienen una elevada tasa de recurrencias trombóticas.

Objetivo: Por ello, el objetivo de nuestro estudio fue explorar la capacidad del test de generación de trombina (TGT) en diversos fenotipos clínicos para predecir recurrencias trombóticas en pacientes con cáncer que ya han sufrido un evento de TEV, pero en los que se retiró el tratamiento anticoagulante.

Métodos: Reclutamos prospectivamente 167 pacientes con cáncer que sufrieron TEV. Obtuvimos una muestra de sangre citrada al retirar la anticoagulación (reclutamiento), así como a los 21 días y a los 3 meses. De ellos, 22 pacientes (13,2%) sufrieron una recurrencia (mediana: 3 meses, 1-40 meses). En cada visita medimos el FVIII, factor tisular, P-selectina soluble, dímero D, proteína C reactiva, actividad procoagulante asociada a fosfolípidos, y los diferentes parámetros del TGT mediante test automatizado (CAT, *Thrombinoscope*). Analizamos las diferencias entre las variables estudiadas durante el seguimiento de los pacientes con el test de Wilcoxon con R (v3.5.0).

Resultados: Las variables que nos permiten diferenciar los pacientes con cáncer con recurrencias trombóticas de los que no, son las siguientes: el valor de P-selectina a los 21 días de seguimiento (p = 0,006), dímero D al reclutamiento (p = 0,034),

dímero D a los 21 días ($p = 0,0003$), proteína C reactiva a los 21 días ($p = 0,0098$) y el tiempo de latencia a los 3 meses ($p = 0,039$).

Conclusiones: La concentración de P-selectina, dímero D, proteína C reactiva y el tiempo de latencia del TGT son parámetros que parecen tener una utilidad pronóstica durante el seguimiento de los pacientes oncológicos que han sufrido TEV, para poder predecir una recidiva trombotica. Esta información podría propiciar una trombopprofilaxis personalizada en estos pacientes para evitar las recurrencias. ISCIII-FEDER (PI11/02308, PI14/00079, PI14/00512, FI14/00269, PI15/01085, CPII15/00002, PI17/00495), Generalitat Valenciana (PrometeoII/2015/017, ACIF/2017/138), Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia y LEO-Pharma.

CO-187 MicroRNA plasmáticos como biomarcadores de riesgo trombotico en pacientes con fibrilación auricular

Teruel-Montoya R.¹, Rivera-Caravaca J. M.², Cifuentes-Ruiz R.¹, Crespo-Matas J. A., de los Reyes-García A. M., Arroyo-Rodríguez A. B., García-Barberá N., Vicente V.¹, Roldán V., Marín F., Martínez C., González-Conejero R.

¹Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia. Centro Regional de Hemodonación. Murcia. Universidad de Murcia. Murcia. IMIB-Arrixaca. Murcia. Red CIBERER CB15/00055. ²Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia. Centro Regional de Hemodonación. Murcia. Universidad de Murcia. IMIB-Arrixaca. Murcia. Servicio de Cardiología. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia. CIBERCV. Universidad de Murcia. Murcia. IMIB-Arrixaca. Murcia.

Introducción: La fibrilación auricular (FA) es la arritmia cardiaca más frecuente y conlleva una gran morbimortalidad asociada principalmente a eventos tromboembólicos. Para una adecuada profilaxis antitrombotica en FA se recomienda el uso de la escala CHA2DS2-VASc y, más recientemente, la escala 2MACE ha demostrado ser capaz de predecir el riesgo de eventos adversos cardiovasculares mayores (MACE; infarto de miocardio, revascularización cardiaca y muerte cardiovascular) en estos pacientes. A pesar de estas escalas y de la profilaxis, una proporción no despreciable de pacientes sufren eventos cardiovasculares adversos (ECA). Definir biomarcadores que identifiquen precozmente

a estos pacientes es por ello muy relevante. Recientemente los miRNA se han identificado como marcadores de distintos aspectos de la biología cardiovascular, pero su papel en FA es aún desconocido.

Objetivo: Evaluar si los niveles plasmáticos de miRNA pueden mejorar el valor predictivo de las escalas CHA2DS2-VASc y 2MACE en pacientes con FA.

Pacientes y métodos: De nuestra cohorte de 789 pacientes con FA y anticoagulación estable (INR = 2-3) (mediana de seguimiento de 2639 días), seleccionamos 19 pacientes para un estudio piloto (9 con y 10 sin ictus isquémico; similar edad y sexo) y 164 pacientes para validación. En la cohorte de validación, se compararon los pacientes considerando sólo ictus isquémico (33 con y 131 sin ictus) o MACE (49 con y 117 sin MACE). De todos ellos, se obtuvieron muestras al diagnóstico. Se cuantificaron niveles plasmáticos de 178 miRNA mediante qRT-PCR con el array de *Serum/Plasma focus miRNAs PCR panel V4* (Exiqon). En el grupo de ictus se evaluó la mejora de la escala CHA2DS2-VASc mientras que en el de MACE, la escala 2MACE. Los datos se analizaron con *software* de R (Stats, pROC y survIDINRI), SPSS y GraphPadPrism 5.

Resultados: En el estudio piloto sólo los niveles de miR-107 y miR-22-3p estaban elevados en pacientes con ictus vs. no ictus ($p < 0,1$; fold change $> 1,5$). Este resultado se confirmó en la cohorte de validación, encontrando mayores niveles de miR-107 y miR-22-3p en pacientes con ictus vs. sin ictus (p de 0,032 y 0,009, respectivamente). Además, en esta cohorte testamos los niveles miR-146a-5p (nuestros estudios previos lo correlacionaban con el desarrollo de ECA). La inclusión de estos 3 miRNA en la escala CHA2DS2-VASc mejoró el AUC, aunque no de forma significativa (estadístico C: 0,726 y 0,765, respectivamente). En el grupo de MACE vs no MACE, las curvas ROC revelaron, combinando miR-146a-5p+miR-22-3p, un AUC de 0,703 ($p = 0,001$). Finalmente, observamos una mejora en la discriminación de MACE con la escala 2MACE al añadir los niveles de estos miRNA (Tabla I).

Conclusiones: En este estudio los niveles de miR-107, miR-22-3p y miR-146a-5p mejoran la discriminación de MACE de las escalas clínicas 2MACE. La validación de estos resultados en una cohorte externa y mayor apoyaría el uso en la práctica clínica de estos miRNA como biomarcadores de riesgo de ECA en pacientes con FA.

Financiación: PI17-00051 (ISCIII y FEDER), 19873/GERM/15 (Fundación Séneca), Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia (SETH).

Tabla I. Estadístico C. Comparación de estadístico C IDI y NRI después de la adición de miRNAs a 2MACE

	C-index	95% IC	Z score*	p*	IDI	95% CI	p	NRI	95% CI	p
2MACE	0,694	0,617-0,764	-	-	-	-	-	-	-	-
+ miR-107 + miR-146a-5p	0,759	0,686-0,822	2,876	0,004	0,053	0,011-0,096	0,014	0,345	-0,327-0,518	0,736
+ miR-22-3p + miR-107 + miR-146a-5p	0,762	0,689-0,825	2,518	0,012	0,056	0,012-0,101	0,015	0,047	-0,274-0,519	0,627

*para comparación de estadístico C.

IC: intervalo de confianza; IDI: mejora en la discriminación integrada; NRI: mejora neta en la reclasificación.

CO-188 Identificación de variantes en genes de microRNA como nuevos factores de riesgo de infarto agudo de miocardio en menores de 45 años mediante secuenciación masiva

De los Reyes-García A. M.¹, Andreu I.¹, Arroyo-Rodríguez A. B.¹, Orenes E.², García-Barberá N.¹, Veliz A.², Rivera-Caravaca J. M.³, Teruel-Montoya R.¹, Vicente V.⁴, Marín F.⁵, González-Conejero R.¹, Martínez C.¹

¹Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia. Centro Regional de Hemodonación. Murcia. Universidad de Murcia. Murcia. IMIB-Arrixaca. Murcia. ²Servicio de Cardiología. Hospital Virgen de la Arrixaca. Murcia. IMIB-Arrixaca. Murcia. ³Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia. Centro Regional de Hemodonación. Murcia. Universidad de Murcia. Murcia. IMIB-Arrixaca. Murcia. Servicio de Cardiología. Hospital Virgen de la Arrixaca. Murcia. ⁴Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia. Centro Regional de Hemodonación. Murcia. Universidad de Murcia. Murcia. IMIB-Arrixaca. Murcia. CIBER de Enfermedades Cardiovasculares (CIBER-CV). Madrid. ⁵Servicio de Cardiología. Hospital Virgen de la Arrixaca. Murcia. IMIB-Arrixaca. Murcia. CIBER Enfermedades raras (CIBER-ER). Valencia. CIBER de Enfermedades Cardiovasculares (CIBER-CV). Madrid

Introducción: La patología del infarto agudo de miocardio (IAM) involucra inflamación y aterogénesis y conlleva altas tasas de morbi-mortalidad. Los elementos implicados en el desarrollo de este evento trombótico agudo no son completamente conocidos. Los miRNA se han identificado como marcadores de distintos aspectos de la biología cardiovascular, pero su papel en IAM está por aclarar.

Objetivo: Identificar nuevas variantes en genes de miRNA seleccionados en pacientes que han sufrido IAM antes de los 45 años (IAM < 45) por técnicas de secuenciación masiva.

Pacientes y métodos: Reclutamos retrospectivamente 150 pacientes con IAM < 45 (87% hombres; 40,2 ± 4,5 años) y 150 controles (77% hombres; 40,4 ± 4,7 años). Se recogieron datos clínicos y demográficos. Se seleccionaron adicionalmente sujetos en un caso/control similar (150/150) para validación. Agrupamos los ADN en pools de 5 que se ajustaron a 14ng para las librerías. Los miRNA seleccionados (n = 365) se expresaban en una o más de las siguientes células o tejidos: plaquetas, leucocitos, hígado, cardiomiocitos y células endoteliales. Los primeros para las 365 regiones de interés incluidos en el panel AmpliSeq (IAD120697_197) se diseñaron con Ion Ampliseq Designer 5.6.3, abarcando 107.11 Kb. Los 372 amplicones solapantes (125-375 pb) cubren el 97,3% de las regiones analizadas. La secuenciación de las librerías se llevó a cabo en un secuenciador masivo Ion PGM™ System (Ion Torrent). El análisis se realizó con el software Torrent Server (Ubuntu 14.04).

Resultados: Todas las muestras superaron los controles de calidad con coberturas medias > 400x. La robustez del NGS se confirmó secuenciando individualmente las muestras de dos pools por NGS (n = 10). Seleccionamos para su estudio 5 variantes en 4 genes dentro de la zona madura del miRNA, presentes con diferencia > 3 entre pools casos y controles. Se validaron por Sanger en las 5 muestras del pool donde se detectara el miR-SNP,

confirmándose 4 de los 5 en 4 miRNA diferentes (EMAFs: 0,68; 0,52; 0,09 y 0,08, respectivamente). El estudio de genotipado con sondas KASPar en 300 IAM y 300 controles se está realizando.

Conclusiones: Hemos identificado 4 miR-SNP que podrían estar asociados a la etiopatogenia de IAM precoz. Estas variantes se localizan en miRNA que regulan la expresión de genes implicados en estrés oxidativo, hipertrofia, apoptosis, fallo cardíaco o calcificación arterial coronaria. Así, se puede especular que estos miR-SNP pueden representar nuevos factores de riesgo genéticos de IAM, con especial relevancia en pacientes jóvenes, en los que el desarrollo de lesiones ateroscleróticas es aún limitado. Para demostrar esta hipótesis son necesarias investigaciones en series más grandes de pacientes y estudios sobre el efecto funcional de estas variantes.

Financiación: P117-00051 (ISCIII y FEDER), 19873/GERM/15 (Fundación Séneca), Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia (SETH).

CO-189 Utilidad del estudio de la liberación de gránulos densos plaquetarios mediante citometría de flujo para la detección de defectos plaquetarios

Latorre A.¹, Cid A.², Haya S.², Gómez-Cambronero L.², Santos M. T.¹, Vallés J.¹, Montesinos F.¹, Mena B.¹, Bonanad S.², Moscardó A.²

¹Instituto de Investigaciones Sanitarias de La Fe. Valencia. ²Hospital Universitari i Politècnic de La Fe. Valencia

Introducción: El estudio de la función plaquetaria en los pacientes con diátesis hemorrágica mediante el empleo de técnicas clásicas como la lumiagregometría es metodológicamente complejo. Además, hay dificultades cuando se asocia trombopenia o limitaciones en el volumen de muestra si son pacientes pediátricos. **Objetivo.** Comparar la determinación de defectos de almacenamiento/liberación plaquetaria mediante lumiagregometría frente al estudio de liberación mediante marcaje con mepacrina y citometría de flujo.

Pacientes y métodos: En el estudio se incluyeron 26 pacientes con sospecha de defecto plaquetario y 13 testigos sanos. La agregación óptica y la liberación de ATP se ensayaron simultáneamente con plasma rico en plaquetas (PRP) en un lumiagregómetro Chrono-Log, añadiendo un volumen 1/10 de Chrono-Lume previamente a la adición de los agonistas plaquetarios. Se consideró que existía un defecto de liberación cuando la concentración de ATP liberado era inferior a la media-2SD de los testigos sanos. El estudio de captación y liberación de mepacrina mediante citometría de flujo se hizo de acuerdo con Cai *et al.* (1). Se consideró un defecto de liberación cuando el cociente fluorescencia sin estímulo/fluorescencia con estímulo era < 1,75.

Resultados: Mediante lumiagregometría encontramos un defecto de liberación en 7/26 pacientes estudiados (26%) y en 8/26 (31%) mediante el marcaje con Mepacrina. Sólo en 4/26 pacientes (15%) no coincidió el diagnóstico, debido en todos los casos a que se detectó un defecto de la liberación mediante lumiagregometría

que no se detectaba mediante mepacrina y citometría de flujo. Es interesante destacar que, en estos 4 pacientes no coincidentes, el número de plaquetas era < 150.000 plaquetas/ml.

Conclusiones: La medida de la liberación de gránulos densos mediante marcaje con mepacrina y su estudio por citometría de flujo, resulta una alternativa barata, rápida y eficaz para la detección de defectos en la liberación de gránulos densos plaquetarios.

Puede resultar una técnica especialmente útil para el estudio de la liberación de gránulos en trombocitopenias o pacientes en edad pediátrica.

Bibliografía

1. Cai H, et al. Semin Thromb Hemost 2016;42:282.

Pósteres

Diátesis hemorrágica

PC-362 Revisión de la enfermedad de Rendu-Osler-Weber: a propósito de una serie de casos con seguimiento en nuestro centro de 2013 a 2018

Morente Constantín E., Fernández Jiménez D., Entrena Ureña L., Núñez García A., Jurado Chacón M.

Servicio de Hematología. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada

Introducción: La enfermedad de Rendu-Osler-Weber (ROW) o telangiectasia hemorrágica hereditaria (THH) es un trastorno de la angiogénesis que produce telangiectasias cutáneo-mucosas hemorrágicas y malformaciones arteriovenosas viscerales (MAV). Su prevalencia varía de 1/5000-1/8000. Las MAV pueden ser asintomáticas o producir complicaciones (condicionan la esperanza de vida), dando lugar a una expresión clínica muy variable. Aparecen a nivel pulmonar, nervioso, digestivo. Es una enfermedad autosómica dominante con mutaciones principalmente en ACVRL1 y ENG, genes implicados en la señalización del TGF- β . El diagnóstico se basa en los criterios de Curaçao: epistaxis recurrente, telangiectasias y carácter hereditario. El manejo de la enfermedad se basa en el tratamiento y prevención de la anemia y el sangrado. Las MAV requieren diagnóstico y oclusión tempranos.

Método: Analizamos 14 pacientes con ROW seguidos en nuestro centro de 2013 a 2018, centrándonos en el manejo de la anemia o ferropenia y complicaciones hemorrágicas.

Resultados: Contamos con 8 mujeres y 6 varones, con edad media de 46 años (rango 14-87). Se constataron antecedentes familiares en 12 de 14 casos. 7 pacientes portan en heterocigosis una delección en ENG-c.967_968del GT p(Val323LEufs.10); 1 presenta una mutación puntual en ACVRL1 (c.1232G>A: p.R411Q) y otro en c.1040 C>A (p.A347D). 9 pacientes tenían anemia ferropénica crónica tratada con hierro intravenoso (iv): en 6 fue insuficiente el hierro oral y en 3 hubo intolerancia a varios preparados; en 1 paciente se empleó hierro carboximaltosa, en el resto, hierro sacarosa. 2 pacientes tenían ferropenia sin anemia, tratada con hierro oral. 2 mujeres precisaron transfusión en el embarazo y 2 por sangrado digestivo (por MAV) y nasal recidivantes, aún estando con hierro IV. La localización y frecuencia de las hemorragias se recoge en la figura 1.

El manejo del sangrado se hizo con ácido tranexámico tópico u oral, usado como tratamiento o prevención, con buenos resultados. 2 pacientes requerían anticoagulación, suspendida por sangrado con requerimiento transfusional.

Tres pacientes fallecieron por: insuficiencia cardíaca, neumonía e insuficiencia respiratoria aguda en el contexto de un alo-TPH realizado por síndrome hemofagocítico idiopático.

Conclusiones: La anemia ferropénica a menudo requiere tratamiento con hierro iv en los pacientes con ROW. Las MAV digestivas acentúan la anemia crónica y pueden ocasionar requerimiento transfusional en pacientes tratados con hierro iv. La epistaxis recurrente es muy frecuente y se beneficia del tratamiento con

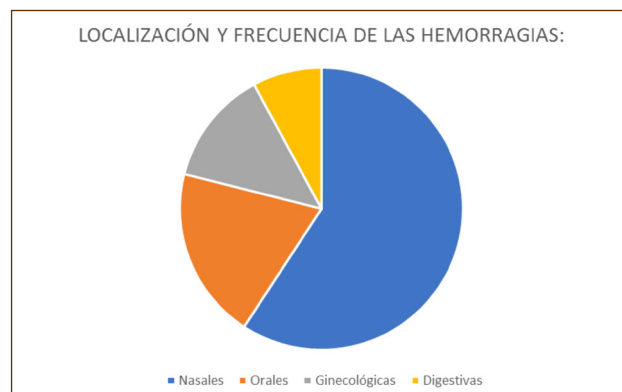


Figura 1.

antifibrinolíticos. Es necesario un abordaje multidisciplinar (ORL, Digestivo, Ginecología, M. Interna) para un correcto seguimiento de la enfermedad.

PC-363 Profilaxis guiada por farmacocinética con factor VIII recombinante en pacientes con hemofilia A moderada o grave. Resultados tras dos años de seguimiento

Megías Vericat J. E., Marqués Miñana R., Haya S., Cid A. R., Querol F., Monte E., Pérez Alenda S., Marco Ayala J., Blanco J. A., García Dasí M., Caunedo P., Bosch P., Curats R., Poveda Andrés J. L., Bonanad S.

Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia

Introducción: La farmacocinética (FC) del factor VIII recombinante (rFVIII) presenta una elevada variabilidad entre pacientes con hemofilia A (HA). La monitorización FC empleando el método bayesiano permite conocer los parámetros FC individuales y asociarlos con el control de la patología.

Métodos: Estudio prospectivo sobre la profilaxis guiada por FC en pacientes con HA grave/moderada en profilaxis con rFVIII. Se ha empleado el modelo bayesiano (myPKFiT[®] 2.0) con 2-3 muestras para realizar un perfil FC individualizado de los valores de rFVIII (método coagulación en una etapa). Se han analizado 2 periodos de 1 año: adopción temprana (enero-diciembre 2016) y tras 1 año de profilaxis guiada por FC (enero-diciembre 2017). Los parámetros FC analizados son: aclaramiento (Cl); volumen en estado estacionario (Vss); semivida plasmática ($t_{1/2}$); nivel valle a las 48 y/o 72 h (NV48/NV72) y tiempo para alcanzar niveles de FVIII<1 UI/dL (T1%). Se ha calculado el coeficiente de variabilidad (CV) intraindividual e interindividual de la $t_{1/2}$. Se ha usado la prueba de Kruskal-Wallis (R[®] version 3.1.2) para comparar los parámetros FC y las variables clínicas en cada periodo: edad, peso, dosis/kg, Hemophilia Joint Health Score (HJHS), n.º sangrados anuales (ABR), n.º sangrados articulares anuales (AJBR), causa sangrado (espontáneo/traumático), consumo rFVIII, actividad

física, adherencia. Para comparar ambos periodos empleamos la prueba de Wilcoxon.

Resultados: Se han analizado 21 pacientes, con medianas de edad de 33,0 años (IQR = 26,5-42,5), de peso de 70,0 kg (IQR = 61,5-80,5), y de dosis de 69 UI/kg/semana (IQR = 56,3-79,5). Se han realizado 145 monitorizaciones FC fueron: CI 3,1 mL/h/kg (IQR = 2,5-3,3); Vss 50,0 ml/kg (IQR = 50-55); $t_{1/2}$ 13,7 h (IQR = 12,1-15,5); NV48 3,9 UI/dL (IQR = 2,5-7,0); NV72 2,0 UI/dL (IQR = 1,3-3,4) y T1% 72,0 h (IQR = 63,5-87,5). Se obtuvo un CV interindividual del 17,2% en la $t_{1/2}$, pero un CV intraindividual del 4,9%.

Durante el periodo de adopción temprana observamos una asociación significativa entre la $t_{1/2}$ y el AJBR ($p = 0,010$), especialmente en pacientes con $t_{1/2}$ corta. Esta asociación se reprodujo ($p = 0,013$) tras excluir a 2 pacientes con tendencia a los sangrados por su artropatía grave (HJHS > 40) pero con niveles valle y $t_{1/2}$ normales. También observamos que los pacientes con AJBR = 1 pesaban menos ($p = 0,039$) y requerían mayores dosis/kg/semana ($p = 0,032$) que los pacientes con AJBR = 0.

Estas asociaciones desaparecieron en el segundo año de seguimiento. Cuando comparamos ambos periodos no se detectaron diferencias significativas, aunque observamos una tendencia a menor n.º sangrados espontáneos el segundo año ($p = 0,08$). En el segundo año se produjeron 7 ajustes de dosis, 9 aumentaron $t_{1/2}$, 4 pacientes mejoraron la adherencia, 5 pacientes aumentaron la actividad física y 15 pacientes redujeron el consumo (mediana: 10611 UI; IQR = 6423-19001; 6579 euros; IQR = 3982-11780).

Conclusiones: La variabilidad FC interindividual y su asociación con la aparición de sangrados justifica emplear la profilaxis guiada por PK. Nuestro estudio demuestra que profilaxis guiada por PK es efectiva optimizando la posología, reduciendo el n.º sangrados espontáneos y el consumo de rFVIII. Para individualizar la profilaxis hemos tenido en cuenta la PK individual, las variables clínicas (patrón sangrados, estado articular, actividad física) y la conveniencia del paciente (adherencia, estilo de vida).

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

PC-364 Estudio comparativo cruzado de la farmacocinética de Kogenate vs. Kovaltry en pacientes con hemofilia a moderada o grave en profilaxis

Bonanad S., Megías Vericat J. E., Haya S., Cid A. R., Querol F., Monte E., Pérez Alenda S., Marco Ayala J., Blanco J. A., García Dasí M., Caunedo P., Bosch P., Curats R., Marqués R., Poveda Andrés J. L.

Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia

Introducción: La farmacocinética (PK) del factor VIII recombinante (rFVIII) presenta una elevada variabilidad entre pacientes con hemofilia A (HA). Herramientas basadas en modelos PK poblacionales (PopPK) como WAPPS-Hemo® permiten estimar

los parámetros PK individuales y ajustar la profilaxis con tan sólo 2-3 muestras.

Objetivo: El objetivo de este estudio es analizar la PK antes y después de hacer el switch de Kogenate a Kovaltry.

Métodos: Estudio comparativo, cruzado, prospectivo que analiza las diferencias PK tras el cambio de Kogenate a Kovaltry en pacientes con HA grave/moderada en profilaxis. Se ha empleado el modelo bayesiano WAPPS-Hemo® 2.0 con 2-3 muestras para realizar un perfil PK individualizado de los valores de rFVIII (método coagulación en una etapa), tomando las muestras aproximadamente en la predosis, a las 2, 24 y 48 h. Se han analizado 2 periodos de 1 año en los mismos pacientes: profilaxis con Kogenate (abril 2016-mayo 2017) y profilaxis con Kovaltry (abril 2017-mayo 2018). Los parámetros PK analizados son: 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%). Se ha empleado la prueba de Wilcoxon (R® version 3.1.2) para comparar los parámetros PK entre ambos periodos. Las variables se expresan con la media y la desviación estándar (DE).

Resultados: Se han analizado 11 pacientes, 8 con HA grave y 3 con HA moderada, con una media de edad de 29,6 años (DE = 14,74) y de peso de 71,3 kg (DE = 14,8). La dosis/kg/semana media empleada en profilaxis con Kogenate fue 58,8 UI/kg/semana y con Kovaltry fue 62,1 UI/kg/semana. Solo 2 pacientes modificaron su profilaxis con Kovaltry, aumentado su dosis en relación con el aumento de peso. Para la monitorización PK se emplearon de media 3,55 (DE = 1,13) niveles plasmáticos de rFVIII con Kogenate y 2,91 (DE = 0,70) con Kovaltry. La media y DE de los parámetros PK con Kogenate fueron: $t_{1/2}$ 16,07 h (DE=4,44); NV24 15,18 UI/dL (DE = 7,34); NV48 6,22 UI/dL (DE = 3,41); NV72 3,22 UI/dL (DE = 1,74), T1% 138,44 h (DE = 33,97), T2% 81,25 h (DE = 19,67) y T5% 53,91 h (DE = 16,74). Con Kovaltry la media y DE de los parámetros PK fueron: $t_{1/2}$ 16,23 h (DE = 3,44); NV24 18,00 UI/dL (DE = 8,72); NV48 7,37 UI/dL (DE = 4,49); NV72 3,59 UI/dL (DE = 2,46), T1% 123,72 h (DE = 35,53), T2% 80,38 h (DE = 20,44) y T5% 58,30 h (DE = 20,25). En 6 pacientes se obtuvieron aumentos de $t_{1/2}$ al pasar a Kovaltry, con una media de 2,96 h (DE = 1,52) de mejora respecto a los niveles previos con Kogenate. Dos pacientes no modificaron su PK tras el cambio, y 3 pacientes redujeron la $t_{1/2}$, especialmente un paciente en el que sólo disponíamos de 2 niveles para estimar la PK de Kovaltry por lo que sospechamos que estamos infraestimado su $t_{1/2}$. Si excluimos a este paciente, las medias de $t_{1/2}$ entre Kogenate y Kovaltry pasan a ser de 15,25 (DE = 3,71) vs 16,50 (DE = 3,50) h. No se observaron diferencias significativas al comparar los parámetros PK entre ambos productos.

Conclusiones: Los parámetros PK entre Kogenate y Kovaltry han mostrado ser similares y no se ha requerido ajustes de dosis relacionados con la $t_{1/2}$, pese a que más de la mitad de pacientes ha mejorado de su PK. El empleo de WAPPS-Hemo para monitorizar los cambios de PK tras un switch proporciona una ayuda inestimable para personalizar la profilaxis.

Agradecimientos: Estudio está financiado en parte por la Bayer.

PC-365 ¿Cuál es el diagnóstico en 5 familias con trastorno plaquetar congénito?: trombostenia, *storage pool disease*, TCH2, RUNX1 y MYH9 o RASGRP2, TUBB1, ANKRD26 y DIAPH1?

Seivas T.¹, Marques Patricio D.¹, Coucelo M.², Azevedo J.², Salvado R.¹, Bastida J.³, Rivera J.⁴, Lozano M. L.⁴

¹Serviço de Sangue e Medicina Transfusional. Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, EPE. Coimbra, Portugal. ²Serviço de Hematologia Clínica. Centro Hospitalar e Universitário do Centro Hospitalar de Coimbra, EPE. Coimbra, Portugal. ³Departamento de Hematología. IBSAL-Hospital Universitario de Salamanca. Salamanca, España. ⁴Centro Regional de Hemodonación. Murcia, España. Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia, España. Universidad de Murcia. Murcia, España. IMIB-Arrixaca. Murcia, España

Introducción: Los trastornos plaquetarios congénitos (DPC) son enfermedades con una considerable heterogeneidad clínica, laboratorial y molecular, lo que dificulta su diagnóstico, solo posible en un pequeño número de casos, generalmente después de años de estudio, no siendo rara la obtención de un diagnóstico no correcto con un consecuente seguimiento clínico inadecuado. Hasta recientemente el diagnóstico molecular de DPC era realizado por secuenciación Sanger de genes candidatos. Sin embargo, en muchos DPC no es posible la identificación de genes candidatos. Los avances de la tecnología de secuenciación masiva paralela (NGS), con recurso a paneles de genes relacionados, ha permitido identificar algunas de las alteraciones genéticas subyacentes.

Objetivo: Desvendar el defecto genético utilizando NGS en pacientes con sospecha de DPC.

Material y métodos: 13 pacientes de 5 familias con historia hemorrágica significativa o trombopenia de larga duración (Tabla I). En todos fue descartada enfermedad de von Willebrand y Trombopenia Inmune. Fue realizado un perfil funcional y morfológico plaquetario (hemograma, frotis, PFA100, agregación plaquetaria, expresión de glicoproteínas de membrana y activación-secreción por citometría de flujo) conllevando a la sospecha de DPC, por alteración del número y/o función de las plaquetas, pero con defecto molecular subyacente desconocido. El estudio genético fue realizado por NGS NGS (*illumina*) utilizando un panel de 72 genes relacionados con DPC, en colaboración con el Hospital Universitario de Salamanca.

Resultados: Los resultados del NGS fueron distintos de lo esperado en relación a la sospecha clínico/ laboratorial inicialmente pensada (Tabla I).

Conclusiones: Actualmente la identificación genética subyacente permite el diagnóstico definitivo de DPC. En nuestro caso, la metodología NGS permitió diagnosticar alteraciones moleculares muy poco frecuentes en los genes DIAPH1 (n = 3) e RASGRP2 (n = 2), así como en genes que codifican proteínas del citoesqueleto-TUBB1 (n = 2). Colocamos en evidencia, también, la importancia clínica de este diagnóstico definitivo, que permitirá un abordaje clínico más adecuado de estos pacientes. En nuestro caso “el cambiar” de diagnóstico de TG en RASGRP2, de RUNX1-RD en ANKRD26 y de MYH9-RD en DIAPH1, cambia la forma de *follow-up* de los pacientes.

Familia	id	Sexo	Edad	Plaq (x10 ⁹ /L)	VPM (fL)	Síntomas, historia familiar, fenotipo plaquetario	Sospecha diagnóstica	Alteración en HTS
P.T.	1	f	4	N		<ul style="list-style-type: none"> Hemorragia en erupción dental Epistaxis con necesidad de antifibrinolítico Equimosis frecuentes en lugares atípicos desde los 8 meses 	TG	RASGRP2, c.887G>Ahmz
J.M.	2	m	7	N		<ul style="list-style-type: none"> Epistaxis con necesidad de antifibrinolítico y transfusión de concentrado eritrocitario 	SPD	RASGRP2, c.706>Thmz
A.R.	3	m	16	99	12,7	Trombocitopenia de larga duración	TH	TUBB1, c.128>Chtz
	4	f	51	132	12,7			
B.C.	5	f	6 meses	119	11,6	<ul style="list-style-type: none"> Trombocitopenia larga duración Síndrome mielodisplásico 	RUNX1-RD	ANKRD26, c.-118C>Thtz
	6	m	43	8	-			
	7	f	51	42	12,9			
	8	f	32	46	10,8			
A.	9	f	25	27	13,2	<ul style="list-style-type: none"> Sordera neurosensorial N.º de plaquetas border line Neutropenia 	MYH9-RD	DIAPH1, c.3637C>Thtz
	10	m	71	12	-			
	11	m	12	153	11,7			
	12	f	6	158	9,5			
	13	m	39	158	10,2			

PC-366 Relación de la vida media plasmática del FVIII y episodios de sangrado en pacientes con hemofilia a grave en profilaxis

Tomás Menor L.¹, Marco Rico A.², Bollas Tarí E.², Lucas Boronat J.², Pérez Sala M.², López Marín J.², Marco Vera P.²

¹Fundación para el Fomento de la Investigación Sanitaria y Biomédica de la Comunidad Valenciana (Fisabio). Valencia. Hospital General Universitario de Alicante. ²Servicio de Trombosis y Hemostasia. Departamento de Hematología. Hospital General Universitario de Alicante. Alicante

Introducción: Las consecuencias de la falta de adherencia al tratamiento en la hemofilia A, se pueden resumir en un deterioro de la calidad de vida del paciente, una falta de control de la enfermedad y la aparición de efectos secundarios. Debido a que existe poca evidencia basada en ensayos clínicos y estudios de cohortes no intervencionales para dirigir la elección de los regímenes de tratamiento, la farmacocinética (FC) actual puede ser una herramienta válida con la que solo 2 o 3 muestras por paciente sean suficientes para ofrecer una oportunidad no sólo de poder racionalizar el gasto farmacéutico, sino también de mejorar la eficacia en la dosificación.

Métodos: Se han procesado los niveles de FVIII mediante método coagulante de 6 pacientes con hemofilia A severa en nuestro centro. La edad de nuestros pacientes oscila entre 2 y 52 años. Todos están en profilaxis con diferentes productos recombinantes de FVIII. Las muestras fueron extraídas previo a la infusión de factor (muestra valle), a las 4 h después de la infusión (muestra pico) y a las 24 h después de la infusión. Con estos resultados, se obtuvo una FC estimada individualizada mediante modelos Bayesianos a través de un *software* y se correlacionaron con los episodios de sangrado anuales (ABR).

Resultados: Se ha podido comprobar gracias al perfil FC, como existe una variabilidad en la respuesta de los pacientes (Tabla I). A modo general, el paciente con rFVIII-Fc logra una concentración de FVIII prolongada en el tiempo con una pauta de 2 veces a la semana, mientras que los pautados con rFVIII necesitan de dosis mayores y de más exposiciones para alcanzar los mismos objetivos. Concretamente, los pacientes 4 y 6 presentan un tiempo de vida media ($T_{1/2}$) más corto y se podría relacionar con una mayor tendencia al sangrado, ya que tienen un ABR entre 2 y 5. Para estos pacientes, podemos observar como a pesar de que las dosis pautadas son elevadas, el valle se sitúa por debajo del 1% y el AUC que indica la biodisponibilidad del tratamiento, por debajo

de las 40 horas. Es destacable que para el paciente 4 y debido a la asociación de la Enfermedad Von Willebrand heredada del padre, la cinética de eliminación pueda ser mucho más rápida que la de cualquier otro paciente.

Conclusiones: Se ha podido comprobar una correlación entre el $T_{1/2}$ y el pico valle como buenos indicativos de episodios de sangrado. La FC es una herramienta útil que podrá ayudar al facultativo especialista a decidir sobre la pauta más adecuada e individualizada y lograr un pico valle protector de sangrado entre 1,5-2,7% y una biodisponibilidad mayor de la profilaxis superior a 50 horas.

PC-367 Investigación de reacción anafiláctica a concentrado de FVIII en un paciente con hemofilia A leve: su importancia para la práctica clínica

Sevivas T.¹, Chaves Loureiro C.², Pires S.², Borja B.³, Patrício D.¹, Salvado R.¹, Tomaz J.¹

¹Serviço de Sangue e Medicina Transfusional. Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (CHUC), EPE. Coimbra, Portugal. ²C. de Alergología. Departamento Pediátrico. CHUC, EPE. Coimbra, Portugal. ³Application Lab. R&D Department. Roxall Group. Bilbao, España

Introducción: Actualmente el pilar de la terapéutica en hemofilia A (HA) es la infusión de concentrados de FVIII (cFVIII), ya sean plasmáticos o recombinantes. Las reacciones anafilácticas secundarias a su administración son raras. Sin embargo, son un efecto adverso conocido de la terapéutica sustitutiva. Son pocas las descripciones de este tipo de reacción en la literatura y, por eso, no están bien caracterizadas del punto de vista inmunológico. Muchas veces no se puede comprobar una respuesta IgE específica o una asociación entre el fármaco y la reacción alérgica. No obstante, sería importante disponer de un procedimiento que permitiera detectar estos anticuerpos para utilizarlo en la selección de fármacos seguros para el paciente.

Caso clínico: Describimos el caso de una reacción anafiláctica ocurrida en un niño de 10 años con HA leve (FVIII: C = 30%), sin atopias previas conocidas, respondedor a la desmopresina que había sido tratado, en una única ocasión anterior a la reacción anafiláctica, con un cFVIII, cuyo origen desconocemos. Recurre a nuestro Hospital por una hemorragia, post-traumática, de teji-

Tabla I. Datos obtenidos de la FC y la correlación con episodios de sangrado

Paciente	Edad	Peso (kg)	Profilaxis	Dosis (UI/kg)	$T_{1/2}$ (h)	AUC (h)	Valle (%)	FVIII 24 h (%)	ABR	Dosis extra (UI)
1	5	19	rFVIII tipo 1	39,5	8,5	56,25	2,3	10	0	
2	52	95	rFVIII tipo 2	13,15	18,25	109,25	7,4	13	0	
3	15	57	rFVIII-Fc	17,5	14,25	88,25	1,6	12,9	0	
4	11	26,6	rFVIII tipo 1	56,5	3,25	25	0,5	3,2	5	15.000
5	40	77	rFVIII tipo 3	19,5	13,75	78	1,1	16,4	0	
6	2	12	rFVIII tipo 4	41,5	5,75	38	0,3	8,4	2	3.000

dos blandos de la mano siendo tratado con octocog alfa (OA). 15 minutos después de su administración desarrolla exantema generalizado, náuseas, mareos, tos y dificultad para la deglución. Resuelto con hidroxizina. Descartada deficiencia de IgA. Se repite la administración de OA500 UI en ambiente hospitalar controlado a un ritmo de 1mL/ min- test de provocación (TP). Al final de la infusión desarrolla dolor torácico, náuseas y vómitos. Resolución con adrenalina subcutánea. Efectuados Prick Test (PT) y Basophil Activation Test (BAT) con OA, moroctocog alfa (MA) y FVIII derivado plasmático (PL), así como pesquisa de IgEs específicas por Immunoblotting (IMB) (SDS-PAGE, según Laemmli en condiciones reductoras de electroforesis con 2-mercaptoetanol, bloqueo de membrana con leche de vaca, clara de huevo y colágeno de pescado). Último TP con MA sin reacción adversa.

Resultados: PT y BAT: negativos para todos. IMB: positivo para AO y PL en todas las membranas, negativo para MA.

Discusión: La realización de TP, PT, BAT y IMB posibilitó seleccionar cFVIII aparentemente seguro, salvaguardándonos ante una eventual necesidad terapéutica urgente en un evento hemorrágico grave o procedimiento quirúrgico. Este estudio demostró ser útil para seleccionar la terapéutica adecuada para nuestro paciente y podría ser utilizada en casos similares.

PC-368 Hemofilia adquirida: estudio retrospectivo unicéntrico

Martín Moro F., Arrontes Caballero E., Guillén Rienda C., García García I., Michael Fernández B. M., Martínez-Geijo Román C., Velázquez Kennedy K., Sanz Rupérez A., Marquet Palomanes J., Moreno Jiménez G., López Jiménez F. J.

Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid

Introducción: La hemofilia adquirida (HA) es un infrecuente trastorno hemorrágico de origen autoinmune (AI) causado por el desarrollo de un anticuerpo dirigido contra un factor endógeno de la coagulación, con mayor frecuencia el factor VIII (FVIII). El

manejo terapéutico, basado en el tratamiento hemostático y en la erradicación del inhibidor, puede suponer un reto.

Métodos: Se estudiaron de forma retrospectiva los casos de HA diagnosticados en nuestro centro durante cinco años (2013-2017), con los siguientes objetivos: 1) describir las características clinicobiológicas de los pacientes al diagnóstico; 2) analizar el manejo terapéutico, las principales complicaciones y la respuesta al tratamiento. Nuestro centro no cuenta con Departamento de Obstetricia.

Resultados: Se encontraron 10 pacientes con inhibidor adquirido contra el FVIII, con una mediana de edad al diagnóstico de 85 años (76-93) y una distribución mujeres: hombres de 6:4. Los pacientes presentaban las siguientes patologías asociadas: enfermedad AI (4), neoplasia sólida (3), neoplasia hematológica (2) e idiopática (1). Todos debutaron con clínica hemorrágica, en las siguientes localizaciones: subcutánea (6), genitourinaria (3), muscular (1), gastrointestinal (1) y/o posquirúrgica (1). La mediana de tiempo entre debut clínico y diagnóstico fue de 1 mes (0.4-18). Los niveles de FVIII al diagnóstico fueron < 5% en la mayoría (8/10), la mediana de nivel de inhibidor fue 64 UB (1.4-134). En cuanto al manejo terapéutico, 3 pacientes recibieron corticoides en monoterapia debido a comorbilidades, falleciendo por la patología de base o por causa desconocida. Los 7 pacientes restantes recibieron tratamiento con intención de erradicar el inhibidor (Tabla I). Se empleó el FVII recombinante activado como agente hemostático de primera línea. La clínica hemorrágica remitió en todos los casos y no hubo constancia de complicaciones trombóticas. La mediana de seguimiento fue de 12 meses (2.4-51). Tres de los 7 pacientes tratados para erradicar el inhibidor fallecieron, 2 debido a la patología de base o por causa desconocida y 1 debido a complicaciones secundarias a la inmunosupresión por el tratamiento. Se encontró 1 paciente con inhibidor adquirido contra el FXI, una mujer de 73 años sin patología subyacente ni clínica hemorrágica, diagnosticada incidentalmente por alteración de un estudio de coagulación básica de rutina. Recibió tratamiento erradicador de primera línea con corticoides y ciclofosfamida, y Rituximab de segunda línea, sin alcanzar respuesta. Falleció por complicaciones secundarias a la inmunosupresión.

Tabla I. Resumen de los pacientes que recibieron tratamiento erradicador del inhibidor del FVIII

Entidad de base (edad/sexo)	FVIII (%)	Inhibidor (UB)	1.ª línea	2.ª línea	Tiempo hasta respuesta* (días)		Complicaciones de la Is	Recaída*	Estatus
					RP	RC			
Neoplasia (85/M)	5	ND	GC + CTX	-	49	-	-	Sí	Éxito
Idiopática (81/F)	< 5	ND	GC + CTX	-	51	61	-	-	ND
AI† (88/F)	< 5	32	GC + CTX	-	30	60	-	Sí	Vivo
AI (85/M)	7	1,4	CsA + Ritu	-	17	48	Sepsis respiratoria	-	Éxito
Neoplasia (77/M)	< 5	95	MBMP	-	24	-	IFI pulmonar, CMV pulmonar	-	Éxito
AI (76/F)	< 5	64	MBMP	Ritu	20	55	-	-	Vivo
Neoplasia (79/F)	< 5	64	MBMP	Ritu	27	51	Neumonía, neutropenia	-	Vivo

*Definiciones según GTH-AH 01/2010 (Tiede A et al. Haemostaseologie 2015); †Recaída de un diagnóstico previo.

AI: enfermedad AI; CMV: citomegalovirus; CsA: ciclosporina A; CTX: ciclofosfamida; F: femenino; GC: glucocorticoides; IFI: infección fúngica invasiva; M: masculino; MBMP: Protocolo Bonn-Malmö Modificado (Zeitler H et al. Blood 2005); NA: no aplicable; ND: no disponible; Ritu: Rituximab; RC: respuesta completa; RP: respuesta parcial.

Conclusiones: Todos los pacientes eran ancianos al diagnóstico, probablemente influenciado por la falta de casos asociados al embarazo. Se encontró patología subyacente en casi todos los casos. En nuestra experiencia, todos los pacientes con inhibidor adquirido del FVIII que recibieron tratamiento erradicador del inhibidor alcanzaron respuesta (RP ± RC). Tratamientos inmunosupresores de mayor intensidad conllevaron un mayor número de complicaciones, si bien la mayoría de los fallecimientos fueron debidos a la entidad de base o por causa desconocida.

Bibliografía recomendada

1. Tiede A, Scharf RE, Dobbstein C, et al. Management of acquired haemophilia A. *Hamostaseologie* 2015;35(4):311-8.
2. Zeitler H, Ulrich-Merzenich G, Hess L, et al. Treatment of acquired hemophilia by the Bonn-Malmö Protocol: documentation of an in vivo immunomodulating concept. *Blood* 2005;105(6):2287-93.

PC-369 Eficacia del tratamiento hemostático e inmunosupresor en pacientes con hemofilia A adquirida

Pérez González A.¹, Martín Rodríguez L.¹, Fernández Caballero M.¹, Martínez García M. F.¹, Serna Pareja Á.¹, Raheja Makhija P.¹, Roldán Galván E.¹, Jiménez Balarezo M. M.¹, Rodríguez Aquino Y. M.¹, Sitges Arriaga M.², Cerdá Sabater M.¹, Johansson Barron E.¹, Bosch Albareda F.¹, Santamaría Ortiz A.¹

¹Hospital Universitario Vall d’Hebron. Barcelona. ²Hospital Universitario Germans Trias i Pujol. Barcelona

Introducción y objetivos: La hemofilia A adquirida (HAA) es un trastorno hemorrágico infrecuente producido por el desarrollo de anticuerpos contra el factor VIII. Se han descrito desencadenantes hasta en un 50% de los casos. El propósito de esta revisión es describir las características clínicas y los resultados de tratamiento en los pacientes diagnosticados de HAA en nuestra Unidad de Hemofilia.

Métodos: Estudio observacional retrospectivo llevado a cabo en la Unidad de Hemofilia del Hospital Vall d’Hebron en el que se estudiaron 13 pacientes diagnosticados de HAA entre 2010 y 2017. Se recogieron los datos clínicos y analíticos al diagnóstico, el tratamiento hemostático e inmunosupresor (IS) administrado, la respuesta alcanzada y los eventos adversos.

Resultados: El 77% de los pacientes eran varones. La mediana de edad al diagnóstico fue de 67,5 años (rango, 32-90) (Tabla I). Se identificó patología subyacente en el 77% de los pacientes (n = 10); en 8 pacientes (80%) de etiología autoinmune, en 1 de origen neoplásico y en otro enfermo asociado al puerperio. En 2 pacientes (15,4%) no se identificó patología asociada. Recibieron tratamiento hemostático 9 pacientes (69,2%): 6 (67%) recibieron FVII recombinante (rFVII), 2 (22%) complejo protrombínico activado y 1 (11%) rFVII y plasma, logrando el control de la hemostasia en todos ellos. No se observaron eventos trombóticos durante el mismo. Doce pacientes (92,3%) recibieron tratamiento IS, en general con dos agentes (n = 11, 92%) con la siguiente

Tabla I. Características y resultados

N.º Paciente	Edad	Sexo	Desencadenante	Nivel FVIII diagnóstico (%)	Título inhibidor diagnóstico (BU/ml)	Tratamiento hemostático	Eventos trombóticos	Tratamiento Inmunosupresor	Respuesta 1ª línea	Recatida	Duración respuesta (meses)	Tratamiento recaída	Éxitus	Causas éxitus
1	57	M	Asma intrínseca	1,3	5,6	Novoseven	No	Tacrólimus y corticoides	RC	Sí	13,9	Ciclosporina	No	-
2	59	H	Pénfigo	< 1,0	78,0	Feiba	No	Ciclosporina y corticoides	RC	Sí	18,9	Ninguno	No	-
3	80	M	Sdr, Sjögren	0,2	250,0	-	No	Tacrólimus y corticoides	RC	No	-	-	No	-
4	64	H	ANCA positivo	0,1	> 50	Novoseven	No	Ciclosporina y corticoides	RC	Sí	22,5	Ciclofosfamida	No	-
5	72	H	Polimialgia Reumática	2,0	36	Plasma y Novoseven	No	Ciclosporina y corticoides	RC	No	-	-	No	-
6	86	H	Desconocido	7,3	49,5	-	No	-	-	No	-	-	Sí	Hematoma periamigdalino, Limitación esfuerzo terapéutico,

(Continúa en la página siguiente)

Tabla I (Cont.). Características y resultados

N.º Paciente	Edad	Sexo	Desencadenante	Nivel FVIII diagnóstico (%)	Título inhibidor diagnóstico (BU/mL)	Tratamiento hemostático	Eventos trombóticos	Tratamiento Inmunosupresor	Respuesta 1ª línea	Recaída	Duración respuesta (meses)	Tratamiento recaída	Éxito	Causas éxito
7	60	H	Idiopática	3,7	> 8	Felba	No	Ciclosporina y corticoides	RC	No	-	-	No	-
8	32	M	Puerperio	2,1	3,4	Novoseven	No	Corticoterapia	RC	No	-	-	No	-
9	90	H	Polimialgia reumática	0,4	24,3	Novoseven	No	Ciclosporina y corticoides	RC	Sí	8,7	Ciclofosfamida	No	-
10	72	H	Esclerodermia	0,5	75,0	-	No	Ciclosporina y corticoides	No	No	-	-	Sí	Infección respiratoria
11	74	H	Idiopática	0,2	48,9	-	No	Ciclosporina y corticoides	RP	No	-	-	Sí	Infección respiratoria
12	76	H	Adenocarcinoma renal	0,3	18,0	Novoseven	No	Ciclofosfamida y corticoides	RP	No	-	-	Sí	Neoplasia
13	78	H	Guillen-Barré crónico	2,0	14,0	Novoseven	No	Ciclosporina y corticoides	RP	No	-	-	No	-

distribución: 8 pacientes recibieron ciclosporina y corticoides, 2 tacrólimus y corticoides y 1 ciclofosfamida y corticoides (1%). Un solo paciente recibió monoterapia con corticoides, mientras que 1 paciente no recibió tratamiento por limitación del esfuerzo terapéutico (LET). Con el tratamiento IS, el 66,7% de los casos (n = 8) alcanzaron respuesta completa (RC) y el 25% (n = 3) alcanzó al menos una respuesta parcial. Entre los pacientes tratados con ciclosporina y corticoides en primera línea, el 75% alcanzaron RC. Cuatro pacientes (36,3%) recayeron, con una mediana de duración de la respuesta de 10,8 meses (rango, 8,7-22,5). Al final del estudio, el 30,8% (n = 4) habían fallecido: 2 pacientes por infección, 1 por neoplasia activa y 1 por hematoma periamigdalino y LET.

Conclusión: Una búsqueda exhaustiva al diagnóstico permite detectar la causa de HAA en más del 70% de enfermos. En este análisis se pudo comprobar la eficacia del tratamiento hemostático sin observar complicaciones trombóticas asociadas. Por otra parte, el esquema empleado con ciclosporina asociada a corticoides es altamente eficaz, y puede considerarse una opción válida para el tratamiento de primera línea de la HAA.

PC-370 Experiencia con el uso de idarucizumab en nuestro centro

Ferrer Chaves C.¹, Morente Constantín E.², Rivas Luque M.³, García Ruiz M. A.², Biedma López A.¹, Berruga Oñate J.¹, Jurado Chacón M.²

¹Hospital San Juan de la Cruz. Úbeda, Jaén. ²Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada. ³Hospital Comarcal Santa Ana. Motril, Granada

Introducción: Idarucizumab es un agente de reversión específico para dabigatrán. Es un fragmento de anticuerpo monoclonal humanizado (Fab) indicado en pacientes con dicho anticoagulante cuando se necesita una reversión rápida del efecto anticoagulante. Se administra vía iv. La dosis recomendada son 5 g en 2 perfusiones o bolos iv de 2,5g separados 5-10 min.

Objetivo: Estudio descriptivo del empleo de Idarucizumab en pacientes que requieren procedimiento urgente.

Pacientes, material y método: Se describen 6 casos de empleo de Idarucizumab en el último año.

1. Mujer 70 años. Dabigatrán 150 mg/12 h. Dolor abdominal por perforación uterina. Se administra idarucizumab previo a cirugía urgente (histerectomía y doble anexectomía). A las 12 h se introdujo HBPM. Se produce absceso subhepático hemorrágico como complicación quirúrgica. A los 20 días se inicia Dabigatrán.
2. Varón 55 años. Dabigatrán 150 mg/12 h. Dolor en fosa renal derecha por cólico renal complicado. Se administra Idarucizumab y se implanta doble J sin incidencias. A las 24 h se reinició Dabigatrán 150 mg/12 h.
3. Mujer 77 años. Dabigatrán 110 mg/12 h. Rectorragia, muestra incoagulable e inestabilidad hemodinámica. Se administra Idarucizumab. 1 h después no hay sangrado. A las 24 h fallece por fallo multiorgánico.
4. Mujer 88 años. Dabigatrán 110 mg/12 h. Rectorragia persistente de 24 h de evolución. Se administra Idarucizumab.

1 h tras la administración no hay sangrado y se normalizan los tiempos de coagulación.

5. Mujer 86 años. Dabigatrán 110 mg/12 h. Rectorragia de 48h de evolución. Ante la situación de gravedad con sangrado activo se administra Idarucizumab. 1 h después no hay evidencia de sangrado.
6. Varón 76 años, con insuficiencia cardiaca por miocardiopatía dilatada con disfunción ventricular severa. Dabigatrán 150 mg/12 h. Melenas de 3 días de evolución. Se administra Idarucizumab ante el traslado a otro centro para realizar EDA. Después de 3 h de la administración, sigue sin evidencia de sangrado y los tiempos de coagulación son normales. Se realiza EDA sin evidencia de restos hemáticos ni lesiones aparentes, pero fallece a las 48 h del ingreso.

Resultados y conclusiones: Los 6 pacientes tuvieron reversión rápida de la alteración de la coagulación sin evidenciarse sangrado durante el procedimiento. El uso de Idarucizumab permitió una intervención rápida, duradera y segura de los pacientes. Una sola dosis de 5 g fue suficiente durante 24 h. Una paciente presentó complicación hemorrágica relacionada con el procedimiento quirúrgico. 2 pacientes fallecieron por circunstancias ajenas al Idarucizumab. Idarucizumab se ha integrado en el protocolo de manejo de emergencia de pacientes con Dabigatrán y es efectivo para la reversión de hemorragia incontrolada o realización de cirugía urgente.

PC-371 Déficit de factor XIII adquirido. Experiencia en nuestro centro

Morente Constantín E., Entrena Ureña L., Fernández García D., Núñez García A., Jurado Chacón M.

Servicio de Hematología. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada

Introducción: El déficit del factor XIII (FXIII) es una coagulopatía infrecuente que puede aparecer de forma congénita o adquirida. El déficit adquirido por el desarrollo de inhibidores se describe con cierta frecuencia en pacientes con enfermedades autoinmunes, vinculado al uso de ciertos fármacos (isoniacida, penicilina, procainamida) y en el contexto de enfermedades neoplásicas. Los tiempos de coagulación de estos pacientes suelen ser normales y presentan una disminución de los test de estabilidad del coágulo y de los niveles de FXIII.

Métodos: Estudio descriptivo de los pacientes diagnosticados de déficit de FXIII adquirido en nuestro servicio en los últimos 3 años.

Resultados: Se diagnosticaron 7 pacientes (4 mujeres) con déficit adquirido de FXIII. Ninguno presentaba antecedentes personales (AP) ni familiares (AF) de diátesis hemorrágica. La mediana de edad fue de 72 años (43-78). La etiología fue tumoral en el 71,43% de casos: 1 carcinoma de vejiga, 1 ampuloma, 1 adenocarcinoma de sigma, 1 plasmocitoma óseo solitario plasmablástico y 1 adenocarcinoma gástrico. 1 paciente padecía un síndrome hemofagocítico secundario a enfermedad de Crohn y 1 paciente fue sometida a trasplante renal. La mediana del nivel de FXIII fue 28%.

Cuatro pacientes presentaron un sangrado quirúrgico diferido (1 de ellos también una dehiscencia de sutura), 2 hematuria (1 de ellos también un sangrado retroperitoneal), 1 melenas y 1 un hematoma perirrenal. 5 pacientes recibieron tratamiento con plasma fresco congelado (PFC), 1 recibió PFC y después concentrado de FXIII y uno recibió transfusión de plaquetas por plaquetopenia añadida y desconocimiento, en el momento del sangrado, del déficit de FXIII.

Dos pacientes requirieron ingreso en UCI y 6 fallecieron. 3 pacientes fallecieron por complicaciones derivadas del sangrado y 3 por problemas relacionados con la enfermedad de base. Las características de los pacientes se detallan en la [tabla I](#).

Tabla I

Paciente	Edad (años)	Sexo	Etiología del déficit de FXIII	Éxito	% de FXIII	Sangrado	Tratamiento del episodio de sangrado
1	77	Hombre	Adquirida (carcinoma de vejiga)	Sí	19,2	Hematuria; sangrado retroperitoneal tras intervención quirúrgica	PFC
2	45	Mujer	Adquirida (síndrome hemofagocítico secundario a enfermedad de Crohn)	Sí	24,6	Melenas	Transfusión de plaquetas por plaquetopenia (se desconocía el déficit de FXIII)
3	72	Mujer	Adquirida (trasplante de riñón)	Sí	44,9	Hematoma perirrenal	PFC
4	78	Hombre	Adquirida (adenocarcinoma de sigma)	Sí	28,9	Dehiscencia de sutura y sangrado excesivo tras cirugía	PFC
5	74	Mujer	Adquirida (plasmocitoma óseo solitario plasmablástico)	Sí	39,8	Sangrado recidivante tras cirugía	PFC
6	51	Hombre	Adquirida (adenocarcinoma gástrico)	Sí	28	Hematuria anemizante	PFC; concentrado de FXIII
7	43	Mujer	Adquirida (ampuloma)	No	7,2	Sangrado recidivante tras cirugía	PFC

Conclusiones: El déficit adquirido de FXIII es un trastorno de la coagulación infrecuente. Dado que el dato más característico de este déficit es un estudio de coagulación basal rigurosamente normal, debemos sospecharlo en pacientes con sangrado sin AP ni AF de diátesis hemorrágica y sin alteraciones en el estudio de coagulación ni en el de funcionalidad plaquetaria. Pese a que por encima de 5U/dL la clínica hemorrágica es ocasional, se ha comunicado sangrado anormal postraumático con niveles de hasta el 30%-60%. Como aconteció en nuestra serie de casos, los cuadros hemorrágicos pueden ser severos, siendo el tratamiento de elección el concentrado específico de FXIII o, como alternativa, el PFC, que debe mantenerse hasta el cese del sangrado.

PC-372 Estudio retrospectivo observacional de BAX 855 en la práctica clínica en Estados Unidos

Booth J.¹, Watt M.², Vidal I.³, Milligan S.⁴, Aledort L.⁵

¹Shire. Cambridge, Estados Unidos. ²Shire. Zug, Suiza. ³Shire. Madrid, España.

⁴Trio Health Analytics. La Jolla, Estados Unidos. ⁵Icahn School of Medicine at Mount Sinai. Nueva York, Estados Unidos

Introducción: La investigación que describe la experiencia del paciente con factor VIII recombinante (FVIIIr) de semivida extendida (EHL) fuera de ensayos clínicos es limitada. Realizamos un estudio observacional retrospectivo en personas con hemofilia A (PWH) tratadas con BAX 855 (Rurioctocog Alfa Pegol, SHP660, ADYNOVATE[®], Shire, Lexington, MA, EE. UU.) en los EE. UU.

Objetivo: Evaluar el uso en la práctica clínica real del EHL BAX 855 en PWH y describir sus perfiles clínicos antes/después de cambiar a BAX 855.

Métodos: Los datos se recogieron mediante cuadernos de recogida de datos, historias clínicas y comunicación directa con profesionales sanitarios, PWH o sus cuidadores. Las evaluaciones incluyeron gravedad de la enfermedad, nivel de dolor, número/localización de articulaciones diana, tratamiento previo para la hemofilia A (HA), frecuencia de administración antes/después del cambio a BAX 855, adherencia antes/después del cambio, tasas anuales de hemorragia (TAH) antes/después del cambio, motivos del cambio y meses en tratamiento.

Resultados: Se recogieron datos de 62 pacientes (edad media, 25 años). La mayoría (87 %; 54/62) presentaban HA grave. Los pacientes procedían de 23 estados diferentes y recibieron asistencia de 44 profesionales sanitarios en 38 centros diferentes. Todos los pacientes habían recibido = 12 meses de tratamiento con FVIII antes de cambiar a BAX 855. La población del estudio tenía una media de 1,9 articulaciones diana. La evaluación subjetiva del dolor inicial fue predominantemente de leve a moderada para el 91 % (41/45) de los encuestados. La mayoría de los pacientes recibían factor antihemofílico (recombinante) (ADVATE[®], Shire, Lexington, MA, EE. UU.) antes de cambiar a BAX 855, tanto para profilaxis (68 %; 42/62) como para hemorragias intercurrentes (53 %, 33/62). La media de las frecuencias de administración del tratamiento profiláctico antes de BAX 855 fue de 2,8/semana para los factores de semivida estándar (SHL) y de 1,8/semana para otros

EHL. La media de la frecuencia de administración para BAX 855 en profilaxis fue de 2,2/semana. En el momento de la obtención de los datos, la mediana del tiempo en tratamiento profiláctico con BAX 855 era de 12,5 meses. La adherencia a los tratamientos anteriores fue completa o buena en el 68 % (40/59) de los encuestados. Las TAHs medias en los tratamientos profilácticos previos fueron de 5,7 para los FVIII SHL (n = 40) y de 6,2 para el FVIII EHL (n = 5). La TAH media durante el tratamiento profiláctico con BAX 855 fue de 1,7 (n = 57). El motivo más frecuente por el que los PWH cambiaron a BAX 855 fue la preferencia individual. La adherencia a BAX 855 fue completa o buena en el 83 % (49/59) de los encuestados.

Conclusiones: Al registrar la experiencia individual antes/después de cambiar a BAX 855, encontramos que los PWH que cambiaron a BAX 855 notificaron una mejor adherencia y una TAH media inferior. Los PWH que cambiaron desde un factor SHL notificaron una menor frecuencia media de administración del tratamiento profiláctico con BAX 855. Estos datos apoyan la importante contribución de los EHL en el cuidado de los PWH.

Financiación: Este estudio ha sido financiado por Shire.

PC-373 Test de generación de trombina: un punto de vista práctico desde la enfermería

García Barcenilla S., Acuña Butta P., Cebanu T., Justo Sanz R., Monzón Manzano E., Fernández Bello I., Butta Coll N., Jiménez Yuste V.

Hospital Universitario La Paz-IdiPaz. Madrid

Introducción: La toma de muestras de sangre por vía periférica para realizar las pruebas rutinarias de coagulación es una práctica habitual de los profesionales de enfermería especializados en hemostasia. El personal de enfermería debe familiarizarse con este procedimiento y conocer las implicaciones del protocolo de extracción en los resultados de las pruebas de coagulación. Actualmente se tiende a monitorizar el proceso de coagulación y la generación de trombina mediante la trombinografía automática calibrada (CAT).

Objetivo: Nuestro objetivo es analizar el impacto de diferentes protocolos de extracción en los resultados del CAT.

Métodos: Se incluyeron diez controles sanos y se extrajeron 10,8 ml de sangre periférica mediante dos protocolos diferentes (Tabla I). Ambos se realizaron siguiendo las recomendaciones generales para evitar sesgos en la fase preanalítica (pacientes no sometidos a ayuno y descanso 5 min previos a la toma de muestra, sin fumar 2 horas previas a la extracción, acceso en la vena cubital del brazo desinfectado con alcohol y tubos de citrato correctamente enrasados). El plasma libre de plaqueta (PLP) se obtuvo centrifugando sangre completa a 1.500 xg y 23 °C durante 15 min seguido de 2 centrifugaciones más (primero: 15 min a 1.500 xg, segundo: 2 min a 13.000 xg) y las alícuotas se almacenaron a -80 °C hasta su análisis. El CAT se realizó con el reactivo PPP-Low. Se evaluó el potencial endógeno de trombina (trombina total generada, nMxmin); el lagtime (tiempo hasta obtener una concentración de 10 nM de trombina, min); el tiempo al pico (tiempo has-

ta alcanzar la concentración máxima de trombina, min) y el pico (concentración máxima de trombina alcanzada, nM). El análisis estadístico se realizó con el software SPSS 9.0.

Tabla I	
Protocolo A	Protocolo B
Aguja de 21 G	Aguja de 25 G
Sin torniquete	Con torniquete
Sistema de extracción al vacío	Uso de palomilla entre la aguja y el tubo de citrato
Extracción directa al tubo de citrato	Brazo acostado sin reposo
Brazo en reposo al nivel del corazón	

Resultados: Observamos variaciones en los parámetros del CAT entre los protocolos A y B (Fig. 1). No se observaron diferencias significativas en estos usando la prueba de T pareada (Tabla II). Algunas muestras mostraron una hemólisis macroscópica cuando se extrajo sangre con el Protocolo B.

Conclusión: Observamos que el protocolo B es el peor procedimiento para la extracción de muestras de sangre periférica, lo que muestra la necesidad de estandarizar el procedimiento para la extracción de sangre, especialmente en unidades que trabajan con pacientes que precisan de pruebas de coagulación. No se observaron diferencias significativas en el CAT entre ambos procedimientos de extracción. Este hecho podría deberse a la falta de sensibilidad del CAT y/o al reducido número de controles inclui-

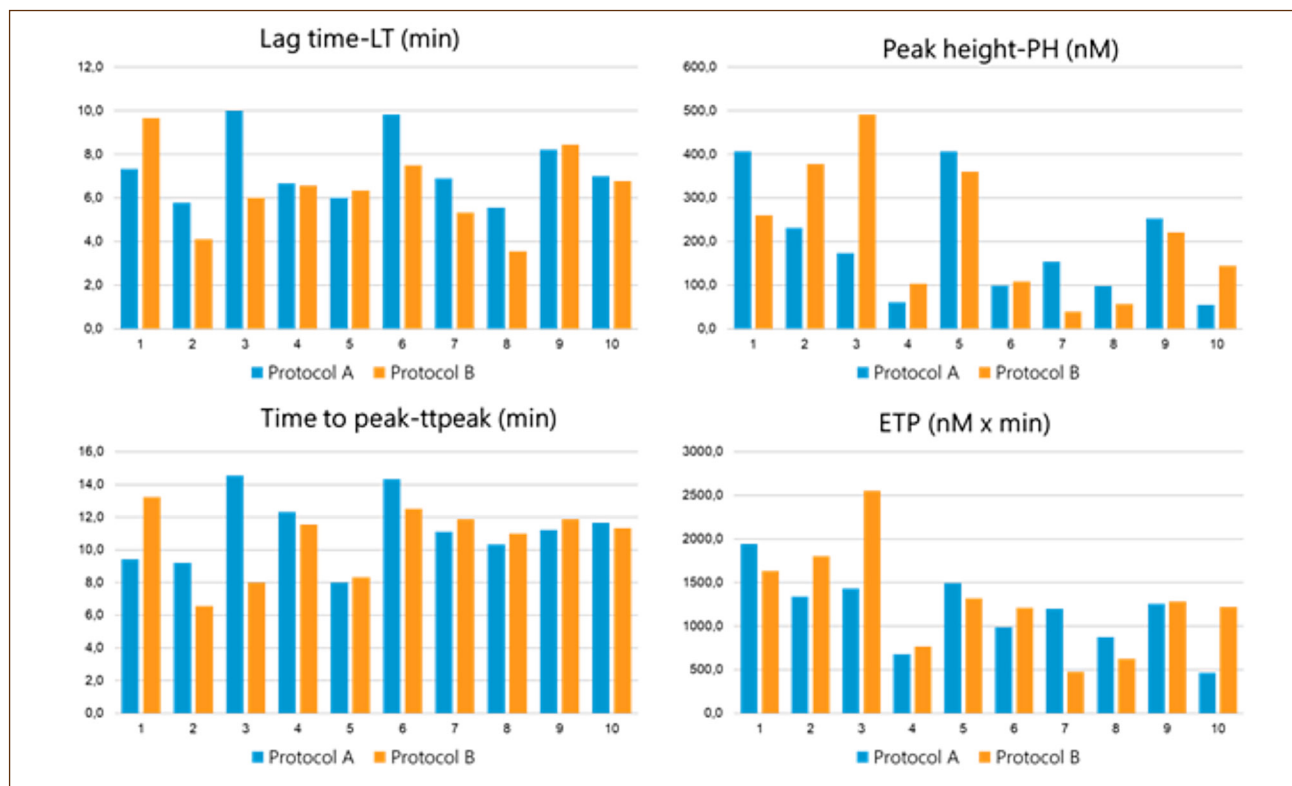


Figura 1.

Tabla II		Paired differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error mean	95% confidence interval of the difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	LTa-LTb	,90000	1,77153	,56021	-,36727	2,16727	1,607	9	,143
Pair 2	ETPa-ETPb	-120,25100	542,18018	171,45243	-508,10334	267,60134	-,701	9	,501
Pair 3	PHa-PHb	-22,61100	136,29693	43,10087	-120,11195	74,88995	-,525	9	,613
Pair 4	Ttpeaka-ttpeakb	,59300	2,71935	,85993	-1,35230	2,53830	,690	9	,508

dos. Por lo tanto, son necesarios estudios futuros que incluyan más controles y donde se analicen otros parámetros para identificar el mejor procedimiento que se incorporará a nuestra rutina diaria.

PC-374 Déficit de factor V adquirido: a propósito de un caso

Morais Bras L. R., Castañón Fernández C., Martínez Carballeira D., Bernardo Gutiérrez A., Corte Buelga J. R., Soto Ortega I.

Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo

Introducción: El déficit adquirido de Factor V es un trastorno raro de la coagulación con una incidencia estimada de 0,09-0,29casos por millón de personas-año, se cree que es una infraestimación por la gran proporción de casos asintomáticos. Es conocido el desarrollo de aloanticuerpos frente al FV relacionados con el uso de trombina bovina tópica, actualmente en desuso, por lo que el desarrollo de autoanticuerpos es de etiología idiopática o bien relacionado con otras condiciones.

Caso clínico: Varón de 63 años con antecedente de HTA, meningoencefalitis en la infancia, epilepsia focal y enfermedad renal crónica en hemodiálisis. Último ingreso en enero de 2018 por neumonía basal derecha que fue tratada con ceftriaxona con buena evolución. Es valorado al mes del alta, en hemodiálisis por malestar general y un cuadro de desconexión del medio sin otra clínica asociada con TC de cráneo normal. En las pruebas de laboratorio destaca un alargamiento del tiempo de protrombina (TP 41.2 seg) y tromboplastina parcial activada (TTPA 101.7 seg), tiempo de trombina normal (TT 15.9 seg), las pruebas de mezclas para TP y TTPA no corrigen; el anticoagulante lúpico (AL) es negativo y en la dosificación factorial se detecta un FV:C 0.2% con un inhibidor de 2.81 UB. Los estudios de coagulación previos (octubre

2017) eran normales por lo que la principal sospecha es un déficit adquirido de FV, de tiempo de evolución indeterminado y en posible relación con el ingreso previo por el proceso infeccioso y/o asociado al tratamiento con ceftriaxona. Se inicia tratamiento erradicador con metilprednisolona con negativización del inhibidor a los cinco días de iniciarlo. Al alta se mantiene el tratamiento esteroideo con recuperación progresiva de los niveles de FV (Fig. 1), posteriormente se inicia el descenso esteroideo hasta suspensión en mayo de 2018 y manteniéndose en remisión completa.

Discusión: El déficit adquirido de FV por la presencia de un inhibidor es raro, con clínica variable, un 20% de casos al diagnóstico con hemorragias de distinta gravedad; hay casos descritos asociados a manifestaciones trombóticas. Se deberá sospechar ante TP y TTPA alargados con TT normal, excluyendo CID, toma de AVK y algunos ACOD, con prueba de mezclas que no corrige y descartando un AL. El diagnóstico definitivo mediante la dosificación del FV:C y del inhibidor. En muchos casos es difícil establecer una relación causal, 20% idiopáticos, el resto se asocia a otras patologías (infecciones, neoplasias, fármacos como antibióticos, enfermedades autoinmunes). En este caso se diagnostica un déficit adquirido con inhibidor frente al FV en un paciente con antecedente reciente de infección respiratoria tratada con cefalosporinas. El objetivo del tratamiento en todo déficit adquirido de factores de coagulación se basa en el control del sangrado y erradicación del inhibidor. En el caso del déficit adquirido de FV los pacientes asintomáticos no precisan tratamiento con agentes hemostáticos pero sí erradicador. La clínica hemorrágica es difícil de tratar pues los inhibidores interfieren con el complejo protrombinasa y son difíciles de sortear con agentes bypass, se han obtenido resultados variables con la transfusión de plasma fresco congelado, Concentrado de Complejo Protrombínico activado y FVIIa recombinante. La transfusión de plaquetas ha demostrado su utilidad probablemente por el FV de los gránulos alfa. El tratamiento erradicador se basa en regímenes utilizados en hemofilia A adquirida.

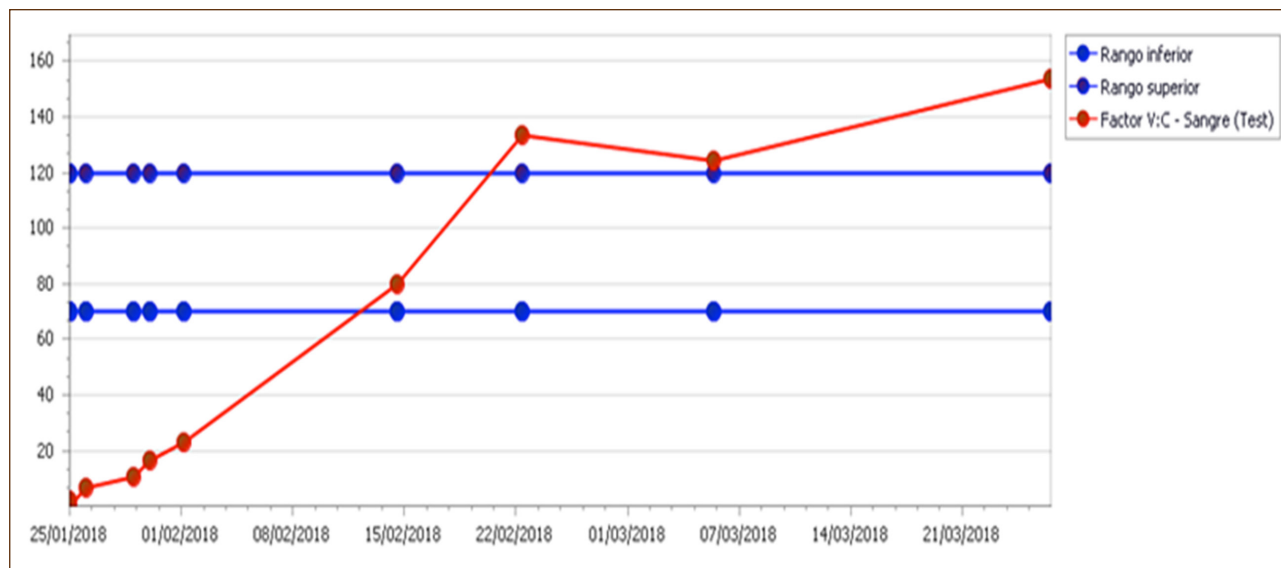


Figura 1.

Conclusiones: Se debe pensar en un déficit adquirido de Factor V ante alargamientos de TP y TTPA con TT normal, asociados o no a clínica, hemorrágica o incluso trombótica, descartando otras causas más frecuentes y demostrando la presencia de un inhibidor.

PC-375 Frecuencia de hemorragias en cuatro años en pacientes con hemofilia A que reciben profilaxis: datos del estudio Ahead en 22 países

Khair K.¹, Oldenburg J.², Baldacci E.³, Kurnik K.⁴, Parra R.⁵, Huth-Kühne A.⁶, Klamroth R.⁷, Vidal I.⁸, Chiu Gretchen R.⁹, Steinitz-Trost Katharina N.¹⁰, Brondke H.¹¹; en representación de los grupos del estudio AHEAD

¹Haemophilia Centre. Great Ormond Street Hospital for Children. Londres, Inglaterra. ²Institute for Experimental Hematology and Transfusion Medicine. Bonn University Clinic. Bonn, Alemania. ³Department of Cellular Biotechnologies and Hematology. Sapienza University. Roma, Italia. ⁴Dr. von Haunersches Kinderspital Klinikum der Universität München. Múnich, Alemania. ⁵Banc de Sang i Teixits. Hospital Vall d'Hebron. Barcelona, España. ⁶SRH Kurpfalzkrankenhaus and Haemophilia Centre Heidelberg. Heidelberg, Alemania. ⁷Department for Internal Medicine. Vascular Medicine and Haemostaseology, Vivantes Klinikum Friedrichshain. Berlín, Alemania. ⁸Shire. Madrid, España. ⁹Shire. Lexington, Estados Unidos. ¹⁰Shire. Viena, Austria. ¹¹Shire. Zug, Suiza

Introducción: A medida que se dispone de nuevos productos, existe una mayor necesidad de comparar su efectividad en profilaxis con respecto a los productos estándar. Nuestro objetivo fue establecer una referencia de efectividad mediante la evaluación de la frecuencia hemorrágica en los estudios AHEAD.

Métodos: Estos estudios de cohortes no intervencionistas, prospectivos y a largo plazo se han puesto en marcha en 22 países e incluyen a pacientes con hemofilia A (HA) grave o moderada (factor VIII < 1-5%) tratados con factor antihemofílico (recombinante) (ADVATE®, Shire, Lexington, MA, USA). En los grupos internacional (INT, NCT02078427) y alemán (GER, German Clinical Trial Register DRKS 00000556) se analizaron los datos preliminares de los pacientes en profilaxis con tasas anualizadas de hemorragias (TAH) en cada punto temporal.

Resultados: Se han reclutado 1117 pacientes (715 INT, 402 GER). Los números de pacientes en profilaxis con datos de TAH para el análisis fueron 611, 478, 371 y 251 en los años 1, 2, 3 y 4, respectivamente. Durante el periodo de 4 años, los pacientes en profilaxis presentaron una mediana de TAH de 1,7/2,4 (INT/GER) en el año 1, 1,3/2,2 en el año 2, 1,5/1,9 en el año 3, y 1,0/2,1 en el año 4. Durante el periodo de 4 años en los grupos INT y GER combinados, una mediana del 38,0 % de los pacientes en profilaxis presentó una TAH de < 1, el 13,9 % una TAH de 1- < 2, y el 10,2 % una TAH de 2- < 3. En la **tabla I** se muestran los resultados por año.

Conclusiones: Estos datos muestran que ~40% de los pacientes en profilaxis tuvieron una TAH de < 1 en la práctica clínica habitual. Alrededor de la mitad de los pacientes tuvieron una TAH de < 2. En hemofilia A, los estudios AHEAD representan conjuntamente una de las cohortes prospectivas a largo plazo de mayor

Tabla I. Porcentaje de pacientes en profilaxis que alcanzan determinados niveles de TAH por año: Grupos INT y GER combinados

	Año 1	Año 2	Año 3	Año 4
TAH	n = 611	n = 478	n = 371	n = 251
< 1	37,0 %	37,6 %	38,3 %	39,0 %
1- < 2	14,4 %	13,4 %	14,3 %	13,6 %
2- < 3	11,1 %	8,4 %	9,7 %	10,8 %
≥ 3	37,5 %	40,6 %	37,7 %	36,7 %

envergadura, lo cual ofrece una referencia fiable para nuevos productos o estrategias terapéuticas.

Financiación: Este estudio ha sido financiado por Shire.

PC-376 Déficit grave de factor XI y embarazo: descripción de 2 casos

Gutiérrez López de Ocariz X., Castro Quismondo N., Rodríguez Rodríguez M., Buendía Ureña B., de Nicolás Sol R., Bienert García Á., Martínez-López J.

Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid

Introducción: El déficit congénito de factor XI (FXI) es una coagulopatía infrecuente con una prevalencia de 1 caso por cada 1 millón de habitantes, aunque es algo más frecuente en ciertos grupos étnicos (judíos Ashkenazi). Los casos severos (< 15-20% FXI) son más comunes en los homocigotos; mientras que en los heterocigotos suelen presentar unos valores entre 25-75%. Parece existir una disociación genotipo-fenotipo ya que la clínica hemorrágica que presentan estos pacientes es variable sin que exista una clara correlación con el nivel de factor. En la población obstétrica el déficit de FXI puede aumentar el riesgo hemorrágico postparto.

Materiales y métodos: Se describen los casos de dos mujeres embarazadas diagnosticadas de déficit grave de FXI sin fenotipo sangrante.

Caso 1: Mujer de 36 años con determinación de FXI del 1%. Gestación obtenida por FIV en el año 2017. (Previo a la realización de punción folicular se administró concentrado de FXI (Hemoleven®) a 30 UI/Kg 1 hora antes de la técnica sin complicaciones hemorrágicas). Para el parto vaginal se administró tratamiento profiláctico con Hemoleven® a dosis de 30 UI/kg 1 hora antes del comienzo del periodo expulsivo, obteniendo una determinación de FXI post-administración del 33%. No hubo complicaciones hemorrágicas. A las 48h del parto presentaba FXI 13%, por lo que se administró FXI recombinante (Hemoleven®) a dosis de 15 UI/kg con normalización del TTPa en posteriores controles. El neonato presentaba una determinación de FXI de 31%.

Caso 2: Mujer de 28 años con determinación de FXI del 2%. Gestación espontánea en el año 2016. Antecedente de 2 gestiones previas, la primera de ellas por vía vaginal sin administración de

tratamiento sustitutivo y la segunda gestación con administración previa al parto de PFC (20 mL/kg) y ácido tranexámico iv (10 mg/kg c8h) sin presentar complicaciones hemorrágicas en ninguna de ellas. En esta ocasión se administró tratamiento profiláctico con Hemoleven® a dosis de 25 UI/kg 1 hora antes del comienzo del periodo expulsivo; con una determinación posterior de FXI 30%. A las 48 horas del parto presentaba factor XI 10% y se administró una dosis de Hemoleven® a 15 U/kg. No se pudo realizar determinación de FXI al neonato. En ambos casos se recomendó no administrar anestesia epidural, así como evitar el uso de medidas mecánicas en el parto (fórceps, ventosa).

Resultados: En ninguno de los dos casos expuestos las pacientes presentaron clínica hemorrágica ni episodios trombóticos. Los neonatos tampoco presentaron complicaciones hemorrágicas.

Conclusiones: En pacientes embarazadas con déficit grave de factor XI se requieren medidas especiales en el parto. Dado que existe una disociación genotipo-fenotipo importante exige mantener una actitud individualizada para asegurar un buen control de la paciente, pudiendo utilizar diferentes alternativas terapéuticas (concentrado de FXI; plasma fresco congelado y antifibrinolíticos) según la disponibilidad de las mismas, el riesgo hemorrágico de la paciente y las características del proceso obstétrico.

PC-377 Carga de la hemofilia A y B en España. Resultados del Estudio Chess

López-Chicheri B.¹, Gonzalez J.¹, Escamillas J.¹, García Diego D. A.², Kritikou P.¹, O'Hara J.³

¹Swedish Orphan Biovitrum. Estocolmo, Suecia. ²Federación Española de Hemofilia. Madrid, España. ³Cheste University. Cheste, Valencia

Introducción: Aproximadamente un 90% de los pacientes afectados por hemofilia A o B grave, presentan artropatía hemofílica crónica en 1 a 6 articulaciones principales (tobillos, rodillas, codos) (1). Esto puede comprometer su calidad de vida.

Objetivo: Describir los resultados extraídos del estudio CHES (Cost Haemophilia in Europe: A Socioeconomic Survey) basados en pacientes adultos afectados por Hemofilia A (HA) y B (HB) y tratados con Factores VIII y IX convencionales previamente a la introducción de los factores de vida media extendida.

Materiales y métodos: Datos recopilados entre diciembre de 2014 y abril de 2015, los factores de vida media extendida no estaban comercializados en España durante ese periodo. Los pacientes incluidos fueron los que habían permanecido durante todo el estudio en la misma estrategia de tratamiento (profilaxis o a demanda). No hubo restricciones en el los tiempos de inicio de tratamiento en profilaxis, por lo que se observan diferentes regímenes de tratamiento. Las variables primarias analizadas fueron: episodios hemorrágicos en los últimos 12 meses, articulaciones diana (definidas como localizaciones de sinovitis crónica), dolor crónico y QoL medida por EQ-5D. Los análisis fueron descriptivos.

Resultados: Se registraron datos de 218 pacientes en España, 122 (56%) fueron excluidos del análisis ya que no habían permanecido en la misma estrategia de tratamiento. 54 (28,8%) habían estado siempre en profilaxis primaria y 42 (19,3%) siempre a demanda. La media (DE) del número de episodios hemorrágicos en los últimos 12 meses fue de 1,9 (2,0) y 1,5 (1,6) en pacientes en profilaxis con HA y HB, respectivamente; la media en pacientes a demanda con HA y HB fue de 4,9 (6,3) y 6,3 (3,4), respectivamente. La presencia de dolor articular en articulaciones diana y la QoL se presentan en la [tabla I](#).

Conclusiones: En base a los resultados del estudio CHES, previo a la comercialización de los factores de vida media extendida en España, los pacientes con Hemofilia A y B, presentaron una carga de la enfermedad notable en articulaciones diana y dolor crónico, especialmente en régimen a demanda. Los datos indican la necesidad de optimizar los tratamientos de la hemofilia en España. Variable Tipo de hemofilia Profilaxis primaria A demanda Articulaciones diana (localizaciones de sinovitis crónica), n (%) A 23/44 (52,3%) 23/35 (65,7%) B 5/10 (50,0%) 6/7 (85,8%) Presencia de dolor crónico, n (%) A 19/44 (43,2%) 16/35 (45,7%) B 5/10 (50,0%) 5/7 (71,4%) QoL, media (DE) A 0,90 (0,16), n = 12 0,65 (0,40), n = 9.

Revelación del autor: BLC, JG, JEy PK son empleados de SOBI, compañía involucrada en la investigación y comercialización de Eloceta. JOH es empleado de HCD Economics, recibió fondos de SOBI para la investigación Y DAG es presidente de FEDHEMO y miembro de COCEMFE sin conflicto de intereses con SOBI Los datos del CHES fueron financiados por Sobi, Bioverative y Novo Nordisk.

Bibliografía

1. Rodríguez-Merchán EC. Musculoskeletal complications of hemophilia. HSS J 2010;6(1):37-42.

Variable	Tipo de hemofilia	Profilaxis primaria	A demanda
Articulaciones diana (localizaciones de sinovitis crónica), n (%)	A	23/44 (52,3%)	23/35 (65,7%)
	B	5/10 (50,0%)	6/7 (85,8%)
Presencia de dolor crónico, n (%)	A	19/44 (43,2%)	16/35 (45,7%)
	B	5/10 (50,0%)	5/7 (71,4%)
QoL, media (DE)	A	0,90 (0,16), n = 12	0,65 (0,40), n = 9

PC-378 Experiencia nacional de pacientes con hemofilia A en profilaxis y profesionales sanitarios en el uso de la aplicación para móviles MYPKFiT(R)

García Barcenilla S.¹, Justo Sanz R.¹, Monzón Manzano E.¹, Cebanu T.¹, Acuña Butta P.¹, Rivas Pollmar I.¹, Martín Salces M.¹, Soto Ortega I.², Santamaría Ortiz A.³, Núñez Vázquez R.⁴, Bonanad Boix S.⁵, Canaro Hirnyk M.⁶, Jiménez Yuste V.¹, Álvarez Román M. T.¹

¹Hospital Universitario La Paz-IdiPaz. Madrid. ²Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo. ³Hospital Universitario Vall D'Hebrón. Barcelona. ⁴Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. ⁵Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia. ⁶Hospital Universitario Son Espases. Palma

Introducción: El estudio farmacocinético (PK) es importante para la individualización de la profilaxis. La aplicación médica

myPKFiT® permite con sólo dos extracciones conocer los parámetros de PK. La misma genera un informe para la App para móviles myPKFiT®.

Objetivos: Los objetivos de este estudio, integrado dentro del estudio PK HemoA-SP, fueron conocer la opinión de los pacientes/cuidadores y profesionales sanitarios sobre la App y evaluar su utilidad.

Métodos: Se llevó a cabo un estudio observacional multicéntrico mediante la realización de encuestas de satisfacción a pacientes (edades comprendidas entre 1 y 65 años) diagnosticados de hemofilia A en tratamiento profiláctico con Advate® y a hematólogos que conocen y pueden ofrecer dicha aplicación para móviles a sus pacientes/cuidadores. Pacientes y hematólogos realizaron cuestionarios distintos basados en una metodología mixta usando la escala Likert. Resultados 7 pacientes y 13 hematólogos contestaron dichas encuestas.

Resultados: Los resultados de los pacientes muestran (Fig. 1): el 85,7% de los pacientes tienen un elevado grado de satisfacción

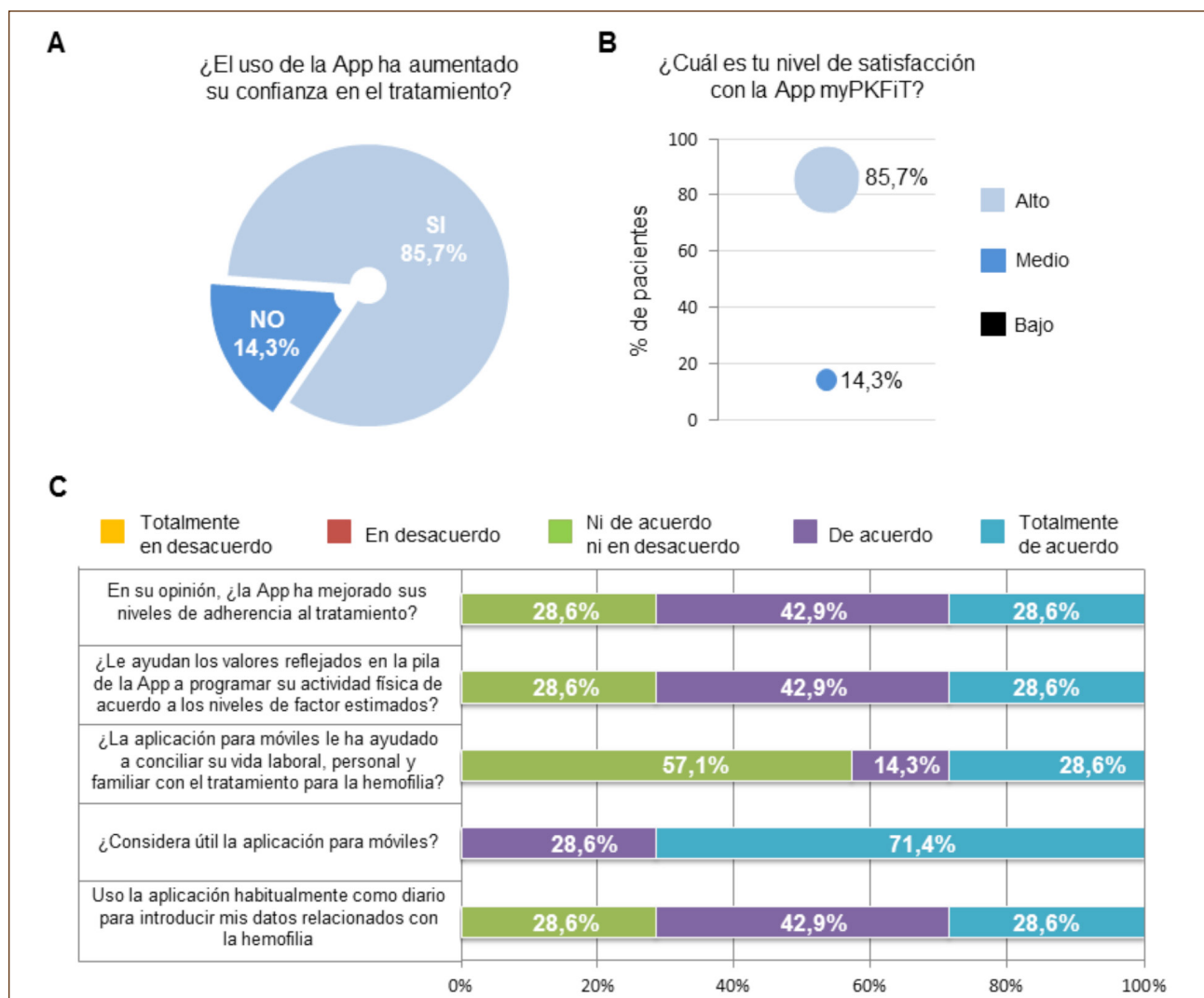


Figura 1.

con la App y consideran que logra aumentar la confianza en el tratamiento profiláctico con Advate®. El 55,5% de los pacientes manifiestan que les ha servido para mejorar su adherencia y para programar su actividad física de acuerdo a los niveles estimados de factor. Además, la emplean habitualmente como diario de datos relacionados con la hemofilia. Todos los pacientes la han calificado como útil. Los resultados en profesionales sanitarios muestran (Fig. 2): el 84,6% considera que es fácil de explicar a los pacientes y que el tiempo de explicación de la App estimado por paciente fue entre 5-30 min. También el 84,6% indica que cuentan con el soporte de otros profesionales (enfermería, farmacia). El 46,2%

tiene mayor información sobre la clínica hemorrágica de sus pacientes. El 76,9% considera que los valores reflejados en la pila de la App tienen un impacto positivo en la educación sanitaria de los pacientes que la usan. Por ser España país piloto de uso de esta App, el 7,7% de los pacientes comunicó la pérdida de datos como consecuencia del cambio a la nueva versión y el 23,1% de los profesionales comunicó la existencia de dificultades técnicas relacionadas con su empleo.

Conclusiones: La App incrementa la confianza en el tratamiento profiláctico con Advate® y se percibe como una herramienta útil. Mejora aspectos importantes de la enfermedad como la

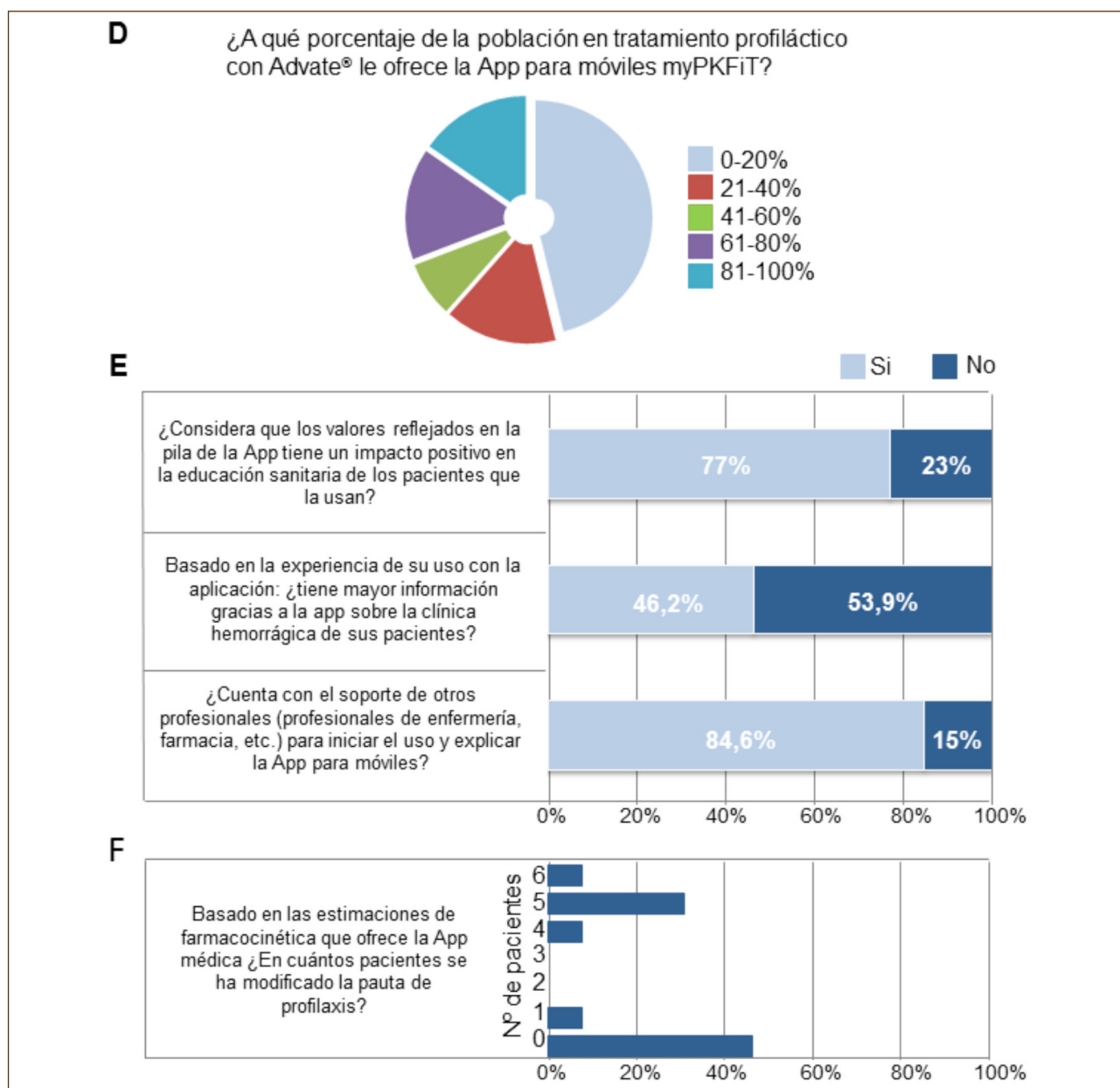


Figura 2.

adherencia al tratamiento y programar la actividad física (Tabla I). Los hematólogos aseguran recibir mayor información sobre la clínica de sus pacientes y perciben la App como una herramienta de educación sanitaria.

Facilita/Mejora	Reduce
Calidad de vida y movilidad del paciente	Tasa anualizada de sangrados (ABR)
Adherencia del paciente	Previene y retrasa la artropatía
Autonomía	Inseguridad del paciente
Optimización de recursos	Dependencia de los servicios sanitarios
Permite correlacionar sangrado con niveles estimados de factor	

Métodos de diagnóstico y marcadores

PC-379 Papel de los marcadores tromboticos, NET y test de generación de trombina en el diagnóstico de la infección protésica

Oto J.¹, Fernández-Pardo A.¹, Fuertes M.², Solmoirago M. J.¹, Plana E.³, Hervás D.⁴, Santillana N.¹, Ponce-Mora A.¹, de la Calva C.², Angulo M.², Baixauli I.², Baixauli F.², España F.¹, Navarro S.¹, Amaya J. V.², Medina P.¹

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. Valencia. Servicio de Angiología y Cirugía Vascular. Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia. ⁴Unidad de Bioestadística. Instituto de Investigación Sanitaria La Fe. Valencia

Introducción: La infección bacteriana activa la coagulación a través de la inmuntrombosis. Los neutrófilos constituyen la primera línea de defensa ante la infección bacteriana, pero se desconoce su mecanismo de acción en las infecciones protésicas (IP). Un posible mecanismo sería la liberación de *Neutrophil Extracellular Traps* (NET), redes extracelulares de ADN, histonas y proteínas de los gránulos, que son liberadas por los neutrófilos. Los NET son altamente protrombóticos y existe evidencia de su presencia en el biofilm bacteriano de las IP.

Objetivo: Nuestro objetivo fue explorar la utilidad de marcadores tromboticos, NET y el test de generación de trombina (TGT), para el diagnóstico y/o pronóstico de IP, puesto que actualmente no existen pruebas diagnósticas con sensibilidad/especificidad del 100%.

Métodos: Obtuvimos plasma en el preoperatorio de la cirugía protésica de 31 pacientes reclutados prospectivamente. La IP fue diagnosticada en 20 de estos pacientes siguiendo los criterios

del Consenso Internacional de Infecciones Periprotésicas, tanto analíticos como microbiológicos. Cuantificamos en plasma marcadores de NET (ADN, nucleosomas, mieloperoxidasa y calprotectina) y realizamos el TGT mediante test automatizado (CAT, Thrombinoscope). Generamos un modelo de regresión logística multivariable con R (v3.5.0), con capacidad de predecir la IP antes de la cirugía.

Resultados: Todos los parámetros de NET y TGT estaban significativamente aumentados en pacientes con IP comparados con los pacientes sometidos a cirugía protésica por causa no séptica y con nuestra cohorte de individuos sanos. Seguidamente, ajustamos un modelo de regresión logística *Elastic Net* para la estimación del riesgo de IP en pacientes antes de una cirugía protésica. Obtuvimos un modelo predictivo de IP con el DNA y el tiempo de latencia como variables predictoras, con un área bajo la curva ROC (AUC) de 0,94 (IC 95%: 0,85-1).

Conclusiones: La concentración de DNA y el tiempo de latencia del TGT parecen tener utilidad diagnóstica de IP. Actualmente estamos reclutando nuevos pacientes y realizando su seguimiento para evaluar la capacidad pronóstica de estas variables, con la finalidad de realizar un diagnóstico temprano eficaz e iniciar el tratamiento en estos pacientes para minimizar efectos colaterales de la IP 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 (PrometeoII/2015/017, ACIF/2017/138) y Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia.

PC-380 Las MMP como marcadores de etiología y pronóstico en la hemorragia intracraneal

Navarro-Oviedo M.¹, Zandio B.², Montori L.¹, Irisarri A.², Páramo J. A.³, Muñoz R.², Orbe J.¹

¹Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA). Pamplona. ²Servicio de Neurología. Complejo Hospitalario de Navarra. Pamplona. ³Servicio de Hematología. Clínica Universidad de Navarra. Pamplona

Introducción: La hemorragia intracraneal (HIC) representa el 15% de los ictus y se asocia a una elevada mortalidad (40%) durante los primeros 30 días. Las MMP controlan procesos de degradación y remodelado tisular involucrados en el desarrollo de patologías vasculares. En concreto su papel es fundamental en la rotura de la barrera hematoencefálica, el edema cerebral y la muerte neuronal asociado al daño cerebral hemorrágico. En este trabajo, hemos evaluado el papel de diversas MMP como biomarcadores diagnóstico y pronóstico en la HIC.

Métodos: Se han recogido muestras de plasma citratado de 27 pacientes con HIC (etiología hipertensiva n = 15 y amiloide n = 12) en el momento de su ingreso en la Unidad de Ictus del Complejo Hospitalario de Navarra y a las 24 h. Se registró el estado neurológico (escala NIHSS y escala Rankin modificada, mRS) a la admisión y a los 3 meses, así como la mortalidad. Se realizó un TC cerebral al ingreso y a las 24h y se determinó el volumen de hemorragia. En el plasma se analizaron mediante Luminex®

los niveles de MMP-1, MMP-2, MMP-7, MMP-9 y MMP-10, así como de su inhibidor, TIMP-1 (R&D Systems) y se estudió su asociación con diversos parámetros clínicos.

Resultados: Los niveles de MMP-7 y MMP-10 basales correlacionaron negativamente con el volumen basal de hemorragia ($r = -0,52$ y $r = -0,40$, $p < 0,01$ y $p < 0,05$, respectivamente) y a 24h ($r = -0,45$ y $r = -0,48$, $p < 0,05$). La MMP-9 se asoció con el número de neutrófilos en la muestra basal y a 24 h ($r = 0,58$ y $r = 0,71$, $p < 0,01$ y $p < 0,001$, respectivamente). Ninguna de las MMP ni el TIMP-1 se asoció con el estado neurológico a la admisión (mRS y NIHSS) ni a los 3 meses. Entre las etiologías hipertensiva y amiloide solo se observaron diferencias significativas en el volumen basal ($12,1 \pm 3,1$ vs $52,0 \pm 14,0$ $p < 0,05$) y a 24 h ($15,3 \pm 4,2$ vs $42,9 \pm 6,9$, $p < 0,01$). Los niveles de MMP-7 fueron significativamente mayores en los pacientes con etiología hipertensiva ($21,5 \pm 2,2$ vs $14,9 \pm 1,0$, $p = 0,013$).

En el análisis univariante, sólo el NIHSS ($r = 0,62$, $p < 0,001$) se asoció con el pronóstico a 3 meses; sin embargo, en el análisis multivariante la MMP-9 junto con los neutrófilos y el NIHSS se asociaron de forma independiente y significativa con el pronóstico a 3 meses ($r^2 = 0,64$, $p < 0,001$). Finalmente, el volumen a 24 h ($19,3 \pm 4,2$ vs $49,2 \pm 13,2$, $p < 0,05$) y el NIHSS ($6,4 \pm 1,3$ vs $13,3 \pm 1,9$, $p < 0,01$) se asociaron con la mortalidad a 3 meses.

Conclusiones: La MMP-7 podría ser representar un nuevo marcador diagnóstico en la HIC, con capacidad de discriminar entre los pacientes con etiología hipertensiva y amiloide en el momento de su hospitalización. La MMP-9 junto con los neutrófilos y el NIHSS se asocian con el pronóstico a 3 meses. Estos datos apoyan el papel de las MMP en la etiología y pronóstico en la hemorragia intracranial.

Fuentes de financiación: Ministerio de Economía y Competitividad PI15/01807, Programa de la Unión Europea FEDER; Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia (SETH); Gobierno de Navarra (02/2015) y Fundación Patrimonio Praga.

PC-381 Papel de los microRNAs en la enfermedad tromboembólica venosa de los pacientes con cáncer de pulmón

Oto J.¹, Fernández-Pardo Á.¹, Sánchez-López V.², Plana E.³, Solmoirago M. J.¹, Santillana N.¹, Ponce-Mora A.¹, Hervás D.⁴, Arellano E.², Ferrer M.², España F.¹, Navarro S.¹, Otero R.², Medina P.¹

¹Grupo de Investigación en Hemostasia, Trombosis, Arteriosclerosis y Biología Vascul. Instituto de Investigación Sanitaria La Fe. Valencia. ²Unidad Médico-Quirúrgica de Enfermedades Respiratorias. Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBiS). Sevilla. Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Respiratorias (CIBERES). Madrid. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. ³Grupo de Investigación en Hemostasia, Trombosis, Arteriosclerosis y Biología Vascul. Instituto de Investigación Sanitaria La Fe. Valencia. Servicio de Angiología y Cirugía Vascul. Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia. ⁴Unidad de Bioestadística. Instituto de Investigación Sanitaria La Fe. Valencia

Introducción: Las complicaciones trombóticas en pacientes con cáncer suponen la segunda causa de muerte en estos pacientes

y empeoran la evolución y el manejo de los pacientes oncológicos. Los microRNAs (miRNAs) son pequeñas moléculas de RNA no codificantes que regulan la expresión proteica, y parecen regular la progresión del cáncer y el tromboembolismo venoso (TEV).

Objetivo: El objetivo de nuestro estudio fue explorar el papel de los miRNAs en el desarrollo de trombosis en pacientes con cáncer de pulmón.

Métodos: Reclutamos prospectivamente 16 pacientes con cáncer de pulmón, y realizamos un seguimiento de los mismos registrando episodios trombóticos. En el momento de la inclusión obtuvimos unas muestras de sangre citrada. Aislamos el RNA total del plasma *con el* miRNeasy Mini kit (Qiagen) con un protocolo optimizado por nuestro grupo. Cuantificamos la expresión de 179 miRNAs con el Serum/Plasma Focus microRNA PCR Panel V4 (Exiqon). Normalizamos los niveles de expresión de los miRNAs cuantificados con la expresión del miR-93-5p, seleccionado como miRNA más estable por BestRef. Analizamos las diferencias de expresión de los miRNAs entre los pacientes con y sin TEV con R (v3.5.0).

Resultados: Cuatro (25%) de los pacientes estudiados, sufrieron un TEV al seguimiento (mediana: 7,9 meses, 1,5-13,8 meses). De los miRNAs cuantificados, 162 presentaron un buen nivel de expresión en todas las muestras. De ellos, hemos identificado 14 miRNAs diferentemente expresados en pacientes que desarrollarán TEV: miR-17-5p ($p < 0,0001$), miR-140-3p ($p = 0,012$), miR-382-5p ($p = 0,002$), miR-30a-5p ($p = 0,017$), miR-328-3p ($p = 0,011$), let-7e-5p ($p = 0,002$), miR-125a-5p ($p = 0,019$), miR-205-5p ($p = 0,033$), miR-186-5p ($p = 0,024$), let-7i-5p ($p = 0,012$), miR-301a-3p ($p = 0,011$), miR-363-3p ($p = 0,004$), miR-125b-5p ($p = 0,045$) y let-7g-5p ($p = 0,009$). Seguidamente, hemos identificado las proteínas diana de estos miRNAs disregulados.

Conclusiones: Hemos identificado 14 miRNAs plasmáticos que son posibles biomarcadores de riesgo trombótico futuro en pacientes con cáncer de pulmón, de los cuales el más significativo es el miR-17-5p. Nuestros resultados deben ser validados en una cohorte mayor, para confirmar la validez de estos biomarcadores trombóticos.

Financiación: ISCIII-FEDER (PI11/02308, PI14/00079, PI14/00512, FI14/00269, CPII15/00002, PI15/01085, PI17/00495), Generalitat Valenciana (PrometeoII/2015/017, ACIF/2017/138) y Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia.

PC-382 Utilidad clínico-analítica del ensayo Bethesda cromogénico para el control del inhibidor de FVIII en pacientes tratados con emicizumab

Gómez-Cambronero López L. G.¹, Haya Guaita S.¹, Cid Haro A. R.¹, Moret Peiro A.², Gimeno Expósito C.¹, Catalá Pérez B.¹, Bonanad Boix S.¹

¹Hospital Universitario La Fe. Valencia. ²Instituto Investigación Sanitaria La Fe. Valencia

Introducción: Emicizumab es un anticuerpo biespecífico que se une al factor IXa y X. No se bloquea por la presencia de

inhibidores del Factor VIII (VIII), por lo que en la prueba Bethesda titulaciones falsamente negativas. Los análisis con factores de coagulación bovinos son insensibles a Emicizumab y pueden usarse para medir los inhibidores anti-FVIII, como el análisis de Bethesda cromogénico del FVIII bovino. (Adamkewicz J. Haemophilia 2017;23[Suppl. 3]). El kit de “COAMATIC®FactorVIII” es un método cromogénico para la determinación de la actividad del FVIII, que utiliza el Factor Xa, Factor X y Trombina bovinas.

Objetivos: Monitorizar el título de inhibidor al FVIII en pacientes que siguen tratamiento con Emicizumab.

Método: Se utilizaron muestras de pacientes con Hemofilia A tratados con emicizumab, con y sin inhibidores. Se utilizó la cuantificación de inhibidores al FVIII mediante la técnica de Bethesda, con la variante Nijmegen, mezclando con diferentes proporciones un pool de plasma normal, con un Tampón BSA-Imidazol, (FVIII Inhibitor Reagent Kit, Technoclone). Tras la incubación, se analizó la actividad residual de FVIII usando el FVIII cromogénico, kit de “Coamatic®Factor VIII” en un coagulómetro ACL-TOP-300-CTS, Werfen®. Los Títulos de inhibidor en unidades de Bethesda (UB/mL) se calcularon en base a la actividad residual entre 25-75%.

Resultados: De los siete pacientes se detectó la presencia de Inhibidores previos al tratamiento con Emicizumab en 4 pacientes. Tal y como se esperaba, tenían título negativo de inhibidor de FVIII Bethesda coagulativo, por variante Nijmegen, todos los pacientes analizados con tratamiento con Emicizumab. Sin embargo, tras realizar la detección de Inhibidores con el ensayo cromogénico Coamatic® Factor VIII, observamos títulos positivos en 4 de los pacientes, que van desde 0,5 UB/mL hasta 18,8 UB/mL. Al comparar las determinaciones de inhibidor efectuadas con la técnica Bethesda cromogénica, se apreciaba coincidencia en la positividad de los pacientes que previamente eran positivos para este inhibidor (Tabla I).

Conclusión: El ensayo cromogénico Bethesda COAMATIC®FactorVIII puede ser un buen método y preciso para la determinación del Título inhibidor del FVIII en pacientes tratados con Emicizumab.

PC-383 Utilidad de la biopsia de médula ósea en el mieloma múltiple: implicaciones pronósticas de la presencia de mielofibrosis al diagnóstico

Alarcón Gallo A. M., López Rubio M., Castro Y., Gil Fernández J. J., Magro Mazo E., Villafuerte P., Conde Royo D., Martín Guerrero Y., García Suárez J., Callejas Charavia M., Flores Ballester E., Gutiérrez Jomarrón I., Cardos Gómez V.

¹Hospital Universitario Príncipe de Asturias. Alcalá de Henares, Madrid

Introducción: La supervivencia en el mieloma múltiple (MM) es variable y existen múltiples factores pronóstico: edad, estadio ISS y anomalías genéticas. El porcentaje de células plasmáticas (CP) en médula ósea (MO) se evalúa en el aspirado de médula ósea (AMO) y en la biopsia (BMO), pudiendo existir diferencias debidas al patrón de infiltración. La madurez estimada por morfología en el AMO y la fibrosis medular en la BMO. La incidencia de fibrosis en MO y su valor pronóstico en pacientes con MM son poco conocidos, siendo los objetivos de nuestro estudio.

Material y métodos: Estudio unicéntrico retrospectivo de pacientes diagnosticados de MM, con BMO al diagnóstico, entre enero de 2013 y marzo de 2017. Los informes de médula ósea fueron revisados y se registró el porcentaje de CP en el AMO con tinción panóptica y en la BMO con inmunohistoquímica. La fibrosis de médula ósea (FMO), fue evaluada mediante tinción con reticulina al diagnóstico, clasificándola como 1 (leve), 2 (significativa) y 3 (avanzada), según criterios de la OMS 2008. Se estudiaron parámetros analíticos, respuesta al tratamiento de primera línea y supervivencia global.

Resultados: 55 pacientes fueron diagnosticados de MM en el periodo estudiado. A 32 se les realizó BMO al diagnóstico (18 mujeres y 14 hombres). En 2 pacientes la BMO no fue valorable. Se evidenció FMO en 12 pacientes (40%): 6 fibrosis grado 1, 5 grado 2 y 1 paciente grado 3. Aunque los casos con fibrosis fueron más frecuentes en varones que en mujeres (57% vs 25%) y en pacientes de menor edad, no se hallaron diferencias significativas (escaso número de pacientes). Comparado con pacientes sin fibrosis, los pacientes con fibrosis tenían mayor infiltración medular de CP

Tabla I

N.º muestra	Problema (UB/ml)	Problema Dil.2 (UB/ml)	Problema Dil.4 (UB/ml)	Problema Dil.8 (UB/ml)	Problema Dil.16 (UB/ml)	Problema Dil.32 (UB/ml)	Título Bethesda (UB/ml)	Existencia inhibidores previos al tratamiento
1	< % residual	< % residual	< % residual	19,7	17,8	> % residual	18,8	Sí
2	> % residual	> % residual	> % residual	> % residual	> % residual	> % residual	Negativo	No
3	> % residual	> % residual	> % residual	> % residual	> % residual	> % residual	Negativo	No
4	< % residual	< % residual	4,0	> % residual	> % residual	> % residual	4,0	Sí
5	< % residual	2,4	2,8	3,4	> % residual	> % residual	2,9	Sí
6	> % residual	> % residual	> % residual	> % residual	> % residual	> % residual	Negativo	No
7	0,5	> % residual	> % residual	> % residual	> % residual	> % residual	0,5	Sí

(55% vs 22%, $p = 0,012$) estimadas en la BMO, sin diferencias en el AMO (13,5% vs 14,5%). El número de pacientes con CP inmaduras fue mayor en los casos con FMO (50% vs 22%), sin alcanzar significación estadística. La cifra de Hb fue menor en pacientes con fibrosis (10 vs 12 gr/dL, $p = 0,035$) y la de LDH mayor (263 vs 186 u/L $p = 0,145$); encontrando estadios clínicos más avanzados (II y III) en pacientes con fibrosis (91% vs 61% $p = 0,064$). Recibieron tratamientos de primera línea con poliquimioterapia basada en esquemas de Bortezomib 28 pacientes, 1 Lenalidomida/Dexametasona y 1 Melfalán. Tres pacientes no recibieron tratamiento: 1 mieloma quiescente, 1 pérdida de seguimiento y 1 por exitus precoz. La tasa de refractariedad al tratamiento fue mayor en pacientes con FMO (36% vs 23%), con mediana de supervivencia global (Kaplan-Meier) de 20 meses (IC: 0-49) si FMO y 38 meses (IC: 21-55) en pacientes sin fibrosis ($p = 0,041$).

Conclusión: La BMO en pacientes con MM permite valorar más adecuadamente el porcentaje de infiltración y la existencia de fibrosis medular. La FMO es frecuente y está relacionada con el porcentaje de células plasmáticas, la inmadurez de las mismas, estadio clínico más avanzado y peor respuesta al tratamiento; resultando en menor supervivencia. En pacientes con FMO podría valorarse tratamiento con pomalidomida, dada su actividad frente al mieloma y mielofibrosis.

PC-384 Los pacientes con hipotiroidismo clínico y subclínico presentan hipercoagulabilidad en la vía del factor tisular que se normaliza con el tratamiento hormonal sustitutivo

Reverter J.C.¹, Colomé E.², Monteagudo J.¹, Reverter J. L.², Tàssies D.¹

¹Servicio de Hemoterapia y Hemostasia. Hospital Clínic. Barcelona. ²Servicio de Endocrinología. Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona, Barcelona

Introducción: Los pacientes con hipotiroidismo presentan un incremento de enfermedad coronaria y de patología vascular trombótica. Sin embargo, la patogenia de las trombosis del hipotiroidismo, la importancia del hipotiroidismo subclínico (HS) o el efecto en la hemostasia del tratamiento hormonal sustitutivo no se conocen.

Pacientes y métodos: Se incluyó a 48 pacientes con hipotiroidismo no tratado: 34 mujeres y 2 varones con HS (48 ± 19 años) y 10 mujeres y 2 varones con hipotiroidismo clínico (HC) (45 ± 9 años). Asimismo, se estudió un grupo control de 45 mujeres y 5 varones (47 ± 12 años). Se determinaron los factores de la coagulación, proteína C y S, antitrombina, plasminógeno, activador tisular del plasminógeno y su inhibidor PAI-1, fragmento 1+2 de la protrombina (F1+2), complejos trombina-antitrombina (TAT), dímero-D (DD), factor tisular (FT) circulante, FVII activado (FVIIa), inhibidor de la vía del factor tisular (TFPI), micropartículas procoagulantes circulantes y FT expresado en micropartículas. Recibieron tratamiento sustitutivo 20 pacientes (8 con HS y 12 con HC) que fueron reevaluados a los 6 meses.

Resultados: Los pacientes con HS o con HC tenían un aumento significativo de los niveles de marcadores de generación de trombina F1+2 y TAT ($p < 0,001$ y $p < 0,001$, en HS y $p < 0,01$ y

$p < 0,05$, en HC) y de fibrina ($p < 0,01$ en HS y $p < 0,001$ en HC), de FVIIa ($p < 0,01$ en HS y $p < 0,001$ en HC), de FT circulante ($p < 0,01$ en HS y $p < 0,01$ en HC), de micropartículas procoagulantes ($p < 0,01$ en HS y $p < 0,001$ en HC) y de FT expresado en micropartículas ($p < 0,01$ en HS y $p < 0,01$ en HC) en comparación con los controles. No se observaron diferencias en los restantes parámetros. Tras 6 meses de tratamiento los niveles de F1+2, TAT, DD, FVIIa, FT circulante, micropartículas procoagulantes y de FT expresado en micropartículas disminuyeron significativamente tendiendo a los valores de los controles tanto en HS ($p < 0,05$) como en HC ($p < 0,05$), sin cambios en los restantes parámetros.

Conclusiones: Los pacientes con SH o con HC presentan un estado de hipercoagulabilidad en la vía del factor tisular. Esta hipercoagulabilidad puede normalizarse con el tratamiento hormonal sustitutivo.

PC-385 Evaluación del índice CD64 como parámetro de sepsis en un laboratorio de atención continuada

Iraola J.¹, Rodríguez-Hernández I.², Rizzato J.³, Morales-Indiano C.⁴, Orna E.², Grau J.², Sarrate E.², Granada I.², Zamora L.², Cisneros A.², Ruiz-Xivillé N.², Cabezón M.², Marcé S.², Llopis M. A.⁴, Ribera J. M.², Navarro T.², Feliu E.²

¹Universitat Pompeu Fabra. Barcelona, España. ²Institut Català d'Oncologia. Hospitalet de Llobregat. Barcelona, España. ³Institut de Recerca contra la Leucèmia Josep Carreras (IJC). Barcelona, España. ⁴Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas (CEMIC). Buenos Aires, Argentina. ⁴Laboratori Clínic del Barcelonès Nord i Vallès Oriental. Barcelona, España

Introducción: El diagnóstico precoz de sepsis es vital para mejorar el pronóstico de los pacientes mediante la instauración temprana de antibióticos. Su diagnóstico clínico suele ser difícil por la falta de precisión de los signos y síntomas. Por ello, en los últimos años se han desarrollado nuevos marcadores para su diagnóstico temprano, como la determinación del marcador CD64 en neutrófilos, cuya expresión refleja un incremento de su capacidad fagocítica en condiciones infecciosas. Una de sus limitaciones es la necesidad de un citómetro de flujo y un facultativo experto para su interpretación. Por ello, se ha creado un método automatizado diseñado para el analizador Cell-Dyn Sapphire (CDS) (Abbott).

Métodos: Entre los meses de febrero y marzo de 2018 se incluyeron 53 muestras de 39 pacientes con sospecha de sepsis y 6 controles con hemograma y PCR normal. Se recogieron datos clínicos y analíticos, incluyendo hemograma, parámetros de inflamación como proteína C reactiva (PCR), fibrinógeno y procalcitonina, cultivos microbiológicos de diferentes tejidos, y evolución clínica. Los pacientes fueron estratificados en 4 grupos dependiendo de la evidencia de sepsis e inflamación (estratificación clínica inflamatoria) (CIS) (Tabla I). El ensayo Leuko64TM (Trillium Diagnostics) para CDS mediante el modo de análisis Immuno T Cell (CD3/4/8) (Abbott Laboratories) fue procesado con muestras de sangre total en EDTA en un intervalo inferior a 12 horas desde su extracción. Mediante un *software* específico, para cada determinación se medía el índice de CD163 (identificación de monocitos, [Mo]) e índice CD64 (ICD64) (para 2 epítomos),

Tabla I. Estratificación clínica inflamatoria (CIS)	
Puntuación	
0	No infección ni inflamación
1	Infección localizada o daño tisular
2	Juicio clínico o pruebas de laboratorio sospechosos de infección sistémica y/o daño tisular moderado
3	Sepsis documentada y/o daño tisular severo

calibrados con microesferas. Se disponía de un control positivo interno (ICD64 en Mo > 3) y un control negativo interno (CD64 en linfocitos < 1) para cada muestra. Además, se analizó la variabilidad intradía e interdía del ICD64 mediante el coeficiente de variación (CV). Para el análisis estadístico, se utilizó la correlación de Spearman para variables continuas, y la prueba de ANOVA y de Tukey-Kramer para comparación entre variables continuas y categóricas, mediante el programa GraphPad Prism (v6.01) y MedCalc (v13.0).

Resultados: La variabilidad intradía del ICD64 fue muy buena en una determinación seriada de 5 días (CV = 1.1 para los pacientes y CV = 8,9 para los controles). La variabilidad interdía fue aceptable dados los valores bajos del ICD64 (mediana [extremos] 0,5 [0,4-0,6] CV = 16,0 y 6,2 [5,9-7,9] CV 20,6, respectivamente).

La correlación entre CD64 con procalcitonina fue de $r = 0,60$, y la de ICD64 con PCR fue de $r = 0,69$. No se demostró correlación entre ICD64 y fibrinógeno ni leucocitos totales (Fig. 1). El ICD64 fue significativamente más elevado para el grupo de sepsis con puntuación CIS de 3 respecto a los grupos con CIS de 2, 1 y 0 (controles). También se demostró una PCR más elevada en el CIS de 3 respecto al CIS de 2 y 0, pero no respecto al grupo 1 y leucocitos más elevados en el grupo de CIS = 3 respecto a los controles. Respecto a los valores de procalcitonina y fibrinógeno

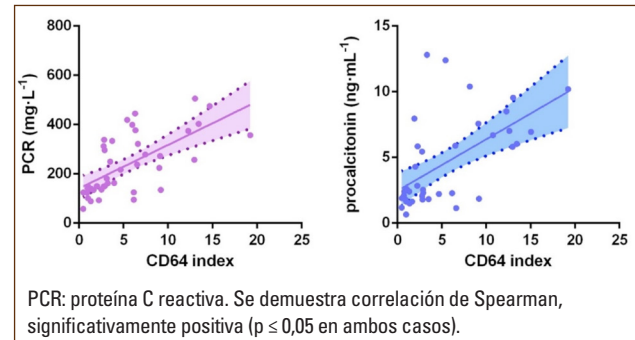


Figura 1. Correlación de los diferentes parámetros inflamatorios respecto al índice CD64.

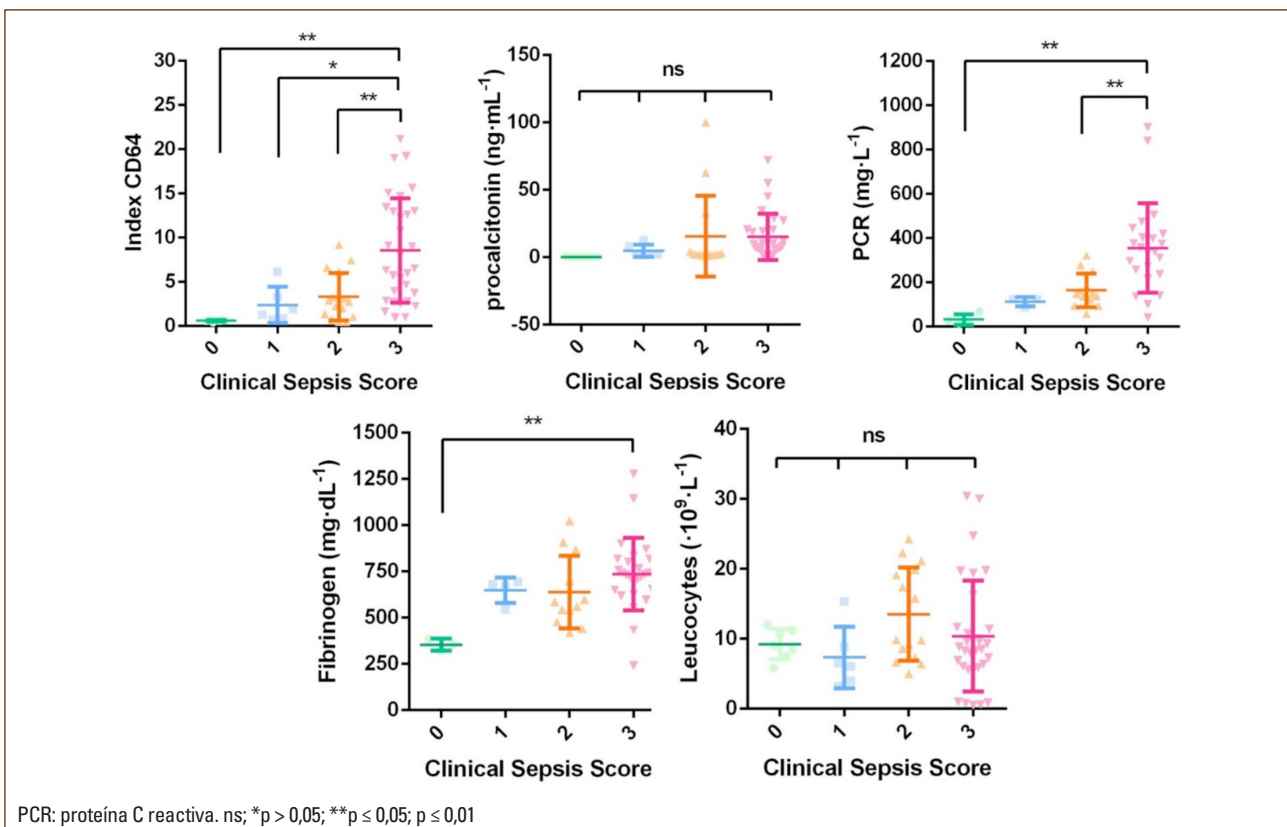


Figura 2. Comparación de los diferentes parámetros relacionados según la estratificación clínica inflamatoria.

en los diferentes grupos clínicos, no se hallaron diferencias significativas (Fig. 2).

Conclusiones: La determinación del índice CD64 en neutrófilos resultó ser una técnica reproducible y fiable para el diagnóstico de sepsis, con una correlación con la clínica y la evidencia microbiológica superior a la determinación de PCR, procalcitonina, leucocitos o fibrinógeno. Su aplicación en urgencias la convierte en una herramienta útil en un hospital que disponga de unidades de críticos.

Financiado en parte por ISCIII, MEC, (RTICC, FEDER) (RD12/0036/0044), SEHH; 2016 SGR225 (GRE) Generalitat de Catalunya; soporte económico de Fundació Internacional Josep Carreras y Fundació la Caixa.

PC-386 Diagnóstico molecular de la enfermedad de von Willebrand mediante el uso de la secuenciación de nueva generación (NGS)

Castro Quismondo N., Rapado I., Pérez Segura G., Rodríguez Rodríguez M., Zafra Torres D., Ayala Díaz R., Martínez-López J.

Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid

Introducción: La secuenciación de nueva generación (NGS) se está convirtiendo en una técnica diagnóstica adicional para la caracterización de la enfermedad de von Willebrand (EvW). Pue-

de ser útil para clasificar a los pacientes en los distintos subtipos cuando el diagnóstico fenotípico es insuficiente.

Materiales y métodos: En nuestro control NGS del gen del factor von Willebrand (FvW) se utiliza desde febrero del año 2016 y hasta el momento se han analizado las muestras de 52 pacientes. Dichos pacientes presentaban determinación del factor von Willebrand Cofactor Ristocetina (FvW:CoR) y/o factor von Willebrand antigénico (FvW Ag) por debajo del 60% o había dudas en cuanto a su diagnóstico.

La secuenciación se ha realizado mediante amplificación clonal por PCR en emulsión (Ion One Touch2, Life Technology) seguido por secuenciación (Ion Torrent Proton) y posterior análisis bioinformático de secuencias (Torrent Suite). Para el análisis de las variantes se utilizó Ion Reporter software. Para la búsqueda de mutaciones se usaron los recursos web de COSMIC, ClinVar y EAHAD, así como los algoritmos de predicción SIFT y POLYPHEN.

Resultados: Entre febrero de 2016 y marzo de 2017 se analizaron 21 pacientes detectando mutaciones en 8 de ellos (38%) que se presentaron el año pasado.

Entre abril de 2017 y abril de 2018 se han analizado las muestras de 31 pacientes y se han detectado mutaciones en 10 de ellos (32%).

De los 18 pacientes en los que hemos detectado mutaciones 14 (77%) se correspondían fenotípicamente con una EvW tipo 1; 3 de ellos (16,6%) se correspondían con EvW tipo 2 y uno presentaba valores normales de FvW y factor VIII. En este último caso se detectó la variante p.Pro2063Ser que ya se ha descrito en algunas bases de datos y se ha clasificado como benigna (Tabla I).

Tabla I									
Paciente	COL-ADP (71-118 seg)	COL-EPI (94-191 seg)	RISTO LOW (0-34)	RISTO (72-165)	FvW Ag % (60-150)	FvW CoR % (60-150)	F VIII % (60-150)	Tipo	NGS
1	> 300	> 300	3	27	15	14	23	1C	c.3614G>A (p.Arg1205His) c.1728G>T (p.Met576Ile)
2	279	273	6	7	24	8	38	2A	c.4078G>T (p.Val1360Phe)
3	130	192	21	57	65	55	77	1	c.4309G>A (p.Ala1437Thr)
4	> 254	> 269	6	35	30	8	38	2A vs 2M	c.4789C>T (p.Arg1579Trp).
5	> 300	> 270	4	32	20	22	40	1	5198T>C (p.Leu1733Pro) c.6187C>T (p.Pro2063Ser)
6	69	92	6	20	12	8	50	1	c.4517C>T (p.Ser1506Leu)
7	250	> 300	12	50	50	30	53	1	c.4622A>T (p.Gln1541Leu).
8	170	196	17	83	27	18	51	1	c.391G>A (p.Gly131Ser) c.6859C>T (p.Arg2287Trp)
9	60	91	4	96	37	31	78	1	c.1066C>T (p.Arg356Cys)
10	105	121	12	111	57	67	72	1	c.6187C>T (p.Pro2063Ser)
11	135	151	9	89	52	33	60	1	c.4184G>A (p.Arg1395Gln)
12	120	168	-	-	55	46	61	1	c.1625C>G (p.Ala542Gly)
13	151	178	18	103	56	28	78	2A vs 2M	c.2540_insA (p.Asn847fs)
14	113	144	9	83	77	50	73	1	p.Arg2118Trp
15	145	133	-	-	64	49	68	1	c.5176C>T (p.Arg1726Cys)
16	130	171	22	79	56	49	94	1	c.8113G>A (p.Gly2705Arg) c.4751A>G (p.Tyr1584Cys)
17	71	107	3	77	105	79	113	-	c.6187C>T (p.Pro2063Ser)
18	86	101	7	120	86	54	95	1	c.4751A>G (p.Tyr1584Cys) c.2771G>A (p.Arg924Gln)

Conclusiones: En nuestra serie de 52 pacientes hemos detectado la presencia de mutaciones en un 34% de los casos analizados. El análisis molecular de la EvW no es esencial para el diagnóstico del paciente, pero es útil en caso de no disponer de todas las técnicas funcionales y casos dudosos, así como para lograr una mejor caracterización de la enfermedad.

PC-387 Estudio de la correlación entre niveles de antiXa y función renal para la correcta dosificación de heparina

Johansson B. E., Betriu S. L., Cerdà S. M., Cerezo-Manchado J. J., Alonso C., García S., Bruno Montoro J., Bosch F., Santamaría A.

Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona

Introducción: La principal vía de eliminación de las heparinas de bajo peso molecular (HBPM) es la renal. Por ficha técnica, la dosificación se ajusta por filtrado glomerular (FG) estimado mediante la fórmula de Crockolft-Gault (CG). Sin embargo, a nivel hospitalario la estimación analítica de FG se realiza por CKD-EPI. En pacientes con enfermedad renal crónica se ha observado un aumento de la vida media del fármaco, asociada a un aumento de los niveles de antiXa.

Objetivo: El objetivo de este estudio es comprobar si la estimación de FG mediante CKD-EPI permite un ajuste en la dosificación de HBPM equivalente a CG.

Material y métodos: Estudio observacional retrospectivo llevado a cabo en el hospital Vall d'Hebron donde se seleccionaron pacientes en los que se determinó el nivel antiXa (extracción analítica 4 horas posadministración de HBPM), entre enero del 2016 y marzo del 2017. Se analizaron datos biodemográficos (edad, sexo, peso), clínicos (indicación de anticoagulación) y analíticos (nivel de antiXa, dosis y frecuencia de administración de HBPM, creatinina, FG según CG y CKD-EPI). La variable principal investigada fue la de correlación existente entre el valor de antiXa y del FG (estimado mediante CG o CKD-EPI), controlado por la dosis de HBPM. También se evaluó la existencia de diferencias entre las ecuaciones de regresión de los dos estimadores de FG. Los análisis estadísticos se realizaron con SPSS 21.0 (SPSS Inc., Chicago, IL).

Resultados: Se incluyeron 93 pacientes (46 mujeres) con una edad media de 58,3 años (37-91). De ellos, 19 tenían indicación de anticoagulación por trombosis venosa profunda, 13 por tromboembolismo pulmonar, 17 por fibrilación auricular, 11 por presencia de prótesis cardíacas mecánicas y 33 pacientes por otras causas. En pacientes con FG = 60, el análisis de regresión demuestra que no existe asociación entre FG y nivel de antiXa. En cambio, en pacientes con FG < 60 (n = 22) sí existe asociación significativa entre FG y antiXa normalizado por la dosis, tanto en la estimación por CG (Coeficiente de determinación: $R^2 = 0.175$, $p = 0.034$) como por CKD-EPI ($R^2 = 0.201$, $p = 0.024$). CG y CKD-EPI muestran una correlación significativa, con un coeficiente de correlación elevado de 0,924 ($p < 0,001$). Por otro lado, las funciones de

regresión lineal que relacionan el FG estimado por CG o CKD-EPI con el valor de antiXa normalizado por la dosis, no son significativamente distintas: coeficiente, -0.111 (IC95: -0,205 a -0,016) CG y -0.074 (IC95%: -0,141 a -0,006) CKD-EPI; y constante, 12.217 (IC95%: 8,556 a 15,878) CG y 11.468 (IC95%: 8,179 a 14,757) CKD-EPI.

Conclusiones: En pacientes con FG < 60, tanto CG como CKD-EPI son herramientas útiles y adecuadas para la dosificación individualizada de las HBPM en función del FG. CKD-EPI tiene una capacidad predictiva similar a la de CG para un apropiado ajuste de dosis. Por lo tanto, en pacientes con insuficiencia renal pueden emplearse ambas fórmulas de estimación para dosificar las HBPM siguiendo las recomendaciones de ficha técnica.

PC-388 Los niveles de micropartículas circulantes se relacionan con el tamaño de los implantes de tejido endometrial en la endometriosis profunda infiltrante

Tàssies D.¹, Munros J.², Carmona F.², Martínez-Zamora M. A.², Reverter J. C.¹

¹Servicio de Hemoterapia y Hemostasia. Hospital Clínic. Barcelona. ²Servicio de Ginecología. Hospital Clínic. Barcelona

Introducción: Las micropartículas circulantes (MP) pueden estar elevadas en procesos inflamatorios y procoagulantes, tales como la endometriosis profunda infiltrante (EPI).

Objetivo: El objetivo del presente estudio piloto es investigar si los niveles elevados de MP pueden asociarse con características clínicas específicas, con la extensión o con la gravedad de la EPI.

Pacientes y métodos: Estudio prospectivo, caso-control que incluye tres grupos de pacientes sometidas a cirugía ginecológica: 75 pacientes con EPI, 39 pacientes sin endometriosis y 31 pacientes con endometriosis ovárica sin EPI. Las muestras de sangre para el análisis se obtuvieron antes de la cirugía. Se recogieron las variables: dismenorrea grave, dispareunia, dolor pélvico crónico no cíclico, disquecia, disuria, hematuria, rectorragia, infertilidad, presencia de endometriosis ovárica, adenomiosis y adherencias, estadio rASRM (revised American Society for Reproductive Medicine score), clasificación de Enzian, número de sitios afectados y el tamaño acumulativo de los implantes en la EPI. Los niveles de MP circulantes se determinaron en plasma mediante un test de captura funcional que mide la capacidad procoagulante.

Resultados: Los niveles de MP fueron estadísticamente superiores en el grupo de EPI comparado con el grupo sin endometriosis ($p = 0,001$). Se halló una correlación positiva entre el tamaño acumulativo de las lesiones en la EPI y los niveles de MP circulantes ($p = 0,022$). Ninguna de las restantes variables analizadas se relacionó con los niveles de MP.

Conclusiones: Las pacientes con EPI y un mayor tamaño de los implantes de tejido endometrial tienen niveles mayores de MP. Esto puede sugerir un mayor estado proinflamatorio/procoagulante en las formas más graves de endometriosis.

PC-389 Impacto clínico de la monitorización de la hemostasia mediante tromboelastometría rotacional (ROTEM®) en cirugía cardíaca en pacientes pediátricos

Vázquez Díaz M., Paumard Rodríguez E., Vico Herrera I., Inga Távora L., Fernández Sánchez de Mora M.

Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba

Introducción: Los pacientes pediátricos, que se someten a una cirugía cardíaca, son muy complejos y requieren con frecuencia transfusiones de hemoderivados intra o postoperatorias. La tromboelastometría rotacional (ROTEM) es una técnica dinámica que permite detectar y tratar rápidamente la existencia de una alteración en la coagulación del paciente y, por tanto, poder realizar un tratamiento dirigido precoz.

Objetivo: Realizar un estudio comparativo en pacientes pediátricos intervenidos de cirugía cardíaca de forma programada, antes de la implantación del uso de ROTEM y después de la misma y comprobar si existen diferencias en cuanto a las transfusiones de hemoderivados y fibrinógeno, estancia postoperatoria en UCI y mortalidad.

Métodos: Estudiamos 12 niños intervenidos de cirugía cardíaca programada desde septiembre de 2017 hasta mayo de 2018 analizados por ROTEM (grupo de estudio) y los comparamos con un histórico de 12 niños intervenidos de cirugía cardíaca desde enero de 2016 a agosto de 2017 analizados por test clásicos de coagulación (grupo control). La mediana de edad en el grupo de estudio fue 1 año (rango: 0-13) y de 2 años (rango: 0-12). Los tipos de intervenciones quirúrgicas en ambos grupos fueron similares, siendo las más frecuentes la tetralogía de Fallot (29,2%), la reparación de la comunicación interventricular (25%), la reparación de la comunicación interauricular (12,5%) y la Transposición de Grandes Vasos (8,2%). En cuanto al tiempo de circulación extracorpórea no se objetivaron diferencias estadísticamente significativas en ambos grupos ($p = 0,07$). Las características clínicas de la serie de pacientes se representan en la [tabla I](#).

Resultados: De forma intraoperatoria el número de concentrados de hematíes transfundidos en el grupo de estudio y en el grupo control fueron, respectivamente, 28 (49,1%) vs 29 (50,8%),

el número de concentrados de plaquetas: 10 (45,4%) vs 12 (54,5%) y el número de unidades de plasma: 10 (47,6%) vs 11 (52,3%). En el periodo posoperatorio el número de concentrados de hematíes transfundidos en el grupo de estudio y en el grupo control fueron, respectivamente, 16 (48,4%) vs 17 (51,5%), el número de concentrados de plaquetas: 4 (66,6%) vs 2 (33,3%) y el número de unidades de plasma: 2 (66,6%) vs 1 (33,3%). El uso de fibrinógeno fue de un 33,3% ($n = 4$) en el grupo de estudio vs 0% en el grupo control, alcanzando una diferencia estadísticamente significativa ($p = 0,02$). La estancia media en UCI fue $5,1 \pm 2,7$ días en el grupo de estudio y $8,6 \pm 3,8$ días en el grupo control, alcanzando dicha diferencia significación estadística ($p = 0,01$). Fallecieron 1 (8,3%) paciente del grupo de estudio y 2 (16,6%) pacientes del grupo control, siendo la causa de exitus en todos los casos el fallo multiorgánico.

Conclusiones: A pesar de ser una herramienta útil debido a su rapidez en la obtención de resultados, la implantación de ROTEM no ha obtenido como resultado un descenso significativo en el número de transfusiones realizadas, aunque si se ha observado una reducción de la estancia media en UCI y un mayor consumo de fibrinógeno.

PC-390 Evaluación de una estrategia de detección de anticoagulante lúpico mediante test integrados con una segunda técnica basada en TTPa con ácido eláxico

Portillo Bog C., Estella Aguado C., Moreno García J., Ruiz Sanjuán A., Liz Y., Montserrat A., Millán E., Vilella R., Ruiz L., Isola I., Mesegué M., Muñoz-Seca Nardiz I., Solsona Gadea M., Prieto Arce M., Ruiz-Llobet A., Berruero Moreno R., Camós M., Torredadell M., Gassiot S.

Hospital Sant Joan de Déu. Barcelona

Introducción: La detección del anticoagulante lúpico (AL) es un auténtico reto. Existe consenso en la necesidad de realizar dos métodos, el veneno de víbora Russell (VVR) y una segunda técnica basada en el tiempo de tromboplastina (TTPa). Las guías de BSCH de 2012 y CLSI de 2014, a diferencia de la ISTH de 2009, permiten

Tabla I. Características de la serie de pacientes

	Grupo estudio (n = 12)	Grupo control (n = 12)
Edad	1 año (rango: 0-13)	2 años (rango:0-12)
Sexo		
Masculino	83,3% (n = 10)	50% (n = 6)
Femenino	16,7% (n = 2)	50% (n = 6)
Tipo de intervención quirúrgica		
Tetralogía de Fallot	33,3% (n = 4)	25% (n = 3)
Comunicación interventricular	16,7% (n = 2)	33,3% (n = 4)
Comunicación interauricular	16,7% (n = 2)	8,3% (n = 1)
Transposición de grandes vasos	8,3% (n = 1)	8,3% (n = 1)
Otros	25% (n = 3)	25% (n = 3)
Tiempo medio de circulación extracorpórea	105 ± 49,3 minutos	143 ± 49,1 minutos

el uso de activadores de TTPa diferentes a la sílica. En la práctica habitual existe una gran variabilidad en la segunda técnica elegida, en la normalización de los resultados y en el algoritmo aplicado, realizando el test confirmatorio sólo si el screening es anormal (clásico) o independientemente del resultado del mismo (integrado).

Objetivos: a) Evaluar el rendimiento diagnóstico de una segunda técnica basada en un TTPa con ácido elálgico como activador de contacto, con una concentración variable de fosfolípidos (Dade Actin FS y Dade Actin FSL); b) Evaluar el uso de un algoritmo integrado; y c) Valorar el impacto de la normalización de los resultados.

Métodos: Desde diciembre de 2017 a abril de 2018 se realizaron 166 determinaciones de anticoagulante lúpico mediante una estrategia basada en dos métodos con test integrados: VVR screening (VVRs) / confirmatorio (VVRc) y TTPa-FSL (screening) / TTPa-FS (confirmatorio). La positividad para ambos métodos se estableció como un cociente entre ratio de screening y confirmatorio superior a 1,2 (normalizado), Posteriormente se reanalizaron los datos siguiendo una estrategia clásica (realizar el test confirmatorio sólo si el screening era positivo), valorando como AL no detectado aquellas muestras que no presentaban un screening normalizado positivo (ratio < 1,2). Además, se aplicaron los dos algoritmos a los resultados sin normalizar (siendo considerados positivos tiempos de screening superiores a los intervalos de referencia del fabricante y ratio screening/confirmatoria > a 1,2).

Resultados: Los resultados obtenidos mediante el análisis de los dos métodos se presentan de forma detallada en la figura 1. Siguiendo la estrategia de test integrados y ratios normalizadas, el AL se detectó en un 20% de las muestras (15% por VVR, 2% TTPa-FSL y 4% por ambos métodos). De las muestras positivas para TTPa-FSL ninguna presentó un alargamiento en su test de

screening. Al aplicarse el algoritmo clásico, el porcentaje de detección de AL es menor (16%), y no se detecta ninguno mediante TTPa-FSL. El impacto de aplicar una ratio cruda y no normalizar los resultados queda parcialmente neutralizado en un algoritmo clásico (la detección de AL fue un 5% mayor en el grupo no normalizado). Si se aplica una estrategia de test integrados, el porcentaje de detección de AL es un 29% mayor, siendo la totalidad de estos AL débiles (ratio cruda < 1,25), en su mayoría detectados únicamente mediante el método VVR, tratándose probablemente de falsos positivos (al presentar una ratio normalizada < 1,2).

Conclusiones:

1. Aplicar un segundo método basado en TTPa con ácido elálgico como activador sólo resultó útil mediante una estrategia de test integrados y su rendimiento fue bajo.
2. En nuestra serie, aplicar una estrategia de test integrados redujo el porcentaje de falsos negativos en un 4%.
3. No normalizar los resultados si se sigue una estrategia de test integrados puede incrementar notablemente los falsos positivos (29%).

PC-391 Cadenas ligeras libres en suero: ¿es necesaria la validación de unos valores de referencia (VR)?

García Moreira V., Sánchez Matías S., González Benito D., Fernández Álvarez R., Cepeda Piorno J., de Brabandere C., Sarasa Valdés M., Silva Soto A., González García E.

Unidad de Amiloidosis del Área Sanitaria V de Asturias. Hospital Universitario de Cabueñes. Gijón, Asturias

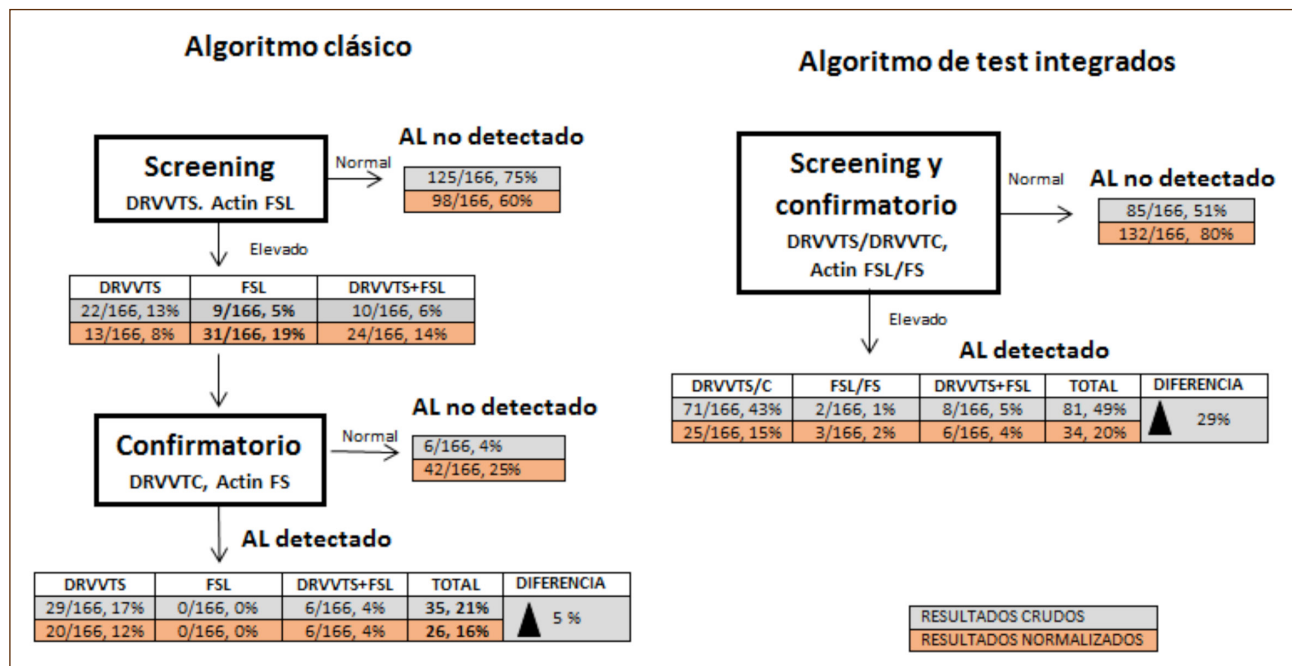


Figura 1.

Introducción: Las cadenas ligeras libres en suero (CLL) son importantes biomarcadores de enfermedad en pacientes con trastornos proliferativos de células plasmáticas. El estudio más extenso para validar el intervalo de referencia (IR) de las CLL se llevó a cabo en la Clínica Mayo utilizando el ensayo *Freelite*[®] en el nefelómetro BN[™]II (Siemens Healthcare Diagnostics, Inc). En este estudio los valores de referencia (VR) según rango percentílico 95% fueron: CLL Kappa 3,3-19,4mg/L y CLL Lambda 5,7-26,3mg/L. Estos VR son los recomendados por el fabricante y los empleados habitualmente a nivel clínico por ejemplo en las directrices del Grupo de Trabajo Internacional del Mieloma (IMWG). Sin embargo, los VR varían según varios factores como las características demográficas de la población, los métodos específicos y/o los instrumentos concretos donde se analicen las muestras. Por tanto, como para la mayoría de los parámetros, se recomienda que cada laboratorio establezca y/o valide sus propios VR.

Objetivos: El objetivo de este trabajo fue establecer unos VR de CLL para población asturiana utilizando el reactivo *Freelite* en un equipo turbidimétrico SPA Plus (The Binding Site, Birmingham, UK).

Métodos: Se midieron FLC Kappa y FLC Lambda en 120 sueros de voluntarios sanos del Área Sanitaria V del Principado de Asturias con una media de edad de 48 años (rango: 19-91) en un SPA Plus utilizando los reactivos *Freelite*[™] Human Kappa y *Freelite*[™] Human Lambda de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Todos los sujetos incluidos presentaban un proteinograma normal no sugestivo de discrasia de células plasmáticas (Capillarys 2, Sebia), hemograma normal y ausencia de enfermedad renal (FG > 90 ml/min). Adicionalmente se analizaron 31 muestras de suero paralelamente en el equipo SPAPlus y la plataforma *Oplite* de la misma casa comercial (The Binding Site, Birmingham, UK) para evaluar la transferibilidad de los resultados. El análisis estadístico de los datos fue realizado empleando el *software* NCSS12 Data Analysis.

Resultados: La mediana de las concentraciones de CLL Kappa fue 13,22 mg/L, de CLL Lambda 11.49 mg/L y del ratio K/L 1.12. Dada la no distribución normal de las variables, se obtuvieron como límite inferior y superior de referencia los percentiles 2,5 y 97,5, respectivamente. De esta manera, los VR (95% de los valores) para CLL Kappa serían 7,26-29,5 mg/L, para CLL Lambda 5,89-21,5 mg/L y el ratio K/L 0.69-2.34. Considerando el 100% de los valores, el IR del ratio K/L sería 0,52-2,42.

Conclusiones: Los VR de CLL descritos en la literatura no son transferibles a la plataforma que utilizamos y a nuestra población. Basados en los resultados de este estudio, proponemos nuevos VR para las CLL medidas utilizando el reactivo *Freelite* en un SPA

Plus. Creemos que es necesario que cada laboratorio establezca sus propios VR de acuerdo a sus condiciones particulares.

PC-392 Inhibición de la agregación plaquetaria mediada por ibrutinib

Sarrate E., Ibarra G., Ferrà C., Morales C., Ruiz L., Expósito F., Abril L., Sancho J. M., Sorigué M., Orna E., Grau J., Hernández I., Nieto X., Triguero A., Peña M., Sitges M., Santos M., Gener G., Ribera J. M., Navarro J. T., Feliu E.

Hospital Germans Trias i Pujol. Instituto Catalán de Oncología (ICO). Badalona, Barcelona

Introducción: El ibrutinib es un agente antineoplásico eficaz para el tratamiento de la leucemia linfática crónica (LLC) y el linfoma de células del manto (LCM). Uno de los efectos secundarios característicos es la diátesis hemorrágica por inhibición de la agregación plaquetar. El presente estudio pretende analizar si la agregometría por impedancia (*Multiplate*[®]) puede emplearse para la detección de los pacientes con riesgo de hemorragia.

Métodos: Estudio unicéntrico en el que se incluyeron de forma prospectiva pacientes tratados con ibrutinib. Se determinó la agregación mediada por ristocetina y por colágeno antes de recibir ibrutinib y al mes del inicio del tratamiento. El resultado se midió en unidades de agregación según el *Multiplate*[®], un equipo *point-of-care* que ofrece resultados de forma fiable, rápida y que no precisa preparación de la muestra, a diferencia de la agregometría clásica.

Resultados: Hasta la fecha se han incluido 7 pacientes de los que se dispone de determinación basal y tras un mes de tratamiento. La mediana de edad de los pacientes fue de 72.4 años (rango 52-82), 2 de ellos mujeres. Cinco recibieron ibrutinib por LLC y 2 por LCM (Tabla I). La agregación mediada tanto por ristocetina como por colágeno disminuyó de manera significativa con el tratamiento con ibrutinib. Hasta la fecha sólo un paciente ha presentado hemorragia (grado I).

Conclusion: En este estudio, la agregación plaquetar mediada por colágeno y ristocetina disminuyeron con el tratamiento con ibrutinib. Esta disminución ocurrió en todos los pacientes, aunque solo uno presentó hemorragia, por lo que la relevancia clínica de estos hallazgos analíticos es incierta. Aunque con pocos pacientes, el colágeno parece demasiado sensible y la ristocetina sería un mejor reactivo para el propósito del estudio.

Financiado en parte por RD12/0036/0029 de RTICC, Instituto de Salud Carlos III y SGR225 (GRE).

Tabla I. Resultados de la agregometría (*Multiplate*[®]) en pacientes tratados con ibrutinib

Agonista	n	Determinación basal		Determinación tras un mes de tratamiento		p*
		UA media (DE)	Número de pacientes con agregación disminuida	UA media (DE)	Número de pacientes con agregación disminuida	
Colágeno [†]	7	18,86 (13,44)	6	4,14 (3,02)	7	0,020
Ristocetina [†]		72,29 (40,94)	3	32,57 (25,14)	6	0,014

PC-393 Determinación de proteína S libre comparada por dos métodos de inmunturbidimetría en pacientes con sospecha de trombofilia. Experiencia en el Hospital Universitario Ramón y Cajal

Guillén Rienda C., Massó Asensio P., Arrontes Caballero E., García García I., García Hernando C., Hernández Crespo M. E., Vallés Carboneras A., Moreno Jiménez G., López Jiménez J.

Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid

Introducción: La proteína S (PS) es un cofactor no enzimático de la Proteína C activada. Se presenta en un 40% en forma libre funcionalmente activa en plasma. Los métodos basados en el uso de anticuerpos monoclonales fijados a micropartículas de látex permiten una determinación rápida de PS libre, presentando datos superponibles a los obtenidos por ELISA. Existen en el mercado diferentes coagulómetros para su determinación por métodos inmunturbidimétricos.

Métodos: Se analizaron 109 determinaciones de PS libre de pacientes a los que se les realizó un estudio de hipercoagulabilidad solicitado para descartar trombofilia. Se realizó el análisis inmunturbidimétrico en el coagulómetro BCS-XP (Siemens) con el reactivo INNOVANCE free PS y ACL TOP 500 (Werfen), con el reactivo FREE Protein S respectivamente. Los resultados se analizaron con el paquete estadístico STATA.

Resultados: El coeficiente de concordancia de Lin entre ambas técnicas fue de 0.806 (IC 0,744-0,868). La figura 1 representa las diferencias entre ambas mediciones frente a su media (concordancia por método Bland and Altman), con una concordancia media de -7.622. En la tabla I se recogen edad, sexo, diagnóstico y tratamiento de 14 casos discordantes con PS < 68% por el ACL TOP (técnica de referencia en nuestro laboratorio). Los estudios en paciente anticoagulados se realizaron habiendo reti-

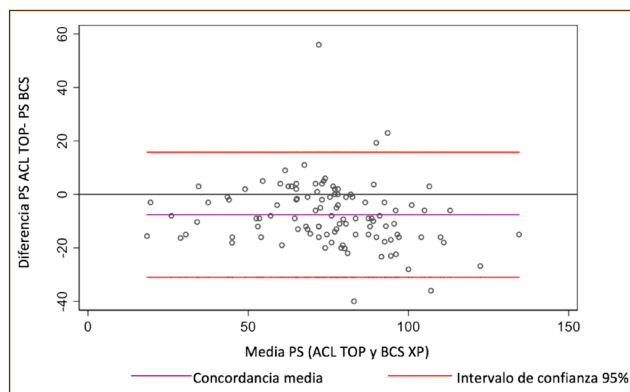


Figura 1.

rado previamente el tratamiento anticoagulante, salvo en un caso. Los rangos de normalidad en nuestro laboratorio para el método de Werfen se establecieron en 65%-120 % y para el método de Siemens 60%-113%, valorando a la hora de emitir el informe clínico en cada caso el sexo del paciente.

Conclusiones: El coeficiente de concordancia obtenido entre ambos métodos es > 0,7, pero la concordancia media es de -7.622. Las determinaciones obtenidas por el ACL TOP tienden a ofrecer valores inferiores a los estimados por el BCS-XP. Esta concordancia negativa obtenida en nuestra población coincide con los rangos establecidos por los respectivos fabricantes para mujeres. Solo 5 casos se sitúan fuera del intervalo de confianza del 95%. Los casos discordantes obtenidos (14 de 109) suponen un 12,84% en nuestra serie y deberán ser estudiados por otras técnicas para descartar un déficit de proteína S, ya que pueden suponer un cambio en el diagnóstico y actitud terapéutica.

Tabla I						
	Edad	Sexo	PS TOP (%)	PS BCS (%)	Diagnóstico	Tratamiento
1	48	M	62	77	TVP + TEP	Filtro cava + Eliquis 5/12h
2	34	M+ AC	67	82	Infarto cuerpo calloso	Adiro
3	40	M	62	75	Abortos de repetición	Adiro
4	58	M	66	78	Ictus isquémico vertebrobasilar	sintróm permanente
5	47	M	68	74	TVP MII	HBPM x 3 meses
6	25	M	59	72	Previo a toma de anticonceptivos (AC)	-
7	37	M+ AC	64	84	TVP+ TEP+ SAF	Eliquis 5/12 h
8	54	V	62	74	EVEP repetición déficit heterocigoto PS	ACO indefinida
9	8	M	51	70	Pseudotumor cerebri+ LES infantil (AL+)	Dolquine (trombopenia)
10	21	M	66	78	Previo a toma de anticonceptivos (AC)	-
12	34	M	100	44	Embarazada	-
13	62	V	63	103	TVP MID	ACO x 3 meses
14	70	M (INR = 2,3)	46	62	TEP	ACO EXTENDIDA x Neumo

AC: anticonceptivos orales.
ACO: anticoagulación oral.

PC-394 Análisis retrospectivo del índice de Rosner en el estudio etiológico del alargamiento del tiempo de tromboplastina activado (TTPA) en pacientes prequirúrgicos

Díaz Jordán Bolívar L., López de la Osa García G., Corredor García Y., Gómez Romero de Ávila R., Montilla Quero C., Jiménez Laguna E., García Saavedra Velasco Á.

Hospital General de Valdepeñas. Valdepeñas, Ciudad Real

Introducción: El índice de Rosner (IR) es un valor porcentual que se puede obtener durante la realización del test de mezclas (dentro de los estudios básicos de hemostasia) que nos facilita la interpretación de dichos resultados, otorgando orientación diagnóstica.

Objetivo: El objetivo de nuevo estudio ha sido analizar la experiencia de este parámetro dentro del estudio diagnóstico del alargamiento del TTPA en pacientes prequirúrgicos en nuestro centro.

Métodos: Se han analizado de forma retrospectiva desde mayo/2017 hasta mayo/2018 un total de 40 pacientes prequirúrgicos con prolongación de TTPA en los cuales se realizaron test de mezclas en nuestro laboratorio de hemostasia, de los cuales en 19 de ellos se cumplimentó dicho estudio con determinación de factores (FVIII, FIX, FXI, FXII, FvW:Ag, FvW:Co) e inhibidores (Anticoagulante lúpico, Ac. Anticardiolipinas IgM-IgG, Ac. Anti-B2 GPI IgM-IgG) junto con la cuantificación del IR. Se recogieron datos epidemiológicos, analíticos y clínicos.

Resultados: De la población estudiada, la mediana de edad fue 52 años (intervalo 4-83 años) y el 57,9% era de sexo femenino. La indicación de procedimiento quirúrgico/invasivo fue otorgada principalmente por los servicios de Traumatología (31,6%), Otorrinolaringología (31,6%) y Digestivo (21,1%). Ninguno tenía antecedentes de patología autoinmune y un 10,5% poseía antecedente oncológico. El 100% de la población analizada poseía alargamiento de TTPA confirmada por dos determinaciones de dos muestras distintas (mediana TTPA: 45,2 s., intervalo 39,4-149,9 s.). El 73,3% de la muestra poseía un IR < 12% (orientativo teórico de déficit factorial), que se confirmó en el 50% de los pacientes (57% déficit de FXI y la 43% déficit de FXII). El 50% restante presentó estudio normal (57%) o identificación de inhibidor (47%). El 10,5% de la muestra poseía un IR > 15% (orientativo teórico de presencia de inhibidor), el cual se diagnosticó en el 100% de la muestra. El 16,2% de la muestra (3 pacientes) poseía un IR entre 12-15% (indeterminado), 2 de ellos con estudio normal y 1 siendo diagnosticado de déficit de FXII. Posteriormente del estudio de hemostasia, los pacientes se realizaron las intervenciones quirúrgicas programadas, sin incidencias inmediatas significativas.

Conclusiones: El índice de Rosner es un parámetro orientativo útil en pacientes con alargamiento de TTPA (con especial sensibilidad para determinación de inhibidores cuando es superior del 15%) siendo parte fundamental del estudio de hemostasia, junto a la cuantificación de factores e inhibidores.

Plaquetas / Biología vascular / Coagulopatías congénitas

PC-395 El factor de transcripción STAT3 participa en la transducción de señales de la estimulación plaquetaria con tromboxano A₂

Latorre A.¹, Santos M. T.¹, Vallés J.¹, Montesinos F.¹, Mena B.¹, Bonanad S.², Moscardó A.²

¹Instituto de Investigaciones Sanitarias La Fe. Valencia. ²Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia

Introducción: La presencia de factores de transcripción en las plaquetas ha demostrado que no es sólo un resto del megacariocito del cual proceden, sino que juegan distintos papeles en los sistemas de transmisión de señales. Uno de ellos es STAT3, que se ha descrito que participa en la activación plaquetaria mediada por colágeno. Sin embargo, pese a que sabemos que la respuesta a colágeno está en parte mediada por la síntesis de tromboxano A₂ (TXA₂) no se ha explorado la participación de STAT3 en esta vía de activación plaquetaria.

Objetivos: Estudiar la participación de STAT3 en la respuesta plaquetaria al TXA₂.

Métodos: La fosforilación de STAT3 en Y705 se estudió mediante inmunodetección (Cell Signaling). Como inhibidor de STAT3 empleamos STA21 (Santa Cruz). La agregometría óptica y la liberación de gránulos se estudió en un lumiagregómetro (Chronolog) con plaquetas lavadas humanas. Como análogos estables del TXA₂ empleamos U46619 e IBOP, y como bloqueante del receptor del TXA₂ SQ29,548 (Cayman).

Resultados: La incubación con STA21 inhibió de forma dosis dependiente tanto la agregación como especialmente la liberación de ATP de las plaquetas inducidas por U46619 (1 mM), de forma semejante a lo observado con colágeno (1 mg/ml). Como era de esperar el bloqueo del receptor de TXA₂ bloqueó completamente ambas respuestas al U46619. Por su parte, el SQ29,548 inhibió parcialmente las respuestas al estímulo con colágeno, y no encontramos un incremento en la inhibición al tratar simultáneamente con STA21 y SQ29,548. Estos resultados sugieren que STAT3 es importante en la señalización para la respuesta al TXA₂, y que su participación en la respuesta al colágeno está mediada por la síntesis de TXA₂ actuando sobre su receptor. Para profundizar en estos resultados estudiamos los niveles de fosforilación de STAT3, marcador de su activación. Tal como se ha descrito, la estimulación con colágeno indujo la fosforilación de STAT3; sin embargo, esta fosforilación se eliminó por el bloqueo del receptor del TXA₂ o la inhibición de su síntesis con aspirina. Por su parte, tanto U46619 como IBOP indujeron de forma dosis dependiente la fosforilación de STAT3, aumentando ésta con el tiempo de agregación.

Conclusiones: STAT3 juega un papel importante en la respuesta plaquetaria al TXA₂ en plaquetas. Esto puede tener importantes consecuencias fisiopatológicas no solo en la función plaquetaria sino también en otros tipos celulares donde la regulación de STAT3 es importante y expresen receptores del TXA₂.

PC-396 Polimorfismos en regiones no codificantes del gen de la proteína C regulan los niveles plasmáticos de proteína C

Fernández-Pardo A.¹, Martos L.¹, González L. M.², Ponce-Mora A.¹, Solmoirago M. J.¹, Oto J.¹, Plana E.³, Santillana N.¹, España F.¹, Medina P.¹, Navarro S.¹

¹Grupo de Investigación en Hemostasia, Trombosis, Arteriosclerosis y Biología Vascular; y ²Unidad de Genómica. IIS La Fe-Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia. ³Grupo de Investigación en Hemostasia, Trombosis, Arteriosclerosis y Biología Vascular. IIS La Fe. Valencia. Servicio de Angiología y Cirugía Vascular. Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia

Introducción: Los niveles plasmáticos de proteína C (PC) están asociados con diferentes variantes genéticas en el gen de la PC (PROC). Estudios in vitro han sugerido que polimorfismos (SNP) en la región promotora y en el intrón 2 de PROC alteran la regulación transcripcional, ya potenciando o disminuyendo la expresión de PC, aunque los resultados no son concluyentes.

Objetivo: Nuestro objetivo fue analizar 9 de los principales SNP descritos en el promotor e intrón 2 de PROC y determinar su asociación con los niveles plasmáticos de PC en nuestra población.

Métodos: Seleccionamos un grupo de 60 individuos sanos con niveles de PC antigénica aumentada, entre 85-186% (119,9 ± 26,3%). Genotipamos mediante secuenciación directa los siguientes SNP: rs2069904G>A; rs1799808C>T; rs1799809G>A; rs1799810A>T en la región promotora, y rs2069912T>C; rs2069913C>G; rs2069914G>A; rs2069915G>A; rs2069916C>T en el intrón 2 de PROC. Analizamos los resultados empleando el paquete estadístico SNPassoc del entorno de R, realizando el cálculo de la distribución de cada SNP, el equilibrio Hardy-Weinberg, y la asociación de los SNP con los niveles de PC mediante un modelo de regresión logística, ajustado por edad y sexo.

Resultados: La frecuencia del alelo minoritario de cada SNP fue: 30,33%, 36,07%, 40,16%, 40,16%, 25,40%, 22,95%, 28,69%, 45,08%, y 35,25%, respectivamente. No observamos diferencias significativas ni en las frecuencias genotípicas ni en las alélicas, tampoco en la existencia de ningún haplotipo entre grupos. Observamos una asociación significativa entre 3 de los 9 SNP analizados y los niveles de PC, siendo para rs1799809G>A y rs1799810A>T (p = 0,0097 en ambos casos) de dominancia, y para rs1799808C>T (p = 0,0454) recesiva (Fig. 1). Además, hemos observado diferencias en la distribución de los niveles de PC antigénica según el genotipo para rs1799809G>A y rs1799810A>T (p = 0,0370 en ambos casos) (Tabla I).

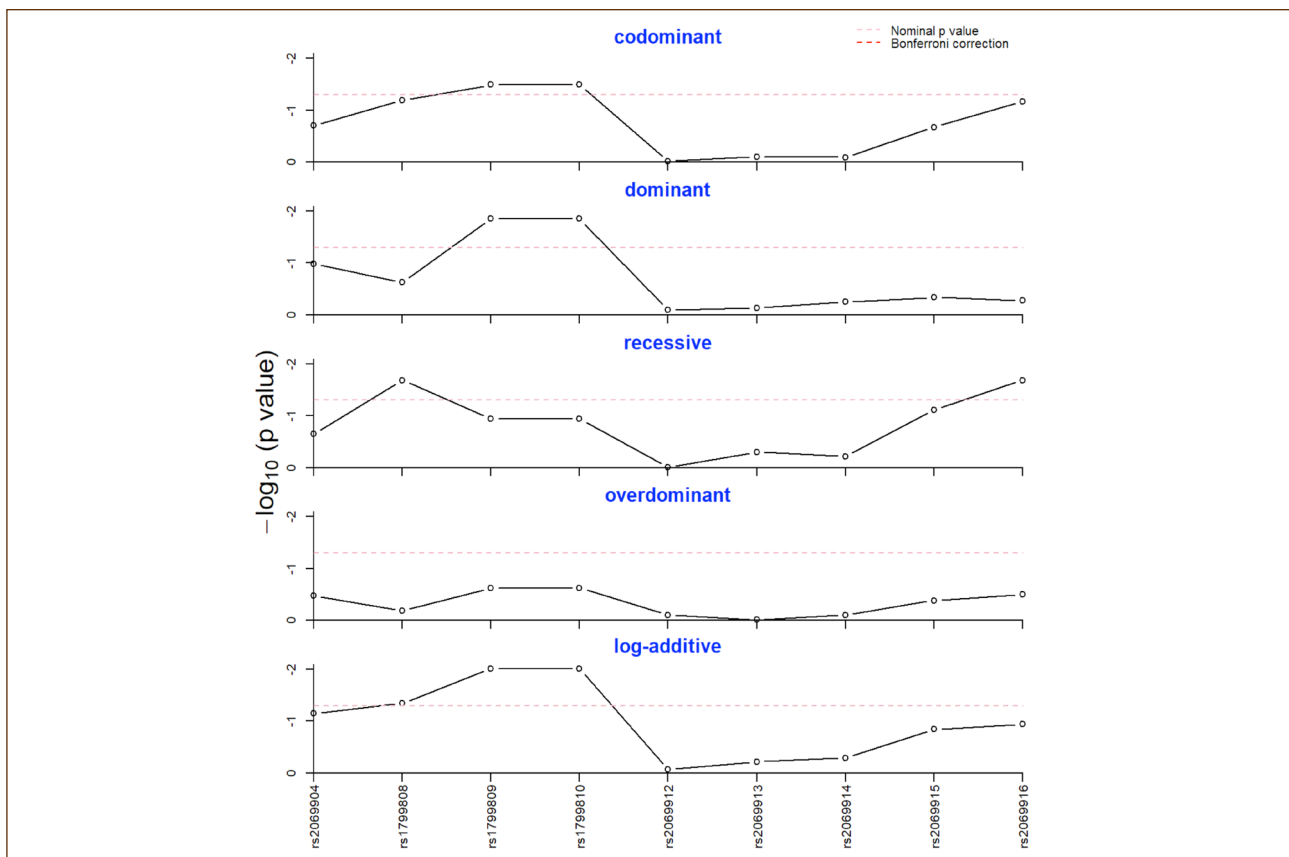


Figura 1. Estudio de asociación entre los 9 SNP estudiados en la región promotora e intrón 2 de PROC y los niveles de PC antigénica.

Tabla I. Distribución de los niveles de PC antigénica según los genotipos para los SNP rs1799809 G>A y rs1799810 A>T en la región promotora de PROC

rs1799809 G>A promotor		PC antigénica (%) Media ± DS	p valor
GG	n = 21	107,1 ± 20,10	0,0370
GA	n = 31	116,0 ± 26,14	
AA	n = 9	131,2 ± 25,66	
rs1799810 A>T promotor		PC antigénica (%) Media ± DS	p valor
AA	n = 21	107,1 ± 20,10	0,0370
AT	n = 31	116,0 ± 26,14	
TT	n = 9	131,2 ± 25,66	

Conclusiones: Estudios previos han descrito la asociación entre rs1799808C>T y rs1799809G>A, los niveles de PC y el riesgo trombotico, encontrando que el haplotipo T-A tiene niveles aumentados de PC y un menor riesgo trombotico. Además, estudios in vitro han demostrado que la presencia del alelo A para rs1799809 aumenta la expresión de PROC, posiblemente por la regulación del *splicing*. Nuestros resultados corroboran cómo SNP en la región promotora de PROC pueden contribuir a la regulación de su transcripción, dando lugar a la modulación de los niveles plasmáticos de PC.

Financiación: ISCIII-FEDER (P114/00512, P114/00079, F114/00269, CP115/00002, P117/00495), Generalitat Valenciana (PROMETEOII/2015/017, ACIF/2017/138). Este trabajo ha sido financiado con una ayuda de la Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia para Grupos de Trabajo.

PC-397 Seguridad del uso concomitante de antiplaquetarios con anticoagulantes orales de acción directa en pacientes con fibrilación auricular: datos del registro refase

Cerezo-Manchado J. J.¹, Navarro-Almenzar B.², Caro Martínez C.³, Flores Blanco P.⁴, Andreu Cayuelas J. M.⁴, Martínez-Marín A.², García-Candel F.², Fernández Poveda E.², Cabañas Perianes V.², Blanco Blanquer M.², Salido Fierrez E.², Pérez López R.², Moraleda Jiménez J. M.², Leal J. D.², Funes C.², Albendín Iglesias H. F.^{1,4}, Lova Navarro A.³, Arregui Montoya F.³, García-Arberola A.^{1,3,5}, Pascual Figal D. A.^{1,3,5}, Bailén Lorenzo J. L.², Cerdá M.⁶, Johansson E.⁶, Santamaría A.⁶, Manzano Fernández S.^{1,3,5}

¹Departamento de Medicina Interna. Facultad de Medicina. Universidad de Murcia. Murcia. ²Servicio de Cardiología. Hospital Vega Baja. Orihuela, Alicante. Servicios de ³Cardiología, ⁴Medicina Interna. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia. ⁵Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria. Murcia. ⁶Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona

Introducción: Actualmente existen pocos datos de la seguridad del uso concomitante de antiagregantes junto con anticoagulantes orales de acción directa (ACOD) en pacientes con fibrilación

auricular en nuestro medio. Por este motivo obtuvimos datos de este tipo de pacientes en el registro REFASE.

Métodos: Estudio retrospectivo de pacientes con fibrilación auricular (FA), registro REFASE, que iniciaron tratamiento anti-coagulante con ACOD para la prevención del ictus entre diciembre de 2012 y diciembre de 2016 en dos hospitales terciarios en España. Los pacientes fueron seguidos hasta febrero de 2018. Se obtuvieron datos del uso de antiagregantes en estos pacientes. El estudio fue aprobado por el CEIC.

Resultados: Se incluyeron 2.505 pacientes en total. De ellos 238 (9,5% llevaban algún tipo de antiagregante, 192 (7,7%) AAS, 72 (2,8%) inhibidores de la P2Y12 y otros antiagregantes en 2 pacientes (0,1%). Se examinaron los datos basales comparándolos con los pacientes que no usaban antiagregación y observando si existían diferencias significativas en sus características. La edad media fue de 76,9 ± 9,2 años p = 0,121, había menos mujeres en este grupo, 40,5% p < 0,001. Con respecto al riesgo tromboembólico y hemorrágico, el CHA2DS2-VASc medio fue 5,05 ± 1,6 y el HAS-BLED medio 2,6 ± 0,8 respectivamente, siendo ambos significativamente superiores respecto al grupo control, grupo sin antiplaquetarios. La presencia de factores de riesgo cardiovascular también fue más frecuente que en los no antiagregados (hipertensión arterial 92,5% p < 0,001, diabetes 50,0% p < 0,001), así como de enfermedad vascular (ictus/ataque isquémico transitorio 33,8% p < 0,001, insuficiencia cardíaca 22,7% p = 0,13, cardiopatía isquémica 69,3% p < 0,001, enfermedad arterial periférica 10,2% p < 0,001). No hubo diferencias en el aclaramiento de creatinina (Cockcroft-Gault) ni el antecedente de sangrado mayor. Si analizamos el riesgo de sangrado mayor en los pacientes antiagregados no obtenemos diferencias significativas en el análisis univariado OR = 1,43 (0,8-2,4) p = 0,196, tampoco en el sangrado menor OR = 1,24 (0,8-1,8) p = 0,2. Al realizar el análisis multivariado para sangrado mayor, la valvulopatía, el HAS-BLED y el antecedente de arteriopatía periférica fueron las variables que mantuvieron la significación, OR = 2,05 (1,4-3,0), OR = 1,96 (1,4-2,6), OR = 2,6 (1,2-5,7), respectivamente.

Conclusiones: En nuestro medio, los pacientes tratados con antiagregantes tienen una edad avanzada y un elevado riesgo tromboembólico y hemorrágico. El uso concomitante de antiagregantes parece seguro en nuestra población, siendo otros factores como la valvulopatía, la escala HAS-BLED o el antecedente de arteriopatía periférica más importantes a la hora de predecir los eventos hemorrágicos. Estos pacientes quizá deban ser seguidos más estrechamente en nuestras consultas.

PC-398 Caracterización funcional plaquetaria e identificación de la patología molecular responsable de una trombocitopenia congénita con ausencia de radio

Rodríguez Alén A.¹, Mota N.², Rollón N.¹, Cuesta J.¹, Padilla J.², Palma-Barqueros V.², Marín A.³, Lumberras E.³, González-Porras J. R.³, Vicente V.², Bastida J. M.⁴, Lozano M. L.⁵, Rivera J.⁵

¹Servicio de Hematología. Complejo Hospitalario de Toledo. Toledo. ²Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia. Centro Regional de Hemodonación. Murcia. Universidad de Murcia.

Murcia. IMIB-Arrixaca. Murcia. CB15/00055-CIBERER. Murcia. ³Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Salamanca. IBSAL. IBMCC. CIC Universidad de Salamanca-CSIC. Salamanca. ⁴Servicio de Hematología, Hospital Universitario de Salamanca, IBSAL, IBMCC, CIC, Universidad de Salamanca-CSIC, Salamanca. En representación del proyecto Caracterización Funcional y Molecular de Pacientes con TPC del Grupo de Trabajo de Patología Hemorrágica de la Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia (GTPH-SETH). ⁵Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia. Centro Regional de Hemodonación. Murcia. Universidad de Murcia. Murcia. IMIB-Arrixaca. Murcia. CB15/00055-CIBERER. Murcia. En representación del proyecto Caracterización Funcional y Molecular de Pacientes con TPC del Grupo de Trabajo de Patología Hemorrágica de la Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia (GTPH-SETH).

Introducción: La trombocitopenia con ausencia de radio (TAR; MIM 274000) es un trastorno genético infrecuente caracterizado por aplasia bilateral de radio y trombocitopenia desde el nacimiento. Pueden asociarse otras malformaciones esqueléticas, genitourinarias, cardíacas, y alergia a la leche de vaca. Recientemente se ha descrito la alteración genética responsable: una microdelección en el cromosoma 1q21 que incluye el gen RBM8A junto con la presencia de uno de dos polimorfismos de baja frecuencia localizados en regiones reguladoras de RBM8A. Previamente se han diagnosticado clínicamente casos de TAR en España (0.42/100.000 nacimientos), pero sin caracterización molecular.

Métodos: Paciente de 47 años diagnosticada clínicamente de TAR al nacimiento, con cifra de plaquetas alrededor de 80 x 10⁹/L, clínica hemorrágica moderada y múltiples malformaciones óseas (agenesia de ambos radios, displasia de cadera, displasia ósea craneal) y válvula aórtica bicúspide. Estudiamos a la paciente y a su familia, dentro del proyecto multicéntrico “Caracterización funcional y molecular de pacientes con trastornos plaquetarios congénitos (TPC)”. El estudio funcional incluyó: hemograma y frotis de sangre periférica; agregación plaquetaria con distintos agonistas (ADP, ristocetina, ac. araquidónico, colágeno y péptido relacionado con colágeno (CRP), activadores de receptores de

trombina (TRAP) y tromboxano A2 (U46619); análisis de glicoproteínas plaquetarias (GP) y activación con agonistas y valoración de unión de fibrinógeno y secreción de CD62 y CD63, por citometría de flujo (CF). La caracterización molecular se abordó mediante secuenciación de alto rendimiento (HTS) de un panel de 90 genes usando una plataforma Ion Torrent, con confirmación posterior de la variante y cribado familiar por Sanger. Además, se evaluó la presencia de una posible microdelección en la región cromosómica 1q21 mediante un array de cGH.

Resultados: Estudios funcionales: No se objetivaron defectos en el patrón de expresión de las GP plaquetarias Ib/IX, IIb/IIIa, Ia y GPVI. El estudio de agregación plaquetaria mostró un defecto de agregación marcado (50%) con CRP y U49619. En los estudios de CF se observó en la paciente, y en sus familiares directos, una reducción en la unión del fibrinógeno inducida por CRP, y menor con U46619, sugerente de un posible defecto de señalización vía GPVI. Estudio molecular: Se detectó por HTS la variante molecular c.-21 G>A (polimorfismo rs139428292) en hemicigosis en la región 5'UTR de RBM8A. Mediante secuenciación de Sanger se confirmó la variante en la paciente en homo(hemi)cigosis y su presencia en heterocigosis en el padre y en el hermano (Fig. 1). El estudio mediante array de cGH confirmó la pérdida de hete-

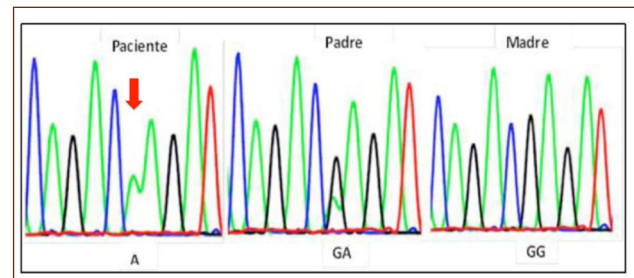


Figura 1. Cribado familiar de la variante c-21 G>A (RBM8A) mediante secuenciación de Sanger.

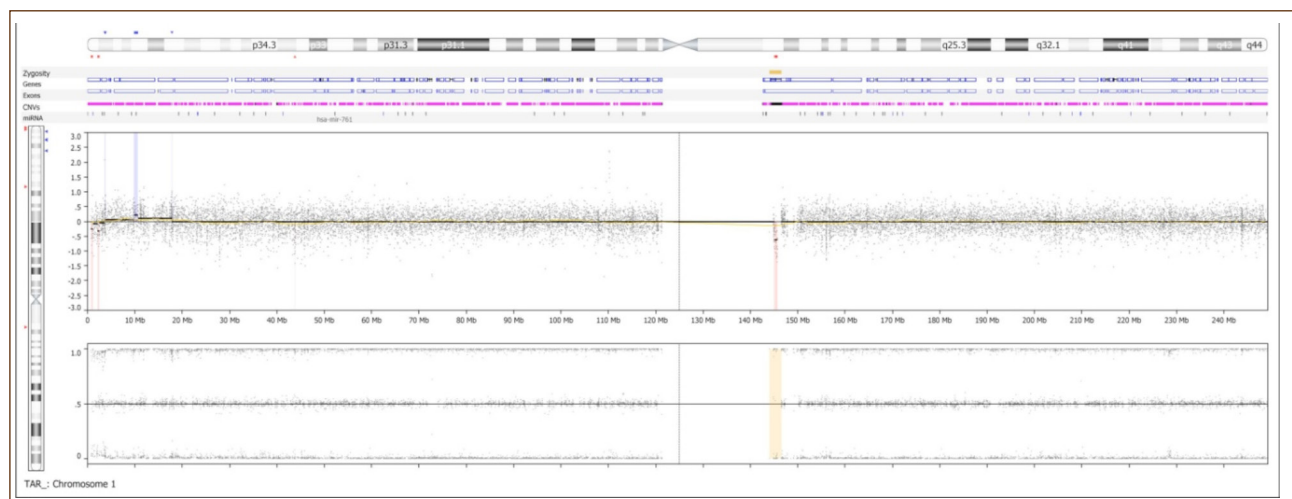


Figura 2. Array cGH: microdelección de 709 kb en el cromosoma 1 (cr. 1q21.1) que engloba a RBM8A.

rocigosidad en una región de 709 kb en el cromosoma 1q21,1 que engloba al gen RBM8A (Fig. 2).

Conclusiones: Hemos podido realizar el estudio completo clínico, funcional y molecular de una paciente con síndrome TAR, por primera vez en nuestro país. Consideramos necesario el estudio integral de los pacientes con TPC para evitar diagnósticos erróneos y tratamientos ineficaces o perjudiciales, detectar posibles portadores familiares y ofrecer consejo genético. La colaboración entre distintos centros y la inclusión de estos pacientes en registros nacionales e internacionales es imprescindible para el avance en el conocimiento de estas enfermedades.

Financiación: ISCIII-Feder [PI 17/01311 PI 17/01966]; Fundación Séneca (19873/GERM/15); CIBERER-U765; GRS 1647A/17. Proyecto de "Caracterización funcional y molecular de pacientes con TPC", Grupo Trabajo Patología Hemorrágica-SE-TH.

PC-399 Patrón multimérico del FVW y actividad ADAMTS-13 en pacientes con infarto agudo de miocardio

Molina Moreno P.¹, Pino Ferrer M.¹, Isola I.¹, Escolar Albaladejo G.¹, Sabaté Tena M.², Roqué Moreno M.², Díaz-Ricart M.¹

Servicios de ¹Anatomía Patológica. CDB; y ²Cardiología. Hospital Clínic. Barcelona

Introducción: La lesión del endotelio vascular que ocurre en el infarto agudo de miocardio (IAM) resulta en la liberación de un número importante de mediadores de trombosis, entre los que se encuentra el factor de von Willebrand (FVW). La metaloproteasa ADAMTS-13 degrada los multímeros ultragrandes de mayor potencial trombogénico del FVW. El déficit de su actividad ha sido relacionado con el desarrollo de complicaciones trombóticas.

Objetivo: El objetivo es valorar la actividad ADAMTS-13 y el perfil multimérico del FVW en el plasma de pacientes con IAM al momento del diagnóstico y a los 6 meses de ocurrido el evento.

Métodos: Fueron incluidos consecutivamente en el estudio pacientes diagnosticados de IAM con elevación ST, analizándose muestras de plasma obtenidas dentro de las 48 h posteriores al diagnóstico y a los 6 meses del tratamiento de reperfusión. El perfil electroforético de los multímeros del FVW fue estudiado mediante electroforesis en geles de agarosa (1,2%), transferencia proteica y revelado por quimioluminiscencia. La actividad ADAMTS-13 fue determinada por la técnica FRETs.

Resultados: Se han incluido hasta la fecha 30 pacientes (edad 62 ± 3 años, 50% < 50 años). Hemos identificado tres patrones: 1) perfil multimérico del FVW y actividad ADAMTS-13 normales al diagnóstico (fase aguda) y a los 6 meses; 2) perfil multimérico del FVW alterado en la fase aguda, con pérdida de multímeros de alto peso molecular e incremento de multímeros de bajo peso molecular, acompañado de niveles de actividad ADAMTS-13 significativamente disminuidos ($56 \pm 8\%$ vs $84 \pm 4\%$ en pacientes con patrón multimérico normal, $p = 0,002$), con normalización de ambos parámetros a los 6 meses; 3) perfil multimérico de FVW cualitativamente normal pero con aumento en la cantidad de pro-

teína en la fase aguda y normalización a los 6 meses, con actividad ADAMTS-13 normal en ambas determinaciones.

Conclusiones: Pacientes con IAM presentan distintos patrones multiméricos de FVW relacionados con cambios en la actividad ADAMTS 13, al momento del diagnóstico. Estos marcadores de lesión endotelial deben correlacionarse con otros biomarcadores y datos clínicos, pudiendo constituir herramientas útiles para determinar el riesgo trombótico y el pronóstico post-IAM.

Este estudio ha sido parcialmente financiado por las ayudas: PIE15/00027 y DTS16/00133 (ISCIII); 2017-SGR-671 Generalitat de Catalunya. Jazz Pharmaceuticals (IST-16-10355), German Jose Carreras Leukaemia Foundation (11R/2016).

PC-400 Pacientes diagnosticados de púrpura trombocitopénica inmune. ¿Cómo tratar? Experiencia de un hospital comarcal

Guerrero Fernández L.¹, Cabezudo Mollada L.¹, Albarrán Severo B.¹, Solano Tovar J.¹, Golvano Guerrero E.¹, Silvestre Cristóbal A.¹, Martín Antorán J. M.¹, Moreno Cantero T.², Sánchez Argüello D.³, de Brabandere C.³, Alonso Alonso J. M.¹

¹Complejo Asistencial Universitario de Palencia. Palencia. ²Hospital Universitario de Móstoles. Móstoles, Madrid. ³Hospital Universitario de Cabueñes. Gijón, Asturias

Introducción: La Púrpura Trombocitopénica Inmune (PTI) es un trastorno de mecanismo autoinmune caracterizado por un bajo recuento de plaquetas que puede asociar hemorragia mucocutánea. Son pocos los pacientes que no logran un aumento en el recuento de plaquetas tras el inicio de los tratamientos de primera línea con corticoides (CS) o inmunoglobulinas intravenosas (IgIV).

Objetivos: El objetivo fue analizar las diferentes estrategias terapéuticas en la PTI refractaria al tratamiento de primera línea.

Método: Estudio retrospectivo de 83 pacientes con PTI diagnosticados entre 2002 y 2017 en nuestro Hospital. Se definió respuesta completa (RC) al recuento plaquetario $> 100 \times 10^9/L$ y ausencia de hemorragia; respuesta parcial (RP) como recuento plaquetario $= 30 \times 10^9/L$, incremento en más de dos veces la cifra basal y ausencia de hemorragia; no respuesta (NR) al recuento plaquetario $< 30 \times 10^9/L$ o presencia de síntomas hemorrágicos; refractariedad como la ausencia de respuesta, con necesidad de tratamiento continuado para disminuir el riesgo de hemorragia.

Resultados: De 83 pacientes con PTI, 6 (7,2%) eran niños y 77 (92,8%) adultos; 32 (39%) eran hombres y 51 (61%) mujeres con edades comprendidas entre 2 y 93 años [media 57,9 (DS 26,3)]. El 38,6% presentaron diátesis hemorrágica al diagnóstico y un 6% trombosis (de los cuales el 100% tenían FRCV o antecedentes de trombosis). La media de plaquetas al diagnóstico fue de $15,282 \times 10^9/L$. De la población infantil, el 50% recibió tratamiento de primera línea con CS y el 50% CS e IgIV; RC en el 100%. En los adultos, el 61,4% recibieron CS en primera línea, el 24,1% CS e IgIV, y un 2,4% precisó transfusión de plaquetas. Se observó RC en 57,8%, RP en 28,9% y NR en 12%. De los pacientes con RC, un 24% tuvieron > 1 recaída, rescatados el 50% con nueva tanda de CS y un 50% otros tratamientos. La media de respuesta

fue 21,02 días. Un 16% resultó corticodependiente, con media de tratamiento de 19,2 meses. De los pacientes con RP, el 13% recibió CS y el 34% otras líneas. De los pacientes refractarios a CS, en el 70% se realizó esplenectomía presentando respuesta rápida en el 100% a los 20 días (70% tras CS; 30% tras terapia puente con Eltrombopag), 30% de recaídas; el 37,5% recibió Rituximab (375 mg/m²/semanal x4 dosis) con una tasa de respuesta del 100% (60% RC / 40% RP) (40% monoterapia, 40% tras esplenectomía, 20% tras Eltrombopag); el 62,5% se trató con Eltrombopag (33% tras esplenectomía, 33% terapia puente para esplenectomía, 22% en monoterapia), observando rápida respuesta pero efecto variable en la cifra de plaquetas; Romiplostin 25% como terapia puente a esplenectomía. No hubo efectos secundarios grados 3-4.

Conclusiones: El tratamiento de primera línea sigue siendo los CS por su alta tasa de RC. Sin embargo, existe un pequeño porcentaje de pacientes que no alcanzan una respuesta favorable o que precisan dosis prolongadas de CS, que se podrían beneficiar de tratamientos alternativos. Todas las opciones presentaron buenas respuestas con adecuado perfil de seguridad: la esplenectomía permanece aún como el tratamiento más efectivo, el Rituximab obtuvo respuesta rápida pero no duradera en un alto porcentaje de pacientes; los análogos de la trombopoyetina obtuvieron respuestas favorables, aunque con cifra de plaquetas-dosis dependiente. Existe mucha heterogeneidad a la hora de elegir el tratamiento de segunda línea y debemos individualizar cada caso según perfil y comorbilidades.

PC-401 Trombocitopenia inducida por heparina: experiencia en diagnóstico y manejo en nuestro centro

Rodríguez Rodríguez M., Castro Quismondo N., Martínez-López J.

Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid

Introducción: La trombocitopenia inducida por heparina (TIH) es un fenómeno inmunomediado en el que, tras exposición a heparina, se generan anticuerpos anti-factor plaquetario 4 (FP4)-heparina, causando destrucción de plaquetas por el sistema mononuclear-fagocítico y un estado protrombótico por aumento de generación de trombina. Su incidencia es aproximadamente 1 por cada 5.000 pacientes hospitalizados, mientras la trombocitopenia por otras causas tiene mayor frecuencia. Por ello es importante contar con herramientas para estimar la probabilidad de TIH. El score-4T evalúa 4 indicadores: nivel de trombocitopenia, tiempo de aparición, trombosis, y otras posibles causas. Así, los pacientes se clasifican en riesgo alto, intermedio o bajo de TIH. La confirmación del diagnóstico se realiza con la detección de anticuerpos anti-FP4-heparina mediante ELISA.

En caso de TIH confirmada ha de evitarse todo contacto con heparina y ha de iniciarse anticoagulación con otros fármacos por el estado protrombótico generado.

Evaluamos la experiencia en nuestro centro en diagnóstico y manejo de TIH.

Material y métodos: Se trata de un estudio retrospectivo y descriptivo para el que se recogieron: anticoagulación, grado de trom-

bocitopenia, tiempo de aparición, presencia de trombosis, posibles otras causas, score-4T, resultado de anticuerpos anti-FP4-heparina y cambio de fármaco anticoagulante en las sospechas de TIH que tuvieron lugar en nuestro centro durante los años 2017 y 2018.

Resultados: En este periodo hubo 12 sospechas de TIH; 5 presentaban un score de bajo riesgo, 5 de riesgo intermedio y 2 de riesgo alto. En todos los casos se determinaron los anticuerpos anti-FP4-heparina.

En los 7 casos de riesgo intermedio y de alto riesgo se interrumpió el tratamiento con heparina, cambiándose en la mayoría de los casos por Fondaparinux.

Todos los pacientes con score de bajo riesgo presentaron anticuerpos anti-FP4-heparina negativos. De los 5 con score intermedio, 4 presentaron anticuerpos indeterminados y 1 anticuerpos negativos. Los 2 pacientes con score de alto riesgo presentaron positividad para anticuerpos anti-FP4-heparina.

En los 4 pacientes con anticuerpos indeterminados se realizó una nueva determinación 1 semana después; 3 presentaron anticuerpos positivos y 1 anticuerpos negativos, por lo que finalmente hubo un total de 5 pacientes con anticuerpos anti-FP4-heparina positivos.

De los 5 pacientes con anticuerpos positivos, inicialmente 3 recibieron profilaxis con HBPM, 1 anticoagulación con HBPM y 1 hemodiálisis con HNF. 4 de ellos presentaron nadir de plaquetas > 20.000 y 1 < 20.000. En 4 la trombocitopenia se produjo 5-10 días después del contacto con heparina y en 1 caso un día después, habiendo presentado contacto con heparina en los 100 días previos. 2 casos presentaron trombosis asociada, coincidiendo con los scores de alto riesgo, y todos los casos podían tener otras posibles causas de trombocitopenia.

Conclusiones:

1. El score-4T resulta una herramienta útil en establecer la probabilidad de TIH, no siendo rentable determinar los anticuerpos anti-FP4-heparina en casos de bajo riesgo, ya que en todos resultaron negativos.
2. Es muy importante interrumpir el contacto con heparina en los pacientes con score de riesgo alto e intermedio.
3. En nuestra experiencia, los anticuerpos indeterminados tienden a evolucionar a positivos en una segunda determinación.

PC-402 Trombocitopenia inmune primaria y trombosis. Un reto en el manejo

Caparrós Miranda I. S.¹, Mingot Castellano M. E.², Entrena Ureña L.³, Campos Álvarez R.⁴, Fernández Jiménez D.⁵, Yera Cobo M.⁶, Jiménez Bárcenas R.⁷

¹Hospital Universitario Virgen de la Victoria. Málaga. ²Hospital Regional de Málaga. Málaga. ³Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada. ⁴Hospital de Jerez. Jerez de la Frontera, Cádiz. Hospital Clínico Universitario San Cecilio. Granada. ⁵Hospital Universitario Puerta del Mar. Cádiz. ⁷Hospital Universitario Virgen del Rocío. Grupo Andaluz de Coagulopatías Congénitas (GACC). Sevilla

Introducción: Los pacientes diagnosticados de trombocitopenia inmune primaria (PTI) tienen mayor riesgo de padecer eventos vasculares. Este hecho va a llevar a los pacientes a iniciar tratamientos antitrombóticos pese al riesgo hemorrágico.

Material y métodos: Estudio retrospectivo, multicéntrico y descriptivo de una serie de pacientes diagnosticados de PTI entre los años 2000 y 2017 que han presentado algún evento trombotico en hospitales de Andalucía.

Resultados: Se han analizado 30 pacientes, 22 mujeres (73%), mediana de edad 71 años (rango 20-90), y 33 eventos tromboticos, 18 (54,5%) en territorio venoso (TV) y 15 (45,5%) en territorio arterial (TA) (3 también ocurrieron en TV). En 23 (70%) eventos tromboticos se precisó tratamiento de la PTI para poder mantener el tratamiento antitrombotico. De estos, en 19 se utilizaron análogos del receptor de la tromboxetina (aTPO) (9 Eltrombopag, 3 Eltrombopag y Prednisona, 6 Romiplostim, 1 Romiplostim e inmunoglobulinas (Igs), 2 casos prednisona, 1 caso Igs y 1 caso azatioprina. Las dosis de mantenimiento para mantener cifra de plaquetas > 30-50 x 10e9/L de Eltrombopag fueron 25 mg cada 48 horas en 5 casos, 25 mg/día en 4 casos, 25 mg alternando con 50 mg en 1 caso y 75 mg/día en otro caso. La dosis media de mantenimiento de Romiplostim fue de 2,8 mcg/kg. Un caso recibió dosis de 250 mcg cada 3 semanas. En 2 de los eventos se pudo suspender posteriormente el tratamiento para la PTI. No hubo nuevas complicaciones tromboticas. Las TV se trataron con HBPM a dosis terapéuticas si cifra de plaquetas > 50 x 10e9/L, un caso pasó a antivitaminas K. Solo un caso mantuvo anticoagulación indefinida. Los ictus se trataron con antiagregación excepto dos casos con AVK. Los IAM con doble antiagregación excepto uno que sólo tuvo un antiagregante. Las arteriopatías periféricas, un caso con AVK y otro con antiagregación. Sin complicaciones hemorrágicas, excepto un caso de equimosis y sangrado vaginal coincidiendo con trombopenia severa por recaída de la PTI. La antiagregación se mantuvo indefinida en todos los casos excepto uno por abandono. En los casos registrados, cifras de plaquetas > 30 x 10e9/L no implicaron suspensión de antiagregación. Hubo un exitus por TEP masivo a los 15 días estando con cifra normales de plaquetas y en tratamiento con HBPM. Los pacientes que tuvieron el evento trombotico mientras recibían aTPO continuaron el mismo tratamiento. De los eventos que no requirieron tratamiento para la PTI (10), 2 ocurrieron en tratamiento con corticoides. 9 eran TV y de ellos 4 mantuvieron anticoagulación indefinida (2 TEP, 1 TVP portal con cavernomatosis y 1 TVP repetición, este con Edoxabán) y 1 ictus recibió antiagregación indefinida. No hubo complicaciones hemorrágicas ni tromboticas.

Conclusiones: Los eventos tromboticos tienen lugar incluso con bajo recuento de plaquetas lo que hace necesario tratar la PTI para mantener el tratamiento antiagregante y/o anticoagulante. Aunque no existen datos definitivos sobre el posible riesgo trombotico de aTPO, estos se utilizaron ampliamente y, en nuestra experiencia, no supuso la aparición de nuevas complicaciones tromboticas. Plaquetas > 30-50 x 10e9/L podrían ser suficientes para antiagregación y anticoagulación.

PC-403 Trombocitopenia inmune primaria y trombosis. Características y factores de riesgo asociados

Caparrós Miranda I. S.¹, Mingot Castellano M. E.², Entrena Ureña L.³, Campos Álvarez R.⁴, Fernández Jiménez D.⁵, Yera Cobo M.⁶, Jiménez Bárcenas R.⁷

¹Hospital Universitario Virgen de la Victoria. Málaga. ²Hospital Regional de Málaga. Málaga. ³Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada. ⁴Hospital de Jerez. Jerez de la Frontera, Cádiz. ⁵Hospital Universitario San Cecilio. Granada. ⁶Hospital Puerta del Mar. Cádiz. ⁷Hospital Universitario Virgen del Rocío. Grupo Andaluz de Coagulopatías Congénitas (GACC). Sevilla

Introducción: La trombocitopenia inmune primaria (PTI) se caracteriza por un incremento en la destrucción plaquetar y una producción de plaquetas subóptima. Paradójicamente, estos pacientes tienen mayor riesgo de tromboembolismo que la población general. Hay poca evidencia al respecto.

Objetivo: Determinar la incidencia de eventos vasculares en pacientes con PTI, describirlos, analizar los factores de riesgo vascular asociados y tratamientos de la PTI utilizados.

Material y métodos: Estudio retrospectivo, multicéntrico de una serie de casos de pacientes con diagnóstico de PTI que han presentado algún evento trombotico en hospitales de Andalucía entre los años 2000 y 2017.

Resultados: Se han analizado 30 pacientes, 22 mujeres (73%), mediana de edad al diagnóstico de la trombosis de 71 años (rango 20-90). La mediana de líneas de tratamiento ha sido 3 (0-7), con clínica hemorrágica al diagnóstico en 18 pacientes. Hemos identificado 18 eventos venosos (EV) (5 TEP, 5 TVP poplíteas, 3 TVP extensas, 3 tromboflebitis superficiales, 1 TVP portal y mesentérica, 1 hemorroidal) y 15 arteriales (EA) (8 ictus, 5 IAM y 2 arteriopatías periféricas). El 48,5% ocurrieron en PTI crónica no esplenectomizada y 18,2% PTI crónica esplenectomizada. 2 eventos venosos tuvieron relación con cirugía (esplenectomía) y 1 con inmovilización. El 12,1% de los eventos vasculares se produjeron en PTI de reciente diagnóstico (2 al diagnóstico) y el 6,1% en PTI persistente. El 20% de los pacientes con evento vascular no tenían ningún factor de riesgo trombotico (FR), 40% 1 FR y 40% 2 o más FR. De los pacientes con EA, todos tenían FR excepto uno. De los EV el 77% (16) presentaban FR. De los 6 pacientes esplenectomizados, 1 TVP portal a las 3 semanas de la esplenectomía (profilaxis primaria), 1 TVP poplíteas a las 24 horas de la esplenectomía (cifra de plaquetas > 500.000, sin profilaxis primaria), y 1 ictus a los 2,5 meses de la esplenectomía. No encontramos correlación estadísticamente significativa entre el tipo de evento trombotico y el rango de edad. Cuatro (12%) episodios presentaron plaquetas < 19 x 10e9/L, 3 (9%) entre 20-49x10e9/L, 8 (24%) entre 50-99 x 10e9/L y 3 (9%) episodios con > 400 x 10e9/L. En el momento del evento trombotico, 12% (4) tratamiento esteroideo, 6% (2) corticoides/inmunoglobulinas, 30% (10) eltrombopag, 6% (2) Romiplostim y 3% (1) Romiplostim más corticoides. El 42% (14) de los episodios ocurrieron sin recibir tratamiento específico para la PTI. No encontramos correlación estadísticamente significativa entre el tipo de evento trombotico y el tratamiento recibido. Hubo un exitus por TEP masivo a los 15 días y 2 por complicaciones infecciosas. En los casos indicados se realizó despistaje de trombofilia hereditaria, con 2 casos de mutación F II heterocigoto. Los anticuerpos antifosfolípidos eran negativos.

Conclusiones: La trombosis es más frecuente en pacientes con PTI primaria de nuestra serie en territorio venoso y predominantemente en PTI crónica. Los eventos vasculares tienen lugar incluso con bajo recuento de plaquetas y en ausencia de otros FR vascular. Debido al pequeño tamaño muestral no se encontró correlación entre el evento trombotico y la presencia de FR, edad y tipo de tratamiento.

El póster PC-404 se reproduce en la página 233.

PC-405 Acercamiento no farmacológico al dolor crónico en pacientes con hemofilia: una aproximación combinada desde la psicología y la fisioterapia

García-Dasí M.¹, Pérez-Alenda S.², Querol Fuentes F.², Aguilar Rodríguez M.², Moreno Segarra N.², Gómez Tomás C.², Marqués Sule E.², Carrasco Fernández J. J.², Bonanad Boix S.³

¹Instituto de Investigaciones Sanitarias La Fe. Unidad de Hemostasia y Trombosis. Servicio de Hematología. Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia. ²Departamento de Fisioterapia. Universidad de Valencia. Valencia. ³Unidad de Hemostasia y Trombosis. Servicio de Hematología. Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia

Introducción: Distintos estudios han mostrado que más de la mitad de los pacientes adultos con hemofilia (PH) sufren dolor articular diario. El manejo del dolor crónico (DC) requiere intervenciones multidisciplinarias. Metaanálisis publicados ponen de manifiesto que la terapia cognitivo-conductual (TCC) es la más eficaz y eficiente de las que vienen empleándose en distintas patologías que cursan con DC: pacientes tratados con analgesia + TCC experimentan mayor reducción de dolor e incremento de calidad de vida (CV). Por otro lado, la fisioterapia y educación del paciente han demostrado su efecto positivo en la promoción de la percepción adaptativa al DC.

Objetivo: Implementar un programa multidisciplinar basado en TCC y fisioterapia adyuvante al tratamiento médico estándar para manejo de DC y promoción de CV en PH.

Métodos: Diseño pre-post intervención, de comparación intraindividual, desarrollado en el Hospital Universitario y Politécnico La Fe. El programa está dirigido a PH, de 18-60 años, con artropatía clínica y/o radiológica en al menos una articulación de las 6 más frecuentemente afectadas (codos, tobillos y rodillas) y DC (persistente al menos 6 meses y resistente a terapéutica convencional). Se espera incluir 20 PH (10 en grupo intervención y 10 en grupo control). En la evaluación de los pacientes, como indicadores de la eficacia de la intervención, se consideran las siguientes variables e instrumentos: Estado emocional: ansiedad, depresión y autoestima (Escala de Ansiedad y Depresión hospitalaria (HAD) y Cuestionario de Autoestima de Rosenberg); autoeficacia (cuestionario de Autoeficacia en DC); CV (A36HemofiliaQoL); Kinesiofobia (Escala TSK-11SV); dolor (EVA y PainDETECT); rango de movimiento activo; HJHS y capacidad funcional (test Upand Go, test Sit-to-stand, Test de 2 minutos marcha) y cuestionario lista de actividades de hemofilia (HAL). Los PH son evaluados antes de empezar la intervención (nivel basal), una semana después de finalizarla (nivel post-tratamiento) y 3 meses después (seguimiento). La TCC consiste en 4 sesiones (S) con frecuencia mensual: Psicoeducación (S1) (modelo biopsicosocial del DC); Entrenamiento en respiración diafragmática y relajación muscular progresiva (S2); Kinesiofobia (S3-4) (trabajo cognitivo del miedo al movimiento y regulación de la actividad). El programa de fisioterapia consiste en sesiones domiciliarias, semanales, basadas en ejercicio aeróbico, estiramientos y fuerza. El estudio ha sido aprobado por el Comité Ético del hospital y registrado en www.clinicaltrials.gov (número de registro 2017/0320). Todos los pacientes firman consentimiento informado antes de su inclusión.

Resultados: Desde enero de 2018 un total de 9 PH se han incluido en el programa y 5 han sido reclutados como controles. El programa pretende cambios en la percepción que los PH tienen de su DC y la promoción de estrategias de afrontamiento complementarias a la analgesia farmacológica que permitan una mejor autorregulación emocional del sufrimiento, funcionalidad y CV en los pacientes del grupo experimental.

Conclusiones: La TCC y la fisioterapia han mostrado efectos beneficiosos en el manejo del DC en otras patologías y evaluar su eficacia en PH con artropatía es una necesidad actual.

Ayudas/fuentes de financiación: Estudio financiado por ASPIRE European Grant (Pfizer).

El póster PC-406 se reproduce en la página 234.

PC-407 Tratamiento de inmunotolerancia en hemofilia con inhibidor. Experiencia de un centro

Jiménez Bárcenas R., Núñez Vázquez R. J., Rodríguez Martorell F. J., García Lozano R., Pérez Simón J. A.

Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla

Introducción: El desarrollo de aloanticuerpos neutralizantes frente a la terapia sustitutiva con concentrados del factor deficitario es la complicación más grave del tratamiento de la hemofilia. Los pacientes que desarrollan un inhibidor aumentan su riesgo de sufrir episodios hemorrágicos graves, con el consecuente incremento de complicaciones, costes y deterioro en la calidad de vida. La inmunotolerancia (ITI) se considera la terapia de elección. Se basa en la infusión intravenosa (IV) de altas y frecuentes dosis de factor con el objetivo de “borrar” el inhibidor. Suele ser prolongada en el tiempo, costosa, con una tasa de éxito moderada y muy limitante para realizar una vida “normal”.

Objetivo: Describir la experiencia de nuestro centro en ITI en pacientes con hemofilia con inhibidor en los últimos cinco años.

Pacientes, material y métodos: Seis pacientes con hemofilia A grave (FVIII inferior a 1 UI/dL) e inhibidor. Mediana de edad en el momento de desarrollo del inhibidor 3.2 años (rango 18 meses-15 años). Espectro mutacional: 2 grandes delecciones, 2 mutaciones que predicen un codón de parada, una mutación puntual de alto riesgo y una mutación del marco de lectura. Cuatro pacientes realizaban tratamiento a demanda (3 por edad inferior a dos años y uno por fenotipo hemorrágico moderado), 2 pacientes se encontraban en profilaxis. Dos pacientes usaban FVIII de origen plasmático (FVIII_{dp}), por genética de alto riesgo de desarrollo de inhibidor y 4 FVIII recombinante (FVIII_r). En 4 casos (los de menor edad) el inhibidor apareció antes de las 50 primeras exposiciones al factor. En todos los casos el inhibidor se sospechó por clínica hemorrágica no controlada a pesar de tratamiento sustitutivo.

Resultados: Solo en un caso el título de inhibidor al diagnóstico fue inferior a 10 unidades Bethesda (UB), por ello, este paciente comenzó inmediatamente ITI con el FVIII_r con el que se trataba previamente. En los otros 5 casos, la mediana de tiempo desde el diagnóstico hasta el comienzo de ITI fue 12 meses (rango 6-24

meses). En todos ellos se usó FVIIIIdp. Las dosis oscilaron entre 60 UI/kg/48 h y 175 UI/kg/24 h. Dos pacientes requirieron aumento de dosis. Los tres pacientes de menor edad necesitaron un reservorio IV subcutáneo. Todos los pacientes alcanzaron el pico máximo de inhibidor durante el transcurso de la inmunotolerancia (1-10 meses del inicio). La mediana de duración de ITI fue 21 meses (rango 6-36). En un caso se asociaron corticoides y metotrexato; en un caso se usó Rituximab. Las complicaciones hemorrágicas se trataron con factor VII recombinante activado. En 2 pacientes se cambió a concentrado de complejo protrombínico activado por mal control de los sangrados. Dos pacientes requirieron profilaxis con agente baipás. En dos casos se consiguió el borrado del inhibidor y los pacientes pasaron a un régimen de profilaxis con FVIII. En los otros cuatro casos se suspendió ITI por inclusión en un ensayo clínico con Emicizumab: en dos casos por persistencia de título alto de inhibidor y en los otros dos por decisión consensuada con los padres.

Conclusiones:

1. En nuestra serie de hemofílicos A grave con inhibidor un tercio ha respondido a ITI. En dos casos la ITI se prolongó más de dos años.
2. En los próximos años dispondremos de alternativas de tratamiento eficaces, seguras y de administración más cómoda, lo que condicionará nuevas prácticas en el manejo de la hemofilia con inhibidor.

Tratamientos antitrombóticos

PC-408 Manejo de los anticoagulantes orales de acción directa y antiagregantes para la realización de la endoscopia digestiva: estudio multicéntrico nacional de diferentes modelos organizativos

Plumé Gimeno G., Satorres Paniagua C., García Morales N., Navarro Navarro B., Nevárez Heredia A., Bustamante Balén M.
Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia

Introducción: Los pacientes anticoagulados con antivitaminas K que van a ser sometidos a un procedimiento endoscópico digesti-

vo habitualmente son preparados en la consulta de terapia anticoagulante oral por Hematología. Sin embargo, los pacientes tratados con antiagregantes o con anticoagulantes orales de acción directa (ACOD) no suelen ser evaluados en dicha consulta antes de la endoscopia. Se desconoce cómo esta situación influye en el manejo de estos pacientes a la hora de ser sometidos a una endoscopia digestiva.

Objetivos: a) Describir diferentes modelos organizativos de distintos hospitales para el manejo periendoscópico del paciente tratado con antiagregantes o ACOD, valorando el papel que juega el hematólogo; y b) detectar si en la práctica se analizan las consecuencias de la aplicación de estos modelos organizativos.

Material y métodos: Encuesta *on line* remitida a hospitales españoles de diferentes Comunidades Autónomas y contestada por un médico digestivo de cada centro con responsabilidad en la organización.

Resultados: Se incluyeron 25 hospitales, 13 comarcales (52%) y 12 terciarios (48%). En 17 (68%) hospitales no existe un protocolo institucional para el manejo periendoscópico de estos fármacos. La presencia de este protocolo es más frecuente en hospitales terciarios (58,3% vs 7,7%, $p = 0,01$). En el caso de que el paciente pase por consulta de preanestesia antes de la endoscopia, el anestesta no hace ninguna recomendación sobre la retirada de estos fármacos en 10 (40%) hospitales ni sobre su reintroducción tras la endoscopia en 17 (68%). En el caso de que el anestesta no dé instrucciones o el paciente no pase por preanestesia, el hematólogo apenas tiene papel en el manejo de los antiagregantes mientras que en pacientes con ACOD solo interviene en el 44% de los hospitales (Tabla I). Esta situación es similar en hospitales comarcales y terciarios ($p = 0,69$). Solo en 2 hospitales (8%) hay una consulta específica para el manejo de los fármacos antitrombóticos ante un procedimiento endoscópico. Sin embargo 15 centros (60%) consideran necesaria la instauración de una consulta de este tipo, sin diferencias entre hospitales terciarios y comarcales ($p = 0,3$). En ningún hospital se sigue para la detección de trombosis a los pacientes en los que se ha modificado la medicación antiplaquetar o anticoagulante para un procedimiento endoscópico.

Conclusiones:

1. Los hematólogos no realizan específicamente el manejo periendoscópico de los pacientes con tratamiento antiagregante y en muchos casos tampoco de los ACOD.
2. Sin embargo, en la mayoría de los centros no hay un protocolo institucional multidisciplinar que guíe el manejo de estos fármacos.

Tabla I. Facultativo responsable del manejo perioperatorio de antiagregantes y ACOD en los diferentes hospitales españoles

	Antiagregantes				ACOD			
	Retirada		Reintroducción		Retirada		Reintroducción	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
U. Endoscopias	13	(52)	19	(76)	8	(32)	10	(40)
Hematólogo	1	(4)	1	(4)	11	(44)	11	(44)
Médico que solicita la exploración	6	(24)	-	-	3	(12)	2	(8)
Médico que indicó el tratamiento antitrombótico	2	(8)	2	(8)	1	(4)	-	-
MAP	3	(12)	3	(12)	2	(8)	2	(8)

MAP: médico de Atención Primaria

- No es posible determinar con fiabilidad las consecuencias clínicas del manejo de estos fármacos ya que no se registran sistemáticamente los fenómenos trombóticos.
- En estas circunstancias parece necesario crear sistemas de coordinación multidisciplinar que establezcan pautas concretas de modificación perioscópica de los antiagregantes y ACOD.

PC-409 Implicación pronóstica de la valvulopatía en los pacientes con fibrilación auricular tratados con anticoagulantes de acción directa: datos del registro refase

Fernández Poveda E.¹, Cerezo-Manchado J. J.², Cascales A.¹, Navarro Almenzar B.¹, Caro Martínez C.³, Flores Blanco P. J.³, Elvira Ruiz G.³, Andreu Cayuelas J. M.³, Martínez Marín A.¹, García Candel F.¹, Cabañas Perianes V.¹, Blanquer Blanquer M.¹, Salido Fierrez E.¹, Pérez López R.¹, Moraleda Jiménez J. M.¹, Leal Rubio J. D.¹, Funes Vera C.¹, Moreno Belmonte M. J.¹, Manzano Fernández S.³

¹Servicio de Hematología. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia. IMIB-Arrixaca. Murcia. Universidad de Murcia. Murcia. ²Servicio de Hematología. Hospital Clínico Universitario Vall d'Hebron. Barcelona. ³Servicio de Cardiología. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia. IMIB-Arrixaca. Murcia. Universidad de Murcia. Murcia

Introducción y objetivo: El objetivo del estudio fue evaluar el uso de anticoagulantes de acción directa (ACOD) en los pacientes con valvulopatía y fibrilación auricular.

Métodos: Recogimos los pacientes con valvulopatía moderada o severa de nuestro registro REFASE, un registro retrospectivo de pacientes con fibrilación auricular (FA), que iniciaron tratamiento anticoagulante para la prevención del ictus entre diciembre de 2012 y diciembre de 2016 en dos hospitales terciarios en España. Los pacientes fueron seguidos hasta febrero de 2018.

Resultados: Se incluyeron 2505 pacientes en total. De ellos 585 (23%) pacientes tenían alguna valvulopatía. Presentaron estenosis aórtica 100 pacientes (4%), insuficiencia aórtica 138 pacientes (5.5%), estenosis mitral 9 (0,4%) e insuficiencia mitral 340 (13%). No existieron diferencias significativas entre los pacientes con o sin valvulopatía en género, ictus previo ni sangrado previo. Los pacientes sin valvulopatía tenían un porcentaje de hipertensión mayor (13% Vs 9,6%) de manera significativa ($p = 0,01$). La edad media fue de $78,4 \pm 8,4$ años. El CHA₂DS₂-VASc medio fue $4,3 \pm 1,5$ y el HAS-BLED medio $2,6 \pm 0,9$, siendo estos 3 valores significativamente más altos ($p < 0,05$) en los pacientes con valvulopatía. El análisis univariado con regresión logística para sangrado mayor mostró diferencias significativas ($p < 0,001$, OR 2,37 —1,63-3,46—), siendo un 9% en los sujetos con valvulopatía frente a un 4% en los no valvulopatas. Cuando realizamos un análisis multivariado para sangrado mayor sólo el HAS-BLED y la valvulopatía mantuvieron la significación estadística.

Conclusiones: En nuestro medio, los pacientes con valvulopatía tratados con ACOD tienen una edad avanzada y mayor riesgo tromboembólico y hemorrágico. No hemos observado diferencias en

cuanto a eficacia entre pacientes con o sin valvulopatía. No obstante, si hemos observado diferencias en el porcentaje de sangrados mayores, lo que nos hace suponer que estos pacientes puedan tener un perfil riesgo mayor a la hora de iniciar tratamiento anticoagulante.

PC-410 Educación sanitaria y monitorización clínico-biológica en pacientes con ACOD y su impacto sobre las complicaciones trombótico-hemorrágicas

Fernández Rodríguez M. I., Caro Gómez A., Soto Ortega M. I., García Gala J. M., Ávila Idrovo L. F., Solé Magdalena A., Bernardo Gutiérrez A.

Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo

Introducción: La enfermedad trombótica considerando su vertiente arterial y venosa, es la primera causa de mortalidad en la población occidental. El tratamiento farmacológico con anticoagulantes de acción directa (ACOD) ha supuesto una revolución en el enfoque terapéutico de esta patología, pero recientes estudios han demostrado una menor adherencia terapéutica en los pacientes anticoagulados con estos fármacos. Es lógico pensar que en aquellos pacientes que reciben educación sanitaria sobre estos antitrombóticos y son sometidos a una monitorización clínico biológica regular, se detectará con mayor eficacia la falta de adherencia al fármaco. Esto se traduce en una disminución de la incidencia de las complicaciones hemostáticas.

Métodos: Se realiza un estudio retrospectivo seleccionando una muestra de 126 pacientes anticoagulados con ACOD pertenecientes al Área IV de Salud de Asturias. Se dividen en dos grupos en función del Servicio Clínico que realiza la indicación del fármaco, la Unidad de Trombosis y Hemostasia del Servicio de Hematología (UTH) del Hospital Universitario Central de Asturias (grupo 1) versus otros servicios médicos (grupo 2), para la evaluar la influencia de la educación sanitaria y monitorización clínico-biológica, que aplica la UTH, sobre la incidencia de complicaciones trombóticas y hemorrágicas. Asimismo, se compara la frecuencia de dichas complicaciones en ambos grupos.

Resultados: Las características de la población estudiada se detallan a continuación: Grupo 1: 76 pacientes: 37 varones y 39 mujeres. Edad: 52-97 años. 46 pacientes (60,5%) tratados con Rivaroxabán, 20 (26,3%) con Apixabán, 10 (13,2%) con Dabigatrán. Grupo 2: 50 pacientes; 32 varones y 18 mujeres. Edad: 33 - 92 años. 22 pacientes (44%) tratados con Rivaroxabán, 12 (24%) con Apixabán y 16 (32%) con Dabigatrán. En cuanto a la adherencia al tratamiento, se observó que en el grupo 1 era menor el porcentaje de pacientes que no tomaban el fármaco de manera correcta o asumían como acertada una posología errónea. Este hecho se comprobó mediante la determinación de las concentraciones del fármaco en sangre, viendo cuáles se encontraban por encima y por debajo de los niveles terapéuticos. La frecuencia de las complicaciones hemorrágicas y trombóticas fue menor en el grupo 1. Se observó una diferencia significativa ($p = 0,008$) entre las complicaciones hemorrágicas y trombóticas a favor de los pacientes que habían recibido educación sanitaria y monitorización clínico-biológica (Tablas I y II).

Tabla I. Características de los grupos de pacientes participantes en el estudio

		Grupo 1 (con educación sanitaria y monitorización)	Grupo 2 (sin educación sanitaria, sin monitorización)	P
Edad en años (Media + D.E.)		77,68 ± 9,8	75,64 ± 10,7	0,273 ^a
Sexo n (%)	Mujer	39 (51, 32%)	18 (36%)	0,091 ^b
	Hombre	37 (48, 68%)	32 (64%)	
ADOC n (%)	Rivaroxabán	46 (60, 52%)	22 (44%)	0,017 ^b
	Apixabán	20 (26, 31%)	12 (24%)	
	Dabigatrán	10 (13, 17%)	16 (32%)	

Tabla II. Cumplimiento terapéutico y frecuencia de complicaciones en los dos grupos estudiados

	Grupo 1 (con educación sanitaria y monitorización)	Grupo 2 (sin educación sanitaria, sin monitorización)	P
Complicación hemorrágica	10 (13,1%)	18 (36%)	0,008
Complicación trombótica	5 (6,58%)	4 (8%)	0,008
Posología incorrecta n (%)	43 (56, 58%)	31 (62%)	0,545
No tomar el fármaco n (%)	8 (10, 52%)	4 (8%)	

Conclusiones: Los pacientes tratados con ACOD que reciben educación sanitaria previa y seguimiento clínico-biológico por personal especializado en hemostasia presentan menos complicaciones hemorrágicas y trombóticas que los que no se someten a este protocolo de actuación. Los eventos hemorrágicos graves y los eventos trombóticos se presentan con mayor frecuencia en los pacientes que no reciben educación sanitaria ni monitorización clínico-biológica.

PC-411 Efectividad, seguridad y dosificación de rivaroxabán en una cohorte de 1.025 pacientes con fibrilación auricular: datos del registro Refase

Navarro-Almenzar B.¹, Cerezo-Manchado J. J.², Caro Martínez C.³, Flores Blanco P. J.³, Elvira Ruiz G.³, Andreu Cayuelas J. M.³, Martínez-Marín A.¹, García-Candel F.¹, Fernández Poveda E.¹, Cabañas Perianes V.¹, Blanquer Blanquer M.¹, Salido Fierrez E.¹, Pérez López R.¹, Moraleda Jiménez J. M.¹, Leal Rubio J. D.¹, Cascales Hernández A.¹, Funes Vera C.¹, Manzano-Fernández S.³

¹Servicio de Hematología. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia. IMIB-Arrixaca. Murcia. Universidad de Murcia. Murcia. ²Servicio de Hematología. Hospital Clínico Universitario Vall d'Hebron. Barcelona. ³Servicio de Cardiología. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia. IMIB-Arrixaca. Murcia. Universidad de Murcia. Murcia

Introducción: A pesar de que los ensayos clínicos y registros de vida real han demostrado la efectividad de Rivaroxaban y analizado su perfil de seguridad, no hay una experiencia amplia sobre su uso en la práctica clínica habitual, sobre todo a largo plazo.

Objetivo: Evaluar el perfil clínico, la efectividad y la seguridad de Rivaroxaban en la práctica clínica.

Métodos: Estudio retrospectivo de pacientes con fibrilación auricular, que iniciaron tratamiento anticoagulante con Rivaroxaban para la prevención del ictus entre diciembre de 2012 y diciembre de 2016 en dos hospitales terciarios en España, registro REFASE. Los pacientes fueron seguidos hasta febrero de 2018 o hasta la pérdida de seguimiento, registrándose eventos clínicos adversos en el 99,7% de los mismos.

Resultados: Se incluyeron un total de 1025 pacientes. La media de seguimiento fue 1,79 años. En cuanto a las características basales, la edad media fue de 76,1 ± 9,0, y el 54,5% eran mujeres. La FA era permanente en el 47,9%. Con respecto al riesgo tromboembólico y hemorrágico, el CHA2DS2-VASc medio fue 3,9 ± 1,4 y el HAS-BLED medio 2,3 ± 0,9, respectivamente. La frecuencia de factores de riesgo cardiovascular fue elevada (hipertensión arterial 88,8%, diabetes 27,0%), así como de enfermedad vascular (ictus/ataque isquémico transitorio 16,4%, insuficiencia cardíaca 14,7%, cardiopatía isquémica 13,0%, enfermedad arterial periférica 2,5%). La mediana de aclaramiento de creatinina (Cockcroft-Gault) fue de 70 ± 27. El 5,0% tenía antecedentes de sangrado mayor. Con respecto al tratamiento anticoagulante, el 39,3% de los pacientes había sido previamente anticoagulado con antagonistas de la vitamina K, el 2,6% con otro anticoagulante oral directo, y el resto (59,1%) se inició con Rivaroxaban. Las dosis de Rivaroxaban prescritas fueron 20 mg en el 56,2% de los pacientes y 15 mg en el 42,8% restante. La tasa de ictus fue de 1,69 por 100 habitantes-año. Para hemorragia mayor e intracraneal la tasa fue de 3,3 y 0,4 habitantes-año respectivamente.

Conclusiones: En nuestro medio, los pacientes tratados con Rivaroxaban tienen una edad avanzada y un elevado riesgo tromboembólico. Las tasas de complicaciones tromboembólicas y

hemorrágicas con Rivaroxaban en este tipo de pacientes tratados en la práctica clínica, ofrecen datos superponibles a los registros internacionales.

PC-412 Primer estudio observacional y prospectivo en pacientes con fibrilación auricular, incluyendo todos los anticoagulantes orales de acción directa (ACOD) en la población española: *The Real Life Cohort Study Hospital Vall d'Hebron*

Cerdá Sabater M., Cerezo-Manchado J. J., Johansson Barron E., Fernández Caballero M., Martínez García M. F., Bosch Albareda F., Santamaria Ortiz A.

Hospital Vall d'Hebron. Barcelona

Introducción: En la actualidad no se conocen datos de vida real del empleo de los cuatro ACOD comercializados en nuestro país. Por este motivo, se ha llevado a cabo un estudio observacional en vida real que evalúe las características clínicas de los pacientes con fibrilación auricular no valvular (FANV) tratados con ACOD y que compare la efectividad y seguridad de estos fármacos en la práctica clínica habitual con la de los ensayos clínicos publicados.

Métodos: El estudio *Real Life Cohort Vall d'Hebron* es un estudio observacional y prospectivo en el que participaron todos los pacientes con FANV, con o sin ictus previo, de la Unidad de Tratamiento Anticoagulante Oral (UTAO) que habían iniciado tratamiento con cualquier ACOD. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de Investigación Clínica del hospital y el consentimiento informado por escrito fue dado por todos los pacientes antes de su inclusión. Los enfermos fueron seguidos hasta discontinuación del fármaco o hasta la última visita de seguimiento. La dosis del ACOD y su indicación fue elegida a criterio clínico. Las variables principales investigadas fueron la tasa de eventos tromboembólicos (eventos por 100 pacientes/año) y la tasa de sangrados mayores (eventos por 100 pacientes/año). El sangrado mayor fue definido según los criterios de la ISTH 2005. Los análisis estadísticos se realizaron con SPSS 21.0 (SPSS Inc., Chicago, IL).

Resultados: Entre enero de 2015 y septiembre de 2017 se incluyeron un total de 1.443 pacientes en el estudio. La edad media fue de $77,2 \pm 9,7$ años, el 52,8% eran mujeres, el 20,0% de los pacientes tenía accidente cerebrovascular previo o ataque isquémico transitorio, el 34,4% un aclaramiento de creatinina < 50 ml/min y un CHA₂DS₂-VASc medio de $4,1 \pm 1,5$. Un total de 663 (46,0%) pacientes recibieron Rivaroxaban, 352 (24,4%) Dabigatran, 325 (22,5%) Apixaban y 103 (7,1%) Edoxaban. Las tasas de accidente cerebrovascular isquémico, hemorragia mayor y hemorragia intracraneal fueron de 0,7, 1,3 y 0,2 eventos por 100 pacientes-año, respectivamente. La hemorragia mayor fue más comúnmente gastrointestinal (60%), seguida por la localizada en el tracto urinario (20%) y en los tejidos blandos (20%), siendo mayor entre los pacientes que tomaron Dabigatran (82,3% del total fueron en pacientes con Dabigatran 110). Solo se informaron cuatro casos de hemorragia intracraneal, dos pacientes con 110 mg de Dabigatran y otros dos en tratamiento con Apixaban de 2,5 mg.

Conclusiones: Este es el primer estudio en vida real que ha analizado una amplia cohorte prospectiva de pacientes con FANV tratados con los cuatro ACOD en nuestro país. El perfil de seguridad y de eficacia es similar al encontrado en ensayos clínicos que llevaron a la aprobación de estos fármacos.

PC-413 Adherencia terapéutica a los anticoagulantes orales directos en pacientes tratados para la prevención de ictus diagnosticados de FA no valvular

Sánchez de Cos Jiménez L.¹, Naranjo Ratia M. C.², Márquez Martínez A.¹, Santos Garrote M.¹, Barrero Martín M. Á.¹, Ramírez Polo I.¹

¹Centro de Salud Cayetano Roldán. San Fernando, Cádiz. ²Centro de Salud Medina Sidonia. Medina Sidonia, Cádiz

Introducción: La adherencia terapéutica es considerada por la OMS un proceso dinámico y difícil de medir con precisión. La adherencia terapéutica mejora el cumplimiento y por tanto la eficacia del tratamiento, y como consecuencia mejora la evolución clínica y minimiza los costes sanitarios. Por tanto, la adherencia hace a la medicación más costo-efectiva. Esta premisa es especialmente importante en tratamientos como los ACOD.

Objetivos: Comprobar la adherencia terapéutica de pacientes pertenecientes a la UGC Cayetano Roldán dependientes e independientes tratados con ACOD en pauta de una o dos dosis diarias.

Material y métodos: Estudio transversal descriptivo retrospectivo en UGC Cayetano Roldán. Fueron analizados los datos de 209 pacientes en tratamiento con ACOD por Fibrilación Auricular no valvular en los tres meses anteriores al estudio mediante entrevistas por vía telefónica aplicando test de cumplimiento Morisky-Green-Levine (alta sensibilidad) y Batalla (Alta Especificidad). Se realizó análisis estadístico de los datos. Encontramos como limitaciones falta de colaboración y datos telefónicos erróneos.

Resultados:

Muestra de 209 pacientes: 51% hombres y 49% mujeres. Edad media de: 75,6 años los hombres y 78,7 años las mujeres.

- 86 (%) pacientes independientes.
- 53 (%) pacientes dependientes.
- 26 (%) pacientes no colaboraron.
- 44 (%) pacientes no respondieron.

De los 86 pacientes independientes: el 57% eran hombres y el 43%, mujeres. Edad media de 74,6 los hombres y 72,8 años las mujeres.

- Resultaron Adherentes al tratamiento: 80,30%.
 - Morisky + Batalla = 42,02%.
 - Morisky = 56,20%.
 - Batalla = 1,44%.

De estos, realizaban:

- Una toma diaria del ACOD: 56,52%.
- Dos tomas diarias: 43,47 %.

De los 53 pacientes dependientes: el 33,3% eran hombres y 66,6% mujeres. Edad media de 83,4 años los hombres y de 81,9 años las mujeres.

- Adherentes a Morisky 88,67%.
 - Una toma diaria: 53,19%.
 - Dos tomas diarias: 46,8%.
- No adherentes: 11,32%.

Pendiente de estudio estadístico.

Discusión: Coincidimos con los autores consultados en la importancia de la adherencia terapéutica para la calidad de vida, resultados clínicos y sanitarios y que el test de Morisky es el de mayor valor predictivo positivo.

Conclusiones:

1. La mayoría de los pacientes independientes y en tratamiento con ACOD por F.A son adherentes a su tratamiento.
2. La mayor parte de los pacientes adherentes a tratamiento realizan una toma al día, aunque la diferencia no es estadísticamente significativa.
3. La mayoría de los pacientes dependientes y en tratamiento con ACOD son adherentes a su tratamiento.
4. La mayor parte de los adherentes al tratamiento realizan una toma al día, aunque la diferencia no es estadísticamente significativa.
5. Todos los sanitarios deberían incluir en su práctica clínica los test de adherencia terapéutica.

PC-414 Ajuste de dosis de heparinas de bajo peso molecular (HBPM) en edad pediátrica

Sevillano Ruiz-Mateos C., Yera Cobo M., de Cos Hör M. C.

Hospital Universitario Puerta del Mar. Cádiz

Introducción: La enfermedad tromboembólica venosa (ETEV) en los niños es una enfermedad poco prevalente comparada con los adultos. Sin embargo, su incidencia está aumentando en los últimos años.

Las indicaciones de tratamiento están fundamentalmente basadas en los datos disponibles en la población adulta, aunque hay cada vez más estudios orientados a conocer mejor esta enfermedad en los niños para su mejor manejo dadas las graves secuelas que pueden derivarse de un tratamiento subóptimo.

Los fármacos más frecuentemente utilizados son Heparina no Fraccionada (HNF), Heparinas de bajo peso molecular (HBPM) y antagonistas de la Vitamina K (AVK), siendo la HBPM la más frecuentemente utilizada por su fácil administración y monitorización, entre otras ventajas.

En el caso de la Enoxaparina las guías recomiendan dosis terapéutica de 1,5 mg/kg/12 h en < 2 meses y 1 mg/kg/12 h en > 2 meses y dosis profiláctica de 0,75 mg/kg/12h en < 2 meses y 0,5 mg/kg/12h en > 2 meses. Los niveles terapéuticos de anti-X activado (aXa) recomendados en las guías son 0,5-1 UI/mL y 0,1-0,3 UI/mL en profilaxis, en muestra extraída a las 4-6h de su administración.

Objetivo: Analizar la dosis de HBPM con la que los pacientes pediátricos de nuestro centro alcanzan niveles de aXa adecuados.

Material y métodos: Estudio observacional y retrospectivo de la dosis de HBPM profiláctica y terapéutica que precisan los pacientes pediátricos de nuestro hospital, en los últimos tres años, para alcanzar rango aXa adecuado.

Se tomaron como referencia las dosis de HBPM profilácticas y terapéuticas indicadas en ficha técnica según la edad del paciente. Los niveles óptimos de aXa los elevamos para profilaxis a 0,2-0,4 UI/mL y para terapéutica a 0,6-1UI/mL.

Resultados: Hemos recogido los datos de 12 pacientes (6 niñas/6 niños) anticoagulados con HBPM y de edad entre 11 días-5 años. 10 pacientes recibían HBPM terapéutica y 2 HBPM profiláctica. El 25% de los pacientes no alcanzaron nunca aXa adecuado (edad 2-24 meses).

Del 75% de pacientes que alcanzaron niveles de aXa correctos, sólo un 11,1% (1 niño de 5 años) lo hizo a la dosis indicada en ficha técnica. El resto (88,9%) requirieron dosis superiores de HBPM. Estas dosis fluctuaron en función de la edad de los pacientes:

- HBPM terapéutica.
 - < 2 meses (3 niños): 1,83-2,3. Media 1,99, que es un 32,66% más de la dosis indicada en ficha técnica.
 - 2-24 meses (3 niños): 1,2-1,66. Media 1,40, que representa un 40% más de la correspondiente según ficha técnica.
- HBPM profiláctica.
 - 2 niños (9 y 10 años): 0,66-0,8. Media 0,73, que es un 46% más que lo indicado en ficha técnica.

Conclusiones:

1. Si bien nuestra muestra es muy pequeña, los resultados obtenidos vienen a refrendar lo ya descrito en otros estudios y es que los niños, al menos hasta los 2 años de edad, requieren dosis más elevadas de HBPM para alcanzar rangos óptimos de aXa.
2. Dado que la incidencia de ETEV en la población pediátrica está aumentando y que es fundamental la precocidad de un tratamiento adecuado, para evitar consecuencias graves en una población especialmente frágil, se necesitan estudios bien diseñados en niños con un tamaño muestral adecuado para poder establecer las pautas correctas de HBPM terapéutica y profiláctica.

PC-415 Manejo y uso de complejo protrombínico. Experiencia de un centro

Millacoy Austenrritt D. P., Torres López A., Galicia Flores T., Coll Vallier J., Areizaga Atela N., Paloma Mora M. J., Redondo Izal M., Aznar Moreno. M. V., Gómez Arteta E., Signes Fort B., Quispe Cuba E. I., Zabalza San Martín A., Alburquerque Prieto C., Sánchez Iglesias J. M., Sarobe Carricas M.

Complejo Hospitalario de Navarra. Pamplona

Introducción: Los pacientes con coagulopatías, tanto secundarias a patologías como a anticoagulación oral, entre ellos los más frecuentes anti vitamina K (AVK) y en aumento los anticoagulantes de acción directa (ACOD) suelen presentar complicaciones hemorrágicas o necesitar reversión rápida para maniobras invasivas con bastante frecuencia. Históricamente se disponía únicamente de plasma fresco congelado y vitamina K con sus riesgos y complicaciones. En los últimos años el complejo protrombínico (CCP) ha sustituido en gran medida a estos tratamientos por su eficacia y

celeridad, pero aún existe una incertidumbre sobre el riesgo trombótico con el uso del CCP.

Métodos: Estudio retrospectivo observacional de un grupo de 363 pacientes del Complejo Hospitalario de Navarra desde julio del 2013 a diciembre del 2017 en los que se ha pautado CCP. Las variables estudiadas son: características de los pacientes, indicación, servicio peticionario, dosis utilizadas, evento trombótico posadministración de CCP, si la causa motivó un cambio de anticoagulación posterior.

Resultados: En la población estudiada la media de edad fue de 77,4 años (25-100), el 62,8% fueron hombres. La media de seguimiento de los pacientes fue de 18 meses. El 20,1% de los pacientes recibió CCP por traumatismo craneoencefálico (TCE) con sangrado cerebral, pero un 34,1% no se asociaban a TCE. La segunda causa fue el sangrado digestivo con un 14,3% de los pacientes. El 38,6% de su administración fue indicada por el Servicio de Urgencias, seguido de Neurología con un 20,7%. El 90,4% de los pacientes se encontraba anticoagulados, de ellos un 79,9% estaban con AVK, en segundo lugar, con un 10,2% con ACOD. De los pacientes anticoagulados la causa más frecuente era la fibrilación auricular (87,4%). La dosis utilizada varía entre 500-3500 UI, ajustada a peso (40-150) y a INR (1-20). El 100% de los pacientes no presentó evento trombótico ni exitus asociado con CCP. De los pacientes que posteriormente se recuperaron y fueron alta hospitalaria y se les reintrodujo el tratamiento anticoagulante, un 44,4% era un nuevo tratamiento, un 34,4% cambio a un ACOD con AVK previo. De los ACOD, el más pautado fue Apixaban con un 21,7%.

Conclusión: El uso de CCP es cada vez más extendido en nuestro medio. En nuestra serie de casos no se observaron grandes complicaciones asociadas, siendo un fármaco rápido, eficaz y seguro. A pesar de que el CCP no está indicado en la reversión en los pacientes bajo tratamiento con ACOD, su uso es cada vez más frecuente, por la mayor prevalencia de estos, así como la falta de antídotos específicos.

PC-416 Eficacia y seguridad de ACOD (anticoagulantes orales de acción directa) en pacientes oncohematológicos en tratamiento con ibrutinib, agentes inmunomoduladores (IMiD), alquilantes o antraciclinas

Alkadi-Fernández N., Rodríguez Arbolí E., Montero I., Mezquita Romero L., Jiménez Bárcenas R., Núñez Vázquez R., de la Cruz F., Carrillo E., Martín J., Pérez-Simón J. A., Rodríguez-Martorell J.

Hospital Universitario Virgen del Rocío. Instituto de Biomedicina (IbiS). Universidad de Sevilla. Sevilla

Introducción: El riesgo de desarrollar enfermedad tromboembólica venosa (ETE), es de 4 a 6,5 veces mayor en pacientes con neoplasias malignas. Además, este riesgo aumenta con el uso de algunos tratamientos (TTO) antineoplásicos como IMiD. El riesgo defibrilación auricular (FA), es el 20% superior en pacientes

oncológicos, debido a comorbilidades, efecto tumoral directo o toxicidad de TTO (efecto adverso descrito con Ibrutinib). Siendo más complejo en estos pacientes el TTO antitrombótico, debido a mayor riesgo de complicaciones trombóticas/hemorrágicas, e interacciones farmacocinéticas. Aunque la heparina de bajo peso molecular (HBPM), aún se considera la terapia anticoagulante estándar para la prevención y TTO de trombosis asociada a cáncer, el uso de ACOD puede suponer una terapia alternativa. Sin embargo, los pacientes con cáncer han representado un bajo porcentaje en los estudios pivotaes con ACOD.

Objetivo: Evaluar el perfil de seguridad y eficacia de ACOD para profilaxis primaria y secundaria de ETEV, en pacientes con mieloma múltiple (MM), leucemia linfática crónica (LLC) y linfoma del manto (LM), que reciben TTO con Ibrutinib, IMiD, alquilantes o antraciclinas.

Métodos: Estudio retrospectivo realizado en un Hospital de tercer nivel, desde marzo/2017 hasta mayo/2018. Se han incluido de forma consecutiva 8 pacientes con hemopatías malignas en TTO concomitante con ACOD, y agentes antineoplásicos. Para valorar la eficacia se ha revisado la incidencia de episodios trombóticos. La seguridad se valoró en función de incidencia de episodios hemorrágicos y toxicidad.

Resultados: Se evaluaron 8 pacientes, 2/8 mujeres (25%), mediana de edad global 70 años (61-82) (Tabla I). Pacientes reclutados: 4 MM en TTO con Lenalidomida, Bortezomib, Pomalidomida, Ciclofosfamida y Antraciclinas (algunos más de una línea de tto concomitante con un ACOD); 2 LLC y 2 LM en tto con Ibrutinib (dosis ajustadas a ficha técnica). Motivo anticoagulación: FANV (FA no valvular) permanente, sólo 1 caso (1/8) debut FA por toxicidad de Ibrutinib en paciente con LM (antecedentes: ICTUS, TEP y TVP relacionado con neoplasia), y 1 caso (1/8) TVP femoropoplítea derecha recurrente (TVP en paciente con Lenalidomida, tratado con HBPM 18 meses, tras cambio por aspirina 100 mg/24 h, recidiva TVP). Todos los pacientes recibieron profilaxis tromboembólica con ACOD: 5 Apixabán (dosis: 2 pacientes 2,5 mg/12 h; 3 pacientes 5 mg/12 h), 1 Rivaroxabán (15 mg/24h), 1 Edoxabán (30 mg/24 h), 1 Dabigatrán (150 mg/12 h). Mediana de seguimiento 5 meses (2-12). No se observaron complicaciones trombóticas desde inicio de ACOD. Se registró un caso (1/8) de hemorragia alveolar en un paciente con LM en progresión, quimiorrefractario, en TTO con Ibrutinib y Apixabán 2,5 mg/12 h (seguimiento 2 meses; *éxitus* por fracaso multiorgánico). En total 2/8 *éxitus*, relacionado con progresión de enfermedad. Solo 1 caso (1/8) precisó reducción de dosis de Edoxabán a 30 mg/h por insuficiencia renal moderada previo a diagnóstico de MM, sin necesidad de suspender el ACOD posteriormente. Sólo 1 caso (1/8) MM en TTO con Lenalidomida, tras mejorar la función renal se aumentó dosis de Rivaroxabán a 20 mg/2 4h sin complicaciones. Se detectó buena adherencia a TTO y buen perfil de tolerancia.

Conclusiones: En nuestra experiencia, la administración de Ibrutinib, IMiD, o quimioterapia concomitante al tratamiento con ACOD en pacientes con hemopatías malignas, se muestra segura y eficaz. Los ACOD pueden representar una alternativa de profilaxis de ETEV en pacientes oncohematológicos en TTO activo. Son necesarios estudios prospectivos para definir el perfil de pacientes que más se podrían beneficiar del tratamiento con ACOD.

Tabla I. Características basales de los pacientes

Sexo	Edad (Años)	Hemopatía	Motivo anticoagulación	Tipo ACOD	Tratamiento concomitante	FG (ml/min)	Tiempo de seguimiento (meses)	Ajuste de dosis	Complicaciones hemorrágicas / trombóticas	Éxito
H	69	MM	Recidiva TVP	Rivaroxaban 15 mg/24 h	Lenalidomida	54	10	Rivaroxaban 20 mg/12 h ¹	No	No
M	82	MM	FANV*	Edoxaban 30 mg/24 h	Ciclofosfamida	47	5	No	No	No
M	79	MM	FANV	Apixaban 2,5 mg/12 h	Lenalidomida	51	2	No	No	No
H	72	MM	FANV	Dabigatran 150 mg/12 h	Lenalidomida Pomalidomida Bortezomib Adriamicina	75	12	No	No	Sí
H	76	LM	FANV	Apixaban 5 mg/12 h	Ibrutinib	51	5	No	No	No
H	68	LM	ICTUS, TVP, TEP, FANV	Apixaban 2,5 mg/12 h	Ibrutinib	50	2	No	Hemorragia alveolar	Sí
H	61	LLC	FANV	Apixaban 5 mg/12 h	Ibrutinib	74	2	No	No	No
H	65	LLC	FANV	Apixaban 5 mg/12 h	Ibrutinib	73	7	No	No	No

*FANV: fibrilación auricular no valvular.

¹Tras recuperación y estabilidad de función renal (FG > 60 ml/min) se aumenta dosis Rivaroxaban 20 mg/24 h.

PC-417 Anticoagulantes orales de acción directa en la vida real. Experiencia de un centro durante el año 2017. MGJ-API-2018-01

Gabilondo Jalón M.¹, Loza Aguirre J. Á.¹, Pereda Vicandi Á.¹, Cuevas Palomares L.¹, de Miguel Sánchez C.¹, Díez Angulo R. A.¹, Menchaca Echevarria C.¹, Méndez Navarro G. A.¹, Mendizábal Abad A.¹, Oizatzabal Ormategi I.¹, Pérez Persona E.¹, Robles de Castro D.¹, Rodríguez Eleta F.¹, Santamaría López A.¹, Tejero Fernández A.², Unamunzaga Cilaurren A.¹, Vega González de Viñaspre A.¹, Guinea de Castro J. M.¹

¹Organización Sanitaria Araba. Vitoria. ²Facultad de Medicina. Universidad del País Vasco

Introducción: Los anticoagulantes orales de acción directa (ACOD) han supuesto un antes y un después en el mundo del tratamiento anticoagulante. Los estudios pivotaes demostraron ser comparables en eficacia antitrombótica con la warfarina y con un menor riesgo de hemorragia intracraneal. A pesar de las grandes ventajas de los ACOD, la evidencia científica existente y experiencia clínica acumulada desde su inclusión en el mercado justificarían la necesidad de realizar un seguimiento en vida real de estos pacientes.

Objetivo: Evaluar la incidencia de complicaciones ocurridas en pacientes tratados con ACOD por fibrilación auricular no valvular (FANV), según el fármaco y la dosis administrada; así como la adherencia y su correcta dosificación.

Material y método: Estudio observacional y retrospectivo, aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica de Álava, y

clasificado y codificado por la AEMPS como MGJ-API-2018-01. Se registraron un total de 141 pacientes en tratamiento con ACOD por FANV desde enero de 2017 hasta enero de 2018. Se realizaron entrevistas a los pacientes durante un año (visita de inicio, a los 3, 6 y 12 meses de su inclusión) y los datos fueron recogidos en un formulario digitalizado elaborado específicamente e incluido en su historia clínica informatizada.

Resultados: De los 141 pacientes estudiados, 77 fueron hombres (54,6%). La media de edad fue de 77,28 años, siendo el 61% de la muestra mayor de 75 años. El riesgo trombotico (CHA₂DS₂-VAS₂) tuvo una mediana de 4 puntos, cifra muy superior a la de los estudios pivotaes. El 39,7% de los pacientes tenían antecedente de ictus y un 38% sufrían algún grado de insuficiencia renal. Hasta un 21,3% de los pacientes recibía una dosis de ACOD inadecuada según criterios de Ficha Técnica. La adherencia terapéutica, medida como recogida del fármaco en farmacia, fue del 99,25%. Se produjeron un total de 36 complicaciones: 19 casos fueron sangrados leves y 5 casos fueron sangrados relevantes. Como eventos tromboembólicos, 3 pacientes sufrieron un ictus. Se registraron 4 casos de intolerancia, todas en pacientes con Dabigatran. Aunque el diferente tamaño muestral en los diferentes grupos de ACOD ha dificultado su comparación, no se demostraron diferencias significativas entre los fármacos y las complicaciones ocurridas ($\chi^2=5,096$; $p = 0,165$) ni se obtuvo una correlación significativa entre la dosificación y la incidencia de complicaciones ($\rho = 0,109$). A lo largo del año se realizaron 19 intervenciones, 11 procedimientos (57,9%) de bajo riesgo hemorrágico y 8 (42,1%) de alto riesgo. En todos se procedió a la suspensión del ACOD según el protocolo perioperatorio establecido en el centro y únicamente

se documentó un caso de hemorragia que precisó soporte transfusional; el resto no sufrió complicaciones y se pudo reintroducir el ACOD postintervención como correspondía.

Conclusiones: La población estudiada en vida real fue más anciana y de mayor riesgo trombótico que la incluida en los estudios pivotaes, con una tasa de complicaciones esperable atendiendo a su perfil clínico. De las 36 complicaciones registradas, 24 fueron hemorrágicas (66,7%) y 3 ictus (8,3%), sin objetivarse diferencias significativas entre los distintos ACOD. La adherencia terapéutica fue muy alta, pero se registró hasta un 16,3% de pacientes infra-tratados, similar a lo evidenciado en la literatura; demostrando así que el seguimiento médico del paciente anticoagulado con ACOD podría optimizar su manejo y ofrecer una asistencia médica de calidad.

PC-418 Perfil de seguridad de los anticoagulantes orales de acción directa (ACOD) en pacientes con cáncer activo y fibrilación auricular no valvular (FANV): experiencia de la unidad de terapia anticoagulante oral (TAO)-Tromboonco del Hospital Universitari Vall d'Hebron

Cerdá M., Johansson E., Cerezo-Manchado J. J., Fernández M., Martínez M. F., Martín L., Bosch F., Santamaría A.

Hospital Vall d'Hebron. Barcelona

Introducción: El tratamiento antitrombótico para la prevención del ictus en la FANV en pacientes oncológicos es controvertido. Las heparinas de bajo peso molecular (HBPM) siguen siendo el tratamiento de elección en pacientes con cáncer, a pesar de no tener indicación en FA. Por otro lado, la seguridad de los ACOD en esta indicación no está bien determinada. En este sentido, recientemente se han publicado dos estudios que comparan dos ACOD (Edoxaban y Rivaroxaban) frente a Dalteparina en el tratamiento de la trombosis venosa asociada a cáncer. Aunque los ACOD parecían ser más eficaces en la prevención de las recurrencias, se observaba un mayor riesgo de hemorragia, sobre todo a nivel digestivo.

Objetivo: El objetivo de este estudio es analizar la seguridad del tratamiento antitrombótico en pacientes oncológicos con FANV en nuestra Unidad TAO-Tromboonco.

Métodos: Se llevó a cabo en estudio prospectivo desde noviembre de 2011 a diciembre de 2017 donde se analizaron pacientes referidos desde el Servicio de Oncología y la Unidad de Cardioonco del Hospital Vall d'Hebron. La información de los pacientes se recogió en un registro único que incluía datos demográficos, clínicos y de la enfermedad oncológica de base, así como el tipo de tratamiento anticoagulante y definición del sangrado según los criterios de la ISTH 2005. Los pacientes dieron su consentimiento para participar en el estudio.

Resultados: Durante este periodo, se incluyeron 168 pacientes con FANV y cáncer activo (< 2 años desde la remisión completa). Los tratamientos anticoagulantes fueron ACOD en 111 pacientes (12 Dabigatran, 39 Rivaroxaban, 45 Apixaban y 15 Edoxaban) y

Tabla I. Incidencia de hemorragia en los 2 grupos

	ACOD (%)	HBPM (%)
Hemorragia	18 (16)	10 (18)
<i>Tipo de hemorragia</i>		
Menor	10 (56)	2 (20)
Relevante	6 (33)	7 (70)
Mayor	2 (11)	1 (10)
<i>Localización de la hemorragia</i>		
Mucosas	3 (17)	2 (20)
Digestiva	6 (33)	4 (40)
Urológica	7 (39)	4 (40)
Respiratoria	2 (11)	0
<i>Forma de la hemorragia</i>		
Epistaxis	3 (17)	2 (20)
Melenas	1 (6)	1 (10)
Rectorragia	5 (27)	3 (30)
Hematuria	7 (39)	4 (40)
Hemoptisis minor	2 (11)	0

Tabla II. Características de los pacientes que presentaron alguna hemorragia

	ACOD n = 18 (%)	HBPM n = 10 (%)
Sexo: hombres	15 (83)	7 (70)
CHAD2DSVASc media (rango)	3,7 (2-7)	3,8 (2-6)
HASBLED media (rango)	2,2 (1-4)	2,3 (1-4)
FG < 50	6 (33)	4 (40)
Hemorragia previa	7 (39)	3 (30)
Ictus previo	3 (17)	2 (20)
Antiagregación	3 (17)	2 (20)
<i>Enfermedad oncológica</i>		
Neoplasia hematológica	7 (39)	4 (40)
Neoplasia sólida	11 (61)	6 (60)
Colon/recto	3	3
Urotelial	3	1
Próstata	1	1
Mama	1	1
Pulmón	1	0
Hígado	1	0
ORL	1	0
Estadio avanzado	5 (28)	4 (40)
<i>Líneas de tratamiento</i>		
1 línea	8 (44)	4 (40)
2 líneas	5 (28)	1 (10)
3 líneas	1 (6)	3 (30)
4 líneas	2 (11)	0
5 líneas	0	0
No QT	2 (11)	1 (10)
QT durante el evento	12 (67)	9 (90)
<i>Estatus</i>		
Activa	9 (50)	7 (70)
RC	4 (22)	0
RP	0	1 (10)
EP	2 (11)	1 (10)
Estable	3 (17)	1 (10)

HPBM en 57 enfermos. El 57 % de los tratados con ACOD y el 74% de los pacientes con HBPM se encontraban con quimioterapia concomitante. Se observó hemorragia en 18 (16%) de los pacientes tratados con ACOD y en 10 (18%) de los que recibieron HBPM. No se observó ningún ictus ni embolia sistémica en ninguno de los grupos. Los datos sobre seguridad se muestran en la [tabla I](#); los datos clínicos de los pacientes que presentaron alguna hemorragia se detallan en la [tabla II](#).

Conclusiones: En nuestra serie de pacientes con FA y cáncer en tratamiento anticoagulante, los ACOD se mostraron efectivos y seguros en la prevención del ictus con un perfil similar al de la HBPM. La mayoría de las hemorragias observadas en el grupo de los ACOD fueron menores, mientras que el sangrado más frecuente fue en el tracto digestivo y urológico, en especial en pacientes con neoplasias hematológicas o tumores de colon y recto. Con todo lo anterior, se necesitan más estudios prospectivos para definir el mejor manejo del tratamiento anticoagulante en pacientes con neoplasias del tracto digestivo.

PC-419 Análisis del uso terapéutico de la heparina sódica en un hospital de tercer nivel

Salvador Rupérez E., Villalba Montaner M., García Ortego A., Pinzón Mariño S., Hernández Mata C., Martín-Consuegra Ramos S., Gómez Martínez A., Ferrer Garrido G., Fernández Mosteirín N., Calvo Villas J. M., Delgado Beltrán P.

Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza

Introducción: La heparina sódica (HEPNA) ha sido utilizada en el pasado como el anticoagulante angular en el tratamiento de pacientes con múltiples procesos patológicos. La HEPNA es un medicamento de alto riesgo por la probabilidad elevada de causar efectos adversos potencialmente graves cuando no se emplean correctamente. Es por ello recomendable establecer procedimientos que mejoren la seguridad de la utilización terapéutica de la HEPNA en pacientes hospitalizados. Actualmente no existen trabajos que evalúen el uso terapéutico de este fármaco en pacientes hospitalizados.

Objetivo: Analizar el empleo actual de la HEPNA como medicación anticoagulante en pacientes hospitalizados.

Pacientes y métodos: Estudio descriptivo y retrospectivo realizado en un periodo de 14 meses. Se analizan las características clínicas de los pacientes, el motivo de anticoagulación, los datos de laboratorio, el nivel de control de anticoagulación mediante TTPa, los servicios clínicos prescriptores del fármaco y las reacciones adversas.

Resultados: Se han estudiado 2.921 pacientes hospitalizados, de los cuales 205 han sido tratados con Heparina Sódica. 71 (34,63%) tenían insuficiencia renal previa al inicio del tratamiento. Ciento dos pacientes (42,76%) habían recibido anticoagulación previa: 98 pacientes (96,08%) Acenocumarol, 2 (1,96%) Warfarina, 1 (0,98%) Apixabán y 1 (0,98%) Dabigatrán. En 128 casos (62,44%) se ha utilizado la HEPNA como tratamiento de la patología aguda y en 77 (37,56%) como terapia puente peri-procedimiento quirúrgico y/o diagnóstico invasivo. En cuanto al

servicio peticionario, 110 (53,66%) solicitudes de tratamiento con HEPNA fueron prescritas por el servicio de Cirugía Vasculard, 42 (20,49%) Cardiología, 16 (7,80%) Cirugía Cardíaca, 10 (4,88%) Neumología, 7 (3,41%) Medicina Interna, 5 (2,44%) Digestivo, 4 (1,95%) Hematología, 3 (1,46%) Neurología, 3 (1,46%) Nefrología, 2 (0,98%) Neurocirugía, 1 (0,49%) Pediatría, 1 (0,49%) Oncología y 1 (0,49%) por el servicio de Urología. La mediana de días en tratamiento con HEPNA fue 4 días (rango: 1-94 días). La mediana de tiempo desde el inicio del tratamiento hasta alcanzar rango terapéutico fue 1 día (rango: 1-7 días). Nueve pacientes (4,39%) no alcanzaron rango terapéutico. La mediana de tiempo en rango terapéutico durante el tratamiento fue de 3 días (rango: 1-30 días). Tras el tratamiento, 39 pacientes (37,86%) sin anticoagulación previa requirieron continuar con anticoagulación. 29 pacientes (74,36%) acenocumarol, 8 (20,51%) con heparina de bajo peso molecular (HBPM) [3 (7,69%) enoxaparina, 5 (12,82%) Bemiparina], 1 (2,56%) rivaroxabán y 1 (2,56%) Apixabán. Se describen 20 complicaciones (9,76%) relacionadas con el tratamiento. 75 (36,59%) pacientes tenían indicación de tratamiento con HBPM a la prescripción.

Conclusiones: La HEPNA sigue siendo un anticoagulante ampliamente usado en nuestro hospital. El mayor uso de HEPNA se asocia al tratamiento de isquemia aguda de extremidades. Un tercio de los pacientes que han recibido HEPNA tenían también indicación de HBPM, prefiriendo en nuestro hospital el uso de HEPNA terapéutica. A pesar del control clínico y biológico del tratamiento con HEPNA se describieron un 10% de reacciones adversas.

PC-420 Datos de vida real en tratamiento con edoxabán

García Ruiz María A.¹, Rivas Luque M.¹, Romero García P.², Salas Camacho G.¹, Carmona Pareja J. M.¹, Benavides González-Rivera M.¹, Palomeque Lizana C.¹, Jurado Chacón M.¹

¹Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada. ²Unidad de Cuidados Intensivos. Complejo Asistencial de Soria. Soria

Introducción: La fibrilación auricular (FA) se asocia con riesgo de accidente cerebrovascular isquémico. La anticoagulación oral es un tratamiento bien establecido para prevenir accidentes cerebrovasculares en pacientes con riesgo de moderado a alto. Los anticoagulantes orales no antagonistas de la vitamina K (NOAC) se han recomendado como alternativas a la Anti-Vitamina K (AVK) para la prevención del accidente cerebrovascular en pacientes con FA no valvular (FANV) y trombosis venosa profunda (TVP). Edoxaban (Lixiana®, Daiichi-Sankyo) es un factor Xa directo, reversible y directo. La dosis consiste en 60 mg / 24 h y 30 mg / 24 h (dosis reducida).

Objetivos: *Objetivo primario:* evaluar la eficacia de Edoxaban en la prevención del ictus y embolia sistémica. *Objetivo secundario:* evaluar la seguridad, en función de la hemorragia mayor más grande definida según los criterios de la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia.

Material y métodos: Este es un estudio descriptivo. Hemos incluido un total de 211 pacientes con FANV (199 pacientes) y TVP (12 pacientes) hasta diciembre de 2017. La media de CHA₂DS₂-VASc de los pacientes estudiados fue de 3,74 en la población total y 4,18 en la población de dosis reducida. La media de HAS-BLED de los pacientes estudiados fue de 3,01 en la población total y 3,25 en la población de dosis reducida. Hemos incluido 163 casos con dosis de 60 mg / 24 h y 48 casos con una dosis de 30 mg / 24 h (22,7% del total de pacientes. Fueron aproximadamente 109 mujeres (51,66%) y 102 hombres (48,34%), con edades comprendidas entre 42 y 95 años (edad media 72,5). La razón principal de suspensión de AVK y reemplazo por Edoxaban fue un control deficiente de INR (199 pacientes) y hemorragia (12 pacientes). Del total de pacientes incluidos, 41 habían presentado un accidente cerebrovascular previo bajo tratamiento con AVK. El tiempo de tratamiento ha sido de entre 3 y 13 meses, con un promedio de 7,65 meses de seguimiento.

Resultados: No se ha reportado ningún caso de accidente cerebrovascular, embolia sistémica o comorbilidad durante el tiempo de seguimiento de los pacientes tratados. Solo un caso de sangrado no importante clínicamente relevante (sangrado rectal) que requirió cambio a otro NOAC. Un caso de pequeño hematoma en un paciente tratado con una dosis de 60 mg / 24 h que tenía un aclaramiento de creatinina de 44 ml / min, por lo que la dosis se redujo a 30 mg / 24 h. Un paciente presentó hemoptisis autolimitada que no requirió la suspensión del tratamiento. Un paciente con un hematoma subdural, después de una lesión cerebral traumática, cuyo tratamiento se suspendió. Durante el estudio, a un paciente se le diagnosticó cáncer de pulmón y se le suspendió el tratamiento anticoagulante, y se reemplazó por heparina de bajo peso molecular. El paciente murió más tarde por esta patología oncológica. Tres pacientes fallecieron por enfermedad respiratoria (influenza e insuficiencia respiratoria), sin estar relacionados con la medicación anticoagulante.

Conclusión: Los resultados obtenidos confirman la eficacia y la seguridad de Edoxaban en la prevención del accidente cerebrovascular en el NVAf y la TVP. Esta es una buena muestra de 211 pacientes y más de siete meses de seguimiento, a pesar del corto período de tiempo desde la aprobación del uso de la droga en nuestro país (18 meses). Los resultados respaldan los resultados de los ensayos. Creemos que existe una buena alternativa a la anticoagulación oral en pacientes con FANV con eficacia en la prevención de ictus y embolia sistémica, y con un buen perfil de seguridad con un beneficio clínico neto a expensas principalmente de la ausencia de hemorragia. Los estudios posteriores proporcionarán confirmación de datos.

PC-421 Experiencia en la vida real de tratamiento antitrombótico con anticoagulantes orales de acción directa: datos clínicos y analíticos; niveles guiados por antiXa

Fernández Docampo M.¹, Fraga Laredo P.²,
Gómez del Castillo Solano M. C.¹, Costa Pinto Prego Faria M. J.¹,
López Fernández M. F.¹

¹Xerencia de Xestión Integrada de A Coruña (XXIAC). A Coruña. ²Facultad de Medicina. Universidad de Santiago de Compostela. Santiago de Compostela.

Introducción: Los anticoagulantes orales de acción directa (ACOD) son fármacos con dosis fija, con escasas interacciones medicamentosas y que no precisan monitorización rutinaria. Los estudios pivotaes que permitieron su aprobación incluyen pacientes muy seleccionados, con escasas comorbilidades y existen pocas evidencias científicas acerca de la monitorización de los mismos incluso en situaciones especiales.

Objetivos: a) Evaluación de las características de los pacientes que inician tratamiento con ACOD (Rivaroxaban o Apixaban) en una consulta de tratamiento anticoagulante; b) Evaluación de los eventos trombóticos y hemorrágicos durante el periodo de seguimiento; y c) Estudios de hemostasia secundaria tradicional (TP, TTPA, TT, fibrinógeno) y niveles de fármaco (Rivaroxaban o Apixaban) guiados por antiXa extraídos de manera rutinaria previo a la toma del fármaco (VALLE) y a las 2 horas de la misma (PICO).

Material y métodos: Entre enero de 2015 y diciembre de 2017, se recogieron datos de todos los pacientes que iniciaron tratamiento con ACOD (Rivaroxaban o Apixaban): motivo de anticoagulación, edad, función renal y hepática, riesgo trombótico y hemorrágico Al mes, 3 meses, 6 meses y 12 meses de inicio del fármaco se realizaba una analítica VALLE (previo a toma del fármaco) y una analítica PICO (a las 2 horas de la toma del fármaco), incluyendo función renal, parámetros coagulativos clásicos y niveles guiados por antiXa. Para la realización de estos niveles se utilizó coagulómetro ACL-TOP 700-LAS, antiXa líquido y calibradores específicos para Apixaban y Rivaroxaban de Instrumental Laboratory.

Resultados: Se incluyeron en el estudio 182 pacientes (98% pacientes con FA no valvular) remitidos a la consulta para inicio/cambio de anticoagulación. 116 pacientes (64,4%) recibieron tratamiento con Rivaroxaban; 66 pacientes (36,3%) recibieron tratamiento con Apixaban, la mediana de edad fue de 75 años y 55% mujeres. Rama Rivaroxaban (Tabla I) 2 pacientes perdieron seguimiento, por lo que se analizaron datos de 114 pacientes. Se produjeron 13 complicaciones hemorrágicas: 6 hemorragias menores, 7 hemorragias mayores: 2 hemorragias intracraneales post-traumáticas, 1 hemorragia intraparenquimatosa cerebeloso espontáneo, 3 hemorragias digestivas asociadas a poliposis y 1 metrorragia asociada a cáncer de vulva. Se produjeron 3 complicaciones trombóticas: 3 ictus, 1 de ellos con transformación hemorrágica. Rama Apixaba (Tabla II): se analizaron datos de 64 pacientes. Se produjeron 7 episodios hemorrágicos menores y 1 hemorragia mayor (ninguna hemorragia intracraneal).

Conclusiones:

1. La población real anticoagulada con Rivaroxaban y Apixaban en nuestro medio está más envejecida, con mayores comorbilidades y con mayor riesgo tanto hemorrágico como trombótico. A pesar de ello, nuestros pacientes se benefician del cambio de AVK a ACOD. La información, educación e implicación en la toma de decisiones de los pacientes incrementan la adherencia a la anticoagulación.
2. Los test de coagulación clásicos no son adecuados para monitorización.

Tabla I	
Rivaroxaban (n = 114 pacientes)	
Datos clínicos	
CHA2DS2VASC	Mediana 4 ≥ 3: 82,7% pacientes
HAS-BLED	Mediana 3 ≥ 3: 80% pacientes
Motivo de anticoagulación	FANV 96,5% ETV 2,6% Otros: 0,9%
Filtrado glomerular (ml/min)	Mediana 60. < 30: 1% 30-50: 6% > 50: 93%
Dosis Rivaroxaban	20 mg: 82% 15 mg: 18%
Estudio coagulación	
Valle (mediana) (previo a toma del fármaco)	PICO (mediana) (2 horas de toma del fármaco)
TP 1,01	TP 1,67
TTPA 1,1	TTPA 1,4
TT 1	TT 1
Fibrinógeno 333	Fibrinógeno 323
antiXa 14 (rango 0-495)	antiXa 197,5 (18-783)

Tabla II	
Apixaban (n = 64 pacientes)	
Datos clínicos	
CHA2DS2VASC	Mediana 4 ≥ 3: 90,5% pacientes
HAS-BLED	Mediana 3 ≥ 3: 76,2% pacientes
Motivo de anticoagulación	FANV 98%. ETV 2%
Filtrado glomerular (ml/min)	Mediana 50 < 30: 1,5% 30-50: 21% > 50: 77,5
Dosis Apixaban	5 mg/12 h: 67% 2,5 mg/12 h: 33%
Estudio coagulación	
Valle (mediana) (previo a toma del fármaco)	PICO (mediana) (2 horas de toma del fármaco)
TP 1,18	TP 1,365
TTPA 1,07	TTPA 1,15
TT 1,02	TT 1,04
Fibrinógeno 325	Fibrinógeno 320
antiXa 127,4 (21,2-416).	antiXa 214,6 (82,4-571).

3. Los niveles de antiXa no están indicados para monitorización rutinaria. Existe una gran variabilidad entre los parámetros obtenidos por lo que no parece que los rasgos preestablecidos en las publicaciones puedan ser puntos de corte para tomar decisiones que pudieran beneficiar a pacientes anticoagulados con estos fármacos.

PC-422 Perfil de la hemorragia cerebral en pacientes anticoagulados: experiencia de un centro

Yacoubi S., González Carmona P., Padilla Conejo I.,
Martínez Robles V., Rodríguez García J. A.

Hospital de León. León

Introducción: Aunque los estudios demuestran un menor riesgo de hemorragia cerebral (HIC) en los pacientes anticoagulados con ACOD, los AVK continúan siendo la opción terapéutica preferente; por lo que es conveniente analizar sus características para seleccionar la opción más correcta.

Con una población de 345.000 habitantes, en nuestra área de salud hay 9.000 pacientes anticoagulados (7.000 con AVK y 2.000 con ACOD, proporción similar a la media nacional), siendo el 57% de los tratados con AVK de edad > 80 años.

Material y métodos: Hemos analizado el perfil de las 21 HIC diagnosticadas en un periodo de un año, 18 en pacientes con AVK y 3 con ACOD, con tasas de sangrado de 0,25% y 0,15% respectivamente. La mediana de edad fue de 79 años y la fibrilación auricular el motivo de anticoagulación más frecuente. En ningún caso la puntuación en las escalas HAS-BLED y SAME-TT2R2 fue superior a 2 puntos por lo que el tratamiento con AVK fue la opción elegida en 15 de los 18 casos, presentando un TRT óptimo (> 65%) el 77,7% de los casos.

Se detectaron 8 hemorragias subdurales (HS) y 10 intraparenquimatosas (HI), observándose ciertas diferencias en su perfil de presentación. La media de edad fue inferior en las HS (71,7 vs. 80,1 años) y también mostraron controles de anticoagulación previos más inestables (67% vs. 80% con TRT óptimo). La presencia de factores de riesgo desencadenantes del sangrado (traumatismo, crisis hipertensiva, malformación vascular...) fue significativamente más evidente entre los que desarrollaron HI (90% vs. 62,5%).

Resultados: El INR era normal en el momento del ingreso en el 56% del total, sin que se observasen diferencias por el tipo de hemorragia. Mientras que en las HI siempre hubo al menos un factor de riesgo identificable, el 25% de las HS mostraron un perfil de normalidad en el momento del sangrado (INR normal/bajo y ausencia de factores de riesgo hemorrágico identificables). Fueron hemorragias severas el 70% de las HI frente al 25% de las HS, traduciéndose también en una mayor tasa de mortalidad (40% vs. 12,5%).

Aunque el cambio a HBPM fue la norma al alta, en el plazo de 4 meses se reinició tratamiento con AVK en casi el 40% y únicamente en la mitad con ACOD, sin que se hubiesen observado nuevos episodios hemorrágicos tras 18 meses de seguimiento.

Conclusiones:

1. En consonancia con lo publicado, la tasa de hemorragia cerebral es mayor en los pacientes tratados AVK.
2. Aunque se trata de una pequeña serie de casos, observamos marcadas diferencias en el perfil de sangrado en función de su localización.
3. Mientras que en el 90% de las HI hubo factores desencadenantes del sangrado independientes del nivel de anticoagulación, en el 25% de las HS el perfil fue de completa normalidad.
4. Contrariamente a lo publicado, en el 40% se reinició tratamiento con AVK, no observándose nuevas complicaciones hemorrágicas; por lo que consideramos que el manejo debe ser individualizado.

PC-423 ACOD en la vida real en el Principado de Asturias

Avila Idrovo L. F., Caro Gómez A., Solé Magdalena A., Rodríguez Lorenzo L., Soto Ortega I., Martínez Carballeira D., Corte Buelga J. R., Bernardo Gutiérrez A.

Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo

Introducción: Los anticoagulantes orales de acción directa (ACOD) son agentes dirigidos contra el factor Xa o contra la trombina (IIa), tienen una farmacocinética predecible por lo que no se recomienda su monitorización salvo situaciones ordinarias. Sin embargo, es conocido que alteran las pruebas de hemostasia y es importante saber cómo interpretarlas en caso de hemorragia, episodio trombotico o ante una cirugía de urgencia y correlacionarlas con las pruebas específicas que miden la concentración del fármaco. En el mismo sentido es necesario el desarrollo de estudios en “nuestra” vida real que avalen los datos de los ACOD en sus pivotales y distintos estudios clínicos internaciones.

Objetivos: Comunicar la eficacia y seguridad de los ACOD en pacientes de Asturias, controlados en el Hospital Universitario Central de Asturias, durante un periodo de 2 años y comparar si estos datos se correlacionan con los ensayos clínicos/estudios vida real de cada uno de estos fármacos.

Pacientes y métodos: Se analizaron 350 pacientes que recibieron ACOD entre enero de 2015 y diciembre de 2017. 93 pacientes (26,6%) recibieron Rivaroxaban, 119 pacientes (34%) recibieron Dabigatrán y 138 pacientes recibieron Apixaban (39,43%). Se analizaron las variables de laboratorio como tiempo de protrombina (TP), tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa) y rango terapéuti-

co del fármaco, así como las complicaciones que se presentaron al tomar el fármaco: toxicidad, eventos hemorrágicos o tromboticos.

Resultados: Se evidenció un 2,6% de toxicidad con Dabigatrán, un 1,7% con Rivaroxaban y un 2,3% con Apixaban siendo más frecuente la alteración de la función hepática seguida de la trombopenia en los fármacos anti-xa. 61 pacientes (17,43%) presentaron hemorragia, de los cuales 6,29% corresponden a pacientes con Apixaban el 6% Rivaroxaban y 5,14% Dabigatrán, además se evidenció que el 1,43% de los pacientes con Dabigatrán y Rivaroxaban y el 1,02% con Apixaban desarrollaron episodios tromboticos. Cuando se analizaron los parámetros de laboratorio observamos que el 30,42% de los pacientes con Rivaroxaban no tenían rango terapéutico correcto del fármaco, en el caso de Dabigatrán este porcentaje fue del 7,62% y para Apixaban el 11,86% estaban fuera del rango terapéutico esperado. Respecto los tiempos básicos de la hemostasia, el ACOD que más alarga el TTPa fue el Dabigatrán (83,1%), y el TP el Rivaroxaban (55%). En el caso de Apixaban solo alarga el TP en el 24,6 % de los casos (Tabla I; Fig. 1).

Conclusiones: Los pacientes a tratamiento con Dabigatrán y Rivaroxaban evidenciaron una prolongación significativa de TTPa y TP, de lo que concluimos que estos fármacos modifican los parámetros de la coagulación por lo cual, además de los niveles terapéuticos del fármaco el TTPa, el TP serían de utilidad para sospechar la presencia o acumulaciones de estos fármacos y así evitar complicaciones hemorrágicas y tromboticas.

Respecto a la eficacia y seguridad de los ACOD se confirma respecto a los resultados de sus pivotales, así como estudios en vida real. Se evidencian tasas bajas de eventos tromboticos infe-

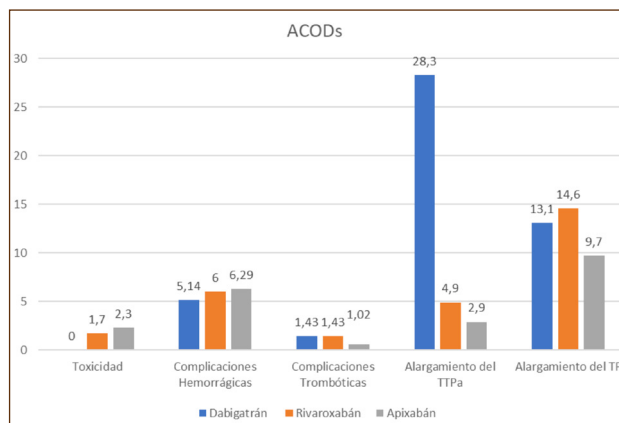


Figura 1. Porcentajes de complicaciones y parámetros analíticos en los diferentes ACOD.

ACOD	Pacientes en rangos terapéuticos	Alargamiento TP	Complicaciones hemorrágicas	Complicaciones tromboticas	Toxicidad
Dabigatran	92,38	38,65	15,13	4,20	7,56
Rivaroxaban	69,58	54,83	22,58	5,38	6,45
Apixaban	88,14	24,63	15,94	1,45	5,79
Total	81,52	37,42	17,43	3,43	6,28

riores al 2% y de complicaciones hemorrágicas totales inferiores al 7%, con los 3 ACOD analizados. Este estudio es relevante dado la escasa evidencia de datos en vida real en pacientes en España, en una población como la nuestra con sus propias peculiaridades (envejecida y con múltiples comorbilidades).

Es de vital importancia seguir incrementando el número de pacientes estudiados en nuestro entorno, para conocer mejor cómo se comportan los ACOD en nuestra verdadera vida real.

Bibliografía recomendada

1. Samuelson BT, et al. Laboratory Assessment of the Anticoagulant Activity of Direct Oral Anticoagulants: A Systematic Review. *Chest* 2017;151(1):127-38.
2. Lippi G, et al. Recent guidelines and recommendations for laboratory assessment of the direct oral anticoagulants (DOACs): is there consensus? *Clin Chem Lab Med* 2015;53(2):185-97.
3. Adcock DM, et al. Direct Oral Anticoagulants (DOACs) in the Laboratory: 2015 Review. *Thromb Res* 2015;136(1):7-12.
4. Gouin-Thibault I, et al. Assessment of apixaban plasma levels by laboratory tests: suitability of three anti-Xa assays. A multicentre French GEHT study. *T. Thromb Haemost* 2014;111(2):240-8.
5. Samuelson BT, Cuker A, Siegal DM, Crowther M, García DA. Laboratory Assessment of the Anticoagulant Activity of Direct Oral Anticoagulants: A Systematic Review. *Chest* 2017;151(1):127-38. DOI: 10.1016/j.chest.2016.08.1462

PC-424 Complicaciones hemorrágicas y trombóticas en pacientes con anticoagulantes de acción directa según el tipo de fármaco

Fernández Rodríguez M. I., Caro Gómez A., Soto Ortega M. I., García Gala J. M., Ávila Idrovo L. F., Solé Magdalena A., Rodríguez Lorenzo L., Bernardo Gutiérrez A.

Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo

Introducción: Los fármacos anticoagulantes orales de acción directa (ACOD), constituyen en la actualidad una atractiva alternativa a la anticoagulación clásica con derivados cumarínicos. Existen diferentes tipos de ACOD con distintas características farmacocinéticas y farmacodinámicas, además de un diferenciado mecanismo de acción (anti-IIa o Anti-Xa). Es de vital importancia disponer de estudios en vida real, en nuestro medio, que avalen la eficacia y la seguridad demostrada por estos anticoagulantes en sus estudios pivotales. Por otro lado, el conocimiento de cómo los ACOD alteran los tiempos básicos de la hemostasia (TTPa y TP), nos será fundamental para el correcto manejo de distintas situaciones clínicas susceptibles de acontecer en esta población anticoagulada.

Métodos: Se realiza un estudio retrospectivo seleccionando una muestra de 126 pacientes anticoagulados con ACOD pertenecientes al Hospital Universitario Central de Asturias del Área Sanitaria IV del Principado de Asturias. Se clasificaron los pacientes según el fármaco prescrito y la aparición de eventos trombóticos y /o hemorrágicos (complicaciones hemorrágicas mayores, complicaciones hemorrágicas menores y complicaciones trombóticas). Los fármacos fueron prescritos por los siguientes servicios por orden de frecuen-

cia: Hematología, Cardiología, Medicina Interna, Neumología y Cirugía Vasculat. Se analizó el efecto de cada ACOD sobre el alargamiento del tiempo de protrombina (TP) y del tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa) en el estudio básico de coagulación.

Resultados: Evaluando las complicaciones hemorrágicas según el fármaco prescrito se observa que el 17,9% del total de los pacientes anticoagulados con Rivaroxabán presentaron complicación hemorrágica, tratándose el 2,9% (2 pacientes) de hemorragias graves y el 15% de hemorragias leves. El 20,6% de los pacientes anticoagulados con Apixabán presentaron complicación hemorrágica, siendo hemorragias menores en su mayoría y un 2% de hemorragias mayores (2 pacientes). El 36% de los pacientes anticoagulados con Dabigatrán sufrieron complicación hemorrágica, siendo en 8 casos sangrados mayores. Cuando se evalúan las complicaciones trombóticas, el Apixabán es el fármaco con el que más frecuencia se presenta este efecto adverso, en el 8,8% (3 casos) de los pacientes. El 8% (2 pacientes) de los pacientes tratados con Dabigatrán sufrieron complicaciones trombóticas y en el caso de los pacientes tratados con Rivaroxabán, en el 6% (4 pacientes) de los mismos aconteció un episodio trombótico. No se detectó ninguna hemorragia intracraneal espontánea con ninguno de los fármacos. El fármaco que más frecuentemente alarga el tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa) es el Dabigatrán en el 76% de los sujetos que lo toman. Rivaroxabán tiene menos influencia en el alargamiento de este tiempo de la coagulación, produciéndose en el 25,4 % de los casos. Apixabán prácticamente no alarga este tiempo, sólo se da en un 14,7% de los pacientes anticoagulados con este ACOD. Si se analiza el efecto de los ACOD sobre el tiempo de protrombina (TP), es Dabigatrán el fármaco que más frecuentemente alarga este tiempo, en el 40% de los pacientes estudiados. Apixabán lo alarga en el 35% de los sujetos de nuestra población. El fármaco con menor impacto sobre el tiempo de coagulación de protrombina es el Rivaroxabán, estando elevado en el 25% de los casos.

Conclusiones: A la vista de los resultados obtenidos, se puede inferir que los tres ACOD analizados presentan un perfil de eficacia y seguridad similar y concordante con sus estudios pivotales. Respecto a las pruebas básicas (TP y TTPa) de la Hemostasia incluidas en el estudio básico de coagulación pueden ayudar a identificar pacientes tomadores de ACOD, e incluso a predecir bioacumulaciones del fármaco si se conocen los perfiles de alargamiento de tiempos típicos de cada fármaco.

PC-425 Experiencia en el uso de argatroban como alternativa de tratamiento anticoagulante en pacientes críticos con trombocitopenia inducida por heparina en nuestro centro

Salvador Rupérez E., Villalba Montaner M., Pinzón Mariño S., García Ortego A., Martín-Consuegra Ramos S., Gómez Martínez A., Hernández Mata C., Ferrer Garrido G., Calvo Villas J. M., Fernández Mosteirín N., Delgado Beltrán P.

Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza

Introducción: La heparina como tratamiento anticoagulante es un fármaco ampliamente utilizado. La complicación más frecuente derivada de su uso es la hemorragia. Sin embargo, un

efecto adverso poco frecuente pero potencialmente grave es la trombocitopenia inducida por heparina (TIH).

Objetivo: El objetivo del tratamiento de la TIH es reducir la activación plaquetaria y la formación de trombina para disminuir el riesgo de trombosis. El Argatrobán (inhibidor directo de la trombina) es el fármaco de elección en pacientes TIH como tratamiento anticoagulante alternativo en pacientes críticos y con elevado riesgo hemorrágico, posoperados cardíacos o con insuficiencia renal, ya que permite un control estrecho de la anticoagulación.

Pacientes y métodos: Estudio descriptivo y retrospectivo en el que se han analizado las características clínicas y de laboratorio de los pacientes que han estado en tratamiento con Argatrobán por TIH desde el 1 de junio de 2017 hasta el 1 de junio de 2018.

Resultados: 4 pacientes (2 mujeres y 2 hombres) han presentado TIH en el contexto de anticoagulación por cirugía de prótesis mitral, angina inestable, TVP en extremidad inferior derecha e isquemia aguda en extremidad inferior izquierda. 2 de ellos con HBPM, 2 con HNF. Mediana de edad 68 años (42-79). Todos fueron diagnosticados de TIH según el score 4T durante su ingreso en la Unidad de Cuidados Intensivos. La mediana de días desde el inicio del tratamiento con Heparina hasta la aparición de trombocitopenia fue de 6 días (2-11). Mediana nadir plaquetario 22000 (9000-43000). La mediana de días desde el inicio de Heparina hasta la realización de anticuerpos anti-complejo F4P/heparina fue de 9 días, resultandos positivos para los 4. Mediana desde el inicio de Argatrobán hasta la recuperación plaquetaria fue de 6 días (4-12). La mediana de duración de tratamiento con Argatrobán fue 9,5 días (2-18). El control y ajuste del tratamiento con Argatrobán fue realizado en base a los valores de ratio TTPa. 3 pacientes presentaron eventos trombóticos, 2 directamente relacionados con TIH (1 ictus isquémico y 1 isquemia aguda de extremidad superior derecha) y 1 con empeoramiento de reperusión de la extremidad. 2 pacientes requirieron amputación de la extremidad, en ambos casos se precisó suspensión del tratamiento anticoagulante con Argatrobán previo a la cirugía, reiniciándose tras la misma no presentando complicaciones trombóticas y/o hemorrágicas. Ninguno de los pacientes presentó complicaciones hemorrágicas relacionadas con el tratamiento con Argatrobán, 1 paciente falleció por shock séptico. 3 pacientes requirieron anticoagulación posterior con acenocumarol y 2 de ellos tratamiento antiagregante concomitante.

Conclusiones: Aunque poco frecuente, la TIH es una complicación grave del tratamiento con heparina asociada a una elevada morbilidad y secuelas invalidantes. El diagnóstico y tratamiento precoz son cruciales para el manejo de estas situaciones. Argatrobán es una opción anticoagulante segura y eficaz en pacientes con TIH, incluso en pacientes críticos inestables y en aquellos casos que precisan realización procedimientos quirúrgicos intercurrentes.

PC-426 Modificaciones en calidad de vida al paciente anticoagulado tras iniciar un programa de autocontrol con antivitaminas K. Resultados preliminares

De-Moya-Romero J. R.¹, Martí Sáez E.², Fornés Ferrer V.³, Martínez Sabater A.⁴, Ballestar Tarin M. L.⁴, Picon M. I.⁵

¹Departamento de Enfermería. Universidad de Valencia. Valencia. Hospital de Manises. Manises, Valencia. ²Hospital Clínico Universitario de Valencia. Valencia. ³Instituto de Investigación Sanitaria La Fe. Valencia. ⁴Departamento de Enfermería. Universidad de Valencia. ⁵Hospital de Manises. Manises, Valencia

Introducción: La utilización del autocontrol en pacientes con antivitaminas k en nuestro país es muy inferior al de otros países. La aparición de los anticoagulantes de acción directa pone en evidencia las diferencias en calidad de vida (CV) del paciente anticoagulado dependiente del fármaco utilizado. No existen estudios previos en nuestro medio de las modificaciones en calidad de vida previo y posterior a la inclusión de un programa de autocontrol en el paciente que está tratado con antivitaminas k.

Metodología: *Diseño:* EPA prospectivo. *Instrumentos:* se realizará un cuestionario autoadministrado diseñado *ad-hoc* para las variables sociodemográficas, junto con el cuestionario Sawicki para la CV. *Estimación de la muestra:* la estimación del tamaño muestral se hizo a través del paquete estadístico R, a través de los intervalos de confianza de la validación al castellano del cuestionario de Sawicki por Sánchez et al. *Instrumento:* el cuestionario de Sánchez et al. contiene 32 ítems que comprenden 5 dimensiones sobre la calidad de vida en paciente anticoagulado. Los participantes deberán de tipificar cada ítem en una escala likert de 6 opciones, que va de 1 (nada) a 6 (mucho). Cada dimensión se conforma de 4 a 10 ítems, estableciéndose 5: alteraciones de la vida social (AVS), limitaciones de la vida diaria (LVD), estrés, autoeficiencia, satisfacción. *Criterios de inclusión:* ser mayor de 18 años, mal control TAO con TRT < 60%, aceptar programa educativo firma de consentimiento informado. *Método estadístico:* Para las modificaciones en las diferentes dimensiones de la CV se realizó el método de regresión ordinal por medio del programa estadístico R. *Mediciones CV:* Basal, 6 meses y al año de realizar el programa educativo.

Resultados: Actualmente contamos con 88 pacientes en autocontrol en todo el departamento 23 de la Comunidad Valenciana, lo que supone un 2,2% del total de nuestra población anticoagulada. Solo se han analizado los cuestionarios de CV de 32 de ellos, aquellos que ya llevan más de un año dentro del programa. No se han realizado el análisis de variables de confusión como pueden ser datos sociodemográficos. Se muestran los resultados preliminares en calidad de vida solo por tiempo intra-sujeto de un proyecto más amplio. En cuanto a la satisfacción con el tratamiento las puntuaciones fueron una media y desviación típica de 2,68 (1,16), 1,91 (0,9) con una OR 0,216 e IC [0,084-0,599] en tiempo basal y a los seis meses de iniciar autocontrol respectivamente, exponiendo altas tasas de satisfacción con su tratamiento, mejorando en el tiempo para nuestro grupo de anticoagulados. Para las LVD las puntuaciones fueron una media y desviación típica de 2,6 (1,16), 2,01 (1,03) con una OR 0,216 e IC [0,09-0,56] en tiempo basal y a los seis meses de iniciar autocontrol respectivamente, indicando esta disminución en la puntuación una menor alteración para las LVD en nuestro grupo. En Autoeficiencia las puntuaciones fueron una media y desviación típica de 4,64 (1,13), 5,04 (0,85) con una OR 2,85 e IC [1,205-6,749] en tiempo basal y a los seis meses de iniciar autocontrol respectivamente, indicando un aumento favorable para el paciente (Tabla I).

Tabla I					
	Tiempo basal n = 32	Seis meses n = 32	OR [IC95%] p-value	Doce meses n = 32	OR [IC95%] p-value
Dimensión CV	Mean (SD)	Mean (SD)		Mean (SD)	
	Median (1. ^{er} , 3. ^o Q ₁)	Median (1. ^{er} , 3. ^o Q ₁)		Median (1. ^{er} , 3. ^o Q ₁)	
Satisfacción	2,68 (1,16) 2,5 (1,83, 3,25)	1,91 (0,9) 1,67 (1,33, 2,17)	0,216 (0,084-0,559) p = 0,002	1,95 (0,81) 1,67 (1,33, 2,42)	0,307 (0,12-0,79) p = 0,015
Autoeficiencia	4,64 (1,13) 4,75 (4,25, 5,25)	5,04 (0,85) 5 (4,75, 5,75)	2,851 (1,205-6,749) p = 0,017	4,95 (1,07) 5,25 (4,75, 5,75)	3,083 (1,25-7,62) p = 0,015
Limitaciones en la vida diaria	2,6 (1,07) 2,29 (1,86, 3,29)	2,01 (1,03) 1,71 (1,25, 2,64)	0,216 [0,09-0,56] p = 0,002	2,09 (1,04) 1,86 (1,43, 2,29)	0,307 (0,12-0,79) p = 0,015
Alteraciones Sociales	1,75 (0,9) 1,4 (1, 2,4)	1,7 (0,8) 1,4 (1,05, 2)	0,968 (0,407-2,303) p = 0,942	1,7 (1,01) 1,2 (1, 2)	0,611 (0,24-1,56) p = 0,303
Estrés	3,21 (0,99) 3,1 (2,55, 3,8)	3,17 (0,98) 2,9 (2,4, 3,8)	0,594 (0,245-1,436) p = 0,247	3,15 (0,98) 3,1 (2,4, 3,8)	0,517 (0,21-1,29) p = 0,156

Conclusiones:

1. La incorporación del paciente con antivitaminas k a un programa de autocontrol hace mejorar su CV a los 6 meses y al año.
2. La mejora de la CV se ve relacionada con la satisfacción con su tratamiento anticoagulante, la autoeficiencia para su manejo y una disminución de las limitaciones en su vida diaria.
3. No existen diferencias significativas para el estrés y las alteraciones sociales.
4. Estos resultados deben interpretarse con cautela, hasta completar la muestra del total de la población. Agradecer a Roche Diagnostics S.L por la donación de los equipos para formar este grupo de autocontrol.

Bibliografía recomendada

1. Navarro JL, César JM, Fernández MA, Fontcuberta J, Reverter JC, Gol-Freixa J, et al. Morbilidad y Mortalidad en pacientes con tratamiento anticoagulante oral. Rev Esp Cardiol 2007;60:1226-32.
2. Martínez-Brotos F, coordinador. Recomendaciones acerca del autocontrol del tratamiento anticoagulante oral Ambulatorio. En: Documento de consenso y posicionamiento oficial de la AEHH y SETH. Barcelona 2002. Disponible en: http://www.sehh.es/archivos/informacion_fehh_fondo_01.pdf Visitado el 13/10/2016
3. Reynolds MW, Fahrback K, Hauch O, Wygant G, estok R, Cella C, et al. Warfarin anticoagulation and outcomes in patients with atrial fibrillation: a systematic review and metaanalysis. Chest. 2004;126:1938-45.
4. Ageno W, Gallus As, Wittkowsky A, Crowther M, Hylek EM, Palareti G, et al. Oral anticoagulant therapy. Chest 2012;141(Suppl. 2):e44s-88.
5. Sharma P, Scotland G, Cruickshank M, Tassie E, Fraser C, Burton C, et al. Is self-monitoring an effective option for people receiving long-term vitamin K antagonist therapy? A systematic review and economic evaluation. BMJ Open 2015;5:5:e007758.
6. Granger CHB, Alexander JH, McMurray JJV, et al. for the ARIS-TOTELE Committess and Investigators. Apixabán versus warfarin in patients with atrial fibrillation. N Engl J Med 2011;365:981-92.
7. Connolly SJ, Wallentin L, et al. The long-term Multicenter Observational Study of Dabigatran treatment of Dabigatran Treatment in Patients with Atrial Fibrillation (RELY-ABLE Study). Circulation 2013;128:237-43.
8. Carles M, Brosa M, Souto JC, García-Alamino J, Guyatt G, Alonso-Coello P. Cost-effectiveness analysis of dabigatran and anticoagulation monitoring strategies of vitamin K antagonist. BMC Health Services Resesearch 2015;15:289.
9. Red la salud del paciente por delante. Estudio sobre el control, seguimiento y calidad de vida de los pacientes anticoagulados. Noviembre de 2014. Disponible en: <http://www.pacientepordelante.com/static/documents/Encuesta%20Enfermeria%20Consejo.pdf> Visitado el 24/10/2016
10. Sánchez Gonzalez R, Yanes Baonza M, Cabrera Majada A, Ferrer García-Borras JM, Álvarez Nido R, Barreras Linares E. Adaptación transcultural de un cuestionario de calidad de vida de los pacientes con anticoagulación oral. Aten Primaria 2004;34(7):353-9.
11. Dragos Vinereanu, Renato D Lopes, M Cecilia Bahit, Denis Xavier, Jie Jiang, Hussein R Al-Khalidi, et al. A multifaceted intervention to improve treatment with oral anticoagulants in atrial fibrillation (IMPACT-AF): an international, cluster-randomised trial. The Lancet 2017;390(10104):1737.

PC-427 ¿Debemos descentralizar los pacientes correctamente anticoagulados con acenocumarol?

Gordillo Martín M.¹, Ramos de León Y. Y.¹, Alfonso Ferrández V.¹, Cabrera de Olano V.¹, Estévez Bolaños C.², Sierra Farinelli R.³, Hernández Pantoja C.³, Vilar Rodríguez J.⁴, Segovia Herrerías D.⁵, Cruz Perdomo N.⁶, García López M.⁶, Rodríguez Mangas C.⁷

¹Área de Hematología. Hospital Doctor José Molina Orosa. Arrecife, Las Palmas.
²Centro de Salud Tías. Tías, Las Palmas. ³Centro de salud Titerroy. Arrecife, Las Palmas. ⁴Áreas de Farmacia, ⁵Cardiología, ⁶Digestivo y ⁷Medicina Interna. Hospital Doctor José Molina Orosa. Arrecife, Las Palmas

Introducción: La descentralización se plantea con el objetivo principal de mejorar la calidad de vida de los pacientes en cuanto a cercanía del médico de atención primaria y manejo integral de sus patologías de base y tratamientos concomitantes actualizados. La formación y entrenamiento es un requisito fundamental para los profesionales que se incorporen a la gestión de la anticoagulación y así continuar la descentralización adecuadamente, por lo que para ello se diseña un programa teórico-práctico específico. Posteriormente el hematólogo selecciona aquellos pacientes correctamente anticoagulados (tiempo en rango de tratamiento, TRT > 65% según el método de Rosendaal) y se deriva a primaria para su ulterior seguimiento.

Objetivos: Valorar el porcentaje de pacientes correctamente anticoagulados con Acenocumarol en seguimiento por Atención Primaria (AP) tras su derivación desde el Servicio de Hematología.

Metodología: En mayo de 2018 existían 1143 pacientes en tratamiento anticoagulante con Acenocumarol en una isla ultraperiférica. De ellos 440 estaban en seguimiento por AP (38,5%) y 703 en seguimiento por Hematología (61,5%). Se realizó un estudio observacional transversal. Se incluyeron todos los pacientes tratados con Acenocumarol en seguimiento por AP tras su derivación desde el Servicio de Hematología. Se comparó el porcentaje de pacientes correctamente anticoagulados en el momento del estudio, con el porcentaje previo a la remisión por el Servicio de Hematología. Se realizó un test de McNemar para la comparación de proporciones. El programa estadístico usado fue Stata en su versión 12.

Resultados: Del grupo de 440 pacientes en tratamiento con Acenocumarol en seguimiento por AP el porcentaje de pacientes correctamente anticoagulados en el momento del estudio fue de un 68,9% mientras que el porcentaje previo fue del 100,0%. Esta diferencia fue estadísticamente significativa ($p < 0,01$).

Conclusiones: Se observó una disminución del porcentaje de pacientes correctamente anticoagulados, con el consecuente riesgo de eventos no deseados en los pacientes controlados por AP. Se analizarán los motivos de esa disminución del TRT en AP. Aunque es necesario hacer más estudios, es importante insistir en la formación continuada para optimizar el manejo de los pacientes anticoagulados.

PC-428 Experiencia con Praxbind® en el Hospital Virgen de la Salud de Toledo 2016-2018

Moreno Ramírez S., Parrilla Navamuel L., Rollón Simón N., Rodríguez Alén J. A., Daza Pozo S., Albiño Salazar K. G., Román Barbero A., Cuesta Tovar J.

Hospital Virgen de la Salud. Toledo

Introducción: Dabigatrán (Pradaxa®) es el único anticoagulante oral de acción directa (ACOD) inhibidor de la trombina disponible para uso clínico.

Idarucizumab (Praxbind®) es un fragmento de anticuerpo monoclonal humanizado que actúa como agente reversor específico para Dabigatrán. La interacción de Dabigatrán con Idarucizumab es casi instantánea e irreversible.

Praxbind® está indicado en pacientes adultos tratados con Dabigatrán que necesitan una reversión rápida de sus efectos anticoagulantes por:

- Hemorragia aguda grave que no responde a las medidas generales y pacientes con hemorragia de riesgo vital o que se localiza en un órgano crítico.
- Realización urgente de cirugía o técnicas invasivas diagnósticas o terapéuticas con alto riesgo de sangrado.

Es fundamental conocer la dosis y el tiempo transcurrido desde la última dosis de Dabigatrán, la función renal del paciente, estado de la coagulación y la localización de la hemorragia.

Objetivos y método: El 30-6-2016 se aprobó en la Comisión de Farmacia del Hospital Virgen de la Salud de Toledo el protocolo de uso de Praxbind® con implicación directa del Servicio de Hematología. Desde entonces se ha utilizado el fármaco en 10 pacientes en nuestro centro. Los facultativos del Servicio de Hematología han participado en la mayoría de los casos, bien como consultores o prescriptores. También se ha evitado el uso del fármaco en aquellas situaciones innecesarias, sin riesgo para el paciente.

El objetivo principal de este trabajo fue revisar de forma retrospectiva y descriptiva nuestros 10 casos a través del sistema de historias clínicas electrónicas (Mambrino XXI® versión 5 4.0) y nuestro sistema informático (Modulab® versión 2.0, Izasa) para comprobar si Praxbind® fue correctamente indicado, su eficacia y efectos secundarios y los resultados obtenidos.

Resultados y conclusiones:

1. En 3 de los 10 casos (30%) la dosis de Dabigatrán no era la adecuada, encontrando casos infradosificados y sobredosificados.
2. En general, Praxbind® fue bien indicado en cada caso, ajustándose a las directrices de nuestro protocolo de uso del fármaco.
3. La mortalidad ha sido elevada, pero no atribuible al uso de Praxbind®. Ha sido administrado a pacientes muy graves con elevada comorbilidad. De los 6 pacientes fallecidos (60%), 4 de ellos (40%) fue por otro proceso ajeno a este y separado en el tiempo.
4. Praxbind® ha sido muy eficaz, revirtiendo de forma rápida la alteración de la coagulación y la clínica hemorrágica.
5. Los pacientes recibieron la dosis estándar de Praxbind® (5 gr en total). No se han precisado dosis "de recuerdo".
6. No hemos objetivado complicaciones trombóticas con el uso de Praxbind®.
7. Adjunto resumen con los datos correspondientes a los 10 casos: edad del paciente, indicación de anticoagulación, dosis de Dabigatrán, filtrado glomerular basal, motivo de la reversión, hora de la última dosis de anticoagulante administrada, estudio de coagulación previo y posterior a la administración del agente reversor y resultados (Tabla I).

Paciente	Indicación y dosis Dabigatran	FG basal (ml/min)	Motivo de reversión	Última dosis Dabigatran	EC previo	Fecha administración de Praxbind®	EC POST	Resultados	Anticoagulante al alta	
									Desenlace	Desenlace
Caso 1: mujer 67 años	FA no valvular 110 mg/12h (dosis inferior a la recomendada)	60	Cirugía urgente por colecistitis aguda perforada	Desconocida	TP 74, INR 1.2, TTPA 37.5, F normal	30/8/16	Normal	Cirugía abierta sin complicaciones	Dabigatrán igual dosis	Alta
Caso 2: varón 83 años	FA no valvular 110 mg/12h	47	Cirugía urgente por colecistitis aguda, shock séptico con coagulopatía	Noche anterior	TP 48, INR 1.7, TTPA 44, F normal	11/11/16	Normal	Cirugía sin complicaciones. Preciso además vitK y PFC	UCI	Fallecido 29/11/16 Shock séptico y crisis miasténica
Caso 3: varón 71 años	FA no valvular 150 mg/12h (dosis superior a la recomendada)	48	Rectorragia. Hematoma retroperitoneal	Esa mañana	TP 60, INR 1.4, TTPA 110, F normal	7/4/17	Normal	Embolización sin complicaciones. UCI shock hemorrágico	Dabigatrán 110 mg/12 h por FG < 50	Alta
Caso 4: varón 78 años	FA no valvular 150 mg/12h	60	Hemorragia digestiva alta con inestabilidad hemodinámica	Desconocida	TP 41, INR 1.9, TTPA 61, F normal	7/5/17	Normal	No se encontró punto sangrante, buena evolución, transfusión de hematies.	Alta. Paso a Sintrom	Fallecido 9/11/17 Glioblastoma multiforme
Caso 5: mujer 71 años	FA no valvular 150 mg/12h	65	Ictus basilar que precisó trombectomía. Hemorragia intraventricular secundaria	Esa mañana (12 h antes)	Normal	29/6/17	Normal	UCI tras trombectomía, sale a planta. Buena evolución	Cambio a Sintrom	Alta
Caso 6: mujer 94 años	FA no valvular 110 mg/12h	55	Rectorragia por colitis isquémica con repercusión hemodinámica	Desconocida	TP 82, INR 1.1, TTPA 59, F normal	14/7/17	Normal	Desestimada cirugía por comorbilidad	Suspendido Dabigatrán. Antiagregación con Clopidogrel	Fallecida 13/12/17 sepsis urinaria
Caso 7: varón 86 años	FA no valvular. ACVA 110 mg/12h	54	Hematuria. Fracaso renal agudo por atrapamiento ureteral bilateral secundario a Ca próstata estadio IV	24 h antes	TP 14, INR 4.3, TTPA 108, F normal	11/8/17	INR 3.9 Resto normal	Nefrostomía percutánea que no se realizó por detenero respiratorio	Fallecido 12/8/17	
Caso 8: mujer 88 años	FA no valvular. ACVA 75 mg/12h (dosis inferior a la recomendada, no indica do Dabigatrán)	29	Fractura peritrocantérea izquierda con deterioro de función renal	48 h antes	TI y TTPA alargados F normal	4/12/17	Normal	Cirugía clavo gamma sin complicaciones	Cambio a Apixabán por menor FG	Leucemia aguda y shock séptico refractario a tratamiento
Caso 9: varón 74 años	FA no valvular 110 mg/12h	44	Hematuria franca, sangrado por sitios de venopunción, perisonda vesical y hematoma en hemiabdomen inferior en paciente con Leucemia aguda y shock séptico	12 h antes	TP 42 INR 1.8 TTPA 43 F normal	13/3/18	TP 55 INR 1.5 TTPA 31 F normal	Cese del sangrado. Coagulopatía de sepsis Paciente con doble antiagregación por stent reciente (preciso Tx de plaquetas, vitK)	Fallecido 15/12/17	Fallecido 14/3/18
Caso 10: mujer 75 años	FA no valvular 150 mg/12h	90	Cirugía urgente por colecistitis aguda gangrenosa	24 h antes	TP 41 INR 1.8 TTPA 32 F 730	30/4/18	TP 42 INR 1.8 TTPA 32 F 750	Preciso administración de PFC por coagulopatía de sepsis. Colecistectomía abierta sin complicaciones	Dabigatrán igual dosis	Alta

PC-429 Perfil clínico de pacientes en tratamiento con anticoagulantes orales directos que acuden a urgencias por episodios hemorrágicos

Martínez Díez Y., Franganillo Suárez A., Velasco Rodríguez D., Vidal Laso R., García Raso A., Arquero Portero T., Llamas Sillero P.

Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz. Madrid

Introducción: Los anticoagulantes orales de acción directa (ACOD) son al menos tan eficaces como los antagonistas de la vitamina K (AVK) y tienen mejor perfil de seguridad. Su uso cada vez está más extendido y ello ha aumentado el número de visitas a Urgencias relacionadas con estos fármacos.

Objetivos: a) Describir las características de los pacientes en tratamiento con ACOD que acuden a Urgencias del HU Fundación Jiménez Díaz por complicación hemorrágica; y b) Evaluar la gravedad del episodio y si se relaciona con alguna de las variables estudiadas.

Métodos: Se evaluaron de manera prospectiva los pacientes tratados con ACOD que acudieron a Urgencias por episodio hemorrágico entre diciembre 2017 y mayo 2018. Se analizaron las variables: tipo y dosis de ACOD, motivo de anticoagulación, edad, medicación, antecedentes de hemorragia o diabetes (DM), escala Barthel de dependencia, peso, hemoglobina, plaquetas, filtrado glomerular (FG), localización y gravedad del sangrado (criterios ISTH). Se realizó un estudio descriptivo y se analizaron las diferencias entre las variables mencionadas y los subtipos de hemorragia según gravedad y según ACOD mediante la Chi cuadrado. 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, USA).

Resultados: Pacientes incluidos: 32. Edad mediana: 84 (65-94) años; 29 > 80 (90,6%) y de ellos 3 > 90. ACOD: 10 Dabigatran (31%), 7 Rivaroxaban (22%), 15 Apixaban (47%). Motivo de anticoagulación: 29 fibrilación auricular (90,6%), 3 ETEV. En 13 casos (40,6%) no se había reducido la dosis según indicación. Antecedentes hemorrágicos: 24 (75%). DM: 12 (37,5%). Dependencia severa (Barthel = 60): 12 (37,5%). Peso medio: 71,9 kg (3 < 63 kg). Polimedicados: 24 (75%); 10 (31%) tomaban antiarrítmicos (Diltiazem y amiodarona) y 6 (18,8%) antiplaquetarios. FG (ml/min): 26 (81%) > 50, 4 (12,5%) 30-50 y 2 < 30. Hemoglobina media: 11,7 g/dl. Cifra media de plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{l}$): 237, solo 1 Tipo de hemorragia: 20 (62,5%) presentaron hemorragia menor y 12 hemorragia mayor: 1 intracraneal, 1 intramuscular a tensión, 10 (31%) gastrointestinales que precisaron transfusión de CH. La distribución del sangrado por localización y el ACOD utilizado se muestra en la figura 1. No se encontraron diferencias significativas entre el tipo de hemorragia y el resto de variables estudiadas.

Conclusiones: En esta serie, un número importante de los pacientes con ACOD que acudieron a Urgencias por sangrado precisaron ingreso hospitalario. En más de la mitad, las complicaciones hemorrágicas fueron leves. Dentro de las hemorragias mayores, la más frecuente, tal como está descrito en la literatura, fue la gastrointestinal. Todos los pacientes tenían al menos un factor de riesgo de sangrado (edad, toma de antiagregantes, DM,

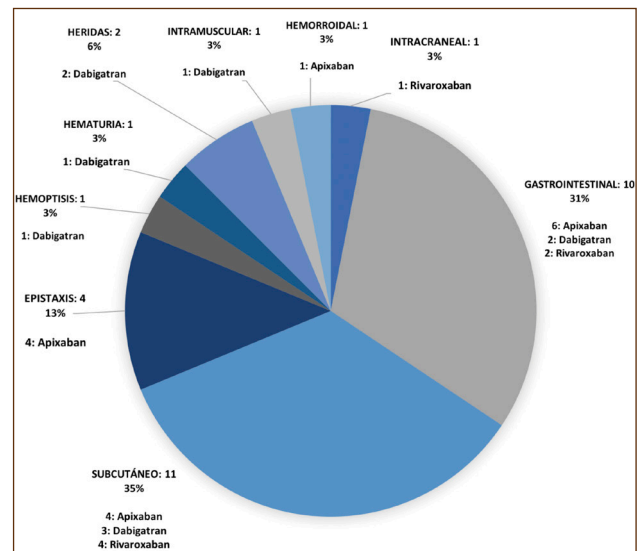


Figura 1.

dosis de ACOD mayor de la recomendada). Llama la atención que, a pesar de elevada edad media del grupo, el 86% de los pacientes tenía un FG > 50 ml/min.

PC-430 Uso, indicaciones y complicaciones trombóticas y hemorrágicas del tratamiento antitrombótico en pacientes con síndromes mielodisplásicos y neoplasias mielodisplásicas/mieloproliferativas

Santos Gómez M.¹, Soriqué Tomás M.¹, Xicoy Cirici B.¹, Orna Montero E.¹, Morgades de la Fe M.¹, Jiménez Lorenzo M. J.¹, Sarrate García E.¹, Franch Sarto M.¹, Gener Ricós G.¹, Peña Domingo M.¹, Sitges Arriaga M.¹, Cañamero Giró E.¹, Comes Escoda M.¹, Espasa Pérez A.¹, Triguero Moreno A.¹, Vives Polo S.¹, Torrent Catarineu A.¹, Moreno Velázquez M.¹, Batlle Massana M.¹, Ferrà Coll C.¹, López Viaplana L.², García Caro M.², Sancho Cia J. M.¹, Ribera Santasusana J. M.¹

¹Servicio de Hematología. Institut Català d'Oncologia-Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Barcelona. Institut de Recerca contra la Leucèmia Josep Carreras. Barcelona. Universitat Autònoma de Barcelona. Badalona, Barcelona.

²Servicio de Hematología. Consorci Sanitari del Maresme. Mataró, Barcelona

Introducción: Los síndromes mielodisplásicos (SMD) cursan característicamente con citopenias y se dan con frecuencia en pacientes de edad avanzada que reciben tratamiento antitrombótico. Es poco conocida la prevalencia de uso y las indicaciones del tratamiento antitrombótico, así como las complicaciones trombóticas y hemorrágicas en los pacientes con SMD y neoplasias mielodisplásicas/mieloproliferativas (N-MD/MP).

Métodos: Estudio retrospectivo unicéntrico que incluyó pacientes diagnosticados de SMD y N-MD/MP entre 2008 y 2016

y que recibieron tratamiento antitrombótico en algún momento de su evolución. La cohorte se dividió entre pacientes antiagregados y anticoagulados. Se analizaron las características clínicas al diagnóstico, la prevalencia de uso e indicaciones del tratamiento antitrombótico y las complicaciones trombóticas y hemorrágicas.

Resultados: En el periodo estudiado, 230 pacientes se diagnosticaron de SMD o N-MD/MP. Cincuenta (22%) recibieron tratamiento antiagregante y 22 (10%) anticoagulante. La **tabla I** muestra las características clínicas al diagnóstico de los pacientes, así como la indicación del tratamiento antitrombótico y el agente utilizado. Entre los pacientes antiagregados se observaron 6 episodios de hemorragia mayor (3 con cifra plaquetar $>100 \times 10^9/L$ y 3 con $>50 \times 10^9/L$) y 3 episodios trombóticos (ictus, enfermedad tromboembólica venosa y síndrome coronario agudo), con una mediana (extremos) de seguimiento de 29 (0,8-104,9) meses. Se suspendió el tratamiento en 8 pacientes (4 por trombocitopenia, 2 por hemorragia, 1 por situación terminal, 1 por motivo desconocido). Entre los 22 pacientes anticoa-

gulados se observaron 2 episodios de hemorragia mayor (1 con cifra plaquetar $>100 \times 10^9/L$ y 1 con $37 \times 10^9/L$) y ningún evento trombótico, con una mediana (extremos) de seguimiento de 9,8 (0,6-89,7) meses. Se detuvo el tratamiento en 2 pacientes (por trombocitopenia). Diez pacientes tenían indicación clara de tratamiento antitrombótico (9 fibrilación auricular, 1 arteriopatía periférica) pero no lo recibían (7 con cifra plaquetar $>100 \times 10^9/L$, 2 con $>50 \times 10^9/L$ y 1 con $33 \times 10^9/L$).

Conclusiones: Los pacientes con SMD y N-MD/MP toman con frecuencia tratamiento antitrombótico por diversos motivos, especialmente cuando la trombocitopenia es leve. El riesgo de complicaciones trombóticas y hemorrágicas es considerable independientemente de la cifra de plaquetas. Por ello, la indicación del tratamiento antitrombótico en los pacientes con SMD o N-MD/MP tiene que ser cuidadosamente revisada en el diagnóstico y revalorada durante el curso de la enfermedad.

Financiación: P114/01971 FIS, Instituto Carlos III, SGR288 (GRC) Generalitat de Catalunya, y Fundació La Caixa.

Tabla I. Características clínicas de la cohorte

		Antiagregación (n = 50)	Anticoagulación (n = 22)
Sexo (varón), n (%)		37/50 (74)	16/22 (72,7)
Edad (años), mediana (IIC)		76,1 (69,5-82,7)	81,8 (77-84,6)
Índice de comorbilidad de Charlson, mediana (IIC)		1 (1-2)	1 (1-2)
Diagnóstico	SMD bajo riesgo	26	12
	SMD alto riesgo	11	4
	LMMC	11	4
	N-MD/MP no LMMC	2	2
Cifra de plaquetas al diagnóstico, $\times 10^9/L^*$	< 20	1	0
	20-50	2	2
	51-100	9	2
	> 100	36	18
Indicación	Fibrilación auricular	5	20
	Cardiopatía isquémica	23	
	Enfermedad cerebrovascular	6	
	Prevención primaria	5	
	Artropatía periférica	4	
	ETV	1	2 [†]
	Otros	6 [‡]	1 [§]
Agente	Ácido acetilsalicílico	4	
	Clopidogrel	6	
	Doble antiagregación	4	
	Acenocumarol		22 [¶]

IIC: Intervalo intercuartílico; SMD: síndrome mielodisplásico; LMMC: leucemia mielomonocítica crónica; N-MD/MP: neoplasia mielodisplásica/mieloproliferativa; ETV: enfermedad tromboembólica.

*Información no disponible en 2 pacientes del grupo de antiagregación.

[†]1 paciente con fibrilación auricular concomitante.

[‡]Prótesis aortica (n = 2), trombocitosis (n = 2), tratamiento con lenalidomida (n = 1), oclusión de la vena central de la retina (n = 1).

[§]Cirugía de raíz aórtica.

[¶]Un paciente con antiagregación concomitante por ETV y ser portador de un stent coronario.

PC-431 La anticoagulación oral en pacientes de más de 90 años. Análisis del perfil de riesgo trombótico y hemorrágico según la terapia anticoagulante elegida

Martí E., Fernández B., Morello D., de Moya J. R., Remigia M. J., Amat P., Navarro B.

Hospital Clínico Universitario. Valencia

Introducción: La prevalencia de la fibrilación auricular en los pacientes mayores de 80 años es de un 10%, y puesto que aumenta con la edad, es previsible que en mayores de 90 sea aún mayor. A pesar que la tasa de eventos tromboembólicos aumenta con la edad, hasta hace pocos años la tendencia era no anticoagular a la población muy anciana por el riesgo hemorrágico. Estudios recientes han demostrado que el beneficio de anticoagular a estos pacientes supera el riesgo hemorrágico.

El aumento de la esperanza de vida y el envejecimiento progresivo de la población aconseja analizar el perfil de riesgo trombótico y hemorrágico de la población anciana y adecuar la terapia anticoagulante más idónea para este subgrupo de pacientes.

Métodos: Estudio observacional de pacientes de \geq 90 años anticoagulados con antagonistas de la vitamina K (AVK) o anticoagulantes de acción directa (ACOD) en mayo de 2018 en el área de salud Clínico Malvarrosa.

Resultados: Se analizaron un total de 227 pacientes de más de 90 años, de los cuales 152 (67%) estaban anticoagulados con AVK y 75 (33%) con ACOD. Destaca el predominio de mujeres (71,7% con AVK y 65,3% con ACOD). El CHADS-VASc en ambos grupos

fue de alto riesgo, con una mediana de 5 en el grupo de AVK y 6 en el de ACOD. Sin embargo, en ambos grupos el HASBLED fue bajo, de 2 de mediana. Se valoró también el número de comorbilidades, que fue mayor en el grupo de ACOD (mediana de 3) respecto al de AVK (mediana de 2). La mayoría de pacientes con AVK estaban anticoagulados con acenocumarol, 150 (98,7%). La distribución de pacientes anticoagulados con ACOD se muestra en la [tabla I](#). El 8% de los pacientes (6/75) recibían una dosis menor que la recomendada en ficha técnica, y todos los casos de infradosificación identificados se produjeron con Apixaban ([Tablas II-VIII](#)).

Conclusiones: Existe poca experiencia en anticoagulación en población mayor a 90 años y aún menos en el uso de ACOD. Este es el primer estudio que analiza en vida real las características de uso de anticoagulación en esta subpoblación frágil. En nuestra serie se confirma que se trata de una población de alto riesgo trombótico, mientras que el riesgo hemorrágico valorado mediante

Tabla I. Distribución de pacientes anticoagulados con ACOD

	Frecuencia	Porcentaje
Dabigatrán	22	29,3
Rivaroxaban	24	32,0
Apixaban	20	26,7
Edoxaban	9	12,0
Total	75	100,0

Tabla II

ACOD						
TTO 1.AVK 2.ACOD			Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
1	Perdidos	Sistema	152	100,0		
		1	22	29,3	29,3	29,3
2	Válidos	2	24	32,0	32,0	61,3
		3	20	26,7	26,7	88,0
		4	9	12,0	12,0	100,0
		Total	75	100,0	100,0	

Tabla III

AVK						
TTO 1.AVK 2.ACOD			Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
1	Válidos	Acenocumarol	150	98,7	98,7	98,7
		Warfarina	2	1,3	1,3	100,0
		Total	152	100,0	100,0	
2	Válidos	Acenocumarol	25	33,3	100,0	100,0
	Perdidos	Sistema	50	66,7		
	Total		75	100,0		

la escala HASBLED es moderado. El seguimiento prospectivo de estos pacientes para valorar eventos trombóticos y hemorrágicos

aportará datos muy valiosos en cuanto al difícil manejo de este subgrupo.

Tabla IV

TTO 1.AVK 2.ACOD		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
1	Válidos	0	123	80,9	96,1
		1	5	3,3	3,9
		Total	128	84,2	100,0
	Perdidos	Sistema	24	15,8	
	Total		152	100,0	
2	Válidos	0	36	48,0	94,7
		1	2	2,7	5,3
		Total	38	50,7	100,0
	Perdidos	Sistema	37	49,3	
	Total		75	100,0	

Tabla V

Hemorragia mayor

TTO 1.AVK 2.ACOD		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
1	Válidos	0	118	77,6	92,2
		1	10	6,6	7,8
		Total	128	84,2	100,0
	Perdidos	Sistema	24	15,8	
	Total		152	100,0	
2	Válidos	0	31	41,3	86,1
		1	5	6,7	13,9
		Total	36	48,0	100,0
	Perdidos	Sistema	39	52,0	
	Total		75	100,0	

Tabla VI

Éxitus

TTO 1.AVK 2.ACOD		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
1	Válidos	0	124	81,6	96,9
		1	4	2,6	3,1
		Total	128	84,2	100,0
	Perdidos	Sistema	24	15,8	
	Total		152	100,0	
2	Válidos	0	28	37,3	84,8
		1	5	6,7	15,2
		Total	33	44,0	100,0
	Perdidos	Sistema	42	56,0	
	Total		75	100,0	

Tabla VII		Estadísticos							
TTO 1.AVK 2.ACOD		CHADSVASC	HASBLED	Comorbilidad (Nº comorbilidades)	Edad	CKD-EPI	Creatinina sérica (mg/dl)	TRT	
1	n	Válidos	151	151	152	150	145	148	148
		Perdidos	1	1	0	2	7	4	4
	Media	4,84	1,80	1,68	92,80	88,5708	1,1748	68,02	
	Mediana	5,00	2,00	1,50	92,00	49,0200	1,0650	71,00	
	Desv. típ.	1,342	,895	1,232	1,921	460,67474	,49488	18,393	
	Mínimo	2	1	0	91	10,93	,47	18	
	Máximo	8	5	5	99	5593,00	3,38	100	
2	n	Válidos	74	73	75	73	61	73	6
		Perdidos	1	2	0	2	14	2	69
	Media	5,61	1,82	2,51	92,66	54,7233	1,0440	59,00	
	Mediana	6,00	2,00	3,00	92,00	56,1000	,9600	60,50	
	Desv. típ.	1,373	,733	1,212	1,988	18,20461	,35462	29,698	
	Mínimo	2	1	0	90	22,00	,45	14	
	Máximo	8	5	5	98	87,68	2,31	93	

Tabla VIII		Estadísticos	
		Meses_TAO	
1	n	Válidos	101
		Perdidos	51
	Media	101,79	
	Mediana	91,00	
	Desv. típ.	71,097	
	Mínimo	2	
	Máximo	347	
2	n	Válidos	55
		Perdidos	20
	Media	24,73	
	Mediana	18,00	
	Desv. típ.	20,241	
	Mínimo	0	
	Máximo	75	

PC-432 Fibrinólisis: complicaciones y factores de riesgo para el sangrado

Romero García P.¹, Llorente Milla R.¹, Márquez Romera C.¹, Mora Aznar M.¹, Cabanillas Carrillo A.¹, Sánchez Sánchez A.², Moreno Torres D.¹, Sánchez Ariz Raúl.¹, Hernández de Diego C.¹, Fernández Calavia M. J.¹, Medina Santaolalla P.¹

¹Unidad de Cuidados Intensivos y ²Servicio de Medicina Interna. Complejo Asistencial de Soria. Soria

Introducción: La fibrinólisis es un proceso enzimático compuesto por una serie de activadores e inhibidores los cuales regulan la conversión del proenzima circulante, plasminógeno, en el enzima activo plasmina. La producción de plasmina libre en la superficie del trombo conduce a la lisis de la fibrina. En nuestro centro usamos dos fibrinolíticos, Alteplasa para TEP e ICTUS y Tenekplasa, para IAMCEST. La principal complicación que presentan es el sangrado, por lo que en este estudio hemos querido averiguar si en nuestra Unidad la frecuencia de sangrado es similar a la global y si existen factores de riesgo asociados para que aparezca dicho sangrado.

Objetivos: *Primario:* Sangrado de cualquier tipo asociado al uso de fibrinolíticos. *Secundarios:* datos demográficos de fibrinolizados en nuestro medio. Conocer si la edad y el tratamiento previo con anticoagulantes y/o antiagregantes en pacientes no IAM son factores de riesgo para el sangrado.

Material y métodos: Estudio descriptivo de pacientes sometidos a fibrinólisis en los años 2015-2017. Se han recogido un total de 84 pacientes. 60 hombres (41 IAMCEST, 12 TEP, 7 ICTUS). Edad media de 65.5 años. 24 mujeres (6 IAMCEST, 6 TEP, 12 ICTUS). Edad media de 74 años. Por edad: < 75 años 55 pacientes (65%) y > 75 años, 29 pacientes (35%). Pacientes no IAM antiagregados 6 (2 clopidogrel, 4 AAS) y 0 anticoagulados. Sin terapia previa 31.

Resultados: Aparece sangrado en 11 pacientes (10% del total), siendo 4 IAMCEST (8%), 7 TEP (39%) y 0 ICTUS. De ellos, ninguno es sangrado intracraneal, 4 pacientes precisan transfusión (4,76%) y 7 son sangrados menores (8,33%). Se producen 6 *éxitus*, ninguno asociado a fibrinólisis. En cuanto a los factores de riesgo estudiados, si clasificamos por edad, en el grupo de < 75 años, hay 8 sangrados (15%) (IAM: 3, TEP: 5, ICTUS: 0) y en el de > 75 años, 3 sangrados (10,3%) (IAM:

1, TEP: 2, ICTUS: 0). Si los clasificamos por antiagregación en pacientes no IAMCEST, el 50% de los pacientes con antiagregantes sangró y el 20% de los pacientes sin tratamiento antiagregante previo sangró (Figs. 1-3).

Conclusiones: No hay sangrados intracraneales, el porcentaje de sangrado por todas las causas es bajo (10%), salvo en subgrupo de TEP (39%). Los sangrados que precisan transfusión son muy pocos (4,7%). Los porcentajes de sangrado en pacientes ancianos es ligeramente menor que en jóvenes (15% vs 10%). La antiagregación previa en pacientes no IAM produce más sangrado que los pacientes no antiagregados (50% vs 20%).

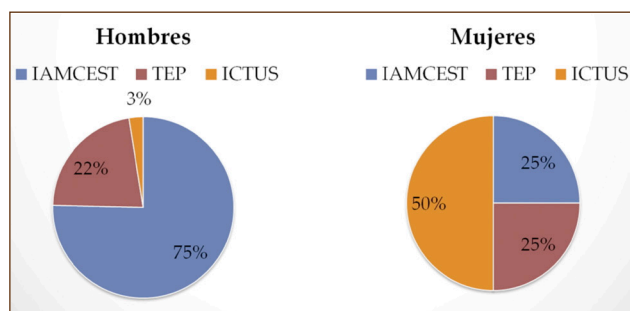


Figura 1.

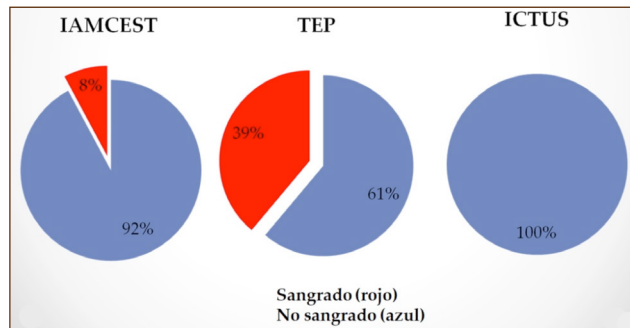


Figura 2.

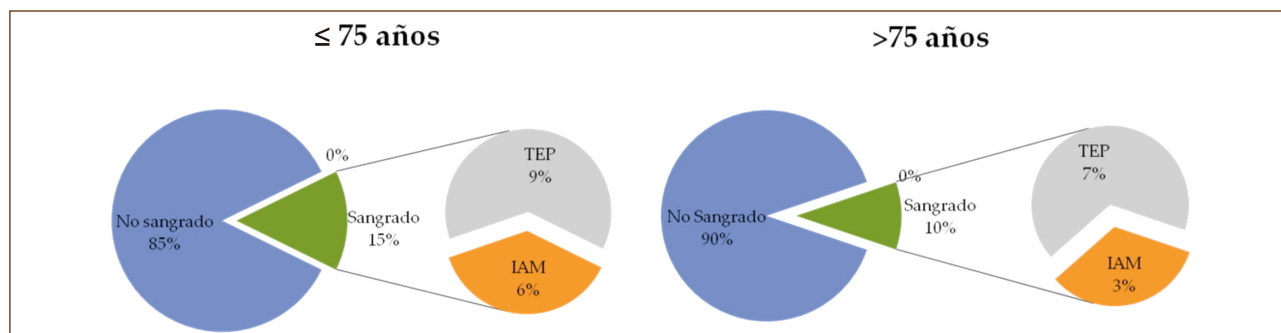


Figura 3.

PC-433 Estudio Eventho: estudio de vida real en pacientes con eventos que son tratados con AVK en hematología

Gavin Sebastián O.¹, Llamas Silero P.², Roldán Schilling V.³, Santamarían Ortiz A.⁴, Arumi Torrender D.⁵, Fernández de Cabo S.⁵

¹Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. Zaragoza. ²Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz. Madrid. ³Hospital General Universitario Morales Meseguer. Murcia. ⁴Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona. ⁵Departamento Médico. Pfizer. Madrid

Introducción: Los antagonistas de la vitamina K (AVK) constituyen el tratamiento de elección clásico para la prevención de eventos tromboticos en patologías como la Fibrilación Auricular (FA) y el tromboembolismo venoso (TEV). Sin embargo, estos fármacos están asociados a un riesgo elevado de complicaciones hemorrágicas y tromboticas debido a la variabilidad inter e intraindividual inherente al tratamiento, que hace que sea difícil mantener en el tiempo el estrecho rango terapéutico adecuado. Se dispone de varios registros sobre la anticoagulación con AVK en España en el ámbito de Cardiología y Atención Primaria. Hay menos evidencia sobre las características y el manejo de estos pacientes tratados con AVK que sufren un acontecimiento trombotico o hemorrágico y que son atendidos en las Unidades de Gestión de Tratamiento anticoagulante de los Servicios de Hematología, que tienen un papel determinante en el inicio y seguimiento de los pacientes en tratamiento con anticoagulantes orales.

Objetivo: Evaluar el perfil y el manejo clínico de los pacientes con FA y/o TEV tratados con AVK que han sufrido un evento isquémico o hemorrágico mayor en seguimiento en los servicios de hematología en España.

Métodos: Estudio posautorización, observacional, retrospectivo, multicéntrico y de ámbito nacional (hospitales públicos y privados). Se incluirán de forma consecutiva a todos los pacientes con FA y/o TEV que hayan sufrido un acontecimiento hemorrágico grave (HIC y sangrado extracraneal que requiere hospitalización, transfusión o intervención quirúrgica o que ocurre en una localización crítica) o isquémico (ictus isquémico, ES, TVP, EP) durante el año 2016 estando en tratamiento con AVK y que son atendidos en los servicios de hematología de los centros participantes. Está previsto que participen aproximadamente 3000 pacientes en seguimiento del tratamiento anticoagulante en los servicios de hemato-

logía de cerca de 30 hospitales distribuidos por todo el territorio nacional. Ello hace que se garantice que la población del estudio sea representativa por el número de eventos estimado por centro y la amplia representatividad geográfica.

Resultados: Se espera caracterizar el perfil y el manejo clínico de los pacientes con FA y/o TEV que han sufrido un acontecimiento trombótico o hemorrágico grave estando en tratamiento con AVK que han sido atendidos en las consultas de Hematología. Asimismo, se pretende determinar la posible asociación entre el total y el tipo de acontecimientos (trombóticos o hemorrágicos graves) y el grado de control de la anticoagulación (TTR).

Conclusiones: Este estudio contribuirá a un mayor conocimiento de las características y el manejo de los pacientes tratados con AVK atendidos en las consultas de hematología en España y que sufren un acontecimiento tromboembólico o hemorrágico, ayudando, por tanto, a mejorar la práctica asistencial de pacientes con FA y TEV en dichos servicios.

PC-434 Manejo del tratamiento antiagregante utilizando el agregómetro Multiplate® en una serie de pacientes tratados de aneurismas cerebrales con stent

Castro Quismondo N., Fernández Alen J., Ballenilla F., Rodríguez Rodríguez M., Martínez-López J.

Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid

Introducción: Los pacientes con aneurisma cerebral no roto que van a ser sometidos a tratamiento endovascular con colocación de stent intracerebral deben recibir previamente terapia con doble antiagregación dado el riesgo trombótico que presenta el procedimiento. Tras la colocación del stent se mantiene la doble antiagregación durante al menos 6 meses y la aspirina indefinidamente.

Materiales y métodos: Presentamos una serie de 20 pacientes con aneurisma cerebral no roto que precisaron la implantación de un stent (15 de ellos stent diversores de flujo) entre los años 2015 y 2018. Recibieron doble antiagregación con Ácido acetilsalicílico (AAS) 100 mg/día y Clopidogrel 75 mg/día desde 10 días antes de realizar el procedimiento.

Antes de proceder a la implantación del stent, para comprobar la eficacia del tratamiento antiagregante, se realizó un estudio de función plaquetaria utilizando el agregómetro Multiplate®. Se trata de un analizador que determina la función plaquetaria en sangre total (300 µl por test) mediante impedancia eléctrica y es altamente sensible al efecto de algunos fármacos antiagregantes. Se utilizaron los agonistas trombina (TRAP 32 µM), ADP 6,5 µM y ácido araquidónico (ASPI0,5 mM). Los rangos de referencia normales establecidos en nuestra población son: TRAP 90 – 151 U, ADP 47-122 U y ASPI 69-137 U.

Resultados: La edad media de los pacientes fue de 52 años y un 85% de sexo femenino.

En 5 de los 20 pacientes monitorizados (25%) se observó respuesta inadecuada a alguno de los antiagregantes lo que obligó a modificar el tratamiento (Tabla I).

Paciente 1: Respuesta insuficiente a Clopidogrel. Se aumentó la dosis de Clopidogrel hasta 75 mg/8 horas obteniendo respuesta.

Paciente 2: Respuesta insuficiente a Clopidogrel y a AAS. Se aumentó la dosis de Clopidogrel a 75 mg/12 h y de AAS a 100 mg/12 h alcanzando rango terapéutico.

Paciente 3: Resistencia a clopidogrel. Se aumentó la dosis a 75 mg/12 h sin obtener clara respuesta por lo que se decidió cambiar por ticagrelor 90 mg/12 h con el que se obtuvo rango terapéutico.

Paciente 4: Resistencia a Clopidogrel. Se aumentó la dosis hasta 75 mg/8 h sin obtener efecto por lo que se cambió por Ticlopidina 250 mg/12 h con el que consiguió respuesta.

Paciente 5: Respuesta insuficiente a Clopidogrel y a AAS. Se aumentó la dosis de Clopidogrel a 75 mg/12h y de AAS a 100 mg/12h consiguiendo el efecto deseado (Tabla II).

Tabla I

	Paciente 1			Paciente 2		Paciente 3		
	Clopi 75 mg/24 h	Clopi 75 mg/12 h	Clopi 75 mg/8 h	Clopi 75 mg/24 h+AAS 100 mg/24 h	Clopi 75 mg/12h+AAS 100 mg/12 h	Clopi 75 mg/24 h	Clopi 75 mg/12 h	Ticagrelor 90 mg/12 h
ADP	58	46	28	72	35	75	51	31
ASPI				44	18			
TRAP	102	126	107	134	130	118	95	127

Tabla II

	Paciente 4				Paciente 5	
	Clopi 75 mg/24 h +AAS 100 mg/24 h	Clopi 75 mg/12 h	Clopi 75 mg/8 h	Ticlopidina 250 mg/12 h	Clopi 75 mg/24 h+ AAS 100 mg/24 h	Clopi 75 mg/12 h + AAS 100 mg/12 h
ADP	58	68	48	32	52	24
ASPI	26				99	5
TRAP	120	151	129	140	97	85

Ninguno de los 20 pacientes presentó complicaciones hemorrágicas ni trombóticas tras la implantación del *stent*.

Conclusiones: La monitorización del efecto del tratamiento antiagregante en este grupo de pacientes permite asegurar la adecuada eficacia del mismo, así como valorar la necesidad del cambio de tratamiento si se detecta resistencia reduciendo posibles complicaciones trombóticas. El uso del Agregómetro de impedancia Multiplate® facilita el control de este tipo de pacientes dado que es un método sencillo y rápido.

PC-435 Fallo reproductivo recurrente en mujer con anticuerpos antifosfolípidicos positivo débil. Uso clínico de la heparina

Fariñas García M.¹, Rodríguez Paíno M.¹, Olaso Echániz E.¹, Sánchez Ramón S.², Lucas de la Vega V.³, López Martínez L.³, Alarcón M.³, González Villafáñez V.³, Macedo Pereira J.³, Daurelio R. M.³, Da Silva C.¹, Rodríguez Gambarte J. D.¹, Gil Herrera J.⁴, Meliá Fullana E.⁵, Martínez Ramiro Á.⁶, Ordóñez Pérez D.⁵, Gómez Trimiño M. L.⁷, Verdú Merino V.⁸

¹Hematología. Clínica Santa Elena. Madrid. ²Inmunología. Hospital Ruber Internacional. Madrid. ³Ginecología. Clínica Ginefiv. Madrid. ⁴Inmunología. Clínica Tambre. Madrid. ⁵Ginecología. Hospital Ruber Internacional. Madrid. ⁶Ginecología. Hospital La Milagrosa. Madrid. ⁷Ginecología. Hospital Vithas Nisa Pardo de Aravaca. Madrid. ⁸Ginecología. Clínica Ginefiv. Madrid

Introducción: El síndrome antifosfolípídico obstétrico se trata con heparina de bajo peso molecular (HBPM) y AAS. La morbilidad obstétrica asociada a anticuerpos antifosfolípidicos (MOAAF), con criterios menos estrictos, incluye pacientes (pac) con dos abortos y/o dos fallos de implantación (FI) y anticardiolipinas (aCL) título bajo dos veces o anticoagulante lúpico (AL) positivo (+) fluctuante. Muchos expertos sugieren tratarlas igual.

Existe variabilidad en el umbral para considerar + un aCL. Si es + débil una sola vez y lo vuelve a ser durante el embarazo se

consideraría MOAAF y quizás sea útil que ya esté con HBPM. Valoramos nuestra experiencia en un grupo de pac. con al menos 2 abortos y/o una pérdida fetal (PF) de más de 10 semanas y/o al menos 2 FI que tienen una sola aCL + débil y/o AL +.

Métodos: Revisamos 97 pac. consecutivos con estos criterios valorados en primera consulta durante 17 meses desde 1-1-2015 que buscan un nuevo embarazo y reciben HBPM (la mayoría tinzaparina) desde el diagnóstico de embarazo y/o antes de la transferencia y durante la gestación. Además, AAS. Se considera aCL + débil aCL IgG de 10-40 y/o IgM de 7-40 UI/ml, así como anti Beta2glicoproteína I IgG e IgM de 8 a 40 UI/ml. Se valora el resultado de nacido vivo transcurridos al menos 24 meses.

Resultados: 65 tenían aCL < 20 UI/ml, 15 de 20-40, 26 AL + una sola vez. En 52 hacemos seguimiento de aCL y AL en el embarazo y en 40 son nuevamente +.

Los resultados se reflejan en la [tabla I](#).

Conclusiones: Es probable que la HBPM sea útil en mujeres con fallos gestacionales previos y aCL + débil o AL + una sola vez. En muchas será + de nuevo en el embarazo. El efecto beneficioso de la HBPM se ve mejor en el embarazo natural, pero es una muestra reducida. En reproducción asistida parece útil, pero están implicados otros muchos factores. El análisis de las mujeres que realizan nueva ovodonación sugiere su utilidad. Se necesitan estudios con un número mayor de pacientes.

Trombosis

PC-436 Necesidad de estandarización de trombo profilaxis en pacientes con linfoma: una complicación frecuente e infratratada. Análisis y experiencia de un centro

Alarcón A., Alonso R., Navarro M. B., García Santillana C., Romera I., Naya D., Álamo J. R., Fernández Maqueda C.,

Tabla I

Grupo de pacientes	Grupo de edad	Total de pac.	Nacidos vivos (NV)	NV con embarazo natural	NV con ovocitos propios	NV con ovo-donación
= 2 abortos y/ o una PF tras embarazo natural sin reproducción asistida	26 a 45 años Mediana 37	25	22 88%	19 76%	2	1
= 2 abortos y/ o una PF que han realizado algún procedimiento de reproducción asistida	< 38 años	14	10 71%	3	3	4
	> 37 años	21	14 67%	1	2	11
Al menos dos fallos de implantación (de ellos 47 con al menos 3 FI) con/sin abortos o PF	< 38 años	30	21 70%	5	9	7
	> 37 años	38	26 68%	2	5	19

De los 22 pac. que ya habían realizado ovodonación sin éxito consiguen NV 17. De ellos los 13 pac. con = 3 FI consiguen NV 11. Limitaciones: además se intentó optimizar otros factores.

de Laiglesia A., Bautista G., Benítez A., Núñez L., Garrido S., de Miguel C., Pérez de Camino B., Lerma A., Martínez M. E., Forés R., Ojeda E., Krsnik I., Regidor C., Rojas M., Bueno J. L., Duarte R., Cabrera R.

Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda. Majadahonda, Madrid

Introducción: Los pacientes con linfoma tienen un riesgo mayor de eventos tromboembólicos (con incidencias de hasta el 59.5%). A pesar de ello, la tromboprofilaxis en estos pacientes, se contempla en escasas ocasiones. Hasta la actualidad, existían de forma generalizada dos modelos predictivos de estimación de riesgo tromboembólico: Padua y Khorana score. Tras un estudio predictivo multivariante, se ha publicado recientemente, un score específico para el paciente con Linfoma: ThroLy. En el siguiente estudio descriptivo, evaluamos retrospectivamente la presencia de enfermedad tromboembólica junto con los factores de riesgo para la misma, así como la recomendación de tromboprofilaxis según los 3 *scores* previos, en pacientes con diagnóstico de Linfoma No Hodgkin en el año 2017 del Hospital Puerta de Hierro.

Métodos: Población estudiada: Nuevos diagnósticos de Linfoma NH en el 2017 evaluando la presencia o no de enfermedad tromboembólica tras el diagnóstico, así como sus factores de riesgo. La población engloba diagnósticos de Linfoma NH de alto y bajo grado, de todas las edades sexo y raza, de seguimiento y diagnóstico tanto ambulatorio como hospitalizado. Factores

de riesgo de tromboembolismo: Incluidos los factores de riesgo pertenecientes a los tres *scores*. Recomendaciones de tromboprofilaxis: En aquellos pacientes con 4 puntos o más en el Padua score, a partir de 2 en el Khorana y de riesgo intermedio y alto según Throly score. El diagnóstico de enfermedad tromboembólica estaba apoyado por pruebas de imagen.

Resultados: En este estudio observamos 44 diagnósticos de linfoma con una mediana de edad de 70 años siendo el 61% hombres. Se documentaron 7 pacientes con algún episodio de enfermedad tromboembólica. La incidencia de tromboembolismo, fue del 15,09% al año. Se recomienda administrar tromboprofilaxis en la población analizada según los diferentes Scores con la siguiente distribución: Score de Padua en el 56,82%, Score de Khorana en el 29,55% y ThroLy Score, en el 43,18% de los pacientes analizados. La coincidencia en la recomendación de los tres Scores agrupaba al 34,09% de los pacientes (Fig. 1).

Conclusiones: Es necesaria una clara identificación de factores de riesgo y marcadores para la determinación de tromboprofilaxis, dado que la enfermedad tromboembólica se relaciona con un incremento claro de morbilidad, hospitalizaciones prolongadas, complicaciones hemorrágicas, junto con cambio o retraso del tratamiento de base. Teniendo en cuenta los datos extraídos de este análisis, sería recomendable estandarizar un modelo predictivo de riesgo tromboembólico, así como concienciar sobre el beneficio de un tratamiento profiláctico en pacientes con linfoma.

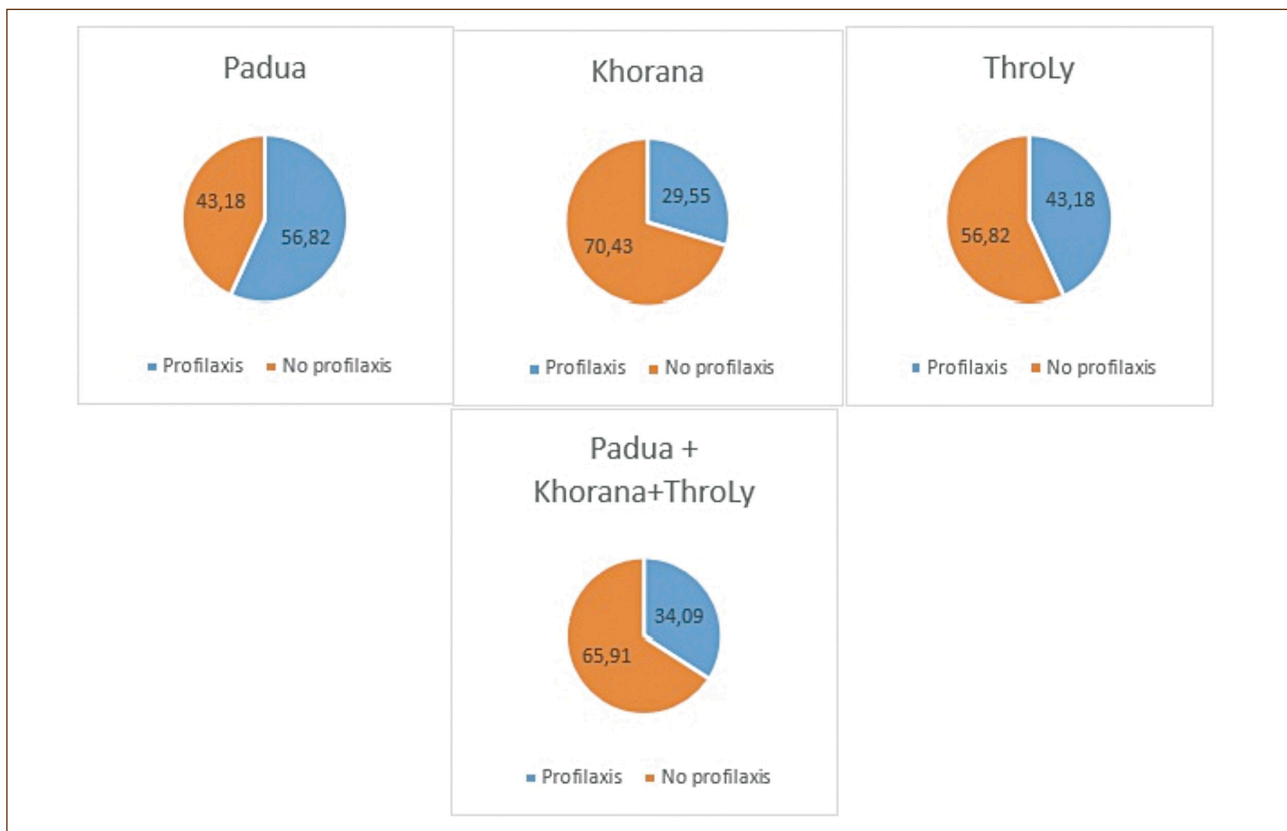


Figura 1.

PC-437 Evaluación del dímero-D al diagnóstico del primer episodio de enfermedad tromboembólica y el riesgo de recurrencia

Vidal Laso R., Velasco Rodríguez D., Penedo Coello A., García Raso A., Martín Herrero S., Vega Achábal G., Llamas Sillero P.

Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz. Madrid

Introducción: La enfermedad tromboembólica venosa (ETE) tiene una elevada tasa de recurrencias. La duración óptima del tratamiento anticoagulante no está del todo bien definida en ciertas situaciones. El uso de antiagregantes como el ácido acetilsalicílico (AAS) tras la suspensión de la anticoagulación se ha relacionado con una reducción en las recurrencias. Evidencias científicas recientes sugieren que valores de dímero-D = 1.500 µg/L al diagnóstico del primer evento tromboembólico pueden predecir un riesgo de recurrencia bajo.

Objetivos: a) Analizar la asociación entre el dímero-D al diagnóstico del 1º episodio de ETE y el riesgo de recurrencia; y b) Evaluar si la prevención secundaria con AAS reduce las recurrencias.

Métodos: Se evaluaron 557 pacientes con un primer episodio de ETE diagnosticado entre 2006 y 2016 en el Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz. Los pacientes en los que no constaba el valor del dímero-D al diagnóstico y aquellos en los que se decidió anticoagulación indefinida fueron excluidos del estudio. En pacientes seleccionados, se inició AAS cuando se suspendió el tratamiento anticoagulante. La determinación de dímero-D (HemosIL® D-Dimer HS 500) se realizó en el coagulómetro ACL TOP (Werfen). Se calculó el área bajo la curva (ABC) del dímero-D en pacientes que no recibieron AAS. Para determinar qué factor o factores tuvieron impacto en la reducción de recurrencias, se realizó un análisis multivariante que incluyó el dímero-D al diagnóstico, género masculino/femenino, duración de la anticoagulación y el tratamiento con AAS. Se consideraron estadísticamente significativos los valores de $p < 0,05$. El estudio estadístico se llevó a cabo utilizando el programa SPSS versión 19.0 para Windows (SPSS, Chicago, IL, USA).

Resultados: Pacientes incluidos: 132 [76 con trombosis venosa profunda (TVP) (57,6%), 48 con tromboembolismo pulmonar (TEP) (36,4%) y 8 con trombosis en territorios inusuales (6%)]. Mediana de seguimiento: 4,5 años. ETE recurrente en 31 pacientes (23,48%). Pacientes tratados con AAS: 44 (33,33%). El dímero-D tuvo un ABC insuficiente (0,606) para predecir recurrencias de ETE. Valores de dímero-D al diagnóstico = 1,500 µg/L se asociaron a un riesgo de recurrencia significativamente menor ($p = 0,049$). En cuanto al uso de AAS, se observó un menor riesgo de recurrencia en pacientes con TVP ($p = 0,028$). Sin embargo, estos resultados no se reprodujeron en pacientes con TEP. El riesgo de recurrencia fue menor en pacientes con TEP anticoagulados durante al menos 1 año ($p = 0,036$), sin reproducirse estos resultados en pacientes con TVP.

Conclusiones: Valores bajos del dímero-D al diagnóstico del primer episodio de ETE parecen predecir un menor riesgo de recurrencia. El empleo de AAS redujo el riesgo de recurrencia en pacientes con TVP, pero no en aquellos con TEP. La recurrencia tromboembólica fue menor en pacientes con TEP que fueron anticoagulados durante al menos 1 año.

PC-438 Trombosis en linfomas, incidencia, factores de riesgo y manejo

Pradillo V., Bastos M., Landete E., Carbonell D., Menárguez J., Balsalobre P., Rodríguez Huerta A., Díez Martín J. L., Pascual C.

Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid

Introducción: La trombosis es una complicación frecuente en pacientes con cáncer. La incidencia de trombosis en pacientes diagnosticados de linfoma es del 5%, incrementando la comorbilidad de estos pacientes. Recientemente se han desarrollado nuevos escores de riesgo de trombosis en pacientes con linfoma y está siendo validados para predecir eventos trombóticos en esta población.

Objetivo: El objetivo de este estudio es identificar los factores de riesgo asociados a trombosis en pacientes con linfoma y analizar el manejo de estos pacientes en un solo centro.

Materiales: Estudio unicéntrico retrospectivo con pacientes incluidos de forma consecutiva con diagnóstico de Linfoma no Hodgkin y Linfoma Hodgkin desde 2014 hasta 2017. Se incluyeron un total de 250 pacientes. Las características basales de los pacientes se incluyen en la [tabla I](#). Se analizaron las características demográficas y clínicas de los pacientes y del tipo de linfoma. Se estudiaron la presencia de eventos trombóticos desde el diagnóstico hasta los primeros 6 meses y se evaluó la presencia de trombosis en el momento de la recaída. Para analizar la incidencia de trombosis, se definió como evento competitivo recaída, muerte o segundas neoplasias. Para el análisis estadístico, se utilizó el sistema R.

Resultados: De los pacientes con nuevo diagnóstico de trombosis, se objetivaron 23 eventos trombóticos, con una incidencia acumulada de trombosis de 8,7% a los 6 meses ([Fig. 1](#)). Las características basales de los pacientes trombosados se muestran en la [tabla II](#). Ocho (34%) pacientes trombosados presentaron el evento en el momento del diagnóstico y 15(29%) durante el tratamiento quimioterápico. Entre los 24 pacientes recaídos, encontramos un total de 5 eventos (20%).

En un análisis univariante, infiltración del SNC, catéter venoso central, ECOG y la alta dosis de esteroides se asociaron con trombosis. En un estudio multivariante, las variables independientemente asociadas con trombosis fueron el linfoma de alto riesgo, presencia de trombosis previa, conteo de plaquetas al diagnóstico, neoplasia concomitante e inmovilización previa. La localización de las adenopatías, la masa bulky o la afectación extranodal no se asoció con aumento de evento trombótico. No se objetivó trombosis en los 40 pacientes (16%) que se mantuvieron en observación ($p = 0,034$). Trece pacientes (5,2%) recibieron profilaxis antitrombótica con HBPM. Treinta y seis pacientes (14,4%) recibían tratamiento al diagnóstico: 10 anticoagulados y 26 antiagregados. No se objetivó trombosis en ningún paciente anticoagulado, pero sí en 6 pacientes antiagregados. Se observó retrombosis en 2 pacientes, ambos tras la suspensión del tratamiento (uno con trombopenia severa en recaída y otro tras haber cumplido tratamiento anticoagulante y en remisión completa). En los pacientes con tratamiento antitrombótico, 27 de los trombosados (75%) se trataron con HBPM a dosis plenas. El ajuste en el tratamiento antitrombótico fue necesario en 10 pacientes debido a trombopenia (6), fallo renal (1) o hemorragia (3). Dos pacientes bajo tratamiento anticoagu-

Tabla I. Características de los pacientes	
	250 (100%)
Hombre/Mujer	131/119 (52/48)
Edad (media, rango)	62 (22-91)
HTA	91 (36)
DM	45 (18)
DL	68 (27)
IMC > 30 kg/m ²	71 (28)
<i>Trombosis previa</i>	29 (12)
Arterial/venosa	25/4 (86/14)
Inmovilización	61 (24)
Otra neoplasia	9 (4)
<i>Histología</i>	
Linfoma de Hodgkin	41 (16)
Linfoma agresivo	105 (42)
Linfoma no agresivo	97 (39)
Linfoma T	7 (3)
<i>ECOG</i>	
0-2	237 (95)
3-4	13 (5)
<i>Estadio Ann Arbor</i>	
I-II	89 (36)
III-IV	161 (64)
Síntomas B	94 (38)
Masa Bulky Bulky	50 (20)
Localización extranodal	117 (47)
Masa medianística	20 (8)
Afectación SNC	7 (3)
<i>Riesgo</i>	
Bajo	109 (44)
Intermedio	82 (32)
Alto	59 (24)
<i>Valores de laboratorio basales</i>	
Plaquetas × 10 ⁹ /L (mediana, rango)	262 (27-680)
Hemoglobina g/L (mediana, rango)	130 (61-185)
Neutrófilos × 10 ⁹ /L (mediana, rango)	4,9 (0,7-17)
Catéter venoso central	126 (51)
<i>Tratamiento</i>	
Quimioterapia (QT)	176 (70)
Radioterapia (RT)	12 (5)
QT+RT	18 (7)
Cirugía	3 (1)
No tratamiento	41 (16)
<i>Quimioterapia (QT)</i>	
RCHOP	91 (36)
Rbenda	25 (10)
ABVD	35 (14)
EPOCH	4 (2)
HYPERCVAD	5 (2)
Otros	34 (13)

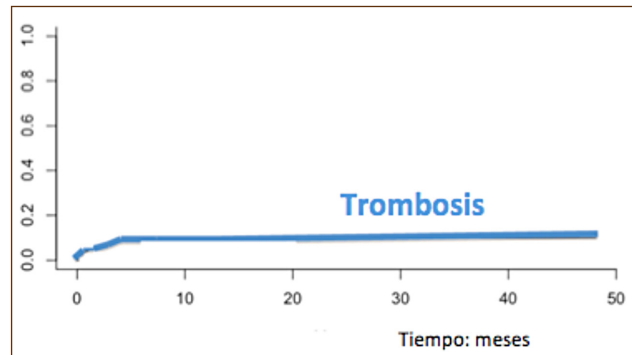


Figura 1. Incidencia acumulada de trombosis.

Tabla II. Características de pacientes con trombosis					
	n (%)	Análisis univariante		Análisis multivariante	
		HR	p valor	HR	p valor
Trombosis	23 (100)				
Hombre/Mujer	12/11 (52/48)	0,968	NS		
Edad (mediana, rango)	68 (41-91)				
HTA	10 (43)	1,39	NS		
DM	5 (22)	1,26	NS		
DL	10 (43)	2,036	NS		
IMCI > 30 kg/m ²	6 (26)	1,25	NS		
<i>Trombosis previa</i>	9 (39)	5,8	0,000	5,22	0,000
Arterial/venosa	5/4 (22/17)				
Inmovilización	12 (52)	4,09	0,001	3,59	0,0048
Otra neoplasia	3 (13)	4,02	0,013	5,05	0,025
<i>Histología</i>					
Linfoma Hodgkin	4 (17)	1,25	NS		
Linfoma agresivo	14 (61)	4,02	0,007	3,81	0,012
Linfoma indolente	5 (22)	0,39	NS		
<i>ECOG</i>					
0-2	19 (82)	1,62	0,007	1,03	NS
3-4	4 (18)				
<i>Estadio Ann Arbor</i>					
I-II	9 (40)				
III-IV	14 (60)				
Síntomas B	11 (48)				
Masa Bulky	6 (26)	1,46	NS		
Localización extranodal	12 (52)	1,28	NS		
Afectación mediastínica	3 (13)	1,76	NS		
Afectación SNC	2 (8)				
<i>Valores de laboratorio basales</i>					
Plaquetas (media)	241000	1,023	0	1,03	0,0000
Hemoglobina (media)	13	0,985	NS		
Neutrófilos (media)	5095	1	NS		
Catéter venoso central	17 (74)	2,87	0,026	1,85	NS
<i>Tratamiento</i>					
Quimioterapia (QT)	21 (92)				
QT+RT	2 (8)				

lante tuvieron complicaciones hemorrágicas (hematoma glúteo). No se observó sangrado en pacientes con profilaxis.

Conclusiones: En nuestro estudio, las variables que de forma independiente se asocian con trombosis fueron el tipo de enfermedad, la presencia de trombosis previa, histología, inmovilización, y neoplasia concomitante. Un contaje alto de plaquetas podría conferir un aumento del riesgo. La terapia antiagregante no es adecuada para proteger a los pacientes y el ajuste de las dosis terapéuticas anticoagulantes no se ha asociado con retrombosis. Consideramos que la recaída debe tenerse en cuenta como factor de riesgo para desarrollar un evento trombotico.

PC-439 Generación de trombina en pacientes con anticoagulante lúpico sin antecedente trombotico

Velasco Rodríguez D., Vidal Laso R., García Raso A., Martín Herrero S., López Romero L. F., de la Plaza R., Mínguez D., Llamas Sillero P.

Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz, Madrid

Introducción: El anticoagulante lúpico (AL) se define como el efecto *in vitro* producido por un grupo heterogéneo de inmunoglobulinas, que prolongan uno o varios de los tiempos de coagulación dependientes de fosfolípidos. In vivo, estos anticuerpos se pueden asociar a eventos tromboembólicos y/o complicaciones gestacionales recurrentes. En varios estados de trombofilia se ha observado un estado de hipercoagulabilidad plasmática, relacionado con un exceso de generación de trombina.

Objetivos: a) Realizar un Test de Generación de Trombina (TGT) a una cohorte de pacientes con presencia de AL para ver si se asocia a un estado de hipercoagulabilidad; y b) Evaluar si el tratamiento antiagregante influye en la cantidad de trombina generada.

Métodos: Estudio preliminar de 20 pacientes (continúa el reclutamiento) con presencia de AL positivo, diagnosticados mediante los test del veneno de víbora de Russell (dRVVT) y Sílica clotting time (SCT) realizados en el analizador ACL TOP (Werfen). Se consideró un test de AL positivo en caso de ratio normalizada dRVVT > 1.2 y/o ratio normalizada SCT > 1.3, según los rangos de nuestro laboratorio (1.6-1.9: AL positivo moderado; = 2: positivo fuerte). Sólo en 8 (40%) se determinaron Ac anti-cardiolipina y Ac anti-β₂-glicoproteína, de los cuales 2 fueron dobles positivos. No hubo triples positivos. Se incluyeron además 19 controles sanos, sin enfermedades crónicas o inflamatorias, sin anticoagulante lúpico circulante. A todos ellos (n = 39) se les realizó un TGT en el analizador STG-Genesisii (Stago). Parámetros analizados: tiempo de latencia (TL), pico máximo (PM), tiempo para alcanzar el pico máximo (Tmax), velocidad (Vel) y potencial endógeno de trombina (PET). Se utilizó la U de Mann-Whitney para analizar las diferencias en dichos parámetros entre casos y controles. 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, USA).

Resultados: Grado de positividad del AL: 17 fuertes (85%) y 3 moderados (15%). Un 45% (9 casos, sólo 2 de ellos con trombosis/ abortos previos) estaban en tratamiento con antiagregante y un 55% (11 casos) no lo estaban. Ninguno estaba anticoagulado. En comparación con los controles, las muestras con AL presentaron diferencias estadísticamente significativas en: mayor TL (4.05 min vs 3.17 min, p = 0,04), mayor PET (1115 nM.min vs 943.4 nM.min, p = 0,005), mayor PM (160.6 nM vs 116.84 nM, p = 0,02) y mayor Vel (63.14 nM/min vs 40.22 nM/min, p = 0,011). Los individuos con AL antiagregados respecto a los no antiagregados mostraron un PET significativamente menor (878.4 vs 1115, p = 0,043), sin diferencias en resto de parámetros. Respecto a los controles, los casos con AL antiagregados mostraron un TL significativamente mayor (p < 00001) y una mayor Vel (p = 0,039), pero sin diferencias en PET y PM (Fig. 1).

Conclusiones: Los pacientes con AL moderado-fuerte no antiagregados generan más cantidad de trombina (mayor PET y mayor PM) y a más velocidad que individuos sin AL aunque el inicio en la generación de trombina es más retardado. La antiagregación disminuye la cantidad de trombina generada a niveles similares a los controles sin AL. Es necesario validar estos resultados en una cohorte más numerosa y realizar seguimiento clínico para correlacionar estos hallazgos con la aparición de eventos tromboticos.

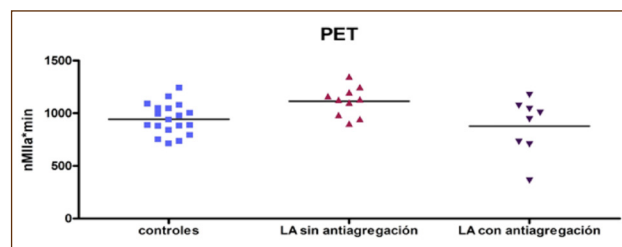


Figura 1.

PC-440 Profilaxis tromboembólica en pacientes en tratamiento con lenalidomida y diagnóstico de mieloma múltiple: experiencia en nuestro centro

Herruzo Delgado B. I., García Díez M., García-Donas Gabaldón G., Montero Benítez J., de la Torre Corona L., Domínguez Velasco N., Rodríguez Fernández A.

Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla

Introducción: La Lenalidomida es un agente con efecto anti-neoplásico, antiangiogénico e inmunomodulador con indicación terapéutica en patologías como el Mieloma Múltiple (MM), los Síndromes Mielodisplásicos con delección 5q- y algunos subtipos de Linfoma no Hodgkin. Su empleo (especialmente en combinación con dexametasona) se asocia con un incremento del riesgo de enfermedad tromboembólica (ETE) tanto arterial como venosa por

un mecanismo aún no establecido. Por ello, durante el tratamiento con Lenalidomida se recomienda vigilar signos de ETE y realizar tromboprofilaxis adaptada al riesgo del paciente.

Objetivo: Análisis descriptivo de la experiencia en nuestro centro en pacientes con Lenalidomida, la profilaxis tromboembólica instaurada y los eventos tromboembólicos acontecidos, así como los resultados de ajustar la dosis de HBPM en base a los niveles de anti-Xa.

Método: Se analizaron los datos de los pacientes tratados con Lenalidomida en nuestro centro desde el año 2009 diagnosticados de MM atendiendo a la profilaxis indicada y la aparición de ETE durante el tratamiento, junto con los niveles de anti-Xa de los pacientes que recibieron HBPM y si precisaron ajuste de dosis.

Resultados: Contamos con datos de 48 pacientes con MM tratados con Lenalidomida. 31 pacientes han realizado tromboprofilaxis con HBPM a dosis profilácticas (65%). De estos 31 pacientes se han determinado niveles de anti-Xa en 11, precisando aumento de dosis por encontrarse debajo de rango 7 de ellos (un 63% de los monitorizados) (Tabla I). Otros 8 pacientes han realizado profilaxis con AAS (16%). Los 9 pacientes restantes (9%) se encontraban en tratamiento previo con anticoagulantes orales que mantuvieron durante el tratamiento con Lenalidomida. Se han objetivado 4 eventos de enfermedad tromboembólica (un 8% del total de pacientes): 2 eventos de trombosis venosa profunda (TVP), 1 tromboembolismo pulmonar (TEP) y 1 accidente cerebrovascular (ACV). Los dos episodios de TVP recibían profilaxis previa con AAS, el TEP se diagnosticó simultáneamente a una FA y realizaba profilaxis con AAS y HBPM conjuntamente y el paciente que sufrió el ACV estaba anticoagulado por una FA. En la figura 1 se recogen los eventos descritos y la profilaxis que realizaban. No se objetivaron eventos hemorrágicos en este tiempo.

Conclusiones: Nuestra serie de pacientes es corta y sería preciso confirmar estos datos con estudios más amplios, pero desde nuestra experiencia podemos extraer varias conclusiones. En primer lugar, que la profilaxis con AAS no es eficaz en la prevención de ETE. En segundo lugar, que consideramos útil la monitorización de anti-Xa para ajustar la dosis de HBPM profiláctica (considerando además otros factores como la presencia de citopenias, la función renal y el desarrollo de posibles resistencias a HBPM), pues más de la mitad de los pacientes precisaron un aumento de la misma y ninguno de los pacientes con dosis óptima de HBPM sufrieron eventos. Por último, que la profilaxis de ETE no ha supuesto un incremento del riesgo hemorrágico en nuestros pacientes.

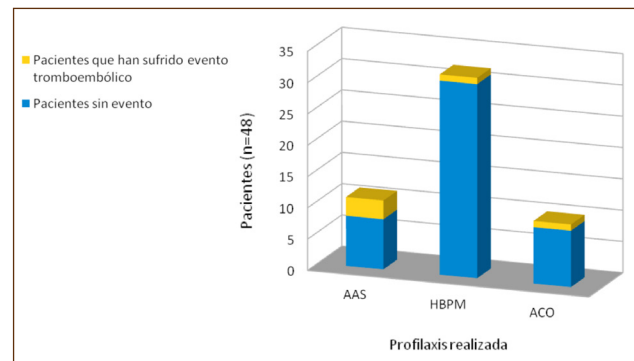


Figura 1.

Tabla I. Monitorización de HBPM en pacientes con lenalidomida

	Creatinina (mg/dL)	1.ª dosis HBPM	AXA	2.ª dosis HBPM	AXA	3.ª dosis HBPM	AXA	4.ª dosis HBPM	AXA	5.ª dosis HBPM	AXA
Paciente 1	0,99	Clexane 40 mg/24 h	0,4								
Paciente 2	0,54	Clexane 40 mg/24 h	0,1	Clexane 60 mg/24 h	0,5						
Paciente 3	0,58	Clexane 40 mg/24 h	0,4								
Paciente 4	0,66	Hibor 3.500 UI/24 h	0,9		0,9	Hibor 2.500 UI/24 h	0,7	Clexane 40 mg/24 h	0,9	Clexane 20 mg/24 h	0,4
Paciente 5	0,89	Clexane 40 mg/24 h	0,4								
Paciente 6	4,78	Clexane 20 mg/24 h	0,2	Clexane 40 mg/12 h	0,4						
Paciente 7	0,69	Clexane 40 mg/24 h	0,4								
Paciente 8	0,66	Clexane 40 mg/24 h	0,3	Clexane 60 mg/24 h	0,4						
Paciente 9	0,7	Clexane 40 mg/24 h	0,2	Clexane 60 mg/24 h	0,5						
Paciente 10	0,72	Innohep 4.500 UI/24 h	0,1	Innohep 8.000 UI/24 h	0,4	Innohep 8.000 UI/24 h	0,3				
Paciente 11	1,03	Clexane 60 mg/24 h	0,4								

PC-441 Incidencia de eventos tromboembólicos en pacientes ingresados en un servicio de hematología

Sarrate García E.¹, Franch Sarto M.¹, Sorigué Tomàs M.¹, García Calduch O.¹, Triguero Moreno A.¹, Peña Domingo M.¹, Sitges Arriaga M.¹, Gener Rico G.¹, Santos Gómez M.¹, Vives Polo S.¹, Moreno Velázquez M.¹, Torrent Catarineu A.¹, Portal I.², López Viaplana L.³, Batlle Massana M.¹, Xicoy Cirici B.¹, Ferrà Coll C.¹, Orna Montero E.¹, Sancho Cía J. M.¹, Ribera Santasusana J. M.¹

¹Hospital Germans Trias i Pujol. ICO Badalona. Badalona, Barcelona. ²Hospital del Esperit Sant. Santa Coloma de Gramanet, Barcelona. ³Hospital de Mataró. Mataró, Barcelona

Introducción: El ingreso hospitalario es un factor de riesgo para la enfermedad tromboembólica (ETV), tanto en población general como en pacientes con cáncer. Sin embargo, este hecho no ha sido establecido específicamente en pacientes con hemopatía. El presente estudio analizó la incidencia de eventos tromboembólicos en pacientes ingresados en un servicio de hematología.

Métodos: Estudio prospectivo unicéntrico que incluye todos los pacientes ingresados en un servicio de hematología desde diciembre de 2017 hasta abril de 2018. Se recogieron los factores de riesgo hemorrágico y trombótico clásicos de cada paciente e ingreso, así como la incidencia de eventos tromboembólicos desde el ingreso hasta los 30 días del alta.

Resultados: Se incluyeron 99 pacientes (59% varones, mediana de edad 64,8 años [rango intercuartílico 48-72,5]) y 140 ingresos. El 25% presentaba una leucemia aguda mieloblástica/síndrome mielodisplásico de alto riesgo, el 25% un linfoma de alto grado de malignidad, el 20% gammopatías monoclonales, el 13% un linfoma de bajo grado de malignidad y el 17% restante otra enfermedad. Los motivos de ingreso fueron infección (46%), tratamiento antineoplásico (29%), enfermedad médica aguda no infecciosa (13%) y otros motivos (12%). La **tabla I** muestra la prevalencia de factores de riesgo de

ETV y hemorragia en la cohorte de estudio. Se detectaron 3 eventos tromboembólicos desde el ingreso hasta 30 días posteriores al alta. La incidencia acumulada de ETV fue de 2,3% (IC 95%: 0,6-6%).

Conclusiones: En esta serie de pacientes ingresados en un servicio de hematología, la mayoría con enfermedades hematológicas activas, el uso de tromboprolifaxis y la coexistencia de la mayoría de factores clásicos de riesgo de ETV fueron infrecuentes. El riesgo de eventos tromboembólicos fue bajo, lo que sugiere que la profilaxis antitrombótica en enfermedades hematológicas se debería usar de forma restrictiva. Dado el bajo número de eventos no se han podido detectar factores predictivos de ETV.

Financiado en parte por RD12/0036/0029 de RTICC, Instituto de Salud Carlos III y SGR225 (GRE).

PC-442 Niveles altos de VAMP8 se asocian al riesgo de trombosis venosa en población española femenina

Llobet D.¹, Vallvé C.¹, Tirado I.¹, Romero L.¹, Vilalta N.¹, Oliver A.², Millón J.¹, Mateo J.¹, Fontcuberta J.¹, Souto J. C.¹

¹Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. ²Fundació Puigvert. Barcelona

Introducción: La hiperreactividad plaquetar se ha asociado con trombosis venosa y arterial. Se caracteriza por un incremento de la agregación plaquetar *in vitro* después de la activación con dosis bajas de ADP i/o Epinefrina. Aparece en una distribución bimodal mostrando individuos hiporreactivos (agregación < 40%) e individuos hiperreactivos (agregación > 60%). La agregación plaquetar en respuesta a la epinefrina es absolutamente dependiente de la liberación de su contenido granular. *Human vesicle-associated membrane protein* (VAMP8) es una v-SNARE requerida para la liberación plaquetar de los gránulos y en el fenómeno de hiperreactividad plaquetar se han encontrado niveles altos.

Tabla I. Prevalencia de factores de riesgo trombótico y/o hemorrágico en esta cohorte de pacientes ingresados en un servicio de hematología (los números y porcentajes se calculan sobre el número de ingresos, n = 140)

Factores de riesgo trombótico	n = 140 (%)	Factores de riesgo hemorrágico	n = 140	Factores de riesgo trombótico y hemorrágico	n = 140 (%)
Evento tromboembólico previo	4 (3)	Profilaxis antitrombótica	14 (10)	Cáncer activo	129 (92)
Trombofilia	0	Plaquetas < 50 × 109/L al ingreso	39 (28)	Cirugía en el último mes	3 (2)
Infarto de miocardio o ictus	9 (6)	Hemorragia en los 3 meses previos	21 (15)	Insuficiencia renal (filtrado glomerular estimado < 60)	16 (11)
Tratamiento hormonal	0	Úlcera gastrointestinal activa	2 (1)	Insuficiencia hepática (INR > 1,5)	9 (7)
Enfermedad reumática	5 (4)				
Catéter venoso central	83 (59)				
Hemoglobina < 100 g/L al ingreso	71 (51)				
Ingreso en unidad de críticos	7 (5)				
Insuficiencia cardíaca	7 (5)				
Insuficiencia respiratoria	43 (31)				
Inmovilización > 3 días	37 (26)				

Objetivo: Valorar si los niveles elevados de VAMP8 incrementan el riesgo de padecer trombosis venosa.

Material y métodos: Se incluyeron 162 pacientes (80 hombres y 82 mujeres) con trombosis venosa y 195 controles (87 hombres y 108 mujeres) no emparentados, en un estudio caso-control (RETROVE) que ha sido previamente descrito en detalle (1).

VAMP 8: Se realizó con: *Human Vesicle-associated membrane protein 8 (VAMP8) ELISA kit* de CUSABIO. Las plaquetas se aislaron previamente: se lavó el plasma rico en plaquetas con solución salina y posteriormente se centrifugó a 4.500 x g durante 10 minutos. El pellet plaquetar se congeló a -40 °C. Antes de la determinación, el pellet plaquetar se resuspendió con Triton X-100 y se enfrió con hielo durante 1 hora.

Análisis estadístico: Los valores de VAMP8 se expresan en mediana y desviación intercuartil (percentiles 25 y 75). La comparación de los niveles entre pacientes y controles se realizó con el test de Mann-Whitney. Se seleccionó el P75 como punto de corte (= 1.930 pg/10⁹ PLT) de niveles de VAMP8 y se valoraron las diferencias de las frecuencias entre pacientes y controles con el test Chi-cuadrado. Se estimaron la Odds Ratio (OR) cruda y ajustada por edad, sexo y aquellos factores que han sido asociados previamente con trombosis venosa en nuestra población: Factor V Leiden y niveles de Factor VIII (percentil 90) mediante una regresión logística paso a paso. Se consideraron estadísticamente significativos los valores $p < 0,05$.

Resultados: Los pacientes presentaron valores de VAMP8 (pg/10⁹PLT) significativamente superiores a los controles Mediana: paciente 1498 vs control 1138; Percentil 25: paciente 903 vs 536 control; Percentil 75: paciente 2372 vs 1930 control ($p = 0,001$).

Así mismo, se observó un porcentaje significativamente superior de mujeres con niveles de VAMP8 >P75 66,0% vs 34%; diferencia 32%, con un riesgo trombótico asociado de 3.38 (IC95%: 1,67-6,82), el cual se mantenía después de ajustar por las distintas covariables: OR ajustada 3,19 (0,28-35,87 IC95%). Los hombres no mostraron diferencias significativas.

Conclusiones: En población española, los niveles aumentados de VAMP8 se asocian, de manera independiente, a un mayor riesgo trombótico en las mujeres. Posteriores estudios serían necesarios para confirmar estos resultados.

Bibliografía recomendada

1. Thromb Res 2017;157:162-4.
2. FIS PI12/0612 i PI15/0269

PC-443 Caracterización de vesículas extracelulares (EVs) en enfermedad arterial periférica (EAP) como marcador de trombosis

Orbe Lopategui J.¹, Roncal Mancho C.¹, Martínez Aguilar E.², Merino Fernández D.³, Sáenz de Pipaon Echarren G.¹, Fernández Alonso S.², Navarro Oviedo M. M.¹, Rodríguez García J. A.¹, Fenández Alonso L.², Páramo Fernández J. A.⁴

¹Laboratorio de Aterotrombosis. CIMA-Universidad de Navarra. CIBERCV. IdisNA. Pamplona. ²Servicio de Angiología y Cirugía Vascul. Complejo Hospitalario de

Navarra. IdisNA. Pamplona. ³Unidad de Citometría de Flujo y Separación Celular. Instituto de Investigación Sanitaria IDIVAL. Santander. ⁴Servicio de Hematología. Clínica Universidad de Navarra

Introducción: La enfermedad arterial periférica (EAP) es una de las afecciones vasculares más prevalentes en nuestro medio, y se estima que incrementará con el envejecimiento de la población, postulándose como un grave problema socio/sanitario en el futuro. Dado que estos pacientes presentan un elevado riesgo a sufrir eventos trombóticos, es necesaria la búsqueda de nuevos marcadores que ayuden a mejorar su clasificación. Se ha postulado el uso de las Vesículas Extracelulares (EV) como posible marcador de activación plaquetar en EAP. Sin embargo, existe cierta discrepancia en cuanto a si son las EV plaquetares en su totalidad o algunas de sus subpoblaciones las que ejercen este efecto. Además, es necesario establecer si EV de otros orígenes también pueden contribuir a la trombogenicidad observada en estos pacientes.

Objetivo: El objetivo de este estudio fue caracterizar las EV circulantes de pacientes con EAP sintomática según el origen celular y analizar su contenido en anexina-V.

Métodos: Se incluyeron 49 pacientes con EAP (edad media: 72 ± 9 años; 84% hombres) de los que 25 presentaban claudicación intermitente (CI) y 24 isquemia crítica (CLI). Las EVs circulantes se analizaron en plasma libre en plaquetas (PLP) por FACs (Cytotflex, Beckam Coulter) empleando anticuerpos para plaquetas (CD61/CD41, PEV), eritrocitos (CD235, EriEV), endotelio (CD62E, EndEV) y leucocitos (CD61b, LeuEV). El contenido en fosfatidilserina se determinó con Anexina-V. Se midió la actividad procoagulante de las EVs en un subgrupo de pacientes ($n = 25$, tiempo de coagulación 60,7 ± 13,7 seg) con el kit STA-Procoag-PPL (STAGO).

Resultados: Las EV circulantes más abundantes fueron las PEV (318 ± 635 EVs/μL), seguidas de la EriEVs (94 ± 101 EVs/μL), las EndEVs (50 ± 38 EVs/μL) y las LeuEV (44 ± 137 EVs/μL). La distribución de EV positivas para Anexina-V variaba según el origen celular observándose que el 85% de las PEV y EriEV eran Anexina-V positivas, mientras que el porcentaje era inferior en las EndEV (70%) y LeuEV (40%). No se observaron asociaciones significativas entre las EV de distintos orígenes celulares y el tiempo de coagulación. Sin embargo, el porcentaje de PEVsAnexina-V+ se asociaba de forma marginal e inversa al tiempo de coagulación ($r = -0,372$, $p = 0,067$). Para determinar si existía una asociación entre EV circulantes y la severidad de la EAP, se realizó un análisis adicional separando los pacientes en CI ($n = 25$) y CLI ($n = 24$). Se observó una ligera reducción no significativa en pacientes críticos frente a claudicantes en PEV (EVs/μL: 451 ± 852 CI vs 180 ± 215 CLI), EriEVs (EVs/μL: 112 ± 130 CI vs 75 ± 53 CLI) y EndEVs (EVs/μL: 55 ± 46 CI vs 44 ± 26 CLI), mientras que las LeuEVs presentaban la tendencia contraria (EVs/μL: 24 ± 20 CI vs 64 ± 194 CLI).

Conclusiones: En pacientes con EAP existe una distribución diferencial de EV en función del origen celular y su carga en fosfatidilserina. Teniendo en cuenta que una alta proporción son de naturaleza procoagulante, pueden ser de gran utilidad como marcadores trombóticos en pacientes con EAP.

Fuentes de financiación: Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER), Ministerio de economía y competitividad, Instituto de Salud Carlos III ([FIS PI14/01152 y CIBER-CV [CB16/1/00371]).

PC-444 En la apnea del sueño existe un estado hipercoagulable que podría contribuir al aumento de la incidencia de eventos trombóticos en estos pacientes

Fernández Bello I., Monzón Manzano E., Justo Sanz R., Cubillos Zapata C., Balbás García C., Jiménez Yuste V., García Río F., Butta Coll N.

Hospital Universitario La Paz-IdiPAZ. Madrid

Introducción: El síndrome de la apnea del sueño se caracteriza por somnolencia diurna excesiva y alteraciones cardíacas y metabólicas como consecuencia de repetidas obstrucciones de la vía aérea durante el sueño. La enfermedad puede cursar con trombosis reconociéndose un incremento de la mortalidad asociada a la misma. Las técnicas de evaluación global de la hemostasia tales como la tromboelastometría rotacional (ROTEM) y la trombinografía automática calibrada (CAT) han sido utilizadas con éxito para el estudio de estados protrombóticos asociados a diferentes patologías por lo que anticipamos que estas técnicas podrían ser de utilidad para diagnosticar un estado hipercoagulable en estos pacientes.

Métodos: Se incluyeron 13 pacientes diagnosticados de apnea del sueño en el Servicio de Neumología del Hospital Universitario La Paz y 34 controles sanos reclutados en la Unidad de Donantes del mismo Hospital. La capacidad hemostática de los sujetos se determinó mediante la evaluación de la generación de trombina utilizando el CAT con muestras en fresco (plas-

ma pobre en plaquetas obtenido tras doble centrifugación de sangre completa a 2.500 g, 20 minutos y 24 °C) y el ROTEM (ROTEM® Gamma, Tem Innovations GmbH, España) utilizando sangre completa y activación mediante recalcificación (naTEM®, Tem Innovations GmbH, España). El análisis estadístico de los datos se realizó con SPSS v.17.0. La significancia estadística se estableció en $p < 0,05$.

Resultados: No existieron diferencias significativas entre las edades de ambos grupos. Los pacientes presentaban síndrome ansioso-depresivo (15%), cardiopatía isquémica (8%), dislipemias (38%), hipertensión arterial (69%) y una baja presión de oxígeno mínima durante el sueño (pacientes: 76 ± 8 % vs controles: 89 ± 1 %; $p < 0,001$) indicando presencia de hipoxia. En la figura 1 se muestran los valores obtenidos para los parámetros del ROTEM y el CAT. En los pacientes con apnea del sueño se observó un incremento en la velocidad de formación y fortaleza del coágulo y en la generación de trombina, debido esta última a un aumento en los niveles plasmáticos de micropartículas.

Conclusiones: Los pacientes con apnea del sueño presentan un estado hipercoagulable que se evidencia con un acortamiento en el tiempo de coagulación y una mayor fortaleza del coágulo. Esto podría estar relacionado con una mayor capacidad de generación de trombina debido a un incremento en la cantidad de micropartículas en el plasma. El estudio sugiere que tanto el ROTEM como el CAT podrían ser técnicas útiles para caracterizar el estado protrombótico en estos pacientes.

Financiación: FIS-FONDOS FEDER (PI15/01457 y CP14/00024).

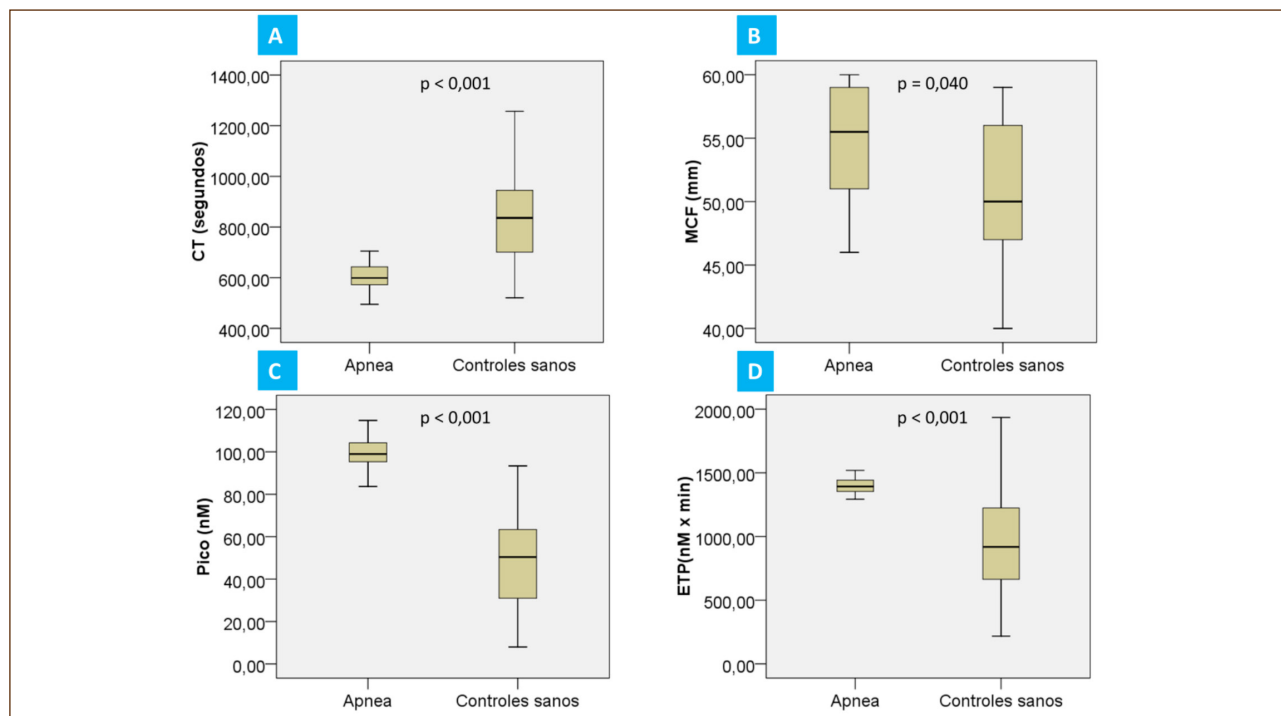


Figura 1. Las gráficas representan los valores obtenidos en el ROTEM. A: tiempo de coagulación (CT). B: máxima fortaleza del coágulo (MCF) y en el test de generación de trombina (CAT): C: Máxima concentración de trombina (Pico). D: Potencial endógeno de trombina (ETP).

PC-445 Análisis de las características plaquetarias de los pacientes con apnea obstructiva del sueño

Justo Sanz R.¹, Monzón Manzano E.¹, Fernández Bello I.¹, Cubillos Zapata C.², Balbás García C.², Jiménez Yuste V.¹, García Río F.², Butta Coll N.¹

¹Grupo de Coagulopatías y Alteraciones de la Hemostasia. Unidad de Hematología; y ²Grupo de Enfermedades Respiratorias. Unidad de Neumología. Hospital Universitario La Paz-IdiPAZ. Madrid

Introducción: La apnea obstructiva del sueño (AOS) es un trastorno que se caracteriza por una obstrucción repetida de la vía aérea superior durante el sueño produciendo un estado de hipoxemia intermitente en los pacientes. Las consecuencias inmediatas de ésta son, entre otras, un aumento del estrés oxidativo, daño endotelial y la generación de un estado proinflamatorio y pro-trombogénico.

Objetivo: El objetivo del trabajo es estudiar las características de las plaquetas de los pacientes con AOS.

Materiales y métodos: Se incluyeron 16 pacientes con AOS y 59 sujetos sanos como grupo control. La activación del receptor de fibrinógeno (Fg) (unión de PAC-1) y la exposición de P-selectina y CD63 en la superficie de las plaquetas, en estado basal y tras la activación con los agonistas TRAP 100 µM y ADP 10 µM se evaluó por citometría de flujo (CMF). Se analizaron los receptores de la superficie de las plaquetas mediante CMF usando los mAb específicos contra las subunidades del receptor de Fg y las subunidades del receptor para el factor de Von Willebrand (FvW).

La apoptosis plaquetaria se analizó evaluando la unión de anexina V-FITC a la fosfatidilserina (PS) expuesta en la superficie plaquetaria y la actividad de las caspasas -3/7, -8 y -9 por CMF. El análisis estadístico se realizó con GraphPad Prism v5.03.

Resultados: No se observaron diferencias en la expresión de los marcadores de activación plaquetaria tras la activación con TRAP y ADP (Tabla I). No obstante, existía un aumento en la expresión de P-selectina basal en la superficie plaquetaria de los pacientes con AOS (Imagen 1). En los AOS no hubo diferencias con los controles en la expresión del receptor de Fg ni en la subunidad CD42b del receptor para el FvW, pero sí un aumento de la subunidad CD42a (Fig. 1).

La exposición superficial de PS en los pacientes con AOS en condiciones basales y tras la estimulación con TRAP fue mayor que en los controles (Fig. 1) pero no hubo diferencias en la actividad de las caspasas (Tabla II).

Tabla I	Paciente AOS	Control
PAC-1 TRAP (UA)	3413 (1579-6798)	3622(2408-5353)
PAC-1 ADP (UA)	4466 ± 1824	4597 ± 2134
P-SELECTINA TRAP (UA)	4513 (2695-8148)	3873 (3310-4704)
P-SELECTINA ADP (UA)	969,2 ± 387,4	955,8 ± 501,3
CD63 TRAP (UA)	1833 (1066-3074)	1704 (1214-2102)
PAC-1 BASAL + RGDS (UA)	6,800 (4,35-17,30)	5,10 (2,8-19,35)

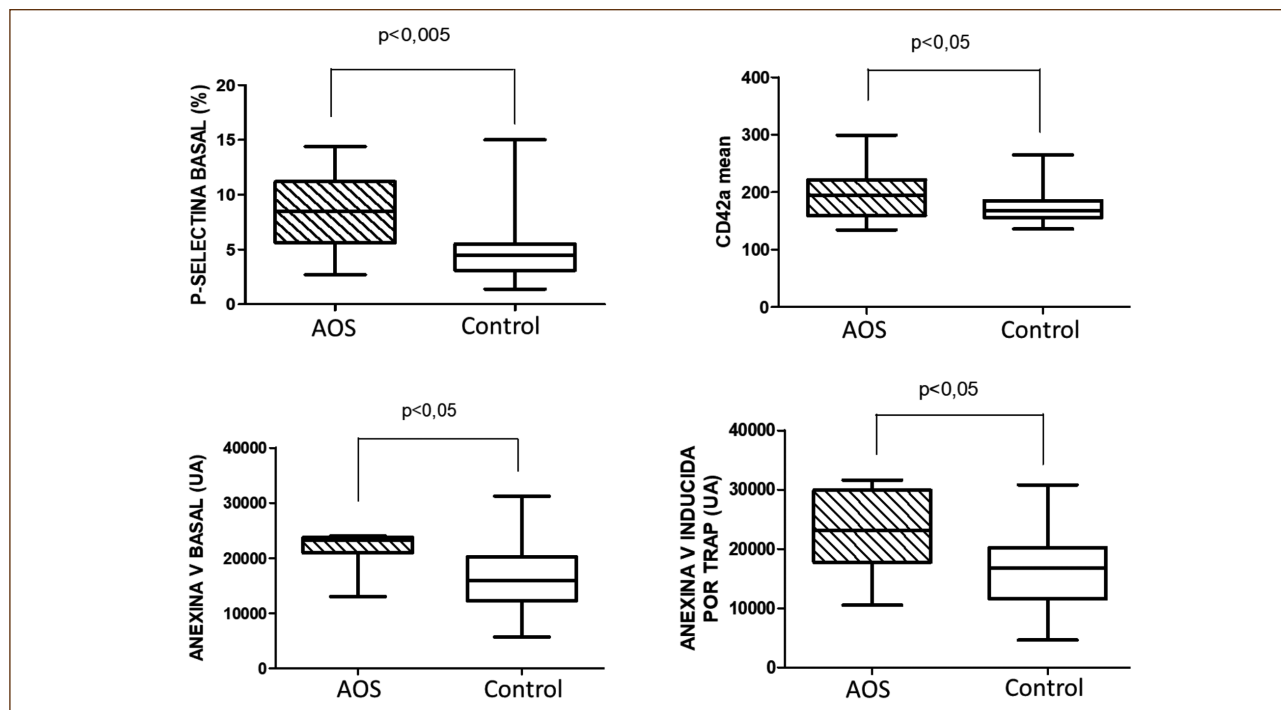


Figura 1.

Tabla II. Los datos se expresan como media \pm SD o mediana (percentiles 25-75%)

	Paciente AOS	Control
Caspasa 3/7 (%)	47,50 \pm 7,108	51,68 \pm 7,964
Caspasa 8 (%)	51,41 \pm 13,55	52,16 \pm 11,80
Caspasa 9 (%)	50,35 (46,10-57,50)	52,30 (48,18-56,15)

Conclusión: Los pacientes con AOS presentaron un aumento de P-selectina y PS en la superficie de las plaquetas en condiciones basales. El aumento de expresión de P-selectina incrementaría la interacción entre células blancas y plaquetas a través del ligando PSGL-1 de los linfocitos lo que podría inducir el daño endotelial y explicar en parte la fisiopatología de la enfermedad. El aumento de exposición de PS no está relacionado con un aumento en la activación ni apoptosis de las plaquetas.

Financiado por FIS-FONDOS FEDER (PI15/01457 y CPI4/00024,NB).

PC-446 Identificación por NGS de una heterocigosis compuesta en el gen del plasminógeno (PLG) en una paciente con conjuntivitis leñosa

Moret A.¹, Zúñiga Á.², Ibáñez M.², Ferrando F.¹, Blanquer A.¹, Cid A. R.¹, Haya S.¹, Bonanad S.¹

¹Unidad de Hemostasia y Trombosis; y ²Servicio de Genética. Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia

Introducción: El plasminógeno es una proteína circulante la cual, tras la acción de activadores, se transforma en plasmina, una enzima proteasa que degrada la fibrina. Aparte de poder constituir un riesgo protrombótico, la deficiencia grave de plasminógeno puede producir depósitos de fibrina en las mucosas de diferentes órganos. La conjuntivitis leñosa es un raro trastorno ocular caracterizado por la formación de pseudomembranas ricas en fibrina, principalmente en la conjuntiva del tarso superior. El déficit de plasminógeno es poco frecuente y puede ser hereditario o adquirido. La prevalencia de la deficiencia congénita de plasminógeno se ha estimado en 1,6 por millón de personas, aunque se considera infradiagnosticada. La deficiencia congénita de plasminógeno está causada por mutaciones en el gen PLG localizado en el cromosoma 6. El gen PLG tiene 19 exones y 52,5 Kb.

Caso clínico: Paciente de sexo femenino de 52 años que acudió a oftalmología por una tumoración en el párpado del ojo izquierdo con cierta ptosis palpebral. Tras una biopsia de fragmentos de la conjuntiva se le diagnosticó una conjuntivitis leñosa. Se envió a la unidad de hemostasia y trombosis para el estudio de déficit de plasminógeno donde se decidió realizarle un análisis genético.

Métodos: Para la secuenciación se empleó la tecnología Illumina (NextSeq 500). Se utilizó 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) y variantes encontradas en población sana y descritas como benignas.

Resultados: Paciente heterocigoto compuesto para las variantes:

- Variante c.266G>A (p.Arg89Lys; NM_000301.3) en el exón 3 del gen PLG. Dicha variante no está descrita en las bases de datos consultadas. Tampoco está recogida en las bases poblaciones 1000G, ExAC ni gnomAD. Se clasifica como variante de significado clínico incierto.
- Variante c.758G>A (p.Arg253His; NM_000301.3) en el exón 7 del gen PLG. Dicha variante está clasificada en las bases de datos consultadas como patológica.

Conclusiones: La deficiencia de plasminógeno puede desencadenar depósitos de fibrina en las mucosas, principalmente en la conjuntiva. La deficiencia del plasminógeno está infradiagnosticada. La secuenciación NGS del gen PLG puede ayudar en la identificación de defectos congénitos del plasminógeno.

PC-447 Seguridad y eficacia de las dosis reducidas de anticoagulantes orales de acción directa (ACOD). Datos del estudio prospectivo *Real Life Cohort* del Hospital Vall d'Hebron

Johansson E., Cerdá M., Cerezo-Manchado J. J., Fernández M., Martínez M. F., Martín L., Bosch F., Santamaría A.

Hospital Vall d'Hebron. Barcelona

Introducción: Los ensayos que dieron lugar a la aprobación de los ACOD en los pacientes con fibrilación auricular no valvular (FANV) tienen una baja representación de pacientes tratados con dosis reducidas de estos fármacos. Con el fin de analizar su evolución clínica en la práctica clínica habitual, se estudiaron los pacientes tratados con dosis reducidas e incluidos en el estudio observacional *Real Life Cohort Vall d'Hebron*.

Métodos: El estudio *Real Life Cohort Vall d'Hebron* es un estudio observacional y prospectivo en el que participaron todos los pacientes con FANV, con o sin ictus previo, de la Unidad de Tratamiento Anticoagulante Oral que habían comenzado el tratamiento con cualquier ACOD para la prevención de ictus entre enero de 2015 y septiembre de 2017. Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética de Investigación Clínica del hospital y el consentimiento informado por escrito fue dado por todos los pacientes antes de ser incluidos en el estudio. Los pacientes fueron seguidos hasta discontinuación del fármaco o hasta el último seguimiento. La dosis de ACOD y su indicación fue elegida a criterio clínico. Se evaluaron las características clínicas de los pacientes, así como la efectividad y seguridad de los ACOD. Las variables principales investigadas fueron la tasa de eventos tromboembólicos (eventos por 100 pacientes/año) y la tasa de sangrados mayores (eventos por 100 pacientes/año), definidos según los criterios de la ISTH 2005.

Resultados: Se incluyeron 1.443 pacientes en el estudio durante el periodo de reclutamiento. Un total de 804 (55,7%) pacientes tomaban la dosis estándar de ACOD y 639 (44,3%)

la dosis reducida. En comparación con los pacientes que tomaban la dosis estándar, los pacientes con dosis bajas eran mayores ($75,9 \pm 9,7$ vs $79,3 \pm 9,4$; $p < 0,001$), tenían un puntaje CHA_2DS_2-VASc más alto ($3,9 \pm 1,5$ vs $4,3 \pm 1,5$; $p < 0,001$), más hipertensión, insuficiencia renal o insuficiencia cardíaca. Del total de pacientes con dosis reducidas, 164 (25,0%) tomaron Rivaroxaban, 290 (45,4%) Dabigatran, 165 (25,5%) Apixaban y 20 (3,1%) Edoxaban. Si analizamos las dosis reducidas dentro de cada ACOD encontramos un 24%, 82%, 50% y 20% de pacientes con dosis baja, respectivamente. Las tasas de accidente cerebrovascular isquémico, hemorragia mayor y hemorragia intracraneal fueron de 10, 54 y 02 eventos por 100 pacientes-año, respectivamente, siendo los sangrados mayores más frecuentes en este grupo comparado con el de dosis estándar (11,8% vs 4,2%; $p = 0,001$, respectivamente). Solo se observaron cuatro casos de hemorragia intracraneal, dos en pacientes con 110 mg de Dabigatran y en otros dos que tomaban 2,5 mg de Apixaban.

Conclusiones: En la cohorte *Real Life Cohort Vall d'Hebron* la efectividad de las dosis reducidas es similar a la de dosis estándar. Sin embargo, se observa un aumento del sangrado mayor en los pacientes con dosis reducidas, debido probablemente a un mayor número de comorbilidades de este subgrupo comparado con el de dosis estándar.

PC-448 Análisis descriptivo de las trombosis esplánicas tratadas en nuestro servicio en la última década

Martí de Talavera J., Gómez Toboso D., Lorente Alegre P., Herrera de Pablo E., Tejada Chaves C. D., Panero Ruiz M., Benet Campos C., López Chuliá F.

Hospital Universitari Arnau de Vilanova. Lleida

Introducción: El término “trombosis venosa esplánica” engloba a todas aquellas trombosis que afectan a las venas suprahepáticas y al eje venoso portal, en concreto, a las venas mesentérica superior e inferior, esplénica y portal. Se les considera atípicas dada la menor incidencia con respecto a la trombosis venosa profunda en miembros inferiores y el tromboembolismo pulmonar. Las más importantes tanto por frecuencia como por gravedad, son la trombosis portal y el síndrome de Budd-Chiari.

La trombosis esplánica aguda puede presentar síntomas al diagnóstico, pero lo más frecuente es que sea un proceso asintomático que se diagnostica como un hallazgo incidental en el contexto de un estudio diagnóstico de una patología asociada, las causas más frecuentes de este tipo de trombosis son la cirrosis hepática y el cáncer, representando dos tercios del total de casos, respecto al tercio restante, hasta en un 60% se identifican factores trombogénicos sistémicos, y hasta en un 30-40% hay factores locales predisponentes. Asimismo, cabe destacar la relación existente con neoplasias mieloproliferativas crónicas (NMPC).

El tratamiento anticoagulante disminuye el riesgo de progresión y recurrencia, con un riesgo hemorrágico que no se describe como excesivo en las distintas series publicadas en la literatura, es por esto que existe un consenso generalizado a favor del tratamiento activo de estas trombosis a excepción de los casos asintomáticos en pacientes con un elevado riesgo hemorrágico.

Objetivo: El objetivo principal del estudio fue evaluar los factores de riesgo relacionados con el proceso trombótico, así como el pronóstico vital asociado al diagnóstico, también se revisaron las complicaciones del tratamiento anticoagulante, así como otras variables clínicas y analíticas de posible interés.

Material y métodos: Se trata de un estudio observacional, descriptivo y retrospectivo sobre las trombosis esplánicas tratadas y registradas en nuestro servicio desde 2008 a 2017, con un total de 97 casos registrados.

Resultados: Se analizaron 97 pacientes con diagnóstico de trombosis esplánica que recibieron tratamiento anticoagulante, las principales características de los pacientes y las causas predisponentes se resumen en la [tabla I](#).

La mayoría de trombosis no presentaron sintomatología propia, presentando, en muchos casos síntomas atribuibles a la enfermedad subyacente.

El tratamiento inicial se realizó con HBPM, un 60% de pacientes iniciaron posteriormente tratamiento con AVK (con gran heterogeneidad en lo referente al tiempo de tratamiento en que se realizó el cambio).

Se reportaron escasas complicaciones hemorrágicas graves, así 22 pacientes presentaban al diagnóstico varices esofágicas en distintos grados evolutivos, únicamente se describe sangrado significativo no fatal en tres pacientes.

La mortalidad global de la serie fue del 46% con una OS del 54% a 5 años (IC 95%) con una clara diferencia en función de la patología subyacente descrita en la [figura 1](#).

Tabla I. Características de los pacientes

N.º de pacientes	97
Sexo (H/M)	69/28
Edad media	67 (32-100)
Plaquetas al diagnóstico (x109/l)	156 (47-768)
Éxito (%)	45 (46%)

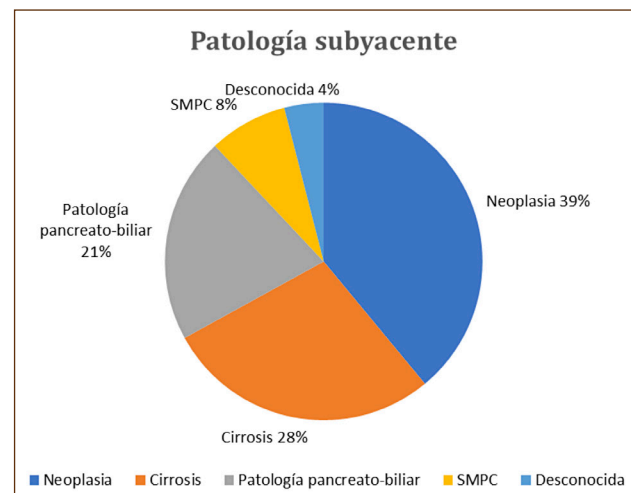


Figura 1.

Se confirma por tanto la estrecha relación del pronóstico vital con la patología basal del paciente y no tanto con la existencia de una trombosis asociada, el análisis de los datos disponibles no permite establecer diferencias sobre distinta evolución clínica en función del tipo de tratamiento anticoagulante que recibieron los pacientes, ni parece existir diferencias significativas en función de la resolución o no del proceso trombótico.

Contamos la escasa incidencia de complicaciones hemorrágicas asociadas al tratamiento a pesar de tratarse en muchos casos de pacientes con un riesgo hemorrágico significativo (Fig. 2).

Conclusiones:

1. La mayoría de trombosis se diagnosticaron como hallazgo incidental asociadas a distintas patologías subyacentes.
2. Es importante, realizar búsqueda de patologías asociadas y potencialmente graves en pacientes diagnosticados de trombosis de estos territorios atípicos.
3. El reducido número de complicaciones hemorrágicas graves reportadas refuerza la indicación de tratamiento anticoagulante inclusive en las incidentales tras una cuidadosa valoración del riesgo beneficio.
4. No podemos confirmar la asociación de este tipo de trombosis con trombofilias hereditarias dado que la práctica totalidad de los pacientes presentaban otra causa asociada predisponente y no se realizó estudio en la mayoría de ellos.
5. La elevada mortalidad descrita se asoció a la patología de base (oncológica o hepática) y no al propio proceso trombótico.

PC-449 Alteraciones y uso del estudio de trombofilia en los pacientes con enfermedad tromboembólica venosa en la toma de decisiones terapéuticas

Portal López I.¹, Culla Ginestà A.¹, Pineda Morón A.¹, Martínez Couselo S.¹, de la Red Bellvís G.¹, Sarrate García E.², Sorigué Tomás M.², Morgades de la Fe M.², Xicoy Cirici B.², Torres Salinas M.¹, Ruiz Mínguez M. A.¹, Ribera Santasusana J. M.²

¹Fundació Hospital de L'Esperit Sant. Santa Coloma de Gramenet, Barcelona.

²ICO-Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona, Barcelona. Instituto de Investigación contra la Leucemia Josep Carreras. Barcelona. Universitat Autònoma de Barcelona. Bellaterra, Barcelona

Introducción: Los eventos tromboembólicos venosos (ETE) pueden ser primarios o secundarios. Además, pueden existir alteraciones de los mecanismos de la hemostasia, como la presencia de anticuerpos y mutaciones genéticas, que aumentan el riesgo de sufrir un ETE. Es controvertida la utilidad del estudio de trombofilia en pacientes que han sufrido un ETE, con o sin causa desencadenante.

Objetivo: El objetivo de nuestro estudio es describir los ETE y su tratamiento en una serie de pacientes de un hospital comarcal y analizar las alteraciones detectadas en el estudio de trombofilia y su uso en la toma de decisiones terapéuticas.

Métodos: Se analizó el tratamiento anticoagulante y los resultados de los estudios de trombofilia realizados en pacientes que

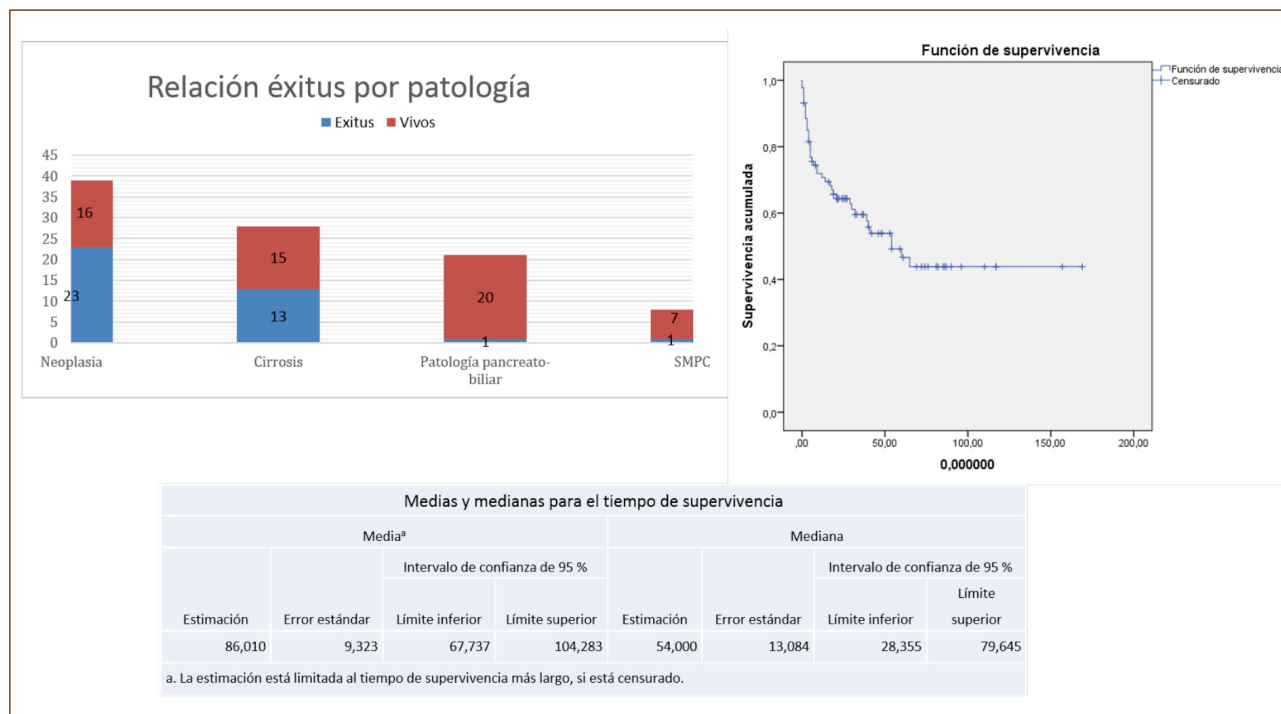


Figura 2.

habían presentado un ETEV entre los años 2013 y 2017. El estudio de trombofilia consistió en: detección de déficit de la proteína C, proteína S y antitrombina III, mutaciones Factor V Leiden y del gen de la protrombina G20210A, presencia de anticoagulante lúpico, anticuerpos anticardiolipina (Ig G e Ig M) y anticuerpos anti-β2 glicoproteína (Ig G e Ig M), y nivel de homocisteína. En los casos con hiperhomocisteinemia sin déficit vitamínico, se analizó la mutación del gen de la homocisteína.

Resultados: Se realizaron estudios de trombofilia a 139 pacientes con ETEV. La mediana (extremos) de edad fue de 73 (23-99) años y 72 (52%) pacientes eran varones. Tipo de ETEV: trombosis venosa profunda (TVP) 69 (50%), tromboembolismo pulmonar (TEP) 44 (32%), TVP y TEP 16 (11%) y trombosis en localizaciones inusuales 10 (7%) (mesentérica 4, portal 2, esplénica 1, retina 2 y espleno-porto-mesentérica 1). El ETEV era primario en 101 (73%) pacientes y secundario en 38 (27%). En el 10% y 17% de los casos existían antecedentes familiares y personales de ETEV, respectivamente.

Los resultados del estudio de trombofilia se resumen en la **tabla I**. En 71/137 (52%) de los pacientes se detectó alguna alteración en el estudio de trombofilia. No se detectaron diferencias estadísticamente significativas en el resultado del estudio de trombofilia en función de la causa del ETEV (primario 49/99 [50%] o secundario 22/38 [58%], $p = 0,378$).

Tipo de tratamiento anticoagulante: antivitaminas K 97/135 (72%), anticoagulantes de acción directa 13/135 (10%) y heparina de bajo peso molecular 25/135 (18%). Tras conocerse el resultado patológico del estudio de trombofilia, se reinició el tratamiento anticoagulante en el 40% de los pacientes. En los casos de estudio de trombofilia patológico se indicó tratamiento anticoagulante indefinido en el 68% de los pacientes. El 6% de los pacientes con estudio de trombofilia positivo presentaron re-trombosis.

Tabla I		n (%)
Déficit proteína S		5/122 (4)
Déficit proteína C		6/121 (5)
Déficit antitrombina		7/121 (6)
Mutación Factor V Leiden	Heterocigoto	7/139 (5)
	Homocigoto	0/139 (0)
Mutación gen protrombina G20210A	Heterocigoto	7/139 (5)
	Homocigoto	0/139 (0)
Anticoagulante lúpico		44/124 (35)
Ac anticardiolipina IgG		3/125 (2)
Ac anticardiolipina IgM		4/125 (3)
Ac anti-β2 glicoproteína Ig G		3/122 (2)
Ac anti-β2 glicoproteína Ig M		3/122 (2)
Aumento de homocisteína		40/121 (33)
Mutación gen homocisteína	Heterocigoto	17/32 (53)
	Homocigoto	6/32 (19)

Conclusiones: En pacientes con ETEV:

1. Se detectan alteraciones en el estudio de trombofilia en aproximadamente la mitad de los pacientes.
2. Las alteraciones más frecuentes son la presencia de anticoagulante lúpico y la hiperhomocisteinemia.
3. El estudio de trombofilia se utilizó para la toma de decisiones terapéuticas, ya que en una proporción elevada de pacientes se reinició el tratamiento anticoagulante y/o se indicó anticoagulación indefinida.

PC-450 Portadores de la variante antitrombina Cambridge II. Serie de casos. Área de salud de Badajoz

Alonso Escobar M. N., Moreno Risco B., Crespo Núñez C., Hernández Sánchez E., Restrepo Correa J., Vagace Valero J. M., Groiss Buiza J., Rincón Ferrari R., Casado Calderón S., López Santamaría R. C., Campano Val F. J., Ramos Fernández de Soria R., Cabanillas Núñez Y., de la Maya Retamar M. D.

C.H.U. Infanta Cristina Badajoz. Badajoz

Introducción: La variante antitrombina Cambridge II(ATCII) con prevalencia 0.3 % en población española y presente en el 1,7% de pacientes con enfermedad tromboembólica venosa (ETE), es consecuencia de una mutación puntual que afecta al residuo P10 del centro reactivo de esta serpin (p.Ala412Ser), molécula no adecuadamente funcionante con un residuo estructuralmente importante que no anula la función anti- Xa pero interfiere la anti-IIa..No es detectable por los métodos funcionales cromogénicos basados en antiXa.

Objetivos: Descripción retrospectiva de características demográficas, clínicas y analíticas de pacientes portadores de la variante ATCII detectados en Consulta, en Area de Salud de Badajoz en los últimos 5 años.

Métodos: Se analiza este subgrupo de pacientes, de la base de datos de la Consulta de Hemostasia de 2012 a 2017. Se recogen en los pacientes sintomáticos los antecedentes personales (AP), FRCV, anticoncepción (TH), síndrome de apnea obstructiva del sueño (SAOS), abortos (AR), niveles de factor VIII:C, antitrombina (AT), proteína C(PC), proteína S(PS), a. lúpico (AL), acs anticardiolipinas (ACA), mutación F V Leiden, FII G20210A, FXII C46T.

Resultados: Se identifican 19 pacientes (9 mujeres [M] y 10 hombres [V]), portadores de ATCII, siendo n = 8 sintomáticos, 5 tras episodio de ETEV idiopático, 1 tras trombosis venosa retina (TVR) 2 en estudio de abortos (AR):

- M 19 años, TVP femoral (F) izda, AP malformación de Arnold tipo I con papiledema bilateral sin tto y posible enfermedad desmielinizante, AT 115%.
- V 21 años, sin AP, TVP axilar dcha, Plaquetas 540000/mm³ al dg, posteriormente cifra normal, mutación V617 Jak-2 neg. AT 122%.
- M 43 años, TVP F-poplitea dcha, en tto con TH desde hacía 11 años, los 3 últimos Nuvaring, AT 81%.
- V 58 años, TVP Poplitea + TEP bilateral, AP litiasis, quistes renales, hernia discal, SAOS, DLP, Hb 17.6 gr/dl.

- V 68 años sin AP, TVP ileo-F-P .AT 96%. Se había estudiado 4 años antes, no seguía tto antitrombótico profilaxis primaria.
- M 60 años, AP DLP, trombosis arcada venosa inf retina. AT 84%.
- M 30 años, obesa, aborto 30 semanas, AT 86%. FVIII 180%, FXIIC46T heterocigosis. Acs anticardiolipina IgG pos < 40 GPL.
- M 35 años, 2 abortos 1trimestre, 1 aborto 2 trimestre. AT 90%.

Todos presentaban PC. PS normales. Ninguno presentó la mutación FVL ni FII G20210A. Los casos asintomáticos (n = 12) son diagnósticos realizados a raíz de estudio de portadores en parientes de primer grado, su AT 100- 114%, sin eventos tromboticos hasta la fecha, con recomendaciones de HBPM en situaciones de riesgo.

Conclusiones: Existen nuevas evidencias del papel pro-trombotico de la variante AT Cambrigde II. Debe considerarse en pacientes con ETEV idiopática al poder pasar inadvertida por métodos convencionales. En nuestra serie el nivel de AT por método antiXa ha sido normal, y en límites normales en dos pacientes. Un caso portador de 68 años, sin profilaxis primaria antitrombótica tuvo TVP F-P. Debe individualizarse el tto. En todos los pacientes con trombosis no existía otra alteración significativa en el estudio de trombofilia, lo que apoya más la conveniencia de ampliar el estudio y aportar este tipo de casos para su conocimiento.

PC-451 Fenotipo hemostático de individuos homocigotos para el polimorfismo C46T del gen F12 determinado mediante un test de generación de trombina

Vidal Laso R., Velasco Rodríguez D., García Raso A., Martín Herrero S., Alonso Domínguez J. M., Blas López C., de la Plaza R., López Romero L. F., Mínguez D., García López A., Llamas Sillero P.

Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz. Madrid

Introducción: Niveles plasmáticos disminuidos de FXII han sido descritos en pacientes con enfermedad tromboembólica venosa (ETEV). La variante genética C46T del gen F12 ha sido reportada como explicación de bajos niveles de factor XII en población asiática. Algunos trabajos han encontrado asociación entre esta variante genética y la ETEV, así como con el síndrome coronario agudo (SCA) y abortos de repetición en mujeres en edad fértil. Sin embargo, esto ha sido rebatido por otros autores, generándose mucha controversia sobre el posible papel de este polimorfismo en el incremento del riesgo trombotico. En varios estados de trombofilia se ha observado un estado de hipercoagulabilidad plasmática, relacionado con un exceso de generación de trombina.

Objetivo: Evaluar en una cohorte de individuos homocigotos para el polimorfismo C46T del gen F12 si tienen un aumento de la generación de trombina respecto a un grupo control.

Métodos: Estudio preliminar de 11 individuos homocigotos para el polimorfismo C46T del gen F12 (continúa el reclutamiento) no anticoagulados ni antiagregados. A todos ellos se les realizó estudio de coagulación básica y la determinación de dímero D, factor XII, factor VIII y factor von Willebrand en el analizador

ACL TOP (Werfen). El diagnóstico del polimorfismo C46T del gen F12 se realizó por PCR en tiempo real con sondas TaqMan® MGB. Se incluyeron además 19 controles sanos, sin enfermedades crónicas o inflamatorias, con estudio básico de coagulación normal, con niveles normales de factor XII. A todos ellos (n = 30) se les realizó un TGT en el analizador STG-Genesii (Stago). Parámetros analizados: tiempo de latencia (TL), pico máximo (PM), tiempo para alcanzar el pico máximo (Tmax), velocidad (Vel) y potencial endógeno de trombina (PET). Se utilizó la U de Mann-Whitney para analizar las diferencias en dichos parámetros entre casos y controles. 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, USA).

Resultados: Todos los homocigotos para el polimorfismo C46T del gen F12 presentaron niveles disminuidos de factor XII coagulante (mediana 51.9%, rango 31.2-57.5%), con niveles normales de dímero D, factor VIII coagulante y factor von Willebrand. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre homocigotos y controles en ninguno de los parámetros analizados: TL (3.02 min vs 3.17 min, p = 0.134), PM (103 nM vs 116.84 nM, p = 0,250), Tmax (7.61 min vs 7.26 min, p = 0,933), PET (935.7 nM.min vs 943.4 nM.min, p = 1,000), y Vel (31.08 nM/min vs 40.22 nM/min, p = 0,185).

Conclusiones: En los individuos homocigotos para el polimorfismo C46T del gen F12 no se ha objetivado un aumento de la generación de trombina respecto al grupo control. Estos resultados sugieren que este polimorfismo no se asocia a un estado de hipercoagulabilidad, aunque es necesario validarlos en una cohorte más numerosa.

PC-452 Enfermedad tromboembólica venosa y trasplante de médula ósea: una causa destacable de morbimortalidad y potencialmente prevenible

Rivas Luque M., Morente Constantin E., García Ruiz A., Jurado Chacón M.

Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada

Introducción: Los eventos tromboticos son frecuentes en pacientes sometidos a TPH, siendo una causa importante de morbimortalidad. La mayor incidencia tiene lugar en los primeros tres meses tras el trasplante. Existen varios factores de riesgo en estos pacientes que se suman a los ya conocidos de ETEV: neoplasia, catéteres venosos centrales, inmovilización, quimioterapia, infecciones, EICH. En las series descritas, las frecuencias son variables, entre el 0.5 y el 23.5%, con una incidencia global del 5%; en pacientes con EICH, esta incidencia aumenta, describiéndose series con hasta un 35% de eventos.

Métodos: Se ha realizado un estudio observacional retrospectivo que incluye a los pacientes trasplantados en nuestra Unidad entre los años 2014 y 2017, con objetivo de analizar la incidencia de ETEV peri TPH. Asimismo, hemos analizado la asociación o no a catéter, la presencia de FRCV, si existían antecedentes conocidos de trombofilia, la cifra de plaquetas en el momento de la trom-

bosis, la heparina utilizada y si se ha mantenido anticoagulación indefinida o no.

Resultados: De los 235 pacientes incluidos en nuestra serie, 130 han sido sometidos a trasplante autólogo y 105 a trasplante alogénico. Se han producido 18 eventos trombóticos (9 hombres y 9 mujeres, con edades comprendidas entre 18 y 65 años), lo que supone un 7,5%, de los cuales 14 han tenido lugar entre los días 0-100, 12 en pacientes sometidos a TASPE. Tres de ellas han sido TEP y el resto TVP, siendo 4 de estas asociadas a catéter. La cifra de plaquetas en el momento del evento oscila entre 21 y 409000/mm³. En cuanto a la heparina utilizada, 2 han sido tratados con Tinzaparina y el resto con Bemiparina. Solo 1 de los pacientes había presentado ETEV previa. Entre los pacientes, había algunos con FRCV y otros sin antecedentes relacionados de interés. En un paciente se había realizado estudio de trombofilia familiar previo a su diagnóstico hematológico, resultando un déficit de proteína S, y el resto no han sido estudiados. En 8 de los pacientes, se ha mantenido la anticoagulación de forma indefinida con HBPM en el postrasplante.

Conclusiones: Nuestra incidencia se aproxima a la literatura, aunque las series de casos publicadas son heterogéneas y con diferencias variables. Aunque la incidencia de trombosis en estos pacientes es causa de notable morbilidad, también en ellos está aumentado el riesgo de hemorragia, por lo que no se recomienda la profilaxis sistemática de todos los pacientes. Debemos realizar un análisis exhaustivo de los datos para identificar a los pacientes candidatos a profilaxis de forma individualizada, con objetivo de disminuir la incidencia sin elevar el riesgo hemorrágico de nuestros pacientes.

PC-453 Déficit de factor XII y trombosis: experiencia en nuestro centro

Díaz Roldán B., Domínguez Rodríguez J. F., Ruiz Cobos M. A., Fernández Moreno F., Zapata Bautista R.

Hospital Universitario Juan Ramón Jiménez. Madrid

Introducción: El déficit de factor XII es la causa más común de TPPA alargado en los estudios prequirúrgicos. Este déficit no genera un aumento del riesgo hemorrágico. Su relación con la presencia de fenómenos trombóticos es controvertida. Los últimos estudios defienden que en los casos reportados de trombosis arterial asociados al déficit de factor XII, los factores de riesgo cardiovascular (FRCV) presentes juegan un papel crucial, dejando el déficit de factor XII con un papel menor en la patogenia.

Objetivo: Estudiar la relación entre el déficit de factor XII y la trombosis tanto arterial como venosa, evaluando los FRCV en cada paciente.

Material y método: Se incluyeron a los pacientes con un TPPA alargado derivados al servicio de coagulación para su estudio entre mayo de 2016 y abril de 2018. A estos pacientes se les determinó los niveles de factor XII, así como la prevalencia de trombosis venosa o arterial en estos pacientes, y la presencia de FRCV.

Resultados: Del total de 43 pacientes un 41.86% (18 pacientes) presentaron un déficit de factor XII (definido como niveles de factor

XII menor de 60%). De los pacientes que tenían déficit de factor XII tuvieron algún evento trombótico el 33,33% (6 pacientes), ninguno de ellos tuvo sangrados. De los pacientes que tenían déficit de factor XII, un 12% (3 pacientes) tuvieron algún episodio de sangrado, y ninguno de ellos tuvo algún evento trombótico.

De los 6 pacientes que tuvieron déficit de factor XII y algún evento trombótico, un 80% (5 pacientes) tuvieron una trombosis arterial y un 20% (1 paciente) tuvo una trombosis venosa. En cuanto a los FRCV (HTA, DM, DLP), un paciente tenía tres FRCV, cuatro presentaban dos FRCV y uno de ellos presentaba un FRCV. El análisis estadístico muestra una relación entre el déficit de factor XII y la trombosis con una OR de 9.39 (IC al 95% de 1.38 a 509.21).

Conclusiones:

1. No parece existir relación entre el déficit de factor XII y una tendencia al sangrado.
2. El déficit de factor XII parece tener un papel en la patogénesis de la trombosis arterial, siendo este menor en la trombosis venosa.
3. En los casos descritos de déficit de factor XII asociado a trombosis, los factores de riesgo cardiovascular asociados pueden tener un papel crucial en la trombosis.
4. Por tanto, parece que el déficit de factor XII en la patogenia de la trombosis, tanto arterial como venosa, es menor.

PC-454 Análisis de la determinación de niveles de antiXa en gestantes tratadas con heparina de bajo peso molecular profiláctica

García-Donas Gabaldón G., García Díez M., Ávila García M. G., Domínguez Velasco N., Herruzo Delgado B., Montero Benítez J., de la Torre Corona L., Rodríguez Fernández A.

Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla

Introducción: La enfermedad tromboembólica (ETE) es una de las principales causas de morbilidad materna en los países desarrollados. Cada vez está más extendido el uso de heparina de bajo peso molecular (HBPM) como prevención de ETE en gestantes de riesgo siendo más dudosa su utilidad en la prevención de abortos por malos antecedentes obstétricos. La dosis más idónea de HBPM en estos casos es motivo de controversia por lo que es práctica habitual hacer determinación de los niveles de antiX activado (antiXa).

Objetivo: Nuestro objetivo es evaluar la necesidad de determinar niveles de antiXa en gestantes tratadas con HBPM profiláctica para un rango óptimo de 0,3-0,6 UI/ml y la posible influencia de variables como el peso.

Material y método: Estudio retrospectivo observacional de la población de gestantes de nuestra área, tratadas con HBPM profiláctica durante 2016-2017, atendidas en consulta de Trombología. Las pacientes fueron evaluadas cada trimestre de gestación, recogiendo edad, peso, antiXa (4 horas después de la administración de la HBPM) y creatinina sérica. La medición de anti-Xa se realizó mediante ensayo cromogénico INNOVANCE HEPARIN en muestras de plasma citratado, utilizando el analizador BCS de Siemens. Para el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS v.23.

Resultados: Durante los años 2016 y 2017, 43 gestantes con indicación de profilaxis de ETE fueron atendidas en las consultas de Trombología para evaluar la correcta dosificación de HBPM mediante el análisis de los niveles de antiXa. En su mayoría se usó inicialmente Enoxaparina 40 mg/24 horas. Sus edades oscilaron entre los 24 y 46 años, con una mediana de 37 años, la función renal estaba conservada en todas las pacientes. En la **tabla I** se exponen las medias y desviaciones estándar del peso y anti-Xa en cada trimestre de gestación. A 31 de las gestantes estudiadas (72%) se les modificó la dosis de HBPM según los niveles de antiXa: Durante el primer trimestre a 21, en el segundo trimestre a 14 y a 7 en el tercer trimestre. De manera que a 10 pacientes hubo que modificar la dosis de HPBM en varias ocasiones para mantener los niveles de antiXa adecuados. Para evaluar la normalidad de las variables estudiadas (peso y antiXa en cada trimestre) se utilizó el test de Shapiro Wilks observándose que no cumplían criterios de normalidad. Para ver la posible asociación de las mismas (peso y anti-Xa en cada trimestre), el coeficiente de correlación de Spearman, observándose que no existía correlación entre ambas, al presentar Rho próximos a 0. Durante el estudio, ninguna de las pacientes presentó complicación hemorrágica ni trombótica y todas ellas llevaron a término su embarazo, sin complicaciones obstétricas graves relevantes.

Conclusiones: No hemos encontrado en nuestro estudio que exista una correlación entre el peso y los niveles de antiXa en la profilaxis con HBPM en gestantes, consideramos que es útil en este grupo de pacientes monitorizar los niveles de antiXa para asegurar un nivel óptimo anticoagulante si bien sería necesario confirmarlo con estudios más amplios.

Tabla I

Trimestre de gestación	1.º	2.º	3.º
Media Peso (kg)	70,72	74,51	79,84
Desviación estándar peso (kg)	16,82	16,70	15,87
Media Anti-Xa (UI/ml)	0,39	0,39	0,41
Desviación estándar Anti-Xa (UI/ml)	0,22	0,17	0,14

PC-455 Trombosis neonatales en recién nacidos con déficit de antitrombina III (AT). Experiencia de nuestro centro

Fernández Jiménez D.¹, Entrena Ureña L.², Cornejo Calvo M. E.², Jurado Chacón M.²

¹Hospital Clínico Universitario San Cecilio. Granada. ²Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada

Introducción: Los neonatos constituyen el grupo con mayor incidencia de trombosis dentro de la población pediátrica con una incidencia estimada de 2.8 por 1000 recién nacidos vivos. Este riesgo se ve incrementado con la presencia de factores de riesgo tanto propios del paciente (sepsis, deshidratación, catéter venoso, anoxia neonatal, ventilación mecánica) como en la madre (factores de riesgo cardiovascular, preeclampsia, rotura de mem-

branas, alteraciones placentarias, trombofilia, infección). Entre los más relevantes destacan las trombofilias, dentro de las cuales el déficit de antitrombina III (AT) es la que confiere un mayor riesgo de trombosis.

Método: Estudio retrospectivo de los últimos 30 años. Analizamos un total de 87 neonatos con madres con déficit de AT, evaluando las complicaciones trombóticas neonatales, la existencia de tratamiento y la presencia otros factores de riesgo presentes en la madre o en el parto.

Resultados: Encontramos trombosis neonatales graves en 2 recién nacidos; uno presentó una trombosis femoral, renal derecha y de senos venosos cerebrales y el otro recién nacido una isquemia arterial aguda del brazo que requirió amputación, ambas fueron conatales presentando síntomas desde poco después del parto.

Las madres no realizaron tratamiento durante el embarazo dado que el diagnóstico materno se llevó a cabo a partir de la trombosis neonatal. Ninguna tenía otros factores de riesgo cardiovascular ni trombofilias adicionales.

El parto fue a término y vaginal en ambos casos, como factores de riesgo asociados, en el primero de los casos fue necesario el uso de fórceps por sufrimiento fetal; en el caso de la trombosis de miembro superior el paciente fue diagnosticado de un crecimiento intrauterino retardado observándose trombosis placentarias ya en el momento del alumbramiento.

En ambos recién nacidos se confirmó el déficit de AT (el primero, portador de AT Granada y el otro con mutación en el exón 6 R393H).

Conclusiones: Pese a que el déficit de AT se considera una trombofilia de muy alto riesgo trombótico no está clara la actitud a seguir durante la gestación pensando en a posibilidad de complicaciones obstétricas y maternas. Dentro de los tratamientos propuestos en estas mujeres se encuentra la heparina con y sin AT. En nuestra experiencia dado el alto porcentaje de trombosis conatales, muy superior a la población neonatal general, nos planteamos que quizá el uso de la AT anteparto pueda aportar protección no sólo materna sino también al feto durante el momento del parto, evitando así, complicaciones trombóticas secundarias al traumatismo en el canal del parto.

PC-456 Indicaciones, empleo de anticoagulación y complicaciones relacionadas con el uso de filtros de vena cava. Experiencia en un solo centro

Benzaquén Vallejos A.¹, Martí Sáez E.¹, Sanchís García J. M.¹, Orts Martínez M.², Sánchez Salinas M. A.¹, Palmero da Cruz J.¹, Solano Vercet C.¹, Navarro Cubells B.¹

¹Hospital Clínico Universitario de Valencia. Valencia. ²Hospital de Sagunto. Sagunto, Valencia

Introducción: Desde la introducción de los filtros de vena cava inferior (FVCI) recuperables su uso se ha ido incrementando en los últimos años, especialmente en pacientes con cáncer, probablemente en relación a un riesgo aumentado de complicaciones hemorrágicas. Aunque se trata de una técnica segura, en muchos

casos su indicación es dudosa y no está exenta de complicaciones. Nuestro objetivo es evaluar las características de los pacientes a los que se les implanta un FVCI en nuestro centro, su indicación, si se produce su retirada y el empleo de terapia anticoagulante tras su uso.

Material y métodos: Estudio observacional retrospectivo en el que se han revisado datos de los FVCI implantados por el Servicio de Radiología Intervencionista del Hospital Clínico Universitario de Valencia, en el periodo comprendido entre abril de 2010 y abril de 2018.

Resultados: Se colocaron un total de 69 FVCI a 68 pacientes, con un porcentaje anual que se muestra en la **tabla I**. Las características de la serie se recogen en la **tabla II**. En 43 pacientes (63,2%) pudo pautarse anticoagulación como tratamiento inicial de la enfermedad tromboembólica venosa (ETV), posteriormente tuvo que ser interrumpido en 33 de ellos (49,3%) como primera causa por cirugía mayor (54,5%). Las indicaciones para la colocación del FVCI fueron: necesidad de cirugía mayor en 30 casos

Año	FVCI implantados
2010	3
2011	2
2012	11
2013	8
2014	4
2015	10
2016	10
2017	15
2018 (hasta abril)	3

Características de la serie	
n	69 FVCI
Edad [mediana, extremos] (años)	72 [28-89]
Sexo	
Femenino	38 (55,1%)
Masculino	31 (49,9%)
Enfermedad tromboembólica venosa	68 (98,6%)
Trombosis venosa profunda	30 (44,1%)
Tromboembolismo pulmonar	4 (5,9%)
TVP + TEP	34 (50%)
Causas de la ETV	
Espontánea	20 (29%)
Neoplasia	28 (40,6%)
Cirugía ortopédica/trauma	6 (8,3%)
Cirugía no traumatológica	5 (6,9%)
Hemorragia	3 (4,2%)
Trombofilia	1 (1,4%)
Otra	6 (8,3%)

(43,5%), en 24 (34,8%) Hemorragia grave, en 9 (13%) recurrencia de ETV, y otras causas en 6 casos (8,7%), fundamentalmente trombosis muy extensa con trombo flotante. No se objetivó ninguna complicación relacionada con la técnica de colocación de los filtros. No se retiraron un total de 40 filtros (57,9%), 16 de ellos por *éxitus* del paciente, 2 por imposibilidad de la técnica, 1 por trombosis del filtro, 2 se colocaron con intención permanente y en los 19 restantes se desconoce la causa de la no retirada. La retirada de los 29 FVCI restantes se produjo en una mediana de 18 días [2-311]. No se estableció anticoagulación a largo plazo en 8 casos (11,1%), y solo en 38 (52,8%) se estableció a dosis anticoagulantes. 19 pacientes presentaron síndrome posttrombótico (SPT), de los cuales 2 fueron de grado moderado y el resto leve. No se ha relacionado la no retirada de los filtros con mayor riesgo de SPT. Hubo 27 *éxitus* por las causas que se muestran en la **figura 1**, 7 de ellas acontecieron en los primeros 30 días tras la colocación del filtro.

Conclusión: El empleo de FVCI ha aumentado en los últimos años. Esto puede deberse a un aumento de su uso en pacientes oncológicos, que supusieron casi la mitad de nuestra serie. Nuestros resultados confirman que se trata de una técnica segura, sin complicaciones relacionadas con el propio procedimiento, aunque pueden aparecer otro tipo de complicaciones, por lo que se debe ser cauteloso con su indicación.

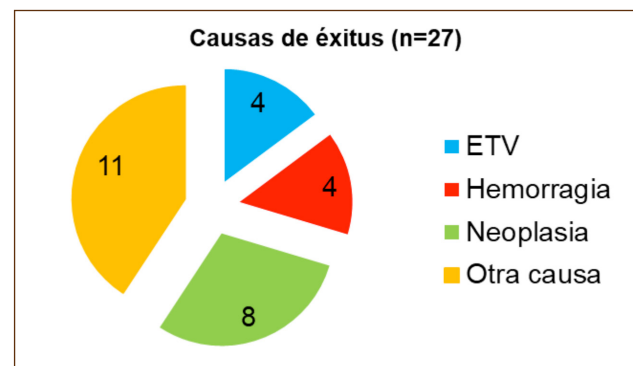


Figura 1.

PC-457 Estudio de trombosis relacionada con catéter vascular central de acceso periférico (PICC) en pacientes hematológicos

Pérez Martínez M. C., Rodríguez Fernández L., Bombín Canal C., González González A., Cuello García R., Acevedo García R., García Bacelar A., Gutiérrez Morán M. J., Peñarrubia Ponce M. J.
Hospital Clínico Universitario de Valladolid. Valladolid

Introducción: Los enfermos hematológicos desde su diagnóstico, requieren frecuentes ingresos, en los cuales se produce un gran deterioro de su capital venoso. Esto hace necesario la implantación de accesos venosos centrales de larga duración que resulten cómodos y seguros.

El uso del catéter central de inserción periférica (PICC) se encuentra en expansión debido a los resultados positivos de su utilización con el uso de materiales biocompatibles, proporcionando mayor seguridad y confort al paciente. Una de las complicaciones que presentan es la presencia de trombosis del PICC.

Objetivos: Evaluar la incidencia de trombosis de los catéteres venosos centrales de acceso periférico en los pacientes con patología hematológica en nuestro centro. Establecer un protocolo de manejo peri-implantación de los PICC para disminuir las complicaciones trombóticas de los mismos.

Material y métodos: Estudio descriptivo retrospectivo que incluye todos los PICCs insertados a pacientes con patología hematológica desde enero de 2016 hasta septiembre de 2017 en el Hospital Clínico Universitario de Valladolid.

Todos los PICC fueron insertados por el personal de enfermería del servicio de Radiología siguiendo el protocolo de inserción de TMS-US y de Bacteriemia Zero. El material del que están constituidos los PICC es poliuretano de tercera generación, siendo todos ellos de 5F y 2 luces.

Resultados: Se analizaron datos de un total de 80 pacientes siendo el 65% varones. La media de edad de los pacientes a estudio es de 61 años.

Objetivamos una incidencia de trombosis relacionada con catéteres vasculares centrales de acceso periférico del 8.75%. La patología de base con mayor incidencia de trombosis del PICC fue el LNH-B de alto grado (42,86%). Un 85,7% de los PICC se insertaron en el lado derecho en correlación con una mayor incidencia de trombosis en la extremidad superior derecha.

Tras realizarse estudios de coagulación ampliados se observó la presencia de anticoagulante lúpico positivo en un paciente con Síndrome Mielodisplásico tipo 5q.

Todos los pacientes con trombosis de PICC lo presentaron en el periodo menor de un mes desde su inserción y en el 80% de ellos la inserción resultó dificultosa.

Los pacientes del estudio no recibían tratamiento antitrombótico profiláctico en el momento del evento, habiendo sido suspendida por trombopenia en el 25% de ellos. El 100% de los pacientes precisó de implantación de un nuevo PICC en la extremidad superior contralateral por la no funcionalidad del catéter trombosado. No se objetivaron retrombosis del nuevo PICC (Fig. 1).

Conclusiones: En vista a los resultados del presente estudio podemos concluir que la incidencia de trombosis hallada en nuestro centro (8,75%) es ligeramente superior a los datos presentes en la literatura que sitúan la tasa de trombosis de PICC entre un 4% a un 8%. El LNH-B de alto grado se posiciona como la patología de mayor riesgo trombótico de PICC, lo cual debe tenerse en cuenta para el inicio de profilaxis antitrombótica previo a la inserción del PICC.

Bibliografía recomendada

1. Sociedad Española de Medicina Preventiva, Salud Pública e Higiene. Estudio Epine-EPPS. Informe global de España (resumen) 2013. Disponible en: <http://www.sempsp.com>
2. Alguacil A, Rumayor M, Fernández B, Valverde C, Barberán D, Santiago A. Reducción del riesgo de complicaciones relacionadas con los catéteres venosocentrales: una propuesta para mejorar la seguridad del paciente. Traum Fund Mapfre 2013;24(3):182-7.

PC-458 Hiperhomocisteinemia grave

Martínez Carballeira D., Corte Buelga J. R., Bernardo Gutiérrez Á., Ávila Idrovo L. F., Morais Bras L. R., Castañón Fernández C., Caro Gómez A., Solé Magdalena A., Zambrano Márquez W. J., Soto Ortega I.

Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo

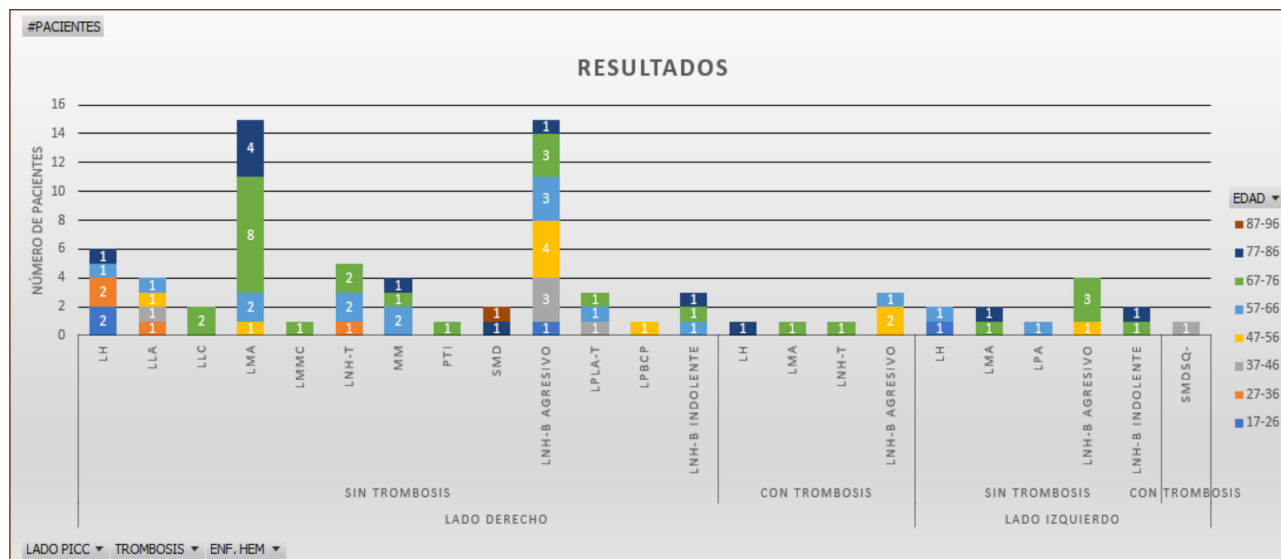


Figura 1. Clasificación de los 80 pacientes del estudio con primoimplante de PICC en función de la patología hematológica que presentan el lado de inserción de PICC y la existencia o no de trombosis relacionada con este tipo de dispositivos.

Introducción: La homocisteína es un aminoácido azufrado que se sintetiza como producto intermedio del metabolismo de la metionina (Fig. 1) e importante en la transferencia de grupos metilos en el metabolismo celular.

El aumento de homocisteína en sangre (hiperhomocisteinemia) se asocia al desarrollo de enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares. Entre las causas de hiperhomocisteinemia se han descrito causas hereditarias y adquiridas.

Presentamos un caso de homocistinuria, alteración hereditaria del metabolismo de la metionina.

Caso clínico: Mujer de 19 años sin antecedentes familiares de interés, que presenta temblor distal en ambas manos desde la infancia, dificultades de aprendizaje e integración con sus compañeros. Usa gafas por hipermetropía, astigmatismo y estrabismo. No antecedentes trombóticos. A los 18 años precisó hospitalización por brote psicótico. Su psiquiatra solicitó estudio de biomarcadores objetivando una homocisteína en sangre de 233 micromol/L (5.0-12.0) por lo que la deriva a nuestra consulta para valoración. Sigue tratamiento con biperideno hidrocloreuro (*Akineton*[®]) y aripiprazol (*Abilify*[®]). En la exploración física únicamente destaca una hipertrofia/hiperplasia del tejido graso subcutáneo más llamativo en los miembros inferiores.

Se ha realizado un estudio de trombofilia completo sin encontrar otras alteraciones adicionales que aumenten el riesgo de trombosis. Además, se ha realizado un estudio etiológico de hiperhomocisteinemia descartando las causas adquiridas habituales (folato, vitamina B₁₂ y vitamina B₆ normales) y polimorfismo MTHFR CC (normal).

El perfil de aminoácidos demostró aumento de metionina en plasma 586 nmol/mL (12-32) y orina 35 mmol/molcrea (0-8), así

como homocistinuria (19 nmol/mg, alto). Estudio genético (secuenciación del gen CBS): variante c.572C>T (p.Thr191Met) en aparente homocigosis. Así se confirmó el diagnóstico de homocistinuria.

Se recomendó control de los factores de riesgo cardiovascular, adiro 100 mg al día, profilaxis de enfermedad tromboembólica venosa con HBPM en situaciones de riesgo, Acolol 5 mg/día, Benadon 300 mg (900 mg/día). Desde la confirmación diagnóstica y tras la valoración en unidad de referencia nacional sigue tratamiento con betaína (*Cystadane*[®]) además de una dieta con restricción de proteínas ricas en metionina (consume habitualmente una fórmula hospitalaria de aminoácidos que está exenta de metionina).

Dos años tras el diagnóstico, ha descendido considerablemente la homocisteína (Fig. 2), desaparecido la sintomatología del trastorno psicótico, retomado los estudios, participa activamente en distintas actividades sociales y ha retomado las relaciones con sus amistades.

Discusión:

1. En el estudio de hiperhomocisteinemia, especialmente si es grave, se debe considerar la posibilidad de un trastorno de la vía de la transulfuración del metabolismo de la metionina. La homocistinuria es un trastorno genético de herencia autosómica recesiva, un error del metabolismo de la metionina, en el que se acumula tanto ésta como su principal metabolito, la homocisteína, tóxica para el organismo. Obedece principalmente a la deficiencia de cistationina β-sintetasa (CBS) (homocistinuria clásica). Se han descrito un gran número de mutaciones asociadas con la enfermedad, siendo la T191M, la más frecuente en España.

La homocisteína es un aminoácido tóxico, con posibles efectos indeseables sobre varios sistemas: óseo (osteopenia), ocu-

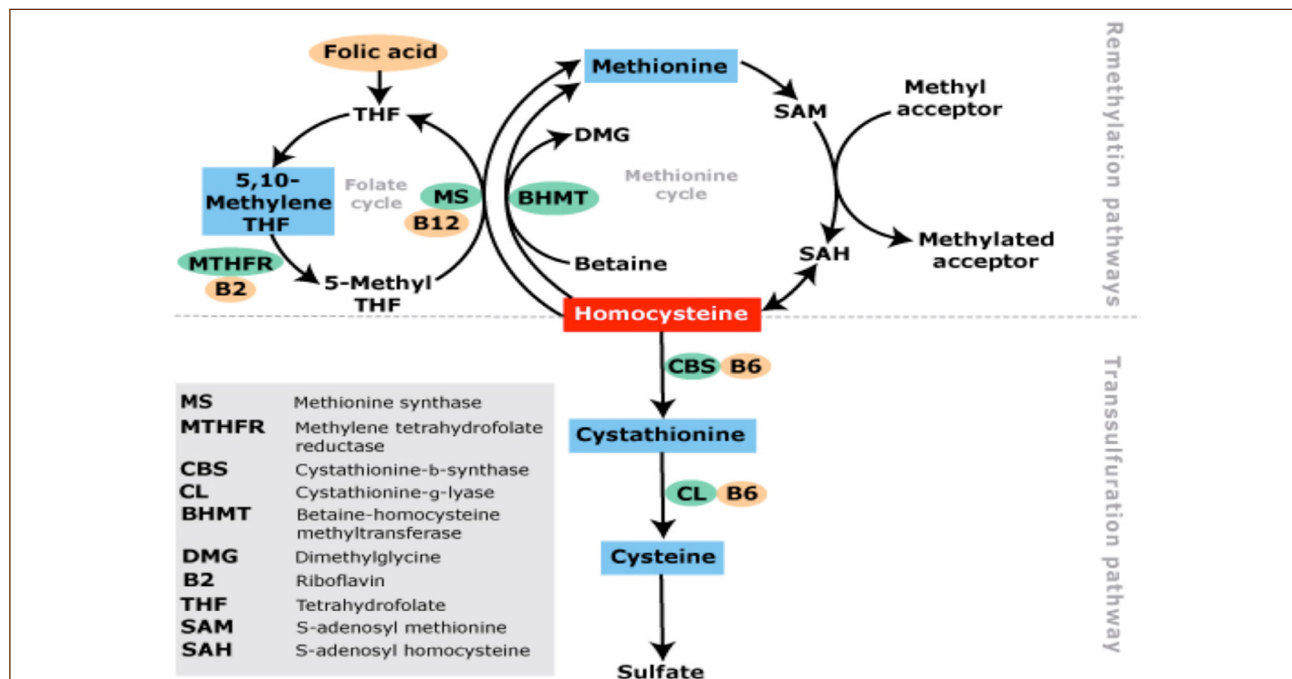


Figura 1. Metabolismo de la homocisteína.

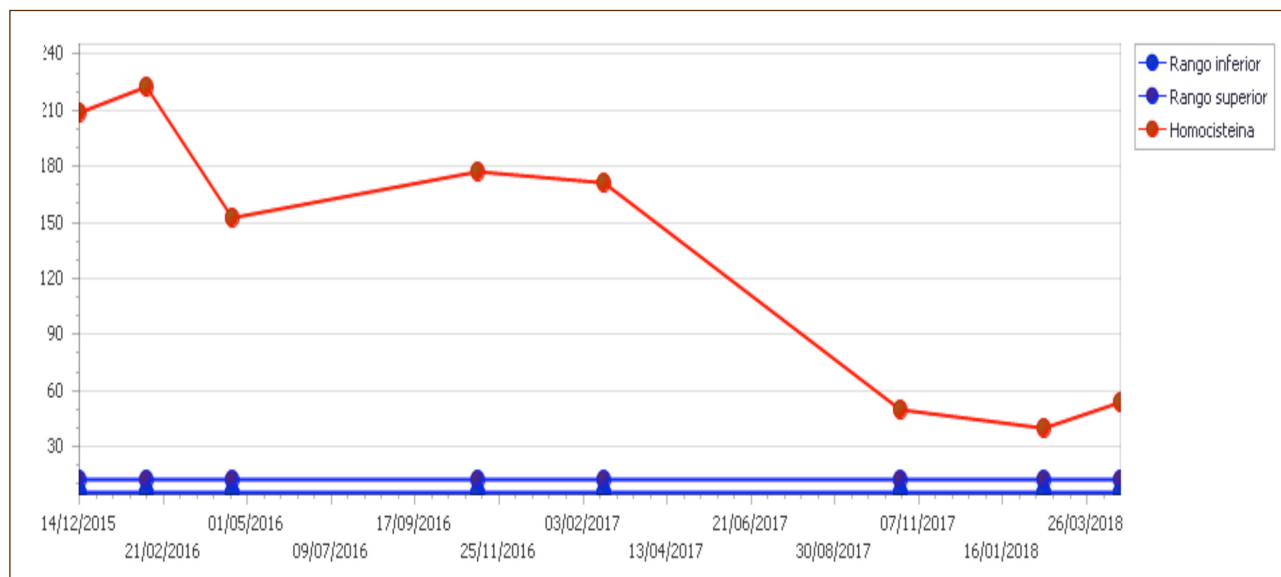


Figura 2. Evolución de los niveles de homocisteína (micromol/L).

lar (luxación del cristalino, miopía), nervioso (retraso mental, trastornos psiquiátricos, distonía) y vascular (trombosis). El principal motivo de morbimortalidad en la homocistinuria son los fenómenos trombóticos con alta tasa de trombosis arterial o venosa antes de los 30 años en sujetos afectados.

2. La hiperhomocisteinemia grave en este caso no se ha relacionado con procesos trombóticos.
3. En casos de trastornos neurológico-psiquiátricos en niños puede ser de utilidad la determinación de homocisteína.
4. La corrección de la hiperhomocisteinemia puede ayudar a controlar los síntomas neuropsiquiátricos.

PC-459 Microangiopatía trombótica como presentación de cáncer de origen desconocido

Labrador Mateo M., Jara López I., Kestler González K.

Hospital San Juan de Dios. Bormujos, Sevilla

Introducción: La microangiopatía trombótica asociada a cáncer (MTAC) se caracteriza por la presencia de anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia y lesión isquémica de órganos en pacientes con neoplasia de origen conocido o desconocido. La MTAC puede ser la manifestación de neoplasia avanzada, de complicaciones quimioterápicas o asociadas a trasplante de progenitores hematopoyéticos y su pronóstico es muy pobre. Su diagnóstico es desafiante, pues suele ser confundido con la púrpura trombocitopénica trombótica, llegando en ocasiones a instaurarse tratamiento de plasmaféresis siendo esta ineficaz en estos pacientes que se ven sometidos a un riesgo innecesario. A continuación, presentamos 1 caso de microangiopatía trombótica como presentación de cáncer de origen desconocido.

Caso clínico: Mujer de 70 años de edad que acude a urgencias por lumbalgia intensa de varios días de evolución que se acompaña de aparición de hematomas espontáneos de gran tamaño. La paciente niega traumatismo reciente, no sangrados, no fiebre, no otra sintomatología clínica asociada. Como antecedentes personales hipertensión arterial, dislipemia, epilepsia en seguimiento por neurología sin tratamiento en actualidad, prótesis de cadera hace más de 10 años. *Pruebas complementarias.* Al ingreso presenta hemograma con bicitopenia (anemia regenerativa + trombocitopenia) y leucocitosis neutrofilica: Hb 9.3 gr/dl, VCM 91,6 fl, leucocitos 13,2x10⁹/L (neutrófilos 10 x 10⁹/L, linfocitos 2,2x10⁹/L, monocitos 0.9x10⁹/L), plaquetas 71x10⁹/L. Reticulocitos 6% con frotis de SP en el que se observa 10% de mielo-metamielocitos y 1% de células algo más indiferenciada de mediano-pequeño tamaño, sin observarse bastones ni astillas de Auer, 3eritroblastos/100 células nucleadas. Abundantes esferocitos y un 2,5% de esquistocitos. Coagulación INR 1.34, TTPa 39.1 (22-34), fibrinógeno normal. Bioquímica: creatinina normal, LDH 718 U/L (125-240), Bilirrubina total 1 mg/dl (<1), GGT 109 U/L (5-55), haptoglobina 5 mg/dl (30-200) resto normal. Coombs directo negativo. Ante la aparición de célula indiferenciada en frotis de SP se decide realizar aspirado medular en el que se objetivan nidos celulares formados por células de gran tamaño, la mayoría de ellas con vacuolización citoplasmática que nos hace pensar en infiltración por neoplasia de origen extrahematológico. A la paciente se le realiza TC corporal completo en el que se objetiva neoplasia de colon ascendente con importante componente adenopático asociado, metástasis óseas, estadio IV, posible T3N2bM1. La paciente evoluciona desfavorablemente presentando vómitos fecaloideos incesantes a pesar de tratamiento farmacológico, siendo imposible colocación de sonda nasogástrica. Dada la situación de la paciente y el pobre pronóstico, se determina junto a la familia sedación farmacológica falleciendo la enferma al 7º día del ingreso hospitalario (Tabla I).

Tabla I		
Características clínicas	MAT inducida por cáncer	PTT
Demografía	Pacientes adultos mayores (sin diferencias sexo/raza)	Jóvenes (40 años) (77% mujeres, 7 veces + frente negros, obesos)
Síntomas		
Duración	Gradual (semanas/meses)	Típicamente aguda (varios días)
General	Debilidad, fatiga, pérdida de peso	Debilidad, fatiga, no pérdida de peso
Sangrado	Poco común	Común (púrpura/hematuria)
Gastrointestinal	Poco común	Náuseas, vómitos
Respiratorio	Común	Raro, excepto disnea asociada a la anemia
Dolor	Común (dolor óseo localizado, dolor lumbar)	Dolor abdominal común
Datos de laboratorio		
Anemia	Puede ser severa	Típicamente severa (Hb 6-8 gr/dl)
Trombocitopenia	Puede ser severa	Típicamente severa (10.000-20.000/ul)
Leucocitos	Pueden estar elevados	Pueden estar elevados
Frotis SP	Esquistocitos, eritrocitos nucleados, granulocitos inmaduros	Esquistocitos, eritrocitos nucleados poco frecuente, granulocitos inmaduros no ocurren
LDH	Puede ser más alta que en PTT	Elevada
Coagulación	Anormalidades asociadas a CID pueden ocurrir	Normal
Actividad ADAMST 13	Normal o levemente disminuida (> 20%)	Severamente disminuida (< 10%)
Biopsia médula ósea	Carcinoma infiltrante o necrosis	Normal

Discusión: La Microangiopatía trombótica asociada a cáncer presenta un diagnóstico desafiante pudiendo ser confundida con la púrpura trombocitopenia trombótica, por lo que es importante tener en cuenta ciertas diferencias clínicas que existen entre estas dos entidades. Nuestra paciente presentaba clínicamente dolor lumbar de días de evolución, a nivel analítico: trombopenia moderada con leucocitosis neutrofílica observándose en frotis de SP granulocitos más inmaduros y eritroblastos circulantes, con tiempos de coagulación alargados, características clínicas más concordantes con microangiopatía trombótica asociada a cáncer.

PC-460 Evaluación prospectiva de un test rápido de inmunoensayo de flujo lateral para el diagnóstico de trombocitopenia inducida por heparina (HIT)

Martín L., Isola Ignacio M., García E., Pino M., Escolar G., Díaz-Ricart M.

Hematopatología, Anatomía Patológica, CDB. Hospital Clínic. Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (Idibaps). Universitat de Barcelona. Barcelona

Introducción: La trombocitopenia inducida por heparina (HIT) es una complicación grave del tratamiento con heparina, mediada por anticuerpos IgG contra el complejo factor plaquetario 4 (PF4)-heparina. Un diagnóstico precoz y el reemplazo de la heparina por un tratamiento anticoagulante alternativo son claves a la hora de evitar complicaciones trombóticas con riesgo vital. El

objetivo de este trabajo fue el de evaluar en forma prospectiva la utilidad de una técnica rápida de cribado (inmunoensayo de flujo lateral) en el estudio inicial de pacientes con sospecha de HIT.

Pacientes y métodos: Treinta y siete pacientes fueron incluidos consecutivamente desde marzo del 2017 hasta mayo del 2018. Todas las muestras (plasma) fueron analizadas por inmunoensayo de flujo lateral y ELISA poliespecífico. En 8 pacientes fue posible realizar también un inmunoensayo de partículas en gel.

Resultados: El test rápido y el ELISA demostraron una concordancia pobre (Kappa test ratio -0,128). El test rápido resultó "dudoso" en 12 de los 37 pacientes, interpretándose como positivo dado el carácter de cribado del test, de los cuales en sólo 3 resultó el ELISA también positivo (dos de ellos con densidades ópticas (DO) > 1). De los 19 pacientes con un test rápido negativo, tres presentaron una ELISA positiva (todos con DO > 1). El primero de ellos (DO = 1.36) presentaba un riesgo clínico intermedio con normalización de la cifra de plaquetas tras la suspensión de la heparina, el segundo (DO = 1) y el tercero (DO = 2.35) se trataban de pacientes quirúrgicos cardiovasculares con riesgo clínico bajo (no puede descartarse la presencia de anticuerpos no patogénicos, ej. IgM o IgA). Fue posible realizar, a partir de plasma congelado, un test de inmunoensayo de partículas en gel en dos muestras de resultado "dudoso" y en dos negativas (primer y tercer paciente) que habían resultado positivas por ELISA, obteniéndose un resultado claramente positivo por este tercer método.

Conclusión: En este estudio, el test rápido de inmunoensayo de flujo lateral para la detección de anticuerpos IgG anti PF4/heparina demostró una pobre correlación con el test de ELISA poliespecífico. Esta discordancia puede estar en relación con el alto número de resultados "dudosos" (banda visible, pero de intensidad

débil) del test rápido, así como a la diferente especificidad de los dos test (IgG en el caso del test rápido vs poliespecífico en el caso del ELISA). La difícil interpretación del resultado, sumada a un muy probable falso negativo, limitó en esta serie la utilidad del test rápido como método de cribado para descartar la presencia de HIT sin recurrir a otras pruebas de laboratorio.

Ayudas: PIE15/00027, DTS16/00133, FIS P114/00772 (ISCII), 2017-SGR-671 Generalitat de Catalunya, Jazz Pharmaceuticals (IST-16-10355), Germán José Carreras Leukaemia Foundation (11R/2016).

PC-461 Embarazada con déficit de antitrombina y trombosis en miembro inferior

Blanco J. A., Marco Ayala J., Díaz González Á., Blanquer Cots A., Ferrando Gosp F., Haya Guaita S., Cid Haro A. R., Bonanad Boix S.

Hospital Universitario La Fe. Valencia.

Introducción: El déficit de antitrombina (AT) es la trombofilia congénita a la que se le atribuye mayor potencial trombogénico. Una característica diferencial de esta trombofilia es la resistencia a la heparina, que puede obligar al uso de concentrados de antitrombina (CAT) para alcanzar un efecto antitrombótico adecuado.

Caso clínico: Presentamos a una paciente, sin antecedentes médicos ni quirúrgicos de interés, que, en 2010, con 22 años, sufre una TVP. En el estudio de trombofilia se detecta un déficit de AT con valores en torno al 60-65%. Este episodio se trató con enoxaparina a dosis plenas de 60 mg/12 h (Peso 57 kg) inicialmente y posteriormente anticoagulación oral (ACO) con cumarínicos manteniéndolos de forma indefinida.

En 2015 la paciente se queda embarazada. Como prevención de la trombosis venosa recibe tratamiento con enoxaparina a dosis de 60 mg/12 h, sin monitorización de los valores de actividad antiXa. En la semana 30 de gestación, la paciente presentó una

segunda TVP extensa, de la vena femoral común y superficial de forma completa y poplítea, safena interna y tibial posterior de forma parcial.

Se manejó inicialmente aumentando la dosis de enoxaparina a 80 mg/12 h (1,3 mg/kg), sin conseguir adecuados valores de actividad antiXa (0,37 UI/mL). En una ecografía 48 horas después del diagnóstico, se objetiva progresión de la trombosis. Por todo esto se decide asociar tratamiento sustitutivo con CAT plasmática (Anbinex®) inicialmente 2000 UI (35UI/kg) y posteriormente entre 1000-2000 UI/24-48 horas (17.5-35UI/kg) manteniendo valores de anti-Xa 0.8- 1 UI/mL y de AT en torno a 100%. Tras tres semanas de tratamiento se consigue una resolución parcial de la TVP. Dada la buena evolución se mantiene el tratamiento durante el resto del embarazo.

Se programa el parto para la semana 37. Finalmente tiene lugar por vía vaginal justo a las 24 horas y sin sangrados ni incidencias reseñables. La última dosis plena de heparina se administró la noche previa. A las 48 horas, dado que no hay complicaciones, se reinició ACO con sintrom mientras se mantiene CAT y HBPM como terapia puente.

En el control ecográfico efectuado 4 meses después del parto se objetiva resolución completa de la trombosis. La paciente se mantiene con ACO indefinida con acenocumarol con buenos controles y sin nuevos eventos trombóticos.

Recientemente la paciente acude a consulta por nueva gestación. Se retira ACO con Sintrom y se inician dosis altas de HBPM (enoxaparina 80 mg/sc/12 horas) con control de antiXa de 0,58 UI/mL. Se plantea un manejo inicial con heparina para evitar la embriopatía por antivitaminas K y reiniciar cumarínicos en 2.º trimestre Y HBPM nuevamente al final de la gestación.

Discusión: El tratamiento y la prevención de las trombosis en los pacientes con déficit de AT es relativamente sencillo con anticoagulantes orales. Durante ciertos periodos de la gestación el manejo es más complejo al estar contraindicados los cumarínicos. En estas circunstancias se recomienda utilizar HBPM a dosis altas y si es necesario asociar tratamiento sustitutivo con CAT para conseguir unos adecuados valores de anticoagulación.

Plaquetas – Biología vascular – Coagulopatías congénitas

PC-404 Registro de hemofilia en Castilla-La Mancha

Herrero Martín S.¹, Rodríguez Alén A.², Rollón Simón N.², Buenasmañanas Cervantes D.³, Nebro Luque M. M.³, Varo Castro M. J.⁴, Herráez Albendea M.⁵, Martínez Velandia A.⁵, Ustáriz Moneo M. I.⁶, Díaz Jordán B.⁷, Picó Rico L.⁸, Goyanes Martín I.⁹, del Rey Luján A.¹⁰, Romero Pino M. J.¹¹

¹Hospital Universitario de Guadalajara. Guadalajara. ²Hospital Virgen de la Salud. Toledo. ³Hospital General Universitario de Ciudad Real. Ciudad Real.

⁴Hospital General Universitario de Albacete. Albacete. ⁵Hospital Santa Bárbara.

Puertollano, Ciudad Real. ⁶Hospital Nuestra Señora del Prado. Talavera, Toledo.

⁷Hospital General de Valdepeñas. Valdepeñas, Ciudad Real. ⁸Hospital General La

Mancha Centro. Alcázar de San Juan, Ciudad Real. ⁹Hospital Virgen de la Luz.

Cuenca. ¹⁰Hospital General de Tomelloso. Tomelloso, Ciudad Real. ¹¹Hospital

Virgen de Altagracia. Manzanares, Ciudad Real

Introducción: En los datos del Ministerio en 2012 de hemofilia en España, había 2.993 pacientes (1 de cada 7.700 hombres), 2.595 (86%) afectados de Hemofilia A (HA) y 398 (14%) Hemofilia B (HB), ratio HA:HB 6,5:1. 541 (18%) en edad pediátrica. 1.004 (33%) hemofílicos graves, 487 (16%) moderados y 1.502 (51%) leves. Hasta la fecha no conocemos un registro de la realidad de nuestra comunidad.

La población de Castilla-La Mancha (CLM) según datos del INE 2017 es de 2.031.479 personas, con un 50,22% de hombres.

Provincia	Albacete	Toledo	Ciudad Real	Cuenca	Guadalajara
Habitantes	390.032	686.841	502.578	198.718	253.310

Objetivos: 1) Conocer y actualizar la prevalencia de la hemofilia congénita (A y B) en CLM; y b) comparar la situación de CLM con la de España.

Pacientes y métodos: Se ha realizado un registro de CLM de HA y HB de los 14 hospitales públicos de CLM, cubriendo la práctica totalidad de la población.

Resultados: 223 hemofílicos (1 de cada 4.600 hombres), 210 (94,2%) son HA y 13 (5,8%) HB, con un ratio de HA/HB de 16,2. 39 (17,8%) con hemofilia grave, 13 (5,8%) moderada y 171 (76,4%) leves. La edad media global es de 29 años. 61 (27%) en edad pediátrica.

Provincia	Albacete	Toledo	Ciudad Real	Cuenca	Guadalajara
Hemofílicos	43	34	108	5	34

46 pacientes reciben profilaxis, 63,1% con factor recombinante, incluidos 2 casos con Emicizumab; y 17 (36,9%) casos con factor plasmático. El 81% de los pacientes graves/moderados están en profilaxis. Historia de inhibidor en 11 casos, todos en HA grave (incidencia de inhibidor de 28%).

Comparado con estudio PUCHS (Project to Update the study of Congenital Haemophilia in Spain) del 2013, tenemos un ratio de HA:HB superior (16,2 frente a 5,3), mayor porcentaje de pacientes en profilaxis (81% de moderados y graves vs 62,3%) y similar cifra de pacientes con factores recombinantes y superior a los datos del registro español de 2009 (80% frente a 75,6% frente a 50,6%). 2 pacientes de nuestra serie con factores "long-acting". Hay un descenso en el porcentaje de pacientes que presentan artropatía, el 17% frente a 30% en la serie española del 2009. Un total de 11 casos (28%) con HA grave que han desarrollado inhibidor.

Conclusiones: Este es el primer registro de hemofilia realizado en CLM, en donde no existen centros de Hemofilia ni estudios genéticos centralizados. Nos acerca a la realidad de la hemofilia en CLM, que en muchos aspectos es similar a la española, con menos casos de HB y más casos de HA leve, con similar porcentaje de historia de inhibidor en HA graves que publicaciones recientes. Estamos en un momento de grandes cambios terapéuticos que nos puede crear diferencias más acusadas entre comunidades y centros.

PC-406 Identificación mediante NGS de dos mutaciones noveles en el gen F5 en pacientes con deficiencia de factor V

¹Moret A., ²Zúñiga Á., ²Ibáñez M., ¹Cid A. R., ¹Haya S., ¹Blanquer A., ¹Ferrando F., ¹Bonadad S.

¹Unidad de Hemostasia y Trombosis; ²Servicio de Genética. Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia

Introducción: El factor V (FV) es un factor regulador de la coagulación. En su forma activada actúa como cofactor del com-

plejo protrombinasa, necesario para una generación rápida de trombina. A su vez, el FV también actúa como regulador negativo del factor procoagulante FVIII. El FV está regulado por la proteína C, que escinde la molécula activada del FV.

El FV está compuesto de 2224 residuos aminoácidos que se codifican en el gen *F5*. El gen *F5* tiene 25 exones y 70 Kb. Dada su doble función, variantes genéticas de *F5* pueden dar lugar a fenotipos tanto hemorrágicos como trombóticos, aunque una deficiencia de FV se suele asociar con sangrado y solo algunas mutaciones puntuales, como aquellas que confieren resistencia a la degradación por proteína C, se asocian con riesgo trombótico.

Aunque se han descrito alrededor de 150 variantes en este gen, la gran mayoría de las mutaciones causantes de deficiencia de FV se han encontrado en familias únicas. Esta notable heterogeneidad alélica indica que aún son necesarios estudios completos del gen *F5* para el diagnóstico molecular de la enfermedad.

Casos clínicos: *Caso clínico 1.* Paciente femenino a la que se le detectó deficiencia leve de FV (48 UI/dL) tras mostrar un TP alargado durante una consulta de reproducción asistida por esterilidad de su pareja. La paciente ha tenido dos partos sin complicaciones y con soporte únicamente de Amchafibrin. Sus dos hijos tienen también una deficiencia leve de FV. Tiene un primo por parte paterna que falleció por hemofilia A grave.

Caso clínico 2. Paciente femenino a la que se le detectó deficiencia leve de FV (34 UI/dL) a los 21 años por una amigdalectomía de sangrado abundante. Desde entonces no ha tenido problemas de sangrado, aunque en la actualidad refiere reglas más abundantes.

En ginecología fue visitada por absceso vulvar, que se drenó sin sangrado. Ha presentado gingivorragias ocasionales, pero sólo tras intervenciones. En 2013 tuvo una hija por cesárea preparada con Amchafibrin sin sangrado destacable. La hija no presenta deficiencia de FV. La paciente tiene además una hermana con deficiencia leve de FV y un hermano que no presenta la deficiencia.

Métodos: Para la secuenciación de nueva generación (NGS) se empleó la tecnología Illumina (NextSeq 500). Se utilizó un panel de genes custom de SureSelect con tecnología de captura, Agilent Technologies. Se aplicaron filtros para eliminar del análisis variante en regiones no codificantes alejadas de los exones, variantes sinónimas, variantes con elevada frecuencia poblacional y variantes encontradas en población sana y descritas como benignas.

Resultados: *Caso clínico 1.* Paciente heterocigota para la variante c.4745A>G (p.Tyr1582Cys; NM_000130.4) en el exón 13 del gen *F5*.

Caso clínico 2. Paciente heterocigota para la variante c.1999_2002dupAATT (p.Ser668Ter; NM_000130.4) en el exón 13 del gen *F5*.

Ninguna de estas variantes está descrita en las bases de datos clínicas consultadas. Tampoco están recogidas en las bases de datos poblacionales (1000 genomes; ExAC; gnomAD). El análisis in silico mediante programas predictores (PolyPhen2.0; SIFT; Mutation Taster; DANN) clasifican ambas variantes como probablemente patogénicas.

Conclusiones: La deficiencia de FV se suele asociar con problemas hemorrágicos aunque algunas mutaciones puntuales pueden causar trombosis. El gen *F5* tiene una gran heterogeneidad alélica, por lo que el estudio de variantes únicas en muchas familias no es suficiente. En este sentido la NGS es una técnica que permite de manera rápida la detección de nuevas variantes causantes de defectos congénitos del FV.

Publicación

Coagulopatías congénitas

PB-125 Artroplastia total de rodilla en paciente con hemofilia A grave con inhibidores

Arias E.¹, Aires A.¹, Alves S.², Jorge M.¹, Araújo E.¹, Santos M.², Antunes M.¹, Santos A.¹, Diniz M. J.¹

¹Hospital São José-CHLC. Lisboa, Portugal. ²Hospital Curry Cabral-CHLC. Lisboa, Portugal

Introducción: El desenvolvimiento de inhibidores al FVIII es considerada la complicación más grave del tratamiento de hemofilia A. Ocurre en 30% de los pacientes con hemofilia A grave y puede potencialmente desencadenar eventos hemorrágicos mortales a los pacientes. En comparación con los pacientes hemofílicos sin inhibidores, en los que los tienen, la hemorragia es más difícil de controlar y las alteraciones severas son progresivas, con agravamiento del estado articular, ocasionando una mayor morbilidad, discapacidad y peor calidad de vida.

Cuando el daño articular, debido a las hemartrosis recurrentes, produce intenso dolor y/o marcada limitación funcional; y con fracaso de tratamiento conservador y de cirugía preservadora de la articulación, estará indicada cirugía protésica. La cirugía en hemofílicos con inhibidores exige planificación rigurosa y articulación multidisciplinaria de varios profesionales: hematólogos, traumatólogos, rehabilitadores y del laboratorio y debe ser efectuada en centros con experiencia.

Caso clínico: Paciente de 50 años con hemofilia A grave diagnosticado a los 18 meses, con inhibidores al Factor VIII desde los 14 años, alto respondedor (título actual 28,3UB), con comorbilidades relacionadas a la hemofilia como infección VHC, curado en 2015, y artropatía hemofílica. Las principales articulaciones afectadas son rodilla derecha, codos y tobillo izquierdo. Debido al dolor intenso no controlado con analgésicos y limitación importante en la rodilla derecha (arco de movimiento de flexión 60° y déficit de extensión de 30°) fue propuesto para prótesis articular.

En marzo de 2017, realizó artroplastia total de la rodilla derecha. El manejo homeostático se realizó con concentrado de Factor VII activado recombinante (NovoSeven®) y ácido tranexámico. La cirugía y posoperatorio resultaron sin complicaciones. En D2 posoperatorio inició marcha con auxiliares y rehabilitación con artromotor hasta los 60° de flexión, en D10 suspendió ácido tranexámico y en D14 tuvo alta y fue administrada la última dosis de FVIIa. En total fue administrado 496 mg de FVIIa sin efectos adversos.

El paciente realizó el programa de rehabilitación normal para este procedimiento, con mejoría gradual funcional. A la fecha actual con un año de seguimiento, presenta mejoría clínica importante de la movilidad (extensión completa y flexión de 95° de la rodilla operada), sin dolor, estando el paciente satisfecho con el resultado y con el equipo profesional.

Discusión: La disponibilidad de agentes *bypass*, CCPa e FVIIaR, seguros y eficaces hacen realidad la cirugía para los pacientes con inhibidores.

El FVIIaR mostró ser eficaz en el control hemorrágico intra y posoperatorio. El uso en conjunto de ácido tranexámico fue seguro y no hubo efectos negativos.

La cirugía ortopédica en pacientes con inhibidores, a pesar del impacto económico importante, representa una ganancia en la calidad de vida, reducción del dolor y de los eventos hemorrágicos de estos pacientes.

Los agentes *bypass* permiten controlar el sangrado, pero continúa siendo un reto para los profesionales en el manejo de la cirugía de estos pacientes.

PB-126 Profilaxis con factor XIII de coagulación derivado de plasma humano en pacientes con déficit de factor XIII grave: a propósito de tres casos clínicos

García Pérez E., Dos Santos Ortas A., Panizo Echaurren I., Rivas Pollmar M. I., Martín Salces M., Gutiérrez Alvarino M., Jiménez Yuste V., Álvarez Román M. T.

Hospital Universitario La Paz. Madrid

Introducción: El factor XIII (FXIII) es un heterotetrámero plasmático que participa en el último paso de la cascada de la coagulación, actuando como un importante estabilizador del coágulo. El déficit congénito de FXIII es una coagulopatía rara autosómica recesiva cuya clínica abarca desde hemorragias graves que comprometen la vida hasta formas más leves como el sangrado mucocutáneo. El diagnóstico del mismo es un reto debido a su escasa prevalencia y a que los test de *screening* de la coagulación estándar se encuentran dentro de la normalidad. La aparición de concentrados de FXIII y su uso en profilaxis en pacientes con déficit grave ha supuesto un cambio en la calidad de vida de los pacientes debido a la disminución en la tasa de hemorragias graves.

Materiales y métodos: Se recoge retrospectivamente tres pacientes con déficit grave de FXIII, con un seguimiento de más de 15 años. Fueron referidas desde otros centros por clínica de hemorragia intracranial, hemorragia tras la caída del cordón umbilical y abortos de repetición. Las tres pacientes iniciaron tratamiento profiláctico al diagnóstico con plasma fresco congelado a dosis de 20 mL/kg semanal, hasta la aparición del concentrado de pdFXIII.

Resultados: La profilaxis con plasma fresco congelado resultó efectiva para la prevención de sangrados de riesgo vital. Desde la aparición de concentrado de pdFXIII, las tres pacientes recibieron tratamiento profiláctico a una dosis de 10-15 UI/kg cada 3 semanas, con el objetivo de mantener niveles plasmáticos estables en torno a 15 UI/mL. Esta profilaxis fue eficaz para evitar los episodios hemorrágicos graves y los abortos de repetición en una de las pacientes, la cual consiguió dos gestaciones a término sin complicaciones (Tabla I).

Conclusiones: Basado en la experiencia en nuestro centro, el uso de concentrado de pdFXIII (Cluvot®) de forma profiláctica administrado a dosis de 10-15 UI/kg cada tres semanas ha demostrado disminuir la tasa de eventos hemorrágicos graves y el riesgo de aborto espontáneo, mejorando así la calidad de vida de los pacientes.

Tabla I		
Paciente	ERA pre pdFXIII	ERA post pdFXIII
Paciente 1	<ul style="list-style-type: none"> • Eventos hemorrágicos graves: 5 <ul style="list-style-type: none"> – Hemorragia tras caída de cordón umbilical – Hematoma intraparenquimatoso – Hemorragia tras craneotomía – Hematoma parieto-occipital-talámico – Hematoma de pared abdominal • Cuadros de epistaxis múltiples • Hematomas múltiples cutáneos 	<ul style="list-style-type: none"> • Metrorragias ocasionales
Paciente 2	<ul style="list-style-type: none"> • Eventos hemorrágicos graves: 2 <ul style="list-style-type: none"> – Cefalohematoma a los 10 meses con drenaje – Hematoma en párpados tras traumatismo • Epistaxis de repetición. • Hematomas y sangrados leves múltiples tras traumatismos • Abortos: 3 • Gestaciones a término: 0 	<ul style="list-style-type: none"> • Eventos hemorrágicos graves: 1 <ul style="list-style-type: none"> – Rectorragia por hemorroides con ingreso hospitalario • 1 hematoma muscular • Abortos: 2 • Gestaciones a término: 0
Paciente 3	<ul style="list-style-type: none"> • Eventos hemorrágicos graves: <ul style="list-style-type: none"> – Gingivorragia que precisa PFC • Múltiples epistaxis de repetición • Hematomas de repetición tras traumatismos leves. • Abortos: 2 • Hermana fallecida en la infancia por hemorragia 	<ul style="list-style-type: none"> • Eventos hemorrágicos graves: 0 • 1 hematoma muscular. • Abortos: 1 • Gestaciones a término: 2

PB-127 Nuevos retos en el manejo de la enfermedad de von Willebrand: a propósito de un caso clínico

Araújo E., Aires A., Santos A., Arias E., Antunes M., João Diniz M.

Centro de Referencia de Coagulopatías Congénitas. Hospital São José. CHLC, EPE. Lisboa, Portugal

Introducción: La enfermedad de von Willebrand (EvW) es el trastorno hemorrágico hereditario más frecuente causado por una alteración (cuantitativa/cualitativa) del factor Von Willebrand (FvW). Está constituida por un grupo muy heterogéneo de pacientes relativamente a su gravedad y sintomatología clínica. Típicamente las hemorragias son mucocutáneas. La evolución en el diagnóstico y tratamiento de las coagulopatías congénitas ha permitido el aumento de la esperanza de vida media y de la calidad de vida. De este modo, las comorbilidades relacionadas con el envejecimiento en estos pacientes se espera que sean las mismas que las de la población en general. En relación a la enfermedad cardiovascular, existen consensos nacionales e internacionales para el manejo del Síndrome Coronario Agudo (SCA) para la población en general. El objetivo de este trabajo es presentar un caso clínico de EvW tipo 2 sometido a angioplastia coronaria percutánea electiva por angina inestable.

Caso clínico: Análisis retrospectivo de los registros clínicos del paciente. Resultados: Paciente masculino, 45 años de edad, obeso, con historia conocida de insuficiencia cardiaca (NYHA II), hipertensión arterial, dislipidemia, síndrome de apnea obstructiva del sueño, tabaquismo y AVC sin secuelas a los 33 años.

Diagnosticado con EvW tipo 2 desde los 9 años de edad. Con historia de hemorragias mucocutáneas, postraumáticas y posquirúrgicas, siendo necesario la realización de varios tratamientos hemostáticos (sangre total, crioprecipitados, concentrado de FVIII derivado de plasma, antifibrinolíticos y acetato de desmopresina). En setiembre del 2017, asistió al servicio de urgencias por cuadro de precordialgia, presentando elevación de marcadores de necrosis del miocardio y ECG sin alteraciones sugestivas de isquemia aguda. Fue internado para realización de cintigrafía de perfusión del miocardio, que resultó sugestiva de isquemia inferior. Realizó angioplastia coronaria percutánea electiva por angina inestable. A pesar de la historia hemorrágica importante, se optó por la no administración de tratamiento hemostático debido a los dosiamientos de factor (FvW: Ag 79,5%; FvW: RCo 15,2%; FVIII:89%). En la secuencia de esta intervención, se inició y se mantuvo doble antiagregación con ácido acetilsalicílico 100 mg/día y Clopidogrel 75 mg/día durante 7 meses. Actualmente está medicado con ácido acetilsalicílico 150 mg/día. El tratamiento fue bien tolerado desde el inicio, sin episodios hemorrágicos o sintomatología cardiaca.

Discusión: Existen pocos casos descritos de SCA en la EvW, así como de *evidence-based management guidelines* para el tratamiento de estos pacientes. De acuerdo con la literatura, las directrices estándar del manejo del SCA podrán ser aplicadas en pacientes con alteraciones hemorrágicas congénitas teniendo en cuenta la evaluación del riesgo hemorrágico y la gravedad de la enfermedad. Debido a todo esto, son necesarios estudios dirigidos para el desdoblamiento de orientaciones terapéuticas específicas. Es fundamental el abordaje multidisciplinar de estos pacientes incluyendo los hematólogos de las unidades de coagulopatías congénitas.

PB-128 Profilaxis en paciente con hemofilia A leve

Salvador Rupérez E., Villalba Montaner M., García Ortego A., Pinzón Mariño S., Gómez Martínez A., Hernández Mata C., Martín-Consuegra Ramos S., Ferrer Garrido G., Calvo Villas J. M., Fernández Mosteirín N., Delgado Beltrán P.

Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza

Introducción: El tratamiento profiláctico está ampliamente extendido en pacientes con hemofilia A y B severa, puesto que disminuye la aparición de hemorragias, de daño articular y mejora la calidad de vida de estos pacientes. Sin embargo, existen pocos datos de las recomendaciones de profilaxis en pacientes con hemofilia leve o moderada.

Caso clínico: Paciente de 17 años de edad diagnosticado de Hemofilia A leve en diciembre de 2005 en contexto de alargamiento de TTPa (hijo de madre portadora y hermano menor diagnosticado también de hemofilia A leve). Se realiza estudio molecular en abril de 2012 presentando la mutación missense p. R1941Q (c. 5879G>A) en el exón 18 del gen del FVIII de la coagulación descrita con anterioridad en hemofilia A de tipo leve/moderado y concordante con el diagnóstico del paciente.

Durante su evolución ha presentado varios episodios hemorrágicos de distinta severidad en los que ha precisado tratamiento a demanda con Helixate® (descartándose en todas las ocasiones la presencia de inhibidor) y en dos de los cuales requieren ingreso hospitalario del paciente (Fig. 1).

Primer ingreso en febrero de 2017. Motivo ingreso: dolor en región inguinal de miembro inferior derecho e impotencia funcional que imposibilita la deambulación de 12-18 horas de evolución. Sin antecedente traumático previo, aunque sí importante carga de pesos en el contexto de actividad profesional.

Ecografía: En músculo ilíaco derecho, en la región adyacente a m. psoas, se visualiza pequeña colección tabicada, compatible con hematoma intramuscular ilíaco, de unos 29 x 7 x 8 mm (LxAPxT).

Diagnóstico: hematoma de músculo iliaco derecho.

Tratamiento: Helixate® 2000 UI/día x12 días, después 1500 UI/día x4 días, después 1500 UI/cada 48 horas x 30 días (Fig. 2).

Segundo ingreso en agosto de 2017. Motivo ingreso: dolor en región inguinal de miembro inferior derecho e impotencia funcional que imposibilita la deambulación de 48 horas de evolución. Sin antecedente traumático previo, de nuevo importante carga de peso durante actividad profesional.

Ecografía: Voluminoso hematoma organizado en músculo psoas-iliaco derecho de 75x26x28mm (LxAPxT) (Fig. 3).

Diagnóstico: hematoma de músculo psoas-iliaco derecho.

Tratamiento: Helixate® 2000 UI/día x12 días, después 1500 UI/día x 4 días, después 1500 UI/cada 48 horas x 30 días.

Dados los antecedentes hemorrágicos que interfieren con la calidad de vida del paciente y limitan su actividad diaria y laboral se decide inicio de profilaxis con FVIII dos veces por semana en noviembre de 2017 tras completar tratamiento sustitutivo y resolución del hematoma.

Desde el inicio de la profilaxis el paciente no ha presentado ningún tipo de sangrado hasta el momento, ni necesidad de dosis extra de factor.

Discusión: El tratamiento profiláctico está ampliamente extendido en los pacientes con hemofilia A grave. Sin embargo, en pacientes con hemofilia A leve es importante individualizar el tratamiento ya que pacientes con perfil clínico hemorrágico podrían beneficiarse de la profilaxis con mejoría de su calidad de vida.

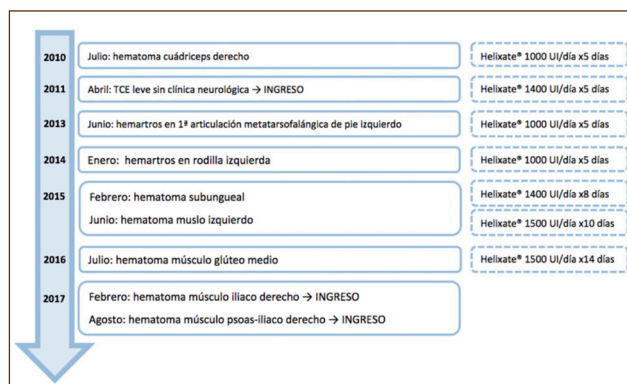


Figura 1.

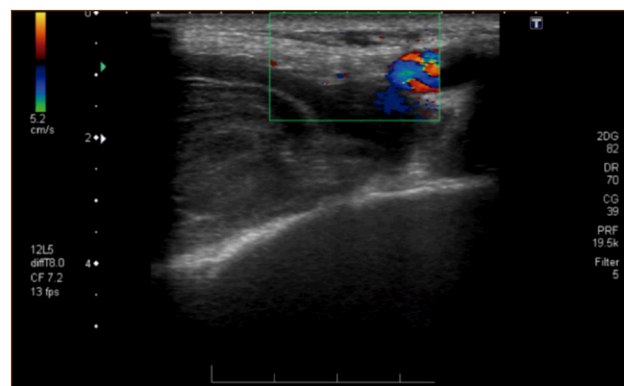


Figura 2.

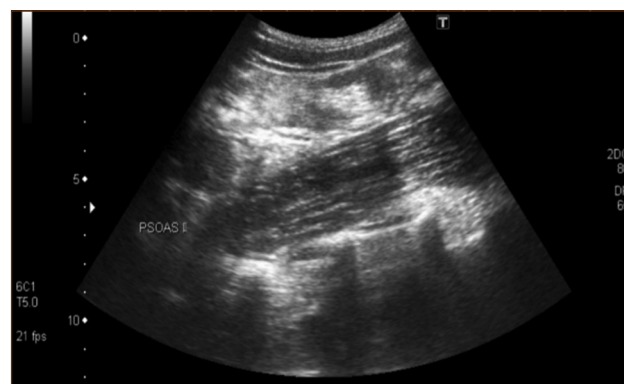


Figura 3.

PB-129 Sangrado masivo en paciente con déficit combinado de factores V y VIII (F5F8D) asociado a linfoma gástrico

López García A., Iñigo Rodríguez B., Asenjo Correa S., Menéndez Cuevas M., Peña Cortijo A., Benavente Cuesta C., Mateo Morales M., Alfayate Lobo A., Cárdenas María C., Mora Casado A., Daorta M., Moreno Paredes N., González Salinas A. M., Trelles Roberto O., Cubillas D., Martínez Martínez R.

Hospital Clínico San Carlos. Madrid

Introducción: El déficit combinado de factores V y VIII (F5F8D) se define como un trastorno hereditario autosómico recesivo producido por una disminución de dichos factores tanto a nivel antigénico como de actividad que suele cursar con hemorragia leve o moderada. Está provocado en un 80-85% de los casos por mutaciones en los genes LAMN1 y/o MCFD2 encargados de transportar dichos factores intracelularmente.

Es una patología ultra-rara más prevalente en el área mediterránea y en matrimonios consanguíneos. El diagnóstico se basa en la determinación de los tiempos de hemostasia secundaria (prolongando tanto el tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPA) como el tiempo de protrombina (TP)) y la consiguiente dosificación de factores plasmáticos.

Caso clínico: Presentamos el caso de un varón de 54 años con antecedente de F5F8D, hábito enólico y diabetes mellitus que acude al servicio de urgencias por presentar deposiciones melénicas y pérdida de peso de 4 kg. no intencionada en el último año sin otra sintomatología asociada y sin hallazgos relevantes a la exploración física. A su llegada a Urgencias presenta hemograma (Hb 14.5 g/dl), bioquímica y estudio serológico normales y los siguientes tiempos de coagulación: TP: 18.1 seg y TTPA 58.4 seg, por lo que, dada la estabilidad hemodinámica, se decide ingreso para estudio endoscópico y determinación de factores, confirmándose niveles de FV del 9% y FVIII 40%.

Se realiza endoscopia oral previa administración de desmopresina mostrando una lesión de unos 3 cm ulcerada con necrosis central y discreto rezumado hemorrágico que, dadas las características de la lesión, no pudo ser biopsiada por riesgo de perforación (Fig. 1).

A las horas del procedimiento, presenta anemia brusca (Hb 7 g/dl) con mala tolerancia clínica, decidiéndose ingreso para perfusión y reposición factorial con plasma fresco congelado (PFC 15 ml/kg) y Beriate-P® y biopsia quirúrgica.

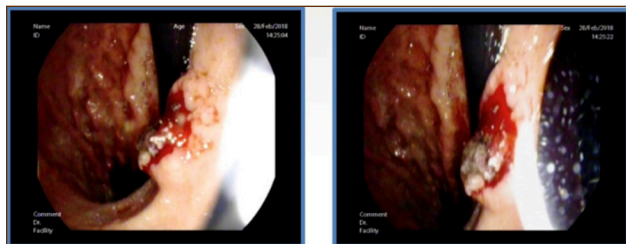


Figura 1.

Ante la sospecha de carcinoma gástrico y sangrado digestivo, se mantiene reposición factorial PFC 10 ml/kg de peso y Beriate-P®, manteniéndose los días posteriores en niveles hemostáticos (Fig. 2) hasta cese de sangrado y biopsia quirúrgica.

El diagnóstico finalmente es compatible con síndrome linfoproliferativo B de alto grado con gastritis crónica moderada-intensa, que por inmunohistoquímica muestra una actividad proliferativa del 80% con fenotípico CD20, BCL6 y CD10 positivos.

En el estudio de extensión, se realiza TAC abdominopélvico que muestra un engrosamiento de pliegues en fundus y cuerpo gástrico sin afectación a otro nivel (Fig. 3). Se traslada a la planta de hematología para completar estudio e iniciar tratamiento, realizándose biopsia de médula ósea sin complicaciones hemorrágicas, libre de afectación, y PET-TC que muestra la lesión previamente descrita con una SUVmax de 16.

Discusión: Una vez caracterizado como linfoma B difuso de células grandes gástrico estadio I2E se inicia tratamiento según el esquema CHOP-R. A los días de iniciar el tratamiento quimioterápico, y dada la ausencia de clínica hemorrágica, se suspende la reposición de factores sin presentar sintomatología hemorrágica.

Actualmente sigue revisiones recibiendo tratamiento según esquema CHOP-R cada 21 días con buena tolerancia, sin haber vuelto a presentar sintomatología hemorrágica y con PET-interim en remisión completa metabólica.

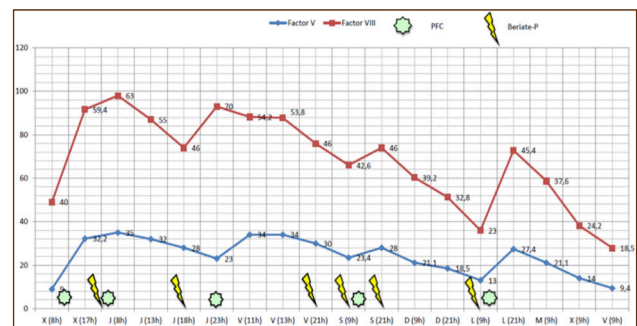


Figura 2.

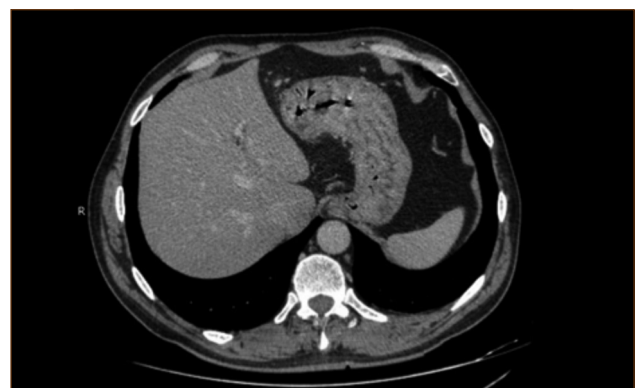


Figura 3.

PB-130 Coagulopatía. ¿Seguro? Kebab

Alvarellos Outeiro M., Areizaga Atela N., Torres López A., Paloma Mora M. J., Redondo Izal M.

Complejo Hospitalario de Navarra. Pamplona

Introducción: Las coagulopatías adquiridas son mucho más frecuentes que las congénitas. Se caracterizan por ausencia de historia familiar/personal de diátesis hemorrágica.

Generalmente se manifiestan como equimosis y hematomas musculares, variando según la gravedad de la coagulopatía.

Mecanismos de las coagulopatías adquiridas: alteración en los factores de coagulación, consumo de factores o presencia de anticoagulante circulante.

La vitamina K es necesaria para la carboxilación de los llamados factores dependientes de la vitamina K (II, VII, IX y X) gracias a la gamma-glutamylcarboxilasa. Cuando existe un déficit de la vitamina K, se producen factores inactivos agammacarboxilados, actuando en cierto modo como antagonistas de los factores normales (PIVKA).

Posibles causas del déficit de la vitamina K: ingesta inadecuada, alteración de la absorción e inhibición de la vitamina K (anticoagulantes orales/raticidas).

Caso clínico: Paciente sin antecedentes médicos de interés ni tratamientos crónicos, que acude a su médico de atención primaria por presencia de hematomas espontáneos de unas 3 semanas de evolución y en las últimas 48h asocia hematuria, epistaxis y dolor abdominal. No refiere clínica infecciosa.

Métodos. Se realiza analítica con hemograma, bioquímica y coagulación. En la analítica de coagulación inicial se obtienen los siguientes parámetros: Tiempo de Protrombina (TP) (9-15s) de 254, INR (0.8-1.2) de 19.54, Tiempo de Trombina Parcialmente Activado (APTT) (21-40s) de 98.8s, Dímero D (DD) (1-500 ngFEU/mL) de 705 ngFEU/mL y Fibrinógeno Clauss (150-450 mg/dL) de 486 mg/dL.

Resultados. Se realiza test de mezclas en el laboratorio de Urgencias, con lo que la coagulación se corrige: TP: 83% INR: 1.15. APTT 35.7 seg. Inicia tratamiento con vitamina K (10 mg/8 h). Al día siguiente se realiza una analítica de coagulación ampliada donde se aprecia una corrección de TP (9-14s) de 15 s, de APTT (21-38s) de 31.8 s, se mantiene un DD de 716 ngFEU/mL, con los siguientes factores de la coagulación tras la primera dosis de vitamina K (Tabla I).

Evolución. Se interroga a la paciente ante la sospecha de envenenamiento o si es posible que haya intento autolítico, se avisa a forense y psiquiatra de guardia por antecedentes personales de abusos y abren línea de investigación para conocer la causa, ya que medicamente no es justificable esta alteración y tan pronta recuperación del cuadro. Presenta evolución, sin incidencias.

Juicio clínico. Tras haber realizado un parte judicial realizan investigación llegando al diagnóstico de envenenamiento por raticidas en alimentos en local.

Discusión: Ante estos resultados del laboratorio podemos ver un déficit de factores de la vía extrínseca que corrigen fácilmente con la vitamina K. Las causas de los déficits adquiridos que alteran la vía extrínseca, son prácticamente inexistentes, siendo las causas más probables la intoxicación voluntaria/involuntaria de los dicumarínicos o envenenamiento por raticidas.

Conceptos básicos en hemostasia

PB-131 Tiempo de protrombina prolongado en las pruebas del preoperatorio como clave para el diagnóstico de una disfibrinogenemia

Jiménez Martínez C.¹, Román D.¹, Díez-Feijoo R.¹, Martínez-Serra L.¹, Parraga I.¹, Montesdeoca S.¹, Vilaplana C.², López L.², Carrasco M.³, Abella E.¹, Besses C.¹

¹Hospital del Mar. Barcelona. ²Laboratori Referència Catalunya. Prat de Llobregat, Barcelona. ³Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona

Introducción: La utilidad de las pruebas de coagulación en el preoperatorio ha sido muy debatida en las últimas décadas. La prolongación del tiempo de protrombina (TP) acostumbra a estar relacionado con causas adquiridas (hepatopatías, tratamientos con anticoagulantes orales), menos frecuente por déficit o un inhibidor del VII. Otras causas, aunque muy raras, son los déficits de fibrinógeno congénito y la disfibrinogenemia. Esta última puede cursar tanto con diátesis hemorrágica como con trombosis.

Material y método: Nos consultaron por un TP prolongado en las pruebas del preoperatorio de un joven de 18 años diagnosticado de Síndrome de Asperger. No existían antecedentes quirúrgicos y en el interrogatorio dirigido refería una diátesis leve (gingivorragia ocasional) y tampoco había presentado fenómenos de trombosis. El familiar acompañante nos relató un posible antecedente materno de alteración de la coagulación no especificada hacía 30 años. Recibía tratamiento por indicación de su psiquiatra con Venlafaxina, Aripiprazole, metilfenidato hidrocloreuro y Clonazepam.

El estudio analítico preanestesia era normal excepto el TP. Se amplió el estudio para averiguar las posibles causas de la prolongación del TP. El estudio evidenció también los alargamientos de los tiempos de trombina y *reptilase* junto a un déficit de fibrinógeno. Al revisar el tratamiento se constató que los psicofármacos Aripiprazole se han asociado con trombosis y Venlafaxina con alteraciones del funcionalismo plaquetario por lo que se informó

Tabla I

F II (70-130) %	F V (50-150) %	F X (50-150) %	F VII (50-150) %	F VIII (50-150) %	F IX (50-150) %	F XI (50-150) %	F XII (50-150) %
40.6	95.2	34.7	43.4	109.4	72	111.5	133

	Preoperatorio	LRC	LHSP	Resultado / Unidades
T. protrombina	1,37 (0,8-1,2)	1,39 (0,8-1,2)	1,26 (0,75-1,3)	A ratio/seg
T. tromboplastina	1,03 (0,8-1,2)	1,03 (0,8-1,2)	1,1 (0,8-1,2)	N ratio/seg
T. trombina		1,59 (0,8-1,2)	37,4 (17-24)	A ratio/seg
T. reptilase		1,69 (0,8-1,2)	34,6 (16-23)	A ratio/seg
Fibrinógeno coagulante		57 (180-350)	126 (150-400)	B mg/dl
Fibrinógeno antigénico			352 (150-400)	N mg/dl
Plaquetas	280 (140-350)		300 (140-350)	N x10 ⁹ /L
PFA 100 (EPI)			87 (72-191)	N seg
PFA 100 (COL)			68 (58-123)	N seg

LRC: Laboratori Referència Catalunya; LHSP: Hospital de la Santa Creu i Sant Pau; A: alto; N: normal; B: bajo.

al psiquiatra para si era su posible sustitución por otros fármacos. Y se enviaron nuevas muestras al laboratorio de hemostasia clínica (Tabla I) para confirmar y ampliar el estudio.

Resultados: Los tiempos de protrombina, trombina y *reptilase* estaban prolongados por déficit funcional del fibrinógeno con fibrinógeno antigénico normal y por tanto compatible con una dis-fibrinogenemia de probable origen familiar (pendiente resultados de estudio de ADN).

Conclusión: La disfibrinogenemia representa una causa muy infrecuente de tiempo de protrombina prolongado, pero debe considerarse en el diagnóstico diferencial de este tipo de alteración.

PB-132 Comparación del método estándar con el método automatizado de generación de trombina

Romero Román L.¹, Tirado García I.¹, Vilalta Setó N.¹, Llobet Lorente D.¹, Vallve Fornieles C.¹, Oliver Samper A.², Fontcuberta Boj J.¹

¹Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. ²Fundació Puigvert. Barcelona

Introducción: La generación de Trombina (GT) es un test global de la coagulación que evalúa la capacidad de formación de trombina total de la muestra en estudio tras la activación de la coagulación. Uno de los principales inconvenientes es la falta de estandarización con la técnica manual utilizada hasta ahora, el Calibrated Automated Thrombography (CAT). Recientemente se ha desarrollado un método automatizado, el ST-Genesiia® para la determinación de la GT en plasma.

Objetivo: El objetivo de este estudio es comparar la determinación de la GT mediante el CAT frente al ST-Genesiia®.

Métodos: Se ha procesado plasma pobre en plaquetas (PPP) de 79 controles sanos en los dos dispositivos. El análisis de GT se realizó con los dos equipos, el CAT (ThrombinoscopeTM, Synapse BV, Maastricht, Países Bajos) y el Genesiia (Diagnostica Stago®). En ambos casos la concentración de factor tisular y de fosfolípidos fue similar, según fabricantes.

El análisis de comparación de ambos métodos se realizó mediante la regresión de Passing & Bablok. Se analizaron *Lag Time* (tiempo de latencia), para el tiempo para alcanzar el pico máximo (*Time to peak TTP*), pico máximo de trombina y el potencial endógeno de trombina (ETP). La prueba t de Student para datos apareados se utilizó para valorar las diferencias entre los dos métodos.

Resultados: No se han observado diferencias significativas para el pico máximo y el potencial endógeno de trombina (ETP), pero sí para el *Lag Time* 0, 22 min (IC 95% 0,14-0,30 p = 0,0001) y para TTP 0, 58 min (IC 95%: 0,38-0,78 p = 0,0001). Las correlaciones entre los distintos parámetros fueron significativas en todos los casos (Tabla I). La regresión de Passing & Bablok mostró diferencias proporcionales para *Lag Time*, TTP y ETP (Tabla I; Figs. 1 y 2). No se observaron diferencias sistemáticas en ninguno de los parámetros estudiados.

Conclusiones: Ambas técnicas son comparables ya que, a pesar de encontrar diferencias significativas entre el *Lag Time* y el TTP, estas no son clínicamente relevantes. En caso del ETP, no toda la variabilidad de los resultados obtenidos por el dispositivo ST-Genesiia® es explicada por el CAT. Ambos dispositivos utilizan una fuente de luz LED distinta (375 nm ST-Genesiia® vs. 390 nm CAT) y distinta medida de fluorescencia (425nM Genesiia vs. 460nm CAT) por lo que la sensibilidad de detección puede variar entre ambos dispositivos. Por otro lado, el ST-Genesiia® incluye la corrección del efecto de la α -2-macroglobulina en la generación de trombina, siendo capaz de monitorizar, de manera más precisa tanto el riesgo hemorrágico y el riesgo trombótico.

	Correlación	Diferencias proporcionales IC 95%
Lag Time CAT vs Genesiia	0,78 (p < 0,0001)	0,75 (IC95%: 0,60-0,92)*
Pico máximo CAT vs Genesiia	0,75 (p < 0,0001)	0,86 (IC95%: 0,70-1,03)
TTP CAT vs Genesiia	0,79 (p < 0,0001)	0,76 (IC95%: 0,65-0,87)*
ETP CAT vs Genesiia	0,57 (p < 0,0001)	0,71 (IC95%: 0,53-0,91)*

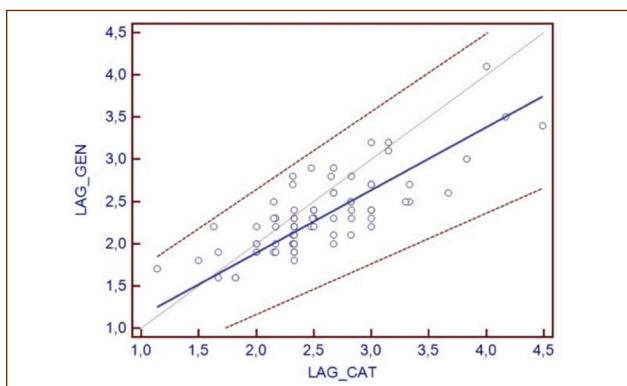


Figura 1.

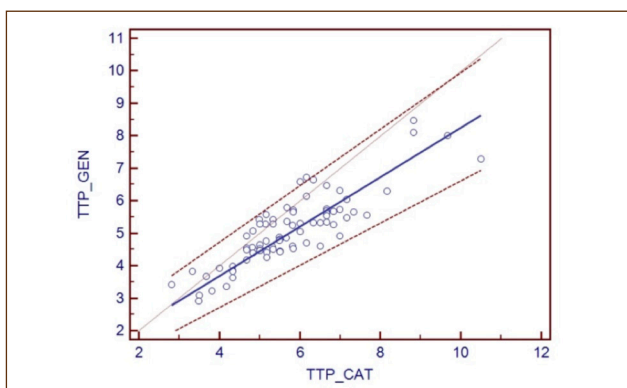


Figura 2.

La automatización de la técnica de la GT permite disminuir el coeficiente de variabilidad permitiendo en un futuro la estandarización de la técnica y su uso en la práctica diaria.

PB-133 Control adecuado del INR. ¿Cuánto damos a la diana?

Angomás Jiménez E. B., Fernández Fernández E., Gutiérrez Pérez O., Reyes Rodríguez V., Campamo García A., Andrés Hernández N., Fernández Fontecha E., Cantalapiedra Díez A., Cidoncha Morcillo B., Pozas Mañas M., Bonis Izquierdo E., García Frade L. J.

Servicio de Hematología. Hospital Universitario Río Hortega. Valladolid

Introducción: La anticoagulación oral es una parte importante de las unidades de hemostasia, ocupa gran parte de la rutina del laboratorio. Los derivados de la cumarina (Acenocumarol en nuestro medio), siguen siendo los más ampliamente utilizados. En nuestro centro, la unidad de hemostasia atiende alrededor de 3.200 visitas al mes de pacientes anticoagulados. Alrededor de un 20% son visitas repetidas de los que no mantienen un rango de

anticoagulación estable. Una forma de medir la estabilidad del INR (International Normalized Ratio) es mediante el tiempo en rango terapéutico (TRT), determinado de forma directa o por Rosendaal. Se considera un control adecuado cuando el TRT Rosendaal es mayor de 65%, y directo > 60%. En este trabajo pretendemos describir el estado de anticoagulación de nuestros pacientes, presentando datos estadísticos y valorando qué porcentaje están en un rango de TRT adecuado.

Métodos: Se trata de un estudio descriptivo que incluye los pacientes relacionados con la anticoagulación oral (acenocumarol), dosificados en la unidad de hemostasia del Hospital Universitario Río Hortega de Valladolid. Se incluyeron todas las visitas realizadas durante la primera quincena de mayo de 2018, con TRT. Se excluyeron los que cursaban ingreso durante el período de recolección de datos, las visitas duplicadas y los de reciente inicio. Los datos se obtuvieron del sistema de dosificación del hospital Gestión y Organización de Terapia Antitrombótica (GOTA) perteneciente al grupo Werfen, la medición del TRT la realiza automáticamente este programa. Los datos se recolectaron en una tabla Excel, utilizando este mismo programa para el cálculo de las medidas y construir las tablas y gráficos. El objetivo central fue la medida del TRT por lo que no se discriminó por diagnóstico y/o rango terapéutico.

Resultados: Durante el período de recolección de datos se registraron 1.691 visitas en el programa GOTA, 104 eran visitas duplicadas y 127 que no cumplían criterios de inclusión, por lo tanto, cumplían criterios de inclusión 1.460 pacientes. Mujeres 759, hombres 828. Cabe destacar que un 50% de los pacientes con controles adecuados tenían un TRT de = 90%, con una mediana de edad de 77 años; la mediana de edad no es relevante porque ambos grupos, TRT > 65% o < 65%, tenían el mismo promedio de edad (Tabla I; Fig. 1).

Tabla I. Porcentajes sobre los 1.232 TRT > 65%

Variable	Frecuencia	Porcentaje
TRT 100%	315	26%
TRT > 90%	619	50%
Mediana de edad 77 años		

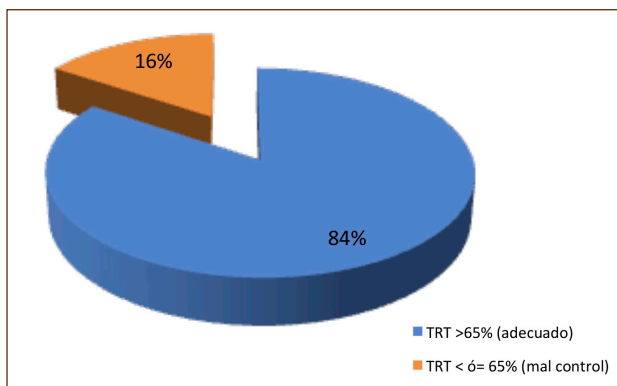


Figura 1. Distribución de pacientes según TRT. De los 1.460 TRT válidos.

Conclusiones: Mantener un buen rango terapéutico se traduce en beneficio para el paciente, para el encargado de dosificar y para el sistema. En nuestro caso más del 80% de los pacientes se encuentran en un adecuado control. La mayoría de nuestros pacientes estudiados mantienen un adecuado rango terapéutico.

PB-134 Aplicación de un algoritmo para corregir el volumen de citrato según el hematocrito. Experiencia en nuestro centro

Sales García X., Criado Casas V., Tello Santos S., Vilalta Setó N., Fontcuberta Boj J.

Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona

Introducción: Las variables preanalíticas y analíticas afectan los resultados de las pruebas de hemostasia. No existe un consenso sobre la concentración de citrato de sodio a utilizar, aunque es imprescindible mantener la proporción de 9:1 (9 partes de sangre por 1 de citrato) para obtener unos resultados fiables. Los tubos de citrato con una concentración de 109nM y 129nM están preparados para mantener esta proporción cuando el valor del hematocrito es inferior a 50%.

Para ofrecer una mayor fiabilidad en los resultados de hemostasia, en nuestro centro hemos aplicado un algoritmo para detectar muestras en las que se solicitan pruebas de coagulación y tienen hematocrito alto.

Métodos: Se ha creado un algoritmo en el programa eIPU (Sysmex® Europe Hamburg, Alemania) para detectar en todos los hemogramas realizados, los valores de hematocrito superiores a 52%. No se han considerado los hematocritos de 50 y 51% por que la cantidad de citrato a ajustar era insignificante.

Una vez detectado el hematocrito elevado, se comprueba si el paciente tiene solicitado un estudio de coagulación. En los casos en que se ha solicitado, se comprueban los resultados obtenidos. Si estos son normales, se valida el resultado. En el caso que sean alterados, se contacta con el servicio implicado y se manda el tubo de citrato ajustado para realizar una nueva extracción.

La corrección del citrato según el hematocrito se realiza con la siguiente fórmula:

$$\text{Volumen de citrato que ha de quedar} = \frac{100-\text{hematocrito}}{595-\text{hematocrito}} \times \text{Volumen total de sangre}$$

Resultados: Se ha realizado un estudio retrospectivo de los estudios del 2017. En 2017 se procesaron un total de 90.931 estudios básicos de hemostasia, de los cuales 477 tenían un hematocrito > 52%. Las características de los 477 estudios se describen en la tabla I y la figura 1. De todas ellos en solo 5 ocasiones se ajustó el volumen de citrato, a pesar que habría sido necesario en 176.

Desde la aplicación del algoritmo, se han procesado 26.619 muestras, 20 (0,08%) con hematocrito > 54% (tras los resultados anteriores, se consideró 54%, más sensible) y 7 con valores de coagulación alterados. De los 7 que se deberían haber ajustado, sólo se hizo en 4 (57%) ocasiones.

Conclusiones:

1. Se ha demostrado que el valor del hematocrito influye en los resultados del estudio de coagulación.
2. Estableciendo el límite de detección en 52% se consigue una mayor detección, aunque según nuestros valores, hematocritos > 54% son más específicos.
3. Con la aplicación del algoritmo, a pesar de la brevedad del estudio, se ha aumentado la capacidad de detección y de corrección del volumen de citrato en caso necesario.
4. Se ha iniciado un registro de todos los citratos con valores de hematocrito superiores al 52% para valorar si hay diferencias significativas en el estudio de coagulación antes y después de ajustarlo y para valorar si la aplicación del algoritmo resulta efectiva.

Tabla I. Características muestras hematocrito > 52%, 2017

Faltan tubos de coagulación	9
Volumen de citrato incorrecto	1
Coagulaciones sin alteraciones	291
Coagulaciones con alteraciones	176

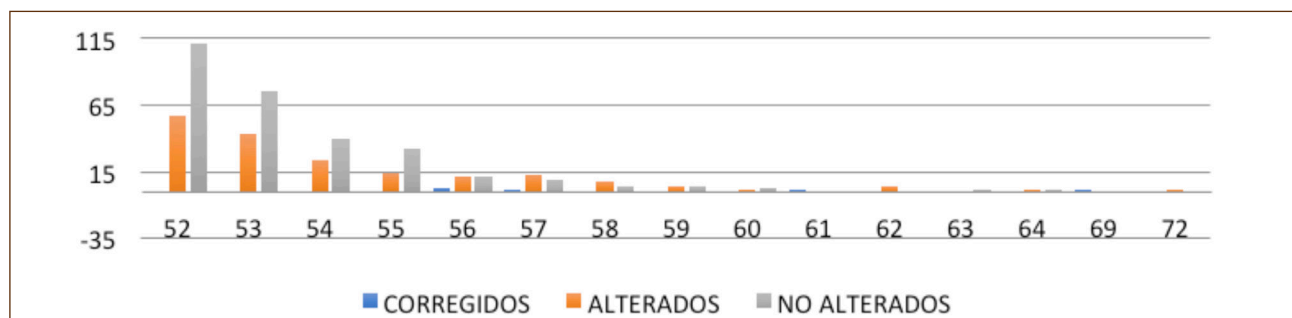


Figura 1.

Diátesis hemorrágica

PB-135 Estudios de seguridad posautorización de FVIII recombinante porcino en la Unión Europea (UE) y Estados Unidos

Mauric O.¹, Chen J.², Vidal I.³, Truong-Berthoz F.⁴

Shire. ¹Viena, Austria; ²Cambridge, Estados Unidos; ³Madrid, España; ⁴Zug, Suiza

Introducción: Se utiliza un Factor VIII de secuencia porcina con delección del dominio B (rFVIIIp) con una baja reactividad cruzada frente a anticuerpos anti-FVIII humano para tratar la hemofilia A adquirida (HAA).

Objetivos: Recoger datos que evalúan la seguridad, los factores relacionados con la seguridad, la utilización y la eficacia del rFVIIIp en la práctica clínica real.

Métodos: En la UE y los EE. UU. hay dos estudios no intervencionistas, multicéntricos, prospectivos, no controlados, abiertos y de una sola cohorte en curso. Reclutan pacientes con HAA > 18 años según la práctica clínica habitual y tratados con rFVIIIp para los sangrados. Se recogen los datos demográficos/características clínicas, comorbilidades y antecedentes médicos, características de los sangrados, indicación del tratamiento, detalles del tratamiento con rFVIIIp, control hemorrágico, medicamentos concomitantes, niveles de inhibidor, tratamientos previos con rFVIIIp y agentes bypass, y acontecimientos adversos (AA)/AA graves al inicio y en las visitas de seguimiento hasta 180 días después de la última dosis de rFVIIIp.

Resultados: El estudio de la UE comenzó a finales de 2016 y sigue en curso en Austria, Alemania e Italia, y se han reclutado 7 pacientes. El estudio de los EE. UU. comenzó en 2015 y actualmente cuenta con 44 pacientes reclutados. En junio de 2017 se realizó un análisis de los datos de 21 pacientes. Entre los pacientes evaluables, 10 recibieron tratamiento con rFVIIIp como tratamiento de primera línea para los sangrados iniciales; 5 como tratamiento de primera línea para los sangrados posteriores; y 9 recibieron rFVIIIp como tratamiento de segunda línea o una línea más tardía. Entre los pacientes evaluables en términos de eficacia, se resolvieron un total de 13 sangrados en 11 pacientes, mientras que hubo 8 sangrados en 7 pacientes que no se resolvieron. No se notificaron acontecimientos tromboembólicos.

Conclusiones: El análisis preliminar del estudio de los EE. UU. muestra que el rFVIIIp es por lo general bien tolerado y efectivo en la HAA. Estos estudios proporcionarán datos sólidos del uso del rFVIIIp en práctica clínica real, aportando conocimientos sobre el uso clínico del rFVIIIp, así como sobre el régimen óptimo para personalizar el tratamiento.

Financiación: Este estudio ha sido financiado por Shire.

PB-136 Monitorización y factores pronósticos en pacientes con hemofilia adquirida

Marco Rico A.¹, Tomás Menor L.², Bolas Tarí E.¹, Lucas Boronat J.¹, Pérez Sala M.¹, López Marín J.¹, Marco Vera P.¹

¹Servicio de Trombosis y Hemostasia. Departamento de Hematología. Hospital General Universitario de Alicante. Alicante. ²Fundación para el Fomento de la Investigación Sanitaria y Biomédica de la Comunidad Valenciana (Fisabio). Valencia. Hospital General Universitario de Alicante. Alicante

Introducción: La hemofilia adquirida (HA), es una enfermedad autoinmune por presencia de autoanticuerpos que neutralizan el FVIII en pacientes sin historia personal ni familiar de patología hemorrágica. Las comorbilidades, cáncer y la edad avanzada se han asociado a menor supervivencia. El inicio precoz de tratamiento inmunosupresor y hemostático se asocian a mejor supervivencia. La tasa de mortalidad oscila entre el 8-22% según las series consultadas. Dada la gran heterogeneidad de esta enfermedad y su baja incidencia, los estudios observacionales son la principal fuente de información en el manejo de estos pacientes.

Metodología: Revisión sistemática de los pacientes con HA diagnosticados en el Hospital General Universitario de Alicante (septiembre 2015-septiembre 2017). Las variables recogidas: edad, género, comorbilidades y tratamiento inmunosupresor y hemostático. Para la monitorización del tratamiento, se analizaron los niveles de FVIII y de autoanticuerpos mediante el test de Keeling (cualitativo y específico de inhibidores del FVIII) y técnica Bethesda (cuantitativo de la tasa de inhibidores contra el FVIII).

Resultados: Se diagnosticaron 2 pacientes con HA postparto (edad media de 41 años) y 6 HA en pacientes de edad avanzada (edad media de 70 años, 70% varones), de los cuales 2 presentaban artritis reumatoide y 1 paciente una neoplasia de próstata. Las pacientes con HA postparto: 1 de ellas desarrolló una hemorragia digestiva alta mientras que la otra paciente presentó metrorragia en el postparto inmediato en contexto de una pre-eclampsia. El título medio de inhibidor fue de 25 UB. El tratamiento inmunosupresor fue con corticoides y ciclofosfamida y tratamiento hemostático con rFVIIa (90 µg/kg/4 horas). Se controló el sangrado en la paciente con hemorragia digestiva, mientras que la paciente con metrorragia postparto precisó cambio de agente bypass a concentrado de complejo protrombínico activado (CCPA) por persistencia de sangrado, y con buena respuesta. El inhibidor se negativizó en ambos casos a los 2 meses del diagnóstico. Actualmente se encuentran asintomáticas. Los pacientes con HA de edad avanzada debutaron con hematomas musculares y en partes blandas. El título medio de inhibidor fue de 12 UB (5-25). Todos iniciaron tratamiento inmunosupresor con corticoterapia sola (1 mg/kg/día) o en combinación y tratamiento hemostático con rFVIIa (90 µg/kg/4 horas). Solo 1 paciente precisó cambio de agente bypass a CCPA por persistencia de sangrado y se añadió Rituximab 375 mg/m²/semana por persistencia de inhibidor, con buena respuesta clínica y analítica. El tiempo medio de desaparición de inhibidor fue de 2 meses. Todos están actualmente en remisión completa, y test de Keeling negativo.

Conclusiones: El inicio precoz de tratamiento hemostático e inmunosupresor ayudó a la supervivencia de los pacientes de edad avanzada y de sus comorbilidades. La monitorización de inhibidores incluyendo el test de Keeling puede servir de guía para determinar la erradicación completa del inhibidor, ya que el método Bethesda tiene una sensibilidad de no menos de 0,5 UB.

PB-137 Incidencia y características de las coagulopatías congénitas raras en la unidad de hemofilia del Hospital Vall d'Hebron

Martínez García M. F., Escuer Turu J., Fernández Caballero M., Cerdá Sabater M., Johansson E., Cerezo-Manchado J. J., Pérez González A., Santamaría Ortiz A., Bosch Albareda F.

Hospital Universitario Vall d'Hebron, Barcelona

Introducción: Las coagulopatías congénitas raras (CCR) son aquellas producidas por los déficits de factores de coagulación I (Fibrinógeno), II, V, VII, combinado del V y VIII, X, XI, XIII y el déficit combinado de los factores dependientes de vitamina K. Tienen una prevalencia que varía de 1 de 500.000-3.000.000 de habitantes según la literatura. La más frecuente es el déficit de factor VII, seguida del déficit de FXI. Pueden presentar diversos grados de clínica hemorrágica los cuales, en la mayoría de casos, dependen del nivel plasmático del factor deficitario. Se conoce poco de la correlación entre los test de *screening* con el estudio de coagulación básica, los niveles plasmáticos de los factores deficientes y el fenotipo hemorrágico.

Objetivo: Identificar el modo de presentación de las CCR en el Hospital Universitario del Vall d'Hebron e intentar realizar una correlación entre la clínica hemorrágica y los niveles del factor deficitario.

Material y métodos: Se realizó un estudio observacional descriptivo a través de la revisión de las historias clínicas de 66 pacientes, en los cuales se obtuvieron resultados patológicos de los factores I, II, V, VII, X, XI o XIII de < 20% durante los años 2014-2016.

Resultados: La mediana de edad fue de 42 años (3-91 años), con una distribución similar de ambos sexos. El 38% presentaba déficit de FVII, 26% de FXI, 17% de fibrinógeno, 7% FV, 5% de FX, 5% de FXIII, 1% de déficit combinado de FV y FVIII y 1% de otros déficits combinados. El 60% de los pacientes no había presentado ningún síntoma hemorrágico y fueron diagnosticados debido a una alteración analítica, el 20% presentó síntomas hemorrágicos tras traumatismos o procedimientos y en un 20% fueron espontáneos. Dentro de los pacientes diagnosticados por un hallazgo analítico, el 37% fue debido a analítica preoperatoria, el 16% estudio familiar, 12% debido a clínica hemorrágica, 12% debido a analítica de rutina en centros de atención primaria, 1% dentro de un ingreso hospitalario y el 22% por motivo desconocido. Del total de pacientes, el 45% nunca requirió tratamiento, 41% ha recibido preparación para intervenciones quirúrgicas (14% presentó clínica hemorrágica) y un 14% recibe profilaxis a largo plazo, de los cuales un 33% persiste con clínica hemorrágica leve.

Conclusiones: La frecuencia de las CCR en nuestra población se asemeja a la descrita en la literatura. La mayoría de los pacientes son diagnosticados de forma casual debido a una alteración analítica, especialmente preoperatoria. Una minoría de pacientes presenta manifestaciones clínicas, por lo que son pocos los enfermos que requieren un tratamiento hemostático específico.

PB-138 Experiencia del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca en trombocitopenia inmune primaria

Leal Rubio J. D., Cabañas Perianes V., Fernández Poveda E., Navarro Almenzar B., García Candel F., Moraleda Jiménez J. M.

Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, Murcia

Introducción: La trombocitopenia inmune primaria (PTI) es una enfermedad autoinmune que se caracteriza por la destrucción de las plaquetas y la producción subóptima de las mismas. Es la causa más frecuente de trombocitopenia en la clínica, pudiéndose manifestar a cualquier edad.

En este estudio trataremos de reflejar la experiencia del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca (HCUVA) en la epidemiología, clínica y abordaje terapéutico y su respuesta en pacientes con PTI.

Objetivo: El objetivo principal del estudio es determinar el tipo de respuesta más frecuentemente presentada en la primera línea de tratamiento, a qué opción terapéutica corresponde y la mediana de tiempo en alcanzar dicha respuesta, en nuestra muestra de pacientes.

Métodos: Hemos realizado un estudio descriptivo tipo serie de casos. Dichos casos se corresponden con cuarenta pacientes diagnosticados de PTI en el HCUVA desde 2010 hasta 2017. Incluimos a pacientes que cumplieran criterios diagnósticos y excluimos a pacientes que no los cumplieran.

Hemos analizado características epidemiológicas básicas (edad al diagnóstico, sexo), formas clínicas y analíticas de presentación de la enfermedad, frecuencia de infecciones y enfermedades autoinmunes concurrentes, tipo de tratamiento en diferentes líneas, respuesta presentada y tiempo en alcanzar la respuesta, corticoides, eventos hemorrágicos y trombóticos y fallecimientos.

Resultados: En nuestra muestra la edad media al diagnóstico fue 61.6 años (mediana 65), con un porcentaje de mujeres del 60% (hombres 40%). El 25% de pacientes presentaron clínica hemorrágica al diagnóstico (100% de tipo mucocutáneo). El recuento plaquetar medio al diagnóstico fue de 47.785 (mediana 36.000). En el momento del diagnóstico, el 15% presentaron serología positiva, el 12.5% autoinmunidad positiva y el 30,8% (de los 13 testados) infección por *H. pylori*.

En la primera línea de tratamiento, el 55% se trató con corticoides (30% sólo corticoides y 25% también con inmunoglobulina intravenosa —IGIV—), de los cuales el 68,2% tuvo remisión completa (RC) y el 18,2% solo respuesta (R). De los sólo tratados con corticoides, el 75% obtuvo RC y el 16,7% solo R. De los tratados con corticoides+IGIV el 60% obtuvo RC y el 20% R. En el 45% se optó por la abstención terapéutica, obteniendo un 55,6% de RC y 16,7% de R.

A la segunda línea llegaron 9 pacientes (22,5%). De ellos, 6 (66,7%) se trataron con Eltrombopag, 4/6 obtuvieron RC, 1/6 R y 1/6 no respuesta (NR). Rituximab fue el tratamiento para 2 (22,2%), 2/2 obtuvieron R. En 1 paciente (11,1%) se realizó esplenectomía, que obtuvo NR.

Se trató en tercera línea a 3 pacientes (7,5%). De ellos, en 2/3 se utilizó Eltrombopag; en 1/2 se obtuvo R y en 1/2 NR. Por último, en 1/3 se utilizó Romiplostim, con NR.

Desde el diagnóstico y durante el seguimiento, el 32.5% presentó eventos hemorrágicos (100% tipo mucocutáneo), el 7.5% eventos trombóticos (100% tipo TVP y 33% tipo TEP). El 36.4% presentaron corticodependencia. El 15% de los pacientes fallecieron, no siendo la PTI causa primaria del fallecimiento en ningún caso.

Conclusiones: La remisión completa fue, con diferencia significativa, el tipo de respuesta más frecuentemente presentada en la primera línea de tratamiento, siendo la corticoterapia sin IGIV la opción con la que más se llegó a dicha respuesta; con una mediana de tiempo de catorce días. Estos datos son concordantes con los encontrados en la literatura consultada.

PB-139 Déficit de factor XIII; experiencia del Hospital Universitari La Fe

Marco Ayala J., Blanco Juan A., Díaz Gonzáles A., Haya Guaita S., Cid Haro A., Zúñiga A., Querol Fuentes F., Bonanad Boix S.

Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia

Introducción: El factor XIII juega un papel crucial en la fase terminal de la coagulación, originando una estructura más estable y resistente a la fibrinólisis. Su deficiencia tiene una prevalencia de 1 por cada 2.000.000 de habitantes y conlleva un alto riesgo de sangrado espontáneo, hemorragia del cordón umbilical, abortos de repetición, y hemorragia intracraneal. En este trabajo se describe la experiencia de nuestro centro en pacientes con déficit de FXIII.

Material y métodos: Se realiza un análisis narrativo retrospectivo de tres casos clínicos de pacientes con déficit de FXIII, desde 1969 hasta la actualidad. Para el diagnóstico se utilizó un estudio funcional cuantitativo basado en liberación de amonio y cuantitativo inmunológico por ELISA. Para el estudio genotípico se empleó un estudio por secuenciación masiva mediante la tecnología de Illumina® y posteriormente, secuenciación directa mediante técnica de Sanger a modo confirmatorio.

Resultados: Se describe el caso de una mujer de 59 años diagnosticada a los 10 años de edad de déficit de FXIII tras hematoma postraumático extenso en el pie. Al no seguir un régimen de profilaxis, desarrolló un hematoma intracraneal a los 25 años, quedando como secuela hemiplejía derecha. En la actualidad sigue controles periódicos con administración de factor profiláctico y no ha desarrollado otros incidentes.

El segundo caso es el de una mujer de 40 años diagnosticada a los 12 años de déficit de FXIII tras hematoma intraparenquimatoso espontáneo, momento en el que empieza tratamiento profiláctico. Durante sus dos gestaciones se aumentó la pauta profiláctica, transcurriendo los partos sin incidencias. No ha desarrollado otras complicaciones hemorrágicas hasta el momento.

El último caso describe una niña de 12 años diagnosticada a los 18 meses de vida de este trastorno por una hemorragia intracraneal por lo que inicia tratamiento profiláctico. No desarrolló complicaciones hemorrágicas en TCE posteriores. El análisis genético reveló una heterocigosis compuesta, con una mutación que no había sido descrita hasta el momento como patogénica.

Conclusiones: Este trabajo hace un recorrido cronológico en el tratamiento de este trastorno y pone de manifiesto el avance que supuso el tratamiento profiláctico, así como las mejoras en lo que respecta a diagnóstico, y el hallazgo de una nueva mutación patogénica no descrita hasta la fecha.

PB-140 Enfermedad de von Willebrand adquirida en relación a síndrome de Heyde

Vega Achábal G., Vidal Laso R., Velasco Rodríguez D., Martín Herrero S., Penedo Coello A., Martínez Alfonso I., Llamas Sillero P.

Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz. Madrid

Introducción: Mujer de 77 años, remitida a Hematología para valorar reintroducir anticoagulación tras complicaciones hemorrágicas.

Antecedentes. HTA, dislipemia, exfumadora, obesidad (IMC 36).

Adenocarcinoma de colon en noviembre 2009. Actualmente en remisión.

Cardiología. Estenosis aórtica severa, miocardiopatía hipertrófica obstructiva, insuficiencia mitral severa. FA paroxística. Insuficiencia cardiaca, clase funcional basal III/IV de NYHA.

Neumología. Síndrome de apnea/hipopnea del sueño grave tratada con BIPAP, hipertensión pulmonar secundaria a estenosis aórtica.

Métodos: Enero 2016. Inicia anticoagulación con Sintrom por FA paroxística (CHADS2-VASc: 5; HAS-BLED: 2) y valvulopatía.

Noviembre 2016. Ingresa por insuficiencia respiratoria crónica agudizada, por sospecha de neumonitis linfocitaria por amiodarona, se realiza fibrobroncoscopia con toma de biopsia, tras la que presenta hemoptisis grave con ingreso en UVI. Durante el mismo ingreso presenta varios episodios de rectorragia con requerimientos transfusionales. **Colonoscopia:** divertículos en colon izquierdo, con restos hemáticos frescos en su interior, sin objetivarse sangrado activo. Coágulo adherido a un divertículo o úlcera. Esclerosis con adrenalina. Por este motivo se cambia tratamiento anticoagulante a Apixaban dosis reducidas (2.5 mg/12h).

Marzo 2017. Ingresa por hemorragia digestiva alta precisando transfusión de hemáties. Estudio de coagulación: TP 11.8sg, índice Quick 92%, INR 1.06, TTPa 28sg, TTPa ratio 0.93, Fibrinógeno 509 mg/dL, Cr 1.03 mg/dL (FG 55 mL/min). Se suspende anticoagulación oral y se deja tromboprolifaxis con HBPM. Hematomas y sangrados desproporcionados en zonas de punción. Ante la gravedad de los episodios hemorrágicos con dosis reducidas de anticoagulación, se amplía estudio de hemostasia (Tabla I).

La paciente no sigue tratamiento que justifique los hallazgos. Se confirman resultados en varias determinaciones.

Resultados: Resultado sugestivo de enfermedad de von Willebrand adquirida tipo 2A. Se envía muestra a centro de referencia para realización de estudio de multímeros (Fig. 1). Disminución leve de los multímeros de alto peso molecular. Ante la sospecha de enfermedad de von Willebrand adquirida en relación a síndrome de Heyde y empeoramiento de la situación cardiológica, se decide de

Tabla I. Estudio de hemostasia

Cofactor Ristocetina (actividad vW)	126,80%	(50-150)
Factor von Willebrand antigénico	*206,40%	(50-160)
Ratio FVW:RCo/FVW:Ag	0,61	
Tiempo de obturación con colágeno/epinefrina	*> 300 s	(94-165)
Tiempo de obturación con colágeno/ADP	*> 300s	(71-119)
Factor VIII (coagulante)	*242,20%	(60-120)
Capacidad de unión del FVW al colágeno	32,00%	

forma multidisciplinar, someter a la paciente a cirugía de sustitución de válvula aórtica por bioprótesis y miomectomía extensa en agosto 2017. Profilaxis quirúrgica empleada: Factor VIII rico en Willebrand (Wilate®), antifibrinolíticos y transfusión de plaquetas. Posoperatorio sin complicaciones hemorrágicas. Evolución analítica (Tabla II) Se envía nueva muestra a centro de referencia para estudio de multímeros (Fig. 2). Proporción multimérica superponible a la de un sujeto normal.

Conclusiones: Actualmente la evolución clínica es favorable, mantiene estudio de hemostasia normal y sigue tratamiento con dosis reducida de Apixaban, sin nuevos episodios hemorrágicos.



Figura 1.

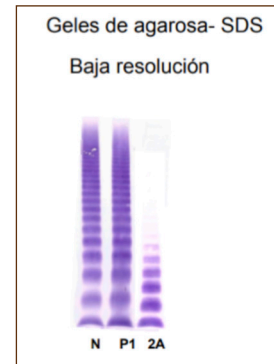


Figura 2.

Tabla II. Evolución analítica

	27/7/2017	Cirugía (25/8/2017)	29/8/2017	31/8/2017	4/9/2017	26/9/2017
Tiempo obturación colágeno/epinefrina (s)	> 300		> 300	> 300	149	121
Tiempo obturación colágeno/ADP (s)	> 300	> 300	> 300	101	116	68
Ratio FVW:RCo/FVW:Ag	0,64 (< 0,7)	0,64 (< 0,7)	0,78 (> 0,7)	0,8 (> 0,7)	0,9 (> 0,7)	0,9 (> 0,7)

PB-141 Déficit combinado de factores II, V, VII, X, proteína C, proteína S y antitrombina

Rodríguez Rodríguez M., Gutiérrez López de Ocáriz X., Castro Quismondo N., Martínez-López J.
Hospital 12 de Octubre. Madrid

Introducción: Los déficits combinados de factores de la coagulación son unas entidades extremadamente raras en la población general, con una prevalencia en torno a 1:1000.000, siendo los más frecuentes el déficit de factores V y VIII, y el déficit de factores vitamina K dependientes. Generalmente son trastornos hereditarios y su gravedad dependerá de los factores afectados y del grado del déficit. Presentamos los casos de dos hermanas de 22 y 23 años de edad respectivamente, naturales de Ecuador, atendidas en nuestro centro a raíz de presentar una prolongación del tiempo de protrombina, sin asociar clínica hemorrágica ni clínica trombotica.

Material y métodos: En ambas pacientes fue realizado un estudio de hemostasia básica en equipos ACL-TOP700 que incluyó tiempo de protrombina (TP), actividad de protrombina (AP), INR, TTPa y fibrinógeno Clauss. Posteriormente el estudio de factores de coagulación completo y de proteínas C, S y antitrombina se realizó en un equipo ACL-TOP500.

Resultados: Resultados del estudio de hemostasia básica en tabla I.

Tabla I

	Paciente 1	Paciente 2
TP	23,2 seg (8,5-13,8)	20,3 seg (8,5-13,8)
AP	38 % (75-140)	40 % (75-140)
INR	2 (0,8-1,2)	1,83 (0,8-1,2)
TTPa	30 seg (26-39)	35 seg (26-39)
Fibrinógeno Clauss	168 mg/dl (200-450)	125 mg/dl (200-450)

Tras estos hallazgos se realizó un estudio completo de hemostasia, incluyendo factores de vía extrínseca e intrínseca, proteína C, proteína S y antitrombina (Tabla II).

Ambas pacientes presentaron un déficit leve de factores II, V, X y fibrinógeno, déficit moderado de factor VII y déficit de antitrombina, proteína C y proteína S. Estos hallazgos no pudieron atribuirse a un déficit combinado de factores vitamina K dependientes, ya que tanto el factor V como la antitrombina no dependen de vitamina K, y ya que el factor IX se encontraba dentro de la normalidad. Fueron derivadas a consulta de aparato digestivo, donde se descartó que estas alteraciones pudieran ser secundarias a una hepatopatía o a un síndrome de malabsorción. Se inició tratamiento con vitamina K, tanto por vía oral como por vía parenteral, sin obtener mejoría en los parámetros en ninguna de las pacientes. Todos estos hallazgos fueron confirmados en sucesivas determinaciones.

Tabla II		
	Paciente 1	Paciente 2
Factor II	49% (65-130)	50% (65-130)
Factor V	56% (65-130)	55% (65-130)
Factor VII	13% (65-130)	18% (65-130)
Factor X	59% (65-130)	60% (65-130)
Factor VIII	123% (60-130)	99% (60-130)
Factor IX	62% (60-130)	106% (60-130)
Factor XI	81% (60-130)	98% (60-130)
Factor XII	92% (60-130)	66% (60-130)
Antitrombina	41% (80-120)	45% (80-120)
Proteína C	55% (70-130)	60% (70-130)
Proteína S	32% (65-120)	39% (65-120)

Conclusión: Ambas pacientes fueron diagnosticadas de un déficit familiar combinado de factores II, V, VII y X, proteína C, proteína S y antitrombina en ausencia de déficit de vitamina K, hepatopatía o malabsorción.

PB-142 Deficiencia congénita de fibrinógeno. A propósito de un caso

Castañón Fernández C., Morais Bras L. R., Martínez Carballeira D., Soto Ortega I., Corte Buelga J. R., Bernardo Gutiérrez Á.

Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo

Introducción: La deficiencia de fibrinógeno (FBG) (funcional, cuantitativa o combinada) puede ser congénita o adquirida. Las alteraciones congénitas son infrecuentes y su prevalencia es difícil de establecer. Pueden ser de tipo I, que afecta a la cantidad de FBG circulante (hipo/afibrinogenemia), o de tipo II, caracterizadas por un FBG disfuncional (dis/hipodisfibrinogenemia). La mayoría de las anomalías congénitas son cualitativas. Se presenta el caso de un varón de 62 años en quien se objetiva alteración del FBG en analítica de preoperatorio.

Métodos: Sin antecedentes de interés, incluidos antecedentes de diátesis hemorrágica. Un hermano diagnosticado de hipo/disfibrinogenemia y portador de una mutación en el exón 8 del gen del FGB que origina una extensión de 12 aminoácidos en la cadena Bbeta462-473, con alteración la red de fibrina, afectando al ensamblaje de las cadenas beta y gamma. En la analítica realizada destaca un FBG derivado de 90mg/dL, con un FBG Clauss indetectable, un tiempo de trombina y reptilase incoagulables, con TTPA y TP dentro de la normalidad.

Resultados: Se trata de un hallazgo incidental de hipo/disfibrinogenemia congénita. Se realiza estudio de los genes FGA, FGB y FGC en laboratorio de referencia, identificando la presencia en heterocigosis de la variante probablemente patogénica c.1474T>G (p.*492Gluext*12) en el gen FGB. Es una variante de tipo stop codón que produce la desaparición de un codón de terminación,

dando lugar a la extensión de 12 codones de la secuencia proteica. Esta variante no se encuentra descrita en las bases de datos consultadas ni en la literatura científica. La disfibrinogenemia congénita presenta mayoritariamente un patrón de herencia Autosómico Dominante. Las manifestaciones clínicas son heterogéneas, tanto hemorrágicas como trombóticas siendo, la mitad de los casos, hallazgos incidentales con alteración de parámetros del EBC. En las alteraciones cualitativas, el diagnóstico puede plantear problemas dependiendo de la sensibilidad de los métodos empleados. En algunas variantes, las pruebas pueden ser normales. Sin embargo, aun con un TT normal, clásicamente se ha considerado el diagnóstico de disfibrinogenemia cuando la ratio entre FBG funcional/Ag es < 0,7. La prueba de mezclas puede mostrar una corrección en hipo/afibrinogenemia pero no en la disfibrinogenemia pues un FBG disfuncional puede actuar como un inhibidor. Si es posible, se deben realizar pruebas funcionales y análisis estructurales en laboratorios especializados para una mejor caracterización de las alteraciones del FBG. Los pacientes asintomáticos deberían ser objeto de un seguimiento regular y de ensayos funcionales para establecer el fenotipo clínico.

Conclusiones: Se presenta el primer caso de un paciente con variante c.1474T>G (p.*492Gluext*12) en el gen FGB, que genera disfibrinogenemia. El comportamiento clínico del paciente sugiere que se trata de una variante de escaso riesgo hemorrágico y mayor riesgo trombótico; de hecho, tras el diagnóstico el paciente presentó un SCACEST con necesidad de *stent* y antiagregación a largo plazo con Clopidogrel sin complicaciones hemorrágicas ni necesidad de terapia sustitutiva.

PB-143 Complicaciones obstétricas en la enfermedad de von Willebrand tipo 2N: a propósito de un caso

Morais Bras L. R., Castañón Fernández C., Fernández Rodríguez A.

Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo

Introducción: La Enfermedad de Von Willebrand (EVW) es la diátesis hemorrágica congénita más frecuentes debida a una alteración cualitativa/cuantitativa del factor von Willebrand. Pese a su frecuencia, hay una falta de evidencia de alta calidad en cuanto al manejo de la EVW durante la gestación.

Caso clínico: Se presenta el caso de una mujer con EVW 2N de 42 años primigesta. Diagnosticada en 1985 de EVW tipo 2N (FvIII:C8%, FvW:Ag62%, FvW:RCo90%) la paciente presentó episodios hemorrágicos en relación con la erupción y extracciones dentarias, metrorragias y hemorragia grave secundaria a rotura de quiste ovárico que precisó tratamiento sustitutivo, así como episodios de hemartros de repetición. Desde la sexta semana de gestación, la paciente comenzó el seguimiento conjunto por obstetricia y hematología. En la semana 21, en la ecografía se objetiva la presencia de un hematoma retroplacentario sin signos de hemorragia activa. Se decide manejo con reposo relativo y observación; en controles posteriores, el hematoma no presenta signos de sangrado activo. En la semana 33 de gestación, consultó por hemorragia vaginal e inestabili-

dad hemodinámica (hipotensión arterial), recibió tratamiento sustitutivo con HaemateP® (40 UI/kg) con lo que cesó el sangrado. Al alta, se inició profilaxis con (HaemateP®20UI/kg/2 días a la semana) para mantener niveles de FVIII:C >50 UI/dL. En la semana 39 de gestación, presenta hemorragia vaginal leve, recibe tratamiento con HaemateP® 20 UI/kg/d. Al ingreso los niveles de FVIII:C eran del 94%. Se prefirió programar una cesárea por placenta previa que transcurrió sin incidencias. Tras la cesárea y al alta, se mantuvo el tratamiento profiláctico con seguimiento estrecho durante las primeras 4 semanas tras el parto. En el postparto, no presentó complicaciones hemorrágicas ni trombóticas. Se mantuvo la profilaxis en las 6 primeras semanas posparto (Tabla I).

Discusión: Las pacientes con EVW tienen algunos riesgos relacionados con el embarazo y el parto: aumento de riesgo de hemorragia postparto, aumento de riesgo de hemorragia y consideraciones especiales en relación con el parto y la analgesia obstétrica. Se recomiendan la monitorización de los niveles de FVIII y FvW previos al parto y se deberían tratar en caso de que los niveles sean menores de 0.50UI/mL. En la mayoría de las pacientes con EVW tipos 1 y 2 los niveles de FvW y FVIII pueden llegar a normalizarse sobre la décima semana de gestación; sin embargo, en la EVW 2N debido a la unión alterada del FVIII al FvW el FVIII circulante es más propenso a la degradación. Hay otro caso reportado de una gestante con EVW 2N sus niveles de FVIII se incrementaron gradualmente durante la gestación, pero eran subóptimos (48 UI/dL) en el momento del parto por lo que tuvo que recibir tratamiento sustitutivo. Conclusiones: En pacientes con EVW tipo 2 (específicamente 2N) la profilaxis ante y postparto inmediato debe considerarse cuando los niveles de FVIII son insuficientes para garantizar la hemostasia. En nuestro caso no han condicionado ningún evento adverso de tipo trombótico.

PB-144 Síndrome de von Willebrand adquirido secundario a gammopatía monoclonal de significado incierto (GMSI) biclonal. Una rareza en la literatura

López García A., Iñigo Rodríguez B., Asenjo Correa S., Menéndez Cuevas M., Benavente Cuesta C., Alfayate Lobo A., Cárdenas M. C., Daorta M., Moreno Paredes N., Trelles Roberto O., Cubillas D., Mora Casado A., González Salinas A. M., Martínez Martínez R.

Hospital Clínico San Carlos. Madrid

Introducción: El síndrome de Von Willebrand adquirido (SvWA) se define como una diátesis hemorrágica caracterizada por alteraciones cualitativas o cuantitativas en el factor Von Willebrand (FvW) que se presenta en pacientes sin historia familiar ni personal previa de sangrado, que puede ser producida por un amplio espectro de patologías muy heterogéneas. Tiene mecanismos etiopatogénicos diferentes de la forma congénita, así como su frecuencia, siendo esta mucho menor, aunque la presentación clínica y los hallazgos de laboratorio son similares. Las distintas enfermedades subyacentes que producen este síndrome tienen mecanismos fisiopatológicos también distintos. Los más frecuentes son los síndromes linfoproliferativos, y dentro de estos la GMSI, que incluso en función de la cadena pesada involucrada, pueden presentar también estas diferencias y, por lo tanto, con respuesta a tratamiento muy dispares entre ellas. Se han reportado casos asociados a gammopatías IgA, IgG e IgM sin haber sido descrito ningún caso asociado a dos picos monoclonales concomitantes, suponiendo esto un reto en su manejo.

Métodos: Se describe el caso de un varón de 49 años sin antecedentes de interés que se había sometido a varios procedimientos invasivos sin complicaciones hemorrágicas, remitido a hematolo-

Tabla I. Monitorización durante gestación, parto y posparto

		FVIII:C (%)	FvW:RCo (%)	FvW:Ag (%)	Hb (g/L)
Semana 20		6,5	109,4	122,9	122
Semana 27		6	110,9	165,6	112
Semana 33	25/08/2017	5,8	105,2	116,9	110
	28/08/2017	104,6	119,1	193,9	110
	30/08/2017	63,7	115,2	ND	118
	31/08/2017	43,2	119	ND	118
	01/09/2017	137	156	ND	107
Semana 37		62	126,9	ND	110
Semana 38		95	125,2	ND	ND
Semana 40 13/10/2017	Pre-cesárea	180,7	263,6	157,7	101
	Post-cesárea	177,1	234	206,2	93
16/10/2017		160,3	ND	ND	97
20/10/2017		21,5	107,3	136,9	107

gía tras exodoncia dental con anemia severa (Hb 7 g/dl) que requirió transfusión de 2 concentrados de hemáties y con tiempo de tromboplastina parcial activado (APTT) prolongado (53,5 seg) siendo los previos normales. No presenta sintomatología hemorrágica espontánea. Se realiza estudio de hemostasia confirmando prolongación del APTT con déficit de Factor VIII (7,6%), Factor Von Willebrand (FvW RCo: 5,5%, FvW Ag: 2,7% Ratio FvW RCo / FvW Ag 2,04) y PFA 100 Col/Epi y Col/ADP >300 así como ausencia de multímeros de alto peso (Fig. 1).

Resultados: Con el diagnóstico de SvWA, se inicia estudio etiológico, con único hallazgo analítico de una GMSI biclonal IgG e IgA, siendo el componente en suero de 0,2 y 0,25 g/dl respectivamente (Fig. 2). Se solicita PET-TC para descartar lesiones en relación con la gammapatía o un síndrome linfoproliferativo asociado, objetivándose un nódulo pulmonar de 14 mm con SUVmax de 15,5 y captación de FDG en recto sin imagen patológica por TC. El estudio ecocardiográfico es normal. Con

estos hallazgos, ingresa para ecobroncoscopia con PAAF de la lesión pulmonar y colonoscopia, previa administración de inmunoglobulina (Ig) intravenosa, ya que no respondía de manera óptima a desmopresina (Fig. 3A). Se consiguió respuesta con normalización de los tiempos de coagulación, FVIII y FvW, que se mantuvo durante 12 días (Fig. 3B). La PAAF fue negativa para malignidad, así como la biopsia tomada en colonoscopia. Dada la mejora de la coagulopatía, se solicita medulograma para completar estudio de GM, mostrando un 3-5% de células plasmáticas por citología y por inmunofenotipo corresponden al 1,75%. A los tres meses, se realiza nuevo PET-TC con persistencia de la lesión pulmonar, pero con menor captación.

Conclusiones: El SvWA es una entidad poco frecuente asociada a multitud de patologías. En este caso se trata de una GMSI biclonal con un nódulo pulmonar solitario en seguimiento que, dada la ausencia de sintomatología, no requiere tratamiento y es seguido trimestralmente en consulta.

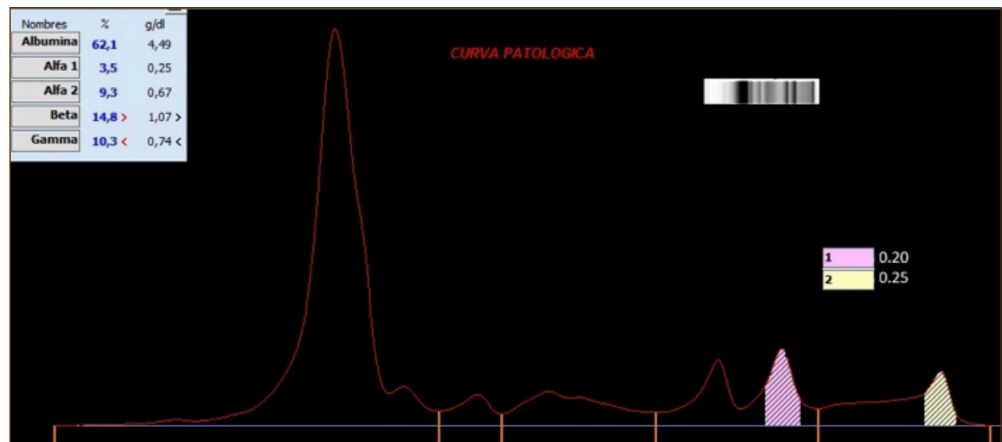


Figura 1.

Figura 2.

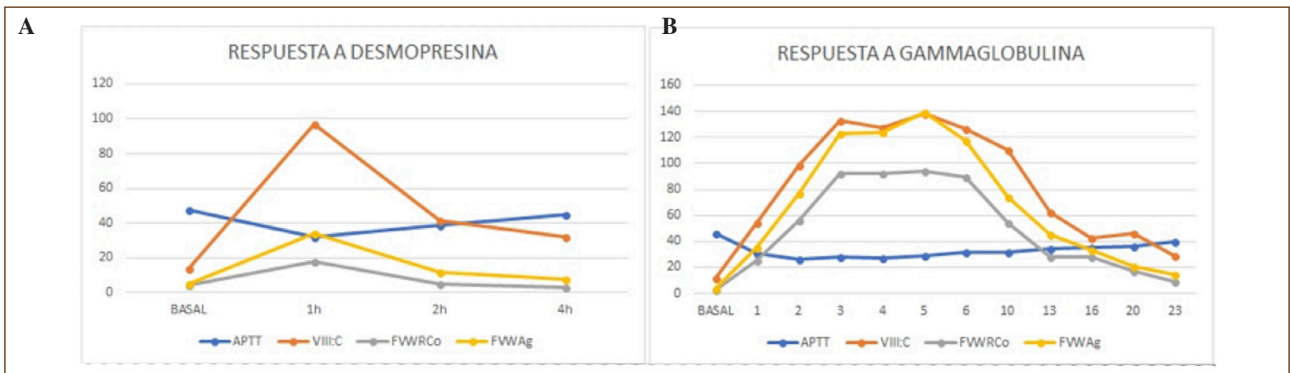


Figura 3.

PB-145 Deficiencia combinada de FV e FVIII: dos casos clínicos**Campaniço S., Rodrigues F., Pereira A., Catarino C.**

Centro Hospitalar Lisboa Norte-Hospital de Santa Maria. Lisboa, Portugal

Introducción: La deficiencia combinada de factor V (FV) y factor VIII (FVIII) (DF5F8) es un trastorno hemorrágico autosómico recesivo raro que se relaciona a mutaciones genéticas que resultan en la ausencia de la proteína ERGIC-53, involucrada en el transporte intracelular del FV y FVIII. Según el relatorio anual de la Federación Mundial de Hemofilia 2016, están registrados cerca de 200 casos a nivel mundial, con mayor prevalencia en regiones con más consanguinidad. En laboratorio se caracteriza por niveles basales disminuidos (entre 5% e 20%) de ambos factores con prolongación del tiempo de protrombina (PT) y del tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPA). Fenotípicamente la DF5F8 se presenta como una discrasia hemorrágica ligera a moderada. El tratamiento de los episodios hemorrágicos suele ser a demanda, con terapia de sustitución de los dos factores deficientes con Plasma Fresco Congelado (PFC) y concentrados de FVIII.

Presentamos dos casos clínicos de DF5F8—mismo diagnóstico, pero antecedentes y clínica muy diferentes: una mujer previamente diagnosticada como probable portadora de hemofilia A ligera, con fenotipo hemorrágico moderado y que necesita de terapia de sustitución con frecuencia; y un hombre con fenotipo hemorrágico ligero y clínica de epistaxis ocasionales.

Métodos: Revisión bibliográfica del tema y consulta de la historia clínica de los pacientes.

Resultados: *Caso 1.* Mujer de 44 años, natural de Brasil, referenciada por el Servicio de Urgencias por menorragias y diagnóstico de portadora de hemofilia A ligera efectuado 6 años antes, con estudio genético que no ha revelado mutaciones en el gene del FVIII. Refiere antecedentes personales de hematomas frecuentes y hemorragia prolongada después de extracciones dentales y parto además de hemartros espontáneo de rodilla y tobillos. Presenta antecedentes familiares de padres consanguíneos y familiares con historia de discrasia hemorrágica. En la evaluación del laboratorio inicial se observa niveles de FVIII 16%, FV 11% y el estudio genético ha revelado una mutación en el gen LMAN1 en homocigota. Debido a episodios de menorragia, es frecuente la paciente necesitar de terapia con PFC y concentrado de FVIII recombinante, además de la administración de hierro endovenoso para tratamiento de la anemia ferropénica asociada.

Caso 2: Varón de 39 años, natural de España, sin antecedentes familiares de consanguinidad, es referenciado por otro hospital ya con diagnóstico de DF5F8, con niveles basales de FV 14% y de FVIII 12%. Presenta fenotipo ligero, caracterizado por epistaxis y gingivorragias desde la infancia, habiendo realizado una extracción dental reciente bajo tratamiento con desmopresina y antifibrinolíticos, sin complicaciones.

Conclusiones: La DF5F8 es una coagulopatía congénita muy rara, por lo que existen pocos casos clínicos reportados a nivel mundial. Hay que subrayar la importancia de una anamnesis completa y cuidada y de una evaluación laboratorial completa, considerando la determinación del FV en presencia de un valor basal de FVIII disminuido y antecedentes familiares de consanguinidad.

PB-145B Hiperfibrinólisis secundaria a ingesta accidental de superwarfarínicos en un paciente pediátrico**Caro Gómez A., Bernardo Gutiérrez A., Rodríguez Lorenzo L., Solé Magdalena A., Ávila Idrovo L. F., Martínez Carballeira D., Corte Buelga J. R., García Gala J. M., Soto Ortega I.**

Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo

Introducción: Los superwarfarínicos son venenos usados como raticidas que tienen su origen en los años 70 cuando los roedores desarrollaron resistencias a los raticidas clásicos. Estos compuestos producen su efecto tóxico al inhibir las enzimas vitamina K 2,3-epóxido reductasa y vitamina K quinona reductasa. Impiden así la activación de la vitamina K y de los factores de coagulación dependientes de ésta (II, VII, IX, X). En contraposición a los anticoagulantes tipo antivitaminas K, estos tóxicos tienen una vida media mucho más larga entre 6-8 semanas y una potencia anticoagulante 100 veces mayor. No es infrecuente la comunicación de casos de ingestas accidentales sobre todo en la edad pediátrica. En un estudio llevado a cabo por la American Association of Poison Control Centres, en el periodo 2000-2003 se recogieron 65.891 exposiciones a superwarfarinas, de las cuales el 96 % fueron no intencionadas y el 89 % correspondían a niños menores de 6 años. En el 95 % de los casos la exposición fue secundaria a la ingesta del producto y un 98 % de los casos sucedieron en el hogar. Lo que es verdaderamente inusual es que estos compuestos generen una hiperfibrinólisis secundaria inmediata tras la ingesta, apenas existen comunicaciones de casos clínicos que presenten esta complicación. En el tratamiento de estas intoxicaciones la técnica de descontaminación gastrointestinal de elección es la administración de carbón activado. El antídoto de estas sustancias es la vitamina K. No obstante, hay que ser concedores de que las intoxicaciones por superwarfarinas podrían requerir en ocasiones hasta 40 mg/kg (en 3-5 dosis) para normalizar las alteraciones de los parámetros hemostáticos.

Métodos: Niño de 2 años que acude a urgencias tras intoxicación accidental de parte de un a bolsa de raticida (Brodifacoum) pequeñas bolas, dicha ingestión fue presencia por un hermano mayor de 12 años que dio la voz de alarma. No reseña antecedentes personales de interés salvo Soprolo inocente II-/VI. A la exploración no presenta clínica hemorrágica. En las pruebas complementarias destaca: Hemograma: Hb 12.2 g/dL leucocitos 7.940 x 10³ / µL plaquetas 260 x 10³ / µL bioquímica: glucosa: 85 mg/dL urea: 38 mg/dL creatinina: 0,33 mg/dL, Sodio: 139 mmol/L ion potasio: 4,2 mmol/L FA: 208 U/L AST: 36 U/L ALT : 14 U/L GGT: 19 U/L bilirrubina total: < 1.0 estudio de coagulación: T.P: 12 seg T.P(R): 1,07 T.T.P.A.: 23,5 seg T.T.P.A R.: 0,78 Fibrinógeno derivado: 85 mg/dL, F. Clauss: 83 mg/dL I.N.R.: 1,07 D-Dimero: 10.004 ng/mL FEU Ante los hallazgos encontrados se descartaron alteraciones preanalíticas y se confirmaron los resultados con nueva extracción por punción venosa directa.

Resultados: A su llegada a Urgencias 1 h 30 minutos tras la ingestión, se administró carbón activado (14 g). Por nuestra parte tratamos la hipofibrinogenemia con fibrinógeno comercial 1.000 mg ev y Vitamina K 10 mg cada 12 horas. Se mantuvo en observación durante 24 horas, asintomático en todo momento. En

el control de coagulación del día siguiente presentaba niveles de Fibrinógeno clausse de 457 mg/dL y un D-Dímero de 513 ng/dL de FEU, por lo que fue alta y seguimiento en nuestras consultas externas durante 6 semanas, se administró 1 ampolla de vitamina K de 10 mg ev semanal con buena evolución (Tablas I y II).

Conclusiones: Es fundamental en niños con alta sospecha de intoxicación por raticidas warfarínicos la realización de un estudio de coagulación basal para comprobar si existen alteraciones como la descrita en nuestro caso, una hiperfibrinólisis secundaria, entidad que puede causar eventos hemorrágicos graves espontáneos. Así mismo el estudio básico de coagulación es importante para chequear la existencia de una hemostasia basal normal, pudiendo asegurarse posteriormente, que la coagulopatía que presenta el paciente es realmente adquirida por el consumo del raticida. En nuestro caso, al impedir la absorción completa con la administración de carbón activado y la rápida reposición de la hipofibrinogenemia/vitamina K, permitió que el paciente no presentase complicaciones hemorrágicas durante su evolución a pesar de haber ingerido un superwarfarínico de alta potencia.

Tabla I. Tipo de rodenticidas anticoagulantes		
Hidroxicumarinas		Indandionas
Primera generación	Segunda generación	
Warfarina	Brodifacouma	Clorofacinona
Cumaclor	Bromadiolona	Difacinona
Cumafuril	Difenacoum	Pindona
Cumatetralil	Difenatilona	Valona
	Flocumafen	

Tabla II. Características diferenciales de las superwarfarinas
Superwarfarinas
Absorción VO.
Más liposolubles y tiene > concentración en hígado
Saturan enzimas hepáticas en concentraciones muy bajas
Son 100 veces más potentes que la warfarina
Larga duración de acción: 21 días
Vida media: 6-160 días

Métodos de diagnóstico y marcadores

PB-146 Estudio comparativo de la determinación de RPCa por dos técnicas coagulativas

Guillén Rienda C., Arrontes Caballero E., Massó Asensio P., Martín Moro F., Hernández Crespo M. E., García Hernando C., Moreno Jiménez G., López Jiménez J.

Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid

Introducción: La heterocigocia para el factor V Leiden (FVL) está presente en un 3-10% de la población sana y en torno a un 15% de los pacientes con enfermedad tromboembólica venosa. La mutación puntual de G x A que tiene como resultado la sustitución de arginina por glutamina en el factor V, impide la correcta unión de la proteína C activa al factor V en la posición 506, impidiendo su inactivación. El test de la resistencia a la proteína C activada (RPCa) es un test coagulativo equivalente funcional a la presencia del Factor V Leiden. Sin embargo, alrededor de 20% de pacientes con RPCa no tienen la mutación del FVL, y es la resistencia en sí misma un factor de riesgo trombótico.

Métodos: Se analizaron 117 determinaciones de RPCa en pacientes a los que se les había solicitado un estudio de trombofilia hereditaria (Tabla I). Se realizó el análisis en el coagulómetro BCS-XP (Siemens) con el reactivo Pro C AcR y ACL TOP 500 (Werfen), con el reactivo APCR-V respectivamente. Según los rangos establecidos en nuestro laboratorio, un RPCa se considera normal si es > 2.1 por la técnica de Siemens y > 2 por la técnica de Werfen. En los casos de RPCa fuera de estos valores, se realizó el test genético para la mutación de FVL con el kit comercial StripAssays FV Leiden (1691G>A; R506Q).

Resultados: La concordancia observada entre ambas técnicas determinada por el índice kappa fue de 0.696 (IC 95% 0,541-0,852). A los 13 casos que resultaron positivos por el BCS y negativos por el ACL TOP se les realizó el test genético, siendo negativo en todos los casos (100%).

Conclusiones: La concordancia entre ambos métodos es buena. La determinación de la resistencia a la proteína C activada por el BCS XP es más sensible que por el ACL TOP, precisando la realización de un test genético posterior en algunos casos positivos.

Tabla I			
ACL TOP	BCS XP		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	21	0	21
Negativo	13	83	96
Total	34	83	117

PB-147 Enfermedad de Gaucher y resistencia osmótica eritrocitaria

López de Frutos L., Cebolla Jorge J., Irún P., Lahoz-Gil C., Giraldo P.

Grupo de Investigación en Enfermedad de Gaucher y Neoplasias Hematológicas (GIIS-012). Instituto de Investigación Sanitaria Aragón (IIS-Aragón). Zaragoza

Introducción: La enfermedad de Gaucher (EG) es una enfermedad de depósito lisosomal (EDL), con un patrón de herencia autosómico recesivo y con una frecuencia aproximada de 1/100.000 habitantes, lo que hace que se considere una enfermedad rara. Se debe a una actividad deficiente de la enzima glucocerebrosidasa provocada por la presencia de variantes en el gen *GBA*. A nivel clínico se clasifica en tres tipos de enfermedad en base a su gravedad, siendo la tipo 1 la forma más frecuente y menos severa,

ya que no presenta afectación neurológica, la tipo 2 la forma más severa con una grave y precoz afectación neurológica que desencadena la muerte antes de los dos años de edad, y la tipo 3, la forma intermedia con afectación neurológica pero que aparece a edades más tardías y de forma menos severa que en los pacientes tipo 2.

Objetivo: En otras enfermedades de depósito lisosomal causadas por disfunción en el tráfico del colesterol y, por lo tanto, que cursan con la formación de acúmulos lipídicos, como el déficit de lipasa ácida lisosomal (DLAL) o la enfermedad de Niemann pick tipo C (NP-C), se ha observado un incremento en la resistencia osmótica eritrocitaria. En este trabajo, nos planteamos si este defecto también se observa en la enfermedad de Gaucher, ya que también se trata de una esfingolipidosis donde el material de acúmulo también es de tipo lipídico o si lo hace solamente en alteraciones asociadas al colesterol.

Método: Se ha realizado el test de resistencia osmótica eritrocitaria a 93 controles y 8 afectos de EG no tratados. Las concentraciones de solución salino utilizadas han sido del 0 y del 0,9% para normalizar los resultados obtenidos y evitar sesgos causados por el recuento eritrocitario de cada sujeto, y 0,49% para realizar el análisis.

Resultados: Los resultados obtenidos mediante los test de Kruskal-Wallis y la U de Mann-Whitney nos muestran que las diferencias observadas entre los dos grupos son estadísticamente significativas ($p = 0,00$) y el análisis de las coordenadas bajo la curva operador-receptor nos permite establecer el punto de corte del porcentaje de hemólisis en el 36,6% con una sensibilidad y una especificidad del 87%.

Conclusiones: Estos resultados demuestran que la resistencia osmótica eritrocitaria se encuentra incrementada en otras esfingolipidosis como la EG y que, por lo tanto, no puede atribuirse a la concentración de colesterol en la membrana del hematíe, sino a un incremento en la resistencia de otro origen.

Este trabajo ha sido financiado parcialmente por una ayuda de FEETEG.

Plaquetas / Biología molecular

PB-148 Recuento de plaquetas en el día +1 posoperatorio de esplenectomía como predictor de respuesta

Pinzón Mariño S.¹, García Ortego A.¹, Yus Cebrián F.², Martínez Lázaro B.², Paul Vidaller P.², Villalba Montaner M.¹, Salvador Rupérez E.¹, Gómez Martínez A.¹, Hernández Mata C.¹, Martín-Consuegra Ramos S.¹, González Gómez E.¹, Moreno Carbonell M.¹, Civeira Marín M.¹, Ferrer Garrido G.¹, Delgado Beltrán P.¹, Caballero Navarro G.¹

¹Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza. ²Hospital de Barbastro. Barbastro, Huesca

Introducción: La trombocitopenia inmune primaria es una entidad cuya patogenia se basa en una destrucción acelerada de carácter autoinmune mediado por autoanticuerpos y una produc-

ción inadecuada de plaquetas. Existen diferentes líneas de tratamiento ante esta entidad, siendo la esplenectomía la opción terapéutica que logra la mayor tasa de remisiones completas duraderas, pero sin existir al día de hoy factores predictivos de respuesta frente a este tratamiento claramente definidos.

Metodología: Basándonos en la publicación de Shylaja et al. en Blood de 2014 (1), nosotros hemos realizado un estudio descriptivo retrospectivo transversal, revisando los archivos médicos de pacientes con diagnóstico de PTI sometidos a esplenectomía entre los años 1990 y 2018 en el Hospital Universitario Miguel Servet y en el Hospital comarcal de Barbastro, logrando obtener acceso a 30 historias clínicas. Se valoró las plaquetas al día +1 posoperatorio, a los 6 meses y al año para evaluar la respuesta frente a la esplenectomía, definiendo como respuesta completa aquel paciente con recuento plaquetario $> 100 \times 10^9/l$ y ausencia de hemorragia.

Resultados: Del total de 30 pacientes (21 mujeres y 9 hombres), con una edad media al momento de la cirugía de 38,5 años (Rango), presentan una cifra media de plaquetas al día +1 posoperatorio de $257 \times 10^9/l$, a los 6 meses una media de $245 \times 10^9/l$ y al año una media de $285 \times 10^9/l$. Al año 24 pacientes (80%) obtuvieron una respuesta completa, mientras que 6 pacientes (20%) no mostraron respuesta al tratamiento (plaquetas 9/l), los cuales al día +1 presentaban una media de $123 \times 10^9/l$ plaquetas y dentro de estos, 2 pacientes a los que se les realizó la determinación de anticuerpos presentaron anti-GP Ib/IX.

Conclusiones: Partiendo de una muestra menor comparado al estudio base, al igual que en el estudio americano la cifra al día +1 posesplenectomía puede servir de factor predictor (aunque en dicho estudio se consideró como predictor de buena respuesta una cifra superior a $112 \times 10^9/l$ plaquetas). Aunque solamente en 2 pacientes de los que no alcanzaron la respuesta completa, se realizó determinación de anticuerpos, llama la atención la presencia de anti-GP Ib/IX en todos ellos, que como se refieren en otros estudios pueden tener una importancia en el fallo de la respuesta a la esplenectomía.

Tratamientos antitrombóticos

PB-149 Uso de anticoagulantes de acción directa en población anciana. Experiencia de un centro

Galicia Flores T., Coll Vallier J., Millacoy Austenrritt P., Aznar Moreno M. V., Signes Fort B., Areizaga Atela N., Torres López A., Gómez Arteta E., Paloma Mora M. J., Redondo Izal M., Quispe Cuba I., Zabalza Sanmartín A.
Complejo Hospitalario de Navarra. Pamplona

Introducción: Desde el inicio de los anticoagulantes de acción directa (ACOD) su uso se ha incrementado exponencialmente, en parte por su eficacia y seguridad, y por la gran cantidad de población que presenta fibrilación auricular (FA) que es la indicación principal. Los estudios publicados son diversos y en población de

mediana edad, sin importantes comorbilidades, como por ejemplo la insuficiencia renal (IR). Hay pocos estudios que reflejan a la población anciana, siendo ésta la que más requiere anticoagulación por mayor riesgo de ictus cardioembólico; además de ser considerada una población frágil con alto riesgo de caída y alta frecuencia de IR y polimedicación.

En nuestro centro, la prescripción de los ACOD viene dirigida por el *Informe de Posicionamiento Terapéutico* del Ministerio de Sanidad, por lo que la indicación de estos fármacos se encuentra sesgada hacia un mayor número de pacientes con FA en lugar de otras etiologías.

Métodos: Estudio retrospectivo observacional de un grupo de 200 pacientes mayores de 75 años vistos en las consultas de coagulación del Complejo Hospitalario de Navarra de diciembre del 2017 a abril del 2018. Quienes ha fecha de la última consulta estaban en tratamiento con ACOD. Hemos valorado el motivo de cambio de AVK a tratamiento con ACOD, tiempo de tratamiento, adecuada dosificación, adherencia al tratamiento, eventos trombóticos, eventos hemorrágicos y efectos adversos.

Resultados: En la población estudiada, observamos que el 51% de los pacientes eran hombres, con una media de edad de 83,7 años (DS 4,8). Se realizó el cambio a ACOD por TRT bajo en el 60% de la muestra, seguido de “Ictus con INR en rango terapéutico” en un 15,5 %.

El ACOD más utilizado fue el Apixaban (43%), mostrando esta tendencia en todas las franjas de edad. La mediana del tiempo de tratamiento fue de 8 meses (rango 3-15 meses). La adherencia al tratamiento fue de un 99%. El 10,4% de los pacientes estaban infradosificados, de estos solo el 31% tenían un HAS-BLED mayor a 3 y el 66,6% eran mayores de 85 años. De los pacientes el 18% había tenido un evento hemorrágico, siendo el más frecuente la hemorragia digestiva (27%). Los eventos hemorrágicos se observaron en menor proporción en el grupo de Dabigatran. Solo un 5,5% presentó efectos adversos, siendo el más frecuente el *rash* cutáneo o prurito (27,3%). Un 1,5% de la muestra presentó algún evento trombótico (mayoritariamente ictus) (Tabla I).

Conclusiones: Los pacientes de mayor edad son siempre una población diana para la infradosificación por las comorbilidades y polifarmacia independientemente del riesgo hemorrágico de base. En esta muestra observamos que el paciente anciano tiene un alto riesgo trombótico sin tener un riesgo hemorrágico elevado. Hay que destacar el alto nivel de adherencia mostrado lo que favorece esta opción terapéutica. La evidencia sobre la seguridad, el hecho de que no requiera una supervisión sistemática de la coagulación y mayor tolerabilidad psicológica en los pacientes ancianos, hacen que los ACOD sean especialmente atractivos para esta población.

Tabla I. Descripción de la población estudiada

	n = 200 (%)	Edad (DS)		
Hombres	102 (51)	82,8 (4,7)		
Mujeres	98 (49)	84,5 (4,8)		
Grupos de edad	75-80 n = 53 (%)	81-85 n = 77 (%)	86-90 n = 48 (%)	≥ 91 n = 15 (%)
<i>CHA₂DS₂-VASc</i>				
2-3	12 (23,5)	25 (49)	11 (21,6)	3 (5,9)
≥ 4	41 (28,9)	52 (36,3)	37 (26,1)	12 (8,5)
<i>HAS-BLED</i>				
< 3	35 (24)	64 (43,8)	35 (24)	12 (8,2)
≥ 3	18 (38,3)	13 (27,7)	13 (27,7)	3 (6,4)
ACOD				
Apixabán	21 (24,4)	32 (37,2)	22 (25,6)	11 (12,8)
Rivaroxabán	12 (20)	26 (43,4)	19 (3,7)	3 (5)
Dabigatrán	9 (34,6)	11 (42,3)	6 (23,1)	0 (0)
Edoxabán	12 (42,9)	11 (39,3)	2 (7,1)	3 (10,7)
<i>Filtrado glomerular</i>				
> 90 ml/min	4 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
60-89 ml/min	37 (30,8)	50 (41,7)	29 (24,2)	4 (3,3)
30-59 ml/min	9 (13)	30 (43,5)	18 (26,1)	12 (17,4)
15-29 ml/min	4 (57,1)	0 (0)	2 (28,6)	1 (14,3)

PB-150 Manejo de gestantes con abortos de repetición en la consulta de coagulación del Hospital Virgen de la Salud de Toledo

Parrilla Navamuel L., Rodríguez Alén J. A., Rollón Simón N., Moreno Ramírez S., Daza Pozo S., Albiño Salazar K. G., Cuesta Tovar J.

Hospital Virgen de la Salud. Toledo

Introducción: La incidencia de abortos de repetición oscila entre el 1-5%. El 15-20% de estos casos, pueden explicarse por la presencia de síndrome antifosfolípido (SAF). En estas situaciones, el tratamiento con ácido acetil salicílico (AAS) y heparina de bajo peso molecular (HBPM) parece tener un beneficio claro. En las gestantes con trombofilia hereditaria y abortos de repetición, la administración de HBPM, puede aumentar el porcentaje de recién nacidos vivos. Y, en aquellas con abortos de repetición sin trombofilia ni SAF, hay estudios contradictorios sobre la utilización de tratamiento antitrombótico.

Métodos: Estudio descriptivo de las gestantes que acuden a consulta de coagulación desde el año 2015 al 2017, por dos o más abortos o pérdidas fetales de repetición inexplicados, que han finalizado el embarazo y han recibido tratamiento con HBPM y/o AAS 100. En los casos en que se realiza monitorización de heparina mediante actividad antiXa, se consideran dosis profilácticas 0.2-0.4 UI/ml y terapéuticas 0.6-0.8 UI/ml.

Resultados: Se valoran 43 gestaciones en 41 gestantes. Antecedentes personales en **tablas I y II**.

La media de abortos previos es de 2,6. El 67,4% ha sufrido 2 abortos; el 16,2%, 3; el 9,3%, 4; el 4,6%, 5 y el 2,3%, 6. Se distribuyen en:

- Primer trimestre: 89,2%.
- Segundo trimestre: 5,4%.
- Tercer trimestre: 5,4%.

En 8 de las gestaciones, se había administrado tratamiento previo:

- HBPM A dosis profilácticas+AAS: 6.
- HBPM: 2 (1 profiláctica y 1 terapéutica).

Como resultados:

- Abortos: 3. En posteriores gestaciones, en 1 se añadió AAS y 2 misma pauta.
- Nacidos vivos: 5. En posteriores gestaciones, en 1 se añadió AAS y 4 misma pauta.

El *tratamiento durante el seguimiento*:

- HBPM: 34,9%. A dosis profilácticas 25,6% y terapéuticas 9,3%.
- AAS: 9,3%.
- HBPM profiláctica+AAS: 53,5%
- Otros (prednisona, fibrinógeno intraparto): 7%.

Como *complicaciones del tratamiento*:

- Sangrados: en 8 de las gestaciones, todos ellos leves. 2 hematomas placentarios resueltos, 1 hematoma por HPBM, 4 sangrados vaginales y 1 episodio de epistaxis.

El *total de nacidos vivos* es del 86% (37):

- Con epidural: 89,2% (34).
 - Sin epidural: 10,8% (3). Todos ellos por causas obstétricas.
- El total de abortos es de 6, de los cuales:
- Trombofilia: 3 (1 factor V Leiden, 1 gen protrombina heterocigoto y 1 mutación. MTHFR homocigoto).
 - Anticoagulante lúpico: 1 AL transitorio 1 AL positivo.
 - Trombofilia+AL: 1 factor V Leiden heterocigoto + AL transitorio.
 - Sin antecedentes: ninguno.

El 55,9% de las gestaciones se monitorizan mediante actividad antiXa. Se *modifica la dosis de HBPM* tras monitorización en el 25,8%.

No se objetivaron otras complicaciones obstétricas graves.

Conclusiones:

1. En nuestra experiencia, el tratamiento antitrombótico en pacientes con abortos recurrentes se ha traducido en un 90% de embarazos a término, sin complicaciones asociadas al procedimiento.
2. En nuestra experiencia, se ha objetivado que la monitorización de heparina mediante actividad antiXa, conlleva ajuste del tratamiento en un alto porcentaje de gestaciones, por lo que consideramos útil su determinación.

Tabla I. Número de gestaciones que se distribuyen según los diferentes antecedentes personales que predisponen a abortos de repetición. En algunos casos más de un predisponente

N.º de gestaciones	Trombofilia	Anticoagulante lúpico (AL)	Trombosis previa	Sin antecedentes
43	23 (53,4%)	14 (32,6%) Al transitorio: 11 Al débil: 1 Positivo: 2	3 (7%)	8 (18,6%)

Tabla II. Distribución de cada uno de los tipos de trombofilia

Trombofilia	MTHFR	Factor V Leiden	Mutación gen protrombina	Disfibrinogenemia congénita
Heterocigoto	2	6	8	2
Homocigoto	5	-	1	-

PB-151 Experiencia de uso de argatrobán en la sospecha de la trombocitopenia inducida por heparina. Estudio retrospectivo en Hospital Universitario de Móstoles

Orbe Jaramillo I., Fernández Jiménez B., Ordóñez García M., Latorre González A.

Hospital Universitario de Móstoles. Móstoles, Madrid

Introducción: La trombocitopenia inducida por heparina ocurre en el 1% de los enfermos tratados con heparina y tiene dos formas de presentación. El diagnóstico se basa en criterios clínicos y puede apoyarse mediante pruebas de laboratorio. La siguiente comunicación detalla 10 casos clínicos que presentaron sospecha TIH en diversas situaciones y uso de Argatrobán como tratamiento.

La trombocitopenia inducida por heparina (TIH) es un síndrome clínico-inmunopatológico. Es un evento adverso relacionado con la administración de heparina por vía intravenosa o subcutánea.

Fisiopatología. La TIH se produce por la unión de anticuerpos (IgG) al complejo heparina-PF4. El F4P no queda circulando libremente en el plasma, sino que permanece unido a la membrana plaquetaria. La heparina circulante presenta una carga negativa, siendo atraída por la carga positiva del FP4.

Clasificación

- Tipo I. Evolución benigna, no inmune.
- Tipo II. Es un síndrome inmune.

Clínica

Los pacientes con TIH usualmente experimentan un descenso brusco del recuento plaquetario de hasta 50%. No son frecuentes los cuadros hemorrágicos. Paradójicamente se trata de una situación protrombótica.

Criterios diagnósticos

Puntuación de las 4T

- Trombocitopenia.
- Tiempo.
- Trombosis u otras secuelas clínicas.
- Otras causas de trombocitopenia.

El diagnóstico de TIH se basa en criterios clínicos y datos de laboratorio como los test serológicos y test funcionales.

Tratamiento

Suspender cualquier clase de heparina y valorar un anticoagulante alternativo.

Argatroban: Inhibidor directo de la trombina.

Métodos: El siguiente estudio es de tipo retrospectivo, transversal y observacional. Se han incluido los pacientes procedentes del Hospital Universitario de Móstoles durante los años 2013-2017, que recibieron Argatroban en la sospecha de TIH. Se han recogido datos relativos a eventos trombóticos, trombocitopenia y evolución clínica.

Resultados: La indicación inicial de anticoagulación fue: profilaxis antitrombótica (4 pacientes), tratamiento de trombosis venosa (5 pacientes) SAF catastrófico (1 paciente). En todos ellos

se usó HBPM y ninguno tenía antecedentes de ingresos en los 3 meses previos.

La clínica principal fue trombocitopenia en un lapso de 6 días como promedio y sólo dos presentaron trombocitopenia en menos de dos días.

El test de anticuerpos antiheparina dio positivo en 5 pacientes y negativo en los otros 5, pero en todos ellos se mantuvo el tratamiento con Argatroban iniciado ante la sospecha de TIH. Nueve de los pacientes evolucionaron favorablemente, el restante (SAF catastrófico) falleció (Tablas I y II).

Conclusiones: Buena evolución clínica ante la sospecha de la TIH con Argatroban. Otra alternativa podría ser los ACOD (en estudio).

La TIH es una contraindicación para el uso de HPBM en el futuro y algunos hemostáticos como el Octaplex, Prothromplex y Beriplex que la contienen como excipiente.

La TIH presenta dificultad o no congruencia con los test diagnósticos disponibles.

No hay disponibilidad de test funcionales que en los algoritmos diagnósticos están como el *gold standar*.

Tabla I. Motivo de anticoagulación
Trombosis venosa de MID extensa, secundario a inserción de catéter
Profilaxis antitrombótica en paciente con antecedente de neoplasia
Trombosis venosa mesentérica superior y trombosis portal
Trombosis venosa profunda en MID de evolución tórpida
Profilaxis antitrombótica en paciente con antecedente de neoplasia
Profilaxis antitrombótica en paciente con antecedente de neoplasia
Tromboembolismo pulmonar en contexto de neoplasia vs anticoagulante lúpico +
SAF catastrófico (TVP femoral común, infartos renales, TEP)
Profilaxis antitrombótica en paciente con DX de sepsis
Trombosis venosa profunda en MII

Tabla II. Resumen de los casos clínicos						
Edad	Sexo	APP Trombóticos	Score 4 T	Uso de Argatroban	Anticuerpos antiheparina	Evolución clínica
76	F	No	6	19 días	Positivos	Favorable
66	F	No	4	10 días	Negativo	Favorable
60	M	No	4	30 días	Positivos	Favorable
85	F	No	2	13 días	Negativo	Favorable
70	M	Sí	4	2 días	Negativo	Favorable
81	F	No	4	13 días	Positivos	Favorable
64	F	No	4	11 días	Positivos	Favorable
77	F	Sí	2	2 días	Negativos	Éxito
53	M	No	4	12 días	Negativos	Favorable
69	F	No	4	8 días	Positivos	Favorable

PB-152 Experiencia en el uso de idarucizumab como agente reversor de dabigatrán en el Hospital Universitario de La Princesa

Sola Aparicio M. E., Acedo Domínguez N., López Pereira P., Alegre Amor A.

Hospital Universitario La Princesa. Madrid

Introducción: Idarucizumab es un inhibidor directo de la trombina y el primer anticuerpo monoclonal humanizado desarrollado para revertir específicamente la acción de Dabigatrán. Su eficacia y seguridad se ha demostrado por el estudio de cohortes prospectivo fase III REVERSE-AD. Está indicado en hemorragias potencialmente mortales y en intervenciones quirúrgicas urgentes.

Material y métodos: Se han analizado retrospectivamente 3 pacientes tratados con Idarucizumab en nuestro hospital, entre septiembre de 2016 y 2018. De los 3 pacientes, había 2 varones y 1 mujer, con una mediana de edad de 76 años (rango: 69-84) y múltiples comorbilidades incluyendo en los 3 casos HTA, dislipemia y patología cardíaca. En dos casos el motivo de anticoagulación fue fibrilación auricular y en otro, trombo apical ventricular recidivante. Las dosis de Dabigatrán fueron en 2 pacientes 150 mg/12 horas y en uno 110 mg/12 horas. Los motivos de reversión fueron: hematoma subdural (HS) tras traumatismo craneoencefálico con necesidad de cirugía; hemorragia digestiva baja (HDB) con inestabilidad hemodinámica y necesidad de cirugía urgente por hernia inguinal incarcerada. La mediana de horas desde la última dosis de Dabigatrán fue 3 (rango 3-10).

Resultados: En los 3 pacientes se administró una sola dosis de Idarucizumab (5g iv). La reversión fue eficaz en los 3 casos, llevándose a cabo cirugía de hernia inguinal en 24 horas, de HS en 2 horas y cediendo sangrado en la HDB en 4 horas. Se reinició anticoagulación en 48 horas con heparina no fraccionada en el paciente con HDB y en 24 horas con Enoxaparina a dosis profiláctica en el paciente con hernia inguinal incarcerada, siendo dados de alta hospitalaria por buena evolución a los 5 y 7 días respectivamente. A pesar de la reversión correcta en el paciente con HS que requirió cirugía urgente, presentó resangrado a las 48 horas y falleció. La eficacia de la reversión no fue evaluada con test de laboratorio específicos. Los 3 pacientes presentaban TTPa y AP alterados que se normalizaron a las 2 horas de la administración de Idarucizumab en el caso del HS y mejoraron a las 24 horas en el caso de la hernia inguinal incarcerada y la HDB, normalizándose en menos de 36 horas. No se observaron eventos adversos.

Conclusiones: Los 3 casos desarrollados anteriormente apoyan el uso de Idarucizumab para revertir la actividad anticoagulante de Dabigatrán. Es el tratamiento de elección en pacientes anticoagulados con este fármaco que presentan sangrado potencialmente mortal, requieren cirugía urgente o procedimientos invasivos. Además, otros agentes reversores (Andexanet alfa y Ciraparantag) para el resto de ACOD están en estudio actualmente.

Bibliografía recomendada

1. Pollack CV Jr, et al. N Engl J Med 2017;377(5):431-41.
2. Edwards G, et al. Trauma Case Rep 2017;13:46-9.

PB-153 Pacientes anticoagulados con HBPM a largo plazo: valoración de la utilidad de monitorizar niveles antiXa

Rivas Luque M., Gámez Jiménez E. M., García Ruiz A., Jurado Chacón M.

Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada

Introducción: La HBPM (heparina de bajo peso molecular) es el anticoagulante de elección en numerosos pacientes. Su dosificación se realiza en base al peso corporal del paciente; no obstante, en ciertos casos, se recomienda la monitorización de niveles antiXa: pesos extremos (> 150 kg y < 45 kg), insuficiencia renal, pacientes con neoplasia activa y tratamiento quimioterápico. Sin embargo, en ocasiones, no está clara la indicación de monitorización, aunque puede ser de utilidad: trombopenias, cirrosis, pacientes anticoagulados a largo plazo, etc.

Objetivo: Nuestro objetivo principal ha sido analizar si, en nuestro entorno, está justificada la monitorización sistemática de estos pacientes, comprobando si existen diferencias entre la dosis correspondiente por peso, frente a la dosis ajustada según niveles antiXa.

Métodos: Se ha realizado un estudio observacional retrospectivo, en el que se han incluido los pacientes anticoagulados con HBPM en los que se ha seguido monitorización anti Xa en nuestro centro en el año 2017. Se han incluido 43 pacientes, de los cuales 20 presentaban neoplasia activa, 3 insuficiencia renal con CrCl < 30 ml/min, 11 trombopenia secundaria a hepatopatía, y 9 se encontraban anticoagulados con HBPM por intolerancia a AVK y no posibilidad de ACOD. Todos se encontraban en tratamiento con intención terapéutica, no incluyéndose pacientes en profilaxis. De cada paciente se han recogido: datos demográficos, motivo por el que precisaban anticoagulación, motivo por el que el anticoagulante de elección ha sido HBPM, dosis que hubiese correspondido por peso corporal, y dosis real administrada según niveles anti Xa, así como la HBPM administrada.

Resultados: Del total de 43 pacientes, 15 precisaban ajuste de dosis distinta a la correspondiente por peso corporal. De ellos, 7 presentaban neoplasia activa, 1 insuficiencia renal, 2 trombopenia secundaria a hepatopatía, y 5 se encontraban anticoagulados a largo plazo con HBPM por intolerancia o contraindicación de AVK y ACOD. Por patologías: entre los 20 pacientes oncológicos, 8 (40%) precisaban dosis distintas a la correspondiente por peso; de los 3 pacientes con insuficiencia renal, en ninguno hay diferencias en la dosis correspondiente a peso; de los 11 pacientes con hepatopatía crónica avanzada y trombopenia, en 2 (18,1%) se ha precisado ajuste de dosis; de los 9 pacientes restantes anticoagulados con HBPM a largo plazo por otros motivos, han precisado ajuste de dosis 6 (66,6%), de los cuales, 1 presentaba déficit de AT III, 2 enfermedad de Parkinson, y los otros 3, FRCV sin otros datos relevantes.

Conclusiones: En determinados grupos de pacientes, es útil realizar niveles anti Xa si se encuentran bajo tratamiento con HBPM pues, por sus características clínicas, van a precisar dosis diferentes a las indicadas por ficha técnica. Si bien es cierto que en algunas circunstancias monitorizar los niveles puede resultar controvertido, o

no estar claramente indicado, en nuestra población hemos observado que los pacientes oncológicos y los que se encuentran anticoagulados con HBPM a largo plazo, pueden, asimismo, beneficiarse de dicha técnica para un mejor ajuste de la dosis.

PB-154 Perfil clínico, eventos y discontinuación en una cohorte de pacientes de vida real anticoagulados con rivaroxabán en una unidad de hematología

Gavín Sebastián O., Martínez Fernández R., de Poo Rodríguez V., Auria Caballero C., Dobón Rebollo M., Palomera Bernal L.

Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. Zaragoza

Introducción: Hasta la fecha, varios estudios han analizado el perfil clínico y los eventos en pacientes tratados con rivaroxabán en la práctica clínica. Sin embargo, estos estudios se han centrado generalmente en otros ámbitos asistenciales, y no tanto en los pacientes seguidos en unidades de hematología, por lo que la información actualmente disponible en este último contexto clínico es escasa.

Objetivo: El objetivo de este estudio fue determinar el perfil clínico y los eventos de una cohorte de pacientes tratados con Rivaroxaban en una unidad de hematología.

Métodos: estudio retrospectivo de pacientes que iniciaron tratamiento con rivaroxabán entre junio de 2013 y noviembre de 2017 en una unidad de hematología de un hospital terciario en España.

Resultados: se incluyeron un total de 161 pacientes de los que 135 (83,9%) tenían fibrilación auricular (FA), 18 (11,2%) enfermedad tromboembólica venosa (ETE) y en 8 (4,9%) pacientes

Tabla I. Perfil clínico y eventos de acuerdo a la indicación de rivaroxabán

Variable	Global (n = 161)	TVP/EP (n = 18)	FA (n = 135)	P
Datos biodemográficos				
Edad media (años)	74,2 ± 10,7	66,0 ± 15,7	75,1 ± 9,4	0,02
Sexo, masculino, n (%)	90 (55,9)	12 (66,7)	71 (52,6)	NS
CHA ₂ DS ₂ -VASC	3,3 ± 1,6	2,4 ± 2,0	4,0 ± 1,5	0,004
Factores de riesgo cardiovascular				
Hipertensión, n (%)	93 (57,8)	5 (27,8)	84 (62,2)	0,01
Diabetes, n (%)	33 (20,5)	1 (5,6)	31 (23,0)	NS
Parámetros bioquímicos				
Creatinina (mg/dL)	0,8 ± 0,5	--	0,6 ± 0,4	--
Filtrado glomerular estimado (ml/min)	76,2 ± 40,1	--	74,9 ± 31,4	--
Hemoglobina (g/dL)	14,6 ± 5,6	--	15,1 ± 5,6	--
Tratamiento antitrombótico				
Tratamiento antiagregante, n (%)	11 (6,8)	0 (0)	10 (7,4)	NS
Duración media del tratamiento con Rivaroxaban (años)	1,8 ± 1,1	2,6 ± 1,4	1,7 ± 1,0	0,01
Dosis, n (%)				
Rivaroxaban 10 mg	2 (1,2)	1 (5,6)	1 (0,7)	
Rivaroxaban 15 mg	36 (22,4)	2 (11,1)	32 (23,7)	NS
Rivaroxaban 20 mg	123 (76,4)	15 (83,3)	102 (75,6)	
Discontinuación Rivaroxaban, n (%)	4 (2,5)	0 (0)	4 (3,0)	NS
Eventos por 100 pacientes-año	1,4	0	1,8	
Eventos				
Ictus/AIT/ES, n (%)	3 (1,9)	0 (0)	3 (2,2)	NS
Eventos por 100 pacientes-año	1,1	0	1,3	
Hemorragia mayor y NMCR, n (%)	8 (5,0)	0 (0)	8 (5,9)	NS
Eventos por 100 pacientes-año	2,8	0	3,5	
HIC, n (%)	1 (0,6)	0 (0)	1 (0,7)	NS
Eventos por 100 pacientes-año	0,3	0	0,4	
Muerte cardiovascular, n (%)	3 (1,9)	0 (0)	2 (1,5)	NS
Eventos por 100 pacientes-año	1,1	0	0,9	
Urgencias/hospitalización, n (%)	9 (5,6)	0 (0)	9 (6,7)	NS
Eventos por 100 pacientes-año	2,8	0	3,9	

TVP: trombosis venosa profunda; EP: embolia pulmonar; ES: embolia sistémica; AIT: ataque isquémico transitorio; FA: fibrilación auricular; NMCR: no mayor clínicamente relevante; HIC: hemorragia intracraneal.

se indicó rivaroxabán por otro motivo. Globalmente, la edad media fue $74,2 \pm 10,7$ años, el 55,9% eran varones, y el CHA₂DS₂-VASc medio $3,3 \pm 1,6$. En cuanto a la dosis de rivaroxabán, 2 pacientes (1,2%) tomaban 10 mg, 36 (22,4%) 15 mg y 123 (76,4%) 20 mg. En comparación con los pacientes con FA, los pacientes que tomaban rivaroxabán por ETV eran más jóvenes, tenían un menor riesgo tromboembólico, y menos hipertensión arterial. La persistencia al tratamiento con rivaroxabán fue elevada, con una tasa anual de discontinuación del 1,4%. El riesgo de muerte cardiovascular, complicaciones tromboembólicas y hemorragia intracraneal fue bajo durante el seguimiento, independientemente de la indicación de rivaroxabán (Tabla I).

Conclusiones: En esta cohorte de pacientes de edad avanzada y elevado riesgo tromboembólico tratados con rivaroxabán y seguidos en una unidad de hematología, la incidencia de complicaciones tromboembólicas y hemorrágicas fue baja, y la persistencia al tratamiento elevada.

PB-155 Idarucizumab e intervención quirúrgica: el tiempo apremia

De la Torre Corona L., García-Donas Gabaldón G., García Díez M., Domínguez Velasco N., Herruzo Delgado B., Montero Benítez J., Rodríguez Fernández A.

Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla

Introducción: Los antagonistas de la vitamina K están dejando paso en la actualidad a los Anticoagulantes orales de acción directa en el tratamiento y la prevención secundaria del tromboembolismo venoso y la prevención de accidentes isquémicos en la fibrilación auricular no valvular. La extensión en su utilización está llevando a que sus complicaciones sean cada vez más un motivo de consulta en las urgencias de nuestros centros hospitalarios. Presentamos el caso de un paciente en tratamiento con Dabigatrán con el que fue preciso utilizar el agente de reversión específico, Idarucizumab, ante la necesidad de intervención quirúrgica (IQ) urgente.

Objetivo: En un subconjunto de pacientes se ha observado la recurrencia de concentraciones plasmáticas de Dabigatrán libre y prolongación concomitante de las pruebas de coagulación hasta 24 horas después de la administración de Idarucizumab, presentamos un caso ocurrido en nuestro hospital con una evolución acorde a estos datos.

Paciente, material y método: Paciente de 77 años anticoagulado con Dabigatrán 110mg/12 horas. Entre sus antecedentes destaca cáncer de colon tratado quince años antes y por el que portaba bolsa de colostomía permanente. Función renal basal (ClCr 70,70 ml/min) dentro de la normalidad. Acude a Urgencias por cuadro de 48 horas de evolución consistente en dolor abdominal, vómitos y disminución del hábito intestinal, así como sangrado mucocutáneo. En analítica destaca leucocitosis con neutrofilia, INR 2,8, tiempo de tromboplastina parcial activada (TPTa) 141.10 segundos (") (valores normales: 25,00 - 38,00"), creatinina 1.50mg/dl (ClCr 46.6 ml/min) y proteína C reactiva 94,30 mg/dl; radiología compatible con cuadro oclusivo/subocclusivo de colon. El paciente es subsidiario de IQ urgente. Última dosis de Dabigatrán 24 horas

antes, se consulta con Hematología que indica tratamiento con Idarucizumab 5 gramos vía intravenosa. Para el desarrollo del presente caso clínico se revisó la historia clínica y la evolución analítica del paciente. A su vez se realizó una búsqueda en PubMed para revisión bibliográfica.

Resultado: En la figura 1 se representan los resultados analíticos previos y tras administración de Idarucizumab. Veinte minutos tras la administración de Idarucizumab se constata normalización de tiempos de coagulación (INR de 3.1 a 1.1 y TPTa de 140.5" a 35.7") con ClCr 41.6 ml/min. La IQ se demoró 8 horas por lo que se realizó nuevo análisis observándose INR 1.9 y TPTa 107.7". Dada la estabilidad hemodinámica del paciente y gravedad del proceso que motivaba su consulta, se decidió IQ urgente sin necesidad de medidas adicionales. En los análisis posteriores se pudo observar un mantenimiento prolongado del TPTa más de 24 horas después de la administración de Idarucizumab sin evidenciarse complicaciones hemorrágicas.

Conclusiones: Nuestro caso evidencia la normalización inmediata en los tiempos de coagulación con Idarucizumab y la evolución clínica favorable con control de la hemostasia a pesar de la insuficiencia renal. Confirmamos lo ya descrito en la literatura como una posible redistribución de Dabigatrán desde la periferia hasta el compartimento intravascular como causa del aumento de los tiempos de coagulación tras reversión en sucesivas 24 horas sin que ello tenga repercusión clínica. Consideramos en cualquier caso recomendable debido a este motivo no demorar la IQ tras constatar reversión con Idarucizumab.

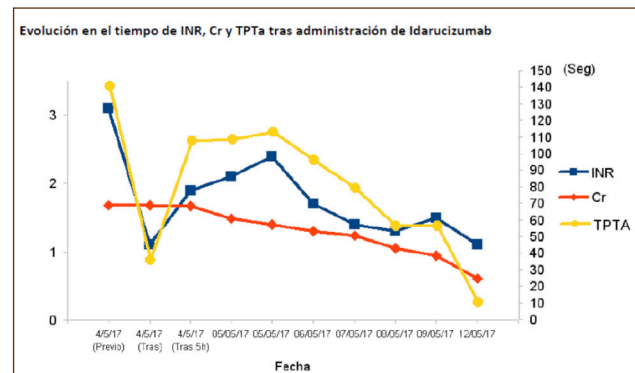


Figura 1.

PB-156 Anticoagulantes de acción directa en paciente con hemofilia A. A propósito de un caso

Fernández Jiménez D.¹, González Navarro P.¹, Pérez Gutiérrez E. M.¹, Jurado Chacón M.²

¹Hospital Universitario San Cecilio. Granada. ²Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada

Introducción: En los últimos años ha habido un incremento en la esperanza de vida en la población hemofílica lo que ha produci-

do un aumento en la incidencia de enfermedades cardiovasculares y enfermedad tromboembólica que, hasta ahora, eran anecdóticas en este grupo.

A este hecho se une la aparición de nuevas opciones terapéuticas, como los anticoagulantes de acción directa (ACOD), con las que enfrentarnos a estas situaciones.

Método: Presentamos el caso de un paciente de 80 años diagnosticado de hemofilia A leve (factor VIII 28%) diabético e hipertenso con enfermedad cardiovascular, mostrando el manejo de la antiagregación y anticoagulación a lo largo de 4 años.

Resultados: Hemofílico A leve diagnosticado de una fibrilación auricular crónica con 80 años con CHA₂DS₂VASC 4 por lo que se decide, conjuntamente con cardiología, iniciar anticoagulación con acenocumarol, sin aparición de complicaciones hemorrágicas. No obstante, el desarrollo de intolerancia digestiva desde su inicio obliga a cambiar por Dabigatran 110 mg/12 h.

Dos años después ante episodios de FA lenta es necesario someter al paciente a la colocación de un marcapasos definitivo. El procedimiento se lleva a cabo sin terapia sustitutiva con factor VIII, como única complicación encontramos un pequeño hematoma local que se resolvió de forma espontánea. Al alta se decide por parte de cardiología cambio a Apixaban 2,5 mg/12 h (pese a normalidad de la función renal y no haber presentado complicaciones hemorrágicas relevante con Dabigatran).

Meses después el paciente acude a urgencias con un síndrome coronario agudo con elevación del ST por lo que se realiza angioplastia coronaria percutánea con implante de 3 *stents* recubiertos. En este momento se decide dejar al paciente con Clopidogrel más anticoagulación, dado que el paciente es alérgico a AAS. Ante nueva clínica anginosa se realizan test genéticos comprobándose una resistencia completa a Clopidogrel lo que lleva a sustituir este por ticagrelor 90 mg/12 h.

En este momento y con el alto riesgo hemorrágico de la asociación de anticoagulación más antiagregación en paciente hemofílico se opta por sustituir la antiagregación por una profilaxis con Fondaparinux 2,5 mg/24 h hasta la suspensión de la terapia anticoagulante. Una vez completada la antiagregación, se sustituyó de nuevo Fondaparinux por Apixaban sin que aparecieran de nuevo complicaciones hemorrágicas ni trombóticas hasta fallecimiento del paciente 1 año después por una complicación infecciosa.

Conclusiones: El manejo de la terapia anticoagulante y antiagregante supone un reto en pacientes con alteraciones congénitas de la hemostasia. No obstante, los ACOD, dado su mejor perfil de seguridad frente a las antivitaminas K, puede ser una alternativa eficaz y segura en pacientes con alto riesgo trombótico.

PB-157 Tratamiento del prurito asociado a edoxabán

Comai A., Artaza G., Olivera Pavel E., Ene G. S., Campoy D., Peró A., Flores K. J., Velásquez C. A., Subirá M., Salinas R.

Unidad de Hematología. Clínica del Banc de Sang i Teixits de Catalunya. Barcelona

Introducción: Los anticoagulantes orales de acción directa (ACOD) han adquirido en estos últimos años un papel fundamental

en la prevención y tratamiento de la enfermedad tromboembólica. Una vez establecida su eficacia y seguridad, identificar posibles efectos adversos (EA) que puedan influir en la calidad de vida de los pacientes anticoagulados cobra especial relevancia.

Casos clínicos: Cuatro pacientes con fibrilación auricular y un paciente con trombosis venosa profunda comenzaron tratamiento anticoagulante con Edoxaban a dosis de 60 mg cada 24 horas. Los cinco pacientes desarrollaron prurito grado 2-3 entre la primera semana y la quinta semana tras el inicio del fármaco, con un deterioro importante de la calidad de vida. En la exploración física destacaban lesiones puntiformes y eritema pruriginoso generalizado. En todos los casos se realizó una analítica como exploración complementaria que no mostró alteraciones en el hemograma, la función renal o el perfil hepático. En un único caso se objetivó eosinofilia (valor máximo $590 \times 10^3/\mu\text{l}$), no conocida. Se inició tratamiento antipruriginoso con Ebastel oral y calamina tópica sin evidenciarse una mejoría. Finalmente, y tras descartar otras posibles causas, se decidió retirar el fármaco y cambiar Edoxaban por otro ACOD. No se realizaron otros cambios de medicación. Las reacciones adversas fueron notificadas. Tras el cambio terapéutico se resolvió la sintomatología en todos los casos.

Discusión: El prurito es clasificado como posible efecto adverso no deseado “común” en la ficha técnica de Edoxaban, pudiendo afectar hasta a un 10% de pacientes. No se indica la gravedad que puede adoptar el cuadro ni qué tratamiento seguir en estos casos. No hay casos reportados en la literatura. Hasta donde sabemos, solo se ha publicado un único caso de prurito asociado a Rivaroxaban por Aguilar-Shea et al. (2017). Nuestra experiencia clínica muestra una correlación temporal entre el inicio del tratamiento con Edoxaban y el EA, además de una respuesta clínica a la interrupción del fármaco.

Conclusiones: El prurito puede ser un efecto adverso del tratamiento con Edoxaban con gran impacto en la calidad de vida de los pacientes. La conducta a seguir en estos casos no ha sido bien establecida. En nuestra experiencia clínica, hubo de retirarse el fármaco.

PB-158 Uso de edoxabán para la prevención de eventos tromboembólicos recurrentes en pacientes con cáncer. Casos clínicos en vida real

Nieto Fernández S.

Hospital Universitario Los Arcos del Mar Menor. San Javier, Murcia

Introducción: Aproximadamente el 25% de pacientes con cáncer requerirán una re-hospitalización por sangrado o enfermedad tromboembólica (ETV). Las guías recomiendan HBPM para la ETV-asociada a cáncer, aunque si no es la opción elegida, no hay preferencia de antivitamina K (AVK) sobre los anticoagulantes de acción directa (NOAC). Recientemente se ha publicado un ensayo clínico randomizado con Edoxaban (NOAC anti FXa) en estos pacientes oncológicos.

Casos clínicos: Presentamos 7 casos clínicos de ETV-asociada a cáncer tratados con Edoxaban (Tabla I). Acontecimientos trombóticos e histórico del tratamiento anticoagulante:

Resumen de la historia clínica de los casos presentados							
	Paciente 1	Paciente 2	Paciente 3	Paciente 4	Paciente 5	Paciente 6	Paciente 7
Edad, años	55	66	70	45	84	82	47
Sexo	Hombre	Hombre	Hombre	Mujer	Hombre	Mujer	Mujer
Tipo neoplasia	Mieloma múltiple	Ca Basocelular y Ca espinocelular invasivo en lóbulo oreja	Ca epidermoide palpebral recidivante y ulcerado	Ca ductal infiltrante*	AdenoCa Recto-Sigmat	AdenoCa Pulmón	Ca de Mamat
Tratamiento oncológico		Crioterapia y QT local. 35 sesiones de RT	Crioterapia, Picato y Aktikerall. Exéresis en mayo 2017	MRM izda + vaciamiento axilar y posterior QT adyuvante Tamoxifeno y Decapeptyl Tto recidiva: Docetaxel- Ciclofosfamida x 6 + G-CSF + RT	Crugia	Inhibidor tirosin kinasa (Genfitinib)	Mastectomía total + Linfadenectomía axilar QT con esquema TAC y hormonoterapia (inicio con tamoxifeno, cambio a Letrozol) Reconstrucción mamaria (Lipofilling)
Tratamiento oncológico actual	Ausencia en la actualidad	Ausencia en la actualidad	Ausencia en la actualidad	Ausencia en la actualidad	Ausencia en la actualidad	Genfitinib	Ausencia en la actualidad
Otras patologías	Colitis ulcerosa	Doble trasplantedo renal. ERC crónica moderada + HTA y ateromatosis carotídea. FANV	Prostatismo severo, Sd. Metabólico. Poliartrosis. déficit leve de Proteína S	Sd CREST. Sd. antifosfolípido	HTA, DMII, ERC	HTA, poliartrosis, bronquitis recidivante, Dilatación Aorta ascendente, cardiopatía hipertensiva y Sd. Depresivo. ERC	Aumento persistente de Factor VIII. Osteoporosis severa
Otros fármacos	Salazopirina + corticoides	Tacrolimus, Everolimus y corticoides	Antihipertensivos, Alopurinol, Simvastatina 20, Condrosan y Alfuzosina, y Risperidona	Corticoide	Antihipertensivos	Antihipertensivos, broncodilatadores, Sertralina y AAS 100	Bifosfonato
Indicación de Edoxaban	ETV recurrente	FANV y ETV	ETV recurrente	ETV recurrente	ETV recurrente	ETV recurrente	ETV recurrente

Ca: carcinoma; ERC: enfermedad renal crónica; FANV: fibrilación auricular no valvular.
 *Ca ductal infiltrante (CDI) mama izda. pT1micpN1mic M0 RE 95% RP 40% HER2 NEG. Junio 2015 recaída como CDI de mama hormonosensible HER negativo
 †AdenoCa Recto-Sigma PT3N1AM0 estado IIIB sin datos de infiltración perineural ni linfovascular el paciente rechaza QT adyuvante
 ‡CDI de Mama izda grado 1 cT2 (3.5) N1 (1/5) M0 RE 60% RP 70% KI67 55 HER2 negativo + Ca ductal in situ extenso.

Caso 1:

- Octubre 09: TVP mesentérica con resección intestinal y Sd. intestino corto.
- Junio 16: TVP poplítea y tronco tibioperoneo dcho. y AIT el mes previo.
- Inicia HBPM y posteriormente acenocumarol, con mal control, en abril 2017 sustitución por Edoxaban 60 mg/día.

Caso 2:

- Noviembre 15: TVP MID
- Febrero 16: TVP contralateral
- Diciembre 16: TVP femoral superficial y poplítea dcha. y Sd posttrombótico.
- Inicio con acenocumarol, con mal control y Hemorragia digestiva baja con INR en rango terapéutico. Cambio a Tinzaparina 12.000 U durante 10 meses, suspensión por hematomas pared abdominal. Uso AAS 100 mg por dolor persistente, suspendido por hemorragia en lóbulo oreja sobre Ca escamocelular ulcerada. Desde abril 2017 Edoxaban 30 mg/día.

Caso 3:

- Abril 16: TVP MID extensa
- Tratamiento con HBPM y acenocumarol complicándose con Hematuria y hematomas pared abdominal. En mayo 2017 inicia Edoxaban 60 mg/día.

Caso 4:

- Enero 17: TVP MID suprapoplítea extensa (asociado a Letrozoluido)
- Tratamiento con HBPM y AVK con mal control. En junio inicia Edoxaban 60 mg/día.

Caso 5:

- Febrero 17: TVP iliofemoral dcha con enoxaparina 40 mg. Posteriormente tinzaparina terapéutica con hematomas extensos en pared abdominal.
- Inicia Edoxaban 30 mg/día en junio.

Caso 6:

- Abril 17: TEP ramas segmentarias y subsegmentarias de LID y LII.
- Inicia Enoxaparina 150 mg/día, con hematoma importante de pared abdominal, cambio a Bemiparina 10.000 U.I. persistiendo hematomas.
- inicia Edoxaban 30 mg/día en noviembre por uso de Genfitinib.

Caso 7:

- Agosto 16: TVP iliofemoral dcha., asociada a tamoxifeno cambiándose a Letrozol.
- Inicia Bemiparina 7.500 U.I. sc/día hasta 16/1/2017 con remisión del trombo. Suspende anticoagulación e inicia AAS 100. Durante el seguimiento persistencia Dímero D. Cambio a Edoxaban 60 mg/día indefinidamente (tras 5 días HPBM post-cirugía).

Conclusión: Los 7 casos presentados confirman buena evolución, sin complicaciones trombo-hemorrágicas de los pacientes oncológicos tratados con Edoxaban.

La ETV-asociada a cáncer es habitual. La HBPM es el estándar, pero es cara, con posibilidad de hematomas en pared abdominal, osteoporosis con riesgo de fracturas y falta de cumplimiento terapéutico. Respecto a los AVK son necesarios controles habi-

tuales añadido a la complicación del manejo de interacciones medicamentosas.

Con la evidencia aportada por Edoxaban, aunque el estándar de tratamiento es HBPM, en pacientes bien seleccionado el cambio a Edoxaban, tras el periodo agudo, puede ser una opción terapéutica muy apropiada en el paciente con cáncer.

PB-159 Utilidad de los test de generación de trombina en pacientes de difícil control a tratamiento con ACOD

Ávila Idrovo L. F., Caro Gómez A., Solé Magdalena A., Soto Ortega I., Martínez Carballeira D., Corte Buelga J. R., Bernardo Gutiérrez A.

Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo

Introducción: El test de generación de trombina es un test global de la hemostasia y de alto rendimiento. Dada la gran variabilidad de la capacidad de generación de trombina en pacientes con ACOD sería significativamente más eficaz su ajuste dosis teniendo en cuenta este test además de las variables clínicas incluidas en ficha técnica de cada anticoagulante. El TGT puede aportar un nuevo y prometedor enfoque para el manejo clínico de sangrado y la trombosis en estos pacientes.

Objetivo: Determinar la utilidad del trombograma en pacientes del Hospital Universitario Central de Asturias a tratamiento con anticoagulantes de acción directa (ACOD) de difícil control y contrastar dichos resultados con los niveles habituales medidos por método TTD o anti-Xa.

Métodos: Se realizó un estudio retrospectivo de 10 pacientes con ACOD, todos con diagnóstico de FA. 2 pacientes (20%) recibieron Rivaroxaban y Dabigatrán, y 6 pacientes Apixaban (60%) (Tabla I). Se analizaron variables como niveles pico del anticoagulante en sangre y el trombograma por el test Generación de trombina automatizada (CAT).

Resultados: Se encontró un 2% por debajo de los rangos esperables plasmáticos para el ACOD, de ellos un 1% estaban con Dabigatrán y Rivaroxaban. 2% estaban sobredosificados estos estaban con Apixaban 2,5 mg, un 6% de pacientes se encontraban con niveles normales, estaban con Apixaban (4), Dabigatrán (1) y Rivaroxaban (1). Al analizar el trombograma observamos que los inhibidores directos de la trombina (Dabigatran) redujeron en

Tabla I

Anticoagulante	Frecuencia	Porcentaje	
Dabigatran 150	1	10%	
Dabigatran 110	1	10%	20%
Apixaban 5 mg	1	10%	60%
Apixaban 2,5 mg	5	50%	
Rivaroxaban 20	2	20%	20%
Total	10	100%	100%

Tabla II

ACOD	Niveles ACOD	Lag Time	Peak Height	Time to peak (ratio)	ETP
Dabigatran 150 mg / 12 h	66,79	1.66	76,26	1.24	54,45
Dabigatran 110 mg / 12 h	49,52	1.34	77,08	1.12	66,2
Apixaban 2,5 mg / 12 h	252,1	1.91	64,53	1.68	67,38
Apixaban 2,5 mg / 12 h	96,9	1.42	62,19	1.32	49,6
Apixaban 5 mg / 12 h	133,6	1.38	89,85	1.27	77,24
Apixaban 2,5 mg / 12 h	291,1	1.82	59,93	1.97	90,24
Apixaban 2,5 mg / 12 h	204,9	1.58	65,45	1.44	78,64
Apixaban 2,5 mg / 12 h	65,5	1.15	83,75	1.12	83,34
Rivaroxaban 20 mg / 24 h	151,9	0.84	166,9	0.86	123,2
Rivaroxaban 20 mg / 24 h	63,9	1.99	102,3	2	133,4

mayor porcentaje el ETP, el Apixaban presenta tiempos de latencia mayores (Lag Time), los pacientes con Rivaroxaban no redujeron el ETP concordando con sus niveles de ACOD, probablemente uno de los casos estaba incumpliendo el tratamiento (Tabla II).

Conclusiones: En nuestros pacientes se destaca la mayor capacidad para inhibir la generación de trombina de Dabigatran (ETP y Lag time), incluso cuando sus niveles plasmáticos son infraterapéuticos. Por otro lado, resalta la capacidad de Apixaban para retrasar el inicio de la hemostasia, pero reduciendo mucho menos la generación de trombina a pesar de niveles supratrapéuticos. Rivaroxaban es el fármaco que menos inhibe la generación de trombina en nuestros pacientes. Son necesarios más estudios y mayor número de pacientes, pero destaca el potencial del TGT en la monitorización de los ACOD y ayudarnos a prevenir complicaciones trombotico-hemorrágicas. El TCG es un test más representativo del nivel de anticoagulación, por lo cual podrían identificar de mejor manera el fenotipo hemostático en comparación con las pruebas de medición cuantitativa de niveles plasmáticos que solo miden función y no cantidad.

Trombosis

PB-160 Colitis isquémica asociada a trombofilia hereditaria

Alkadi-Fernández N., Mezquita Romero L., Jiménez Bárcenas R., Núñez Vázquez R., Rodríguez-Martorell J.

Hospital Universitario Virgen del Rocío. Instituto de Biomedicina (IbIS).
Universidad de Sevilla. Sevilla

Introducción: La colitis isquémica (CI) es la forma más frecuente de isquemia intestinal (60-70%). Aunque de etiología multifactorial, la mayoría son secundarios a isquemia no oclusiva o hipoperfusión de colon, considerándose muchos idiopáticos. Algunos autores sugieren asociación de CI y trastornos hereditarios de coagulación. La trombofilia hereditaria más prevalente es la mutación de Factor V Leiden (FVL), seguida de mutación

G20210A del gen de la protrombina. El riesgo trombotico de la mutación FVL es 7 veces superior en heterocigotos que, en individuos sin mutación, y en portadores de la mutación del gen de la protrombina, el riesgo aumenta de 2 a 3 veces respecto a los no afectados. Son los factores de riesgo (FR) genéticos más frecuentes para enfermedad tromboembólica venosa (ETE). Sin embargo, su predisposición a eventos arteriales es controvertida.

Métodos: Presentamos cuatro casos de CI diagnosticados en un Hospital de tercer nivel en pacientes con trombofilia hereditaria. Estudio retrospectivo, durante los dos últimos años (enero 2016-enero 2018).

Resultados:

Caso 1: Mujer 54 años, alergia a aspirina, fumadora, antecedentes tromboticos: flebitis agosto/2016. Acude a Urgencias en Octubre/2016 por dolor abdominal hipogástrico de 48 horas de evolución, sin fiebre, deposiciones sin características patológicas. TAC abdominal, Colonoscopia con biopsia: compatible con CI. Estudio trombofilia (ET): mutación Heterocigota FVL.

Caso 2: Varón 56 años, antecedentes familiares: ETEV portadores mutación FVL. Antecedentes personales (AP): portador heterocigoto mutación FVL (2011). Clínica de rectorragias de 10 años de evolución asociado a dolor abdominal, diagnóstico (dco) CI en noviembre de 2016 remitió con tto conservador. CI de repetición en Octubre/2017, requiriendo hemicolectomía. Acude a Urgencias en Diciembre/2017, por dolor abdominal y rectorragia de 12 horas de evolución, sin fiebre. Angio-TAC abdomen: sd pinza aorto-mesentérica superior incidental. Dco: CI de repetición (3 episodios), hemicolectomizado, con trombofilia hereditaria por mutación de FVL.

Caso 3: Varón 57 años, AP: hiperuricemia en tratamiento con alopurinol. No antecedentes ETEV. Acude a Urgencias en enero de 2018, por dolor abdominal y rectorragia de 72 horas de evolución, sin fiebre. TAC abdominal compatible con pancolitis. Colonoscopia con biopsia: compatible con CI.ET: mutación G20210A heterocigota del gen de la Protrombina asociado a déficit funcional de la proteína-S.

Caso 4: Mujer de 77 años, AP: intolerancia a aspirina, HTA, Dislipemia, cardiopatía hipertensiva. No antecedentes ETEV. tto: hipolipemiente y antihipertensivo. Acude a urgencias en Noviembre/2017

Tabla I				
	Caso 1	Caso 2	Caso 3	Caso 4
FRCV*	No	No	No	HTA Dislipemia Cardiopatía hipertensiva
Hemograma y coagulación	Normal	Normal	• Leucocitosis neutrofilica • Coagulación normal	Normal
Colonoscopia Diagnóstica	Octubre 2016: afectación segmentaria colon descendente distal, a descartar origen isquémico/inflamatorio	Noviembre 2016: mucosa eritemato-edematosa, ulceraciones geográficas compatible con Colitis isquémica/inflamatoria	Enero 2018: mucosa con ulceración fibrinada y aspecto nodular/congestivo. Lesiones ulceradas salteadas.	Noviembre 2017: mucosa de colon sigmoide con segmento de 15 cm con equimosis intramucosas, edema y erosión superficial.
Anatomía patológica	CI [†]	CI	CI	CI
Estudio trombofilia	Mutación heterocigota fvl	Mutación heterocigota FVL	Mutación heterocigota Gen de la Protrombina y déficit funcional proteína S	Hiper-homocisteinemia con mutación heterocigota MTHFR
Tratamiento	Conservador	Conservador	Conservador	Conservador

*FRCV: factores de riesgo cardiovascular. [†]CI: colitis isquémica.

por dolor abdominal, vómitos y rectorragia de 48 horas de evolución. No fiebre. TAC abdominal: CI de colon ascendente y sigmoide proximal. Colonoscopia con biopsia compatible con CIET: Hiperhomocisteinemia leve con mutación MTHFR C677T heterocigota.

Evolución: Casos 1, 3 y 4: Alta con tto conservador. No se han repetido episodios trombóticos. Mantienen medidas de prevención con heparina de bajo peso a dosis profilácticas, para situaciones de riesgo trombótico. CASO2: Alta con tto conservador. Valorado por Hematología, debido a CI de repetición, se inicia tratamiento anticoagulante permanente con AVK desde diciembre de 2017. No se ha vuelto a repetir episodio de CI (Tabla I).

Conclusiones: La trombofilia hereditaria puede tener un papel relevante en la patogenia de la CI, considerando una predisposición genética en casos de CI idiopática, como reflejan 3 de 4 casos presentados, que no tenían otros FR a los que atribuir la isquemia. En pacientes con FRCV (factores riesgo cardiovascular), puede actuar como cofactor para el desarrollo de eventos arteriales. La decisión sobre tto anticoagulante a largo plazo requiere valorar la persistencia de FR de enfermedad vascular (venosa/arterial), debido a que el riesgo de CI de repetición es variable de un paciente a otro. Sería recomendable realizar un estudio de trombofilia en pacientes jóvenes diagnosticados de CI idiopática y en casos recidivantes, como reflejan las guías clínicas de gastroenterología.

PB-161 Indicaciones del estudio de trombofilia: experiencia en nuestro centro

Díaz Roldán B., Domínguez Rodríguez J. F., Gómez Correcha K., Ruiz Cobos M. A., Fernández Moreno F.

Hospital Universitario Juan Ramón Jiménez. Huelva

Introducción: La enfermedad tromboembólica venosa (ETV) supone un grave problema sanitario a nivel mundial ya que causa una

elevada mortalidad y puede asociarse a complicaciones crónicas invalidantes. La ETV tiene una etiología multifactorial, entre ellos los estados de trombofilia hereditaria. La realización de estudios de trombofilia es una práctica extendida en la mayoría de centros hospitalarios en pacientes que padecen ETV. Estos estudios conllevan una serie de problemas: la selección de los pacientes, la dificultad de la interpretación en un contexto clínico y el consumo elevado de recursos.

Objetivo: Estudiar la prevalencia de estados de hipercoagulabilidad en los pacientes con indicación de estudio de trombofilia y en aquellos que no tienen indicación.

Material y método: Se incluyeron a los pacientes a los que se les realizó estudio de trombofilia en el servicio de coagulación desde enero de 2017 a abril de 2018. Se consideró la indicación del estudio de trombofilia en los pacientes menores de 55 años con enfermedad tromboembólica venosa (ETV), en los casos de ictus paradójicos, en las mujeres infértiles y con abortos de repetición, en los pacientes con antecedentes familiares de primer grado, en los pacientes transexuales que van a recibir hormonoterapia de feminización y en los trasplantes renales.

Se separó a los pacientes en dos grupos, los que tenían indicación de estudio de trombofilia y los que no lo tenían. Tras esto, se evaluó la prevalencia de estados de hipercoagulabilidad en cada grupo. También se evaluó la presencia de factores de riesgo para la ETEV en ambos grupos, considerando como factores de riesgo la hipertensión, la diabetes, la dislipemia, la toma de anticonceptivos, el ser fumador y la inmovilización prolongada.

Resultados: Se incluyeron un total de 319 pacientes con una media de edad de 44,63 con una desviación típica de 16,36 años. Un 63,64% (203 pacientes) eran mujeres.

Un 64,89% (207) de los pacientes tenían indicación de realizarse el estudio de trombofilia. La edad media fue de 38,65 años con una desviación típica de 13,14 años. La prevalencia de estados de hipercoagulabilidad fue del 36,71% (76 pacientes) en este grupo. De estos pacientes el 37,38% (77 pacientes) presentaba algún factor de riesgo para desarrollar ETEV.

Un 35,11% (112) de los pacientes no tenían indicación de realizarse el estudio de trombofilia. La edad media fue de 55.97 años con una desviación típica de 15,8 años. La prevalencia de estados de hipercoagulabilidad fue del 21,62% (24 pacientes) en este grupo. De estos pacientes el 62,73% (69 pacientes) presentaba algún factor de riesgo para desarrollar ETEV.

En el análisis estadístico se evidencia una relación entre la indicación del estudio de trombofilia y la probabilidad de tener un estado de hipercoagulabilidad con una OR de 1,25 (IC al 95% de 1,07- 1,46) (Fig. 1).

Conclusiones:

1. Existe mayor probabilidad de ser portador de una trombofilia en el subgrupo de pacientes correctamente seleccionados para dicho estudio.
2. Los pacientes que tienen indicación para realizarse estudios de trombofilia tienen menos prevalencia de factores de riesgo para ETV que los no indicados.
3. La adecuada selección de los pacientes a los que realizar los estudios de trombofilia lleva a una mayor probabilidad de identificar a los pacientes con trombofilia.

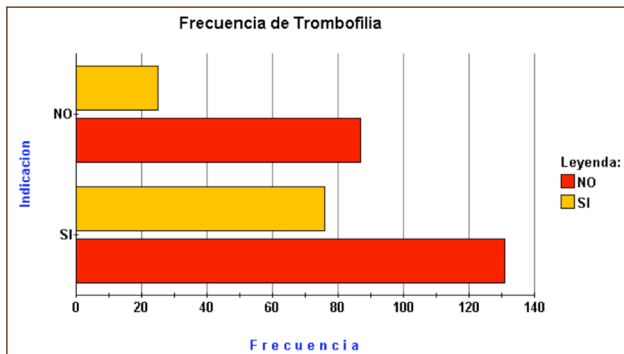


Figura 1.

PB-162 Comparación de diferentes algoritmos en la detección del anticoagulante lúpico. Experiencia de un centro

Patricio Dalila M.¹, Pinheiro Joana R.¹, Luis T.¹, Preto R.¹, Batista M.², Fazenda S.³, Barreira R.^{1,3}, Orfão G.¹, Sevivas T.¹, Salvado R.¹, Tomaz J.¹

¹Serviço de Sangue e Medicina Transfusional. Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra. Coimbra, Portugal. ²Serviço de Patologia Clínica. Instituto Português Oncologia de Coimbra. Coimbra, Portugal. ³Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Coimbra. Coimbra, Portugal

Introducción: Anticoagulante Lúpico (AL) constituye un grupo heterogéneo de anticuerpos. Su presencia persistente es uno de los criterios para diagnóstico de Síndrome Antifosfolípídico (SAF), asociado a trombosis y complicaciones obstétricas. Las recomendaciones para su pesquisa son dilución del Tiempo de Veneno de Víbora de Russell (dRVVT) y otro test basado en Tiempo de Tromboplastina Parcial Activado (APTT). No existe un ensayo único para su detección, creando discrepancias interpretativas al aplicar diferentes algoritmos (ALG).

Métodos: Comparar ALG BSH/CLSI y Test Integrado (TI), en estudio retrospectivo datos comunes, señalando las diferencias clínicamente significativas y evaluar sus ventajas diagnósticas. Fueron utilizados dRVVT y / o Tiempo de Coagulación de Sílica (SCT) (Werfen®IL) en plasmas no diluidos, en 491 muestras de pacientes referidos a nuestro centro (2017-2018) con APTT (Werfen®IL) normal o prolongado, de las cuales 250 estudio de tendencia trombótica (TT). Determinación de Intervalos de Referencia (RI; media ± 2SD) por año/lote): 77 muestras de individuos sanos (Tabla I). Los tiempos de cribado (S) y confirmación (C) se convirtieron a razones normalizadas (R) cociente tiempos de coagulación / media del RI. En rutina (RUT) el AL fue POS cuando R del S presentaba valores encima de los RI comerciales y/o un R total

Tabla I. Intervalos de referencia (RI) para cada año y respectivo lote de reactivos de dRVVT y SCT

n = 40*	2018/lote actual					
	Media†		Mínimo		Máximo	
	t"	SD	t"	Ratio N	t"	Ratio N
SCT-C	†31,0	1,9	27,2	0,88	34,8	†1,12
SCT-S	†32,5	1,7	29,1	0,90	35,9	†1,10
dRVVT C	†28,3	1,5	25,3	0,9	31,3	†1,1
dRVVT S	†35,3	3,0	29,3	0,8	41,3	†1,2

*Muestra de individuos saludables con media PT 11 segundos; media APTT 30"

n = 37‡	2017/lote antiguo					
	Media†		Mínimo		Máximo	
	t"	SD	t"	Ratio N	t"	Ratio N
SCT-C	†34,9	3,7	27,5	0,85	42,3	†1,20
SCT-S	†38,9	4,8	29,3	0,87	48,5	†1,20
dRVVT C	†30,2	1,6	27,0	0,9	33,4	†1,1
dRVVT S	†34,9	3,1	28,7	0,8	41,1	†1,2

†Muestra de individuos saludables con media PT 11"; media APTT 31"

dRVVT: dilución del tiempo de veneno de víbora de Russell; SCT: tiempo de coagulación de sílica; S: cribado; C: confirmatorio; n: número de muestras; SD: desvío padrón; Ratio N: ratio normalizado (pela media RI); t": tiempo en segundos.

S/C superior al establecido para el reactivo correspondiente. BSH/CLSI preconiza que haga R S arriba los RI locales, corregidos por % = 10 en la C. Cuanto al TI, basta existir corrección = 10% en la C (Fig. 1). Solo cuando la presencia del AL no fue clara (R S y R C = RI) se consideraron las pruebas de mezcla (MZ).

Resultados: En estudio TT, 187 mujeres y 63 varones, 94 tuvieron trombosis; edad media al primer episodio de 40.2 [13-85] años. Por dRVVT fueron POS 20.7% por RUT y 22.4% BSH/CLSI en 491 y 71.8% en 167 TI. En las NEG (RUT) se empleó SCT solo en 183/491, siendo POS 22.9% RUT, 23.5% BSH/CLSI y 28.4% TI. De los NEG con RUT por dRVVT y/o SCT, 68 presentaban trombosis (2 LES) positivando 22 con BCS/CLSI (4 trombosis) y 28 con TI de las cuales 3 con trombosis (Tabla II). Con criterios para SAF (5), 3 son POS dRVVT y 2 SCT en 3 ALG; sin SAF y con asociación a LES (6)

2 POS SCT y 1 dRVVT (3 ALG); 3 restantes fueron NEG dRVVT en todos ALG y no fue realizada SCT. Asociado a otras enfermedades autoinmunes (14): 2 POS (3 ALG) y 11 NEG por dRVVT RUT (2 serían POS por restantes ALG) y por fin, 1 NEG dRVVT y SCT en los 3 ALG. De 2 AL POS con historia de abortos repetición: 1 dRVVT RUT y TI; 1 dRVVT en 3 ALG. Consideramos las MZ en 132/491.

Conclusión: Consideramos que las mezclas, en casos concretos, amplía la información, pero no sirve como medio decisivo para la detección del AL. Una omisión relevante es que no tenemos TI para todos dRVVT por S ser normal según RUT, pero la discordancia entre R S (mismo dentro dos RI) y R C puede detectar AL más débiles. La utilización de los RI locales y/o corrección del S/C, en detrimento de los genéricos comerciales, fue una gran aportación por mejorar la discriminación.

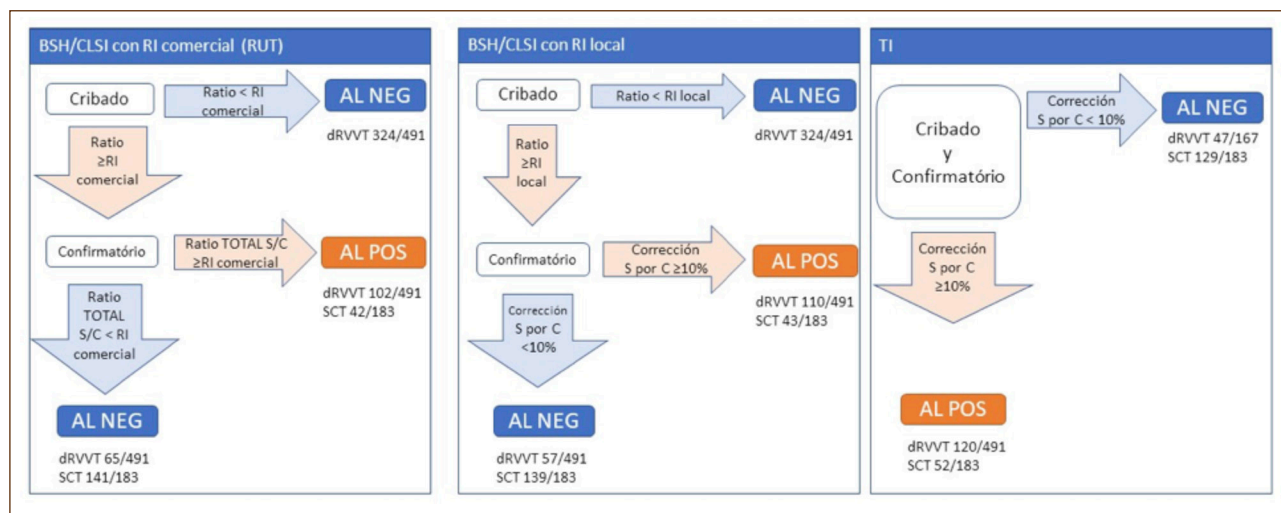


Figura 1. Algoritmos utilizados en los estudios para la interpretación de la pesquisa del Anticoagulante Lúpico (AL). BSH/CLSI: Hematology/Clinical & Laboratory standards institute; RI: Intervalos de Referencia; TI: Teste integrado; dRVVT: dilución del tiempo de veneno de víbora Russell; SCT: Tiempo de Sílica; S: cribado; C: confirmatorio.

Tabla II. Descripción e interpretación de los resultados de la pesquisa de AL pelos algoritmos BSH/CLSI pelos RI comerciales y locales y test integrado

Algoritmo y Interpretación	BSH/CLSI RI comercial		BSH/CLSI RI local		Test Integrado	Considerar Pruebas de Mezclas			
	Ratio Cribado	y/o Ratio Total	Ratio Cribado	Porcentaje de corrección ≥10%		Ratio Cribado ≥RI local	Ratio Confirmatorio		
	n; Média [Rango]								
dRVVT									
Positivo	102	1.45 [1.15-2.77]	110	1.39 [1.21-3.35]	26.16 [10.02-63.94]	120*	24.83 [10.02-63.94]	42 [1.26-3.35]	1.51 [1.1-1.75]
n=491									
Negativo	389	1.00 [0.58-1.33]	381	1.03 [0.58-2.44]	-4.96 [(-175.76)-(-16.95)]	47*	-4.74 [(-175.6)-9.92]	1.32 [1.2-2.44]	1.27 [1.1-2.95]
n=167 (TI)									
Negativos BSH/CLSI RI comercial vs. Positivos RI local y Teste Integrado			14	1.38 [1.22-2.01]	11.88 [10.02-12.9]	18	12.35 [10.02-12.9]		
SCT									
Positivo	42	1.41 [1.16-2.01]	43	1.63 [1.21-2.86]	24.25 [10.41-50.3]	52	23.11 [10.1-50.3]	19 [1.42-2.86]	1.43 [1.13-2.51]
n=183									
Negativo	141	0.97 [0.51-1.15]	139	1.17 [0.71-2.34]	-5.67 [(-93.79)-9.04]	129	-6.63 [(-93.79)-9.91]	1.41 [1.14-2.35]	1.43 [1.18-4.12]
Negativos BSH/CLSI RI comercial vs. Positivos RI local y Teste Integrado			8	1.67 [1.21-2.88]	11.64 [10.4-13.1]	10	11.44 [10.1-13.06]		

BSH/CLSI: British Society of Hematology/Clinical & Laboratory Standards Institute; RI: Intervalos de Referencia; TI: Teste Integrado; dRVVT: dilución del Tiempo de Veneno de Víbora de Russell; SCT: Tiempo de Coagulación de Sílica; S: cribado; C: confirmatorio; n: número de muestras; [Rango]: máximo y mínimo.

PB-163 Trombosis asociada a catéter venoso central en el paciente oncohematológico: experiencia de un centro

Meijón Ortigueira M. M., González-Mesones Galán B., Pérez Montes M. R., Richard Espiga C.

Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander

Introducción: El riesgo de trombosis en el paciente oncológico es 4-8 veces mayor que en el resto de la población. La implantación de accesos venosos centrales (CVC) ha supuesto una mejora en su calidad de vida. Sin embargo, su empleo no está exento de complicaciones tales como el desarrollo de ETV.

Material y métodos: Presentamos una serie de 29 pacientes diagnosticados de trombosis asociada a CVC durante su hospitalización desde 2011-2017 (13 mujeres, 16 varones), con mediana de edad al diagnóstico de 42 años (grupo pediátrico n = 9; grupo adulto n = 22). Se ha analizado tipo de trombosis, factores de riesgo cardiovascular (FRCV), patología hematológica, motivo de hospitalización, tipo de CVC, profilaxis previa con HBPM, cifra de plaquetas, tiempo desde implantación de CVC hasta desarrollo de ETV, detección de hipercoagulabilidad, retirada de CVC, reevaluación y duración de tratamiento.

Resultados: La trombosis fue localizada en el 34,5% y extensa en el 65,5%. 11 pacientes debutaron con complicaciones asociadas a CVC (mal funcionamiento, sepsis...). Las patologías más frecuentes fueron leucemia aguda (48,3%: LLA 34,5%; LMA 13,8%) y síndromes linfoproliferativos (48,3%). El 20,7% presentaban HTA, el 17,2% DL, el 6,9% hábito tabáquico y el 3,4% DM. El mayor motivo de hospitalización fue el ingreso para tratamiento quimioterápico (48,3%). De los pacientes con leucemia aguda, 5 ingresaron para tratamiento de inducción (4 con LLA y 1 con LMA) y 3 para consolidación (LLA). El segundo motivo fue la sepsis (20,7%), seguido de realización de TPH (17,2%). Los CVC más implantados fueron PICC (n = 9), PAC (n = 7) y Hickman (n = 7). La mediana de tiempo desde la implantación hasta el desarrollo de ETV fue 9 días (1-1095). La mediana de plaquetas fue 89.000/mm³. Se detectó hipercoagulabilidad en un 17,2%. Solo 3 pacientes recibieron profilaxis con HBPM durante el ingreso, de forma intermitente. Se retiró el CVC en 21 casos. La mediana de días de tratamiento fue 90 (7-330). El 72,4% de la serie recibió anticoagulación a dosis terapéuticas desde el diagnóstico realizando ajustes puntuales en el periodo de aplasia y un 27,6% ha recibido dosis profilácticas. Se realizó reevaluación en 10 casos, documentándose en 7 resolución completa y en 3 recanalización parcial.

Conclusiones: El empleo de CVC en el paciente oncohematológico está cada vez más extendido. El potencial desarrollo de complicaciones como la ETV nos invita a analizar los factores de riesgo asociados, a realizar una monitorización estrecha y a seguir trabajando en proporcionar un tratamiento adecuado, ya que dada la heterogeneidad y complejidad de estos pacientes el abordaje convencional puede verse dificultado.

PB-164 Valoración del riesgo hemorrágico del tratamiento a largo plazo en pacientes con trombosis venosa

Martí E.¹, de Moya J. R.², Ortiz A.¹, Pastor I.¹, Sánchez M.¹, Benzaquen A.¹, Navarro B.¹

¹Servicio de Hematología. Hospital Clínico Universitario de Valencia. Valencia.

²Servicio de Hematología. Hospital de Manises. Manises, Valencia

Introducción: La enfermedad tromboembólica (ETE) venosa es una de las principales indicaciones de tratamiento anticoagulante. La duración del tratamiento anticoagulante para minimizar el riesgo de recidiva trombótica y la aparición de complicaciones hemorrágicas es uno de los puntos de mayor interés para los clínicos.

Las guías se basan en el resultado de diferentes estudios que han mostrado que, tras el tratamiento anticoagulante inicial de 3 meses, la mayoría de pacientes con trombosis no provocadas se beneficiarán de tratamiento extendido o indefinido (más allá de los 6 meses). Según estas guías deberá realizarse una valoración del riesgo hemorrágico para definir a los pacientes candidatos a mantener o suspender el tratamiento. La herramienta con la que evaluar el riesgo hemorrágico en estos pacientes no está definida.

Objetivo: Nuestro objetivo fue evaluar la escala HASBLED como herramienta de valoración del riesgo hemorrágico en pacientes con ETEV de cara a un tratamiento anticoagulante extendido.

Métodos: Estudio observacional retrospectivo sobre cohorte de pacientes con ETEV diagnosticados en nuestro centro entre septiembre de 2012 y enero de 2018. Se recogieron datos sobre indicación, evaluación hemorrágica y complicaciones. Se calculó la escala HASBLED entre los 3 y 6 meses de inicio del tratamiento y se evaluó la aparición de complicaciones hemorrágicas en los pacientes que recibieron tratamiento extendido. Los pacientes con trombosis provocada se excluyeron del análisis.

Resultados: Se analizaron un total de 380 pacientes con trombosis venosa, de los cuales 117 (30,8%) habían presentado una trombosis venosa profunda (TVP) proximal, 53 (13,9%) TVP distal, 188 (49,5%) embolia pulmonar (EP), 19 (5%) trombosis esplácnica y 3 (0,8%) trombosis de senos venosos cerebrales. El tratamiento empleado a largo plazo fue antagonistas de la vitamina K en, anticoagulantes orales de acción directa (ACOD) en 3 (0,8%) y heparina de bajo peso molecular (HBPM) en 7 (1,8%) pacientes. La mediana de HASBLED fue 1 (0-5). En 71 (12,2%) pacientes el HASBLED fue de alto riesgo (puntuación ≥ 3). 21 (5,6%) de pacientes presentaron hemorragia mayor, de ellos ninguno presentaba un HASBLED de 0, 7(33,3%) presentaban un HASBLED de 1, 6 (28,6%) de 2 y 8 (38,1%) de 3 o más.

Conclusiones: La decisión de tratamiento extendido en pacientes con ETEV debe realizarse de manera individualizada, evaluando el riesgo trombótico y hemorrágico. En nuestra población la escala HASBLED no fue una herramienta útil para predecir el riesgo hemorrágico a largo plazo. Otras escalas de riesgo en pacientes tanto con AVK como con ACOD deberán ser estudiadas para poder implementar las guías de forma adecuada.

PB-165 Priapismo y trombofilia en un varón de 38 años

García León N., López López E., Paños Fagundo E. V., Calderón López M. T., Serí Merino C., Sandoval Barreto E. M., Quijano Barroso P., Matilla García A.

Hospital Central de la Defensa Gómez Ulla. Madrid

Introducción: Varón de 37 años con antecedente de episodios esporádicos de priapismo desde 2011, con buena respuesta a tratamiento farmacológico. Es derivado al servicio de hematología en abril 2017 para valoración por episodio de TVP femoropoplíteas en julio 2016 en el contexto de inmovilización por fractura de peroné, estando anticoagulado a dosis profilácticas con HBPM. La resolución del evento tromboembólico fue lenta, estando 7 meses anticoagulado a dosis terapéuticas con HBPM hasta la resolución del cuadro. Asimismo, presenta en este tiempo nuevos episodios de priapismo de mayor duración a pesar del tratamiento farmacológico.

Método: Se realiza estudio de hemoglobinopatías para descartar posible drepanocitosis como causa del cuadro de priapismo, siendo negativo, así como estudio de trombofilia por el antecedente trombótico. Es diagnosticado de la mutación G2010A en heterocigosis y Ac lúpico moderado, confirmado en dos determinaciones. Por ello se prescribe anticoagulación a largo plazo dado el alto riesgo trombótico pero el paciente decide abandonarla en octubre 2017 por decisión propia.

Resultados: Acude en febrero 2018 al servicio de urgencias con un cuadro de priapismo de 24 horas de evolución, refiriendo en los últimos meses varios episodios similares de más de 4 horas. Tras la realización de shunt cavernoso urgente el paciente no presenta mejoría por lo que dada la evolución se decide colocación de prótesis peneana sobre los cuerpos cavernosos donde se objetiva fibrosis extensa. Se pauta nuevamente anticoagulación, con buena evolución hasta el momento.

Conclusiones: El priapismo es una patología urológica caracterizada por una erección prolongada y sin estimulación sexual debida a múltiples causas, tanto farmacológicas como médicas. Se diferencian dos etiologías que causan este tipo de cuadro, la de tipo isquémico y no isquémicos, aquellos que duran más de 4 horas, presentan rigidez peneana y dolor son de causa isquémica como la de nuestro paciente y se debe a una alteración del flujo sanguíneo a los senos cavernosos.

Dentro de las posibles causas médicas existen ciertas enfermedades hematológicas que pueden relacionarse con esta afectación, siendo la más frecuente la drepanocitosis.

La presencia de una trombofilia combinada con antecedente reciente de evento trombótico a pesar de tratamiento tromboprolifáctico correcto, nos hace sospechar que pueda existir alguna relación entre la clínica urológica y el estado trombótico del paciente. Si bien es verdad que la literatura científica es escasa respecto a este tipo de patología y no existen evidencias al respecto. Pero dada la evolución clínica del paciente y la correlación en el tiempo del evento trombótico y el empeoramiento de los cuadros de priapismo, sospechamos que el estado de hipercoagulabilidad pueda tener cierta implicación en el cuadro.

PB-166 Trombosis venosa cerebral extensa en paciente con homocistinuria clásica: a propósito de un caso

López Pereira P., Acedo Domínguez N., Sola Aparicio E., Alegre Amor A.

Hospital Universitario de La Princesa. Madrid

Introducción: La homocistinuria clásica es un trastorno autosómico recesivo causado por variaciones patogénicas en el gen CBS en el cromosoma 21p22.3. Provoca déficit de la cistationina β-sintetasa (CBS) que afecta al metabolismo de la metionina con aumento de la excreción de homocisteína en orina y acumulación en plasma, dando lugar a manifestaciones en sistema nervioso, tejido conectivo, sistema cardiovascular y anomalías oculares. El diagnóstico (dco) se realiza en base a la presentación clínica y el análisis de aminoácidos en sangre y orina. El estudio mutacional del gen CBS confirma la homocistinuria clásica. El tratamiento (tto) de esta patología se basa en la administración de piridoxina (vitamina B6), ácido fólico y una dieta baja en proteínas.

Caso clínico: Varón de 44 años con antecedentes de fenotipo marfanoide, discapacidad intelectual, subluxación del cristalino de ambos ojos y dilatación leve de la aorta ascendente acude a Urgencias por cuadro de vómitos, cefalea y disminución de la respuesta a estímulos. Se realiza angio-TC cerebral que objetiva trombosis de predominio en seno longitudinal superior con foco de isquemia venosa. El paciente ingresa en UCI y se inicia anticoagulación con heparina sódica, realizándose TACs de control que objetivan buena evolución del infarto. Se plantea la posibilidad de homocistinuria como causa y se realiza estudio de trombofilia que muestra: anticardiolipina lúpica positivo (AL), anticuerpos anticardiolipinas (ACAS) IgM dudosos, homocisteína 103.07 umoles/l, ácido fólico 1.3ng/mL (3.1 - 20.0), B12165pg/mL (187-883). Se inicia entonces tto con ácido fólico e hidroxil (B1, B6 y B12). Posteriormente se

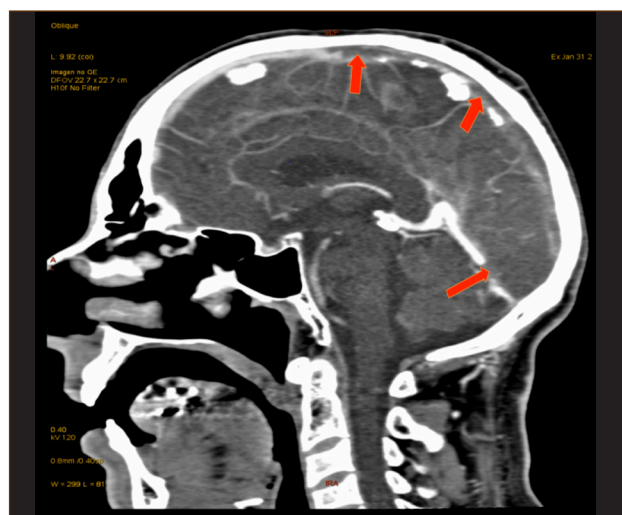


Figura 1.

confirma la positividad del AL, con ACAS nuevamente dudosos. Se normalizan los niveles de ácido fólico y B12, con homocisteína elevada (90 $\mu\text{moles/l}$). Se realiza estudio genético de homocistinuria, detectándose dos variantes: c.572C>T, p.Thr191Met (patogénica) y c.1566delG, p.Lys523Serfs*18 (probablemente patogénica), con lo que se confirma el dco. El paciente permanecía anticoagulado con Sintrom, se suspende Hidroxil y se inicia piridoxina 300mg/12h. Se realiza estudio familiar a su hermana quien presentaba también fenotipo marfanoides con antecedentes de subluxación del cristalino, sin historia de trombosis. El estudio arrojó un resultado positivo (Fig. 1).

Discusión: La homocistinuria es una patología infrecuente con unas manifestaciones clínicas características. Ante pacientes con fenotipo y antecedentes sugestivos es necesario sospechar esta entidad y realizar un apropiado dco de laboratorio para instaurar precozmente medidas terapéuticas y evitar el desarrollo de complicaciones, en especial los eventos trombóticos.

Bibliografía recomendada

1. Mudd SH, et al. The natural history of homocystinuria due to cystathionine beta-synthase deficiency. *Am J Hum Genet* 1985;37:1-31.