

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
ESCUELA DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



Tesis

Presentada ante las autoridades de la
Escuela de Estudios de Postgrado de la
Facultad de Ciencias Médicas
Maestría en Ciencias Médicas
con especialidad en Pediatría
Para obtener el grado de
Maestra en Ciencias Médicas
con especialidad en Pediatría

Enero 2015



ESCUELA DE
ESTUDIOS DE
POSTGRADO

Facultad de Ciencias Médicas Universidad de San Carlos de Guatemala

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

LA FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

HACE CONSTAR QUE:

La Doctora: Luisa María Álvarez de León

Carné Universitario No.: 100021302

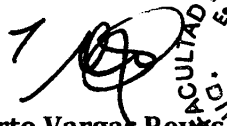
Ha presentado, para su EXAMEN PÚBLICO DE TESIS, previo a otorgar el grado de Maestra en Ciencias Médicas con Especialidad en Pediatría, el trabajo de tesis **"Determinación de inhibidores de factor VIII en pacientes con hemofilia A"**

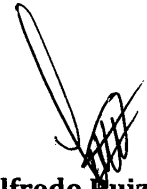
Que fue asesorado: Dra. Marta Julia López Ruano

Y revisado por: Dr. Edgar Rolando Berganza Bocaletti MSc.

Quienes lo avalan y han firmado conformes, por lo que se emite, la ORDEN DE IMPRESIÓN para enero 2015.

Guatemala, 22 de agosto de 2014.


Dr. Carlos Humberto Vargas Reyes MSc.
Director
Escuela de Estudios de Postgrado


Dr. Luis Alfredo Ruiz Cruz MSc.
Coordinador General
Programa de Maestrías y Especialidades

/lamo



Oficio CEPP/EEP/HR -97/2014
Guatemala, 13 de junio de 2014

Dr. Luís Alfredo Ruiz Cruz MSc
COORDINADOR GENERAL
Programas de Maestrías y Especialidades
Presente

Estimado Doctor Ruiz:


Reciba un cordial saludo, deseándole éxitos en sus labores cotidianas, el motivo de la presente es para informarle que he sido ASESORA del trabajo de tesis titulado:

Determinación de inhibidores de factor VIII en pacientes con hemofilia A

Realizado por el estudiante **Dra. Luisa María Álvarez de León**, de la Maestría de Pediatría, el cual ha cumplido con todos los requerimientos para su aval.

Sin otro particular, me suscribo.

Atentamente,


Dra. Marta Julia López Ruano
Jefe de Unidad de Hematología
Departamento de Pediatría
Hospital Roosevelt
ASESORA

MJLR/vh
c.c. archivo



Oficio CEPP/EEP/HR -98/2014
Guatemala, 13 de junio de 2014

Dr. Luís Alfredo Ruiz Cruz MSc
COORDINADOR GENERAL
Programas de Maestrías y Especialidades
Presente

Estimado Doctor Ruiz:

Reciba un cordial saludo, deseándole éxitos en sus labores cotidianas, el motivo de la presente es para informarle que he sido REVISOR del trabajo de tesis titulado:

Determinación de inhibidores de factor VIII en pacientes con hemofilia A

Realizado por el estudiante **Dra. Luisa María Álvarez de León**, de la Maestría de Pediatría, el cual ha cumplido con todos los requerimientos para su aval.

Sin otro particular, me suscribo.

Atentamente,

Dr. Edgar Rolando Berganza Bocaletti MSc.
Docente Responsable Maestría en Pediatría Y
Coordinador Especifico de Programas Postgrados
Escuela de Estudios de Postgrado
Facultad de Ciencias Médicas
Universidad de San Carlos de Guatemala
Hospital Roosevelt
REVISOR

ERBB/vh
c.c. archivo

ÍNDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN	i
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	2
III. OBJETIVOS	10
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	11
V. RESULTADOS	15
VI. DISCUSIÓN Y ANÁLISIS	19
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22
VIII. ANEXOS	25

ÍNDICE DE GRÁFICAS

GRÁFICA NO. 1	15
GRÁFICA NO. 2	16

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA NO. 1	16
TABLA NO. 2	17
TABLA NO. 3	18

RESUMEN

Los inhibidores del factor VIII representan una de las complicaciones más serias en el tratamiento de la hemofilia A y se debe a la formación de anticuerpos que neutralizan la actividad del factor VIII impidiendo el cese de la hemorragia. Este estudio determinó la presencia de inhibidores del factor VIII en 40 pacientes con hemofilia A tratados en la unidad de hemato-oncología del Hospital Roosevelt durante el año 2,012. Se utilizó el método de Bethesda para la determinación del inhibidor. Los resultados del estudio revelaron un 42% de pacientes con hemofilia leve, 33% hemofilia moderada y 25% hemofilia severa. De los pacientes evaluados, un 20% presentaron inhibidores del factor VIII con títulos bajos, detectándose con mayor frecuencia en la hemofilia severa y pacientes comprendidos entre las edad 11- 12 años y que habían utilizado de manera continua el factor VIII. Se concluyó que el desarrollo de inhibidores de baja respuesta está relacionado con la gravedad de la enfermedad, edad y número de dosis de factor VIII administradas.

I. INTRODUCCIÓN

A lo largo de su vida, los pacientes con hemofilia A luchan contra complicaciones tanto de su enfermedad como de su tratamiento. Los inhibidores son anticuerpos neutralizantes que interfieren con la función del factor VIII inhibiendo así su capacidad para detener la hemorragia. Se estima que la frecuencia de desarrollo de anticuerpos se encuentra entre un 20-25% y el riesgo de desarrollar inhibidores permanece a lo largo de la vida (1). Sin embargo, la mayoría de ellos se desarrollan durante la infancia y después de un promedio de 9 a 12 tratamientos con factor VIII exógeno. El desarrollo de inhibidores ocurre más frecuentemente en personas con ciertas condiciones como la gravedad de la enfermedad, factores genéticos, étnicos, tratamiento y características del sistema inmune. (2)

Se estima que la prevalencia de inhibidores reportada en los diferentes países de Latinoamérica va del 10-20% (3). En nuestro país e institución hospitalaria es prácticamente nula la medición de inhibidores del factor VIII en pacientes con hemofilia A, lo que imposibilita identificar los pacientes en riesgo de desarrollar inhibidores. Esto representa un grave problema si consideramos que hasta el 15% de nuestra población podría llegar a desarrollar esta complicación, lo cual tiene implicaciones clínicas significativas, debido a que la respuesta al tratamiento se vuelve incierta, aumenta la morbilidad, se reduce la expectativa de vida y limita los recursos terapéuticos con lo que se cuentan en el hospital para tratar estos pacientes.

El estudio estableció información basal acerca de la aparición de inhibidores en los pacientes pediátricos con hemofilia A, permitió obtener información oportuna de interés que permite identificar los pacientes en riesgo de desarrollar inhibidores y permite la planeación de medidas terapéuticas apropiadas para el abordaje de los pacientes. También a partir de este estudio, la institución obtuvo una actualización de los pacientes positivos para iniciar un mejor control e integrar los datos de su aparición y comportamiento para generar bases del abordaje integral de estos pacientes.

II. ANTECEDENTES

2.1. Hemofilia A

La hemofilia A es una enfermedad hemorrágica, hereditaria, monogénica, recesiva y ligada al sexo. Esta producida por la deficiencia del factor VIII de la coagulación sanguínea. La hemofilia A es mas frecuente que la hemofilia B en una proporción de 5 a 1. (5). Afecta alrededor de 1 de cada 5,000 varones, de los que el 85% tiene déficit del factor VIII y entre un 10-15% tienen déficit del factor IX (6). No muestra predilección racial aparente y afecta todos los grupos étnicos.

El gen del factor VIII se encuentra cerca del extremo del brazo largo del cromosoma X, por lo que son rasgos ligados al sexo. La mayoría de pacientes tienen disminuida la proteína del factor de coagulación y solo en un 5-10% de los casos la proteína no es funcional. Aproximadamente del 45-50% de los pacientes con hemofilia A grave tienen la misma mutación, que consiste en una inversión en el gen del factor VIII, lo que se traduce en la falta de producción de proteína.

En base a la gravedad y en función de la concentración basal del factor VIII, la hemofilia A se clasifica (7):

- Hemofilia grave: se caracteriza por una actividad <1% de factor de coagulación implicado y las hemorragias suelen ser espontaneas.
- Hemofilia moderada: tiene niveles de 1-5% y las hemorragias se deben a traumatismos leves,
- Hemofilia leve: concentraciones >5% y necesitan traumatismos importantes para que las hemorragias ocurran.

La concentración hemostática del factor VIII es >30-40% y el límite inferior de la concentración del factor VIII en la población normal es del 50%.

El factor anti hemofílico o factor VIII es una proteína de 265 kDa de cadena única que regula la activación del factor X por las proteasas generadas en la vía intrínseca de la coagulación. Se sintetiza en el hígado y circula formando un complejo con el factor de von Willebrand. Los factores VIII y IX junto con el fosfolípidos y el calcio, forman el complejo activador del factor X para iniciar la coagulación. (8)

Cuando se produce una lesión, el primer paso de la hemostasia es la formación del tapón de fibrina, que junto con la producción del coagulo de fibrina evita la continuación de la hemorragia. En la hemofilia, la formación del coagulo se retrasa y es débil. Además la inadecuada generación de trombina impide que se forme el coagulo de fibrina firmemente entrecruzado que soporta el tapón plaquetario.

Las manifestaciones clínicas en ausencia de antecedentes familiares de hemofilia, suele pasar inadvertida en el recién nacido. Las manifestaciones más importantes son las hemorragias siendo las cerebrales las de mayor riesgo y las musculoesqueléticas las que producen mayores secuelas.

El diagnostico puede establecerse por los antecedentes familiares, manifestaciones clínicas y hallazgos de laboratorio, mediante la prueba de tiempo de tromboplastina parcial activado, el cual en la hemofilia grave suele ser de 2-3 veces mayor al límite de la normalidad. Los resultados de las demás pruebas del mecanismo de la hemostasia (recuento plaquetario, tiempo de protrombina, y tiempo de trombina) son normales y el análisis específico de factor VIII constituye el diagnóstico certero de la enfermedad. (8)

El tratamiento precoz y adecuado es la base del cuidado de los pacientes con hemofilia. Cuando se producen hemorragias leves a moderadas, se debe incrementar los niveles del factor VIII hasta niveles hemostáticos del 35-50%. En las hemorragias graves o potencialmente mortales se deben intentar alcanzar niveles de actividad hasta el 100%.

Para el tratamiento están disponibles el plasma fresco congelado, crioprecipitados, concentrados del factor VIII de origen plasmático y recombinante, concentrado de factor VIII porcino y el concentrado de factor VIIa recombinante. El tratamiento sustitutivo idóneo son los concentrados de factor VIII y la dosis se calcula teniendo en cuenta que 1 unidad de factor VIII/kg de peso eleva el 2% este factor en el plasma.(6,8)

Las complicaciones a largo plazo son la artropatía crónica, el desarrollo de inhibidores del factor VIII y el riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas por las transfusiones. La artropatía crónica ha sido la discapacidad más importante provocada a largo plazo por la hemofilia. En el 25-35% de los pacientes tratados con

factor VIII pueden aparecer anticuerpos específicos contra factor VIII que dificultan el tratamiento. En estos pacientes se deberá realizar un análisis cuantitativo de Bethesda del inhibidor para medir el título de anticuerpos.

2.2. Inhibidores de factor VIII

2.2.1. Definición

Los inhibidores del factor VIII representan una de las complicaciones más serias en el tratamiento de la hemofilia A, Se trata de un tipo de anticuerpos que neutralizan la actividad del factor VIII, que pueden surgir como aloanticuerpos en pacientes que han recibido transfusiones del factor VIII exógeno.(1,5,7,9)

1.2.2 Epidemiología de inhibidores

Los inhibidores aparecen con alta incidencia en pacientes con hemofilia A (hasta un 40% en pacientes graves y entre 3-13% en pacientes moderados y leves). Tienen a aparecer tras las primeras administraciones de concentrados de Factor VIII, lo cual suele coincidir, en los pacientes moderados y graves, con los primeros años de la vida del paciente (10, 11).

Los factores genéticos tienen una considerable influencia en la formación de inhibidores, generalmente surgen con mayor frecuencia en pacientes con hemofilia A severa en un 25-50% de los casos y en un 5-15% en pacientes con hemofilia leve o moderada. (9)

El riesgo de formación de inhibidores está influenciado por el tipo de mutación en el gen del factor VIII, como las mutaciones con deleciones, inversiones y mutaciones de parada prematura representan de alto riesgo (21-88%) para la aparición de inhibidores probablemente porque el sistema inmune reconoce al factor VIII como una molécula extraña (12). También existen mutaciones de bajo riesgo (10%) como las de cambio de sentido, pequeñas deleciones e inserciones y lugares de procesamiento del ARN.

Se ha descrito además, que la prevalencia es dos veces mayor en la población afroamericana que en la población caucásica, estudios evidencian las proteínas del factor VIII H3, H4 y H5 se encuentran solo en la población afroamericana y son los que contribuyen en las altas incidencias de inhibidores en esta población (12). También está establecido que la formación de inhibidores fuertes se desarrollan en

etapas tempranas de la vida luego del tratamiento exógeno con factores de coagulación, lo que también apunta a la predisposición genética. En estudios prospectivos con seguimiento estrecho de pacientes que no han recibido tratamiento previo, generalmente menores 1 año, se ha evidenciado la presencia de inhibidores después de una media de 8-9 de exposición. (13)

También se ha mencionado el papel que desempeña el tipo de concentrado en la formación de inhibidores. Al inicio de la utilización de estos, se desconfiaba de la inactivación viral con calor porque se temía que parte del factor VIII pudiera desnaturalizarse por el calor y por ende, ser más antigénico. Sin embargo, estos concentrados no provocaron inhibidores en exceso. No obstante, otros concentrados fabricados donde se utilizó la pasteurización en el proceso de inactivación viral con solvente-detergente, se comprobó que se volvieron más antigénicos. Cuando se introdujeron los concentrados recombinantes, en pacientes que no habían recibido tratamiento, la incidencia de inhibidores no fue mayor que la reportada para pacientes no tratados con concentrados derivados del plasma (14).

Estudios prospectivos han evidenciado que el empleo de un único producto plasmático tiene menor incidencia en la producción de inhibidores. (15)

1.2.3 Clasificación de inhibidores

Se clasifica de acuerdo a la manera que responden al tratamiento con factor VIII:

- Alta respuesta: tienen una respuesta inmune fuerte y el uso repetido del factor VIII eleva los niveles de inhibidores rápidamente.
- Baja respuesta: tienen una respuesta inmune muy lenta y débil y los niveles de inhibidores se elevan lentamente. (1,3)

1.2.4 Fisiopatología

Los mecanismos de acción de los inhibidores son variados y aunque en general puede afirmarse que comprometen la unión entre el factor VIII y las moléculas con las que interaccionan en la coagulación, se han descrito otras posibilidades intermedias (bloqueo parcial) que se traduce en actividad inhibitoria debido a la reducción en la cinética de liberación factor VIII- factor Willbledan o bien en una proteólisis del factor VIII realizada por el propio inhibidor (10).

Existe evidencia que confirman que en la mayoría de los antígenos proteicos, la respuesta humoral que se produce contra el factor VIII es dependiente de los linfocitos T. El evento inicial en esta cascada celular es el contacto entre el VIII y células presentadoras de antígeno. Tras una serie de procesos proteolíticos, el complejo mayor de histocompatibilidad unido a péptidos del factor VIII es transportado a la superficie de las células presentadoras de antígenos donde es presentada a los linfocitos T CD4. Los receptores de linfocitos T están asociados en la superficie celular de linfocitos T con el complejo de moléculas CD3, capaces de transmitir señales de activación dentro de las células tras el reconocimiento antigénico.

Finalmente la interacción de todas las poblaciones linfocitarias se consigue la producción de anticuerpos contra el factor VIII, gracias a la diferenciación final de los linfocitos B a células plasmática, las cuales adquieren la capacidad de producir y secretar grandes cantidades de anticuerpos. Estos son anticuerpos inhibidores frente al factor VIII son de características policlonales, generalmente IgG y van dirigidos contra el dominio C2 del factor VIII.

Los inhibidores del factor VIII reaccionan con sitios activos de la molécula del factor VIII, principalmente con los epítopes de los dominios A2, A3, C1 y C2. La identificación de estos fue fundamental para el diseño de moléculas recombinantes menos antigénicas con secuencias de aminoácidos alternos en dichos sitios.

La reacción del factor VIII con un inhibidor depende del tiempo y su tratamiento clínico. Entre mayor sea el nivel de inhibidor, más rápido inactivara al factor VIII. Si el nivel del inhibidor es leve a moderado, una dosis terapéutica de factor VIII podrá ser capaz de interactuar en la coagulación antes de ser neutralizada.

Se observan 2 patrones de reacción cinética (11):

- Tipo 1 o cinética sencilla: neutralizan completamente al factor VIII y se neutralizan a sí mismos en la reacción. La mayoría de los inhibidores con hemofilia son de este tipo.
- Tipo 2 o compleja: no neutralizan completamente al factor VIII y después de la reacción conservan alguna capacidad para neutralizar más factor VIII.

La respuesta inmune al factor VIII exógeno puede ser débil o fuerte. La mayoría de inhibidores son de alta respuesta, es decir, el nivel de inhibidor se eleva rápidamente unos cuantos días después de la exposición al concentrado del factor VIII exógeno, llegando a su nivel más alto luego del primer mes. Si no hay mayor exposición, el nivel de inhibidor disminuye gradualmente en la mayoría de pacientes, y con los años puede ser indetectable (16). Otros pacientes presentan inhibidores de baja respuesta, es decir, no se elevan considerablemente después de la exposición al concentrado de factor VIII. Por lo tanto, pueden continuar el tratamiento de factor VIII en dosis suficientemente grande y los anticuerpos no aumentan después de la exposición al factor exógeno.

1.2.5 Manifestación clínica

Se sospecha de presencia de inhibidor cuando la hemorragia no se controla rápidamente con su dosis usual de factor VIII.

1.2.6. Diagnostico

Con frecuencia se sospecha la presencia de inhibidores durante una prueba de rutina conocida como tiempo de trombotoplastina activada (TTPa). La prueba mide el tiempo que tarda la sangre en coagular. Cuando hay inhibidores presentes, la sangre tarda más en coagular y no coagula completamente, aun después de haberse mezclado con plasma normal. Para diagnostica inhibidores también, se realiza la prueba de Bethesda.

Representa la prueba de detección de inhibidores más común que mide tiempo parcial de trombotoplastina activada en unas mezclas de plasma normal y del paciente, incubadas juntas de una a dos horas a una temperatura de 37° C. en presencia de inhibidor, el tiempo parcial de trombotoplastina activado es prolongado en comparación con los controles sin inhibidor (18).

La cantidad de inhibidores en la sangre se mide en unidades de Bethesda y se conocen como:

- Título Alto: > de 5 unidades de Bethesda.
- Título Bajo: < de 5 unidades de Bethesda.

Generalmente, los inhibidores de título alto trabajan poderosamente para neutralizar rápidamente a los concentrados de factor VIII, mientras que los de títulos bajos son más débiles y actúan lentamente.

Los inhibidores también se clasifican como de baja respuesta o de alta respuesta, dependiendo de la fuerza de la reacción del sistema inmunológico de cada persona a los concentrados del factor, con base en una exposición anterior; esto se conoce como respuesta anamnésica. Una persona de alta respuesta es alguien cuyo título ha rebasado 5 UB por lo menos en una ocasión, y quien la exposición repetida al concentrado del factor desencadenara la formación de nuevos inhibidores. Una persona de baja respuesta es cuyos título nunca rebasa las 5 UB y tendrá una respuesta inhibitora más débil a los concentrados del factor.

1.2.6 Tratamiento

i. Reducción de los niveles de inhibidor (20)

El nivel del inhibidor puede reducirse a fin de posibilitar la administración de factor VIII exógeno suficiente para neutralizar el inhibidor circulante remanente y elevar el nivel plasmático del factor. El intercambio por plasmaféresis puede realizarse de manera eficaz con centrifugas para separación celular del flujo continuo que puede reemplazar un litro de plasma en un lapso de una hora. El reemplazo de tres a cuatro litros de plasma en adultos reduce los niveles plasmáticos de inhibidor en 40% o más. El concentrado de factor VIII debe administrarse rápidamente después de la plasmaféresis a fin de lograr un pico máximo del factor en el plasma del paciente.

ii. Elevación de los niveles plasmáticos del factor VIII

Desmopresina

Media la liberación del factor VIII y factor Von Willebrand de los sitios de almacenamiento celular al plasma. Su uso eleva temporalmente los niveles plasmáticos del factor VIII en aquellos pacientes con inhibidores que tienen la capacidad de fabricar factor VIII, pacientes no hemofílicos o hemofilia leve, en presencia de bajo nivel de inhibidor. Permite liberar suficiente factor VIII para neutralizar el inhibidor circulante y elevar ligeramente el factor VIII plasmático para detener la hemorragia.

Factores humanos exógenos

Puede administrarse directamente un bolo grande de factor VIII humano, si el nivel de inhibidor no es muy elevado (debajo de 5 UB) para tratar de lograr un nivel plasmático de 30 U/dl. Una dosis sugerida es de 20-40 U/kg más 20U/kg por UB. El nivel debe medirse inmediatamente después para determinar si será necesario suministrar más concentrado. Una vez que se ha neutralizado el inhibidor, la dosis necesaria subsecuente será medir hasta que se produzca respuesta clínica.

iii. Agentes de derivación (16)

Los factores de coagulación activados como el factor VIIa pueden activar en cierto grado de coagulación en ausencia de factor VIII o en presencia de un inhibidor. El factor recombinante VIIIa necesita tromboplastina tisular para iniciar la activación del factor XIa tromboplastina está presente en los lugares de lesiones, pero no es abundante en otros sitios; por ende, el efecto coagulante del factor FVIIa exógeno puede limitarse a los sitios de lesión.

2.3. Inducción de tolerancia inmune

La tolerancia al factor VIII puede lograrse a través de la administración frecuente de dosis de factor VIII durante periodos prolongados de tiempo. Durante el primer mes de tratamiento usualmente manifestaciones clínicas, pero en el segundo mes los niveles descienden por lo general rápidamente y después pueden disminuir lentamente (20).

La tolerancia completa consiste en alcanzar un nivel de inhibidor de cero sostenido y un título normal de factor VIII infundido. La duración del tratamiento varía desde meses hasta un año. Sin profilaxis, puede haber recurrencia de inhibidores a bajos títulos (21,22).

La dosis ideal para someter tolerancia inmune es controversial y varía desde 50 a 300U/kg de factor VII días y algunos agregan esteroides si el descenso es muy lento.

III. OBJETIVOS

3.1. Objetivo General

- 3.1.1.** Determinar los valores de inhibidores del factor VIII en pacientes Pediátricos con Hemofilia A.

3.2. Objetivos Específicos

- 3.2.1.** Establecer la relación del número de dosis de factor VIII y aparición de inhibidores.
- 3.2.2.** Determinar la relación de la gravedad de la hemofilia A y los niveles de inhibidores.
- 3.2.3.** Clasificar la respuesta de los inhibidores del factor VIII

IV. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1 Diseño de estudio

Estudio descriptivo transversal realizado en el Hospital Roosevelt de Guatemala, durante el período de enero a diciembre del 2012.

La población estudiada fueron pacientes pediátricos con diagnóstico de hemofilia A atendidos en la unidad de Hemato-Oncología.

4.2 Población y Muestra

No se realiza calcula de muestra, ya que se elaboró el estudio con todos los pacientes con hemofilia A de la unidad de Hemato-Oncología del Hospital Roosevelt.

4.3 Definición y Operacionalización de variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición	Unidad de medición
Edad	Tiempo que una persona ha vivido, a contar desde su nacimiento	Cantidad de años del paciente ha vivido	Cuantitativa discreta	Razón	Años
Nivel de inhibidores del factor VIII	Anticuerpos que neutralizan la actividad del factor VIII	Valores obtenidos al cuantificar los inhibidores en sangre	Cuantitativa discreta	Intervalo	Unidades de Bethesda

Grado de inhibidores	Niveles de anticuerpos que neutralizan la actividad del factor VIII	Conforme a las unidades de Bethesda: -Título Alto: > 5 UB -Título bajo: < 5 UB	Cualitativa dicotómica	Ordinal	Bajo Alto
Gravedad de hemofilia A	Concentración basal del factor VIII	Clasificada como: -Grave: actividad < 1% del Factor VIII -Moderada: actividad de 1-5%. -Leve: actividad >5%	Cualitativa Politómica	Ordinal	Leve Moderado Severo
Dosis de factor VIII administrado	Glicoproteína es secretada por células de mamíferos sometidas a ingeniería genética con características funcionales comparables a las del factor VIII endógeno	Numero de dosis de factor VIII administradas en el paciente, datos obtenidos de la evolución clínica del paciente	Cuantitativa discreta	Razón	Número de dosis administradas

4.4 Procedimiento

La recolección de datos se realizó mediante una entrevista a los encargados de los pacientes, revisión del expediente médico, toma de la muestra sanguínea y posteriormente procesamiento de la misma.

- Se le realizó a los padres de los pacientes una breve entrevista respecto a edad del diagnóstico de la enfermedad y dosis de factor VIII que han recibido.
- Luego se procedió a realizar una revisión del expediente clínicos del paciente para determinar la clasificación de la hemofilia A, número de dosis de factor VIII recibidas y la respuesta al tratamiento que ha tenido.
- Se tomó la muestra sanguínea periférica con una jeringa de 10 ml y una aguja de 22-23 de calibre y se extrajeron 6cc de sangre que se vertieron en un tubo. Luego se trasladó a laboratorio donde se realizó la detección de inhibidores mediante la prueba de Bethesda que mide tiempo parcial de tromboplastina activada en unas mezclas de plasma normal y del paciente, incubadas juntas de una a dos horas a una temperatura de 37° C. en presencia de inhibidor, el tiempo parcial de tromboplastina activado es prolongado en comparación con los controles sin inhibidor.

La cantidad de inhibidores en la sangre se mide en unidades de Bethesda y se conocen como:

- Título Alto: > de 5 unidades de Bethesda.
- Título Bajo: < de 5 unidades de Bethesda.

4.5 Aspectos éticos de la investigación

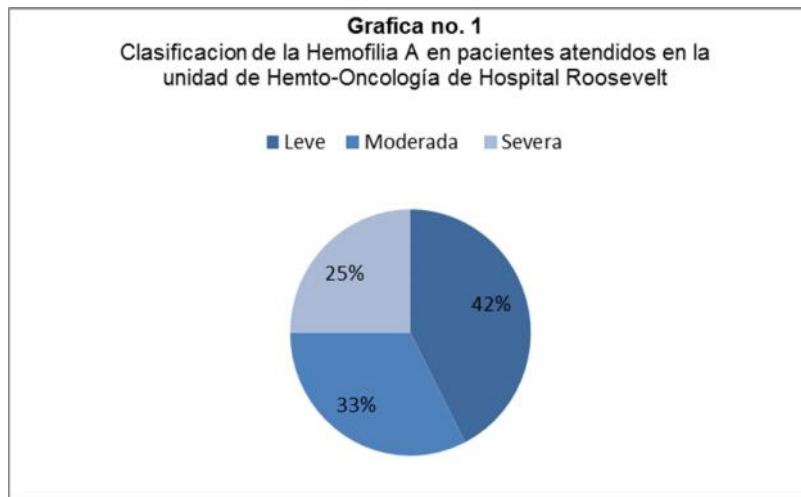
Es un estudio que utilizó procedimientos diagnósticos rutinarios, los cuales tienen un riesgo mínimo en la salud de los pacientes. Se considera de categoría II.

Así mismo, se realizó un consentimiento informado de los padres y se contó con el apoyo de la unidad de hemato-oncología de pediatría del Hospital Roosevelt.

V. RESULTADOS

Debido a que la presencia de inhibidores representa una complicación contra la cual luchan los pacientes con hemofilia A a lo largo de su enfermedad, el objetivo del estudio era determinar la presencia y grado de respuesta de inhibidores. Así como, las condiciones favorecen al apareamiento de los mismos.

La prueba de inhibidores contra el factor VIII se realizó en un total de 40 pacientes del sexo masculino con seguimiento en la unidad de hemato-oncología. Debido que muchos pacientes desconocen la concentración de factor VIII y en muchos expedientes esta información no se encontraba, se determinó nuevamente la actividad del factor VIII, evidenciándose un 42% con hemofilia leve, 33% con hemofilia moderada y un 25% hemofilia severa.



Por otro lado, en la tabla no. 1 se muestra la presencia de los inhibidores del factor VIII según el grado de hemofilia, en donde se puede observar que del total de 40 pacientes, solo en 8 casos se encontró presencia de inhibidores por método de Bethesda, encontrándose una mayor prevalencia en los pacientes con hemofilia severa con un 62%. Sin embargo, no se evidenció asociación significativa entre la concentración del inhibidor y el grado de hemofilia ($\chi^2=0.2$; $p < 0.05$)

Tabla no. 1

Presencia de inhibidores de factor VIII según el grado de hemofilia

Grado de hemofilia	Inhibidor del factor VIII				Total	
	Presente		Ausente			
	No.	%	No.	%	No.	%
Leve	1	2	16	40	17	42
Moderada	2	5	11	27	13	32
Severo	5	13	5	13	10	26
Total	8	20	32	80	40	100

En la gráfica no. 2, se presenta el grado de la concentración del inhibidor del factor VIII de acuerdo al grado de severidad de la hemofilia, donde se observa que los 8 casos presentan una baja respuesta al inhibidor, con mayor prevalencia en los pacientes con hemofilia severa.

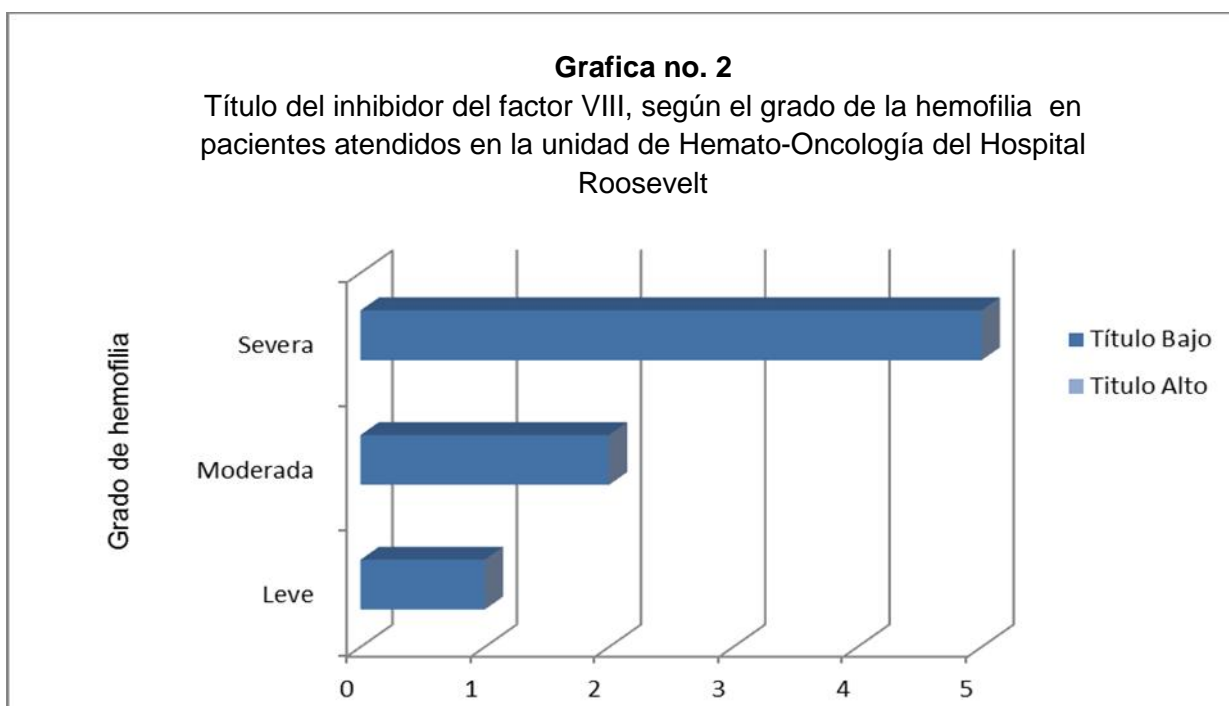


Tabla no. 2

Dosis de factor VIII administrados en pacientes con Hemofilia A

Grado de hemofilia	Número de dosis administradas			Total
	1-5 dosis	5-10 dosis	>10 dosis	
Leve	4	3	10	17
Moderada	0	4	9	13
Severa	0	0	10	10
Total	4	7	29	40

En la tabla no.2 se puede apreciar que todos los pacientes recibieron en algún momento de su enfermedad alguna dosis de factor VIII, y en algunos casos hasta crioprecipitados debido a la carencia de factor VIII exógeno en el hospital. Este dato es de suma importancia si consideramos suelen aparecer los inhibidores tras la administración de factor VIII, principalmente en pacientes con hemofilia moderada y grave, debido a la cantidad de dosis recibidas, pero sin diferencias estadísticamente significativas ($\chi^2 = 1,276$; $p < 0.05$)

Con respecto a la relación entre la presencia del inhibidor y la edad, la mayor prevalencia de inhibidores de baja respuesta se observó en el intervalo de edad 10-11 años. No se encontró asociación significativa entre la concentración del inhibidor y los diferentes grupos etarios

Tabla no. 3

Presencia del inhibidor del factor VIII según la edad de los pacientes

Edad (Años)	Inhibidor de factor VIII				Total	
	Presente		Ausente			
	No.	%	No.	%	No.	%
<1 año	0	0	2	5	2	5
1-2	0	0	1	2	1	2
3-4	0	0	3	8	3	8
5-6	0	0	1	2	1	1
6-7	0	0	2	5	2	5
8-9	1	2	4	10	5	12
10-11	2	5	5	13	7	18
11-12	3	8	5	13	8	21
13-14	1	2	4	10	5	12
>15	1	2	5	13	6	15
Total	8	19	32	81	40	100

VI. DISCUSIÓN

Debido a que la hemofilia A representa una de las coagulopatías más frecuentes, es de suma importancia estudiar las condiciones que pueden llegar a complicar el tratamiento a lo largo de la vida del paciente. Entre las complicaciones, que suelen presentarse en estos pacientes, encontramos la presencia de inhibidores contra el factor VIII. En nuestro país, se sabe que alrededor de 1,400 personas padecen hemofilia pero no existen estudios que revelen la incidencia y prevalencia de inhibidores contra el factor VIII (3,4). Este estudio tuvo como objetivo determinar la presencia de inhibidores del factor VIII en pacientes con hemofilia A tratados en la unidad de Hemato-oncología del Hospital Roosevelt; así como los factores que pueden contribuir al desarrollo de los mismos.

El porcentaje de pacientes donde se obtuvieron un título positivo para inhibidor fue de 20%, observando que es similar al descrito por otros autores (3,23) quienes indican una frecuencia de casos de hasta del 30% de la población con hemofilia A.

En relación al título del inhibidor, lo más frecuente es encontrar niveles bajos de inhibidores contra el factor VIII (24). En este estudio, todos los pacientes en quienes se identificaron inhibidores, se observaron títulos bajos, es decir, que aunque el estudio demostró la presencia de inhibidores de baja respuesta, éste no suele repercutir en la clínica y tratamiento del paciente. Pero sería importante realizar un seguimiento de estos pacientes con un nuevo control para determinar si se trata de inhibidores transitorios o permanentes.

Por otro lado, es importante señalar que los pacientes con mayor riesgo de desarrollar inhibidores son aquellos con hemofilia severa (10,11), en el estudio el 62% de los pacientes que presentaron inhibidores presentan hemofilia severa.

Aunque prevaleció la presencia de inhibidores de baja respuesta en pacientes con hemofilia severa, no se demostró asociación estadísticamente significativa entre la severidad de la enfermedad y la presencia de inhibidores. Además es interesante destacar que las estadísticas revelan que la mayoría de pacientes con seguimiento por unidad de Hemato-Oncología, presentan hemofilia leve y moderada, son los pacientes que reciben mayor cantidad de dosis de factor VIII por traumatismos leves,

Debido a que piensan que pueden llevar una vida normal y son los que menos cuidados aplican en su vida diaria. Esta es probablemente una de las causas que puedan influir es la presencia de inhibidores de baja respuesta en estos pacientes.

Con respecto a la edad y el nivel del inhibidor, la mayor prevalencia de inhibidores de baja respuesta se observó en los niños mayores de 8 años. En este sentido, estos resultados coinciden con otros estudios que evidencian que la edad promedio para el desarrollo de inhibidores es entre 1 a 2 años después de un periodo de 10 tratamientos (1).

Diversas publicaciones, han demostrado también una relación entre la presencia de inhibidor contra el factor VIII y las dosis recibidas, generalmente después de 9-12 tratamientos recibidos (2,25). En nuestra población, un 70% han recibido más de 10 dosis, lo cual predispone al desarrollo de inhibidores.

6.1 **Conclusiones**

- 6.1.1 El 20% de los pacientes con hemofilia A presentaron inhibidores de baja respuesta y de estos pacientes un 62% padecen hemofilia severa, un 25% hemofilia moderada y 13% hemofilia leve.
- 6.1.2 El 65% de los pacientes con hemofilia A leve y moderada son los que mayor dosis de factor VIII reciben debido no aplican medidas preventivas a su vida cotidiana.
- 6.1.3 En este estudio se encontraron inhibidores de baja respuesta en el grupo estudiado y los niveles de respuesta del inhibidor se encontraron asociados a la severidad de la hemofilia, la edad y dosis recibida de factor VIII.

6.2 Recomendaciones

- 6.2.1 Realizar el seguimiento de los pacientes con hemofilia A con títulos de inhibidores bajos, para determinar si se trata de anticuerpos transitorios o permanentes.
- 6.2.2 Debido a que factores genéticos también representan una considerable influencia en la formación de inhibidores, sería importante realizar estudios para determinar cómo contribuyen en el desarrollo del mismo.
- 6.2.3 Dado que 20% de los pacientes presenta inhibidores, es importante dar seguimiento, ya que condiciona no solo la calidad de vida de los pacientes, sino que tiene consecuencias socioeconómicas dado el incremento en el costo del tratamiento.
- 6.2.4 Educar a la familia y al paciente de los cuidados que deben tener con el fin de minimizar las complicaciones que conlleven al uso prolongado de terapias de reemplazo con factor VIII.

VII. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1. DiMichele DM. Inhibidores en hemofilia: Información básica. Centro Regional de Atención de hemofilia. Revista Médica Weill NY. 2004 Jun 1-8.
2. Viel R, Ameri A, Abshire T, Iyer R, Watts R, Howard T, et al. Inhibitor of factor VIII en black patient with hemophilia. NEJM 2009; 360; 1618-1629
3. Jiménez V, Morado M, Villar M, Quintana R, Herráez F, Navarro F. papel del sistema inmune en el desarrollo de inhibidores en hemofilia A. centro de Coagulopatías Hospital Universitario La Paz, Madrid. 2001: 1-15
4. Stonebraker J.S, Bolton Maggs P.H, Soucie M, Walker I, Brooker M. estudio de variaciones en los informes de prevalencia de la hemofilia alrededor del mundo. World Federation of Hemophilia, Canadá 2,009.
5. Lacroix-Desmazes S, Baytry J, Misra N, Hopn M, Villard S, Kaveri S, et al. The prevalence of proteolysis antibodies against factor VIII in hemophilia A. NEJM 2,002 feb 28;346:662-667.
6. Scott JP, Montgomery R. Deficiencias hereditarias de los factores de coagulación. 18 ed,. España: Elsevier;2009. P 2066-2017
7. World federation of hemophilia. Guidelines for the management of hemophilia. Canada 2005;p.1-56.
8. Rand, M, Murray R. hemostasia y thrombosis. 16 ed. México; Manual Moderno;2004.p.6665-676
9. Kulkarni R, Alerdort L, Borntorp E, Brackman H, Brown D, Cohen A, Wong W, et al. Therapeutic choices for patients with hemophilia and high titer inhibitors. American journal of hematology 2001;67;240-246
10. Cortina V, Haya S y Aznar J.A. Inhibidores en hemofilia A y su interacción frente a FVIII de diferentes orígenes: Estudio Multicéntrico español. Revista de Hematología. Valencia, España 2001. Vol 86. 178-183
11. Subcomité de inhibidores de la asociación de directores de clínicas de hemofilia de Canadá. Manejo de inhibidores del factor VIII. 2000 jul;10: 1-25

12. Medina C, Pineda R, Reyes J, Rush M. Inhibidores contra el factor VIII de coagulación en la hemofilia tipo A. Colombia 2,010. Revista facultad de Ciencias Medica.
13. Lorenzo JL, Lopez A, Alliesent C. Incidence of factor VIII inhibitors in severe hemophilia; Importance of patient age. British journal 2,001;113:600-603.
14. Goudemand J, Rothschild C, Domingue D, Vinguerat C, Lambert T, Borel Dorlon A, et al. Influence of type of factor VIII concentrate on incidence of factor VIII inhibitors in previously untreated patient with severe hemophilia A. Blood 2,006 Jan 1; 107(1): 46-51.
15. Geow S, Van der brown J, Averswald G, Escurida C, Tedgard U, Van der Borg M. Recombinant versus plasma derived factor VIII products and development inhibitor in previously untreated patient with severe hemophilia.
16. Chalmer EA, Brown SA, Keeling D, Liesner R, Richards M, Young D, et al. Early factor VIII exposure and sub segment inhibitor development in children with severe hemophilia A. hemophilia 2007;13:146-155
17. Luna G, Rivera C, Arellano J, Mendiza G, Marquez, JL, Bello A, et al. Medición de la actividad de factores VII y IX coagulante y sus posibles inhibidores, en una población de niños hemofílicos. Asociación mexicana de bioquímica clínica. 2007 mar;32;90
18. Leissinger C. Prevention of bleeds in hemophilia patient with inhibitors: Emerging data and clinical direction. American Journal of Hematology. 2004;77;187-193
19. Monahan P, Aledort L. Factor's affecting choice of hemostatic agent for the hemophilia patient with inhibitor antibody. American journal of hematology 2004;77;346-350
20. Aledort L. Inhibitors in hemophilia patients: current status and management. American Journal of hematology 2004;47;208-217
21. Bianco RP, Ozelo MC, Villaca PR, Solano MH, Murillo CM, et al. Diagnóstico y tratamiento de la hemofilia congénita con inhibidores. Un consenso latinoamericano. 2,010.

22. Ochoa MA. Detección de Inhibidores en pacientes con hemofilia hereditaria. Programa de Especialidad en Hematología; 2009. México.
23. Kruse-Jarres R. Current controversies in the formation and treatment of alloantibodies to factor VIII in congenital Hemophilia A. ASH Education Book. 2011; 1;407-412.
24. Romero JA, Lucia F, Febrer L, Trabal I, Sabater F, Lindner L. Estudio de los costes del desarrollo de inhibidores en pacientes con hemofilia A grave en España. Pharmacoeconomics, España. 2013. Vol 10; 69-78.
25. Girolami A, Vettere S, Ruzzon E, Berti de M, Fabris S. Rare and inusual blending manifestation in congenital bleeding disorders. An annotated review. Tromb Hemost. 2011.

VIII. ANEXOS



UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
HOSPITAL ROOSEVELT
PEDIATRIA



BOLETA DE RECOLECCION DE DATO
“DETERMINACION DE INHIBIDORES DE FACTOR VIII EN PACIENTES
CON HEMOFILIA A”

NOMBRE: _____

NO. REGISTRO: _____ FECHA: _____

CLASIFICACION HEMOFILIA: LEVE MODERADO SEVERO

EDAD DE ADMINISTRACION POR 1ª VEZ FACTOR VIII: _____ AÑOS

NUMERO DE DOSIS RECIBIDAS FACTOR VIII: _____

VALOR DE INHIBIDORES DEL FACTOR VIII: _____



“DETERMINACION DE INHIBIDORES DE FACTOR VIII EN LOS PACIENTES CON HEMOFILIA A”



HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

La facultad de Ciencias Medicas de la Universidad de San Carlos de Guatemala a través de la Escuela de Post Grados en el Hospital Roosevelt en la Unidad de Hemato-Oncología de pediatría a través de la médico residente Luisa María Álvarez de León, está realizando un estudio acerca de la “Determinación de Inhibidores del Factor VIII en niños con Hemofilia A”.

La hemofilia A es una enfermedad que impide que la sangre forme el coágulo efectivo para dejar de sangrar. Cuando los niños sufren algún golpe o lesión comienzan a sangrar sin detenerse, por lo cual es necesario que se le administre un medicamento, llamado factor VIII, que ayuden a detener el sangrado. Pero la administración frecuente de éste medicamento en algunas ocasiones provoca que el cuerpo forme sustancias contra este medicamento, llamadas inhibidores, impidiendo así que realice su función de detener el sangrado.

El propósito del estudio es determinar los niveles de inhibidores en su hijo, mediante la extracción de una muestra de sangre de 5 ml (equivalente a una cucharadita) la cual se tomará durante su seguimiento en la consulta externa de hemato-oncología o en el encamamiento en caso de estar hospitalizado. Con la extracción de sangre la molestia que puede que presente su hijo es dolor al momento de tomar la muestra y si por algún motivo presentará otro tipo de molestias puede acudir al hospital para ser evaluado en cualquier momento. La muestra de sangre obtenida será llevada al laboratorio para su análisis, al obtener el resultado una copia será adjuntada al archivo medico de su hijo.

Participaran en el estudio aproximadamente 64 niños.

Por la participación en el estudio, no podemos compensarlo económicamente, sin embargo, el beneficio de la participación de su hijo ayudará a tener un mejor control de la enfermedad y los resultados quedarán en el expediente médico.

Antes de decidir la partición de su hijo en este estudio debe comprender que está en toda libertad de preguntar cualquier duda que tenga y si decide participar puede retirar a su hijo

en momento que desee, sin necesidad de explicación alguna. Además usted recibirá una copia de este documento completamente firmado.

El estudio es coordinado por la unidad de investigación de la escuela de post grados de la Universidad de San Carlos de Guatemala y la Unidad de Hemato-Oncología de pediatría, si usted desea mayor información o presenta dudas puede comunicarse con Luisa María Álvarez al 59239396 o dirigirse al Departamento de Pediatría del Hospital Roosevelt

FIRMA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

He comprendido el consentimiento informado que he leído y acepto voluntariamente que mi hijo participe en el estudio. Entiendo que el nombre de mi hijo no será divulgado, que podré retirar a mi hijo en cualquier momento y sin ninguna consecuencia en la atención que podría recibir en el Hospital Roosevelt. También que los resultados serán confidenciales y de beneficio para la salud de mi hijo. Además recibo una copia del consentimiento completamente firmada.

Nombre del encargado: _____ Firma: _____

Número de cédula o DPI: _____ Fecha: _____

Huella digital si encargado no puede escribir



Nombre de testigo: _____ Firma: _____

Número de cédula o DPI: _____ Fecha: _____

Me comprometo con el participante a cumplir con todo lo que se ha sido especificado anteriormente:

Nombre del investigador: _____ Fecha: _____

Firma: _____

PERMISO DE AUTOR

El autor concede permiso para reproducir total o parcialmente y por cualquier medios la tesis titulada "DETERMINACIÓN DE INHIBIDORES DE FACTOR VIII EN PACIENTES CON HEMOFILIA A" para pronósticos de consulta académica sin embargo, quedan reservados los derechos de autor que confiere la ley, cuando sea cualquier otro motivo diferente al que se señala lo que conduzca a su reproducción comercialización total o parcial.